

## Tüdőembólia viszkoelasztometriával vezérelt trombolízise

**szerzők:** dr. Kállai András<sup>1</sup>; dr. Skultéti Dalma<sup>1</sup>; dr. Párkányi Anna<sup>1</sup>; dr. Bíró Emese<sup>1</sup>; dr. Berczi Máté<sup>1</sup>; Stubnya János Domonkos<sup>2</sup>; Szász Hanna Dóra<sup>2</sup>; dr. Szombath Gergely<sup>3</sup>; dr. Fehér Adrienne<sup>4</sup>; dr. Iványi Zsolt<sup>5</sup>; Prof. dr. Gál János<sup>6</sup>; dr. Fazakas János<sup>1</sup>

- 1: Semmelweis Egyetem, Intenzív Terápiás Klinika
- 2: Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar
- 3: Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Hematológiai Klinika
- 4: Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet
- 5: Észak-budai Szent János Centrumkórház Központi Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Osztály
- 6: Semmelweis Egyetem, Honvéd-, Katasztrófa- és Rendvédelem-orvostan Tanszék

### Bevezetés

A 2019. évi ESC ajánlás (Ajánlás) a tüdőembólia ellátása kapcsán rizikóstratifikációt követően csak magas rizikó esetén javasolja trombolízis elvégzését a beavatkozás vérzési rizikójára tekintettel<sup>1</sup>. A trombolízis ajánlott dózisa a leggyakrabban alkalmazott tPA-t tekintve 100 mg 2 óra alatt, bár kritikus helyzetben 0,6 mg/ttkg 15 perc alatti adagolása is elfogadható (maximum 50 mg összdózisig) az ajánlás szerint. Közepes magas (intermediar high) rizikó esetén monitorizálás javasolt állapotrosszabbodás esetén lízis alkalmazása mellett. Ezen kezelési sémák mellett irodalmi adatok alapján akár 13,8% a súlyos vérzés és 3,6% az agyvérzés rizikója<sup>2</sup>.

Kutatócsoportunk a COVID pandémia alatt tett megfigyelései alapján ClotPro vezérelt lízis irányában 2021-ben a 65187-5/2021/EÜIG engedélyszámú vizsgálatot kezdeményezte az effektív lízis melletti vérzésveszély csökkentése érdekében.

### Módszerek

A vizsgálatba 2021 decembere és 2023 szeptembere között tüdőembóliával diagnosztizált, az Ajánlás szerint definiált magas vagy közepes-magas korai mortalitás rizikó kategóriába eső 18 életévét betöltött betegek kerültek bevonásra, akik tájékozott beleegyező nyilatkozatot adtak. Kizárásra kerültek azon betegek, akik a vizsgálathoz nem adták informált beleegyezésüket, akiknél a trombolízis abszolút kontraindikációja állt fenn, továbbá a várandós páciensek.

A ClotPro-vezérelt (CPV) csoportban a lízist megelőzően és alatta óránként viszkoelasztikus alvadás monitorizálást végeztünk. A tPA dózist növeltük, ha az arra legérzékenyebb ECA teszten nem tapasztaltunk kielégítő lízist, illetve csökkentettük, ha a FIB teszt MCF értékének jelentősebb csökkenését tapasztaltuk. Szükség esetén fibrinogen alkalmazására is sor került. Kétóránként végzett echokardiográfia során vizsgáltuk a jobbszívfél-terhelés jeleit, azok megszűntével a lízist leállítottuk.

A kontroll (K) száron is végeztünk viszkoelasztikus méréseket, de ezek eredménye a lízis elvégzését nem befolyásolta.

### Eredmények

A tüdőembóliával diagnosztizált 33 betegből 11 beteg került kizárásra (1 beteg fejsérülés, 2 beteg aktív vérzés, 2 beteg beleegyezés hiányában, 6 beteg alacsonyabb korai mortalitás rizikó kapcsán). Az eredmények végső értékelése során a K csoportból egy beteg erős

mellkasi fájdalom miatt 50 mg tPA után megszakított lízis kapcsán, a CPV csoportból egy beteg pedig utólagosan angiosarcomának bizonyult érelzáródás kapcsán kizárásra került. Így a randomizált 22 betegből a kontroll csoportban 7 beteg (nő/férfi: 3/4; átlagéletkor: 66.00+/-9.02 év) és a CPV csoportban 13 beteg (nő/férfi: 4/9; átlagéletkor: 55,76+/-13,34) adatait elemeztük.

A CPV csoportban a kezelés hossza az echokardiográfia eredményétől függően változott (átlag hossz: 8,38 +/- 1,63 óra), illetve a tPA sebességrátáját és ezáltal összdózisát (átlag összdózis: 33,00+/-12,45 mg) is a ClotPro óránkénti eredménye határozta meg. 5 beteg részesült trombolízis közben fibrinogén pótlásban (1-6g). Emellett a rendelkezésünkre álló adatok alapján testsúlyra és testfelszínre vonatkoztatva is meghatároztunk egy dózistartományt (<50 µg/ttkg/óra és <2 mg/m<sup>2</sup>/óra), mely alatt maradva effektív fibrinolízis mellett a FIB-teszt MCF értéke nem csökkent kritikus érték alá.

A K csoportban a kezelés hossza 2 óra, illetve a tPA összdózisa az előírt 100 mg volt.

A K csoportban súlyos, kezelést befolyásoló vérzést két esetben észleltünk (nem traumás újraélesztést követően végzett lízis után perikardiális hematóma és gasztrointesztinális vérzés, illetve másik betegnél orrvérzést követő hemaspiráció intubációs igénnyel). A ClotPro csoportban egy beteg szenvedett el agyvérzést.

A kontroll száron echokardiográfiás vizsgálat során 4 esetben észleltünk érdemben javuló jobbkamra-funkciót, 2 esetben a korai szakban a súlyos diszfunkció perzisztált a lízis ellenére, illetve a fent említett perikardiális hematóma mellett a jobbszívfél-funkció nem volt megítélhető.

A vizsgálati száron minden esetben megszűnt a jobbkamra-diszfunkció, egy ismertén krónikus pulmonális hipertóniával élő beteg kivételével.

### **Következtetés**

Tüdőembólia ClotPro vezérelt elnyújtott trombolízise során minden esetben effektív revaszkularizáció volt megfigyelhető, szemben a konvencionális terápia korai szakban észlelt 57,1%-os klinikailag effektív revaszkularizációs rátájával. A klinikailag jelentős vérzés vonatkozásában eredményeink nem mutatnak fokozott kockázatot és elkerülhető a jelentősebb koagulopátia, illetve fibrinogenolízis fellépte. A betegség incidenciája, így a betegszám részletes statisztikai elemzést nem tett lehetővé, így az eredmények multicentrikus kontrollált vizsgálat keretében történő megerősítését tervezzük.

### **Irodalom**

1. Stavros V Konstantinides et al. (ESC Scientific Document Group): 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS): The Task Force for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism of the European Society of Cardiology (ESC), *European Heart Journal*, Volume 41, Issue 4, 21 January 2020, Pages 543–603
2. Silver, M. J., et al. (2023).: Incidence of Mortality and Complications in High-Risk Pulmonary Embolism: A Systematic Review and Meta-Analysis.; *Journal of the Society for Cardiovascular Angiography & Interventions* 2(1): 100548.

## **Patient Blood Management és perioperatív hemostasis a transfuziológus szemszögéből**

Marton Imelda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SZTE ÁOK Transzfuziológiai Tanszék, Szeged

Az irodalomban Patient Blood Management (PBM) elnevezéssel vált ismertté az a multidiszciplináris megközelítésű program, amely a beteg saját vérképzését, vörösvérsejt tömegét tekinti elsődlegesnek az allogén vérkészítmények transfúziójával szemben. A hazai szaknyelvben pontos megfelelője még nincs, leginkább vértakarékos betegellátásként említik. A program három pillére az anémia, a vérvesztés és a transfúzió kockázati triászát célozza meg, ezek módosításának lehetőségeire helyezi a hangsúlyt. Először az elektív sebészeti eljárásokra dolgozták ki a programot, mivel egyértelmű adatok bizonyítják, hogy mind a preoperatív anaemia, mind a vérvesztés, mind a transfúzió független rizikófaktorok a kedvezőtlen klinikai kimenetel szempontjából. A PBM alapelvek nem csupán a sebészeti jellegű szakmákban és a perioperatív ellátásban érvényesek és alkalmazhatóak, hanem az ún. nem sebészeti területeken, mint a belgyógyászat, hematológia, és onkológia, de a területek sajátosságaiból adódóan igen eltérő mértékben.

A referátum célja a Patient Blood Management stratégiáinak, eszközeinek összefoglalása, ezen belül is a figyelem felhívása a célvezérelt aktív hemostasis menedzsment előnyeinek kihasználására, mely számos esetben az allogén vérkészítmények adásának alternatívája lehet. A nemzetközi jó gyakorlatok eredményei motiválhatják a PBM szemléletű korszerű transfúziós elvek és szabályozási környezet kimunkálását, hiszen a restriktív transfúziós elvek ismerete és az egyes labilis vérkészítmények szűkülő alkalmazási területe a hazai ellátórendszerben még kevésbé elfogadott.

Az Egészségügyi Világszervezet ösztönzi tagállamaiban a PBM programot, mivel a vértakarékos szemléletű betegellátás evidenciákon alapul, a program alkalmazása bizonyítottan hasznos, hiszen hozzájárul a betegbiztonság és a klinikai kimenetel javításához. A pandémia miatti egészségügyi krízishelyzet is egyértelművé tette, hogy a program hazai bevezetése nem halasztható, és az illetékes Szakmai Tagozatok (Anaesthesiológia, Sebészet, Haematológia-Transzfuziológia), valamint a döntéshozók, a finanszírozó, és az OVSZ együttműködésével valósulhat meg. A Patient Blood Management programot már a fejlett világ számos országában bevezették és valamennyi alkalmazó ország pozitív eredményeket tudott bemutatni a betegbiztonság javulása és a klinikai vérfelhasználás mérséklődése területén. A PBM program elveinek és eszköztárának klinikai gyakorlatba történő bevezetése, hazai irányelvekben, transfúziós ajánlásokban történő megjelenése sürgető feladat és plusz hozadékként biztosíthatja a hazai vérellátás tartós egyensúlyát.

# Perioperatív hemosztázis menedzsment

- Tánczos Krisztián -

**Összefoglalás.** Az elmúlt évtized kutatásainak és klinikai megfigyeléseinek köszönhetően egyre többet tudunk a súlyos vérzés okozta véralvadási zavar betegspecifikus, patofiziológiai folyamatairól. Ennek következtében a vérző betegek mindennapi ellátásában egyfajta paradigmaváltás következett be. Az azonnali sebészeti és intervenciós radiológiai beavatkozás és hemodinamikai reszuszcitáció mellett, - ezzel egy időben - a véralvadás zavarának korrekcióját is el kell végeznünk. A patológiás véralvadás megelőzése, illetve korai felismerése és kezelése alapvető fontosságú, mivel a koagulopátia hozzájárulhat a masszív vérzés kialakulásához és bizonyítottan rontja a betegek kimenetelét. A viszkoelasztikus (VET) hemosztázis vizsgálatok lehetőséget nyújtanak arra, hogy a koagulációs terápiát az egyes betegek aktuális szükségleteihez igazítsuk, csökkentve ezzel a túlzott vagy elégtelen transfúzió kockázatát. Ezzel a személyre szabott, precíziós reszuszcitáció alkalmazásával a betegspecifikus jellemzőket is figyelembe véve vagyunk képesek a megfelelő készítményt a megfelelő betegnek a megfelelő időben beadni, javítva ezzel a betegek morbiditását és sok esetben a mortalitását is.

## **A XIII-as faktor szerepe a tranexámsav fibrinolízisre és fibrinszerkezetre kifejtett hatásának modulálásában sejtes és sejtmentes környezetben**

Balog Virag K, Egri B, Szabo L, Kolev K, Wohner N

**Háttér-** Korábbi munkánk alapján ismert, hogy a trombusok emelkedő vörösvértest-tartalma fokozza azok stabilitását. A tranexámsav (TXA) egy széleskörben alkalmazott vérzéscsillapító gyógyszer. Nemrégiben publikált közleményünkben leírtuk, hogy a TXA és a vörösvértestek (vvt-k) között szinergista hatás van a fibrinolízis gátlásában. A XIII-as faktor (FXIII) kereszt kötést hoz létre a fibrinszálak között és a vvt-k retrakcióját okozza a trombusban.

**Célkitűzések-** A FXIII hatásának vizsgálata a TXA antifibrinolitikus hatékonyságára vörösvértestek jelenlétében és hiányában.

**Módszerek-** Tisztított fehérjékből álló alvadékokban globális viszkoelasztikus lízis teszttel (ClotPro) vizsgáltuk a FXIII fibrinolízisre kifejtett hatását vvt-k és TXA jelenlétében és hiányában. Plazminogén aktivációt mértünk alvadékokra rétegzett szöveti plazminogén aktivátor (tPA) és fluoreszcens plazmin szubsztrát segítségével. 10 µg/mL rekombináns FXIII, 0-128µM TXA és 30%(v/v) vvt kombinációit teszteltük FXIII inhibitor jelenlétében (6µM, ZED1301) vagy anélkül. Trombusokat hoztunk létre mesterségesen, ezek szerkezetét pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) vizsgáltuk.

**Eredmények-** A sejtmentes fibrin alvadékokban a FXIII kisebb mértékben befolyásolta a lízisidőt, mint vvt-tartalmú alvadékokban. 30%(v/v) vvt tartalom mellett a FXIII hatás TXA jelenlétében kifejezettebb volt:  $11.6 \pm 1.2\%$ -val nyúlt a lízisidő TXA nélkül, míg 128 µM TXA jelenlétében  $18.6 \pm 1.9\%$ -val ( $n=8$ ). Sejtmentes alvadékokban a FXIII a TXA plazminogén aktiváció gátló hatását nem erősítette, ellenben vvt-ket tartalmazó alvadékokban 3x erősebb gátlás jött létre, mint a csak TXA-t tartalmazó alvadékokban. A SEM mérések alapján a FXIII jelenléte vékonyította, míg a TXA vastagította a fibrinszálakat, mind sejtes, mind sejtmentes környezetben. Vvt-k és TXA jelenlétében a FXIII gátlása kifejezettebb fibrinszál vastagodást eredményezett, mint a sejtmentes alvadékokban.

**Következtetések-** Sejtes környezetben a FXIII fokozza a TXA hatását, amely háttérben a vvt-TXA közötti antifibrinolitikus szinergizmus felerősítése állhat.

