

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Lóczy Linda

**A trombin generáció prognosztikai értéke különböző
klinikai kórképekben**

DEBRECENI EGYETEM

LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA

Debrecen

2026

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**A trombin generáció prognosztikai értéke különböző
klinikai kórképekben**

Lóczy Linda

Témavezető: Dr. Bagoly Zsuzsa



**DEBRECENI EGYETEM
LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA
Debrecen, 2026**

TARTALOMJEGYZÉK

GYAKORI RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	4
BEVEZETÉS	7
IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	9
<i>A hemosztázis rendszer</i>	<i>9</i>
<i>A trombin generációs teszt történelmi háttere és elve</i>	<i>12</i>
<i>CAT assay és a TGT meghatározása.....</i>	<i>12</i>
<i>Reagensek, alkalmazás, limitációk</i>	<i>14</i>
<i>A stroke típusai, az agyi állományvérzés legfontosabb klinikai jellemzői</i>	<i>16</i>
<i>A vesetranszplantáció, és az antitest mediálta rejekció</i>	<i>21</i>
<i>A krónikus veseelégtelenség</i>	<i>21</i>
<i>A krónikus veseelégtelenség kezelése: dialízis, transzplantáció.....</i>	<i>22</i>
<i>Az donor specifikus antitestek és az antitest mediálta kilökődés</i>	<i>23</i>
CÉLKITŰZÉS.....	26
BETEGEK ÉS MÓDSZEREK.....	27
<i>Nem traumás intracerebrális vérzéses stroke-ot szenvedett betegek vizsgálata.....</i>	<i>27</i>
<i>Vesetranszplantált betegek vizsgálata</i>	<i>28</i>
<i>Mintagyűjtés és laboratóriumi vizsgálatok</i>	<i>28</i>
<i>Mintavétel</i>	<i>28</i>
<i>A trombin generációs teszt kivitelezése</i>	<i>29</i>
<i>FVIII aktivitás meghatározása</i>	<i>30</i>
<i>VWF antigén szint meghatározása</i>	<i>31</i>
<i>D-dimer szint meghatározás</i>	<i>31</i>
<i>In vitro alvadék lízis vizsgálat kivitelezése</i>	<i>31</i>
<i>Szulobilis P szelektin és E szelektin szintek meghatározása</i>	<i>32</i>
<i>Komplement szintek meghatározása</i>	<i>32</i>
<i>DSA meghatározás.....</i>	<i>32</i>
<i>Hisztopatológiai vizsgálatok</i>	<i>33</i>
<i>Etikai engedély</i>	<i>33</i>
<i>Statisztikai analízis</i>	<i>33</i>
EREDMÉNYEK.....	35
<i>Nem traumás intracerebrális vérzéses stroke-ot szenvedett betegek vizsgálatának eredményei....</i>	<i>35</i>
<i>Klinikai alapadatok</i>	<i>35</i>
<i>Stroke jellemzők és kimenetelek az ICH kohorszban.....</i>	<i>36</i>
<i>Trombin generáció a betegekben és a kontrollokban.....</i>	<i>38</i>

<i>A stroke súlyossága és a kimenetek vizsgálata.....</i>	<i>39</i>
<i>A TGT paraméterek és az intracerebrális vérzés térfogatának összefüggése</i>	<i>42</i>
<i>A FVIII aktivitás, valamint a D-dimer szintek és az intracerebrális vérzés mennyiségének összefüggése.....</i>	<i>44</i>
<i>Vesetranszplantált betegek vizsgálatának eredményei</i>	<i>45</i>
<i>Klinikai alapadatok</i>	<i>45</i>
<i>Az endotélkárosodás szolubilis markerei, a TGT és CLA vizsgálata DSA+ és DSA– vesetranszplantált betegekben</i>	<i>47</i>
<i>TGT paraméterek, DSA pozitivitás és a tacrolimus szintek közötti összefüggések.....</i>	<i>49</i>
<i>Az endotélkárosodás szolubilis markerei, TGT és CLA paraméterek alakulása a követés során</i>	<i>51</i>
<i>TGT paraméterek, DSA pozitivitás és a tacrolimus szintek közötti összefüggések a követés során.....</i>	<i>57</i>
<i>A TGT egyes paraméterei és a vesebiopsziákban megfigyelhető mikrovaskuláris obstrukció közötti összefüggés.....</i>	<i>58</i>
<i>A gyulladás és a TGT egyes paraméterei közötti összefüggés a DSA+ betegekben.....</i>	<i>59</i>
MEGBESZÉLÉS.....	61
<i>Limitációk</i>	<i>67</i>
<i>Konklúzió.....</i>	<i>68</i>
ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK	69
ÖSSZEFOGLALÁS	71
SUMMARY	72
IRODALOMJEGYZÉK.....	73
TÁRGYSZAVAK.....	79
KEYWORDS	80
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	81
FÜGGELÉK	82

GYAKORI RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ABMR	antitest mediálta rejekció
ADP	adenozin-5'-difoszfát
APTI	aktivált parciális tromboplasztin idő
AUC	görbe alatti terület
α 2-PI	α 2-plazmin inhibitor
BMI	testtömeg index
CAT	Calibrated Automated Thrombogram
CI	konfidencia intervallum
CLA	alvadék lízis teszt
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institutes
CLT	alvadék lízis idő
CT	komputer tromográfia
DSA	donor specifikus antitest
eGFR	becsült glomeruláris filtrációs ráta
ELISA	enzim-kapcsolt immunszorbens teszt
ETP	endogén trombin potenciál
FV	V-ös véralvadási faktor
FVIII	VIII-as véralvadási faktor
FIX	IX-es véralvadási faktor
FX	X-es véralvadási faktor
FXa	X-es véralvadási faktor aktivált formája
FXIII	XIII-as véralvadási faktor
GCS	Glasgow coma skála
GOT	glutamát oxálacetát transzamináz
GPT	glutamát piruvát transzamináz
HDL	magas denzitású lipoprotein
HE	hematoxilin eozin
hsCRP	nagy érzékenységű C-reaktív protein meghatározás
HLA	Humán Leukocita Antigén
ICH	intracerebrális vérzés
INR	nemzetközi normalizált ráta

IQR	interkvartilis tartomány
IVIG	intravénás immunglobulin
LDH	laktát dehidrogenáz enzim
LDL	alacsony denzitású lipoprotein
LMWH	kis molekulású heparin
MFI	átlagos fluoreszcencia intenzitás
MHC	fő hisztokompatibilitási komplex
MP	mikropartikula
MPA	mikofenolsav
MR	mágneses rezonancia képalkotás
mRS	módosított Rankin skála
MVT	mélyvénás trombózis
n	esetszám
NIHSS	National Institutes of Health Stroke Scale
NK	természetes ölősejt
OD	optikai denzitás
OR	esélyhányados
PAS	perjódsavas-Schiff
PCR	polimeráz láncreakció
PI	protrombin idő
PPP	trombocita szegény plazma
PRP	trombocita dús plazma
ROC	receiver operating characteristics
rt-PA	rekombináns szöveti típusú plazminogén aktivátor
SAB	Single Antigen Bead
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SD	standard deviáció
sEsel	szolubilis E szelektin
sPsel	szolubilis P szelektin
TF	szöveti faktor
TGT	trombin generációs teszt
TI	trombin idő
t-PA	szöveti típusú plazminogén aktivátor
VCAM-1	vaszkuláris adhézis molekula-1

VTE	vénás tromboembólia
VWF	von Willebrand faktor

BEVEZETÉS

Mind a vérzési hajlam, mind a trombózis rizikó kimutatása kulcsfontosságú a klinikusok számára számos kórkép esetén a mindennapi betegellátás során. A rutin diagnosztikában ma alkalmazott hemosztázis tesztek nem teszik lehetővé az egyén véralvadási profiljának, a hemosztázis egyensúlyának teljes körű értékelését.

A trombin a koaguláció kulcsfontosságú enzime, amely elengedhetetlen a normál hemosztázis egyensúly fenntartásához. A trombin generációs teszt (TGT) innovatív megközelítést kínál a hemosztázis vizsgálatában, lehetővé téve a trombin képződés teljes kinetikájának megfigyelését. A teszt sajátos tulajdonsága, hogy lehetővé teszi a vérben a pro- és antikoaguláns folyamatok együttes hatásának értékelését, amely segíthet a klinikusoknak a fokozott trombózishajlam, illetve a vérzékenység rizikójának megítélésében. Ezáltal a TGT potenciálisan számos területen alkalmazható, beleértve az öröklött és szerzett koagulációs rendellenességek diagnosztikáját, a trombózis rizikó felmérését, valamint a különféle gyógyszeres terápiák hatékonyságának megítélését. Jelenleg a hemosztázis diagnosztikában használt alvadási szűrőtesztek (protrombin idő: PT, aktivált parciális tromboplastin idő: APTT, illetve trombin idő: TT) esetében a mérés végpontja az alvadék képződés kezdete, vagyis a fibrinszál megjelenése, melyet a teljes képződő trombin kevesebb, mint 5%-a befolyásol. Mivel a képződött trombin több, mint 95%-a az alvadék létrejöttét követően generálódik, a hemosztázis szűrőtesztek nem adnak megfelelő információt a képződött trombin mennyiségéről. A TGT nem csak egy adott idő intervallum alatt képződött trombin mennyiségét, hanem a képződés kinetikáját is méri. A teszt további előnyeihez tartozik, hogy a hagyományos hemosztázis szűrőtesztekkel ellentétben a koaguláció iniciációs fázisán kívül az amplifikációs és a propagációs fázisokat is méri, és magában foglalja az alvadás természetes inhibitorának (antitrombin), illetve inaktivátorainak (protein C, illetve kofaktorként a protein S) hatásait is. A teszt klinikai gyakorlatba való bevezetéséhez azonban elengedhetetlen a módszer standardizálása és a klinikai döntéshozatalhoz szükséges referencia tartományok, illetve referencia határértékek meghatározása.

Az elmúlt évtizedekben kimutatták, hogy a TGT számos klinikai állapot esetén nyújthat információt a hemosztázis egyensúlyáról: hasznos lehet egyes koagulopátiák diagnosztikájában, a mellrák kiújulásának klinikai értékelésében, egyes antikoaguláns terápiák monitorozásában. Hemofília esetében a teszt eredményei segíthetnek a vérzéses szövődmények rizikójának megítélésében, illetve a teszt lehetővé teszi a különböző faktorkészítményekkel

történő kezelések monitorozását. A TGT elfogadását a rutin diagnosztikai/klinikai gyakorlatban elősegítheti, ha a vizsgálat diagnosztikai, illetve prognosztikai hasznával kapcsolatban egyre szélesebb körű tapasztalatokat nyerünk a jövőben, különböző betegcsoportok vizsgálatával.

A dolgozat alapját képező munka első részében a TGT prognosztikai szerepét vizsgáltuk agyvérzett betegekben. Mivel a TGT révén a hipo- és hiperkoagulációs állapot egyaránt kimutatható, feltételeztük, hogy a teszt hasznos lehet a vérzéses stroke kimenetelének megítélésére.

A munka második felében vesetranszplantált betegekben vizsgáltuk, hogy a transzplantációt követően megjelenő humán leukocita antigén (HLA)-ellenes donor specifikus antitestek összefüggést mutatnak-e a TGT segítségével kimutatható hiperkoagulabilitással. Feltételeztük, hogy a TGT által jelzett hiperkoagulációs állapot, amennyiben tartósan fennáll, hozzájárulhat az antitest mediált graft rejekció (ABMR) patomechanizmusához.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

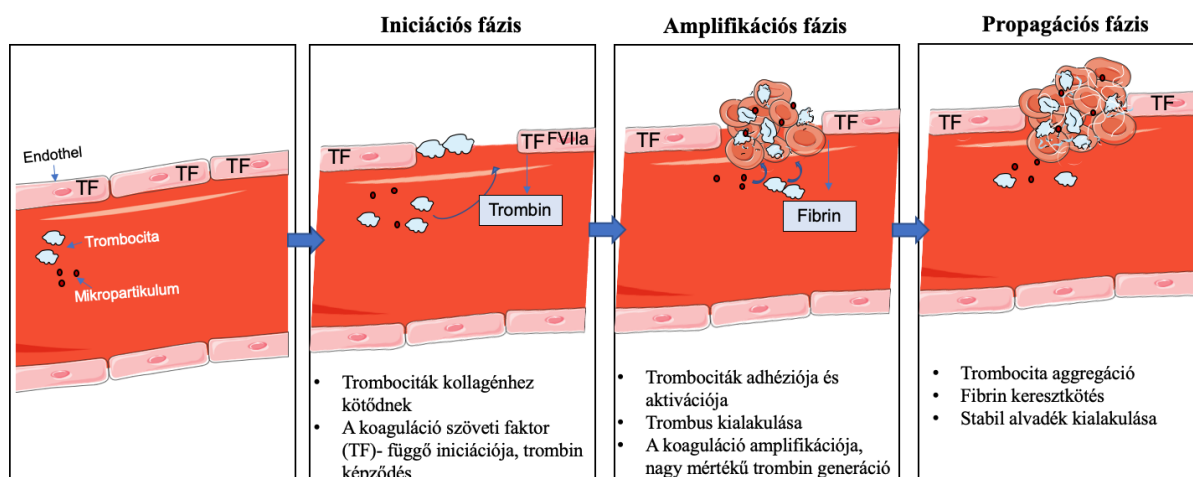
A hemosztázis rendszer

A hemosztázis az érrendszeri sérülésekre adott rendkívül kifinomult fiziológiás védekező mechanizmus (1). E rendszer funkciója egyrészt, hogy a természetes antikoaguláns mechanizmusok révén hozzájáruljon a vér folyékony állapotban tartásához az érpályán belül, másrészt, hogy az endotél sérülése esetén véralvadási folyamat induljon el, mely magában foglalja a trombociták és véralvadási faktorok aktivációját, vérrög kialakulását, így a vérveszteség mértéke minimalizálódik (2-4). A véralvadás érzékeny egyensúlyának fenntartása szükséges ahhoz, hogy a szervezet megfelelő módon reagáljon a sérülésekre, ugyanakkor biztosítsa a szervek, szövetek megfelelő vérellátását.

Az 1900-as évek elején forradalmi felfedezések történtek a hemosztázis és a koaguláció vizsgálata terén. Az 1950-es évek végére azonosították az összes véralvadási faktort (5). A koaguláció széles körben elfogadott kaszkádszerű aktiválódási rendszerét először 1964-ben MacFarlane és munkatársai, valamint Davie és Ratnoff írták le (6, 7). A vízesésre emlékeztető aktiválódási folyamatot *in vitro* körülmények között két szakaszra tagolták: intrinsic és extrinsic útvonalakra, mely a közös útvonalban folytatódott (8).

A hemosztázis érzékeny egyensúlya három rendszer összehangolt működésén alapszik: a humorális rendszer, amely a koaguláció folyamatát foglalja magába, alvadási faktorok, és természetes antikoaguláns tényezők révén; a celluláris rendszer, amely a trombociták adhézióján, aggregációján és szekrécióján alapul, komplexen együttműködve a humorális rendszerrel; illetve a vaszkuláris rendszer, amely vazokonstrikció és szubendotheliális prokoaguláns anyagok felszabadításával aktiválja az extrinsic útvonalat.

A korábban ismert kaszkádszerű elméletét napjainkra felváltotta a hemosztázis sejt alapú modellje, melyet 2001-ben írtak le (9). Az 1. ábrán látható modell alapján a koagulációs kaszkád három fázisra tagolható, melyek az iniciációs, amplifikációs és propagációs szakaszok (10).



1. ábra. A hemosztázis modellje: vérrög képződés az érsérülés helyén, beleértve az iniciációs, amplifikációs és propagációs fázist

Mackman et al. alapján szerkesztve (1). FVIIa: aktivált VII-es faktor, TF: szöveti faktor

Az iniciációs fázisban aktivált koagulációs fehérjék keletkeznek a szöveti faktort hordozó sejteken (11). Az amplifikációs szakaszban a trombociták és kofaktorok aktiválódnak, ami jelentős mértékű trombin generációhoz vezet. Az aktivált trombociták szekretálják a granulumaik tartalmát (pl. adenzin-difoszfát: ADP szabadul fel), így segítve a koagulációt és a trombociták további aggregációját (9). A propagációs fázisban nagy mennyiségben képződik trombin és fibrinalvadék az aktivált trombociták felszínén. A trombin hatására a XIII-as faktor (FXIII) aktiválódik, amely képes stabilizálni az alvadékot a fibrin láncok keresztkötésével és az α 2-plazmin inhibitor (α 2-PI), egy központi fibrinolízis inhibitor, alvadékba való keresztkötésével (9, 12).

