

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

VELESZÜLETETT ÉS SZERZETT RITKA
HEMOSZTÁZIS BETEGSÉGEK PATOGENETIKÁJÁNAK
VIZSGÁLATA, DIAGNOSZTIKÁJÁNAK ÉS
TERÁPIÁJÁNAK FEJLESZTÉSE

BODÓ IMRE

Semmelweis Egyetem

Belgyógyászati és Hematológiai Klinika

Budapest, 2024

TARTALOMJEGYZÉK

Bevezetés, háttér	3
I. A von Willebrand betegség	3
A VWB jellemzése, molekuláris patogenezise	3
A VWB diagnosztikájának fejlesztése.....	7
A VWB helyes kezelése	8
II. A szerzett inhibitoros hemofília kezelése	8
III. Tromboembóliás betegségek vizsgálata.....	9
Vénás tromboembóliák.....	9
Trombotikus mikroangiopatiák.....	10
Célkitűzések.....	11
Betegek, módszerek.....	13
Eredmények és következtetések	15
I. A von Willebrand betegség	15
A VWB jellemzése, molekuláris patogenezise	15
A VWB diagnosztikájának fejlesztése.....	19
A VWB helyes kezelése	21
II. A szerzett inhibitoros hemofília kezelése	21
III. Tromboembóliás betegségek vizsgálata.....	22
Vénás tromboembóliák.....	22
Trombotikus mikroangiopatiák.....	24
Összefoglalás, új eredmények	25
KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	28
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	33

BEVEZETÉS, HÁTTÉR

A hemosztázis – ez az összetett, és minden részletében még nem is egészen megfejtett szabályozás alatt álló rendszer – meghibásodása súlyos betegségek kialakulásához vezet akkor is, ha alulműködik és akkor is, ha túlműködik. Érdekes filogenetikai kérdéseket is fölvet, hogy a rendszer alulműködése, a vérzékenység, a ritka betegségek közé tartozik, míg túlműködése, a tromboembóliás betegségek köre a civilizált világban az egyik vezető halálok. Mindazonáltal, az igazán súlyos trombózishajlam gyakran szintén ritka betegségek következménye. A hemosztázis kutatás a rendszer részleteinek pontosabb megértését, illetve az így szerzett ismereteknek a betegek gyógyításába való beillesztését szolgálja. A disszertációban a hemosztázis kérdéseit vizsgáló munkáimat foglaltam össze. E kutatás több évtizedes munka eredménye, melyet részben az Egyesült Államokban, részben idehaza, Magyarországon végeztem. A bevezetésben áttekintem a vizsgált terület hátterét, hogy jobban megvilágíthassam kutatásaim célját.

I. A von Willebrand betegség

A von Willebrand betegség (VWB) a leggyakoribb veleszületett vérzékenység. A betegséget okozó genetikus defektus a von Willebrand faktort (VWF) érinti, amely a primer és szekunder hemosztázisban egyaránt fontos szerepet játszó plazma glikoprotein. Ezért a von Willebrand betegségben mindkét védelmi vonal sérülhet. A betegség tünettana a tünetmentes állapottól a súlyos vérzékenységig változhat.

A VWB jellemzése, molekuláris patogenezeise

A nagy molekulatömegű VWF multimerok jelenléte feltétlenül szükséges a normál trombocita adhézió létrejöttéhez. A multimer képzés komplex folyamat, mely két egymást követő helyszínen (előbb az endoplazmás retikulumban [ER] dimerizáció, majd a Golgiban a dimerek egymáshoz kapcsolása révén

multimerizáció) következik be. Miután a frissen szintetizált prepro-VWF az ER-ba került, a dimerizáció a carboxi-terminális, ún. CK (*cistine knot*, cisztin csomó) domének közötti diszulfid hidak segítségével jön létre („*tail-to-tail*”). A CK domén speciális szerkezetű fehérje-részlet, melyhez hasonló (analóg) domének más proteinek dimerizációjában is szerepet játszanak. A CK térszerkezetet hat cisztein között létrejött diszulfid híd rendszer stabilizálja. E ciszteinek valamennyi CK doménnel rendelkező fehérjében rögzített pozícióban vannak. Sorrendben 2-es és 5-ös, valamint a 3-as és 6-os ciszteinek közötti diszulfid hidak egy gyűrűt alkotnak, melyen keresztül, a gyűrűt „penetrálva” létesül a harmadik diszulfid kötés az 1-es és 4-es cisztein között – innen a csomó elnevezés. Két CK domén dimerizációjáért a fentiekén túli, nem rögzített pozíciókban található ciszteinek felelősek.

A dimerizáció kulcsszerepet játszik a VWF bioszintézisében, és defektusai súlyos vérzékenységhez vezetnek (2A altípus, IID variáns). A dimerizációs zavarhoz vezető mutációk mind a VWF molekula C-terminális szakaszán található. A ***dimerizáció részletei***, és ezáltal a IID mutációk patomechanizmusa azonban még nem voltak ismertek kutatásunk idejében.

Az ER-ból csak azok az alegységek folytathatják útjukat a Golgi felé, amelyek (1) helyesen dimerizálódtak, és (2) megfelelő módon tekeredtek fel (*foldig*) valamint (3) megfelelően vannak glikozilálva. A hibás alegységek, és nem dimerizált monomerek visszatartása fontos szerepet játszik mind a kvantitatív, mind a kvalitatív VWF defektusok kialakulásában. A VWF ***monomerek/dimerek retenciójának és degradációjának*** pontosabb mechanizmusa azonban még nem volt ismert.

A szintetizált von Willebrand faktor részben tárolásra kerül az endotél sejtek Weibel-Palade testjeiben, részben folyamatosan szekretálódik az időközben lehasított propeptiddel ekvimoláris arányban. A propeptid és a VWF multimerek clearance-e egymástól független, ezért az emelkedett ***propeptid/VWF arány*** jelzi a VWF fokozott clearance-ét. A sejtek a tárolt

VWF-t különböző fiziológiás vagy terápiás (pl. DDAVP) behatásokra szintén kibocsátják a plazmába.

A szekretált plazma VWF multimer nagysága szoros szabályzás alatt áll. A frissen szekretált igen nagyméretű multimerok hasítása az A2 domén Tyr¹⁶⁰⁵–Met¹⁶⁰⁶ aminosavai között, az ADAMTS13 nevű metalloproteáz által történik. E szabályzás fontosságát mutatja, hogy ha mutáció következtében a VWF fokozottan érzékennyé válik e hasításra, akkor súlyos veleszületett vérékenység jön létre (2A típusú von Willebrand kór, IIA variáns), míg az enzim veleszületett vagy szerzett hiánya a szintén életveszélyes trombotikus trombocitopéniás purpurát (TTP) eredményezi. A fentiek jól mutatják, hogy a VWF szintézisének számos részletét ismerjük. Ezzel szemben a plazma VWF katabolizmusa még részleteiben kevésbé ismert, illetve alig volt ismert kutatásunk idejében. Pedig a plazma VWF szint nyilvánvalóan a **szekréció és clearance eredőjeként jön létre, egy bonyolult összjáték során**, melynek részletei fontos kutatási célt szolgáltattak.

A von Willebrand kór osztályozása kvalitatív (2-es típus), és részleges (1-es típus) vagy teljes (3-as típus) kvantitatív VWF hiánnyal járó defektusokat különböztet meg. Míg a kvalitatív defektusok molekuláris patomechanizmusa elég jól ismert, a kvantitatív zavarok számos izgalmas részlete tisztázatlan, bár a kvantitatív zavarok mérsékelt formája (1-es típusú VWB) a leggyakoribb VWB változat, melyet a strukturálisan ép VWF csökkent szintje okoz. Az egyszerűnek hangzó definíció ellenére mégis ennek a típusnak molekuláris oka volt ismeretlen legtovább. Az 1-es típusú VWB legalább két altípusra osztható: A betegek nagyobb részénél a betegség penetranciája alacsony, és súlyossága egyazon családon belül is változó. A betegek egy kisebb csoportját igen alacsony VWF antigén szintek (<15-20%) mellett magas penetrancia és nyilvánvalóan domináns öröklődésmenet jellemzi. Vizsgálatainkat ez utóbbi csoportra összpontosítottuk. A nagy penetranciájú súlyos 1-es típusú VWB vizsgálata szükségessé tette annak a kérdésnek megválaszolását, hogy

populáció szinten 1) *milyen gyakori a súlyos magas penetranciájú 1-es típusú VWB*, és 2) *milyen mutációk* állnak háttérben.

A VWF molekula óriási mérete akadály a közvetlen molekuláris vizsgálatoknak, ezért a VWF kisebb szakaszait tartalmazó molekuláris modellek szükségesek a megismeréshez – ilyen modell kidolgozása volt az egyik feladat. Nem volt pl. ismert a vizsgálatok kezdetekor, hogy a domináns öröklődésmenet háttérben álló egyetlen hibás gén hogyan eredményezi a betegekben megfigyelt vérzékenységhez vezető, gyakran 20 % alatti VWF szintet. Ugyanis az egyik allél teljes hiánya is csak 50 %-os VWF plazmaszint-csökkenéssel jár, ami még nem okozna vérzékenységet. Ezt a problémát is a *molekuláris modell* segítségével lehetett megközelíteni.

Szintén homály fedte az egyik 1-es típusú variáns, a Vicenza variáns kialakulásának módját. A Vicenza variáns a magas penetranciájú súlyos 1-es típusú VWB speciális esete. Először Olaszország hasonló nevű tartományában írták le. Alacsony VWF szint, magas penetrancia, és érdekes módon a plazmában igen nagyméretű (*ultra-large* – UL) multimerek jelenléte jellemzi. Egy munkacsoport a Vicenza családokban *fokozott a VWF clearance-t* talált, mások ezt vitatták, de az *UL-VWF multimerek* jelenlétére nem volt magyarázat. A komplex kérdéskör megértéséhez nem állt rendelkezésre *megfelelő matematikai modell*.