## A FXI gátlók potenciális helye a vaszkuláris neurológiában

Szegedi István<sup>1</sup>, Bagoly Zsuzsa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Neurológiai Tanszék

<sup>2</sup> Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Tanszék

A véralvadásgátló kezelés az orvostudomány számos területén használt a vénás és artériás tromboembólia megelőzésére és/vagy kezelésére. A különböző hatásmechanizmusoknak megfelelően a rendelkezésünkre álló parenterális és orális antikoagulánsok közös elve, hogy akadályozzák a véralvadási kaszkád kulcsfontosságú lépéseit, melynek elkerülhetetlenül fokozott vérzési hajlam a kockázata. A vérzéses szövődmények (és az ezektől való félelem) így közvetlenül és közvetve is befolyásolják a betegek prognózisát. A XI-es faktor (FXI) egy szerin proteáz homodimer, amely az intrinsic koagulációs útvonalhoz tartozik, aktivált formája (FXIa) a IX-es faktor aktiválását katalizálja, amely ezt követően a X-es faktort aktiválja a közös koagulációs útvonalon. Egyre több bizonyíték utal arra, hogy az FXI/FXIa fontos szerepet játszik a trombózis kialakulásában, és viszonylag csak korlátozott mértékben járul hozzá a hemosztázishoz. A FXI/FXIa gátlása olyan stratégiaként jelent meg az utóbbi években az antikoagulánsok új generációjának fejlesztése során, mely alkalmas lehet a tromboembóliás betegségek hatékony megelőzésére és/vagy kezelésére a vérzéses komplikációk kockázata nélkül. Az iszkémiás stroke-ot követő szekunder profilaktikus terápiák száma továbbra is korlátozott, a különféle gyógyszerek alkalmazásánál pedig különösen fontos szempont a vérzéses transzformációtól való félelem, így a FXI/FXIa inhibitorok ígéretes lehetőségként jelenhetnek meg a jövő stroke betegeinek kezelésében. Az összefoglaló előadás célja, FXI/FXIa inhibitorok különféle biokémiai és farmakológiai sajátosságainak ismertetése, az eddig elért eredmények és folyamatban lévő vizsgálatok bemutatása, illetve kitekintés nyújtása jövőbeli klinikai felhasználásokat illetően.

**Kulcsszavak:** stroke, FXI inhibitor, antikoaguláns

**Simoctocog-alfa alkalmazása előzetesen már kezelt (PTP) A-hemofiliásokban.  
A „Nuwiq-NIS” megfigyeléses vizsgálat előzetes eredményei**

Kiss Csongor, G. Kiss Judit és a „Nuwiq-NIS” vizsgálók

A hemofília A (HA) ellátásának célja a „0 vérzésszám” minél tökéletesebb megközelítése, amelyet elsősorban elnyújtott féléletidejű (EHL) FVIII koncentrátumok alkalmazásával érhetünk el. A standard féléletidejű készítmények közé tartozó simoctocog-alfa humán sejtvonalon előállított, teljesen tirozin-szulfatált, humán glikozilációs mintázatú FVIII koncentrátum. Ezek miatt kiemelten alacsony az immunogenitása, és nemzetközi tanulmányok alapján hatékony vérzéskontrollt biztosít.

Célul tűztük ki, hogy simoctocog-alfa ellátásban részesülő hazai PTP hemofiliásokról „való világ bizonyítékot” szerezzünk. 2021 óta akadémiai kezdeményezésű, beavatkozással nem járó, megfigyeléses vizsgálatot folytatunk súlyos PTP HA betegek körében.

Harmincegy vizsgálati személyt vontunk be (hat 2-5 év közötti, öt 6-11 év közötti, húsz 12 év feletti férfi), 30 negatív inhibitor státuszú, 1 inhibitoros hemofiliás. Valamennyi hemofiliás farmakokinetikai (PK)-alapú profilaxisban részesül. Egy személy négynaponta, 8 személy hetente kettő alkalommal, 4 személy háromnaponta, 12 személy heti három alkalommal, 5 személy másodnaponta részesül faktorpótlásban. Egy beteg inhibitor-tolerancia indukció keretében kap ellátást. A nem-inhibitoros hemofiliások esetében az FVIII féléletidő 6.5 és 22.0 ó között változott (átlag: 11.2 ó). 2023 május és 2024 május között felmérve a felnőtt (>12 év) 16 beteg éves vérzésszáma 0, 2 betegé egy, 1-1 betegé kettő, illetőleg több mint 3 volt (ABR: 0,45). Ugyanezen időszakban a <= 12 éves korcsoportban a nulla vérzők száma 3, az éves 1 vérzés 3, éves kettő vérzés 3 volt, 1-1 betegben rögzítettünk évi 3, illetőleg több mint 3 vérzést (ABR: 1,7). A feldolgozás végpontjáig súlyos nemkívánatos mellékhatást, beleértve trombotikus eseményeket, illetőleg inhibitor képződést, nem észleltünk.

A simoctocog-alfa az EHL FVIII koncentrátumokhoz hasonló vérzéskontrollt biztosít PK alapú profilaktikus ellátás keretében, súlyos HA betegek esetében. A kedvező PK paraméterekkel rendelkező betegek esetében az EHL faktorokra jellemző alacsony adagolási gyakoriság (négynaponta, heti két alkalommal, illetőleg háromnaponta) mellett lehetett a kedvező vérzéskontrollt biztosítani.

## **A disszeminált intravascularis coagulatio típusai és elkülönítésük**

**Dr. Oláh Zsolt**

**Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinika**

A disszeminált intravascularis coagulatio (DIC) a véralvadás kiterjedt, nem lokalizált és kontrollálatlan intravascularis aktivációjának következménye, mely microthrombusok kialakulásához vezet. A DIC nem önálló diagnózis, a háttérben mindig keresni kell a coagulatio aktivációját kiváltó okot, melyek leggyakrabban – a teljesség igénye nélkül - kiterjedt trauma, malignus alapbetegség, sepsis vagy pathológiás terhesség. A DIC diagnózisa elsősorban laboratóriumi vizsgálaton alapul, mely a koaguláció aktiváció miatt emelkedett fibrin monomer szintet, a consumptio következményeként meggyült alvadási időket, thrombocytopeniát és hypofibrinogenaemiát, a társuló és fokozott fibrinolysis miatt pedig magas FDP és D-dimer szinteket mutat. A koaguláció és a fibrinolysis egymáshoz viszonyított aránya alapján háromféle DIC típust különítünk el. A thromboticus DIC elsősorban sepsishez társul és a jelentős koaguláció aktivációval hypofibrinolysis jár együtt, a klinikai képet a microthrombusok okozta szervelégtelenségek jellemzik. Kiterjedt metastasisokkal járó prostata tumor és magzatvíz embolia elsősorban hyperfibrinolysissel járó DIC-et eredményez. Solid tumorok és a másik két DIC típus tartós fennállása esetén consumptios DIC-kel találkozhatunk. A hyperfibrinolysissel járó és consumptios DIC inkább vérzésem tüneteket okoz. A DIC diagnózisának felállításához az ajánlások különböző pontrendszerek alkalmazását javasolják. A DIC-hez vezető kórfolyamatok azonban – elsősorban a thromboticus DIC esetében - már jóval a diagnózis kimondása előtt tetten érhetőek lehetnek. A klinikum és a hagyományos laboratóriumi vizsgálatok alapján gyakran nehéz az egyes DIC típusokat elkülöníteni egymástól. A viszkoelasztikus tesztek alkalmazása mind a korai DIC diagnosztikában, mind az egyes típusok elkülönítésében segítséget nyújthatnak. A TPA-test képes kimutatni az elhúzódó fibrinolysis rezisztenciát már a thromboticus DIC kimondása előtt. Az EX-test, FIB-test és AP-test további segítséget nyújt az altípusok elkülönítésében és ilyen módon a terápia egyénre szabott vezetésében is. A klinikai kép, a hagyományos és a viszkoelasztikus laborvizsgálatok együttes értékelése tovább javíthatja a DIC szupportív kezelését az alapprobléma megoldásáig.



## **A heparinkötés zavarát eredményező 10 antithrombin-mutáció következményeinek vizsgálata atomi szinten javított mintavételezésű molekuladinamikai szimulációk segítségével**

dr. Balogh Gábor <sup>1</sup> és Dr. Bereczky Zsuzsanna <sup>1</sup>

1. Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék

**HÁTTÉR:** Az antithrombin nélkülözhetetlen szabályozó szerepet tölt be a véralvadási kaszkádban, elsősorban a thrombin valamint az aktivált X-es és IX-es faktorok irreverzibilis gátlása révén. Ez a folyamat heparinszármazékok jelenlétében nagyságrendekkel hatékonyabbá válik. A heparinszármazékok kötésének zavara ismert mechanizmus az öröklött antithrombin deficiencia hátterében.

**CÉLKITŰZÉS:** A célunk 10 olyan antithrombin mutáció következményeinek összehasonlítása volt, amelyeknél a heparinkötés zavarát írták le az irodalomban, javított mintavételezésű molekuladinamikai módszerek alkalmazásával.

**MÓDSZEREK:** A fondaparinux ligandumot tartalmazó modell rendszereket két különböző molekuladinamikai módszerrel, GaMD és LiGaMD2 segítségével vizsgáltuk. Az utóbbi módszer a pentaszacharid, illetve az antithrombin kötőhely legfontosabb aminosavainak még hatékonyabb mintavételezését teszi lehetővé. Minden mutánsra, valamint a vad típusra két párhuzamos szimulációt futtattunk, mindkét módszerrel.

**EREDMÉNYEK:** A GaMD szimulációink segítségével négy variánst találtunk, amelynek különösen nagy hatása van a heparinkötésre a pentaszacharid röntgendiffrakciós szerkezetbelihez viszonyított helyzete, valamint a pentaszacharid és az antithrombin közti kölcsönhatások megszűnése alapján. Ezek közül három az Arg47, egy a Lys114 aminosavat érintette. A LiGaMD2 módszerrel ezzel szemben az összes mutáns, valamint a vad típus esetén is észleltünk olyan konformációkat, ahol a pentaszacharid részlegesen disszociált. Ezzel a módszerrel több olyan mutánsnál is kölcsönhatások megszűnését tapasztaltuk, ahol a GaMD nem mutatott jelentős különbséget a vad típushoz képest (Arg13Trp, Arg129Gln). A szimulációk kimenetének elemzésével olyan mechanizmusokat azonosítottunk a mutánsok esetén mint a pentaszacharid alegységeinek konformációváltozása, valamint megváltozott allosztérikus folyamatok.

**KÖVETKEZTETÉS:** A szimulációink betekintést nyújtanak a mutációk okozta csökkent heparinkötés hátterébe atomi szinten, valamint elősegíthetik kísérletek tervezését és az eredmények értelmezését.

## **A szöveti faktor út inhibitor (TFPI), mint hatékony target a haemophilia terápiájában; struktúra-funkció összefüggések, laboratóriumi vonatkozások**

Bereczky Zsuzsanna

Debreceni Egyetem, ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató  
Tanszék

A szöveti faktor út inhibitor (TFPI) struktúrájának-funkciójának karakterizálása ahhoz a felismeréshez vezetett, hogy a haemophilia terápia hatékony target molekulája lehet.

A TFPI Kunitz-típusú szerin proteáz, keringő izoformája a Kunitz-1 (K1), 2 (K2) és 3 (K3) doménekből és egy C-terminális doménből álló alfa-izoforma (TFPI $\alpha$ ). A TFPI a koaguláció korai fázisait fékezi, a szöveti faktor-aktív VII-es faktor (TF-FVIIa) és a protrombináz komplexek gátlásával. A TF-FVIIa gátlás sebességmeghatározó lépése az aktív X-es faktor (FXa) gátlása - előbbi a K1, utóbbi a K2 doméneken – így a TF-FVIIa és FXa gátlás szimultán valósul meg. A TFPI $\alpha$  gátolja az aktív V-ös faktor (FVa) keletkezését is, a TFPI $\alpha$ -FV B domén interakció által. A kísérletes adatok megmutatták, hogy a TFPI VIII-as és IX-es faktor (FVIII és FIX) függő módon befolyásolja a TF-FVIIa mediált FXa generációt, így a TFPI gátlása helyreállíthatja a hemosztázis egyensúlyát haemophilia A és B esetén. Ez a gátlás leghatékonyabban a K2 domén ellen irányuló monoklonális antitestekkel valósítható meg, melyek közül több (pl. concizumab) a klinikai vizsgálatok előrehaladott fázisában van. A koncentráció-függő módon csökkent TFPI koncentráció, valamint a D-dimer és protrombin fragment 1+2 szintek emelkedése hatékony pro-trombotikus hatást sejtetett e vizsgálatokban.

Az anti-TFPI készítmények laboratóriumi követése bonyolult. Szerencsés lenne, ha meghatározhatnánk a készítmény koncentrációját, legalább a terápia bevezetésének fázisában. E teszt feltehetően nem adna információt az anti-TFPI hemosztatikus hatásáról, vagy a TFPI szintekről. A TFPI koncentráció meghatározás önmagában nem ad információt a pro- vs. antikoaguláns folyamatok egyensúlyáról a betegben. A FVIII és FIX meghatározása e készítmények mellett nem releváns (kivéve inhibitor tesztelés alkalmával). A trombin generáció mérése lehet egy megoldás, azonban standardizációra és automatizációra van szükség ahhoz, hogy klinikai diagnosztikai laboratóriumok eszköztárába kerüljön. Az anti-drog antitest (ADA) kimutatáshoz is speciális tesztekre van szükség. Annak ismerete, hogy az anti-TFPI terápia alkalmazása hogyan és milyen mértékben befolyásolja a különböző koagulációs paramétereket, szintén elengedhetetlen, ehhez klinikai laboratóriumi tanulmány szükséges.

## Nemzetközi antitrombin deficiencia regiszter kialakítása és interim analízise

Gáti Nikoletta, Bereczky Zsuzsanna

Debreceni Egyetem, ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató  
Tanszék

Az antitrombin deficiencia (ATD) a ma ismert legsúlyosabb trombofilia, klinikai heterogenitással. Ritka előfordulása miatt egy-egy centrum önmagában nem tud kellő tapasztalatot gyűjteni ahhoz, hogy diagnosztikai és kezelési stratégiát dolgozhasson ki.

A betegellátás standardizálása érdekében célunk volt egy strukturált adatgyűjtést lehetővé tevő nemzetközi regiszter létrehozása a Nemzetközi Thrombosis és Haemostasis Társaság védnökségével, továbbá az ATD regiszterbe adatok rögzítése és egy interim analízis elvégzése.

A regiszterhez eddig 19 centrum csatlakozott n=673 ATD beteg klinikai és laboratóriumi adatainak bevitelével. Mi n=262 beteget rögzítettünk (58%-a nő, 42%-a férfi, a betegek ATD diagnóziskor regisztrált életkorának mediánja 30 év; tartomány 0-70 év). A betegeink fele, 54%-a trombózis, 6% terhességi komplikáció, 32% családszűrés során, 8% egyéb körülmények között került felismerésre. A betegek klinikai adatainak pontos dokumentálásáért köszönet illeti a DEKK Belgyógyászati Klinika és Gyermekklinika, valamint a Jósa András Kórház szakorvosait.