A véralvadás kezdetén a von Willebrand faktor (VWF) szubendotheliális mátrix fehérjékhez kötődik, a kikötött VWF pedig a trombociták gyors adhézióját segíti elő. A keringésben a VWF a VIII-as faktorról (FVIII) nem kovalens kötéssel komplexet képez. A kötődés révén a VWF stabilizálja a FVIII szerkezetét és meghosszabbítja a féléletidejét, továbbá az aktivitását is szabályozza: meggátolja az aktivált FX (FXa) általi aktiválódását és az aktivált protein C révén történő inaktivációját is. A VWF az endothelsejtek szubcelluláris organelleiben, a Weibel-Palade testekben tárolódik, és különböző aktivációs stimulusok hatására felszabadul. A VWF emelkedett szintje így az endothel károsodás egyik érzékeny markere, egyéb biomarkerek mellett (pl. szolubilis P szelektin: sPsel, szolubilis E szelektin: sEsel, szolubilis VCAM-1, endothel sejt eredetű mikropartikula vizsgálat, stb). Fontos megjegyezni, hogy mind a VWF,

mind a FVIII pozitív akut fázis fehérje, szintjük akár egynegyedével is nőhet gyulladásos folyamatokban.

A keletkezett fibrinalvadék megfelelő lebontásáért a fibrinolitikus rendszer felelős. A fibrinolitikus rendszer nem képezi a disszertáció alapját, így az nem kerül részletes bemutatásra. A fibrinolízis központi proteáza a plazmin, mely plazminogénből jön létre plazminogén aktivátorok hatására. A plazminogén aktivációjában a szöveti típusú plazminogén aktivátor (t-PA) játszik legfőbb szerepet. A t-PA igen hatékonyan képez plazminogénből plazmint a fibrin alvadék felszínén, rekombináns formáját ezért gyógyszerként trombusok oldására használják. A fibrinolízis fiziológiásan nagyon lassú folyamat (órák, napok alatt megy végbe), ezért a t-PA használata elterjedt a fibrinolízist vizsgáló tesztekben (pl. alvadék lízis vizsgálat).

A vékonyabb fibrinszálakból álló, kompakt alvadék lassabban degradálódik, mint a vastag fibrinszálakból álló, lazább alvadék. Magas trombinkoncentráció esetén sűrűbb, több elágazódást mutató, de vékonyabb fibrinrostokból álló fibrinalvadék képződését figyelték meg, alacsony trombinkoncentráció esetén pedig lazább szerkezetű, vastagabb fibrinszálakból álló alvadék keletkezik, mely fokozottabb vérzési kockázattal jár együtt (13).

A trombin generációs teszt történelmi háttere és elve

A trombin a véralvadás kulcsenzime, képződése a koaguláció legfontosabb lépése (14). A trombin generációs teszt (TGT) a koaguláció globális tesztje, mely *in vitro* körülmények között lehetővé teszi a tromboplasztin tartalmú reagens hatására képződő trombin mennyiségének mérését, a trombinképződés aktiválódási kinetikájának monitorozását meghatározott időtartam alatt (15).

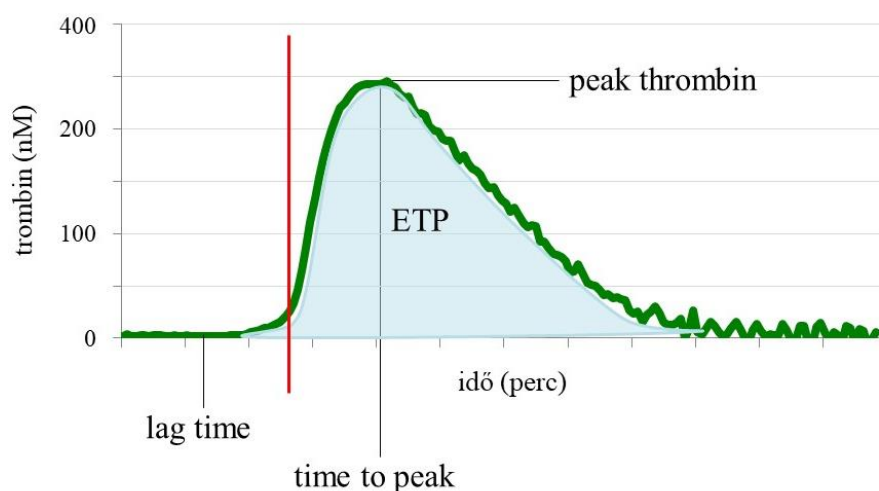
Az első trombin generációs módszert Macfarlane és Biggs fejlesztette ki, majd publikálta 1953-ban (16). A tesztet Coenraad Hemker fejlesztette tovább a kilencvenes években, melyben először alkalmazott kromogén szubsztrátot, majd leírásra került egy fluoreszcens szubsztrát alkalmazásán alapuló módszer, melyet ma is alkalmazunk (17, 18). Ezután munkacsoportjával kifejlesztette a CAT (Calibrated Automated Thrombogram) assay-t, ami lehetővé tette a plazmamintában lévő trombin aktivitásának folyamatos monitorozását egy kalibrációs méréssel párhuzamosan (19). A TGT napjainkban használt formáját 2008-ban véglegesítették, ekkor leírták helyes laboratóriumi alkalmazását, az egyes paraméterek meghatározását, illetve validálását (20).

A koaguláció klasszikus szűrőtesztjei, a PI, az APTI, valamint a TI világszerte a leggyakoribb vizsgálatok a koagulációs rendellenességek kimutatására (21). Ezek a tesztek azonban nem tükrözik a véralvadás teljes élettani folyamatát (22). A szűrőtesztek a koaguláció kezdeti lépéseiről adnak csak információt, csak az alvadás időpontját tudják meghatározni, mely során a keletkező összes trombin mennyiségének csak kis hányada keletkezik (21). A TGT viszont a véralvadási kaszkádról sokkal többet mutat, magába foglalva az alvadás természetes inhibitorának (antitrombin) és inaktivátorainak (protein C, kofaktorként protein S) hatását is (23). Irodalmi adatok alapján a hagyományos hemosztázis szűrőtesztekkel ellentétben, a TGT eredményei kimutatják nem csak a hipokoagulabilitást, hanem a hiperkoagulációt jelző protrombotikus, trombotikus állapotokat, információt nyújtva a fokozott trombózis rizikó mértékéről (24).

CAT assay és a TGT meghatározása

A teszt elve, hogy a plazmához adott tromboplasztin hatására trombin képződik, amely képes hasítani a fluoreszcens szubsztrátot. A hasítás eredményeként fluoreszcens termék jön létre, amely adott hullámhosszokon jól detektálható. A keletkező jel intenzitása és kinetikája arányos lesz a trombin képződéssel, így a fluoreszcens jel detektálásával követhető a trombin generáció folyamata egy órán keresztül (19).

A teszt főbb paraméterei a 2. ábrán láthatók, melyek a lag time, az ETP (endogén trombin potenciál, görbe alatti terület), a peak thrombin és a time to peak (23). Megnevezésük angolul használatos, mivel nincs általánosan elfogadott magyar fordításuk.



2. ábra. A trombin generációja és a teszt főbb paraméterei egy reprezentatív trombogramon ábrázolva

A trombogramon látható a képződő trombin mennyisége az idő függvényében (24). A teszt paraméterei: *Lag time (perc)*: a teszt kezdetétől a trombin generáció kezdetéig (piros függőleges vonal) eltelt idő. *ETP (nM*perc)*: endogén trombin potenciál, a görbe alatti terület. *Peak thrombin (nM)*: a legnagyobb trombin aktivitást adja meg. *Time to peak (perc)*: a maximális trombin generáció eléréséhez szükséges idő.

A korábbi TGT-khez képest a CAT assay a módszer kalibrációval kiegészített módosítása (19). A kalibráció révén a plazma színe/turbiditása (hemolízis, icterus, lipémia) nem befolyásolja a meghatározást, így már nem csak trombocita mentes plazma, hanem trombocita dús plazma és teljes vér mérésére is alkalmassá válik a módszer (25, 26). Előnye, hogy megszünteti az ún. „inner filter effektust”, korrigál a szubsztrát fogyasztásból adódó eltérésekre, valamint az „ α 2-makroglobulin hatás” kiküszöbölésére. Az „inner filter effektus” kifejezés arra utal, hogy a mintában lévő fluoreszcens molekulák elnyelik a fluoreszcens fény egy részét a többi hasított molekulától, így a fluoreszcencia intenzitása nem lesz arányos a keletkező fluoreszcens molekulák koncentrációjával, ezáltal a valójában képződő trombin mennyiségénél hamisan alacsonyabb eredményt adhat (15). Az „ α 2-makroglobulin hatás” kiküszöbölése a CAT assay további fontos előnye. A trombin természetes inhibitora, az antitrombin a trombin aktív centrumába kötődve inaktíválja az aktív enzimet. Az antitrombin mellett az α 2-makroglobulin is képes gátolni a trombint úgy, hogy a trombin másik kötőhelyéhez (exosite-jához)

kapcsolódik. A trombin ezáltal inaktívvá válik, azonban a teszt során alkalmazott kis méretű fluoreszcens molekulákat továbbra is képes lesz hasítani, ami valótlanul magasabb trombin generációt eredményez (21).

Reagensok, alkalmazás, limitációk

A TGT még nem tartozik a rutin laboratóriumi eljárások közé, kutatási eredmények alapján azonban igen ígéretesnek tűnik hipo- és hiperkoagulációs állapotok, valamint pretrombotikus állapotok jelzésére (24, 27, 28). A TGT klinikai elterjedésének számos limitációja van. A teszt egyelőre még nincs standardizálva, a különböző centrumokban más-más módon végzik el a meghatározást. Különösen érzékeny bizonyos preanalitikai tényezőkre, úgymint vérvételi körülmények, vér-citrát arány, centrifugálás, mintatárolás stb. Gyártótól függően a forgalmazott reagensekben eltérő lehet a szöveti faktor és a foszfolipid koncentráció. További limitáló tényező, hogy a különböző készülékekkel és különböző reagensekkel meghatározott értékek igen nagy variabilitást mutatnak, így a teszt paramétereinek nincs hivatalos CLSI-irányelv szerinti egységes referencia tartománya (23). Az egyes laboratóriumok közötti eltérések mind az alkalmazott reagensok, mind a körülmények standardizálásával csökkenthetők lennének, illetve hasznos segítség lehetne a jövőben a meghatározás során referencia plazma alkalmazása is (23, 29). Az sem jelent előnyt, hogy a teszt kivitelezése jelenleg még időigényes és viszonylag drága.

Trombin generációs kiteket forgalmaz a Diagnostica Stago (Asnières-sur-Seine, Franciaország) és a Technoclone (Bécs, Ausztria) cég. A Stago reagensait a Fluoroskan Ascent (FL) fluoriméterhez ajánlja, a Technoclone a Ceveron nevű automatán történő mérésekhez (30, 31). Nemrégiben elérhetővé vált a Diagnostica Stago CAT rendszer alapú, automatizált TGT meghatározása (ST Genesis) is, mely kiküszöbölve a manuális mérésből adódó hibaforrás lehetőségeket, a rutin diagnosztikai piacon való megjelenést tűzte ki célul, specializált reagenscsomagok révén (STG-ThromboScreen, STG-BleedScreen, STG-DrugScreen). A Siemens cég által gyártott TGT-t a BCS-XP koagulométeren lehet alkalmazni. Kiemelendő, hogy a forgalomban lévő trombin generációs reagenseknek a vizsgálati minta típusától függően (trombocita szegény plazma vs. trombocita dús plazma) is eltér a szöveti faktor és a foszfolipid koncentrációja. Trombocita szegény plazma esetén magasabb a reagens szöveti faktor ill. foszfolipid tartalma (pl. Diagnostica Stago PPP reagens szöveti faktor: 5 pM, foszfolipid: 4 µM), míg trombocita dús plazma minta esetén a reagens csak szöveti faktort tartalmaz alacsony koncentrációban, a foszfolipid felszín a trombociták biztosítják (pl. PRP reagens szöveti faktor:

1 pM, nem tartalmaz foszfolipidet). Antikoaguláns (pl. heparin terápia) alkalmazása esetén magas szöveti faktor és a foszfolipid koncentrációjú reagens (pl. PPP High reagens, szöveti faktor: 20 pM, foszfolipid: 4 μ M), míg hemofiliás betegek vagy más faktorhiány esetében alacsony szöveti faktor koncentrációjú reagens alkalmazható (PPP Low reagens szöveti faktor: 1 pM, foszfolipid: 4 μ M). Az úgynevezett MP reagens (nem tartalmaz szöveti faktort, foszfolipid: 4 μ M) a PPP-ben lévő mikropartikulák koagulációs hatásának vizsgálatára ajánlott (31).

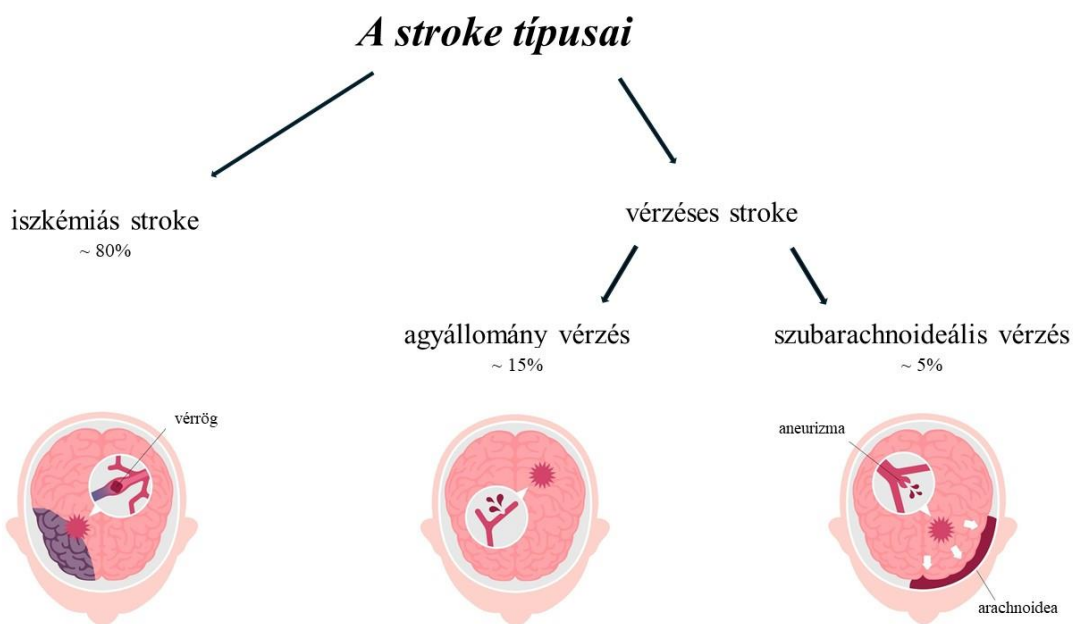
Bár a TGT rutin diagnosztikai alkalmazása még nem terjedt el, számos klinikai kórkép esetén lehet hasznos a teszt a jövőben a klinikai döntéshozatal segítésére. Irodalmi adatok alapján az ETP és peak thrombin paraméterek, melyek klinikai szempontból a leginkább meghatározóak, összefüggést mutatnak a fokozott trombózis rizikóval járó állapotokkal (23). Irodalmi adatok alapján a TGT hasznos lehet olyan kórképekben, ahol emelkedett artériás- vagy vénás trombózis rizikó áll fenn, például diabetes mellitus, daganatos betegség, örökletes thrombophiliák (pl. antitrombin-, protein C- és protein S deficiencia, FV Leiden mutáció esetében) (24, 32, 33). A többféle reagensnek köszönhetően a módszer az antikoaguláns terápia hatásának monitorozására is alkalmas (24). A teszt egyik legígéretesebb jövőbeli alkalmazása a hemofiliás betegek vérzéses rizikójának megítélése és az alkalmazott terápia követése (34, 35).