Végül a teljes VWF hiányt okozó 3-as típusú betegségben is vannak nyitott kérdések, bár a betegséget okozó mutációk természete jól ismert: ezek általában fehérje-termeléssel össze nem egyeztethető korai stop kodont eredményező (*nonszensz*), kereteltolódást okozó (*frameshift*), vagy intron kivágódási helyet érintő (*splice site*) mutációk, illetve ritkán parciális vagy teljes nagy deléciók. A 3-as típusú von Willebrand betegség genetikai háttere kutatásunk idejében az addig vizsgált populációkban heterogén mutációkból tevődött össze. 1-2 családot érintő halmozódástól eltérően egyetlen ismétlődő mutációt írtak le a Baltikum környékén fekvő országokban, a 18-as exonban lévő c.2435delC

kereteltolódással járó inszerciót. Nagyméretű deléciók az ismert mutációk igen csekély hányadát (<10%) képezték, viszont homozigóta formában e nagyméretű deléciók szinte minden leírt esetben alloimmunizációval jártak, ami nemcsak hatástalanná teszi a faktorkészítmények adását, de sokszor életveszélyes anafilaxiás reakciót is okoz. **Magyarországon a 3-as típusú betegség genetikája** ismeretlen volt: Magyarország fehér folt volt a von Willebrand betegség genetikájának térképén. Továbbá, a mutációk létrejöttének okait is csak részben ismertük. Miután Magyarországon vizsgálataink nyomán a 3-as típusú VWB betegpopuláció genetikailag is jól karakterizált lett, munkacsoportunkat bevásárolták az Európai Von Willebrand munkacsoportba, és a Steering Committee tagjaként alkalmam volt bekapcsolódni egy nagy nemzetközi vizsgálatba, mely a 3-as típusú VWB addig kevésbé ismert vérzéses tüneteit kutatta (Type 3 von Willebrand International Registries Inhibitor Prospective Study, **3WINTERS-IPS**). Általánosságban véve a 3-as típusú VWB súlyos vérzékenységgel jár, de az egyes betegek vérzéses manifesztációi között igen nagyok a különbségek. Mivel ez ritka betegség, valódi tüneti összefüggések felismerését csak nagy számú beteget magában foglaló nemzetközi vizsgálat tesz lehetővé.

A VWF diagnosztikájának fejlesztése

A VWF biológia tanulmányozásának egyik fő gyümölcse a VWB betegek diagnosztikájának javítása. Munkacsoportunk ezekből az alkalmazott (transzlációs) kutatásokból is kivette részét – e munkákat ebbe a fejezetbe tömörítettem.

A VWF aktivitást hagyományosan a ristocetin kofaktor aktivitással (VWF:RCo) mértük. Azonban a VWF:RCo módszernek számos komoly hátránya van. Nem eléggé szenzitív, éppen az alacsony tartományokban (<10 IU/dL), ahol a legfontosabb lenne, nem tudunk vele mérni. Ráadásul a VWF:RCo igen pontatlan is, a mérések variációs koeficiense akár a 20–30%-ot

is eléri. Emiatt újabb, precízebb módszereket fejlesztettek ki. Bár az új módszerek pontossága és reprodukálhatósága lényegesen jobb a VWF:RCo metodikánál, ezek a módszerek eltérő mérési elveket alkalmaztak, egymással és az eredeti VWF:RCo méréssel való összehasonlíthatóságuk kérdéses volt annak ellenére, hogy a piacon már megjelentek, és a klinikai laborok széles körben alkalmazzák őket. Vizsgálataink kezdetekor már legalább 5 különféle mérési elvet használó VWF aktivitást mérő módszer létezett a piacon. A sokféle aktivitás mérés zűrzavarral fenyegetett mind a laborosok mind a klinikusok számára, mivel a VWB diagnosztikája a klinikai képen és az öröklődésen túl döntően függ a VWF aktivitás meghatározástól. Továbbá, a szakemberek sem lehettek tisztában azzal, hogy e módszerek hogyan viszonyulnak egymáshoz és az eredeti VWF:RCo aktivitáshoz. Vizsgálataink egy jelentős része éppen azzal foglalkozott, hogy a zűrzavarban rendet teremtsünk, illetve a **mérések összehasonlítását** elvégezzük.

A VWB helyes kezelése

A VWB klasszifikációja komplex patofiziológiai ismeretekre épül, amelyek elmélyült tanulmányozást igényelnek. Viszont a klinikusoknak a betegek mindennapi problémái kezeléséhez szüksége van tömör, **gyakorlati útmutatást** nyújtó összefoglalásokra, illetve irányelvekre. Ezért a nemzetközi VWB munkacsoporttal karöltve irányelvek kidolgozását láttuk szükségesnek.

II. A szerzett inhibitoros hemofília kezelése

A szerzett hemofília A (acquired hemofília A, AHA) súlyos szerzett vérzékenység, melyet a 8-a faktor (FVIII) ellen irányuló autoantitestek okoznak. A betegség mortalitása kezeletlen esetekben a 20%-ot is eléri. A vérzés elállításán kívül a kezelés másik alappillére az immunszuppresszió. Jelenleg nincs általánosan elfogadott irányelv az immunszuppresszió választandó módjáról, és a nemzetközi felmérések szerint első vonalban

leggyakrabban alkalmazott szteroid kezelés, melyet második vonalban cyclofoszfamiddal vagy rituximabbal egészítenek ki, több szempontból sem optimális: gyakran nem kellően hatékony, és a hosszas szteroid expozíció maga is jelentős morbiditással és mortalitással jár. Így optimálisabb kezelési eljárásra nyilvánvalóan égetően nagy szükség van. Ez a szükség vezetett egy újszerű megközelítéshez, a rögtön első vonalban alkalmazott három gyógyszer (Cyclofoszfamide, Dexamethason és Rituximab) lökésszerűen alkalmazó, de egyúttal limitált szteroid-expozícióval járó protokoll (**CyDRi**) bevezetéséhez. Vizsgálataim kezdetén nem volt még tapasztalat ezzel a kezelési sémával.

III. Tromboembóliás betegségek vizsgálata

Vénás tromboembóliák

A vénás tromboembólia (VTE) nemcsak a halálozás egyik vezető oka a civilizált világban, de a kórházi halálozás legfontosabb megelőzhető okának is tartjuk. A VTE esemény kiváltó oka (pl. trauma, műtét, immobilizáció, vagy daganatos betegség) nem mindig nyilvánvaló – ezeket a tromboembóliákat kiváltó ok nélkülinek (untriggered), provokátlanoknak hívjuk. Természetes a betegek és kezelő orvosaik részéről a kíváncsiság, hogy vajon mi okozhatta ezt a váratlan eseményt. Erre irányul a trombofilia kivizsgálás. A trombózisok egy részénél ki lehet mutatni valamely veleszületett vagy esetleg szerzett tényezőt, amely a VTE kockázatot ismerten növeli. Amióta ezen tényezők vizsgálata széles körben elérhetővé vált, e vizsgálatok nagy népszerűsége tettek szert a klinikusok körében. Ennek ellenére igen ellentmondásos, illetve kérdéses, hogy a **trombofilia vizsgálati eredmények valóban segítik-e** a betegek kezelésében fontos klinikai döntések meghozatalát.

A trombózishajlam az orvosi kezelés jatrogén következménye is lehet. Az akut limfoid leukémia (ALL) standard kezeléséhez tartozó aszparagináz nemritkán szövődik VTE eseménnyel. Ez nehéz helyzetet teremt, mert a

megelőzés szokásos gyógyszere a kismolekulasúlyú heparin (LMWH) csak antitrombin (AT) jelenlétében hatásos, amely fehérje szintjét az aszparagináz lényegesen csökkenti. Az *aszparagináz VTE szövődményeinek megelőzésére* és kezelésére irányuló stratégiák a DOAC típusú szerek megjelenésével lényeges átalakulás előtt állnak.

A betegek egy kisebb részében nyilvánvalóan valamilyen agresszív trombólizishajlam – trombofilia – áll az esemény hátterében. Ez szinte mindig szerzett betegség, illetve szerzett betegséghez társul. Az *agresszív trombofilia* nem széles körben használt fogalom, az ezzel kapcsolatos megfigyelések, illetve vizsgálatok a kutatás homlokterébe tartoznak (gyulladásos, illetve autoimmun betegségek, anti-foszfolipid szindróma, PNH, MPN), mivel e betegségek különleges odafigyelést, és esetenként külön kezelést is igényelnek.

Trombotikus mikroangiopátiák

A von Willebrand faktor szintézisekor nagy arányban tartalmaz igen nagy (ultra-large, UL) méretű multimereket, melyek „mérétre igazítását” az ADAMTS13 nevű metalloproteáz végzi. Amennyiben ez a funkció kiesik, a túlméretezett és spontán is aktív UL multimerek a mikrocirkulációban trombotikus folyamatot indítanak el, aminek következménye egy életveszélyesen súlyos kórkép, a TTP (trombotikus trombocitopéniás purpura). E betegség leggyakrabban az ADAMTS13 elleni autoimmun folyamat eredménye (iTTP). A betegség azonnali plazmaferezis elkezdését indokolja, amivel a mortalitást igen lényegesen sikerült csökkenteni. Ezen kívül a folyamat visszafordítására azonnali immunszuppresszív kezelés is indokolt – ebben a steroid mellé hatásosnak találták a rituximab hozzáadását. A rituximab elsővonalbeli alkalmazását maga a plazmaferezis teszi kétségesse, hiszen a beadott gyógyszert rögtön kiferetizáljuk. Klinikailag igen lényeges kérdés tehát, hogy a *plazmaferezissel együtt alkalmazott rituximab* vajon milyen mértékben hatásos.

CÉLKITŰZÉSEK

A von Willebrand betegséggel foglalkozó vizsgálatok céljai:

A VWB jellemzése, molekuláris patogeneze

1. A 3-as típusú VWB pontosabb klinikai jellemzése érdekében részt vettünk egy nagy nemzetközi vizsgálatban (3WINTERS-IPS).
2. További fontos célkitűzés volt a 3-as típusú VWB genetikájának hazai feltérképezése.
3. A magyarországi 3-as típusú VWB betegpopulációban talált, és erre a betegcsoportra jellemző nagy deléció molekuláris mechanizmusának tisztázása is célunk volt.
4. Célul tűztük ki a VWF dimerizáció részleteinek pontosabb feltérképezését annak tisztázásával, hogy a ciszteinekben igen gazdag VWF CK doménen belül mely ciszteinek alkotják az intermolekuláris diszulfidkötést, és melyek az intramolekuláris diszulfid hidakat.
5. További fontos célkitűzésünk volt a kvantitatív VWF defektusokon belül a magas penetranciájú súlyos 1-es típusú VWB előfordulási gyakoriságának és molekuláris hátterének megismerése.
6. A súlyos 1-es típusú VWB vizsgálata során talált mutációk közül célul tűztük ki a p.C1130Y és p.C1149R molekuláris patomechanizmusának megfejtését, illetve ennek érdekében kísérletes molekuláris modell létrehozását.
7. További célul tűztük ki a két családban is azonosított p.R1205H aminosavcsere (az ún. Vicenza fenotípus) molekuláris mechanizmusának mélyebb megértését kísérletesen és egy matematikai modell kidolgozása révén.