Centrumunkban az ATD háttérben főleg a heparin kötés zavarával járó (IIHBS) p.Leu131Phe (AT Budapest 3, ATBp3) mutációt detektáltuk heterozigóta (n=178), vagy homozigóta (n=35) formában. További IIHBS mutációk a p.Pro73Leu (n=8), p.Arg79His (n=20). Pleiotrop hatású mutációkat detektáltunk n=6 esetben (p.Glu269Lys (n=3) és p.Pro439Thr (n=3). Egyéb rekurrens mutációt nem találtunk. I-es típusú, kvantitatív deficienciát n=15 esetben regisztráltunk, különböző mutációkkal a háttérben. A heparin jelenlétében végzett funkcionális tesztben várható módon legalacsonyabb AT aktivitást az ATBp3 homozigóták mutatták (medián 17%), de teszt típustól függően, akár 50% feletti értéket is mértek. A IIHBS típusú heterozigóták esetében az AT aktivitása egyes esetekben, szintén reagens függő módon, a referencia tartományban volt. Az ATD betegek hosszú távú antikoagulálásával kapcsolatban egyelőre n=119 esetben rendelkezünk adatokkal, ami K-vitamin antagonistával (23%), vagy új típusú orális antikoaguláns készítménnyel (40%) történik. LMWH készítményt tartósan a betegek 32% kapott. Rekurrens trombózis a betegek 29%-ában fordult elő, ami 17%-ban antikoagulálás mellett következett be.

Az ATD regiszter adatai már most számos tanulsággal szolgálnak, nemzetközi elemzésre az ezer fő elérését követően kerül sor.

## „Tumor educated platelets” vizsgálat tüdőtumorban

**Balla György Jázón**<sup>1</sup>, Pócsi Marianna<sup>1</sup>, Póliska Szilárd<sup>2</sup>, Fejes Zsolt<sup>1</sup>, Lieber Attila<sup>3</sup>, Mudriczki Gábor<sup>4</sup>, Kappelmayer János<sup>1</sup>, Nagy Béla Jr.<sup>1</sup>

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, <sup>1</sup>Laboratóriumi Medicina Intézet; <sup>2</sup>Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet; <sup>3</sup>Tüdőklinika; <sup>4</sup>Sebészeti Intézet, Debrecen*

**Háttér:** A fejlett diagnosztikai és terápiás beavatkozások ellenére a daganatos betegségek incidenciája világszerte mindkét nemben továbbra is nagyon magas, és ez a tüdőtumorra különösen igaz. A vérlemezkék hozzájárulhatnak a tumoros folyamatok progressziójához többek között azáltal, hogy jelentősen módosul RNS tartalmuk, ezt a jelenséget hívjuk „tumor-educated platelets”-nek.

**Célkitűzés:** Olyan thrombocytá gémintázatot kívántunk azonosítani, amely diagnosztikus értékű lehet a tüdőtumorra, és egyúttal segítheti a korai és az előrehaladott stádiumú tüdődaganat egymástól való elkülönítését.

**Anyagok és módszerek:** Előzetes vizsgálatunkban kezelés előtt álló, újonnan diagnosztizált tüdőtumoros betegek leukocytá-depletált thrombocytá (LDP) mintáiból izolált RNS-t vizsgáltunk újgenerációs szekvenálással (NGS) nemcsak egészséges kontrollok, hanem nem tumoros (COPD-s) tüdőbetegek mintáihoz hasonlítva (n=3/csoport). Az egyes kohorszok között szignifikáns expresszió változást mutató géneket ClueGO (gén-ontológiai) elemzés alá vetettük.

**Eredmények:** Korai stádiumú tüdőtumorban összesen 38 transzkript szintje szignifikánsan csökkent (pl. *SLC4A2*), míg 122 esetében emelkedett (pl. *TSPAN5*) volt az egészséges kontrollokhoz képest, ugyanakkor előrehaladott stádiumban 56 génnél alacsonyabb (pl. *GP5*), míg 58-nál magasabb expressziót (pl. *MYL4*) mutattunk ki. Érdekes módon még nagyobb különbségeket találtunk a két tüdőtumoros alcsoport és a COPD-s kontrollok között: korai stádiumban 524 emelkedett mRNS-t (pl. *MALAT1*), míg 119 csökkent mRNS-t (pl. *GATA3*) detektáltunk, addig előrehaladott stádiumban 757-nek volt emelkedett (pl. *TP53I3*) és 198-nak alacsonyabb (pl. *RUNX3*) a szintje. Tüdőtumorban a kóros expressziót mutató gének számos intracelluláris folyamat szabályozásában vesznek részt, úgy, mint sejtaktiváció, vezikula szekréció, citoskeletális átrendeződés, valamint transzkripció szabályozás.

**Konklúzió:** Előzetes adataink alapján tüdőtumorban jelentősen megváltozik a vérlemezkék RNS expresszió profilja akár egészséges, akár nem tumoros (COPD-s) kontroll személyekkel szemben, ami hozzájárulhat a daganatos folyamatok lejátszódásához, ugyanakkor új diagnosztikai vizsgálmódszerként segítheti a rákos folyamatok időben történő kimutatását.

## A ponatinib hatása az endothelsejtek prokoaguláns aktivitására

Krajcsir Bálint, Pócsi Marianna, Fejes Zsolt, Nagy Béla Jr., Kappelmayer János, Bekéné Debreceni Ildikó

*Debreceni Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet*

**Bevezetés:** A BCR-ABL tirozin-kináz inhibitorok (TKI) hatékony terápiát jelentenek a krónikus mieloid leukémiában szenvedő betegek (CML) kezelésében. Azonban klinikai kutatások kimutatták, hogy a harmadik generációs TKI, -ponatinib összefüggésbe hozható trombotikus események kialakulásával. Az endothelsejtek (EC) fontos szerepet játszanak a vérárvadásban, ennek folytán az EC-k fenotípus változása hozzájárulhat a trombotikus események létrejöttéhez. Kísérleteink során *in vitro* körülmények között humán koronária endothelsejt-vonalon vizsgáltuk a ponatinib hatását az EC-k prokoaguláns aktivitására.

**Anyagok és módszerek:** HCAEC-t kezeltünk 50, 150 és 1000 nM koncentrációban ponatinibbel 24 vagy 48 órán keresztül. Ezt követően áramlási citometriával meghatároztuk a foszfatidilszerin (PS) expressziót és az endotheliális mikrovezikulák (EMV) számát. Emellett Fluoroskan Ascent fluoriméterrel meghatároztuk a ponatinibbel kezelt EC-k és a képződő EMV-k trombin képző képességét kontroll plazmában. A Bax és Bcl-xL fehérjék arányát Western blot technikával, míg az F3, THBD és VCAM1 mRNS szinteket qPCR-al vizsgáltuk.

**Eredmények:** A ponatinib mindhárom vizsgált koncentrációban jelentős foszfatidilszerin expozíciót váltott ki a ponatinibbel nem kezelt mintához képest ( $p=0,013$ ;  $p=0,0146$ ;  $p=0,0027$ ) a 48 órás inkubáció során. A ponatinib már terápiás koncentrációban (150 nM) szignifikánsan rövidítette az EC-k és a róluk képződő EMV-k jelenlétében mért trombin képződés időparamétereit, a lagtime ( $p=0,004$ ;  $p=0,058$ ) és time to peak értékeket ( $p=0,028$ ;  $p=0,043$ ). Továbbá, 150 nM ponatinib szignifikáns Bax:Bcl-xL arány emelkedést eredményezett a sejtekben, ami a trombomodulin (THBD) mRNS szintjének csökkenésével ( $p=0,073$ ) és a VCAM-1 mRNS emelkedésével járt ( $p=0,087$ ).

**Következtetések:** A ponatinib EC apoptózist indukál, ezáltal fokozza az EC-k prokoaguláns tulajdonságát, ami hozzájárulhat a trombotikus események kialakulásához.

## Az intraventricularis vérzéshez társuló hem-indukálta génexpressziós változások vizsgálata plexus chorioideus epithelsejtekben

**Fejes Zsolt**<sup>1</sup>, Pócsi Marianna<sup>1</sup>, Balogh Enikő<sup>2</sup>, Tóth Andrea<sup>2</sup>, Póliska Szilárd<sup>3</sup>, Gyetvai Ágnes<sup>4</sup>, Bartha-Tatár Anita<sup>1</sup>, Ruzsnyák Ágnes<sup>5</sup>, Fenyvesi Ferenc<sup>5</sup>, Nagy Andrea<sup>6</sup>, Czimmerer Zsolt<sup>7</sup>, Kappelmayer János<sup>1</sup>, Jeney Viktória<sup>2</sup>, Nagy Béla Jr.<sup>1</sup>

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, <sup>1</sup>Laboratóriumi Medicina Intézet; <sup>2</sup>Molekuláris Medicina Kutató Központ; <sup>3</sup>Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet; <sup>4</sup>Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék; <sup>5</sup>Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechológiai Tanszék; <sup>6</sup>Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Gyermekgyógyászati Klinika; <sup>7</sup>HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet*

**Háttér:** A kamratágulattal és agyállományi vérzéssel járó intraventricularis vérzés (IVH) napjainkban is egy gyakori központi idegrendszeri komplikáció koraszülöttekben, mely magas morbiditással és mortalitással társul.

**Célkitűzés:** Kísérletes munkánk célja az IVH és az oxidatív hemolízis során keletkező hem-indukálta intracelluláris inflammatorikus folyamatok *in vitro* vizsgálata plexus chorioideus epithelsejtekben.

**Anyagok és Módszerek:** A primer humán choroid plexus epithelsejteket (HCPEpiC) olyan hem koncentrációkkal (5-1000  $\mu$ M) kezeltük 1-24 órán keresztül, amiket korábban az IVH-s koraszülöttek *ex vivo* liquor mintáiban detektáltunk. Az intra- és extracelluláris RNS expressziókat RT-qPCR módszerrel kvantáltuk, míg a fehérje szinteket western blot és ELISA technikával határoztuk meg. A keletkező ROS tartalmat fluoreszcens assay-vel mértük, az NF- $\kappa$ B útvonal aktiválódását pedig fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk.

**Eredmények:** Az újgenerációs RNS-szekvenálás és a ClueGO (gén-ontológiai) elemzés alapján 906 gén expressziója változott szignifikáns mértékben a 24 órás hem kezelés (25 $\mu$ M) hatására, amelyek főként gyulladáshoz vagy sejtaktivációs folyamatokhoz köthetők, mint pl. a citokin aktivitás, a TLR4 szignalizáció, oxidatív stressz vagy az apoptózis szabályozása. Az mRNS alapú és fehérje szintű kísérletekben látható, hogy a hemoxigenáz (HO-1) és a SOD2 koncentráció-függő módon már néhány óra elteltével jelentősen megemelkedik a hem kezelés hatására. Ezzel párhuzamosan az IL8, IL1B, IL6 és ICAM1 mRNS szintek is szignifikáns mértékben ( $P < 0,001$ ) növekedtek. TaqMan OpenArray-vel több száz miRNS-t analizáltunk, amelyek közül 25 mutatott szignifikáns csökkenést míg 10 miRNS expressziója emelkedett. A miRTarbase adatbázis alapján központi szereppel bír több gén szabályozásán keresztül a miR-223, miR-9 és miR-215. A miR-9 több ponton is szabályozhatja a SOD2 és IL6 mRNS-eket, ezért specifikus miRNS mimic és inhibitor transzfekcióval igazoltuk ezen miRNS-mRNS közötti direkt kapcsolatokat.

**Konklúzió:** A hem az NF- $\kappa$ B útvonalon és ROS képződésén keresztül számos gén és miRNS expresszióját befolyásolja. Ezen gyulladáshoz és sejtaktivációs folyamatok ugyanakkor hem scavenger molekulákkal (pl. hemopexin) és speciális inhibitorral (pl. NAC) szabályozhatóak/mérsékelhetőek, így a kutatás eredményei hozzájárulhatnak az IVH során lejátszódó komplex celluláris folyamatok megismeréséhez.

## **Az akut ischaemiás stroke trombolízis terápia kimenetelét befolyásoló hemosztázis genetikai tényezők vizsgálata**

Kádár Anna Zsófia<sup>1</sup>, Hodossy-Takács Rebeka<sup>1</sup>, Bomberák Dóra Ilona<sup>1</sup>, Gindele Réka<sup>1</sup>, Orbán-Kálmándi Rita<sup>1</sup>, Lóczi Linda<sup>1</sup>, Oláh László<sup>2</sup>, Szegedi István<sup>2</sup>, Csiba László<sup>2,3</sup>, Bagoly Zsuzsa<sup>1,3</sup>

1 Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék

2 Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Neurológiai Klinika

3 HUN-REN-DE Cerebrovaszkuláris Kutatócsoport, Debrecen, Magyarország

**Bevezetés.** Az akut iszkémiás stroke (AIS) trombolízis kezelése során intravénásan alkalmazott rekombináns szöveti plazminogén aktivátor (i.v. rt-PA) alkalmazásával a keringésből kizárt terület vérellátásának gyors helyreállítása a cél. A betegek ~6-8%-ában potenciálisan fatális intrakraniális vérzés (ICH) léphet fel a kezelést követően, melynek genetikai rizikótényezői nem ismertek.

**Célkitűzés.** Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok (SNP) azonosítása a hemosztázis természetes inhibitorainak génjeiben, melyek befolyásolhatják a trombolízis kimenetelét.

**Betegek és módszerek.** Monocentrikus, prospektív, obszervációs kohorsz vizsgálatunkban trombolízissel kezelt, AIS betegek DNS mintáit vizsgáltuk. A DE Neurológia Klinikával kollaborációban létrehozott biobankukban tárolt mintákból a protein C, protein S, endotheliális protein C receptor és antitrombin génjeiben (PROC, PROS1, PROC, SERPINC1) 12 gyakori polimorfizmust vizsgáltunk (PROC: IVS1-1641 G>A, IVS-1654 C>T, IVS1-1476 A>T, IVS7+111 G>T, 3'UTR C>T; PROC: p.Ser219Gly, 5'UTR C>T, 5'UTR G>A; SERPINC1: IVS+141 G>A, p.Ala384Pro; PROS1: IVS11+54 T>C, p.Ser501Ala Herleen) primer extenzió és fragmentanalízis elvén működő SNaPshot Multiplex módszerrel. Az ICH osztályozása az ECASS II kritériumai szerint történt. A trombolízis kezelés rövidtávú kimenetelét a National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) alapján értékeltük.