A stroke típusai, az agyi állományvérzés legfontosabb klinikai jellemzői

A stroke az agyműködés vérellátási zavarával jellemezhető, gyorsan kialakuló tünetegyüttes, amely legalább 24 órán keresztül fennáll és nincs más oka, mint az agyi érrendszerben kialakult elváltozás (36). Patomechanizmus szerint, attól függően, hogy a vérellátási zavart elzáródás vagy vérzés okozza, lehet iszkémiás vagy hemorrhagiás (vérzéses). A tünetek a stroke típusától és az előfordulás helyétől, illetve mértékétől függenek. Hazánkban évente 45-50 000 új stroke esetet regisztrálnak, melynek kb. 80 %-a iszkémiás eredetű. Az iszkémiás stroke az agyi erek elzáródásával jár, melynek hátterében állhat kis vagy nagyartériás trombózis, embolizáció vagy valamilyen hemodinamikai zavar. A fennmaradó stroke esetek 20%-a vérzéses stroke: ebben az esetben az agy vérellátását biztosító valamely ér megreped és a vér a szövetek közé szivárog, így az érintett agyi régió nyomás alá kerül (37) (3.ábra). A vérzéses stroke esetek többsége (az össz stroke esetek mintegy 15%-a) agyi állományvérzés (intracerebrális hemorrhagia: ICH), fennmaradó hányada szubarachnoideális vérzés (38, 39).

Bár az ICH előfordulási gyakorisága ritkább az iszkémiás stroke-hoz képest, halálozási aránya jóval magasabb (40). A betegség mortalitása az első hónapban 40%, az első évben pedig 54%-ra tehető (41).

Az ICH etiológiája összetett. A magas vérnyomás az ICH egyik leggyakoribb kiváltó oka, a vérzések 30-60%-a ehhez kapcsolódik (42). A tartósan emelkedett vérnyomás a kis (vagy ritkábban nagy) erek falának gyengüléséhez vezethet. A vérzések hátterében különböző érrendszeri betegségek (kis- és nagyartériát, vénát érintő), arteriovenosus malformációk és véralvadási rendellenességek is szerepet játszhatnak (43), illetve az egyre gyakoribb antikoaguláns és trombocitagátló kezelés. Fontos hangsúlyozni, hogy az ICH kialakulása komplex mechanizmusok folyamata, melyet több tényező egyszerre befolyásolhat, azonban az esetek kb. 5-20%-ában a kiváltó ok nem határozható meg egyértelműen (44-46). Kockázati tényezők között említhető a diabetes mellitus, a dohányzás, az 50 év feletti életkor, az alkoholfogyasztás és a drogok használata is (45).



3. ábra. A stroke típusai és előfordulási gyakorisága sematikusán ábrázolva

Az ICH tünetei hirtelen jelentkezhetnek, és a következők lehetnek: fejfájás, szédülés, hányinger és hányás, tudatzavar, gyengeség, érzéskiesés a test egyik oldalán, beszédzavar, koordinációs probléma, görcsroham. Legtöbbször hirtelen fellépő fokális neurológiai deficit jelentkezik, amelyet a vérzés helye és a kialakult ödéma határoz meg. Gyakran társul a beteg tudatszintjének csökkenésével, amelyet a Glasgow coma skálával (GCS) mérnek. Az intracerebrális vérzést követő első néhány órában folyamatos állapotrosszabbodás figyelhető meg a betegek 15-20%-ánál.

Mivel kizárólag a neurológiai tünetek alapján egyértelműen nem állapítható meg, hogy a tüneteket iszkémia vagy vérzés okozza, ezért az agyi képalkotó vizsgálatok elvégzése alapvető fontosságú a stroke típusának felismerése, és a károsodás mértékének felmérése céljából. A kontrasztanyag nélküli koponya CT vizsgálat továbbra is a gold standard képalkotó eljárás az ICH kezdeti diagnózisában, mivel könnyen hozzáférhető és gyors (47). A kontrasztanyag adásával készült MRI vizsgálat szintén hasznos képalkotó módszer lehet a klinikusok számára, mely segítséget nyújt a régi vérrögök ill. korábbi léziók felismerésében is.

A nem traumás ICH mortalitása magasabb az iszkémiás stroke-hoz képest, azonban a terápiás lehetőségek limitáltak, és a kimenetelt is nehéz megjósolni (48). Tekintettel az ICH kedvezőtlen kimenetelére, az időben megkezdett orvosi beavatkozás kulcsfontosságú a kezelés szempontjából, mivel ezáltal elkerülhetővé válik a tragikus kimenetel, csökkenthető a maradandó károsodás kockázata, javítva a túlélési esélyeket (47). A diagnózis felállítását követően a cél a rávérzés kockázatának és a hematoma kiterjedésének csökkentése az első 24-

72 órán belül (47). A kezelés típusa és mértéke a vérzés okától, helyétől, valamint a beteg állapotától függ. Az ICH esetében rövid időablakon belül kiemelten fontos az azonnali orvosi beavatkozás, míg az iszkémiás stroke-nál ez altípustól és a kezelés módjától függően a tünetek kezdetétől számított 4,5-24 órás időablakon belül kell, hogy megtörténjen (49, 50). Figyelembe véve az ICH kedvezőtlen kimenetelét, a hangsúlyt az olyan konzervatív kezelésekre fektetik, mint a vérnyomáscsökkentés, az immobilizáció és az emelkedett intrakraniális nyomás kontrollálása. Sebészeti beavatkozás csak bizonyos esetekben jöhet szóba, mivel kockázatos és hatékonysága vitatott, még mindig folynak vizsgálatok a prognózis javítását célzó kevésbé invazív terápiák megtalálására (42, 48).

A klinikusok a diagnózis felállítása során a tünetek súlyosságát és a beteg állapotát értékelő skálákat használhatnak. Ilyen neurológiai állapotfelmérő skála a GCS, az ICH score, illetve az NIHSS, melyek a beteg kórházi felvételét követően rövid időn belül meghatározhatóak.

A GCS-t eredetileg valamely traumás agysérülést követő kóma vagy diszfunkció súlyosságának meghatározására fejlesztették ki, de hasznos lehet minden olyan állapot esetén, amely tudatzavarhoz vezet. A súlyosság megállapítása a szemnyitás, verbális- és motoros kritériumok alapján történik. A felvételi GCS érték a hosszútávú kimenetel meghatározó prediktora.

Az ICH score széles körben elfogadott skála (1. táblázat), amely figyelembe véve a betegek demográfiai jellemzőit, funkcionális klinikai állapotát, valamint az agyi képalkotó vizsgálatok eredményeit, becsüli meg a mortalitás veszélyét (51). A magas ICH score rosszabb kimenetellel és a magasabb halálozással hozható összefüggésbe.

Szempontok	Pontszám
GCS érték	
3-4	2
5-12	1
13-15	0
Az intracerebrális vérzés térfogata (cm ³)	
≥ 30	1
< 30	0
Intraventriculáris vérzés	
Van	1
Nincs	0
Infratentoriális eredet	
Igen	1
Nem	0
Életkor	
≥ 80	1
< 80	0
ICH score értéke összesen	0-6

1. táblázat. Az ICH score összetétele

A stroke súlyosságának megállapítására az NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) rendszer használatos, melynek 11 eleme van. A kérdőív a következő területeket vizsgálja: tudatállapot, szemmozgások, arc aszimmetria, karok és lábak motoros funkciói, beszéd és nyelvi képességek, szenzoros érzések, önálló aktivitások. A pontszám 0-42-ig (legsúlyosabb stroke esetén) terjedhet. A magasabb pontszámok súlyosabb neurológiai állapotot, azaz rosszabb kimenetelt jelezhetnek (52, 53).

Az állapotfelmérő skálák önmagunkban azonban nem elegendők a beteg prognózisának megítéléséhez. Az ICH kimenetele rendkívül változó lehet, attól függően, hogy az agy mely területe milyen mértékben érintett. Sajnos a betegek mintegy 75%-ánál olyan funkciózavar marad vissza, amely a munkaképesség csökkenésével jár. A hosszasan fennálló tünetek gyakran rokkantsághoz vezetnek, és a betegek többsége folyamatos gondozásra szorul (54). Az akut stroke utáni hosszútávú funkcionális klinikai kimenetel értékelésének standard módszere a módosított Rankin Skála (mRS) (2. táblázat) (54).

	Pontszám
Egyáltalán nincs tünete vagy tünetmentes.	0
Tünetei ellenére nincs érdemi rokkantság, minden szokásos feladatot és cselekvést képes elvégezni.	1
Enyhe rokkantság figyelhető meg, nem képes a korábbi mindennapos feladatai mindegyikét elvégezni, de képes segítség nélkül a saját maga ellátására.	2
Mérsékelt rokkantság, napi tevékenységeiben némi segítséget igényel, járni azonban segítség nélkül tud.	3
Mérsékeltten súlyos rokkantság, segítség nélkül nem tud járni, és testi szükségleteit sem tudja önállóan elvégezni.	4
Súlyos rokkantság, ágyhoz kötött, inkontinens, állandó ellátást és felügyeletet igényel.	5
Elhunyt	6

2. táblázat. A módosított Rankin Skála (mRS) (55) forrás alapján módosítva

Az akut stroke-ot követően előfordulhatnak bizonyos komplikációk, például tüdőgyulladás, aspiráció, a légzési rendellenességek, pulmonális embólia és szepszis. A halálesetek majdnem fele a stroke után, elsősorban a kórházban töltött első egy hét alatt fellépő komplikációkkal hozható összefüggésbe. Azon betegek esetében, akiknél a kórházi benntartózkodás alatt lépett

fel valamilyen komplikáció, magasabb mortalitással kell számolni. A vénás tromboembólia (VTE) (mélyvénás trombózis: MVT és/vagy a tüdőembólia) előfordulása relatíve gyakori szövődmény, az agyvérzett betegek kb. 2-7 %-a esetén fordul elő, rizikója négyszer magasabb az iszkémiás stroke-ot szenvedett betegekhez képest. A fokozott rizikó hátterében állhat a súlyosabb stroke-ot követő hosszan tartó immobilitás, az idősebb életkor, infekciók, ill. a vérzést követően kialakuló hiperkoagulabilitás, mely egyelőre még kevésbé tanulmányozott (46). A farmakológiai profilaxis elindítása komoly dilemmát okozhat az agyvérzett betegekben a klinikai gyakorlatban, mivel jelenleg nincs megfelelő evidencia a kis molekulású heparin (LMWH) profilaxis biztonságára vonatkozóan az ICH kialakulását követő első 48 órában (56).

A vesetranszplantáció, és az antitest mediálta rejekció

A krónikus veseelégtelenség

Akut veseelégtelenség akkor áll fenn, ha a veseműködés rövid idő leforgása alatt (néhány óra vagy nap) oly mértékben romlik, hogy a vese parenchyma több, mint 60%-a nem képes ellátni a feladatát. A krónikus vesebetegséget a vesék strukturális és funkcionális károsodása jellemzi, mely tartósan (legalább 3 hónapja) fennáll (57). A vesék már nem képesek kiválasztani a mérgező salakanyagokat a vizeletbe, így ezek koncentrációja a vérben megemelkedik, nő a kreatinin és a karbamid koncentráció, csökken a glomeruláris filtrációs ráta (GFR), valamint csökken a vizelet mennyisége is.

A veseelégtelenség hátterében számos ok állhat: kialakulhat infekció, diabetes, magas vérnyomás vagy akár öröklött tényező talaján. A krónikus veseelégtelenség leggyakoribb okai közé tartozik a cukorbetegség (36%), a magas vérnyomás (30%), a glomerulonephritis (12%), valamint a cisztás vesebetegség (3%) és az interstitialis nephritis (3%) (58). A krónikus veseelégtelenség jelentős népegészségügyi probléma, mely a felnőtt lakosság 10-16%-át érinti világszerte (57). A betegek többsége esetében a GFR <60mL/perc, 1-2%-uk esetén a veseelégtelenség súlyos, végstádiumú. A krónikus veseelégtelenség enyhe stádiuma esetén is jelentősen nő a kardio- ill. cerebrovaszkuláris betegségek kialakulásának kockázata. Ennek oka a nagymértékben felgyorsuló ateroszklerózis, ami jelentős mértékben hozzájárul a krónikus veseelégtelenségre jellemző emelkedett mortalitáshoz (59, 60). A National Kidney Foundation szerint a krónikus vesebetegségben szenvedő betegek a legmagasabb kockázati csoportba sorolandók szív- és érrendszeri betegségek szempontjából (59). A kardiovaszkuláris kockázat helyes megítélése, a rizikótényezők csökkentése rendkívül fontos ebben a betegcsoportban, mely jelentősen csökkentheti a fokozott ateroszklerózis révén kialakuló szövődmények kialakulását. A vesebetegség evolúciója és a szív- és érrendszeri kockázat becslése során fontos szerepet játszik az eGFR mellett a proteinuria vizsgálata, ami a vizeletmintából meghatározott albumin/kreatinin vagy összfehérje/kreatinin hányados alapján ítélt meg (61). Az időben történő kezelés segítheti a betegség további előrehaladásának megelőzését és az egyes komplikációk csökkentését, azonban a betegség korai felismerése nem könnyű, mivel a betegek nagyrésze a végstádiumú veseelégtelenség kialakulásáig panaszmentes.

A krónikus veseelégtelenség kezelése: dialízis, transzplantáció

A krónikus veseelégtelenség kezelése során alapvetően az alapbetegség kezelése kap kiemelt szerepet, melyet a vese működését támogató, vesepótló kezelések egészíthetnek ki. A krónikus vesebetegségben szenvedők esetén művesekezelés (hemodialízis vagy peritoneális dialízis) vagy vesetranszplantáció jöhet szóba a vese működését pótló megoldásként (59, 62). Az alap- ill. társbetegségektől, a beteg általános állapotától, korától, ill. a rendelkezésre álló rehabilitációs lehetőségektől, a beteg együttműködési készségétől is függ, hogy mely vesepótló kezelés optimális a beteg számára. A szervátültetett betegek túlélése alapvetően jobb a dialízis kezelésben részesülő vesebetegekhez képest, így a szervátültetést nem feltétlenül előzi meg dialízis (63). Az elmúlt 50 év során a vesetranszplantáció világszerte bevált gyakorlattá vált a krónikus veseelégtelenség kezelésére. Napjainkban a szervátültetés nem csak a legköltséghatékonyabb kezelés a végstádiumú veseelégtelenség esetén, hanem egyúttal hosszabb és jobb minőségű életet biztosíthat (64). A transzplantáció során beültetett vese nem csak méregtelenítő, só-vízháztartás működését biztosító, vizeletet termelő szervként kell látni, hanem hormontermelő, vérképzést szabályozó funkciót is ellát (D-vitamin hidroxilációja, eritropoetin termelése). A vesetranszplantáció sikerét több tényező befolyásolja. A beavatkozás általában több órát vesz igénybe, mely során az új vesét a hasüreg alsó részének bal, vagy jobb oldalára a medenceárokba ültetik, azonban a nem működő vesét nem távolítják el. Az új vese ereit csatlakoztatják a keringésbe, majd egyesítik a húgyvezetékkel és a húgyhólyaggal. A transzplantáció egy betegen akár többször is végrehajtható attól függően, hogy a korábban beültetett vese meddig funkcionál megfelelően. A transzplantáció két szervtípussal lehetséges: agyhalott/kadaver donortól és élő donortól származóval. A kadaver donorból származó vesék száma azonban korlátozott, ezért sajnos a várakozók száma és így a várakozási idő is folyamatosan emelkedik. Az átültethető szervek iránt egyre nagyobb az igény, egyre több beteg szorul dialízisre. Az Országos Vérellátó Szolgálat adatai szerint a vesetranszplantációs várólistán lévő betegek átlagos várakozási ideje jelenleg 3,5 év (65). Hazánkban van lehetőség az élő donorból származó vesék átültetésére, mely jóval ritkább, mint a kadaver donoros vesetranszplantáció. Az élő donorból származó átültetésnek számos előnye van (nincs várakozási idő, tervezhető műtét, a végstádium kialakulása előtti átültetés is lehetséges, rövid hideg isémiás idő), és működőképességük messze meghaladja a kadaver donorból származó vesék élettartamát. Élő donor esetén leggyakrabban közeli hozzátartozó ajánlja fel a veséjét, mely jobb hisztokompatibilitást eredményez.