A VWB diagnosztikájának fejlesztése

8. A VWF aktivitás mérésére szolgáló esszék áttekintését és egységes, a mérési elvet tükröző nomenklatúra kialakítását is feladatul tűztük ki.

9. Fontos cél volt a különféle mérési elveket alkalmazó VWF aktivitás meghatározások összehasonlítása egy objektív, a mintákat vakon elemző multicentrikus vizsgálatban.
10. Külön célként fogalmaztuk meg, hogy a különféle módszerekkel eltérő eredményt mutató minták esetében utánajárjunk a különbség okainak.

A VWB helyes kezelése

11. Végül célul tűztük ki a VWB kezelésével kapcsolatos elvek összefoglalását, gyakorlati irányelv összeállítását a klinikusok számára.

A szerzett inhibitoros hemofiliával kapcsolatos célkitűzések

12. Célunk volt újszerű és egységes kezelési eljárás kidolgozása a szerzett inhibitoros hemofília (AHA) immunszuppressziójának biztosítására.
13. Célunk volt az általunk kidolgozott CyDRi immunszuppresszió hatékonyságának összehasonlítása az irodalmi adatokkal.

Tromboembóliás betegségekkel kapcsolatos célkitűzések

Vénás tromboembóliák

14. Mennyiben segítik a trombofília vizsgálatok e betegek kezelésének vezetését?
15. A trombózishajlam okainak vizsgálata SLE-ben.
16. Mi a legmegfelelőbb stratégia az aszparagináz kezeléssel járó trombózis kezelésére és megelőzésére?
17. A PNH, az egyik legagresszívebb trombofília, kezelési irányelveinek kidolgozása Közép-Európában

A trombotikus mikroangiopátiákkal kapcsolatos célok

18. iTTP-ben szenvedő betegek kezelésére szimultán alkalmazható-e a plazmaferezis és a rituximab?

BETEGEK, MÓDSZEREK

Betegek.

Az **1-es típusú VWB** populáció vizsgálatához a Debreceni Egyetem regiszterét használtuk. Itt 257 ilyen beteget tartottak számon. A vizsgálat a kórlapok retrospektív áttekintésével kezdődött. **221** beteg családjából egyetlenként szerepelt a regiszterben – velük ebben a vizsgálatban nem foglalkoztunk. A fennmaradó 36 beteg közül 5 családot lehetett kiválasztani, akikre illett a nagy penetranciájú súlyos VWB definíciója. Tőlük a következő vizitkor amúgy is esedékes vérvétel során vettünk vért a genetikai vizsgálatához is. Ehhez az Egyetem ETT engedélye alapján beleegyező nyilatkozatot adtak a betegek. Az egyik család 3 tagjánál DDAVP és Haemate P adás után többszörös vérmintát is vettünk a VWF kinetika meghatározásához. Ezek a betegek korábban vérzések kapcsán már mind kaptak Haemate P-t.

A **3-as típusú VWD** magyarországi vizsgálataihoz a betegeket az országos regiszterben azonosítottuk. ETT engedély alapján minden beteg beleegyező nyilatkozatot töltött ki. A vérvételek az egyébként is esedékes laborvizsgálatok alkalmával történtek. Klinikai adataikat a dokumentációból és személyes anamnézis során gyűjtöttük. A **3WINTERS-IPS** study a magyarországi betegeken kívül számos európai országból és Iránból való betegeket vizsgált. Az egyes országok mind saját etikai bizottságaik és szabályrendszerük szerint a Helsinkii egyezmény szellemében gyűjtötték össze az adatokat és a mintákat, melyeket központilag elemzett a study. A **VWF aktivitás összehasonlító** vizsgálathoz az **53** normál kontroll magyar egészséges véradóktól származott, akik a véradás alkalmával adtak egy-egy cső vért, melyhez az OVSZ előírt beleegyező nyilatkozatát írtak alá. A **42** VWB beteg mind molekulárisan is karakterizált beteg volt. Részben magyarországi, részben olaszországi (Vicenza tartomány) betegek közül válogattuk őket. A **szerezett hemofiliás (AHA)** betegek vizsgálata két intézetből a study periódusban valamennyi (összesen **32**) AHA diagnózissal felvett beteg kórlap adatainak retrospektív analízise alapján készült. A betegek mind azonos protokoll alapján kapták a CyDRI kezelést. Az intézeti Etikai Bizottságok jóváhagyták a retrospektív vizsgálatot.

A „**trombophilia vizsgálat** a mindennapi praxisban” vizsgálathoz az Emory Egyetem adatbázisából azonosítottunk **266** beteget, akik a vizsgált periódusban VTE esemény miatt álltak kezelés alatt. A kórlapok retrospektív analízisét az intézeti Etikai Bizottsága (IRB) engedélyezte.

Az **SLE trombophilia** vizsgálat a vizsgálati idő alatt valamennyi (**105**) megjelent SLE diagnózissal gondozott betegről beleegyező nyilatkozat után levett vérminta analízise alapján készült. Az **aszparagináz okozta trombózis** kezelése egyetlen eset bemutatása, és az újszerű kezelés felvételése. Végül a TTP rituximab study három eset bemutatása. Az adat- és mintagyűjtés az Emory Egyetem intézeti IRB engedélye alapján készült beleegyező nyilatkozat aláírása után történt. Valamennyi beteg esetében a Helsinkii Nyilatkozat szellemében jártunk el.

Klinikai Laboratóriumi módszerek.

A **VWF antigén** szintjét ELISA módszerrel vagy automatizált immunoturbidimetriával mértük. Az összehasonlító vizsgálat laboratóriumi a **VWF:RCo** (liofilizált trombociták ristocetin-aggregációjának meredekségéből számolva) meghatározáson kívül a következő aktivitási méréseket is végezték: **VWF:GPIbR** (IL HemosIL[®] Von Willebrand Factor Ristocetin Cofactor Activity [Instrumentation Laboratory, Bedford, USA]; IL HemosIL[®] AcuStar Von Willebrand Factor Ristocetin Cofactor Activity); **VWF:GPIbM** (INNOVANCE[®] VWF Ac [Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Németország]); és **VWF:Ab** (IL, HemosIL[®] von Willebrand Factor Activity). Továbbá, két labor házi ELISA esszét is használt (VWF:GPIbR és VWF:GPIbM). Az **alvadási faktor szintek** mérését standard egyfázisú teszttel végeztük. A DDAVP válaszhoz a mintákat 0, 30', 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 és 24 óra időpontokban vettük le. A **Bethesda titer** meghatározás a Nijmegen módszerrel történt. A VWF **multimer analízis** sodium dodecyl sulfate (SDS)-agarose (1.5%) gél elektroforézis és Western blott technika összkapcsolásával történt. A multimereket nyúl poliklonális torma peroxidázal jelölt antihuman VWF antitestek segítségével egy kemilumineszcenciát érzékelő rendszerben jelenítettük meg. Az **ADAMTS13** aktivitás és inhibitor titer meghatározás fluorescens energia transfer módszerrel

történt, ahol substrátként a VWF73 megnevezésű peptidet használtuk (kereskedelmi forgalomban lévő kit).

A **trombophilia panel** a piacon elérhető automatizált kitek segítségével történt. Az antitrombin (AT) protein C (PC) és protein S (PS) meghatározásokat az aktivitást mérő kromogén tesztek segítségével végeztük. Antigén meghatározásra csak kóros aktivitás esetén került sor. Az antifoszfolipid panel részben ELISA alapú kardiolipin és beta-2-glikoprotein-I ellenes antitest meghatározásból, részben három szűrő eljárást alkalmazó lupusz antikoaguláns meghatározására irányuló coagulációs szűrő és neutralizációs tesztekkel állt. A Leiden és protrombin gén mutációk meghatározása standard molekuláris módszerrel történt.

Flow citometriás eljárások

Az EDTA-antikoagulált vérminták mononukleáris sejtjeit vvt lízis segítségével dúsítottuk. A B-sejt, T-sejt és NK sejt populációkat standard monoklonális antitest panel (18 különféle antitest) segítségével jelenítettük meg, a kombinációtól függően FITC, PE vagy PerCP jelöléssel. A sejtek és az adatok analízise FACSCanto citométer és BD FACSDiva segítségével történt.

Molekuláris módszerek

A **rekombináns VWF** egyes doménjeinek, szakaszainak, vagy egészének expressziós vizsgálataihoz a pSVhVWF1.0 plazmidot használtuk templát gyanánt. A CK domént tartalmazó konstruktumot a pVL1393 nevű plazmidban szubklónoztuk, és bázissorrendjét szekvenálással ellenőriztük. A **klinikai minták** molekuláris vizsgálatához a DNS-t lefagyasztott *buffy coat*-ból izoláltuk. Az 51 exont és az exon-intron határon lévő intron részt olyan primerek segítségével amplifikáltuk és szekvenáltuk, melyek az analóg pszeudo-VWF génnel nem keresztreagáltak. A kapott szekvenciákat <http://www.vwf.group.shef.ac.uk> VWF adatbázisához viszonyítottuk.

Töréspont-analízis: Ez standard géntérképezés módszerével történt. Először a VWF-al szomszédos CD9 gén 5' nem transzlált szakaszára és a VWF 3-as intronjára specifikus primereket választottunk, fokozatosan szűkítve a primerek segítségével a töréspont régiót. Az így nyert PCR terméket szekvenáltuk. Ezt követően már könnyű volt olyan primereket szerkeszteni, melyek **töréspont-specifikus PCR** terméket adtak. A tervezett mutáns konstruktumok készítését (**site-directed mutagenesis**) pGEM-7Zf(+)/VWFCK plazmid segítségével végeztük, és a végtermék szekvenciáját minden esetben szekvenálással is megerősítettük.