**Eredmények.** Összesen 54 trombolízissel kezelt AIS beteget vizsgáltunk: 14 ICH-t szenvedett beteget, akikhez korban, nemben és stroke súlyosságában illesztett kedvező (n=20), ill. kedvezőtlen kimenetelű (n=20) betegeket válogattunk be a kohorszunkba. A PROC IVS1-1641 G>A polimorfizmus esetén a variáns allél szignifikánsan gyakrabban fordult elő az ICH betegekben (A:0,5000) a kedvező (A:0,0769), ill. kedvezőtlen (A:0,2500) kimenetelű csoportokhoz képest (p=0,0217). A teljes kohorszban a PROC IVS1-1641 G>A polimorfizmus variáns alléljának ritkább előfordulása volt megfigyelhető az európai populáció (1000Genom adatbázis) allélfrekvenciához képest (A:0,3461 vs. A:0,5855, p<0,0001). A PROS1 IVS11+54 T>C polimorfizmus szignifikánsan gyakoribb volt az AIS betegekben az európai populációhoz viszonyítva (C: 0,4400 vs. C:0,2324, p=0,0008).

**Konklúzió.** A PROC IVS1-1641 G>A polimorfizmus összefüggésben állhat a trombolízis kezelést követő ICH kialakulásával. A PROS1 IVS11+54 T>C polimorfizmus gyakoribb előfordulása az általunk vizsgált kohorszban felveti ezen polimorfizmus AIS kialakulásában játszott szerepét.

## **A monoklonális teljes IgG gátolja a fibrin és a trombin keletkezését**

Gonda Lénárd<sup>1</sup>, Bernadett Torner<sup>2</sup>, Harriet Ghansah<sup>1</sup>, Bekéné Debreceni Ildikó<sup>1</sup>, Váróczy László<sup>3</sup>, Pénzes-Daku Krisztina<sup>2</sup>, Kappelmayer János<sup>1</sup>

*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet<sup>1</sup>,  
Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék<sup>2</sup>, Belgyógyászati Intézet<sup>3</sup>*

### **Háttér:**

A monoklonális gammopátia az egyik leggyakoribb hematológiai kórkép, melyben gyakran figyelhetőek meg a hemosztázis koros elteresei. Közös ezekben a kórképekben a malignus plazmasejtek által termelt szérumban lévő monoklonális immunglobulinok jelenléte, amik a vér hiperviszkozus állapota és vérelemezke diszfunkciók mellett, jelentős szerepet játszanak egyéb kóros hemosztatikus jelenségekben. Ezekben a kórképekben a trombotikus események előfordulási gyakorisága nagyobb és gyakran emelkedik a kezelés során, miközben néhány esetben a vérzékenységi hajlam is előfordul.

### **Célkitűzés:**

Kísérletes munkánk célja az izolált teljes IgG hatásának vizsgálata volt a trombin és fibrin képződésére.

### **Anyag és módszerek:**

Kutatásunkba myeloma multiplex IgG izotípussal diagnosztizált betegeket válogattunk be. Szérum elektroforézist, immunfixációs vizsgálatokat és hemosztázis szűrőteszteket (PI, APTI, TI, fibrinogén) végeztünk. Vizsgálatunk során két monoklonális antitesttel rendelkező és egy kevert kontroll szérumból izoláltunk affinitás kromatográfiás módszerrel immunglobulin G-t, melyet normál pool plazmához hozzáadva 30 és 60 g/L koncentrációkat értük el. Tisztított IgG vizsgálata során trombin képződést és fibrin polimerizációt, trombin idővel és protrombin idő 50x és 500x hígított trombolasztin reagenssel mértük. Trombin generációs vizsgálatot készítettünk fluorimetriás eljárással. Részletesebb kölcsönhatásokat felületi plazmon rezonanciás (SPR) technikával vizsgáltuk.

### **Eredmények:**

A paraprotein 30 g/L koncentrációban 12%-os, 60 g/L koncentrációban pedig 36%-os trombin idő megnyúlást okozott. A hígított protrombin idő megnyúlását már 30 g/L paraprotein koncentráció 20%-al nyújtotta meg. Trombin generációs teszt csökkent trombin keletkezést mutatott monoklonális antitest jelenlétében, azonos koncentrációjú polyklonálishoz viszonyítva. SPR eredményeink interakciót mutattak emberi trombin és monoklonális antitest között ( $K_D=1.03 \times 10^{-7}$  M), de a humán trombin és polyklonális IgG között nem volt kölcsönhatás. Ugyanakkor mindkét IgG preparátum azonos erősségű fibrinogén kötődést mutatott.

### **Konklúzió:**

Vizsgálataink során megfigyeltük, hogy izolált paraproteinek gátolják a fibrin és trombin keletkezését, illetve SPR vizsgálattal demonstráltuk a myeloma multiplexből izolált teljes IgG interakcióját a véralvadási kaszkád terminális folyamataival.



# A viszkoelasztometriás teszt múltja, jelene és haszna a betegellátásban

Réger Barbara, Kátai Emese, Pál Sándor, Dolmán Veronika, Faust Zsuzsanna

Pécsi Tudományegyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet

A viszkoelasztometriás teszt (VET) egy globális véralvadási módszer, ahol a véralvadék kialakulását, stabilitását, majd lízisét detektáljuk a plazmatikus véralvadási faktorok, a vérlemezkék és az alakos elemek jelenlétében. Ezáltal információt kapunk a betegben lezajló hemosztatikus folyamatokról. A metodikát az 1940-es évek végén Hartert, német kutató fejlesztette ki. Ekkor még alvadásában nem gátolt teljes vért használtak analízisre, ami nehézséget okozott a technikai kivitelezésben, hiszen a mérést a mintavétel után azonnal el kellett indítani. Ma már citráttal alvadásgátolt a mintatípus, így elég idő áll rendelkezésre a mérés elindítására. A módszert az 1970-es évekig előszeretettel használták Európában, majd itt vesztett népszerűségéből, ekkor viszont Amerikában hódított teret. Az 1990-es években szintén egy német kutató, Calatzis segítségével újra elterjedt a módszer és ma már elsősorban betegágy melletti készülékként szolgál közvetlenül a klinikusok számára. A mérés elindításától számított 7-10 percen belül értékelhető információhoz jutunk a beteg hemosztatikus állapotáról, ami sok esetben életmentő lehet. A 2020-as évek elejétől a COVID-19 megjelenésével újra nagy mértékben elterjedt világszerte és hazánkban is a VET alkalmazása, elsősorban az intenzív terápiában és ezen belül a COVID-19 betegellátásban. Haszna itt a csökkent, ún. „shut down” fibrinolízis kimutatásában mutatkozott, melynek segítségével időben el lehet indítani a megfelelő, célzott terápia alkalmazását. A VET a DOAC terápia hatásának a kimutatására is alkalmas a megfelelő tesztek alkalmazásával, mind a direkt Xa, mind a direkt trombin gátlók esetében, melyre számos esetben szükség lehet, mint pl.: trauma, műtét során. A VET alkalmazása a Patient Blood Management betegellátási koncepció részét is képezi, melynek segítségével lehetőség nyílik a hemosztáziszavarok célzott ellátására. Ennek előnyös következménye a vérkészítmények alkalmazásának csökkentése ill. esetleges elkerülése, és ezzel járó kockázati tényezők megszüntetése vagy jelentős mértékű csökkentése. Esetek bemutatásán keresztül szemléltetjük a VET hasznát különböző hemosztatikus állapotok esetén.

## A natív és citrullinált core-hisztionok kringle-dependens módon gátolják a plazmin fibrin(ogeno)lítikus aktivitását

Komorowicz Erzsébet<sup>1</sup>, Gurabi Anna<sup>1</sup>, Sándor Zsófia<sup>1</sup>, Wacha András<sup>2</sup>, Kolev Kraszimir<sup>1</sup>

1, Semmelweis Egyetem, Biokémia és Molekuláris Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék

2, HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Anyag-, és Környezetkémiai Intézet

**Háttér:** A neutrofil granulociták aktivációjuk során hisztion, DNS-t és antimikrobiális fehérjéket bocsájthatnak ki, melyek együtt, ún. extracelluláris csapdaként (NET) segítik a patogének lokalizálását és elpusztítását. A neutrofilokban aktiválódó PAD4 enzim a hisztionok Arg oldalláncait neutrális citrullinná deziminálhatja, így ún. citrullinált hisztionok is keletkeznek. A NET komponensek hatásai egyrészt protrombotikusak, másrészt a keletkező alvadék szerkezetét és a fibrinolízist is módosítják.

**Célkitűzés:** Natív ill. PAD4 enzimmel citrullinált, Arg-gazdag H3 ill. Lys-gazdag H1 hisztionok hatását vizsgáltuk a fibrinogén hasítására és a fibrinolízisre. Fibrinolítikus enzimként a plazmin mellett az aktivált neutrofilok környezetében keletkező ill. működő miniplazmint, ill. elasztázt is vizsgáltuk, így egyben a hatások kringle-függését is megíthettük.

**Módszerek:** A fibrinogén/hisztion keverék plazminnal, miniplazminnal történő inkubálása során a fibrinogén alvadékonyságának elvesztését koagulométerrel, a fibrinogén degradációs termékeket SDS-PAGE-sel követtük. A fibrinogén/hisztion keverékek alvadását, ill. az alvadékba kevert plazminnal, K1-3 kringle-blokkolt plazminnal, K1-4-hiányos miniplazminnal, ill. elasztázzal történő oldódását turbidimetriás módszerrel követtük.

**Eredmények:** A plazmin fibrinogént bontó hatását mind a natív, mind a citrullinált H3 hisztion gátolta: késett a fibrinogén alvadékonyságának elvesztése, és a degradációs termékek megjelenése. A H1 hatása csekély volt, és a miniplazmint a hisztionok nem gátolták. Az intrinzik fibrinolízisnél is a H3 gátolt jelentősen: a tiszta fibrinnél kapott lízis időt 1-nek tekintve, a plazminnal, K1-3-blokkolt plazminnal, ill. miniplazminnal kapott LT50 rendre 2, 1.7, ill. 1.25 volt. A H3 előzetes citrullinálása csak a plazmin LT50 értékét csökkentette, 1.6-ra. Az elasztázzal kapott lízis időt a H3 a miniplazminhoz hasonló mértékben, 1.3-szorosára nyújtotta.

**Következtetés:** A hisztionok közül a H3 jelentősebb mértékben gátolja a plazmin fibrino(ogeno)lítikus aktivitását, mint a H1. A hatás kevésbé Arg-függő, viszont kringle-dependens, ami felveti annak lehetőségét, hogy a NET-es környezet az elasztáz/miniplazmin rendszert kevésbé zavarja, mint a plazmin-mediált lízist.

## **von Willebrand betegség komplex laboratóriumi diagnosztikája egyetemi központban**

Kerényi Adrienne<sup>1</sup>, Schlammdinger Ágota<sup>2</sup>, Szegedi István<sup>3</sup>, Kiss Csongor<sup>3</sup>, Marton Imelda<sup>4</sup>, Bagoly Zsuzsa<sup>5</sup>, Gindele Réka<sup>5</sup>, Boda Zoltán<sup>2</sup>, Kappelmayer János<sup>1</sup>, Bereczky Zsuzsanna<sup>5</sup>

Debreceni Egyetem, ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet<sup>1</sup>, Belgyógyászati Intézet<sup>2</sup>, Gyermekklinika<sup>3</sup>, Szegedi Tudományegyetem, ÁOK, Transzfuziológiai Tanszék<sup>4</sup>, Debreceni Egyetem, ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék<sup>5</sup>

**Háttér:** A von Willebrand betegség (VWB) a leggyakoribb veleszületett vérzékenység, aminek hátterében a primer hemosztázis zavara áll. A von Willebrand faktor (VWF) csökkenése 1-es, hiánya 3-as típusú, míg szerkezetének és funkciójának defektusai 2-es típusú VWB-t okoznak, utóbbin belül szubtypusokat különítünk el. A körültekintő laboratóriumi kivizsgálás elkerülhetetlen a pontos diagnózis felállításának és a beteg adekvát kezelésének szempontjából.

**Módszer:** A VWB diagnosztikája során laboratóriumunkban szűrő-, (thrombocytaszám, APTI, PFA-100 záródási idő) diagnosztikus- (VWF antigén és VWF-GPIb kötődési esszék, FVIII aktivitás) és klasszifikációs tesztek (VWF multimer analízis, VWF-FVIII/kollagén kötődés vizsgálat, risztocetin indukálta aggregáció és molekuláris genetikai vizsgálat) végzünk. A nagy átteresztőképességű genetikai vizsgálat bevezetése óta n=52 VWB-ben szenvedő beteg esetében állt módunkban e teljes körű kivizsgálási panelt elvégezni. Családvizsgálat keretében további n=28 egyént vizsgáltunk.

**Eredmények:** A probandok közül 15 betegnél 1-es, 33 betegnél 2-es (2A: n=9, 2B: n=7, 2M: n=10, 2N: n=7) és 4 betegnél 3-as típusú VWB diagnózist állítottunk fel. Vizsgálataink során 9 új mutációt detektáltunk (c657+2T>C, p.F396Sfs, p.T391delfs, p.Ala1461Pro, p.Asp2717Asn, p.Leu60Phe, p.Thr1054Met, p.Leu1382Gln, p.Arg269Met). Két beteg esetében kombinált genetikai defektust mutattunk ki, az egyik beteg compound heterozigóta volt egy 2N (p.Arg854Gln) ill. 3-as típusú (p.Leu757Valfs\*22) VWB-et okozó mutációra, míg egy másik családban a proband heterozigóta formában hordozott egy 1-es (p.Val1760Ile) ill. egy 2M (p.Arg1399Cys) típust okozó variánst. Egy beteg esetében a hemosztázis vizsgálatok eredményei normálok voltak a fokozott risztocetin indukálta aggregáció kivételével, az atípusos 2B VWB-et a VWF génjének 28. exonjában talált p.Phe1266Leu mutációja támasztotta alá. Öt beteg esetében a csökkent FVIII aktivitás hátterében 2N típusú VWB is felmerült, náluk a F8 génjében talált patogén mutáció Haemophiliát A-t igazolt.

**Következtetés:** A VWB diagnosztikája igen összetett folyamat, a teljes körű laboratóriumi vizsgálati paletta elvégzése nélkülözhetetlen a pontos diagnózis felállításában. A genotipizálás beillesztése a VWB kivizsgálási algoritmusába pedig segíthet a VWB diagnózisának megerősítésében, a típusba/altípusba sorolásban, továbbá hasznos a differenciál diagnosztikai problémák megoldásában.