Az egészséges vese, vagy bármely más szerv, akkor kerülhet beültetésre, ha a recipiens vércsoportja és immunológiai típusa a legjobban megegyezik a donoréval (transzplantációs hisztokompatibilitás). Humán Leukocita Antigén (HLA) tipizálás alatt a transzplantációknál a donor és a recipiens immunológiai kompatibilitásának vizsgálatát értjük, azaz, a beültetésre alkalmas, megfelelő donor szerv keresését. A vizsgálat a betegek és a potenciális donorok HLA típusának meghatározását és a betegekben fellelhető HLA-ellenes antitestek (donor specifikus antitestek: DSA-k) kimutatását foglalja magába (65). Ha a recipiens korábban transzfúzióban, korábbi vese- vagy más szervátültetésben részesült, várandós volt, a DSA-k előfordulási valószínűsége nagyobb. Minél több az antigénegyezés a donor-recipiens pár esetében, úgy nő a valószínűsége annak, hogy a beültetett szerv sikeresen megtapad és nem lökődik ki. A kilökődés megelőzése érdekében a betegeknek kombinált immunszuppresszív kezelésben kell részesülni (lásd később).

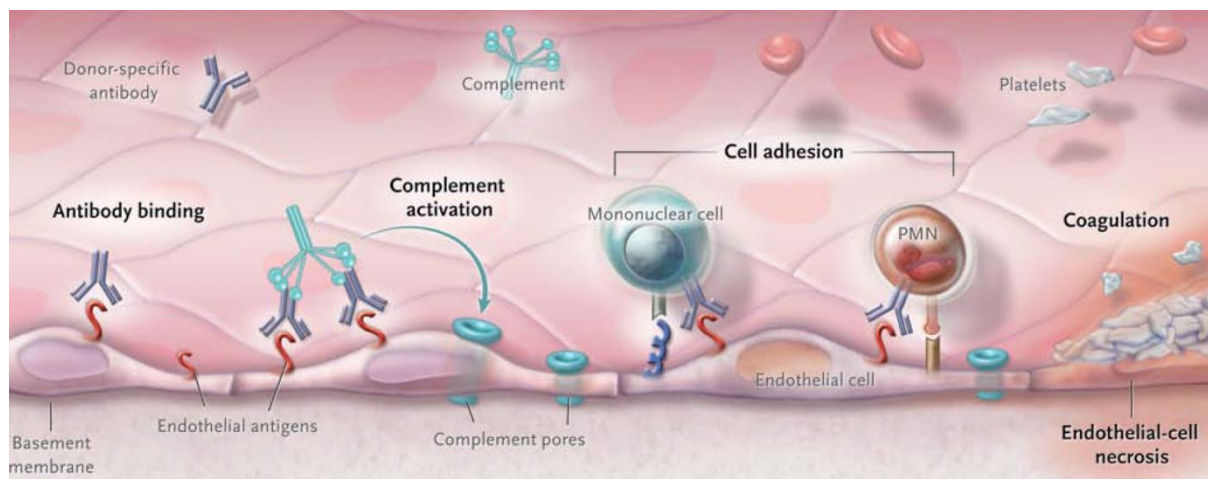
A HLA-k olyan speciális fehérjék, melyek génje a 6. kromoszóma fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) régiójában található (66). Az MHC rendszer segít a szervezetnek megkülönböztetni az idegen sejteket, szöveteket a sajáttól, az idegenként felismert sejtek immunválaszt válthatnak ki. Az MHC molekulák révén közvetített allogén válaszreakció a szervezet alapvető immunológiai védekező mechanizmusa, mely a T-limfociták antigénfelismerő működésén alapul. Az általuk kiváltott alloimmun reakció a beültetett sejt/szövet kilökődéséhez (host-versus-graft reakcióhoz, rejekcióhoz) vezethet. A HLA I. osztályba a HLA-A, -B és -C gének tartoznak, melyek minden magas sejt felszínén és a trombocitákon található meg, míg a HLA II. osztályban HLA-DR, -DQ, -DP gének, amelyek pedig az antigén prezentáló sejteken találhatóak. Abban az esetben, ha a recipiens olyan antitesteket termel, amelyek a donor HLA antigénjeivel reagálnak, az fokozott kockázatot jelent az átültetett szerv kilökődésére, ezt a jelenséget antitest mediálta kilökődésnek (ABMR) nevezzük (67).

Az donor specifikus antitestek és az antitest mediálta kilökődés

Az ABMR a hosszú távú graft-túlélést befolyásoló szövődmények egyike. Az ABMR jelenleg a szervátültetés során bekövetkező egyik legnagyobb kihívás, mely a graft elvesztésének, valamint a dialízis kezeléshez való visszatérésnek gyakori oka a vesetranszplantált betegek körében (68). Az ABMR patofiziológiája még nem teljesen tisztázott, de kialakulásában a DSA-k kulcsszerepe valószínűsíthető, melyek a transzplantátum endotéliumán expresszálandó HLA ellen irányulnak, és jelenlétük nagymértékben fokozza az ABMR kialakulását

valószínűségét (69-71). A DSA-k jelenléte azonban nem mindig jelent kilökődést, mivel a vesetranszplantáltak 30-60 %-ánál kimutathatóak ezek az antitestek, más kilökődésre utaló klinikai jelek nélkül (72).

Az ABMR patofiziológiájában központi elem a donor ellenes antitestek kötődése a graft sejtjeihez, komplement aktivációt, gyulladásos választ és szöveti károsodást okozva (4. ábra).



4. ábra. Az antitest mediált rejekció patomechanizmusa

Eddigi ismereteink alapján az antitest mediált rejekció (ABMR) patomechnizmusa komplex folyamat, melynek központi eleme a donor specifikus antitestek kötődése a graft endotélsejtjeihez, azok károsodását okozva. A többlépcsős patomechanizmus során komplement aktiváció, gyulladásos sejtek adhézioja zajlik, társulva a vérlemezék aktivációjával, kitapadásával, a koagulációs kaszkád aktivációjával, mely végül a glomerulusok funkcionális károsodásához vezet. Forrás: Nankivell et al. (73).

Bár a DSA-król ismert, hogy a graft endotéliumban szöveti károsodást okoznak, azonban a hemosztázisra gyakorolt hatásairól keveset tudunk. Feltételezhetjük, hogy az endotélkárosodás a koaguláció aktivációját vonhatja maga után, azonban az ezzel kapcsolatos vizsgálatok száma erősen limitált. Az ABMR kapcsán, mikrovaszkulátúra szintjén fellépő keringési zavarok csökkent vesefunkcióhoz és további károsodáshoz, végső esetben kilökődéshez vezetnek.

Az ABMR következtében fellépő kilökődés egyértelmű, fizikális tünetei nem feltétlenül jelentkeznek a korai szakaszban, de az általános közérzetben megfigyelhető kis változások, pl. megmagyarázhatatlan hőemelkedés (láz), vagy általános gyengeség, illetve fájdalom a graft területén, magas vérnyomás, egyes laboratóriumi paraméterekben való eltérés (szérum kreatinin emelkedés), a beültetett szerv funkciójának/működésének csökkenése: csökkent vizelettermelés, folyadékretenció nyugtalanító jelek.

Az ABMR diagnózisának felállítása a klinikai tüneteken kívül laboratóriumi tesztekkel (DSA szint mérés), ill. a Banff klasszifikáció szerinti „gold standard” szövettani vizsgálattal

(vesebiopszia) történik (74). Napjainkban a DSA-k kimutatására a legelterjedtebb és legérzékenyebb módszer az úgynevezett „single antigen beads” Luminex-SAB technika, mellyel fluoreszcens gyöngyök felületére kötött közel 200 HLA antigén felhasználásával határozható meg az egyén alloantitest-készlete (75, 76). Mivel az ABMR tünetei “szegényesek”, bizonyítani egyértelműen csak szövettani vizsgálattal lehet. A vesebiopszia célja a vese állapotának megítélése, a kilökődés, vagy más lehetséges problémák ellenőrzése. A biopszia időzítése azonban kulcskérdés, hiszen invazivitása ellenére más laboratóriumi módszerrel nem helyettesíthető és korlátlanul nem ismételhető, de a túl korán elvégzett vizsgálat nem igazol eltéréseket, a későn vett minta alapján pedig már irreverzibilis elváltozások is láthatók. A Banff klasszifikáció szerint mind az akut, mind a krónikus ABMR diagnózisához HLA (vagy más antigénnel) szembeni DSA szerológiai vizsgálatok szükségesek, illetve a peritubuláris kapillárisok C4d lerakódása is specifikus (a Banff klasszifikáció kategóriáinak, a klasszifikáció előnyeinek, ill. hátrányainak tárgyalása túlmutat a disszertáció keretén) (77, 78).

A vese kilökődését megelőző immunszuppresszív kezeléseknek számos kombinációja ismert, egyénre szabott alkalmazásukat több tényező befolyásolja (pl. indukció vagy fenntartó kezelés, betegség etiológia, graft állapota). Az immunszuppresszív kezelés minden esetben perszonalizált, és az egyes centrumok a saját tapasztalataiknak megfelelő kezelés-kombinációkat alkalmaznak. Az immunszuppresszív terápia alapvető hátránya, hogy fogékonyabbá teheti a betegeket a különféle fertőzésekkel szemben. A leggyakrabban alkalmazott fenntartó immunszuppresszív kezelés hármas kombinációjú, kalcineurin inhibitorokat (pl. tacrolimus, everolimus), kortikoszteroidokat, ill. antiproliferatív szereket (pl. mikofenolsav: MPA) foglal magába. Az ABMR kezelése komplex és széles skálán mozog, az immunszuppresszív terápia módosításán (alternatív kezelés és/vagy dózisznövelés) túl, plazmaferezist, intravénás immunglobulin (IVIG) alkalmazását, és akár az esetleges retranszplantációt is magába foglalhatja.

A betegek követésének célja az állapotjavulás ellenőrzése és az esetleges szövődmények korai felismerése, a gyógyszerek koncentrációjának meghatározása, ezáltal az esetleges dózis módosítása. Jelenleg nem ismert olyan magas prediktív értékű laboratóriumi paraméter, amelynek megjelenése előre jelezné az ABMR kockázatát. Az új terápiás megközelítések és a transzplantációs eljárások folyamatos fejlődése ellenére az ABMR továbbra is kihívást jelent a vesetranszplantációk során, és máig intenzív kutatások folynak a patomechanizmus pontosabb feltárása, a korai diagnózis és a kezelés javítása érdekében.

CÉLKITÚZÁS

Munkánk során célul tűztük ki megvizsgálni, hogy az ICH betegek esetében a felvételt követően elvégzett TGT paraméterei eltérnek-e egészséges kontrollok eredményeitől, ill. mutatnak-e összefüggést a hematóma méretével és evolúciójával. Célunk volt továbbá megvizsgálni, hogy a TGT hasznos vizsgálat lehet-e az intracerebrális vérzés rövid- illetve hosszútávú kimenetelének előrejelzésére.

A vesetranszplantált betegeknél céunk volt megvizsgálni, hogy vesetranszplantált betegekben társul-e a DSA-k jelenléte endotélkárosodással és prokoaguláns állapot kialakulásával, és a hiperkoagulabilitás detektálható-e TGT-vel. Továbbá célunk volt elemezni, hogy a TGT paraméterei összefüggést mutatnak-e a mikrovaskuláris obstrukciók szövettanilag igazolt jelenlétével DSA+ betegekben, felvetve a TGT prognosztikai jelentőségét az ABMR korai felismerésében.

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

Nem traumás intracerebrális vérzéses stroke-ot szenvedett betegek vizsgálata

Prospektív, obszervációs eset-kontroll tanulmányunkba konszekutív, nem traumás, CT-vel igazolt, akut intracerebrális vérzéses stroke-ot elszenvedett betegeket vontunk be a Debreceni Egyetem Neurológia Stroke Centrumával kollaborációban. A betegek beválogatása 2017 júniusában kezdődött és 2020 szeptemberében fejeződött be. A beválogatási kritériumok a következők voltak: felnőtt, CT vizsgálattal igazolt nem traumás ICH, írásos beleegyezést adó egyén (beteg vagy hozzátartozó). A kizárási kritériumok közé tartozott az agyi aneurizma, az arteriovenosus malformáció, a traumás intracerebrális vérzés (epidurális vagy subduralis vérzés, az agyi zúzódás), malignitás, a vérzéses agyi áttétek, a súlyos máj- és veseelégtelenség, ismert hemorrhagiás diathesis és SARS-CoV-2 fertőzés a kórházi felvételkor vagy az utánkövetés során. Az antikoaguláns terápia is a kizáró okok között szerepelt, mert korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy valamennyi antikoaguláns hatással van a trombin generációra (27).

A tünetek megjelenésének időpontját, az alapvető antropometriai adatokat (életkor, nem, testsúly, testmagasság), cerebrovaszkuláris rizikófaktorokat, az anamnézisben szereplő cerebro- és kardiovaszkuláris betegségeket, korábbi gyógyszeres kezelés esetleges meglétét a vizsgálatban részt vevő klinikusok rögzítették. A tudatszint felmérésére a GCS pontszámot használtuk (79). A stroke súlyosságának megítélésére az NIHSS pontrendszert alkalmaztuk, mely a betegek felvételekor és az eseményt követő 7. napon került megállapításra (80). A vérzésvolumen becslése kontrasztanyag nélküli, natív CT vizsgálat alapján történt felvételkor, a 14. napon és 3 hónappal az eseményt követően. A mortalitás rizikójának megítélésére az ICH-score-t alkalmaztuk (51). A betegeket 3 hónapig követve, a hosszú távú kimenetel értékeléshez az mRS-t felvételkor (akut stádiumban), 14. napon, valamint a 90. napon is meghatároztuk (54). A tanulmány során a következő kimeneteleket vizsgáltuk: 1/ hosszú távú kimenetel az eseményt követő 90. napon (kedvező kimenetelnek az mRS 0-1 értéket tekintettük, míg az mRS 2-6 értéket kedvezőtlennek); 2/ mortalitás a 14. és 90. napon.

Mivel a TGT referencia határértékei nem ismertek, a betegek eredményeit egészséges kontrollok eredményeihez hasonlítottuk. A kontroll csoportba egészséges felnőtt egyéneket válogattunk be, akik írásos beleegyezésüket adták. Esetükben a kizárási kritériumok a következők voltak: az elmúlt 4 héten belüli akut betegség, korábbi trombózis, sebészeti beavatkozás az elmúlt 3 hónapban, véralvadásgátló szerek használata, rosszindulatú daganat,

ismert vérzéses rendellenesség, autoimmun betegségek, krónikus vese- vagy májbetegség. A magas vérnyomás betegség a beválogatás során megengedett volt.

Vesetranszplantált betegek vizsgálata

Az obszervációs eset-kontroll vizsgálatba veseátültetésben részesült betegeket vontuk be a Debreceni Egyetem Sebészeti Klinika Transzplantációs Osztályával kollaborációban. A betegek beválogatása 2019 és 2021 között zajlott. Beválogatási kritérium volt a betöltött 18. életév, kadaver vagy élő donoros veseátültetés és az írásos beleegyezés. Nem kerülhetett be a vizsgálatba az az egyén, akinél bakteriális, gomba vagy vírusos fertőzés, ismert hemorrhagiás diathesis, antikoaguláns kezelés, vagy SARS-CoV-2 fertőzés állt fenn. A retranszplantáció nem jelentett kizárási kritériumot. Valamennyi beteg esetén SARS-CoV-2 antigén és/vagy PCR vizsgálat történt a beválogatáskor, illetve a követés során. Pozitív teszteredmény esetén az egyén kizárásra került a vizsgálatból.