Protein expressziós és biokémiai módszerek

A **VWF expresszió baculovirus** expressziós vektor segítségével Sf9 sejtekben történt. Az így expresszált és szérum-mentes médiumba szekretált **protein tisztítása** Ni-NTA-agaróz FPLC oszlopon lineáris imidazole grádienssel való előtisztítás után C8 HPLC oszlopokon történt lineáris acetonitril gradiens révén. A VWF CK domén **deglikozilálása** kereskedelmi forgalomban lévő kit segítségével trifluoromethane szulfonsavval történt. A különböző polipeptid láncok részleges és teljes **redukcióját** TCEP és DTT (Tris-Karboxietil-foszfin és ditioltreitol), az **alkilálást** NEM és 4VP (N-Etilmaleimide és 4-vinilpiridin) felhasználásával végeztük. A Lizil endopeptidázzal és cianobromiddal emésztett peptidokat PerSeptive Voyager **tömegspektrométer** segítségével elemeztük. **Pulse-chase** kísérleteket a következőképpen végeztük: a COS-7 sejteket 1 órát 37 °C-on metionin-mentes Dulbecco Eagle's táptalajon inkubáltuk majd 100 mCi jelölt metionint tartalmazó Trans-label táptalajba tettük át. A chase indításhoz eltávolítottuk a jelző táptalajt, és 10 mM jelzetlen metionint tartalmazó teljes táptalajba helyeztük a sejteket. **Immunprecipitáció:** A rekombináns teljes vagy egyes szakaszokat tartalmazó részleges VWF immunprecipitációja 4°C-on 082 vagy B710 monoklonális antitestekkel éjszakán át tartó inkubációval történt protein A–Sepharose vagy protein G–Sepharose, Nonidet P-40, és SDS jelenlétében. Az immunprecipitátumokat SDS poliakrilamid gel elektroforézis segítségével analizáltuk.

Matematikai modell.

Komplex matematikai modellt dolgoztunk ki a VWF szintézisének, multimerizációjának, szekréciójának, a plazma VWF hasításának és clearance-ének modellezésére. A modell paramétereit sikerült úgy optimalizálni, hogy a létrejövő (és a modellen belülről megjeleníthető) multimer eloszlás megszólalásig hasonlított a normál és bizonyos jellegzetes patológiás klinikai minták multimer mintázatára.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

I. A von Willebrand betegség

A von Willebrand betegség patogenezisével kapcsolatos eredményeket úgy csoportosítom, hogy azok kövessék a VWF bioszintetikus útjának logikáját. Ezt követően tárgyalom a diagnosztikát és kezelést érintő eredményeket.

A VWB jellemzése, molekuláris patogenezise

Eredményeinket a VWF szintézis különböző lépéseinek (fehérje szintézis, ER-on majd Golgin áthaladás után szekréció, végül clearance) sorrendjében mutatom be.

1. A 3-as típusú VWB tünettanának megismerésében nagy előrelépés volt a 3WINTERS-IPS vizsgálat (*Tosetto et al., J Thromb Haemost 2020*), melynek keretében sikerült **223** egymással nem rokon betegről részletes klinikai adatokat nyerni, melyeket a korábban már meglévő 1-es típusú betegcsoport vérzéses tüneteivel hasonlítottunk. Nem meglepő módon a 3-as típusú betegek vérzéses tüneteivel jóval gyakoribbnak és súlyosabbnak bizonyultak. Érdekes módon beavatkozások (műtét, fogászat stb.) után hasonló gyakorisággal fordult elő vérzés az 1-es és 3-as típusban, míg a spontán vérzések (különösen a súlyos, központi idegrendszeri és ízületi vérzések) között óriási különbség volt. A nagyszámú betegből származó adat rávilágított egyfajta vérzéstípusok közötti társulási tendenciára (*clustering*) is: a gasztrointestinalis és orrvérzések ízületi vérzésekkel, míg a menorrhagia és szájüregi vérzések inkább beavatkozások utáni vérzéses szövődémmel társultak. A VWF propeptid szint mérésével viszont a várakozással szemben nem sikerült olyan eszközhöz jutni, ami segítené a diagnosztikát (*Pagliari et al., J Thromb Haemost 2022*).
2. A 3-as típusú, súlyos VWB genetikájának feltérképezése a lényegében teljes körű *Magyar Vérzékeny Betegek Regisztere* segítségével történt. Így sikerült az akkor nyilvántartott **24** 3-as típusú családból **23**-ban (**24** beteg; **12** nő, **12** férfi)

a VWF gén kódoló részének szekvenciáját meghatározni. 6 korábban már leírt mutáción kívül 15 új mutációt találtunk. Egy betegben nem sikerült mutációt azonosítani. Váratlan eredményként a 3-as típusú betegeken belül igen magas, 25 %-os allélfrekvenciával egy korábban még nem leírt nagyméretű deléció-t találtunk (*J Thromb Haemost, 2008; J Thromb Haemost 2011*), mely az első három exon elvesztéséhez vezetett (delExon1-3 rövidítéssel jelöltük). Meglepő módon, az irodalomban leírt esetektől eltérően az öt homozigóta betegből egyiknél sem észleltünk alloantitesteket. Ezeket az adatokat később, jóval nagyobb számú beteg bevonásával megerősítettük a 3WINTERS-IPS vizsgálatban (*Baronciani et al., Blood Adv 2021; és Pagliari et al, J Thomb Haemost 2023*).

3. Vizsgálataink további részében megpróbáltunk választ keresni arra a kérdésre, hogy mi lehet a magyar populációban oly gyakran szereplő delExon1-3 deléció oka. A génen belül előforduló polimorfizmusok segítségével elvégzett tipizálás egyértelműen bizonyította, hogy a mutáció ún. alapító hatás (*founder effect*) következménye (vagyis egyszer jött létre, és utána öröklődés révén terjedt el a népességben). A családok származási helyeinek szétszórtsága arra utalt, hogy a mutáció keletkezése mindenképpen több mint néhány száz évvel ezelőtt következett be. A *következő kérdés* az volt: mi vezethet egy ekkora méretű genetikai anyag elvesztéséhez. E kérdés megválaszolásához először is a deléció pontos töréspontjait kellett meghatároznunk. Ezeket sikerült is a promóter régiótól proximálisan (5' töréspont, - 30 071, a VWF gén kezdő ATG-jének A-jától számolva) és a VWF gén hármask intronjában (3' töréspont, + 5 468) azonosítani. A töréspontok azonosítása egyrészt lehetővé tette egy töréspont-specifikus PCR kidolgozását, amit fel lehet használni a prenatális diagnosztikában, és amely igen egyszerű módot nyújt a defektus szűrésére. Ezt kihasználva elvégeztük a lengyel, német és orosz VWB populációkban a delExon1-3 szűrését: egyetlen esetben sem tudtuk kimutatni ezt az eltérést. Másrészt a töréspontok ismerete lehetővé tette, hogy mindkét töréspontnál Alu-

szekvenciákat azonosítsunk. Ez utóbbi felfedezés feleletet adott kiindulási kérdésünkre: a delécióit így minden bizonnyal egy az Alu-szekvenciák között létrejött rekombinációs esemény okozta (*J Thromb Haemost* 2008) – ehhez hasonló genetikai állományvesztésre több példa is van az irodalomban.

4. A ciszteinekben igen gazdag VWF CK doménon belüli ciszteinek diszulfid kötéseinek tisztázásához baculovírus rendszerben expresszáltuk a (2720-2813 aminosavakat magában foglaló) VWF CK domént, amely valóban dimer formájában szekretálódott. Szelektív redukció és alkilálás révén sikerült monomereket nyernünk, majd további részleges redukció, alkilálás, kémiai és proteolitikus emésztés, valamint a keletkezett fragmensek aminosav-sorrendjének meghatározása és tömegspektrometriás analízise révén sikerült megfejteni a diszulfid hidak rendjét, amiből kiderült, hogy az intermolekuláris kötésben csak a 2771-es, 2773-as és 2811-as ciszteinek vehetnek részt (*J Biol Chem* 2000). Ezek az eredmények egyértelműen megmagyarázzák, hogy miért jár a p.C2771Y és a p.C2773R mutáció a dimerizáció zavarával és következményes (IID variánsnak nevezett) 2A altípusú, súlyos vérzékenységet okozó von Willebrand kórral.
5. A nagy penetranciájú súlyos 1-es típusú VWB előfordulásának és okainak vizsgálatára a Kelet-magyarországi régió vérzékeny betegeit ellátó Debreceni Egyetem II. Belklinika nyilvántartása adott lehetőséget. Itt 257 1-es típusú von Willebrand kórbán szenvedő beteget tartottak nyilván kutatásunk időpontjában. Vizsgálatainkból kiderült, hogy a nagy penetranciájú, súlyos 1-es típusú VWB csoportba az összes egyes típusú beteg kevesebb, mint 10%-a tartozik. A részletes genetikai analízis (*Blood* 1999) két mutációt azonosított; a p.C1130Y-t és a két családban is észlelt, a Vicenza variánsért felelős p.R1205H mutációt. Így a kutatás a továbbiakban e két mutáció típus molekuláris patogenezisére irányult.
6. A p.C1130Y a D3 domén cisztein gyök mutációja. Vizsgálatunk idejében nem állt rendelkezésre részletes információ az 1-es típusú VWB genetikai hátteréről.

Egy holland munkacsoporttal közösen már folyamatban lévő munka a p.C1130Y mutáció szomszédságában lévő, és szintén cisztin hidat érintő p.C1149R mutációt vizsgálta, így a mechanizmus modellezésére ez utóbbi mellett döntöttünk. A kidolgozott modellrendszerben sikerült bebizonyítani, hogy a mutáns alegység a vad típusú alegységgel heterodimert képezve okozza annak retencióját, mintegy „magával húzza” az egészséges alegységet is a degradációba. Ezt olyan modellrendszerben sikerült igazolni, melyben meg lehetett különböztetni az egyetlen aminosavban eltérő mutáns és vad típusú láncokat. Ko-transzfecciók kísérletekben együtt expresszáltuk a rekombináns VWF-C1149R-t és a vad típusú VWF-d13-at tartalmazó plazmidokat. A két plazmidot, melyek közül a VWF-d13 nem rendelkezett sem A1-es sem A3-as doménnel, méretük alapján és egy A1 domén-specifikus monoklonális antitest segítségével immunológiailag is meg tudtuk különböztetni. Ebben a modellrendszerben random heterodimer képződés egyértelműen demonstrálható volt, sőt ún. „pulse-chase” izotópos jelölést alkalmazva azt is kimutattuk, hogy a mutáns VWF alegységek a proteaszómában degradálódnak (*Blood, 2001*), és egészséges dimer partnerüket is magukkal viszik a pusztulásba. Ez a mechanizmus minden bizonnyal általános jelenség a pontmutációk domináns negatív hatásának magyarázatára.

7. A Debrecenben két családban is észlelt Vicenza VWB patomechanizmusának megértéséhez először is a korábbi irodalmi adatoknál egyértelműbben sikerült bizonyítani, hogy a VWF clearance valóban jelentősen fokozott: DDAVP adása után a saját (mutáns) VWF fél-életideje a Haemate-P formájában bevitt vad típusú VWF fél-életidejének kb. 1/10-ed része volt. Továbbá, kidolgoztunk egy matematikai modellt, melynek segítségével, sikerült a VWF multimerizáció, szekréció, hasítás és clearance részleteit számítástechnikai eszközökkel modellezi. Ez a modell egyértelműen bemutatta, hogy a fokozott clearance nemcsak az alacsony VWF szintet, hanem az UL-VWF multimerok jelenlétét is megmagyarázza (*J Thromb Haemost 2010*).