## **Béta-antitrombin szint meghatározása vénás tromboembólián átesett betegekben**

Uj Edith Alexandra, Molnár Éva, Miklós Tünde, Gindele Réka, Bereczky Zsuzsanna, Katona Éva

Debreceni Egyetem, ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék

### Háttér:

Az antitrombin  $\beta$ -glikoformájája ( $\beta$ -AT) jóval nagyobb heparin affinitással rendelkezik, mint az  $\alpha$ -forma ( $\alpha$ -AT); 5-10%-át adja a normál plazma totál-AT (t-AT) aktivitásának. Érfalsérülések során a  $\beta$ -AT-nak nagyobb szerepet feltételeznek a trombózis megelőzésében. Nincs arra vonatkozó irodalmi adat, hogy hogyan változik a  $\beta$ -AT szintje trombotikus megbetegedésekben. Munkánk célja az volt, hogy meghatározzuk a  $\beta$ -AT aktivitását egészséges kontrollok (n=228) és vénás tromboembólián átesett, nem AT deficiens betegek (n=257) plazmájában.

### Módszerek:

A t-AT aktivitás mérése egy a FXa gátlásán alapuló kromogén módszerrel, konvencionális heparin jelenlétében történt. A  $\beta$ -AT meghatározásához ezen módszer módosított változatát használtuk, melyben a reagens NaCl koncentrációját jelentősen megemeltük (1,1 M), meggátolva ezzel az  $\alpha$ -AT heparin kötését, ugyanakkor a  $\beta$ -AT heparin kofaktor aktivitása nem módosult.

### Eredmények:

A kontrollokban mért t-AT aktivitás medián (IQR) értéke 99 (83,0-115,0)%, a  $\beta$ -AT aktivitás 13,2 (11,4-15,0)% volt. A  $\beta$ -AT aktivitás százalékos aránya a t-AT aktivitáshoz viszonyítva ( $\beta$ -AT%) 8,9 (7,7-10,1)%-nak adódott. A vénás tromboembólián átesett betegek esetén a t-AT aktivitás medián értéke 98 (83,0-113,0)%, a  $\beta$ -AT aktivitás 14,0 (13,0-15,0)%, a  $\beta$ -AT aktivitás százalékos aránya a t-AT aktivitáshoz viszonyítva ( $\beta$ -AT%) pedig 9,5 (8,5-10,5)% volt. A t-AT aktivitás nem tér el szignifikánsan a két csoport között (p=0,118), azonban a  $\beta$ -AT aktivitás és annak t-AT-hoz viszonyított százalékos aránya is szignifikánsan magasabbnak bizonyult a vénás tromboembólián átesett betegekben (p<0,001).

### Következtetés:

Eredményeink nem igazolták a feltételezést, mely szerint a  $\beta$ -AT aktivitása és t-AT-hoz viszonyított százalékos aránya a vénás tromboembólián átesett betegek csoportjában alacsonyabb. További vizsgálatok szükségesek az észlelt  $\beta$ -AT szint emelkedés magyarázatára.

## AZ ALFA2-PLAZMIN INHIBITOR HETEROGENITÁSÁNAK HATÁSA A FIBRINOLÍZIS SZABÁLYOZÁSÁRA

Bogáti Réka<sup>1</sup>, Baráth Barbara<sup>2</sup>, Bereczky Zsuzsanna<sup>1</sup>, Katona Éva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék, Laboratóriumi Medicina Intézet, Debreceni Egyetem

<sup>2</sup>Biokémiai Tanszék, Semmelweis Egyetem

**Háttér:** Az alfa2-plazmin inhibitor ( $\alpha$ 2-PI) a plazmin elsődleges gátlója. A keringő plazminnal irreverzibilis komplexet képez, valamint az aktivált XIII-as faktor a fibrinhálózathoz keresztköti, ezáltal fontos szerepet játszik a fibrinolízis szabályozásában. A keresztkötésben a molekula N-terminális vége vesz részt, míg a C-terminális rész a plazminogén kötőhelyet tartalmazza. Az  $\alpha$ 2-PI a plazmában N- és/vagy C-terminálisan is hasítódik, ezáltal négy izoforma keletkezik. A C-terminális ép formáról (PB- $\alpha$ 2-PI) a plazminogénkötő rész lehasadásával nem plazminogén-kötő forma (NPB- $\alpha$ 2-PI) keletkezik, melynek a plazmin gátló hatása jóval lassúbb. A proteolitikus hasításoknak funkcionális következményei vannak, de az irodalomban kevés adat található a heterogenitás fibrinolízisre gyakorolt hatásáról.

Korábbi munkánk során azt találtuk, hogy a vénás thromboembólián (VTE) átesett betegek plazma  $\alpha$ 2-PI aktivitása és össz  $\alpha$ 2-PI antigén szintje szignifikánsan magasabb a kontroll csoportnál. Míg a PB- $\alpha$ 2-PI szint nem tért el a két csoport között, addig a NPB- $\alpha$ 2-PI szintje emelkedett volt és 8,4-szeres trombózis rizikót jelentett. Ezért célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a PB- és NPB- $\alpha$ 2-PI formák alvadékba való beépülése hogyan befolyásolja az alvadék szerkezetét és lízisét, az NPB- $\alpha$ 2-PI szint emelkedése jár-e funkcionális következményekkel.

**Anyagok és módszerek:**  $\alpha$ 2-PI deficiens plazmát kiegészítettünk rekombináns PB- illetve NPB- $\alpha$ 2-PI-vel különböző arányokban, az alvadékképződést trombin+CaCl<sub>2</sub> hozzáadásával indukáltuk, majd a képződő alvadék vizsgálatára különböző módszereket (turbidimetriás mérést az alvadék képződésének és feloldódásának, Western blotot az egyes formák fibrinhez kötődésének detektálására) alkalmaztunk.

**Eredmények:** A rekombináns PB- $\alpha$ 2-PI kovalensen kötődött a fibrin  $\alpha$ -láncához, jelenléte koncentráció függő módon csökkentette az alvadási görbe maximális abszorbanciáját és növelte a lízisidőt. Az NPB- $\alpha$ 2-PI nem kovalens módon kötődött az alvadékhoz (csak nem keresztkötött, monomer forma volt detektálható a Western bloton), nem befolyásolta a maximális abszorbanciát, de kis mértékben növelte a lízisidőt.

**Következtetés:** Az alvadék szerkezetét nemcsak a fibrinláncok keresztkötése, hanem a PB- $\alpha$ 2-PI beépülése is befolyásolja, az alvadék lízisének idejére a nem kovalens módon bekötődött NPB forma mennyisége is hatással van.

## **Az etanol hatásának vizsgálata a véralvadékok in vitro lízisére nézve egészséges egyéneknél és akut iszkémiás stroke betegekben**

***Bomberák Dóra<sup>1</sup>, Orbán-Kálmánci Rita<sup>1</sup>, Lóczi Linda<sup>1</sup>, Hodossy- Takács Rebeca<sup>1</sup>***

*Árokszállási Tamás<sup>2</sup>, Szegedi István<sup>2</sup>, Csiba László<sup>2</sup>, Oláh László<sup>2</sup>, Bagoly Zsuzsa<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Debreceni Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék

<sup>2</sup> Debreceni Egyetem, Neurológiai Klinika

**Bevezetés.** Az intravénás trombolízis rekombináns szöveti plazminogén aktivátorral (t-PA) jelenleg az egyetlen törzskönyvezett szer az akut iszkémiás stroke (AIS) kezelésére. A terápia azonban csak az esetek 40%-ban hatásos. A trombolízis kimenetelét befolyásoló tényezők közül az alkohol szerepét kutatócsoportunk korábban már vizsgálta, kimutatva, hogy az akut alkoholfogyasztás dóziszfüggő módon javítja a trombolízis kimenetelét.

**Célkitűzés.** Az etanol trombolízisre kifejtett kedvező hatásának hátterében álló patomechanizmusok azonosítása, egészséges önkéntesek valamint akut alkohol hatás alatt álló AIS betegek, ill. alkoholt nem fogyasztott AIS betegek plazmamintáinak felhasználásával.

**Módszerek.** Tanulmányunkban 20 egészséges önkéntes, 16 alkoholt fogyasztott AIS beteg, valamint hozzájuk korban, nemből és stroke súlyosságában illesztett, alkohol befolyása alatt nem lévő AIS beteg citráttal alvadégtöltött plazmamintáin végeztünk in vitro alvadék lízis (CLA) vizsgálatokat. A CLA vizsgálatok során a mintákból rekombináns szöveti faktorról alvadékot képeztünk, majd t-PA hozzáadásával lízist indukáltunk, melyet valós időben turbidimetriás módszerrel monitoroztunk. A CLA mérések során az önkéntesek mintáihoz emelkedő dózisokban (1-2-4‰) etanolt adagoltunk, az in vivo folyamatok patomechanizmusának jobb megértése érdekében.

**Eredmények.** Az egészséges önkéntesek és a korban, nemből illesztett AIS betegek esetén szignifikánsan hosszabb 50%-os alvadék lízis idő (50%CLT) volt megfigyelhető a bekerülés pillanatában alkoholt fogyasztott AIS betegek 50%CLT értékeihez viszonyítva (kontroll medián:47, IQR:33-72 perc vs. AIS medián:45, IQR:27-75 perc vs. AIS+etanol:33, IQR:23-48 perc, p=0,04). Az alkoholbefolyás alatt lévő AIS betegek 50%CLT értékei szignifikáns negatív korrelációt mutattak a betegek bekerüléskor meghatározott etanol koncentrációjával (r=-0,57, p=0,029). Az egészséges önkéntesek plazmamintáihoz in vitro hozzáadott etanol dóziszfüggő módon, szignifikánsan rövidítette az 50%CLT paramétert azoknál, akiknél a

kiindulási érték a 30 percet meghaladta (n=16), míg az ettől rövidebb kiindulási 50%CLT időkre nem volt hatással (n=4).

Konklúzió. Az etanol trombolízisre gyakorolt potenciális kedvező hatásához az in vitro méréseink eredményei alapján a gyorsabb t-PA indukált alvadék-lízis hozzájárulhat. A patomechanizmus pontosabb vizsgálata érdekében teljes vérben ill. állatmodellekben is tervezzük az etanol alvadék-képződésre ill. a fibrinolízisre gyakorolt hatásának vizsgálatát.

## COVID-19 asszociált koagulopathia vizsgálata várandósokban

Tóth Eszter Lilla<sup>1</sup>, Bagoly Zsuzsa<sup>2</sup>, Orbán-Kálmándi Rita<sup>2</sup>, Deli Tamás<sup>1</sup>, Török Olga<sup>1</sup>, Lóczi Linda<sup>2</sup>, Baráth Sándor<sup>3</sup>, Singh Parvind<sup>3</sup>, Hevessy Zuzsanna<sup>3</sup>, Katona Éva<sup>2</sup>, Molnár Szabolcs<sup>1</sup>, Krasznai Zoárd Tibor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet

A SARS-CoV-2 vírusfertőzés jelentős immunválaszt vált ki, befolyásolja a hemosztázis egyensúlyát, de jelenleg is kevés tanulmány áll rendelkezésünkre a COVID-19 asszociált koagulopathia és betegség okozta citokin/kemokin felszabadulás mértékéről várandósokban.

Célunk volt megvizsgálni igazoltan SARS-CoV-2 fertőzött gravidákban a COVID-19 asszociált koagulopathiához társuló speciális hemosztázis és citokin/kemokin eltéréseket, az eredményeket összevetve egészséges, korban és terhességi hétben illesztett várandósok eredményeivel.

Obszervációs eset-kontroll tanulmányunkba 100 igazolt COVID-19 fertőzött (COVID-19+) 28-40. gesztációs hétben járó és 100 korban és terhességi hétben illesztett egészséges várandós (kontroll) került beválogatásra. A kontroll csoporton belül elkülönítettük azokat, akik a közelmúltban átvészelték a COVID-19 megbetegedést (post-COVID-19). A vérmintákból rutin laboratóriumi, speciális hemosztázis és inflammatorikus citokin/kemokin vizsgálatokat is végeztünk. Dokumentáltuk a szülés módját, az esetleges komplikációkat, az újszülöttek perinatalis adaptációját, a szülést követő 6 hetet.

A COVID-19+ csoportban az APTI szignifikáns megnyúlása volt megfigyelhető a kontrollokhoz képest. A COVID-19+ gravidák szignifikánsan alacsonyabb FVIII és FXIII szintekkel, csökkent mértékű trombin generációval, valamint magasabb VWF antigén szintekkel rendelkeztek a kontroll várandósokhoz képest. A FVIII és FXIII szintek súlyosabb COVID-19 fertőzés esetén szignifikánsan alacsonyabbak voltak. A COVID-19+ és a post-COVID-19 csoportban hiperfibrinolízisre utaló eredményeket találtunk. A COVID-19+ csoportban az inflammatorikus citokinek szintjei szignifikánsan magasabbak voltak a kontroll csoporthoz képest. Azokban a betegekben, akikben a COVID-19 megbetegedés súlyosbodott, az IL-1 $\beta$ , IL-33 szignifikánsan alacsonyabb, míg az IL-18 szintje szignifikánsan magasabb volt. A COVID-19+ csoportban HELLP szindróma egy esetben, jelentős postpartum vérzés négy esetben alakult ki, kifejezett eltéréseket mutatva a koagulációs, a citokin/kemokin és az alvadék-lízis vizsgálatokban. Az újszülöttek Apgar értékei nem mutattak különbséget a csoportok között.

A vizsgált kohorszban a SARS-CoV-2 fertőzés okozta jelentős hemosztázis diszregulációt, emelkedett inflammatorikus citokin szinteket figyeltünk meg, melyek súlyosabb fertőzés, klinikai szövődménnyel társuló terhesség esetén kifejezettebbek voltak. Az eredmények felhívják a jelentős hemosztázis diszregulációra és következményes potenciális szövődmények lehetőségére a figyelmet enyhe/tünetmentes SARS-CoV-2 fertőzött várandósok esetén is.



## **Komplex hemosztázis, fibrinolízis és inflammatorikus citokin/kemokin vizsgálatok egy intrauterin magzati elhalással társuló SARS-CoV-2 fertőzés esetén**

Tóth Eszter Lilla<sup>1</sup>, Orbán-Kálmándi Rita<sup>2</sup>, Bagoly Zsuzsa<sup>2</sup>, Lóczi Linda<sup>2</sup>, Deli Tamás<sup>1</sup>, Török Olga<sup>1</sup>, Molnár Sarolta<sup>3</sup>, Baráth Sándor<sup>4</sup>, Singh Parvind<sup>4</sup>, Hevessy Zuzsanna<sup>4</sup>, Katona Éva<sup>2</sup>, Fagyas Miklós<sup>5</sup>, Szabó Ádám Attila<sup>5</sup>, Molnár Szabolcs<sup>1</sup>, Krasznai Zoárd Tibor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Patológiai Intézet

<sup>4</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet

<sup>5</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kardiológiai Intézet, Klinikai Fiziológiai Tanszék

A várandósság során a SARS-CoV-2 fertőzés különböző komplikációkat okozhat. A placentáris kiserek trombózisa miatt beszűkülő lepényi funkció és a fertőzés következtében kialakuló COVID-19 asszociált placentitis miatt nagyobb eséllyel fordulhat elő intrauterin retardáció, vetélés, kora- vagy akár halvaszületés is. A komplikációk pontos pathomechanizmusa jelenleg nem ismert, továbbá nincs tudomásunk olyan biomarkerről, amely segítene előrejelezni a COVID-19-hez kapcsolódó anyai és magzati szövődmények közvetlen veszélyét, indokolva az azonnali egészségügyi ellátás szükségességét.