A DSA-k jelenléte minden betegnél a vizsgálatba való beválogatáskor és a követéskor is meghatározásra került (lásd később), és a betegeket az eredmény alapján soroltuk eset (DSA+) vagy kontroll (DSA-) csoportba.

A betegek demográfiai és klinkai adatainak rögzítése a vizsgálatban résztvevő klinikusok segítségével történtek (kor, nem, testsúly, testmagasság, transzplantáció időpontja, gyógyszerek, beleértve az immunszuppresszív kezelést, kardiovaszkuláris rizikófaktorok, dohányzás, diabetes, stb.).

A betegeket követtük, és 6 hónap elteltével újra rögzítettük a klinikai adatokat. Azon betegek esetén, akiknél a vizsgálatba kerüléshez képest 1 éven belül történt vesebiopszia, az eredményeket a Banff-klasszifikációnak megfelelően rögzítettük és összevetettük a TGT paramétereivel, ill. egyéb vizsgált hemosztázis paraméterekkel.

Mintagyűjtés és laboratóriumi vizsgálatok

Mintavétel

A vizsgálatainkba bevont egyénektől natív és 0,109 M nátrium-citráttal antikoagulált perifériás vérmintát gyűjtöttünk (Becton Dickinson, Franklin Lane, NJ). Az ICH betegek esetében a vérvétel a kórházi felvételkor történt, még a kezelések megkezdése előtt. Az egészséges kontrolloktól éhgyomri mintavétel történt. A vesetranszplantált betegeknél járóbeteg

szakrendelés során történt vérvétel, ill. vizeletvizsgálat, majd a beválogatáshoz képest 6 hónappal később.

Valamennyi vérvétel esetén a rutin laboratóriumi vizsgálatok, mint az ionok, glükóz, máj- és vesefunkciós (szérum kreatinin, eGFR) vizsgálatok, nagy érzékenységű C-reaktív fehérje (hsCRP) vizsgálat, vérkép meghatározása standard laboratóriumi módszerekkel történt a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében (Roche Diagnostics, Mannheim, Németország, illetve Sysmex Europe GmbH, Hamburg, Németország). A vesebetegek esetén a graft funkció megítélése érdekében a vérvizsgálatokon kívül reggeli első vizelet mintából proteinuria ill. protein/kreatinin arány is meghatározásra került rutin laboratóriumi módszerekkel. A vesetranszplantált betegek esetén a tacrolimus völgyskoncentrációk meghatározása teljes vérből történt, konvencionális immunkémiai módszerrel (Abott Architect, Tacrolimus assay, Chicago, IL). A koagulációs alaptesztek (PI, APTI, TI) és a Clauss-féle fibrinogén szint meghatározása BCS koagulométeren történt valamennyi betegcsoport esetén standard laboratóriumi módszerekkel (Siemens Healthcare Diagnostic Products, Marburg, Németország) a gyártó leírása szerint. A citráttal antikoagulált vérmintákból trombocita szegény plazmát (PPP) nyertünk (centrifugálás 1500 g, 20 perc, szobahő) a további specifikus vizsgálatok céljára. Intézetünkben korábbi előkísérletekben igazolták, hogy az ezen körülmények között feldolgozott plazma biztosan trombocita és mikropartikula mentes lesz. Az így kapott PPP-t a speciális hemosztázis vizsgálatok elvégzéséig -80 °C-on, alikvotokban tároltuk.

Az értekezés alapját adó mindkét kohorsz esetén elvégeztük a TGT, FVIII aktivitás, VWF antigén szintek meghatározását. Az ICH kohorsz esetén ezeken túl elvégeztük a D-dimer szintek meghatározását. A vesetranszplantált betegekben további speciális vizsgálatok kerültek meghatározásra: *in vitro* alvadék lízis teszt (CLA), sPsel és sEsel szintek, komplement szintek, DSA-k jelenlétének vizsgálata, tacrolimus szint meghatározása, vesebiopszia hisztopatológiai vizsgálatok. A vesetranszplantált kohorszba beválogatott betegeket követtük, és 6 hónap elteltével újra megismételtük a fent említett speciális vizsgálatokat.

A trombin generációs teszt kivitelezése

A vizsgálat elvégzéséhez a Thrombinoscope CAT tesztet alkalmaztuk (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, Franciaország) a gyártó utasításainak megfelelően. Röviden, 80 µL plazmához adtunk 20 µL PPP-ReagentTM (tartalma: 5 pM rekombináns szöveti faktor és 4 µM foszfolipid) reagenst és az elegyet U-aljú, 96 lyukú, fekete polipropilén mikrolemezt használva

inkubáltuk 10 percig (Greiner Bio-One). Valamennyi minta esetén saját kalibrátort (Thrombin CalibratorTM) használtunk a szubsztrát fogyásából adódó fluoreszcens jel korrekciója és a plazma-szín variabilitás korrigálása érdekében. A trombin generáció indításához startreagensként 20 µL Flu-Ca-KitTM reagenst (tartalma: fluoreszcens szubsztrát és CaCl₂ tartalmú Fluo-BufferTM) használtunk, minden minta esetén duplikátumban végeztük a meghatározást. A mérést a Fluoroskan Ascent FL fluoriméteren (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) végeztük, a TGT paramétereket a Thrombinoscope szoftvert (Diagnostica Stago) használva állapítottuk meg (5. ábra). Az eredmények értékelése során a következő TGT paramétereket használtuk: lag time (perc), ETP (nM*perc), peak thrombin (nM), time to peak (perc).



5. ábra. Fluoroskan Ascent FL fluoriméter és a CAT assay

CAT: Calibrated Automated Thrombogram

FVIII aktivitás meghatározása

A FVIII aktivitás meghatározás kromogén módszerrel történt (Factor VIII Chromogenic kit, Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Németország). A meghatározás során a plazmában lévő FVIII aktiválása trombinnal történik, majd az aktív FVIII katalizálja a FX aktiválódását aktivált FIX (FIXa), foszfolipidek és Ca²⁺ jelenlétében. Az FIXa a reagensben található specifikus p-nitroanilidot tartalmazó szubsztrátot hasítja. A 405 nm-en fotometriásan detektált p-nitroanilin felszabadulásának kezdeti sebessége arányos a FX aktivitásával, így a minta FVIII aktivitásával. A mérést BCS koagulométeren végeztük (Siemens Healthcare Diagnostic Products, Marburg, Németország). A FVIII aktivitás referencia tartománya 60-168 %.

VWF antigén szint meghatározása

A VWF antigén szint meghatározása immunturbidimetriás módszerrel történt (VWF Ag kit, Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Németország). A plazmaminta VWF tartalma a reagensben lévő specifikus VWF ellenes antitestekhez kötődve a polisztirol részecskék aggregációját idézi elő, mely a minta turbiditásának változásához vezet. A meghatározást BCS koagulométeren végeztük. A VWF antigén szint referencia tartománya 50-160 %.

D-dimer szint meghatározás

A D-dimer szintek kvantitatív meghatározása immunturbidimetriás módszerrel történt D-dimer ellenes monoklonális antitestekkel (Innovance® D-dimer). A mérést BCS koagulométeren, a gyártó leírását követve végeztük (Siemens Healthcare Diagnostic Products, Marburg, Németország). A D-dimer diagnosztikai határértéke <0,5 mg/L.

In vitro alvadék lízis vizsgálat kivitelezése

Az *in vitro* alvadék lízis során általunk alkalmazott vizsgálati körülmények alapjául korábbi publikációk metodikái szolgáltak (81-85). A mérés során egy 96 lyukú mikrolemezen rekombináns szöveti faktor és foszfolipid felhasználásával a plazmamintákból alvadékot képeztünk, majd rekombináns szöveti típusú plazminogén aktivátor (rt-PA) hozzáadásával lízist indukáltunk, melyet turbidimetriás módszerrel valós időben monitoroztunk. A mérés során minden mintát négy párhuzamos méréssel vizsgáltunk. A plazmamintákat a kísérlet elvégzése előtt 10 percig 37 °C-os vízfürdőben olvasztottuk fel. A meghatározás során minden mintához rekombináns humán szöveti faktort, valamint foszfolipidet tartalmazó 1000-szeresére hígított reagenst (Dade®Innovin®, Siemens, Marburg, Németország) és 100 ng/mL rt-PA-t (Alteplase, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Németország) adtunk, HEPES pufferben oldva (10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 0,05% Tween 20, pH: 7,4). A minták megalvasztását, ezáltal az alvadék lízis mérést magát a készülék által beinjektált CaCl₂-ot tartalmazó HEPES pufferrel indítottuk. Az abszorbanciát 37 °C-on, 340 nm-en TECAN Infinite m200 mikrotiter lemez olvasó segítségével detektáltuk (TECAN Trading AG, Männedorf, Svájc). A görbék kiértékelését a Shiny App ClotlysisCL online szoftver segítségével végeztük el, mellyel a következő paramétereket számoltuk ki: maximális abszorbancia (OD), a maximális abszorbancia eléréséhez szükséges idő (perc), különböző időpontokban meghatározott alvadék lízis idők (CLT): 10%CLT (perc), 50%CLT (perc), 90%CLT (perc), és a görbe alatti terület

(CLA AUC). A különböző időpontokban meghatározott alvadék lízis idők számítása során a maximális turbiditás 10%, 50% vagy 90%-ához tartozó időpontok, ill. a maximális turbiditás elérését követően minden esetben a vonatkozó 10%, 50% vagy 90%-os abszorbancia csökkenés időpontok közötti időtartamokat vettük figyelembe.

Szolubilis P szelektin és E szelektin szintek meghatározása

A sPsel és a sEsel szintjét szendvics ELISA módszerrel határoztuk meg (Quantikine® ELISA, Bio-Techne, Abingdon, Egyesült Királyság). A sPsel referencia határértéke: 37,9 ng/mL, a sEsel referencia intervalluma: 13,5-51,3 ng/mL.

Komplement szintek meghatározása

A komplement C3 és C4 szintek meghatározása nefelometriás módszerrel történt (Siemens BNII nephelometer, Munich, Germany), Siemens AG reagenseket alkalmazva (Antiserum to Human C3c, C4) a gyártó leírása szerint. A komplement C3 referencia tartománya 0,9-1,8 g/L, a C4 referencia tartománya 0,1-0,4 g/L.

DSA meghatározás

A DSA-k kimutatása a Luminex® Single Antigen Bead assay (One Lambda Inc., Los Angeles, Kanada) nagy érzékenységu áramlási citometriai módszerrel történt a korábban leírtak szerint (75, 86) az Országos Vérellátó Szolgálat Transzplantációs Immungenetikai Laboratóriumában (Budapest). A SAB-technika lényege, hogy a fluorofórral impregnált gyöngyöket HLA I. osztályú (HLA-A, -B, -C) vagy II. osztályú (HLA-DR, -DQ, -DP) rekombináns antigénnel vonják be. Amennyiben a szérumban tartalmaz specifikus HLA ellenes antitesteket, azok a megfelelő gyöngyökhöz kötődnek. A kötődést egy specifikus másodlagos antitesttel detektálják. Az egyes gyöngyökből származó fluoreszcencia jeleket a Luminex rendszer detektálja, ami az eredményeket átlagos fluoreszcencia-intenzitásként (MFI) adja meg. A DSA pozitivitás küszöb értéke 500 MFI, ekkor a beteg szérumból bizonyítottan donor specifikus HLA-ellenes antitestek mutathatók ki.

Hisztopatológiai vizsgálatok

A beválogatott egyének közül, akiknél indokolt volt és beleegyezett a vizsgálatba, vese biopsziát végeztek, melyet egy éves követési időn belül értékeltünk. A mintákat előzetesen hematoxilin és eozin (HE) festéssel, perjódsvavas-Schiff (PAS) és Masson trikróm festéssel fénymikroszkóppal vizsgálták, valamint immunfluoreszcens módszerrel (IgG-, IgM-, IgA-, C3c-, fibrinogén-, kollagén-ellenes antitestekkel) vizsgálták. A szövettani elváltozások szemikvantitatív módon a Banff klasszifikáció szerint kerültek értékelésre (87). A mikrovaszkuláris obstrukció jelenlétének értékelése HE-festéssel történt.

Etikai engedély

Mindkét tanulmány tervezése a Helsinki deklarációs egyezmény figyelembevételével történt. A vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Regionális és Intézményi Etikai Bizottsága, illetve az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutásetikai Bizottsága is engedélyezte. Az egyes vizsgálatokról a betegek vagy hozzátartozóik, ill. az egészséges önkéntesek megfelelő tájékoztatásban részesültek és önkéntes, írásos beleegyező nyilatkozatot adtak a tanulmányban való részvételről. Az ICH vizsgálat esetében az etika engedély száma: DE RKEB/IKEB 5349-2019, 16343-5/2017/EÜIG, a vesetranszplantált betegek vizsgálatához tartozó etikai engedély száma: UD RKEB/IKEB H.5228-2019, H.0282-2021.

Statisztikai analízis

A statisztikai értékelést a GraphPad Prism és SPSS szoftverekkel végeztük.

Az adatok normalitását Shapiro-Wilk teszttel vizsgáltuk. Amennyiben az adatok normál eloszlást mutattak, az értékeket átlag $\pm$ standard deviáció (SD) formájában, nem parametrikus eloszlás esetén medián és interkvartilis tartomány (IQR) formájában fejeztük ki az adatokat. A normalitástól függően, két csoport összehasonlítására Student t-tesztet vagy Mann-Whitney U-tesztet alkalmaztunk, párosított adatok esetén párosított t-tesztet vagy Wilcoxon párosított tesztet használtunk. A kategorikus változók összehasonlítása esetszámtól függően Fisher-féle egzakt teszttel vagy χ^2 -próbával történt, kontingencia táblázatok használatával. Pearson vagy Spearman korrelációs analízissel a különböző folyamatos változók egymással való összefüggésének erősségét vizsgáltuk. A TGT diagnosztikai hatékonyságának jellemzésére ROC (receiver operating characteristics) analízist végeztünk. A teszt paramétereinek optimális küszöbértékét Youden-féle J index alkalmazásával számítottuk ki. Az érzékenységet, a

specificitást, a pozitív és negatív prediktív értékeket kontingencia táblázatokkal és χ^2 -teszttel számítottuk ki. Az ICH kohorsz esetén annak vizsgálatára, hogy az egyes hemosztázis tényezők a meghatározott kimeneteknek (mortalitás és a hosszú távú funkcionális kimenetel) független prediktorai-e, bináris backward logisztikus regressziós modelleket használtunk. A modell az egyváltozós statisztikai analízisek (Mann-Whitney U-teszt, Fisher-féle egzakt teszt, χ^2 -teszt) alapján szignifikáns eltérést mutató változókat tartalmazta, illetve a szakirodalmi adatok alapján a kimenetelt befolyásoló tényezőket. A logisztikus regresszió eredményeit esélyhányadosként (OR) fejeztük ki és a 95%-os konfidencia intervallummal (CI) jellemeztük. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

Nem traumás intracerebrális vérzéses stroke-ot szenvedett betegek vizsgálatának eredményei

Klinikai alapadatok

Az első prospektív, obszervációs eset-kontroll tanulmányunkban 87 konszekutív, nem traumás, akut intracerebrális vérzéses stroke-ot elszenvedett beteget és 164 egészséges kontroll egyént vizsgáltunk. Egy betegnél az eseményt követő 25. napon SARS-CoV-2 fertőzést észleltek, így ez a beteg kizárásra került a vizsgálatból. Az ICH feltételezett oka szinte valamennyi beteg esetén a hipertónia volt, mivel a kizárási kritériumok alapján az ICH egyéb fő okai, (ahogy azt korábban a *Betegek és módszerek* részben felsoroltuk) kizárásra kerültek.

A vizsgálati populáció alapadatait a 3. táblázat mutatja be. Az ICH betegek átlag életkora 67 ± 12 év volt, 63%-uk férfi volt. Az egészséges kontrollok átlag életkora 53 ± 9 év volt, és 34%-uk volt férfi. A betegek körében a vártak megfelelően a leggyakoribb cerebrovaszkuláris rizikófaktor a magas vérnyomás volt (97%). A glükóz, a CRP, a fibrinogén szint, a fehérvérsejtszám és a trombocitaszám szignifikánsan magasabb volt az ICH betegekben a kontrollokhoz képest. A PI és APTI szignifikánsan rövidebb volt a betegekben az egészséges kontroll populációhoz képest. A D-dimer szint és a FVIII aktivitás szignifikánsan magasabb volt a betegekben, mint a kontrollokban.