A VWB diagnosztikájának fejlesztése

8. A laboratóriumi módszerek közti tájékozódásban első lépés volt ezeket egy logikus, a mérési elveket világosan megkülönböztető rendszerbe foglalni. Ezt a rendszert azután az elveket szintén világosan tükröző nomenklatúrába kellett átültetni. Ezt a munkát munkacsoportunk végezte el, amelynek sikerességét mutatta, hogy a Nemzetközi Trombózis és Hemosztázis Társaság (ISTH) is átvette, mögé állt, és a társaság Tudományos és Standardizáló Bizottságának (SSC) ajánlásaként publikálhattuk (*J Thromb Haemost*, 2015). A nevezéktant azóta általánosan használják az egész világon:

Rövidített nevezéktan	Leírás
VWF:RC_o	Ristocetin cofaktor aktivitás: a ristocetint és trombocitákat használó összes mérési eljárás neve
VWF:GPIb_R	Glikoprotein Ib kötés: azon mérési eljárások neve, melyek a VWF és egy rekombináns vad típusú GPIb szakasz ristocetin-indukálta kötődésén alapulnak
VWF:GPIb_M	Mutáns glikoprotein Ib kötés: azon mérési eljárások neve, melyek a VWF és egy funkciónyerő (<i>gain of function</i>) mutáns rekombináns GPIb szakasz egymáshoz való spontán kötődésén alapulnak
VWF:Ab	Antitest kötés: azon mérési eljárások neve, melyek a VWF <i>AI</i> doménjének egy monoklonális antitesthez való spontán kötődésén alapulnak

9. Munkacsoportunk szervezte azt a nemzetközi, öt ország 8 expert laboratóriumában szervezett vizsgálatot (Comparison of Assays to Measure VWF Activity – COMPASS-VWF), melyben 53 normál kontrolltól és 42 VWB

betegtől származó mintát hasonlítottunk össze vak kódolással (*J Thromb Haemost, 2018*). Négy kereskedelmi forgalomban lévő kitet vetettünk össze egymással és az eredeti VWF:RCo módszerrel: VWF:GPIb (IL, HemosIL), VWF:GPIb:R (IL, AcuStar), VWF:GPIbM (INNOVANCE, Siemens) és a VWF:Ab (IL, HemosIL VWF activiy). Ezen kívül két labor is rendelkezett in-house ELISA módszerrel, melyeket szintén összehasonlítottunk a fentiekkel. Valamennyi módszer jól korrelált egymással és a VWF:RCo esszével. Azonban csekély különbségeket azért észleltünk: (i) az általánosságban szoros korreláció ellenére a VWF:Ab és a VWF:GPIbM az azonosságnál kissé meredekebb, a házi ELISA kissé laposabb regressziós egyenest adott (*J Thromb Haemost 2018*). Tekintettel arra, hogy ebből fakadó eltérés főként a magasabb értékeknél mutatkozik, ennek a különbségnek klinikai jelentősége csekély ugyan, de a laboratóriumi körkontrollok szempontjából fontos. (ii) Az új mérési elveken nyugvó tesztek valóban sokkal jobb érzékenységgel rendelkeznek és pontosabbak is.

10. Egy következő vizsgálatban még közelebbről vizsgáltuk meg a különböző mérésekkel diszkrét eredményt adott mintákat. A vizsgálat lehetővé tette, hogy elkülönítsük a random (pl. mérési hiba következtében fellépő), és a mérési eljárások lényegéből fakadó szisztematikus különbségeket (*Szedzerjesi et al., J Thromb Haemost, 2020*). A következő különbségekre derült fény: (i) a normál kontrollok esetében ilyen mérési különbség nem fordult elő. (ii) Az összes ELISA módszer „felül méri” (a valósnál magasabb értékeket mér) azoknak a VWB 2B típusú betegeknek a VWF aktivitási szintjét, akiknél a nagy molekulásúlyú multimerok jellegzetesen hiányoznak. (iii) a VWF:Ab magasabb értéket talált az összes p.V1665E mutációval rendelkező betegnél – vagyis az antitest jó, de nem tökéletes „mimikri”-je a GPIb-nek. Minthogy a vizsgálatban csak igen limitált számú mutáció ellenőrzésére volt lehetőség, ez a felfedezés indokoltá teszi egy jóval szélesebb körű ellenőrző felmérés megszervezését, melyben a VWB-t okozó mutációk széles körénél hasonlítjuk

össze a módszereket. Enélkül a VWF:Ab tesztet nem tudjuk biztonsággal értékelni ebben a betegcsoportban. (iv) Végül megerősítettük, hogy a p.P1467S mutáció esetében az összes ristocetint használó módszer alacsony VWF aktivitást mér; viszont kiderült: az AcuStar módszer mentes ettől a hibától.

A VWB helyes kezelése

11. Végül a diagnosztikus és kezelési irányelvek összeállítását célzó erőfeszítések többféle felállásban is sikerre vezettek. A Hemofília Világszervezet (World Federation of Hemophilia, WHF) kérésére három szerzőtársammal állítottunk össze egy klinikai összefoglaló írást (***Haemofília, 2014***). Az Európai von Willebrand Betegség Munkacsoport (European Group on von Willebrand Disease, EUVWD) keretein belül részletes irányelvet szerkesztettünk a VWB diagnózisáról, felosztásáról és a kezelés elveiről (***Haematologica 2013***), illetve az Európai Hematológus Társaság (European Hematology Association, EHA) megkeresésére fogtunk neki egy az enyhe vérzékenység különböző formáival foglalkozó irányelv-sorozat elkészítésének, mely sorozatnak egyelőre csak az első része jelent meg (***HemaSphere, 2019***).

II. A szerzett inhibitoros hemofília kezelése

12. A hosszas szteroid kezelés toxicitása, valamint nem megfelelő hatékonysága vezetett el ahhoz, hogy egy agresszívebb megközelítést kíséreljünk meg. A rögtön három gyógyszer alkalmazása, valamint a gyógyszerek lökészerű adagolása (cyclofoszamid, i.v. 1000 mg 1. és 22. napon, 40 mg dexamethason + 100 mg Rituximab az 1., 8., 15., és 22. napokon – a CyDRi protokoll) azzal kecsegtetett, hogy egyszerre B és T sejtcsoporthoz történő immunszuppressziót is jelent, és ezáltal hatékonyabb, ugyanakkor a limitált szteroid expozíció miatt kevésbé toxikus (***Blood, 2022***).
13. A CyDRi protokollt intézeti protokollként vezettük be, és mivel több intézetben is dolgoztam (Szt. László Kh, Emory Egyetem, SE BHK), ezen intézetek közül

a két magyar ellátó helyen a protokollal kezelt valamennyi beteget sikerült egy retrospektív vizsgálatba bevonni (*Blood, 2022*). Az adatok összehasonlítása azt mutatta, hogy a CyDRi mind hatékonysága mind toxicitása szempontjából jelentősen kedvezőbb az irodalmi adatokban szereplő eddig alkalmazott szekvenciális kezelésekénél.

III. Tromboembóliás betegségek vizsgálata

Vénás tromboembóliák

14. Az Emory Egyetemen egy retrospektív vizsgálatot végeztünk, mely **266** VTE esemény miatt kezelt beteg adatait tekintette át. E betegek 71%-ánál kértek a kezelő orvosok trombofília vizsgálatot. Az eredmény a betegek mindössze 16.9 %-ánál volt feltehető kihatással a kezelésre. A vizsgálatok költségei természetesen eltérnek az egyes országokban, de mindenhol meglehetősen drága vizsgálatokról van szó. Az Emory Egyetemen egy vizsgálat ára 2,364 dollár volt, míg a költségeket összesítve 19,653 dollárba került egy a kezelést is befolyásoló teszt elvégzése (*TH Open 2020*). Összegezve: ez a munka aláhúzza, hogy a trombofília kivizsgálással kapcsolatos orvosi gyakorlat milyen heterogén, és figyelmeztet, hogy racionálisabb kivizsgálás irányába kell az irányelveket és a továbbképzéseket irányítani, hangsúlyozva, hogy csak akkor végezzünk trombofília kivizsgálást, ha attól várható, hogy kihatással lesz a beteg kezelésére.
15. Bizonyos betegségekben a trombózisok az átlagosnál jóval gyakoribbak. Ilyen betegség a szisztémás lupus erythematosus (SLE) is. Tekintettel a tromboembóliás kórképek komplex voltára, jogos a kérdés, hogy ennek mi (mik) az oka (okai). **105** SLE-ben szenvedő beteg vizsgálata alapján azt találtuk, hogy az anti-foszfolipid antitest pozitivitás jelenti a legsúlyosabb trombózis rizikót (*Scand J Rheumatol, 2007*). A többi trombofília jelenléte az APS

mellett nem játszott meghatározó szerepet. Mindez a trombofilia vizsgálatok átértékelésének fentebb már hangsúlyozott szükségességét támasztja alá.

16. A trombofilia speciális esete a jatrogén trombofilia. Onkohematológiában ennek számos példája ismert. Mi az ALL kezelése során alkalmazott aszparagináz hatására létrejött trombózishajlammal foglalkoztunk. Ez speciálisan éles helyzet, mivel a gyógyszer okozta antitrombin (AT) defektussal és a széteső malignus B sejt klón jelenlétével járó trombózishajlammal egyidőben a betegek nem ritkán trombocitopéniások is. Ráadásul az AT hiány jelenlétében a szokásos LMWH nem hatásos. Elsőként számoltunk be egy ilyen beteg rivaroxabannal történő kezeléséről (*Ann Hematol, 2015*). Azóta más munkacsoportok is használják ezt a megközelítést.
17. A betegek egy részénél különösen súlyos trombóziskészség áll fenn, ezt „agresszív trombophilának” neveztem. Két SLE-s betegünk (*Scand J Rheumatol, 2007*) súlyos antifoszfolipid szindrómája jól példázza a problémát. Az agresszív trombofilia definíciója: az alábbi jellemzők bármelyikének fennállása: (i) szokatlan lokalizáció (agyi vénás sinusok, hasi visceralis trombózis, bőrvénát vagy a szívbillentyűket érintő trombotikus folyamat, stb.); (ii) refrakter trombózishajlam – vagyis effektív antikoaguláns kezelés ellenére visszatér; vagy (iii) az artériás és vénás ágat egyaránt érinti (*Central European Complement Academy, 2021, felkért előadás*). Agresszív trombofilia fennállása esetén az APS-en kívül többek között PNH-ra kell gondolni, amint terhesség alatt jelentkezett súlyos agyi szinusz trombózisban szenvedő betegünk esete (*Orv Hetilap, 2016*) jól mutatta. Minthogy 2016. óta Magyarországon is egyre több modern komplement-gátló kezelési lehetőség elérhető a PNH-s betegek számára (*Onkológia & Hematológia, 2020*), ezzel a betegséggel nagyon izgalmas foglalkozni. Viszont az egyre nagyobb számban rendelkezésre álló gyógyszerek miatt szükség volt egy kezelési irányelvben való megegyezésre, amit egy Közép-európai szakemberekből álló bizottság élén én koordináltam (*Adv Ther, 2023*). Az ajánlás fő pontjai: (1) minden tünetes PNH-s betegnél C5

gátló kezelést kell indítani; (2) farmakokinetikai áttöréssel hemolízis kezelésére a ravulizumab ajánlott; és (3) C5 gátlókra adott szuboptimális válasz esetén célszerű a beteget proximális, C3 szinten ható komplement gátlásra állítani.