Esettanulmányunkban egy 28 éves, SARS-CoV-2 fertőzött várandós esetét ismertetjük, akinél a 28. gesztációs héten igazolódott az intrauterin magzati elhalás. Szülésindukciót követően az elhalt magzat hüvelyi úton született, a magzat és függelékeinek kórszövetteni és immunhisztológiai vizsgálata igazolta a SARS-CoV-2 okozta placentitist. A gravidának csak enyhe felsőlégúti tünetei voltak, kardiorespiratorikusan végig kompenzált volt. Laboratóriumi paraméterei közül kiemelendő az alacsony fibrinogén szint (1,49 g/L), melynek következtében a peripartum időszakban fibrinogén pótlásban részesült. Az alvadási szűrőteszteket tekintve nagyobb, korigálандó eltérés nem igazolódott, de az egészséges, korban és gesztációs hétben illesztett kontroll gravidákhoz képest magasabb D-dimer, alacsonyabb FVIII aktivitás- és FXIII szinteket tapasztaltunk. A trombin generációs és alvadék-lízis vizsgálatok kifejezett hipokoagulabilitást és hiperfibrinolízist mutattak. Az észlelt hemosztázis eltérések nagy valószínűséggel hozzájárulhattak az intra- és postpartum időszak során jelentkező vérzéshez. Az inflammatorikus citokinek/kemokinek vizsgálatakor lényeges eltérés nem igazolódott a kontroll gravidákhoz képest. A szérum ACE2 ativítás nem mutatott eltérést a kontrollokhhoz képest.

Esettanulmányunk rávilágít az enyhe/tünetmentes COVID-19-hez kapcsolódó potenciális anyai és magzati szövődmények közvetlen veszélyére. A speciális hemosztázis vizsgálatok során leírt eltérések ismerete fontos lehet a jövőben a hasonló háttérű postpartum vérzések korai azonosítása és ellátása esetén.

## **Neutrophil extracelluláris csapdák hatása a fibrinolízisre és fibrin szerkezetre in vivo és ex vivo**

**Raska Alexandra, Baráth Barbara, Balog Virág Kata, Csikós Petra, Szabó László, Kolev Kraszimir, Wohner Nikolett**

**Semmelweis Egyetem, Biokémia Tanszék, Budapest**

**Háttér** - A neutrophil extracelluláris csapák (NET-ek) a neutrophilek által kibocsájtott DNS, hiszton és a granuláris fehérjékből álló hálószerű struktúrák, amelyek az artériás és vénás trombusok fibrinmátrixában is megtalálhatóak. NET képződés kulcsenzime a peptidil-arginin-deimináz-4 (PAD4), ellenben a neutrophil elasztáz inhibitor SERPINB1 elnyomja a NET képződést.

**Célkitűzés** - A NET-ek fibrinolízisre és fibrin szerkezetre gyakorolt hatásának vizsgálata in vivo és ex vivo

**Módszerek** - A különböző NET-képző kapacitással rendelkező egerekben (vad típus (WT), PAD4<sup>-/-</sup>, SERPINB1<sup>-/-</sup>) mélyvénás trombózist modelleztünk vena cava inferior stenosis műtétet alkalmazva. A kialakult trombusokat az 1-4. nap után eltávolítottuk, a fibrinstruktúrát pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) vizsgáltuk. A különböző genotípusú egerek teljes perifériás vérét továbbá az izolált neutrophil granulocytákat tartalmazó alvadékok lízisejének a vizsgálatához viszkoelasztikus tesztet (ClotPro) és lézer pásztázó mikroszkópot alkalmaztunk. A hiszton 3-at PAD4-vel citrullináltuk és vizsgáltuk a plazminogén aktivációt a citrullinált és nem citrullinált hisztonok illetve az eltérő NET-képző kapacitással rendelkező egérvonalakból származó fehérvérsejtek jelenlétében.

**Eredmények** - A trombusképződés esélye 61%-kal alacsonyabb volt a PAD4<sup>-/-</sup> egerekben a WT-hez képest (OR 0.39;95% CI 0.17-0.94), de nem volt szignifikáns különbség a SERPINB1<sup>-/-</sup> and WT egerek között. A trombus tömege a 3. napon érte el a maximumot, a 4. napon elindult a lízis. A PAD4<sup>-/-</sup> trombus tömege szignifikánsan kisebb volt a 3.-4. napon a WT trombushoz viszonyítva. A neutrophil aktiváció késleltette a WT és SERPINB1<sup>-/-</sup> vérrögök lízisének a ClotPro mérésekben (34,2±8,0 percről 56,4±18,8 percre és 36,7±11,1 percről 55,5±17,1 percre, n=6), de a PAD4<sup>-/-</sup> vérrögökét nem. A hiszton citrullináció gátolta a plazminogén aktivációt. A SEM mérések az 1. napon azt mutatták, hogy a PAD4<sup>-/-</sup> egérben szignifikánsan vékonyabbak a fibrinrostok, mint a WT és a SERPINB1<sup>-/-</sup> egérben, a 4. napon ez a tendencia megfordult.

**Következtetés** - A NET-ek jelenléte fokozza a trombusképződést a vénás trombózis egérmodelljében, valamint lassítja a fibrinolitikus folyamatokat ex vivo.

## **A cerebrális vénás trombózis kezelése az új irányelvek tükrében**

*Dr. Héja Máté PhD, egyetemi tanársegéd*

*Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Nagyerdei Campus, Neurológiai Klinika*

A cerebrális vénás trombózis (CVT) egy ritka, potenciálisan fatális neurológiai kórkép, mely változatos klinikai megjelenése miatt gyakran aluldiagnosztizált. A CVT előfordulási aránya a fiatal nők körében a legmagasabb, az orális fogamzásgátlók és a terhesség/posztpartum időszak jelentős kockázati tényezők. Az örökletes trombofiliában szenvedő betegeknél fokozott hajlam figyelhető meg bármilyen formájú trombózis kialakulására, beleértve a CVT-t is. A G20210A protrombin polimorfizmus, az V-ös faktor Leiden mutáció és az antifoszfolipid szindróma a leggyakoribb okok. A protein C és S hiány, valamint az antitrombin III hiány ritkábban előforduló kockázati tényezők közé tartoznak. A CVT akut fázisában valamennyi betegnek javasolt a terápiás dóziszú heparinkezelés alkalmazása, még intracerebrális vérzés jelenléte esetén is. Az alacsony molekulásúlyú heparin (LMWH) előnyben részesítendő a nem-frakcionált heparinnal szemben mivel praktikusabb az alkalmazása, kiszámíthatóbb az antikoaguláns hatása, alacsonyabb a trombocitopénia kockázata, és a metaanalízisek szerint használata jobb kimenettel jár. Az amerikai és európai ajánlások szerint az akut fázist követően a betegeket átmeneti kockázati tényezők esetén 3-12 hónapig, míg súlyos trombofília vagy ismétlődő CVT esetén élethosszig kell antikoagulálni. Az utóbbi évek új randomizált vizsgálatait (ACTION-CVT, RE-SPECT CVT, SECRET) szerint az új orális antikoagulánsok hatékony és biztonságos alternatívái lehetnek a K-vitamin antagonistáknak (VKA). Az ismétlődő vénás tromboembólia (VTE) kockázata évente 1-4% között mozog, míg az ismétlődő CVT kockázata kevesebb, mint 1-2% évente. Súlyos trombofília, korábbi VTE és provokáló tényező nélküli CVT esetén a rizikó magasabb. Rutinszerű trombofília szűrés nem ajánlott, kivéve azoknál a betegeknél, akiknek saját és/vagy családi kórtörténetében VTE szerepel, fiatal korban jelentkezett CVT, vagy akiknél a CVT kockázati tényezők nélkül alakult ki. Terhesség alatt jelentkező CVT esetén a terápiás dóziszú LMWH-t a terhesség teljes ideje alatt folytatni kell, majd a szülés után legalább 6 hétig LMWH vagy VKA alkalmazása javasolt. CVT-t követően a jövőbeni terhesség nem ellenjavallt, általánosságban profilaktikus LMWH ajánlott a terhesség alatt és posztpartum.

## Tüdőembólián átesett betegek apixaban szérumszintjének és hatásosságának monitorizálása

dr. Párkányi Anna, dr. Bíró Emese, dr. Skultéti Dalma, dr. Berczi Máté, Szász Hanna, Stubnya János, dr. Magyariné Fa Anita, Prof. dr. Gál János, dr. Kállai András, dr. Fazakas János

### Bevezetés:

Az apixaban az aktivált X-faktor direkt gátlószere. A gyógyszer szérumszintjének vizsgálatára különböző módszerek léteznek, azonban nem tisztázott a hatékonysággal való összefüggés.

### Célkitűzés:

Apixabant szedők szérum gyógyszer szintjének tömegspektrometria- (MS) és kromogén alapú (Kro) méréseinek összehasonlítása, a különböző koncentrációk mellett megjelenő hatás monitorozása.

### Módszer:

Méréseinket a Semmelweis Egyetem Központi Intenzív osztályára a viszkoelasztikus alvadásmonitorizálás vezérelt tüdőembólia (TE) trombolízis vizsgálat (65187-5/2021/EÜIG) utánkövetésére (1-, 3- és 12 hónap) érkező betegek mintáin végeztük, akik 2x5 mg apixabant szedtek. MS és Kro alapú meghatározást és viszkoelasztikus alvadásmonitorizálást végeztünk ClotProval™ (EX-, IN- és RVV-tesztek) a gyógyszerbevétele megelőzően és utána 2 órával.

Eredményeink értékeléséhez GraphPad Prism programot használva normalitás vizsgálatot, Spearman-korrelációt (SK), lineáris regressziót (LR), Wilcoxon- (W), valamint Bland-Altman (BA) tesztet végeztünk.

### Eredmények:

Vizsgálatunkba 20 beteg került bevonásra. A MS és Kro alapú meghatározáskor statisztikailag szignifikáns különbséget találtunk (W medián: 149 vs. 128 ng/ml,  $p < 0,0001$ ), mely a BA teszt alapján is tendenciózan magasabb MS értékeket jelent.

A MS értékek és az összetartozó viszkoelasztikus clotting time (CT) értékek között a SK alapján EX és IN tesztek esetén közepes korrelációt, jelentős kapcsolatot (EX  $r=0,62$ ; IN  $r=0,56$ ), míg RVV tesztek esetén magas korrelációt, markáns kapcsolatot igazoltunk (RVV  $r=0,72$ ). LR alapján a MS értékektől függően a CT értékek meghatározottsága alacsony valószínűségű ( $R^2$ : EX: 0,32; IN: 0,21; RVV: 0,43). A CT értékek a mély és a csúcs gyógyszer szintek mellett statisztikailag szignifikáns különbséget mutattak (W  $p$ : EX  $< 0,0001$ ; IN 0,0008; RVV  $< 0,0001$ ), azonban az IN teszteknel magas gyógyszer szintek esetén sem tapasztaltunk CT megnyúlást.

### Következtetések:

A MS és Kro alapú mérések között szignifikáns különbség volt kimutatható, amely MS esetén magasabb szérumszintet igazolt.

Az apixaban szérumszint és ClotPro-val mért CT között magas korrelációt, markáns kapcsolatot az RVV tesztek esetén igazoltunk, amely a LR alacsony R értéke alapján nem lineáris. Hatásmonitorozáskor a mély- és magas gyógyszerszinteket összevetve szignifikáns CT megnyúlást tapasztaltunk mindhárom teszt során, azonban az IN tesztek esetén mindig normál tartományba eső CT értékek felvetik, hogy az apixaban terápia csak profilaktikus antikoagulációt eredményezett.

# AZ AKUT ALKOHOLFOGYASZTÁS JAVÍTJA AZ INTRAVÉNÁS VÉRRÖGOLDÓ KEZELÉS KLINIKAI KIMENETELÉT AKUT ISCHEMIAS STROKE BETEGEKBEN

Árokszállási Tamás<sup>1</sup>, Pásztor Máté<sup>2</sup>, Balogh Eszter<sup>1</sup>, Orbán-Kálmándi Rita<sup>3</sup>, Belán Ivett<sup>4</sup>, Nagy Edit Boglárka<sup>4</sup>, Csiba László<sup>1,5</sup>, May Zsolt<sup>2</sup>, Oláh László<sup>1</sup>, Bagoly Zsuzsa<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup> Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Neurológia Tanszék, Debrecen

<sup>2</sup> Magyar Honvédség Egészségügyi Központ, Neurológiai Osztály, Budapest

<sup>3</sup> Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék, Debrecen

<sup>4</sup> Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Képző Intézet, Debrecen

<sup>5</sup> Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, MTA-DE Cerebrovascularis Kutatócsoport, Debrecen

**BEVEZETÉS:** Az intravénás thrombolysis (IVT) javítja az akut ischemias stroke (AIS) klinikai kimenetelét, a terápia hatékonysága viszont erősen korlátozott. Állatkísérletes vizsgálatokban azt találták, hogy az etanol fokozza az rt-PA hatását kísérletes ischemias stroke modellekben.

**CÉLKITŰZÉS ÉS MÓDSZEREK:** Vizsgálatunk célja az akut alkoholfogyasztás IVT klinikai kimenetelre gyakorolt hatásának vizsgálata volt. Retrospektív, kohorsz vizsgálatunkban az IVT alatt kimutatható, emelkedett véralkohol koncentrációval (BAC) rendelkező AIS betegeket válogattuk be az eset csoportba (alkoholcsoport; n=60). Minden akut alkoholhatás alatt álló, IVT-n átesett AIS beteghez három, korban, nemben, érintett agyterület és a stroke tünetek súlyossága szerint illesztett AIS beteget választottunk a kontroll csoportba, akik az auto- vagy heteroanamnézis alapján nem fogyasztottak alkoholt az IVT-t megelőzően. A klinikai kimenetelt a 7. napon felvett National Institutes of Health Stroke Scale- (NIHSS) és a 90. napon felvett módosított Rankin-skála (mRS) pontszám segítségével vizsgáltuk.