	Betegek	Kontrollok	<i>p érték</i>
Esetszám, <i>n</i>	87	164	-
Életkor, év	67 ± 12	53 ± 9	<0,0001
Férfi, <i>n</i> (%)	55 (63)	55 (34)	<0,0001
Cerebrovaszkuláris rizikó tényezők, <i>n</i> (%)			
Atrériás magas vérnyomás	84 (97)	56 (34)	<0,0001
Hiperlipidémia	50 (57)	0	-
Diabetes mellitus	31 (36)	0	-
Aktív dohányzás	17 (20)	34 (21)	0,9646
BMI, kg/m ²	26,7 (23,8-31,2)	25,4 (23,4-28,0)	0,0695
Felvételtkor laboratoriumi paraméterek			
Glükóz, mmol/L	7,3 (5,8-9,8)	4,9 (4,6-6,0)	<0,0001
GOT, U/L	23 (17-33)	19 (16-25)	0,0052
GPT, U/L	17 (13-24)	20 (15-26)	0,0450

LDH, U/L	224 (199-254)	251 (183-350)	0,0747
Urea, mmol/L	5,2 (4,2-6,3)	4,7 (4,1-5,8)	0,1039
Kreatinin, $\mu\text{mol/L}$	69 (60-82)	67 (58-77)	0,3532
eGFR, mL/min	87 (73-91)	91 (80-91)	0,0394
Triglicerid, mmol/L	1,5 (1,0-2,1)	1,4 (0,9-2,1)	0,3964
Koleszterin, mmol/L	4,8 (4,3-5,7)	5,1 (4,4-5,8)	0,0776
HDL, mmol/L	1,5 (1,1-1,8)	1,4 (1,2-1,7)	0,4816
LDL, mmol/L	2,9 $\pm$ 1,0	3,3 $\pm$ 0,9	0,0233
hsCRP, mg/L	2,5 (1,1-6,2)	1,8 (0,8-3,4)	0,0031
Fibrinogén, g/L	3,8 (3,1-4,5)	2,4 (1,9-3,2)	<0,0001
PI, s	8,1 (7,8-8,6)	9,2 (8,3-9,9)	<0,0001
INR	0,96 (0,93-1,01)	0,98 (0,68-1,01)	0,0214
APTI, s	26,7 (24,6-29,2)	28,4 (28,0-28,6)	0,0002
TI, s	16,6 (16,0-17,6)	16,3 (15,4-17,2)	0,0141
Fehérvérszám, G/L	8,52 (6,73-11,42)	6,95 (5,85-8,08)	<0,0001
Vörösvértestszám, T/L	4,57 (4,22-4,97)	4,67 (4,35-5,05)	0,2679
Hemoglobin, g/L	142 $\pm$ 16	140 $\pm$ 14	0,4432
Trombocitaszám, G/L	226 (180-272)	249 (215-298)	0,0039
D-dimer, mg/L	0,63 (0,38-1,00)	0,28 (0,18-0,38)	<0,0001
FVIII aktivitás, %	228 (153-289)	97 (83-123)	<0,0001

3. táblázat. Az ICH betegek és az egészséges kontrollok klinikai alapadatai

Az adatok átlag $\pm$ SD vagy medián (interkvartilis tartomány), valamint elemszám (százalék) értékeként vannak feltüntetve. APTI: aktivált parciális tromboplasztin idő; BMI: testtömeg index; FVIII: plazma faktor VIII; eGFR, becsült glomeruláris filtrációs ráta; GOT: glutamát oxálacetát transzamináz; GPT: glutamát piruvát transzamináz; HDL: magas denzitású lipoprotein; hsCRP: nagy szenzitivitású C-reaktív protein vizsgálat; INR: nemzetközi normalizált ráta; IQR: interkvartilis tartomány; LDH: laktát dehidrogenáz enzim; LDL: alacsony denzitású lipoprotein; n: esetszám; PI: protrombin idő; SD: standard deviáció; TI: trombin idő.

Stroke jellemzők és kimenetelek az ICH kohorszban

A stroke karakterisztikáját és kimeneteleket a 4. táblázat mutatja be. A felvételi NIHSS medián értéke 13 (IQR: 6-19) volt. Az eseményt követő 14. napon a mortalitás 23%-os, a 90. napon pedig 41%-os volt. Az mRS értékeket vizsgálva, a hosszú távú funkcionális kimenetel tekintetében a betegek mindössze 20%-ának volt kedvező kimenetele (mRS 0-1) a 3. hónap végére. A felvételi kor a vérzés térfogatának mediánja 12,0 (IQR: 3,5-29,8) cm^3 volt. Az ICH

pontszám medián értéke 0 (IQR: 0-2) volt. Az esemény után a legtöbb beteg vérnyomáscsökkentő (89%), illetve antacid és/vagy parenterális gyomorsav csökkentő terápiában (94%) részesült. LMWH profilaxist 26 magas kockázatú betegnél (30%) alkalmaztak; 3 hónappal az eseményt követően ezen betegek mindegyike esetén fennállt legalább enyhe mértékű maradványtünet (mRS 2-5) vagy a beteg meghalt (mRS 6). A követés során a beválogatott egyéneknél nem alkalmaztak trombocita aggregációt gátló szereket. A 90 napos követés alatt négy trombotikus esemény történt a vizsgált kohorszban: 1 mélyvénás trombózis és 3 tüdőembólia.

Stroke súlyossága felvételkor, NIHSS	13 (6-19)
Glasgow Coma skála	12 (9-14)
ICH score	0 (0-2)
Képző eljárások adatai, <i>n</i> (%)	
Hydrocephalus jelenléte felvételkor	
Nincs	54 (62)
Hydrocephalus externa	3 (3)
Hydrocephalus interna	20 (23)
Mindkettő	10 (12)
ICH féltekei lokalizációja felvételkor	
Bal félteke	52 (60)
Jobb félteke	33 (38)
Bilaterális	2 (2)
Intraventriculáris vérzés jelenléte felvételkor	
Nincs	44 (51)
Szubarachnoideális	8 (9)
Oldalsó kamrák	7 (8)
III. kamra	1 (1)
IV. kamra	1 (1)
Kombinált	26 (30)
Infratentoriális eredet	
Igen	5 (6)
Nem	82 (94)
Becsült vérzésvolumen, cm ³	
Felvételkor	12,0 (3,5-29,8)
14. napon	7,9 (2,5-24,0)

90. napon

0 (0,0-1,7)

Mortalitás a 14. napig, n (%)

20 (23)

4. táblázat. A stroke jellemzői és kimenetelei a vizsgált kohorszban

Az adatok átlag $\pm$ SD vagy medián (interkvartilis tartomány), valamint elemszám (százalék) értékeként vannak feltüntetve. ICH: intracerebrális vérzés; IQR: interkvartilis tartomány; mRS: módosított Rankin Skála; n: esetszám; NIHSS: National Institutes of Health Stroke Scale.

Trombin generáció a betegekben és a kontrollokban

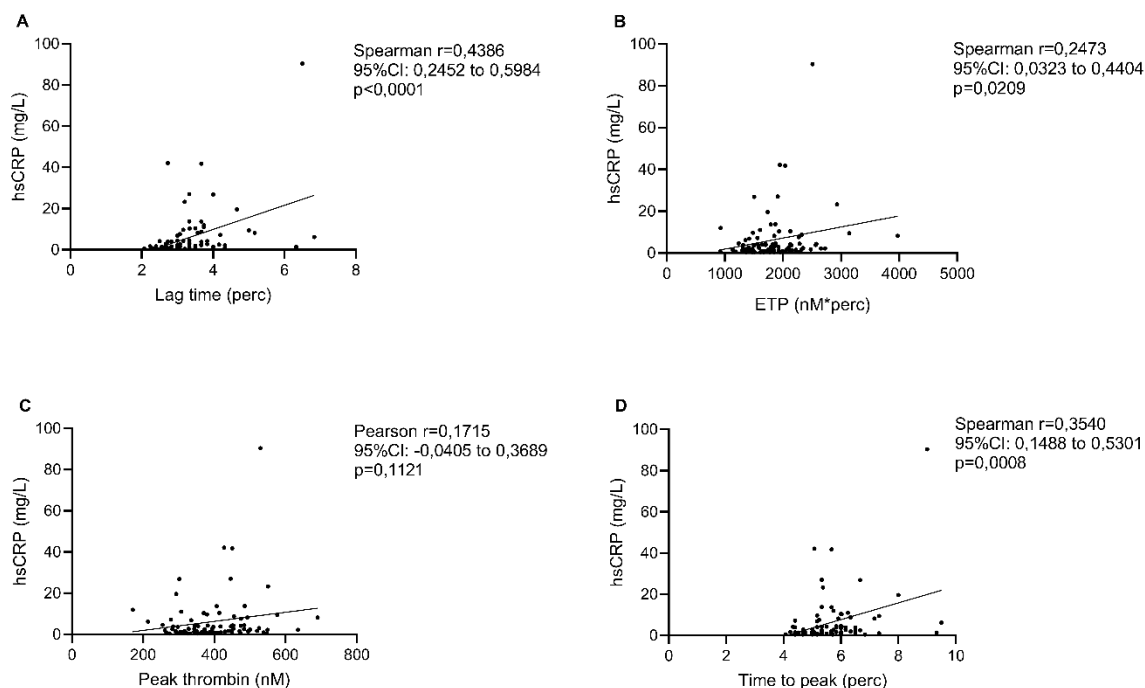
Az ICH betegek és az egészséges kontrollok TGT paraméterei az 5. táblázatban láthatók. A peak thrombin szignifikánsan magasabb volt a betegekben a kontrollokhoz képest ($397,2 \pm 93,9$ nM vs. $306,3 \pm 85,3$ nM; $p < 0,0001$). A time to peak paraméter szignifikánsan rövidebb volt a betegekben (betegek medián: 5,5; IQR: 5,0-6,0 perc vs. kontrollok medián: 6,5; IQR: 5,6-7,8 perc; $p < 0,0001$). A lag time és az ETP nem különbözött a két csoport között.

	Betegek n=87	Kontrollok n=164	p érték
Lag time (perc)	3,3 (3,0-3,6)	3,3 (2,7-4,1)	0,4090
ETP (nM*perc)	1776 (1491-2099)	1707 (1472-1973)	0,2374
Peak thrombin (nM)	$397,2 \pm 93,9$	$306,3 \pm 85,3$	$<0,0001$
Time to peak (perc)	5,5 (5,0-6,0)	6,5 (5,6-7,8)	$<0,0001$

5. táblázat. Trombin generációs paraméterek az ICH betegekben és az egészséges kontrollokban

Az adatok átlag $\pm$ SD vagy medián (interkvartilis tartomány), valamint elemszám (százalék) értékeként vannak feltüntetve. ETP: endogén trombin potenciál; n: esetszám.

A lag time, az ETP és a time to peak paraméterek gyenge szignifikáns pozitív korrelációt mutattak a CRP-vel az ICH betegekben (6. A-D ábra) és az egészséges kontrollokban (ETP: betegek: $r=0,2473$; 95% CI: 0,0323-0,4404; $p=0,0209$ és kontrollok: $r=0,3610$; 95% CI: 0,2091-0,4960; $p < 0,0001$). Hasonló, szignifikáns pozitív korrelációt figyeltünk meg TGT paraméterek és a fibrinogén szintek között a betegekben (ETP: $r=0,3520$; 95% CI: 0,1398-0,5333; $p=0,0012$). Az ICH betegekben a peak thrombin gyenge szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a fehérvérsejtszámmal ($r=0,2385$; 95% CI: 0,0293-0,4277; $p=0,0261$), és szignifikáns negatív korrelációt figyeltünk meg az APTI-vel ($r= -0,4277$; 95% CI: -0,5856-0,2385; $p < 0,0001$). A D-dimer és a FVIII aktivitás nem mutatott szignifikáns összefüggést a betegekben és a kontrollokban mért egyes TGT paraméterek között.



6. ábra. A TGT paraméterek (A-D) és a hsCRP szintek közötti korreláció a betegekben

CI: konfidencia intervallum; ETP: endogén trombin potenciál; hsCRP: nagy szenzitivitású C-reaktív protein vizsgálat. Alkalmazott statisztikai tesztek: Spearman vagy Pearson korreláció.

A stroke súlyossága és a kimenetek vizsgálata

A stroke súlyossága, valamint a rövid távú funkcionális kimenetel nem mutatott szignifikáns összefüggést a TGT egyes paramétereivel (az eredmények nincsenek bemutatva). A hosszútávú funkcionális kimenetel szempontjából a kedvezőtlen kimenetel (mRS 2-6) szignifikánsan magasabb BMI-vel és D-dimer szinttel, nagyobb felvételtkorai NIHSS értékkel, nagyobb vérzésvolumennel (mindhárom időpontban), magasabb ICH pontszámmal társult (6. táblázat). A hosszú távon rosszabb kimenetelű betegeknek a peak thrombin paraméter szignifikánsan emelkedett volt a kedvező hosszútávú funkcionális kimenetelű (mRS 0-1) betegekhez képest (mRS 2-6 medián: 402,5; IQR: 344,8-473,8 vs. mRS 0-1: 326,4; IQR: 294,2-416,1 nM; $p=0,0096$) (6. táblázat).

	mRS 0-1	mRS 2-6	p érték
Esetszám, <i>n</i>	17	69	-
Életkor, év	62 ± 13	68 ± 12	0,0791
Férfi, <i>n</i> (%)	11 (65)	44 (64)	0,9480

Cerebrovaszkuláris rizikó tényezők, *n* (%)

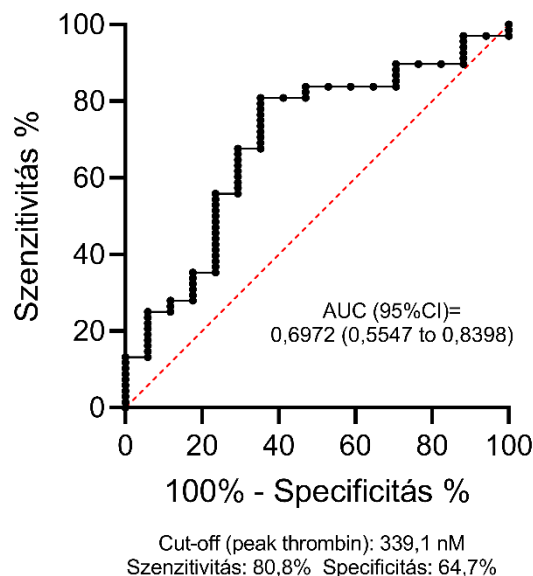
Magas vérnyomás	15 (88)	68 (99)	0,0983
Hiperlipidémia	13 (76)	37 (54)	0,1056
Diabetes mellitus	7 (41)	24 (35)	0,7787
Aktív dohányzás	8 (47)	8 (12)	0,0024
BMI, kg/m ²	24,04 (21,78-28,25)	27,31 (24,93-31,60)	0,0090
Felvételtkor laboratoriumi paraméterek			
Glükóz, mmol/L	7,4 (5,6-11,25)	7,2 (5,9-7,2)	>0,9979
GOT, U/L	20, (14,3-36,3)	23,5 (17,0-33,0)	0,3339
GPT, U/L	18,5 (13,0-27,8)	17,0 (14,0-23,5)	0,7296
LDH, U/L	217 (191-245)	224 (199-258)	0,3714
Urea, mmol/L	4,4 (3,9-6,1)	5,2 (4,2-6,3)	0,1775
Kreatinin, µmol/L	69 (57-85)	68 (59-83)	0,8964
eGFR, mL/min	91 (74-91)	87 (73-91)	0,4405
Triglicerid, mmol/L	1,5 (0,96-2,1)	1,5 (1,0-2,2)	0,9146
Koleszterin, mmol/L	5,3 ± 1,2	4,8 ± 1,1	0,1422
HDL, mmol/L	1,5 (1,0-1,8)	1,4 (1,1-2,0)	0,4875
LDL, mmol/L	3,4 ± 1,1	2,9 ± 1,0	0,1040
hsCRP, mg/L	1,6 (0,9-3,9)	2,7 (1,2-7,9)	0,2173
Fibrinogén, g/L	4,0 (3,2-4,4)	3,7 (3,0-4,5)	0,8810
PI, s	8,1 (7,8-8,2)	8,1 (7,8-8,6)	0,3723
INR	0,96 (0,93-0,98)	0,96 (0,93-1,02)	0,6031
APTI, s	27,5 (24,6-29,5)	26,5 (24,5-29,2)	0,5309
TI, s	16,6 (16,2-17,5)	16,6 (15,8-17,8)	0,9394
Fehérvérszám, G/L	6,9 (6,4-9,0)	8,6 (6,7-11,8)	0,1361
Vörösvértestszám, T/L	4,5 ± 0,4	4,7 ± 0,6	0,3347
Hemoglobin, g/L	144 ± 12	142 ± 17	0,6862
Trombocitaszám, G/L	250 (158-274)	218 (182-269)	0,8840
D-dimer, mg/L	0,36 (0,28-0,58)	0,72 (0,48-1,30)	0,0013
FVIII aktivitás, %	210 (152-232)	230 (155-294)	0,1158
Stroke súlyossága felvételtkor, NIHSS	4 (4-6)	16 (11-21)	<0,0001
Becsült vérzésvolumen, cm ³			
Felvételtkor	2,3 (1,4-6,2)	17,0 (6,5-37,1)	<0,0001