Trombotikus mikroangiopatiák

18. Három egymást követő inhibitoros / immun mediálta TTP-ben szenvedő (iTTP) beteg kezelése során sikerült bizonyítani, hogy az azonnal megkezdett plazmaferezis nem akadályozza a szteroid mellett a rituximab azonnali elindításának (melytől irodalmi adatok szerint hatékonyabb immunszuppresszió várható). Ugyanis a naponkénti ferezis után beadott rituximab 24 órán belül (a következő ferezis idejéig) teljes CD20+ B-sejt depleciót okoz, mely a továbbra is naponta alkalmazott ferezis ellenére (ami a monoklonális antitest rituximabot a keringésből eltávolítja) legalább egy hétig (a következő esedékes rituximab adag idejéig) fennmarad. Továbbá izgalmas megfigyeléseket tettünk a rituximab T-sejtekre gyakorolt hatásairól, melyek a kezelés hatékonyságában is fontos szerepet játszhatnak (*Blood Advances, 2020*).

ÖSSZEFOGLALÁS, ÚJ EREDMÉNYEK

1. Feltérképeztük a teljes magyar 3-as típusú VWB genetikai hátterét. Azonosítottunk 15 új mutációt, köztük egy addig ismeretlen deléciót (delExon1-3), mely a magyar populációban ismétlődő genetikai defektusnak bizonyult. E deléció nem járt alloimmunizációval.
2. Megállapítottuk, hogy a delExon 1-3 alapító hatással került a magyar populációba legalábbis több száz éve. A töréspontok meghatározása révén bizonyítottuk, hogy a deléció Alu-szekvenciák közti rekombinációs esemény következménye volt.
3. Megállapítottuk, hogy a VWF CK domén, dimerizációhoz használt ciszteinjei közül csak a C²⁷⁷¹, C²⁷⁷³ és C²⁸¹¹ ciszteinek képezhetnek intermolekuláris hidat. Feltérképeztük az intramolekuláris kötéseket is: C²⁷²⁴-C²⁷⁷³ (1-4); C²⁷⁵⁰-C²⁸⁰⁴ (2-5); C²⁷⁵⁴-C²⁸⁰⁶ (3-6); C²⁷³⁹-C²⁷⁸⁸.
4. Megállapítottuk, hogy a Kelet-Magyarországon nyilvántartott 1-es típusú VWB betegek igen kis százalékának (<10%) van a súlyosabb, nagy penetranciájú formája. E fenotípus hátterében két mutációt (p.C1130Y és p.R1205H) mutattunk ki.
5. Bizonyítottuk, hogy a mutáns p.C1149R és vad típusú alegységek egymással random módon heterodimereket képeznek. Így a mutáns heterodimerek degradációja a partner egészséges alegység degradációjához is vezet megmagyarázva a domináns negatív hatást.
6. Bizonyítottuk, hogy a Vicenza fenotípust okozó p.R1205H mutáció a VWF felezési idejét 1/10-ed részére csökkenti és e fokozott clearance önmagában is magyarázatot ad az UL multimerek jelenlétére.
7. **223** 3-as típusú VWB beteg adatait elemezve korábbi ismereteinknél sokkal részletesebben jellemeztük e súlyos vérzékenység tünettanát. Bemutattuk, hogy a különféle vérzések társulhatnak (*clustering*): a gasztrointestinalis és orrvérzések ízületi vérzésekkel, míg a menorrhagia és szájüregi vérzések inkább beavatkozások utáni vérzékes szövődémmel járnak együtt.

8. Jellemeztük, és új, azóta világszerte használt nevezéktannal láttuk el a különféle VWF aktivitás mérési eljárásokat.
9. Nemzetközi vezető laborok bevonásával és vakon elemzett minta-gyűjtemény elemzésével összehasonlítottuk a különféle mérési módszereket. Általánosságban csak minimális eltéréseket találtunk a módszerek között.
10. A diszkrepáns minták külön elemzésével azonban több olyan, a mérési módszerek közt fennálló különbséget találtunk, melyek ismeretének döntő kihatása van a VWB diagnosztikára: (i) a normál kontrollok esetében ilyen mérési különbség nem fordul elő. (ii) Az összes ELISA módszer „felül méri” azokat a 2B típusú betegeket, akiknek hiányzik a nagy méretű multimer. (iii) a VWF:Ab magasabb értéket talált az összes p.V1665E mutációval rendelkező betegeknél. (iv) A p.P1467S mutáció esetében az összes ristocetint használó módszer (kivéve az AcuStar!!) hibásan alacsony VWF aktivitást mér.
11. Munkacsoportunk részt vett több VWB diagnosztikus és kezelési irányelv összeállításában is, melyeket a klinikusok széles körben használnak.
12. Kidolgoztunk egy a korábbiaktól lényegesen eltérő immunszuppressziós protokollt a szerzett inhibitoros hemofília (AHA) kezelésére, melynek a benne szereplő i.v. cyclofoszfamid, dexamethason és rituximab után a CyDRi nevet adtuk.
13. Kimutattuk, hogy az irodalomban korábban használt szekvenciális kezelési eljárásoknál a CyDRi jóval hatékonyabb, és kevésbé toxikus, így az irodalmi adatoknál jelentősen jobb túlélést mutatott az a 32 beteget számláló kohorsz, melyet retrospektíve vizsgáltunk. Amennyiben adataink prospektív megerősítést nyernek, a CyDRi világszerte az AHA standard kezelése lesz.
14. **266** VTE miatt gondozott beteg adatait elemezve kimutattuk, hogy az Egyesült Államok egyik vezető akadémiai intézetében, az Emory Egyetemen a betegek 71%-ánál végeztek trombofília vizsgálatot igen magas költségen, melyeknek csak egy töredéke volt kihatással a kezelésre.

15. **105** SLE-ben szenvedő beteg adatait elemezve kimutattuk, hogy e betegek körében a legfontosabb trombózis rizikó tényező az antifoszfolipid antitestek jelenléte.
16. Az ALL kezelése során alkalmazott aszparagináz okozta trombózis kezelésére elsőként alkalmaztunk DOAC típusú szert. Azóta ez a megközelítés egyre inkább terjed a klinikusok körében.
17. Közép-európai országokkal együttműködésben kezelési irányelvet állítottunk össze az igen agresszív trombofiliát is okozó PNH komplement-gátló kezelésére.
18. Bizonyítottuk, hogy TTP kezelése során a plazmaferezis szimultán alkalmazása nem függeszti fel a rituximab hatását, mivel az 24 órán belül lényegében teljes B-sejt deplációhoz vezet. Egyúttal kimutattuk, hogy a rituximabnak a T-sejtes immunitásra is jelentős hatása van.

Összefoglalásként: Munkásságom nagy része a von Willebrand betegség patogenetikájával és diagnosztikájának, kezelésének fejlesztésével foglalkozik. Eredményeink jelentős részét széles körben használják hazánkban és világszerte is e betegek gondozása során. A hemosztázis szakember életéhez azonban más vérzékenységek és a trombózisban szenvedő betegek gondozása éppúgy hozzá tartozik – munkásságom másik része e betegséggörrel foglalkozik. Több megfigyelésünk ebben a körben is jelentősen befolyásolta e betegek kezelésének elveit.

KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

I. A TÉZISEK ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

1. **Bodó, I**, Katsumi, A, Tuley, E, Schlammadinger, Á, Boda, Z, Sadler, J E: Mutations causing dominant type 1 von Willebrand disease with high penetrance. Abstract. **Blood** 94: Suppl. I. 373A-373A. (1999). **Idézet:8** (független:3)
2. Katsumi, A., Tuley, E., **Bodó, I.**, Sadler, J.E.: Localization of intersubunit disulfide bonds in a recombinant cystine knot-like domain of human von Willebrand factor. **J. Biol. Chem.** 275: 25585-94 (2000) IF:7.368; **DI** **Idézet:102** (független:94)
3. **Bodó, I.**, Katsumi, A., Tuley, E., Eikenboom, J.C., Dong, Z. and Sadler, J.E.: Type 1 von Willebrand disease mutation Cys1149Arg causes intracellular retention and degradation of heterodimers: a possible general mechanism for dominant mutations of oligomeric proteins. **Blood.** 98:2973-79 (2001) IF:9.273; **DI** **Idézet:71** (független:55)
4. Sallai, K., Nagy, E., **Bodó, I.**, Mohl, A., Gergely, P.: Trombosis risk in systemic lupus erythematosus: the role of trombofilia risk factors. Scandinavian. **J. Rheumat.** 36:198-205 (2007). IF:2.64; **Q1** **Idézet:28** (független:27)
5. Mohl A, Marschalek R, Masszi T, Nagy E, Obser T, Oyen F, Sallai K, **Bodó I**, Schneppenheim R: An Alu-mediated novel large deletion is the most frequent cause of type 3 von Willebrand disease in Hungary. **J. Thromb Haemost** 6:1729-35 (2008) IF:6,291; **DI** **Idézet:23** (független:19)
6. Gézsi A, Budde U, Deák I, Nagy E, Mohl A, Schlammadinger Á, Boda Z, Masszi T, Sadler E, és **Bodó I.**: Accelerated clearance alone explains ultralarge multimers in VWD Vicenza. **J. Thromb Haemost**,8:1273-80 (2010) IF:5,439; **DI** **Idézet:27** (független:25)
7. Mohl A, Boda Z, Jager R, Losonczy H, Marosi A, Masszi T, Nagy E, Nemes L, Obser T, Oyen F, Radványi G, Schlammadinger Á, Szélessy Zs, Várkonyi A, Vezendy K, Vilimi B, Schneppenheim R, **Bodó I**: Common large partial *VWF* gene deletion does not cause alloantibody formation in the Hungarian type 3 von Willebrand disease population. **J. Thromb Haemost**, 9:945-952 (2011) IF:5,731; **DI** **Idézet:14** (független:11)
8. Castaman, G; Goodeve, A; Eikenboom, J; **Bodó, I.** et.al. Principles of care for the diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Kollaborációs közreműködő sokszerzős cikkben.* **Haematologica**, 98: 5 pp. 667-674, 8 p. (2013);IF:5.868; **DI** **Idézet:163** (független:142)
9. Sebestyén, G., Vukov, P., **Bodó, I.**, Molnár, E., Bobek, I.: Antifoszfolipid katasztrófa szindróma: esetismertetés. **Aneszteziológia és Intenzív Terápia.** 43:158-160 (2013)
10. Favaloro EJ, **Bodó I**, Israels SJ, Brown SA: Von Willebrand disease and platelet disorders. **Haemofilia**, 20 (S4):59-64 (2014) IF:2,603; **Q1** **Idézet:30** (független:18)
11. **Bodó I**, Eikenboom J, Montgomery R, Patzke J, Schneppenheim R, Di Paola J, Baronciani L, Bonomi AB, Budde U, Castaman G, Federici AB, Friedman KD, Lawrie A, Peyvandi F, Bonomi AB, Sadler JE: Platelet-dependent von Willebrand factor activity. Nomenclature and methodology: Communication from the SSC of the ISTH. *Guideline jellegű közlemény.* **J Thromb Haemost**, 13:1345-50 (2015); **DI** **Idézet:116** (független:100)
12. Plander, M; Szendrei, T; **Bodó, I**; Iványi, JL.: Successful treatment with rivaroxaban of an extended superficial vein thrombosis in a patient with acquired antithrombin deficiency due to Peg-asparaginase treatment. *Szerkesztőségi levél.* **Annals Hematol** 94, 7 pp. 1257-1258, 2 p. (2015); IF:3.022; **Q1** **Idézet:15** (független:15)