**EREDMÉNYEK:** A kedvező rövid távú (7. napon rögzített NIHSS pontszám 4 vagy több ponttal csökkent a felvételi NIHSS pontszámhoz képest) és hosszú távú kimenetel (mRS 0-2) szignifikánsan magasabb volt az akut alkoholhatás alatt stroke-ot szenvedett csoportban, mint a kontroll csoportban (82% vs. 36%,  $p < 0,001$ ; 90% vs. 63%,  $p < 0,001$ ). Az IVT-t követő intracranialis hemorrhagiás transformatio aránya nem különbözött a két csoportban. Logisztikus regressziós modellben az akut alkoholfogyasztás szignifikáns protektív tényezőnek bizonyult a kedvezőtlen rövid távú- (OR:0,101, 95%CI:0,040-0,255,  $p < 0,0001$ ) és hosszú távú klinikai kimenetellel szemben (OR:0,182, 95%CI:0,062-0,535,  $p = 0,002$ ). Az etanol kedvező hatása dóziszfüggőnek bizonyult: BAC > 0,2% esetén szignifikánsan alacsonyabb NIHSS-t figyeltünk meg az IVT után 72 órával és 7 nappal azokhoz a beteghez képest, akik érkezői szérumban etanolszintje 0,01-0,2%-os volt.

**KONKLÚZIÓ:** Az akut alkoholfogyasztás az IVT-vel kezelt AIS betegek kedvezőbb klinikai kimenetelével társult és nem volt hatással a vérzéses szövődmények kialakulásának gyakoriságára.

## **A plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) deficiencia laboratóriumi diagnosztikájának kihívásai**

Hodossy-Takács Rebeka<sup>1</sup>, Orbán-Kálmándi Rita<sup>1</sup>, Molnár Éva<sup>1</sup>, Tóth Eszter Lilla<sup>2</sup>, Deli Tamás<sup>2</sup>, Lóczi Linda<sup>2</sup>, Molnár Szabolcs<sup>2</sup>, Schlammadinger Ágota<sup>3</sup>, Boda Zoltán<sup>3</sup>, Rázsó Katalin<sup>3</sup>, Brúgós Boglárka<sup>3</sup>, Kerényi Adrienne<sup>4</sup>, Bereczky Zsuzsanna<sup>1</sup>, Krasznai Zoárd Tibor<sup>2</sup>, Bagoly Zsuzsa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Belgyógyászati Klinika

<sup>4</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet

**Bevezetés.** A plazminogén aktivátor-inhibitor 1 (PAI-1) deficiencia vérzékenységgel és terhességi komplikációkkal járó kórkép, melynek gyakoriságáról és pontos genetikai háttéréről keveset tudunk. Esetleírások a csökkent PAI-1 szinttel társuló p.Ala15Thr heterozigóta génvariánst enyhe/közepes mértékű vérzékenységgel társították.

**Célkitűzés.** Megvizsgálni, hogy hemorrhagiás diathesis irányban vizsgált egyének esetén milyen arányban fordul elő csökkent PAI-1 szint, ill. genetikai eltérés. Vizsgálatunkban két PAI-1 p.Ala15Thr heterozigóta gravida várandósságát is követtük.

**Betegek és módszerek.** Intézetünkben 2022-2024 közötti PAI-1 meghatározások retrospektív analízisét végeztük. A PAI-1 aktivitás/antigén meghatározásokat a Technozym PAI-1 Actibind /Antigen ELISA módszerrel (Technoclone, Ausztria) végeztük. A PAI-1 gént Sanger szekvenálással vizsgáltuk. A klinikai tüneteket az ISTH-SSC Bleeding Assessment Tool segítségével értékeltük. A PAI-1 p.Ala15Thr heterozigóta gravidákat a DEKK Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikával kollaborációban a terhesség előtt, 3-6. hetente a terhesség alatt, a szülés előtt és postpartum vizsgáltuk (PAI-1 szintek, FVIII, FXIII, VWF,  $\alpha$ 2-plazmin inhibitor, plazminogén, D-dimer, Clot-Pro és ROTEM).

**Eredmények.** Összesen 160 PAI-1 aktivitás/antigén mérést végeztünk. Leggyakoribb tünet a menorrhagia (38%), ecchymosis (23%) és posztoperatív haemorrhagia (17%) volt. Az elvégzett vizsgálatok 73%-a (n= 117) referencia tartomány alatti, 26%-a (n= 41) referencia tartományon belüli, 1%-a (n=1) referencia tartomány feletti PAI-1 aktivitás ill. antigén szintet igazolt. A PAI-1 gén vizsgálatára 40 esetben került sor, 57%-ban (n=23) vad típusú, 30%-ban (n=12) p.Ala15Thr heterozigóta, 13%-ban (n=5) p.Val17Ile heterozigóta genotípus igazolódott. A PAI-1 p.Ala15Thr heterozigóta gravidákban a 3. trimeszterre a PAI-1 szintek emelkedtek és referencia tartományba kerültek. Mindkét terhességet terminusig viselték, a szülés ill. a postpartum időszakban az egyik kismamánál fordult elő vérzéses komplikáció (a második trimesztert követően gyakori gingiva vérzés).

**Konklúzió.** A csökkent PAI-1 értékek legtöbbször menorrhagiával ill. posztoperatív hemorrhagiával társultak, mely az irodalmi adatoknak megfelel. Az alacsony PAI-1 szintek háttérében azonban nem minden esetben volt genetikai eltérés felfedezhető, mely utalhat a tesztek nem megfelelő szenzitivitására az alacsony mérési tartományban. A PAI-1 p.Ala15Thr heterozigóta gravidák esetén beavatkozást igénylő terhességi/szülészeti komplikáció nem jelentkezett.

## **Pitvarfibrilláció: az antikoagulálás aktuális kérdései és a hármas gátlás**

Dr. Barta Judit, egyetemi docens, DEKK Kardiológiai és Szívsebészeti Klinika

Mára a direkt orális antikoagulánsok (DOACok) első vonalbeli szerekké váltak non-valvuláris pitvarfibrillációban és vénás tromboembóliás megbetegedésekben a tromboembólia megelőzésére és kezelésére. Ez annak köszönhető, hogy K-vitamin antagonistákhoz viszonyítva hatékonyság és biztonságosság tekintetében legalább olyan jók vagy jobbak. A mechanikus műbillentyűs, súlyos veseelégtelen, a középsúlyos-súlyos mitrális stenosisal élő és bizonyos trombofiliás betegek elesnek a DOAC kezelés lehetőségétől. Általánosságban igaz, hogy a DOAC kezelést kapó betegeknél (dabigatran, apixaban, edoxaban vagy rivaroxaban) jelentősen csökken az intracraniális vérzések előfordulása. Ugyanakkor a major vérzések és egyéb vérzéstípusok szempontjából már van különbség a DOACok között. A nemkívánatos események minimalizálása érdekében DOAC választáskor figyelembe kell vennünk az egyéni betegjellemzőket, a trombotikus és a vérzéses rizikót. Ismerni kell a DOACok farmakológiai tulajdonságait, a klinikai evidenciákat és az antidótum elérhetőségét. A szakmai szempontok mellett mérlegelnünk kell a beteg preferenciáját és a finansziális tényezőket is. Így minden betegnek személyre szabottan kell kezelést választani, hogy a leghatékonyabb kezelést kapja a legkisebb kockázat árán (legnagyobb a nettó klinikai hasznon). Külön figyelmet kell fordítani a helyes DOAC dózis alkalmazására. A leggyakoribb dóziszválasztási hiba az aluldozírozás. Bármilyen meglepő, ilyenkor nem csökken a vérzések előfordulása, a tromboembóliás események viszont nőni fognak. A DOAC kezelt betegek gondozása során a kontroll és a laborkontroll gyakoriságát a betegjellemzők határozzák meg, leginkább a vesefunkció és a társbetegségek. Szükség lehet a DOAC dózist módosítani vagy akár DOACok közötti váltásra kényszerülhetünk. Egyes társbetegségek - leggyakrabban koronária betegség - esetén szükséges lehet a DOAC-ot egy vagy akár két trombocita gátlóval kombinálni, úgynevezett kettős vagy hármas gátlást (DOAC+ASA+ADPreceptor blokkoló) alkalmazunk. A DOAC-ok K-vitamin antagonistákkal szembeni előnyei kombinációban is megmaradnak, ennek ellenére a kombinációs kezelés jelentősen fokozza a vérzéses kockázatot. Mivel a trombotikus rizikó koronária események után 1 hónappal csökkenni kezd, a vérzéses rizikó viszont nem, így törekedni kell arra, hogy a kombinációs kezelést, főleg a hármas gátlást a lehető legrövidebb ideig alkalmazzuk.



## **Strukturális intervenciók: peri- és postprocedurális véralvadásgátló kezelés vezetése**

Dr. Jenei Csaba, egyetemi adjunktus, DEKK Kardiológiai és Szívsebészeti Klinika

Az utóbbi 10 évben az invazív kardiológiában egyre több eszköz jelent meg, a szív különböző struktúrait érintő eltérés kezelésére, melyek többségében a magas sebészi kockázatú betegek részére nyújtanak gyógyítási alternatívát. Katéteres úton implantálható eszközzel rendelkezünk az aorta billentyű szűkület, a mitrális billentyű elégtelenség különböző formáinak kezelésére, ahogyan az idősödő populációban gyakori tricuspidális regurgitáció megszüntetésére is. Szintén lehetőség van a pitvari septumdefektus katéteres úton történő eszközös zárására, mint a valamely, már korábban beültetett műbillentyűk keretei mellett kialakult csatornák eszközös zárására. Az implantált eszközök mindegyike mellett szüksége van valamilyen mértékű véralvadásgátló kezelésre. Az alkalmazandó anticoaguláns és/vagy vérlemezkegátló kezelést többnyire a gyártói ajánlás tartalmazza, így a nagy eszközválaszték miatt, az egyedi protokollok így számosak. Ebben próbál segítséget nyújtani ez az előadás.

## **Coronaria intervenciók: véralvadásgátlás, thrombus aspiráció speciális esetekben**

Dr. Balogh László, Klinikai szakorvos, DEKK Kardiológiai és Szívsebészeti Klinika

A percutan coronaria intervenció (PCI) a leggyakrabban végzett invazív kardiológiai beavatkozás. PCI esetén a procedúra alatt továbbra is nem fracionált heparin (UFH) adása javasolt, stent implantatio után a kettős gátlás (DAPT) minden esetben kiemelt fontosságú. A DAPT aspirin és valamilyen P2Y<sub>12</sub> gátló együttes adását jelenti. A DAPT időtartama stabil coronaria betegség esetében 6, míg acut coronaria syndroma (ACS) esetén 12 hónap, mely a vérzéses rizikó alapján módosulhat. A clopidogrel válaszkészség a CYP2C19 polymorphismus miatt egyéni variációkat mutathat, de sem ezen polymorphismus, sem az aggregatio gátló kezelés hatékonyságát vizsgáló laboratóriumi tesztek alkalmazását nem javasolja a jelenleg irányelv. A P2Y<sub>12</sub> gátló választást az eset ischaemiás és vérzéses rizikója alapján egyénileg határozzuk meg, de ACS esetén jelenleg a potens gátlókat (prasugrel, ticagrelor) kell előnyben részesíteni. Egy évet követően egyszeres gátlás (ASA) javasolt, de amennyiben az ischaemiás rizikó magas és a vérzéses rizikó alacsony, akkor kis dózisu rivaroxaban hozzáadása vagy akár a DAPT folytatása megfontolandó. Az ACS esetek mintegy 4-5%-a nem plaque ruptura okozta lokális thrombus képződés, hanem coronaria embolia miatt alakul ki. Jelenleg ezen a betegcsoport kezelésének nincs hivatalos irányelve és amennyiben az ACS irányelvekben foglalt DAPT kezelést adjuk, akkor az embolia ismétlődése (esetleg stroke formájában) várható. Fontosnak tartjuk az emboliás esetek diagnosztizálását és ha felvételkor ez nem nyilvánvaló az embolia forrásának keresését. A diagnózis felállításában jelentős segítséget nyújt a thrombus aspiráció, melynek rutinszerű alkalmazását azonban a jelenlegi irányelvek nem támogatják. Coronaria embolia esetén racionális érvek szólnak az anticoaguláns kezelés (akár DAPT nélkül) mellett. A fentiek alapján az irányelveknek megfelelő, de mégis személyre szabott kezelés megválasztása időnként nem könnyű feladat.

## A XIII-as véralvadási faktor, mint celluláris transzglutamináz

<sup>1</sup>Somodi L, <sup>2</sup>Horváth E, <sup>3</sup>Bárdos H, <sup>4</sup>Beke Decreceni I, <sup>5</sup>Kis G, <sup>6</sup>Cozzolino M, <sup>1</sup>Baráth B, <sup>7</sup>Pethő D, <sup>1</sup>Katona É, <sup>7</sup>Balla J, <sup>4</sup>Kappelmayer J, <sup>5</sup>Antal M, <sup>6</sup>Panyi G, <sup>8</sup>Mutch N, <sup>1</sup>Muszbek L.

<sup>1</sup>Division of Clinical Laboratory Science, Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, <sup>2</sup>Pathology Service, County Emergency Clinical Hospital of Targu Mures, 50 Gheorghe Marinescu Street, 540136 Targu Mures, Romania, <sup>3</sup>Department of Public Health and Epidemiology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, <sup>4</sup>Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, <sup>5</sup>Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, <sup>6</sup>Department of Biophysics and Cell Biology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, <sup>7</sup>Division of Nephrology, Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary, <sup>8</sup>Aberdeen Cardiovascular and Diabetes Centre, Institute of Medical Sciences, School of Medicine, Medical Sciences and Nutrition, University of Aberdeen, Aberdeen, UK.

A vérplazmában lévő XIII-as faktor két potenciálisan aktív pro-transzglutamináz A alegységből (FXIII-A) és két enzimatikusan inaktív védő B alegységből (FXIII-B) álló heterotetramer. A véralvadás aktivációja során keletkezett trombin és a plazmában lévő Ca együttes hatására a kétfajta alegység disszociál és FXIII-A átalakul aktív transzglutaminázzá, amely a fibrint egyes glutamin és lizin oldalláncait izopeptid kötésekkel összekötve stabilizálja. Mintegy 80 évvel ezelőtt Buluk, egy lengyelül megjelent közleményben trombocitákban, mi magunk 30 évvel később 1985-ben egy másik sejttypusban, monocitákban és makrofágokban mutattuk ki először a FXIII A alegységét (celluláris transzglutamináz; cFXIII). Azóta e sejttypusban a FXIII-A expresszióját és funkcióját jónéhány tanulmányban vizsgálták. Most a trombocitákkal és monocitákkal/makrofágokkal végzett vizsgálatosorozatunk legutóbbi eredményeiről számolunk be.