14. napon	3,1 (1,4-4,8)	19,0 (3,9-29,5)	0,0008
90. napon	0 (0)	1,0 (0-6,5)	0,0120
ICH score	0 (0-1)	2 (1-3)	0,0005
Trombin generációs paraméterek			
Lag time (perc)	3,3 (2,8-3,8)	3,3 (3,0-3,67)	0,9978
ETP (nM*perc)	1666 (1445-1793)	1832 (1496-2122)	0,1769
Peak thrombin (nM)	326,4 (294,2-416,1)	402,5 (344,8-473,8)	0,0096
Time to peak (perc)	5,8 (5,0-6,4)	5,3 (5,0-6,0)	0,2177

6. táblázat. A betegek klinikai alapadatai és trombin generációs paraméterei a hosszútávú funkcionális kimenetel (mRS) szerint 90 nappal az eseményt követően

Az adatok átlag $\pm$ SD vagy medián (interkvartilis tartomány), valamint elemszám (százalék) értékeként vannak feltüntetve. APTI: aktivált parciális tromboplasztin idő; BMI: testtömeg index; FVIII: VIII-as véralvadási faktor; eGFR: becsült glomeruláris filtrációs ráta; GOT: glutamát oxálacetát transzamináz; GPT: glutamát piruvát transzamináz; HDL: magas denzitású lipoprotein; hsCRP: nagy szenzitivitású C-reaktív protein vizsgálat; ICH: intracerebrális vérzés; INR: nemzetközi normalizált ráta; IQR: interkvartilis tartomány; LDH: laktát dehidrogenáz enzim; LDL: alacsony denzitású lipoprotein; mRS: módosított Rankin Skála; n: esetszám; NIHSS: National Institutes of Health Stroke Scale; PI: protrombin idő; SD: standard deviáció; TI: trombin idő.

A TGT prognosztikai értékének vizsgálatára ROC analízist végeztünk, a peak thrombin paraméter diagnosztikai hatékonysága és az optimális küszöbértékének megállapítása érdekében (7. ábra). A hosszútávú funkcionális kimenetel szempontjából statisztikailag optimális peak thrombin küszöbérték (339,1 nM) alapján e paraméter érzékenysége 80,8%-os, a specificitása pedig 64,7%-os volt az mRS 2-6 kimenetel meghatározására. Ezt a küszöbértéket használva a kedvezőtlen kimenetel magas negatív prediktív értékkel zárható ki (NPV: 0,902; 95% CI: 0,802-0,954; PPV: 0,458; 95% CI: 0,279-0,649). Egy bináris regressziós modellben, melybe belekerült az életkor, a nem, a BMI, a dohányzási szokás, a felvételtkor NIHSS, D-dimer ($>0,5$ mg/L) és a peak thrombin paraméter ($>339,1$ nM) is, csak az NIHSS és a peak thrombin maradtak a modellben, mint a kedvezőtlen funkcionális kimenetel független előrejelzői (OR: 1,458; 95% CI: 1,181-1,801; $p<0,001$ és OR: 48,292; 95% CI: 4,667-499,720; $p=0,001$)



7. ábra. A peak thrombin paraméter ROC analízise ICH betegekben a stroke kedvezőtlen funkcionális kimenetelének (mRS 2-6) becslésére

A statisztikailag optimális határértéket Youden J statisztikával határoztuk meg, és használtuk fel a szenzitivitás és specifitás kiszámításához. AUC: görbe alatti terület; CI: konfidencia intervallum; mRS: módosított Rankin Skála; ROC: receiver operating characteristics.

A TGT paraméterek és az intracerebrális vérzés térfogatának összefüggése

A 7. táblázatban látható, hogy a lag time és a time to peak paraméterek gyenge szignifikáns negatív korrelációt mutattak a felvételtkor intracerebrális vérzés mennyiségével ($r = -0,2603$; 95% CI: $-0,4642 - -0,0303$; $p = 0,0231$ és $r = -0,3698$; 95% CI: $-0,5542 - -0,1509$; $p = 0,0010$). A betegek követése során, a 90. napi vérzés mennyisége szignifikáns pozitív összefüggést mutatott az ETP és peak thrombin paraméterekkel ($r = 0,3838$; 95% CI: $0,0161-0,6600$; $p = 0,0363$ és $r = 0,5383$; 95% CI: $0,2103-0,7574$; $p = 0,0021$). Bár a vizsgálatnak nem volt elsődleges célja az esetlegesen előforduló VTE események és a TGT paraméterek közötti összefüggések vizsgálata, megjegyzendő, hogy a felvételtkor mért peak thrombin paraméter a számított küszöbérték felett volt minden olyan betegnél, akinél a követés során trombotikus esemény történt. A mortalitás egyik vizsgált időpontban sem mutatott összefüggést a TGT paraméterekkel.

Az intracerebrális vérzés becsült térfogata			
	Felvételkor	14. napon	90. napon
Trombin generációs paraméterek	Lag time (perc)	r= -0,2603 95% CI: -0,4642 to -0,0303 p= 0,0231	r= 0,0673 95% CI: -0,3104 to 0,4266 p=0,7239
	ETP (nM*perc)	r= -0,0771 95% CI: -0,3036 to 0,1575 p=0,5076	r= 0,3838 95% CI: 0,0161 to 0,6600 p= 0,0363
	Peak thrombin (nM)	r= 0,0723 95% CI: -0,1623 to 0,2992 p=0,5346	r= 0,5383 95% CI: 0,2103 to 0,7574 p= 0,0021
	Time to peak (perc)	r= -0,3698 95% CI: -0,5542 to -0,1509 p= 0,0010	r= -0,0543 95% CI: -0,4159 to 0,3221 p=0,7756

7. táblázat. A trombin generációs paraméterek és az intracerebrális vérzés becsült mennyisége közötti összefüggés adott vizsgálati időpontokban

CI: konfidencia intervallum; ETP: endogén trombin potenciál.

A FVIII aktivitás, valamint a D-dimer szintek és az intracerebrális vérzés mennyiségének összefüggése

A FVIII aktivitás nem mutatott összefüggést a vérzés mennyiségével (az eredmények nincsenek bemutatva), míg a D-dimer szintek csak a 14. napi intracerebrális vérzés becsült térfogatával mutattak szignifikáns korrelációt ($r=0,3504$; 95% CI: 0,0860-0,5689; $p=0,0087$). A mortalitás egyik vizsgált időpontban sem mutatott összefüggést a FVIII és D-dimer paraméterekkel.

Vesetranszplantált betegek vizsgálatának eredményei

Klinikai alapadatok

A vizsgálatba 43 vesetranszplantált beteget vontunk be. A betegek beválogatásakor meghatározott klinikai és laboratóriumi paramétereket a 8. táblázat tartalmazza. Huszonhét DSA+ eset és 16 DSA– kontroll alkotta az egyes vizsgálati csoportokat. A két csoport nem különbözött jelentős mértékben az alapvető demográfiai adatok, a rutin laboratóriumi paraméterek és az alkalmazott immunszuppresszív kezelés tekintetében. A DSA– csoportban az átlag életkor $45,7 \pm 10,9$ év, a DSA+ csoportban $46,4 \pm 12,6$ év volt. A transzplantáció óta eltelt idő átlagosan 19 ± 12 hónap volt a DSA– csoportban, és 27 ± 19 hónap a DSA+ betegeknél. A DSA+ betegek többségénél (82%) HLA-II. osztály ellenes antitesteket mutattak ki. A vizsgált betegek körében a leggyakoribb kardiovaszkuláris rizikótényező a magas vérnyomás volt (81%). A graft funkció (pl. kreatinin szint, eGFR, vizelet protein/kreatinin hányados) nem különbözött szignifikánsan a két csoport között. A betegek többségénél alkalmazott immunszuppresszív terápia a tacrolimus, glükokortikoid és MPA kombinációja volt.

	DSA –	DSA +	<i>p érték</i>
Esetszám, <i>n</i>	16	27	-
Kor, év	$45,7 \pm 10,9$	$46,4 \pm 12,6$	0,8612
Férfi, <i>n</i> (%)	11 (61)	14 (52)	0,3475
BMI, kg/m ²	$25,9 \pm 5,4$	$27,4 \pm 4,9$	0,3771
Transzplantáció óta eltelt idő, hónap	19 ± 12	27 ± 19	0,2856
Transzplantációk száma, <i>n</i> (%)			
Egy	12 (66)	14 (52)	
Kettő	4 (22)	12 (44)	0,2860
Három	0 (0)	1 (4)	
Élő donoros transzplantált, <i>n</i> (%)	1 (6)	2 (7)	>0,9999
DSA HLA specificitás, <i>n</i> (%)			
I. osztály	-	4 (15)	-
II. osztály	-	15 (56)	-
I. és II. osztály	-	7 (26)	-
DSA-k megjelenése a transzplantáció óta, hónap	-	19 ± 16	-
Kardiovaszkuláris rizikó tényezők, <i>n</i> (%)			

Artériás magas vérnyomás	13 (81)	22 (81)	>0,9999
Aktív dohányzás	5 (31)	3 (11)	0,1250
Diabetes mellitus	3 (19)	5 (19)	>0,9999
Laboratóriumi paraméterek (vér)			
Urea, mmol/L	7,4 (6,6-8,9)	8,6 (7,1-12,8)	0,1708
Kreatinin, $\mu\text{mol/mL}$	107 (96-189)	137 (109-163)	0,3148
eGFR, mL/min	59 $\pm$ 24	51 $\pm$ 20	0,2439
Totál protein, g/L	70 (67-77)	69 (65-73)	0,5255
Albumin, g/L	46 $\pm$ 4	44 $\pm$ 5	0,1019
hsCRP, mg/L	1,9 (0,9-3,5)	3,4 (1,5-5,8)	0,1667
Fehérvérsejtszám, G/L	7,9 $\pm$ 2,4	7,5 $\pm$ 2,0	0,5643
Hemoglobin, g/L	130 (124-160)	129 (119-134)	0,1910
Trombocitaszám, G/L	222 (172-271)	224 (179-266)	0,5890
PI, s	8,5 (7,9-9,0)	8,2 (7,8-8,6)	0,1968
APTI, s	30,1 $\pm$ 4,4	28,2 $\pm$ 3,3	0,1227
Laboratóriumi paraméterek (vizelet)			
Totál protein, mg/L	40 (39-106)	51 (40-203)	0,1417
Totál protein/kreatinin, mg/mmol	19 (10-99)	17 (11-65)	0,7489
Immunszuppresszív terápia, n (%)			
Tacrolimus+MPA+Glükokortikoid	13 (82)	17 (63)	0,2069
Tacrolimus+MPA	0 (0)	2 (7)	0,5216
mTORi+Tacrolimus+Glükokortikoid	0 (0)	2 (7)	0,5216
mTORi+Tacrolimus	1 (6)	1 (4)	>0,9999
mTORi+MPA+Glükokortikoid	0 (0)	2 (7)	0,5216
mTORi+MPA	0 (0)	1 (4)	>0,9999
Tacrolimus+MPA+mTORi+Glükokortikoid	1 (6)	1 (4)	>0,9999
Tacrolimus+Glükokortikoid	1 (6)	1 (4)	>0,9999
Tacrolimus szint, $\mu\text{g/L}$	7,7 $\pm$ 2,4	7,2 $\pm$ 2,6	0,5117

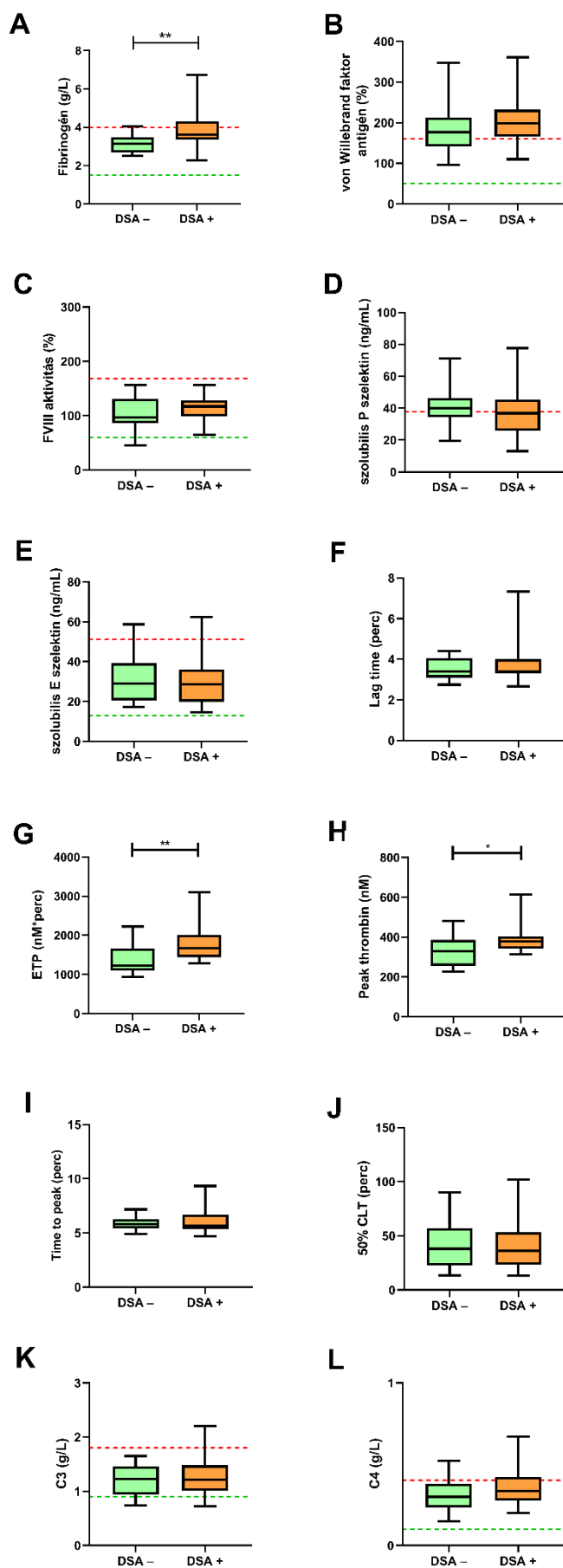
8. táblázat. A vesetranszplantált, DSA– és DSA+ betegcsoportok alapvető klinikai és laboratóriumi paraméterei bevélogatáskor

Az adatok átlag $\pm$ SD vagy medián (interkvartilis tartomány), valamint elemszám (százalék) értékeként vannak feltüntetve. APTI: aktivált parciális tromboplasztin idő; BMI: testtömeg index; DSA: donor specifikus antitest; eGFR: becsült glomeruláris filtrációs ráta; HLA: humán leukocita antigén; hsCRP: nagy szenzitivitású C-reaktív protein vizsgálat; IQR: interkvartilis tartomány; MPA: mikofenolsav;

mTORi: mammalian target of rapamycin inhibitors; n: esetszám; PI: protrombin idő; SD: standard deviáció; TI: trombin idő.