13. Horányi D, Várkonyi A, Nagy Gy.R, **Bodó I**, Masszi T: Paroxysmalis nocturnal haemoglobinuriával szövődött vándorosság ritka esete. **Orv Hetil** 157:916-8 (2016). IF:0.349; **Q4** **Idézet:3** (független:2)
14. Szederjesi A, Baronciani L, Budde U, Castaman G, Lawrie AS, Liu Y, Montgomery, R, Peyvandi F, Schneppenheim R, Várkonyi A, Patzke J, **Bodó I**: An international collaborative study to compare different von Willebrand factor glycoprotein Ib binding activity assays: the COMPASS-VWF study. **J Thromb Haemost**, 16:1604-13 (2018) IF:4,662; **DI** **Idézet:10** (független:6)
15. Rodeghiero F, Pabinger I, Ragni M, Abdul-Kadir R, Berntorp E, Blanchette V, **Bodó I**, Casini A, Gresle P, Lassila R, Leebeek F, Lillicrap D, Mezzano D, Norris P, Srivastava A, Tosetto A, Windyga J, Zieger B, Makris M, Key N: Fundamentals for a systemic approach to mild and moderate inherited bleeding disorders: An EHA consensus report. *Sokszersős cikk, Steering Committee tagság.* **HemaSphere**; 3:5. e286-288. (2019) (új folyóirat); **Idézet:48** (független:32)
16. Tosetto A, Badiee Z, Baghaipour MR, Baronciani L, Battle J, Berntorp E, **Bodó I**, Budde U, Castaman G, Eikenboom J, Eshghi P, Ettore C, Goodeve A, Goudemand J, Charles Richard Morris H, Hoorfar H, Karimi M, Keikhaei B, Lassila R, Leebeek FWG, Lopez Fernandez MF, Mannucci PM, Mazzucconi MG, Morfini M, Oldenburg J, Peake I, Parra López R, Peyvandi F, Schneppenheim R, Tiede A, Toogeh G, Trossaert M, Zekavat O, Zetterberg EMK, Federici AB: Bleeding symptoms in patients diagnosed as type 3 Von Willebrand Disease. *Sokszersős cikk, Steering Committee tagság.* **J Thromb Haemost**. 18:2145-2154. (2020). IF:5,824; **DI** **Idézet:18** (független:9)
17. Szederjesi A, Baronciani L, Budde U, Castaman G, Colpani P, Lawrie AS, Liu Y, Montgomery R, Peyvandi F, Schneppenheim R, Patzke J, **Bodó I**: Comparison of von Willebrand factor platelet-binding activity assays: ELISA overreads type 2B with loss of HMW multimers. **J Thromb Haemost**. 18:2513-2523. (2020) IF:5,824; **DI** **Idézet:3** (független:2)
18. Carden, MA; Gaddh, M; Hoskote, A; Brown, M; Merrill, V; Stowell, SR; Chandrakasan, S; Antun, A; Kudchadkar, R; Kotanchiyev, S; **Bodó, I.**: Rituximab leads to early elimination of circulating CD20+ T and B lymphocytes in patients with iTTP despite ongoing TPEX. **Blood Advances**, 4: 3 pp. 477-481, 5 p. (2020) IF:6.686; **DI** **Idézet:7** (független:6)
19. Gaddh, M., Cheng E., Elsbaciae M.A.T., **Bodó I.**: Clinical utilization and cost of thrombophilia testing in patients with venous thromboembolism. **TH Open**, 4:153-162 (2020)
20. **Bodó, I.**: Új lehetőségek a PNH kezelésében. **Onkológia & Hematológia**, 2020 (5): 241-243.
21. Baronciani L, Peake I, Schneppenheim R, Goodeve A, Ahmadinejad M, Badiee Z, Baghaipour M-R, Benitez O, **Bodó I**, Budde U, Cairo A, Castaman G, Eshghi P, Goudemand J, Hassenpflug W, Hoorfar H, Karimi M, Keikhaei B, Lassila R, Leebeek F W G, Fernandez M F L, Mannucci P M, Marino R, Niksić N, Oyen F, Santoro C, Tiede A, Toogeh G, Tosetto A, Trossaert M, Zetterberg E M K, Eikenboom J, Federici A B, Peyvandi F: Genotypes of European and Iranian patients with type 3 von Willebrand disease enrolled in 3WINTERS-IPS. *Sokszersős cikk, Steering Committee tagság.* **Blood Advances**, 5:2987-3001 (2021). IF:7.642; **DI** **Idézet:8** (független:2)
22. Simon, B., Ceglédi A., Dolgos J., Farkas P., Gaddh, M., Hankó L., Horváth R., Kaposi A., Magyar L., Masszi T., Szederjesi A., Wohner N., **Bodó I.**: Combined immunosuppression for acquired hemofilia A: CyDRi is a highly effective low toxicity regimen. **Blood**, 140:1983-1992 (2022). IF:20.3; **DI** **Idézet:5** (független:4)
23. Pagliari M T, Rosendaal F R, Ahmadinejad M, Badiee Z, Baghaipour M-R, Baronciani L, Hidalgo O B, **Bodó I**, Budde U, Castaman G, Eshghi P, Goudemand J, Karimi M, Keikhaei

B, Lassila R, Leebeck F W G, Fernandez M F L, Mannucci P M, Marino R, Oldenburg J, Peake I, Santoro C, Schneppenheim R, Tiede A, Toogeh G, Tosetto A, Trossaert M, Yadegari H, Zetterberg E M K, Peyvandi F, Federici A B, Eikenboom J: Von Willebrand factor propeptide and pathophysiological mechanisms in European and Iranian patients with type 3 von Willebrand disease enrolled in the 3WINTERS-IPS study. *Sokszersős cikk, Steering Committee tagság.*

J Thromb Haemost, 20:1106-1114 (2022). IF:10.4; **DI**. **Idézet:3** (független:0)

24. **Bodó I**, Amine I, Boban A, Bumbera H, Kulagin A, Lukina E, Piekarska A, Zupan I.P, Sokol J, Windyga J, Cermak J: Complement inhibition is paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): A systematic review and expert opinion from Central Europe on special patient populations. **Adv Ther** 40:2752-72 (2023). IF:3.8; **QI** **Idézet:1** (független:1)

25. Pagliari M T, Budde U, Baronciani L, Eshghi P, Ahmadinejad M, Badiie Z, Baghaipour M-R, Hidalgo O B, Biguzzi E, Bodó I, Castaman G, Goudemand J, Karimi M, Keikhaei B, Lassila R, Leebeck F W G, Fernandez M F L, Marino R, Oldenburg J, Peake I, Santoro C, Schneppenheim R, Tiede A, Toogeh G, Tosetto A, Trossaert M, Yadegari H, Zetterberg E M K, Mannucci P M, Federici A B, Eikenboom J, Peyvandi F: von Willebrand factor neutralizing and non-neutralizing alloantibodies in 213 subjects with type 3 von Willebrand disease enrolled in 3WINTERS-IPS. *Sokszersős cikk, Steering Committee tagság.*

J Thromb Haemost 21:787-799 (2023). IF:10.4; **DI**

Tézisek témájában összesített IF:117.436 **Idézet:703** (független:573)

II. TÉZISEK TEMATIKÁJÁVAL ÖSSZEFÜGGŐ KÖZLEMÉNYEK

1. Perl, A., Gonzalez-Cabello, R., Ónody, K., **Bodó, I.**, and Gergely, P.: Independence of depressed lectin-dependent cell-mediated cytotoxicity from interleukin-2 production in patients with systemic lupus erythematosus.

Clin. Exp. Immunol. 65: 286-292 (1986). IF:2.674 **Idézet:8** (független:6)

2. Gergely, P., Vallent, K., **Bodó, I.**, Fehér, J., and Yutaro, K.: Effects of lentinan on cytotoxic functions of human lymphocytes.

Immunopharmacol. Immunotoxicol. 10: 157-163 (1988) IF:1,609 **Idézet:27** (függetl.:27)

3. Vien, C. V., Gonzalez-Cabello, R., **Bodó, I.**, Gergely, P.: Effect of vitamin A treatment on the immune reactivity of patients with systemic lupus erythematosus.