Trombocitákon azt vizsgáltuk, hogy receptor mediálta és nem receptor mediálta aktiváció során externalizálódik-e az eredetileg intra-citoplazmatikus cFXIII. Immunfluoreszcens és immunelektronmikroszkópos technikákkal kimutattuk, hogy konvulxinál és trombinál indukált receptor mediálta aktiváció hatására a trombociták 60%-nak felszínére transzponálódott a cFXIII. A membránstruktúrájukat megőrzött, aktiváció során képződött mikropartikulák felszínén is megjelent a cFXIII, de jelenléte a membrán nélküli citoplazmatikus fragmenteken még sokkal intenzívebb volt. A RhoA inhibitor, Rhosin lényegesen csökkentette a cFXIII transzlokációt. Nem receptor mediálta, kalcimicin indukálta aktiváció a citoplazma Ca<sup>2+</sup> koncentrációját lényegesen megemelte, de cFXIII transzpozíciót nem tudott kiváltani.

Egy másik sejttypus, amely jelentős mennyiségű FXIII-A-t tartalmaz a monocita/macrofág sejt vonal, ill. utóbbi transzformált alakjai. Az ateroszklerózis szempontjából igen jelentős a makrofágok habos sejtekké történő átalakulása, melynek során, amint azt ELISA és Western-blot technikákkal kimutattuk a makrofágok cFXIII tartalma mintegy megduplázódik. Ez a jelenség makrofág-specifikus, a vaszkuláris simaizom sejtek habos sejtekké történő átalakulása nem indukál FXIII-A expressziót. A FXIII-A tartalmú makrofágok az ateroszklerotikus plakk egyik meghatározó, oxidált LDL-t felvevő sejttypusai. FXIII-A az extracelluláris kompartmentben is kimutatható. Izopeptid kötések detektáló

antitestekkel bizonyítottuk, hogy a FXIII a plakkban aktív formában funkcionál és részt vesz a strukturájának a kialakításában.

**MTHT 2024, Mátrafüred**  
**Haemophilia A profilaxis – a jelen gyakorlata**

Előadó: Dr. Nemes László

Munkahely, Osztály, Város: **Észak-Pesti Centrumkórház - Honvédkórház, Országos  
Haemophilia Központ és Haemostasis Szakrendelés, Budapest**

Bevezetés: A haemophilia A betegségben szenvedő páciensek kezelésére a közeli jövőben többféle hatásmechanizmusú kezelések is rendelkezésre állnak majd. A jelen ellátás gerincét azonban a súlyos és középsúlyos betegek folyamatos VIII faktor profilaxisa képezi. Már jelen gyakorlatunkban is többféle előállítási módszerrel készült és eltérő farmakokinetikai paraméterekkel jellemezhető VIII faktor készítményeket használhatunk hazánkban.

Anyag és módszer: A szerző az előadás keretében jellemzi a plazmaeredetű (PD-FVIII) és rekombináns (rFVIII) standard felezési idejű (SHL-FVIII), valamint meghosszabított felezési idejű (EHL-FVIII) koncentrátum típusokat. Elemzi a közepesen súlyos és súlyos haemophilia A betegségben alkalmazott profilaxis céljait, intenzitási fokait, konkrét protokolljait, valamint a prevenció személyre szabásának lehetőségeit. Saját példákkal és esetismertetésekkel illusztrálva ismerteti a Bayes-i populációs alapú farmakokinetikai modellezés lehetőségeit és a hasonló elveken nyugvó betegcentrikus applikációkat.

Következtetés: Amint azt a profilaxissal rendelkezésre álló saját- és nemzetközi tapasztalat és publikált adatok is igazolják, a hagyományos és még inkább a hosszított felezési idejű FVIII készítményekkel végzett individualizált profilaxis hatékony eszköz a mai korszerű A haemophilia ellátásban.

## ABSTRACT

### ***Az efanesoctocog alfa, mint új lehetőség a Hemophilia A kezelésére***

*Szegedi István, DEKK, Gyermekgyógyászati Intézet, Gyermek Hematológia-Onkológia*

**Bevezetés:** A Hemophilia A ritka betegség. Jelenlegi standard kezelése a hiányzó FVIII rendszeres intravénás pótlása. A rendelkezésre álló standard készítményekkel történő kezelés egyik legnagyobb hátránya a rövid féléletidejük, mely szükségessé teszi 2-3 naponta történő i.v. alkalmazásukat, mely jelentős terhet jelent a beteg számára, csökkentve életminőségüket, kezelési adherenciájukat.

**Megbeszélés:** A jelenlegi kezelés, gyógyszerfejlesztés célja, hogy a standard kezeléssel járó hátrányokat kiküszöbölje, lehetővé téve a ritkább faktoralkalmazást, a lehetőség szerinti subcután adagolást, javítva a beteg megelégedettségét. A Hemophilia A kezelése jelentős változásokon megy át jelenleg, a bispecifikus antitest kezelés térnyerésével, elsősorban az inhibitoros betegekben, de számos egyéb nem-faktor alapú kezelés, így az antithrombin, vagy a szöveti faktor útvonal-inhibitor gátlása is közvetlen klinikai bevezetés előtt áll. A jelenlegi faktor-alapú kezelésekből a hosszított hatású pegylált, Fc fúziós készítmények, különösen a PK-alapú személyre szabott alkalmazással javulást hoztak ritkább adagolásuk és magasabb FVIII-völgyértéket biztosító tulajdonságuk révén, azonban a hatás mérsékelt a mindössze 1.5x-es féléletidő meghosszabodás okán.

A klinikai bevezetés előtt álló innovatív efanesoctocog alfa alkalmazza mind az Fc fúzió, mind a pegylációhoz hasonló hatékonyságú XTEN-polypeptid oldallánc eredményezte féléletidő meghosszabbítás módszerét, melyen túl új megközelítésként a FVIII- Willebrand D'D3 régiójával kialakított kovalens kötést alkalmazza. Eredményeként egy mintegy 5x-ös a féléletidő megnyúlás, az eredeti FVIII molekula 8-12 órás féléletidejéhez képest ~37h-ás a féléletidő, 4-5 napig 40% feletti, 7-10. napon pedig 10% feletti faktor völgy szintekkel. Az XTEND vizsgálatokban alkalmazása biztonságosnak és hatékonyan bizonyult alacsony vérzés ráta (ABR) mellett.

**Összefoglalás:** Előadásomban ismertetem az új, innovatív faktoralapú terápia, az efanesoctocog alfa tulajdonságait, pontos hatásmechanizmusát, a klinikai tanulmányok eredményeit, a betegek és a kezelőorvos számára nyújtott előnyöket.

ABTRACT

**Az szöveti-faktor útvonal inhibitor (TFPI) gátló kezelés fázis 3 vizsgálata során szerzett tapasztalatok**

*Szegedi István, DEKK, Gyermekgyógyászati Intézet, Gyermek Hematológia-Onkológia*

**Bevezetés:** A Hemophilia ritka betegség. Jelenlegi standard kezelése a hiányzó FVIII/FIX rendszeres intravénás pótlása, mely hatékony, de számos hátránnyal rendelkezik, így a gyakori 2-3 naponta szükséges intravénás alkalmazás, mely jelentős terhet jelent a beteg számára, csökkentve életminőségüket, kezelési adherenciájukat.

**Megbeszélés:** A hatányok kiküszöbölésére a ~1.5x-es felezési idejű hosszított készítmények (EHL) mellett egyre nagyobb teret nyernek a nem-faktor alapú kezelések, melyek ritkább alkalmazást, kényelmesebb subcután adagolást biztosítanak, javítva a beteg megelégedettségét, mintahogy a Hemophilia A kezelésében a bispecifikus antitest kezelés, elsősorban az inhibitoros betegekben. Számos egyéb nem-faktor alapú kezelés, így az antithrombin, vagy a szöveti faktor útvonal-inhibitor (TFPI) gátlása is közvetlen klinikai bevezetés előtt áll.

A *concizumab* egy anti-TFPI, magas affinitású humanizált IgG<sub>4</sub> típusú monoklonális antitest. Potenciálisan Hemophilia A és B esetén is alkalmazható, kényelmes subcután adagolás lehetőségével. A TFPIa és TFPIb Kunitz-2 doménjéhez kötődve helyreállítja a thrombin generációs potenciált. A fázis1-fázis3 Explorer vizsgálatokban inhibitoros, és nem-inhibitoros hemophiliás betegekben hatékonyan bizonyult alacsony éves vérzés ráta (ABR) mellett, illetőleg biztonságosnak bizonyult, alkalmazása mellett nem volt thrombemboliás szövődmény.

**Összefoglalás:** Előadásomban röviden ismertetem az új, nem faktoralapú kezelés lehetőségeit, a concizumab hatásmechanizmusát, illetőleg a fázis3 Explorer7 hosszútávú követéses vizsgálat hatékonysági és biztonságossági eredményeit.

## **A perzisztáló és a krónikus ITP korszerű kezelése**

Kovács Gábor, Erdélyi Dániel, Tatai Gábor, Müller Judit

Semmelweis Egyetem, Gyermekklinika, Tűzoltó Részleg

A gyermekkori ITP 70-80 %-a fél éven belül meggyógyul.

Az elhúzódó esetekben új terápiás szerek és új megközelítések alakultak ki az elmúlt évtizedben.

A korábbi szteroid és immunszuppresszív szerek mellett, ma már a trombopoetin receptor agonisták számítanak a korszerű kezelésnek. Az első generációs készítmények (romiplostin, eltrombopag) a krónikus esetek legalább kétharmadában hatékonyak. A per os adható eltrombopag már gyerekeknek szóló törzskönyvvel is rendelkezik, szabadon felírható. A készítmények mellékhatásai nem kifejezettek, csak néhány esetben fordul elő májfunkciós zavar, vagy esetleg idegrendszeri tünet. Saját adataink alapján 53 %-ban (romiplostin) és 83 %-ban (eltrombopag) voltak a készítmények hatékonyak ( $p=0,09$ ). Az új generációs avatrombopag jelenleg klinikai tanulmány fázisában van, de egyedi méltányossággal gyermekeknek is rendelhető. Az első 5 betegünk adatai alapján igen hatékonyak tűnik.

A korábban gyakori splenectomiára manapság már alig kerül sor.

Vannak új szerek is a láthatáron, melyek más támadásponttal, felnőttekben már biztató eredményeket mutatnak (fostatinib, rozanoluxinib, bruton-kináz gátlók).

Összefoglalva, az elmúlt évtizedben jelentős áttörés történt az ITP kezelésében, az új szerekkel a betegek életminősége és gyógyulási esélye jelentősen javulhat.



## **Súlyos A haemophiliás (PUP) kisgyermekek simoctocog alfa készítménnyel történő korai kis dózisu, inhibitor képződés megelőző profilaxisa Magyarországon**

Kardos Mária<sup>1</sup>, Zombori, Marianna<sup>2</sup>, Gancsev Mária<sup>3</sup> Hunyadi Katalin<sup>4</sup>, Lantai Szilvia<sup>5</sup>, Kassay Anett<sup>6</sup>, Molnár Katalin<sup>7</sup> Ottóffy Gábor<sup>8</sup>, Szegedi István<sup>9</sup>, Tiszlavicz Lilla<sup>10</sup>, Tóth Beáta<sup>11</sup> Kiss Csongor<sup>12</sup>  
PTE KK Mohácsi Kórház Mohács<sup>1</sup>, Heim Pál Országos Gyermekgyógyászati Intézet Budapest<sup>2</sup>,  
OVSZ Veszprém<sup>3</sup>, Velkey László Gyermek Egészségügyi Központ Miskolc<sup>4</sup>, OVSZ Szombathely<sup>5</sup>,  
Jósa A Kórház Nyíregyháza<sup>6</sup>, OVSZ Győr<sup>7</sup>, PTE KK Gyermekgyógyászati Klinika<sup>8</sup>, Debreceni  
Egyetem Gyermekklinika<sup>9</sup>, Szegedi Tudományegyetem ÁOK Gyermekgyógyászati Klinika<sup>10</sup> Kaposi  
Mór Oktató kórház Kaposvár<sup>11</sup> Debreceni Egyetem Gyermekklinika<sup>12</sup>  
Email: kardos.maria@pte.hu

### Bevezetés:

Az inhibitor képződés jelenleg is a haemophilia ellátás egyik legnagyobb problémája.

A német gyermekgyógyászok által kidolgozott és hazánkban is alkalmazott „Bréma-München „ protokoll az inhibitor képződés kockázatának csökkentését célozta meg. A kezelés lényege FVIII-cal szembeni tolerancia kialakítása a „danger signal hatások” egyidejű kivédésével. 2008.szeptember-2017.május között 38 súlyos A haemophiliás, korábban még nem kezelt (PUP) kisgyermeket kezeltünk emlős sejtvonalon előállított 2. ill. döntően 3. generációs rekombinálat FVIII(rFVIII) készítménnyel. 33/38 esetben nem, míg 5/38 esetben immuntolerancia indukciót (ITI) igénylő high titer inhibitor alakult ki. A kumulatív inhibitor incidencia 13 %. volt. 2017-ben került közlésre. a humán sejtvonalon előállított simoctocog alfa kedvező immunogenitása. Ennek ismeretében azt vizsgáltuk, milyen a FVIII ellenes ellenanyagok előfordulása simoctocog alfával történő korai kis dózisu profilaxis mellett.

Az előadás a vizsgálatok interim eredményeit összegzi, összehasonlítva azt az emlős sejtvonalon előállított rFVIII adásával nyert eredményekkel.

### Beteganyag:

A vizsgálat tervezett időtartama: 5 év (2018. márciusától 2023. márciusáig) volt, összesen 40 fő súlyos A haemophiliás PUP bevonásával. Ennek elérésére a vizsgálat 2023.januárjában meghosszabbításra került.

2018. májusától 2024. áprilisáig 11 magyarországi haemophilia központban 25 súlyos A haemophiliás PUP kisgyermek került bevonásra, 23 fő adatait értékeltük. A rendszeres profilaxis átlagosan 11 hónapos korban, átlagosan 2 expozíciós napot követően 25 NE/ttkg human-cl rhFVIII adásával kezdődött, hetente egy alkalommal, mindig a hét azonos napján, perifériás vénába. Az immunológiai „danger signal” hatásokat és kezelés megszakítását kerültük.

### Eredmények:

A 5/23 betegben alakult ki inhibitor: 2/5 fő high titer, 1/5 fő low titer, 2/5 fő tranziens inhibitor. Kumulatív inhibitor incidencia: 13 % A high titer inhibitorosok egyikében sikertelen, másokban eddig sikeresnek tűnő ITI történt. A low titer inhibitor terápia módosítás nélkül megszűnt.

### Következtetés:

Kizárólagosan rFVIII készítménnyel történő kis dózisu profilaxis az immunológiai „danger signal” hatások kivédése mellett csökkenti az inhibitor képződés kockázatát. Az al csoport analízissel a humán ill. emlős sejtvonalon előállított rFVIII kezeléssel a kumulatív inhibitor incidencia azonos volt (13%). A végleges következtetéshez az esetszám növelése szükséges.