J. Clin. Lab. Immunol. 26: 33-5 (1988) IF: 0,549 **Idézet:13** (független:12)

4. Gergely, P., Gonzalez-Cabello, R., Jakab, I., Vien, C. V., **Bodó, I.**: Effect of vitamin A treatment on cellular immune reactivity in patients with CLL. **Acta Medica Hungarica.** 45: 307-11 (1988) IF: 0,051

Idézet:5 (független:5)

5. Reul, R., Kadar, J., **Bodó, I.**, Gergely, P.: Anticardiolipin antibodies: association with anti-DNA antibodies, disease activity, renal involvement and a history of thrombosis in systemic lupus erythematosus. **Acta Medica Hungarica** 49: 201-5 (1992)

6. **Bodó, I.**, Wloda, J. D., and Cleveland, W. L.: CD4 but not CD8 is comodulated with the T cell antigen receptor (TCR) after activation of a CD4+CD8+ human leukemia line with Staphylococcal enterotoxin.

Immunology Letters. 37:53-62 (1993) IF:1.241 **Idézet:3** (független:3)

7. **Bodó, I.**, Peters, M., Radich, J. P., Hess, J., Blinder, M., Watson, M., S., Van Rheeden, R., Natarajan, S. Lowell, J. A., Brown, R., DiPersio, J., and Adkins, D.: Donor-derived acute promyelocytic leukemia in a liver transplantation recipient.

New Engl. J. Med. 341: 807-813 (1999). IF:28.857; **DI** **Idézet:56** (független:56)

8. Györke T, Kollár A, Bottlik Gy, Szepesi Á, Bodó I, Masszi T, Bérczi V, Garai I: Radioguided lymph node biopsy of a chemoresistant lymph node detected on interim FDG PET-CT in Hodgkin lymphoma. **Int. J. Hematol.** 93:545-550(2011) IF:1,268; **Q2 Idézet:5** (független:5)
9. Remenyi, P; Gopcsa, L; Marton, I; Reti, M; Mikala, G; Peto, M; Barta, A; Batai, A; Farkas, Z; Borbenyi, Z; **Bodó, I** et al. Peripheral Blood Stem Cell Mobilization and Engraftment after Autologous Stem Cell Transplantation with Biosimilar rhG-CSF. **Advances in Therapy** 31: 4 pp. 451-460, 10 p. (2014) IF:2.272; **Q2 Idézet:23** (függetl.:22)
10. Kong, JH; Winton, EF; Heffner, LT; Chen, Z; Langston, AA; Hill, B; Arellano, M; El-Rassi, F; Kim, A; Jillella, A; **Bodó, I**, et al.: Does the frequency of molecular monitoring after tyrosine kinase inhibitor discontinuation affect outcomes of patients with chronic myeloid leukemia? **Cancer**, 123: 13 pp. 2482-2488, 7 p. (2017) IF:6.537; **DI Idézet:12** (függetl.:11)
11. Khoury, HJ; Langston, AA; Kota, VK; Wilkinson, JA; Pusic, I; Jillella, A; Bauer, S; Kim, AS; Roberts, D; Al-Kadhimi, Z; **Bodó, I** et al. Ruxolitinib: a steroid sparing agent in chronic graft-versus-host disease. **Bone Marrow Transplant** 53: 7 pp. 826-831, (2018) IF:4.674; **Q1 Idézet:62** (függetl.:59)
12. Ceglédi A, Dolgos J, Fekete M, Gopcsa L, Várkonyi A, Vilimi B, Mikala G, **Bodó I**: Delayed spontaneous remission of acquired factor V inhibitor refractory to immunosuppressive therapy with pregnancy-associated improvement. **Pathol Oncol Res** 29:1611250 (2023) IF:2.8; **Q2**

A TÉZISEK TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖNYVFEJEZETEK

1. **Bodó I**: A von Willebrand factor – genetikai és biokémiai alapismeretek. 164-168. old. Könyvfejezet a Trombosis és Vérzékenység c. könyvben, szerk. Boda Zoltán. Budapest: Medicine K. 2006. p. 562. ISBN 963-226-041-4. (2006)
2. **Bodó I**, Schlamadinger Á.: A von Willebrand betegség – klinikai és laboratóriumi vonatkozások. 168-180. old. Könyvfejezet a Trombosis és Vérzékenység c. könyvben, szerk. Boda Zoltán. Budapest: Medicine K. 2006. p. 562. ISBN 963-226-041-4. (2006)
3. Nemes L., Pitlik E., **Bodó I**, Pfliegler Gy., Tornai I.: Ritka coagulopathiák. 180-188. old. Könyvfejezet a Trombosis és Vérzékenység c. könyvben, szerk. Boda Zoltán. Budapest: Medicine K. 2006. p. 562. ISBN 963-226-041-4. (2006)
4. **Bodó I**: Essentialis thrombocythemia. 435-442. old. Könyvfejezet a Hatóanyagok, készítmények, terápia sorozat Fókuszban az onkológia és onkohematológia c. könyv (szerk. Dank Magdolna és Demeter Judit) Budapest: Melinda K. 2006. p. 863. ISBN 963-85822-2-7.

Itt felsorolt, a tézisek témájával összefüggő IF:52.532; **Idézet:214** (független:206)

II. A TÉZISEK TÉMÁJÁVAL NEM ÖSSZEFÜGGŐ KÖZLEMÉNYEK

1. Somló, M., Tomcsányi, J., Nagy, E., **Bodó, I**, Bezzegh, A.: D-dimer determination as a screening tool to exclude atrial thrombi in atrial fibrillation. **Am. J. Cardiol.** 92:85-87 (2003) IF: 3,059, **DI Idézet:48** (függetl.:48)
2. Hardi, R; Sulyok, M; Rózsa, L; **Bodó, I** A man with unilateral ocular pain and blindness. **Photo Quiz. Clin Infect Dis**, 57: 3 pp. 469-470. (2013) **Idézet:5** (független:3)

3. Sulyok, M; Rózsa, L; **Bodó, I**; Tappe, D; Hardi, R.: Ocular pentastomiasis in the Democratic Republic of the Congo. **Plos Neglected Tropical Diseases**. 8: 7 p. 7 Paper: e3041, 8 p. (2014) IF:4.446; **DI** **Idézet:25** (független:21)
4. Szelényi, Z; Fazakas, Á; Szénási, G; Kiss, M; Tegze, N; Fekete, BC; Nagy, E; **Bodó, I**; Nagy, B; Molvarec, A et al. Inflammation and oxidative stress caused by nitric oxide synthase uncoupling might lead to left ventricular diastolic and systolic dysfunction in patients with hypertension. **J Geriatr Cardiol** 12:1 pp. 1-10, (2015) IF:1.393; **Q2** **Idézet:22** (függtl:20)
5. Tappe, D; Sulyok, M; Rozsa, L; Muntau, B; Haeupler, A; **Bodó, I**; Hardi, R.: Molecular diagnosis of abdominal *Armillifer grandis* pentastomiasis in the Democratic Republic of Congo. **J Clin Microbiol** 53:7 pp. 2362-2364, (2015) IF:3.631; **DI** **Idézet:11** (független:9)
6. Tappe, D; Sulyok, M; Riu, T; Rózsa, L; **Bodó, I**; Schoen, C; Muntau, B; Babocsay, G; Hardi, R.: Co-infections in visceral pentastomiasis, Democratic Republic of the Congo. **Emerging Infect Dis** 22: 8 pp. 1333-1339, 7 p. (2016) IF:8.222; **DI**; **Idézet:22** (függetl.:19)
7. Rózsa, L; Apari, P; Sulyok, M; Tappe, D; **Bodó, I**; Hardi, R; Müller, V.: The evolutionary logic of sepsis. **Infection Genetics and Evolution**, 55 pp. 135-141, (2017) IF:2.545; **Q1** **Idézet:9** (független:9)
8. Hardi, R; Babocsay, G; Tappe, D; Sulyok, M; **Bodó, I**; Rózsa, L.: Armillifer-infected snakes sold at Congolese bushmeat markets represent an emerging zoonotic threat. **Ecohealth** 14: 4 pp. 743-749, 7 p. (2017) IF:2.649; **Q1** **Idézet:7** (független:7)
9. Gáspárdy A, Wagenhoffer Zs, Furlinger D, Halmágyi M, **Bodó I**, Lancioni H, Maróti-Agóts Á: Matrilinial Composition of the Reconstructed Stock of the Szekler Horse Breed. **Agriculture** 13:456 (2023) IF:3.6 **Q2** **Idézet:2** (független:1)

Itt felsorolt, a tézisek témájával nem összefüggő IF:29.545; **Idézet:151** (függetl.:137)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom tanárainknak, elsősorban Péterfy Miklósnak, aki a hematológiát és hemosztazeológiát megszerettette velem, és akinek lényeglátása és szigorú természettudományos becsületessége mindvégig példa volt számomra. Sokat tanultam a III. Belklinika többi hematológusától is, különösen Fekete Sándortól és Benedek Szabolcstól. Köszönöm továbbá Gergely Péternek, hogy mindvégig segített; kezdő orvosként tőle is sokat tanultam, és az USÁból való hazatérés után ő tette lehetővé a hemosztázis laboratórium elindítását. Rengeteget köszönhetek Falus András támogatásának, akinek PhD programjához csatlakozhattam, először mint hallgató, később mint témavezető.

Mérhetetlen hálával tartozom Evan Sadlernek akinek laboratóriumában dolgozhattam. Ő vezetett be a von Willebrand faktor biológiájába, és tőle a legmagasabb színvonalú kutatói gondolkodásmódot lehetett tanulni. Igen hálás vagyok Hanna J Khourynak és Sagar Lonialnak, hogy az Emory Egyetemen töltött idő alatt lelkesen támogattak, és segítették kutatásaim folytatását a betegellátás mellett.

Köszönöm a folyamatos támogatást Masszi Tamásnak, aki két intézetben is főnököm volt, és egyúttal köszönöm mindkét osztály, a Szent László Kórház Hematológiai és Össejt-transzplantációs Osztálya, valamint a Semmelweis Egyetem III. sz. Belgyógyászati Klinika orvosainak és nővéreinek, hogy olyan légkörben dolgozhatunk, amelyben a tudományos gondolkodás megfér a betegellátás napi gondoljaival és nem sérti a derűs kollegiális kapcsolatokat. Azóta mindkét osztály más nevet visel, de a hála változatlan.

Köszönöm a Haemostasis Laboratórium dolgozóinak, PhD hallgatóinak és asszisztenseinek, de különösen Szederjesi Attilának, Horváth Róbertnek, Nagy Eszternek, Vilimi Beátának, hogy áldozatos munkájukkal lehetővé tették, ill. teszik a labor színvonalas működését.

Végül végtelen hálával tartozom családomnak, feleségemnek, Németh Csillának és lányaimnak Kingának és Csengének, valamint hét unokámnak, hogy mindvégig támogattak, lehetővé tették, hogy nyugodt körülmények között dolgozhassam, sokszor a családtól rabolva el az időt.