Az endotélkárosodás szolubilis markerei, a TGT és CLA vizsgálata DSA+ és DSA– vesetranszplantált betegekben

Az első mintavételkor mért fibrinogén szintek szignifikánsan magasabbak voltak a DSA+ csoportban a DSA– csoporthoz képest (medián: 3,6; IQR: 3,4-4,3 g/L és 3,1; IQR: 2,7-3,5 g/L; $p=0,0081$) (8. A ábra). A VWF antigén és sPsel szintek a betegek többségénél a referencia tartomány felső határa felett voltak, de a csoportok között nem volt szignifikáns különbség (8. B és 8. D ábra). A VWF antigén szintek szignifikáns korrelációt mutattak a sPsel szintekkel (Spearman $r=0,3788$; 95% CI: 0,0794-0,6155; $p=0,0122$). A FVIII aktivitás és a sEsel szintek nem különböztek az egyes vizsgálati csoportok között (8. C és 8. E ábra). Az első mintából meghatározott TGT paraméterek közül az ETP szignifikánsan magasabb volt a DSA+ csoportban az antitesttel nem rendelkező betegekhez képest (medián: 1666; IQR: 1438-2012 nM*perc és 1230; IQR: 1097-1659 nM*perc; $p=0,0019$) (7. G ábra). A peak thrombin paraméter, hasonlóan az ETP-hez, szintén szignifikánsan magasabb volt a DSA+ betegekben (medián: 377,4; IQR: 342,9-404,5 nM és 328,9; IQR: 256,5-386,3 nM; $p=0,0203$) (8. H ábra), míg a TGT időparaméterei esetén nem volt szignifikáns különbség a csoportok között (8. F és 8. I ábra). A CLA paraméterek, beleértve az 50%CLT-t is, nem különböztek a DSA– és a DSA+ csoportok között (8. J ábra). Az első vérvétel alkalmával a C3 és C4 komplement szintek nem különböztek a vizsgált csoportok között (8. K és 8. L ábra). Eredményeink alapján a C3 hipokomplementémia nem függött a DSA-k jelenlététől (DSA+ csoport: 4/27; 15% vs. DSA– csoport: 3/16; 19%; $p=0,9999$). A graft típusa, azaz, hogy élő vagy kadaver donortól származik, illetve a DSA-k megjelenéséig eltelt idő nem volt hatással az általunk vizsgált paraméterekre (az eredmények nincsenek bemutatva).



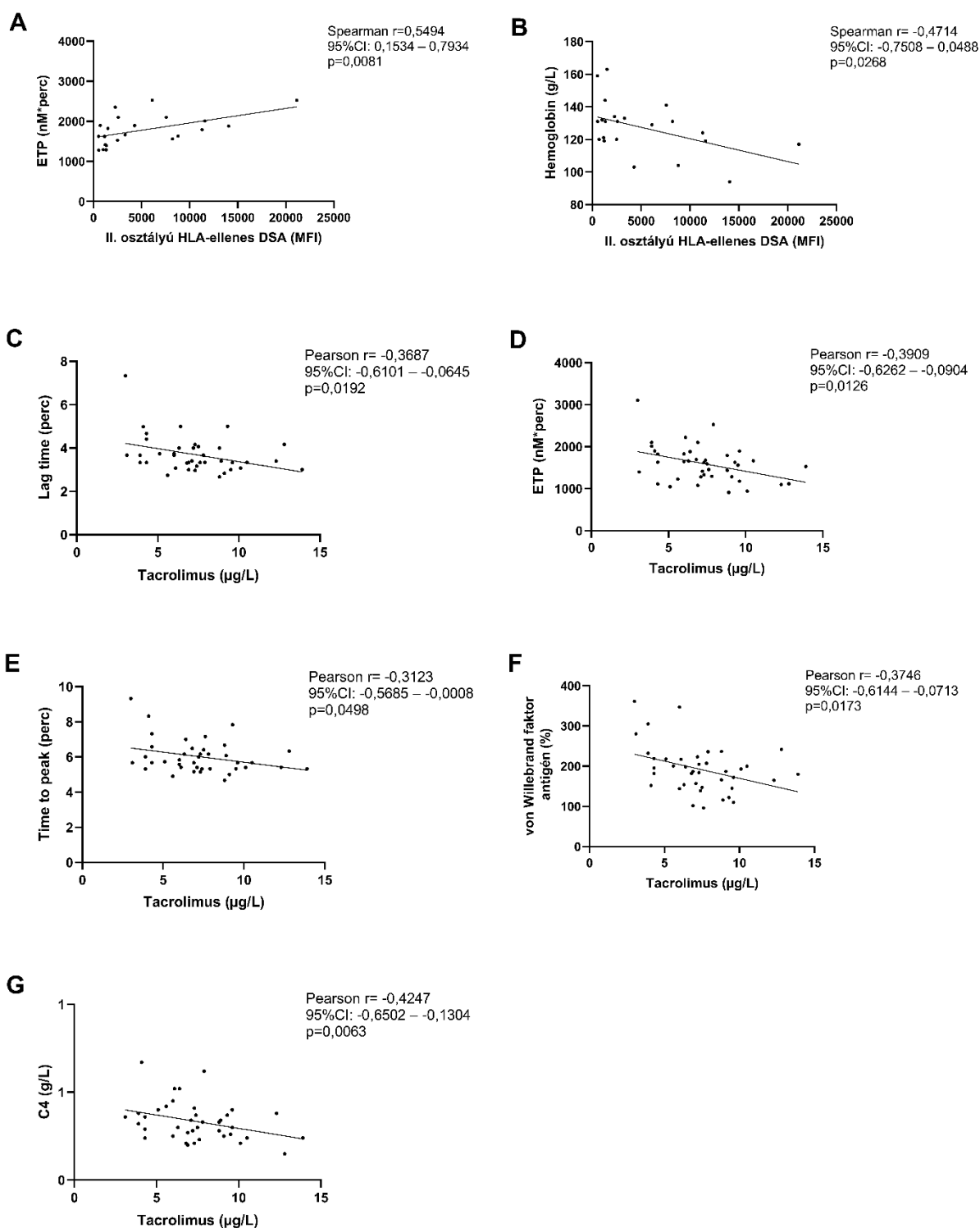
8. ábra. Az endotélkárosodás szolubilis markerei, a TGT, az alvadék lízis teszt paraméterei, valamint a C3 és C4 komplement szintek DSA– és DSA+ vesetranszplantált betegekben a vizsgálatba történő bevonáskor

A doboz-bajusz diagramokon a vizsgált paraméterek medián értékei és interkvartilis tartományai, ill. a teljes mérési tartományok láthatók, zölddel a DSA– betegek, narancssárga színnel a DSA+ betegek eredményeit ábrázoltuk. C3: komplement faktor C3; C4: komplement faktor C4; DSA: donor specifikus antitest; ETP: endogén trombin potenciál; FVIII: VIII-as véralvadási faktor; 50%CLT: 50%-os alvadék lízis idő. Alkalmazott statisztikai tesztek: Student t-teszt vagy Mann-Whitney U-teszt. Alkalmazott statisztikai tesztek: Student t-teszt vagy Mann-Whitney U-teszt.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

TGT paraméterek, DSA pozitivitás és a tacrolimus szintek közötti összefüggések

A kutatásunk során a vizsgált paraméterek közül az ETP szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az anti-HLA-II. osztályú DSA-k szintjével az első mintavételkor (MFI-ben kifejezve) (9. A ábra). Valamennyi további vizsgált laboratóriumi paraméter közül kizárólag a hemoglobin koncentráció mutatott szignifikáns korrelációt a DSA pozitivitás mértékével a betegek bevonásakor (9. B ábra). A TGT lag time, ETP és time to peak paraméterei (9. C-E ábra), valamint a VWF antigén (9. F ábra) és C4 komplement szintek (9. G ábra) szignifikáns negatív korrelációt mutattak a tacrolimus szintekkel a vizsgált kohorszban.



9. ábra. A TGT paraméterek, DSA pozitivitás, valamint a tacrolimus szintek korrelációja a betegek beválogatásakor

Az anti-HLA II-es osztályú DSA szintek és az ETP (A) valamint a hemoglobin (B) korrelációja a vizsgált kohorszban a betegek beválogatásakor. A tacrolimus völgykoncentrációk és a lag time (C), ETP (D), time to peak (E), von Willebrand faktor antigén szint (F), valamint a C4 komplement szint korrelációja a teljes kohorszban. C4: komplement faktor C4; CI: konfidencia intervallum; DSA: donor specifikus

antitest; ETP: endogén trombin potenciál; HLA: humán leukocita antigén; MFI: átlagos fluoreszcencia intenzitás. Alkalmazott statisztikai tesztek: Spearman vagy Pearson korreláció.

Az endotélkárosodás szolubilis markerei, TGT és CLA paraméterek alakulása a követés során

Hat hónappal a beválogást követően 3 DSA– betegnél *de novo* DSA-k jelentek meg, míg 5 DSA+ beteg esetében a HLA ellenes antitestek MFI értékei a küszöbérték (500 MFI) alá csökkentek. Egy beteg egy intervenciós vizsgálatban való részvétel miatt lemorzsolódott a vizsgálat második szakaszából. Ennek megfelelően 6 hónappal később 18 DSA– és 24 DSA+ beteget vizsgáltunk (9. táblázat). A DSA+ csoportban szignifikánsan magasabb volt a betegek BMI értéke a DSA– csoporthoz képest. A transzplantáció óta eltelt idő szignifikánsan hosszabb volt a DSA-val rendelkező betegeknél. A DSA+ betegekben az albumin szint szignifikánsan alacsonyabb, míg a CRP szignifikánsan magasabb volt a DSA– csoporthoz képest. A graft funkciót tükröző laboratóriumi paraméterek nem különböztek szignifikánsan a két csoport között az utánkövetés során sem.

	DSA–	DSA+	<i>p</i> érték
Esetszám, <i>n</i>	18	24	-
Kor, év	46,4 ± 12,7	46,7 ± 11,7	0,9386
Férfi, <i>n</i> (%)	12 (66)	13 (54)	0,5302
BMI, kg/m ²	25,1 ± 4,2	28,6 ± 5,5	0,0302
Transzplantáció óta eltelt idő, hónap	23,9 ± 11,7	34,6 ± 16,9	0,0481
Transzplantációk száma, <i>n</i> (%)			
Egy	13 (72)	14 (58)	
Kettő	5 (27)	9 (38)	0,5091
Három	0 (0)	1 (4)	
DSA HLA specificitás, <i>n</i> (%)			
I. osztály	-	5 (21)	-
II. osztály	-	13 (54)	-
I. és II. osztály	-	6 (25)	-
DSA-k megjelenése a transzplantáció óta, hónap	-	24 ± 18	-
Kardiovaszkuláris rizikó tényezők, <i>n</i> (%)			
Artériás magas vérnyomás	14 (78)	21 (88)	0,4376

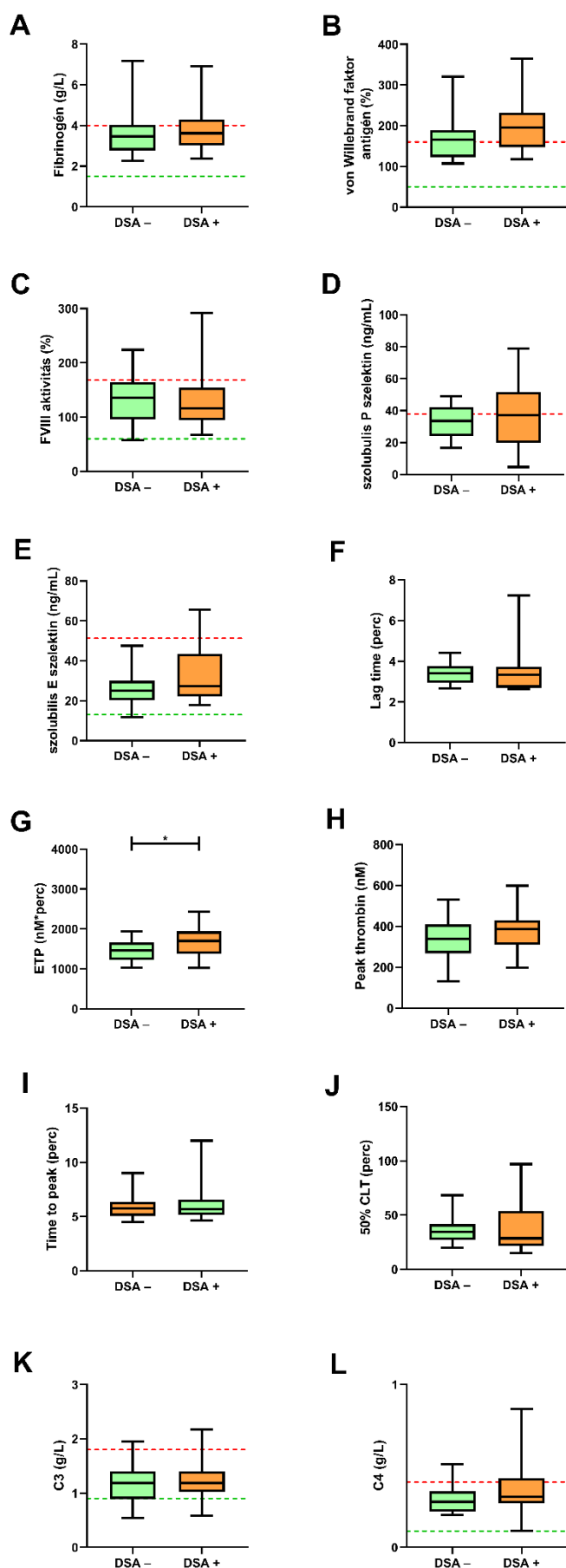
Aktív dohányzás	5 (28)	3 (13)	0,2562
Diabetes mellitus	2 (11)	6 (25)	0,4307
Laboratóriumi paraméterek (vér)			
Urea, mmol/L	7,7 (5,3-12,3)	9,4 (7,3-12,1)	0,4307
Kreatinin, $\mu\text{mol/mL}$	117 (98-204)	131 (112-151)	0,7895
eGFR, mL/min	54 ± 24	50 ± 18	0,5547
Totál protein, g/L	70 (66-73)	70 (66-76)	0,4216
Albumin, g/L	47 ± 3	44 ± 4	0,0237
hsCRP, mg/L	1,4 (0,6-2,2)	3,1 (0,9-7,7)	0,0266
Fehérvérszám, G/L	$7,6 \pm 2,4$	$7,2 \pm 1,8$	0,4941
Hemoglobin, g/L	140 ± 17	131 ± 18	0,1170
Trombocitaszám, G/L	208 (174-263)	214 (175-272)	0,7471
PI, s	8,5 (8,0-8,9)	8,3 (8,0-8,8)	0,7309
APTI, s	27,0 (26,0-29,4)	27,1 (25,3-30,1)	0,6748
Laboratóriumi paraméterek (vizelet)			
Totál protein, mg/L	49 (40-116)	56 (40-126)	0,5116
Totál protein/kreatinin ráta, mg/mmol	11 (7-18)	19 (9-42)	0,0827
Immunszuppresszív terápia, <i>n</i> (%)			
Tacrolimus+MPA+Glükokortikoid	15 (83)	17 (71)	0,3466
Tacrolimus+MPA	0 (0)	2 (8)	0,4983
mTORi+Tacrolimus+Glükokortikoid	0 (0)	2 (8)	0,4983
mTORi+Tacrolimus	2 (11)	0 (0)	0,1777
mTORi+MPA+Glükokortikoid	1 (6)	2 (8)	>0,9999
mTORi+MPA	0 (0)	1 (5)	0,4286
Tacrolimus+MPA+mTORi+Glükokortikoid	0 (0)	0 (0)	-
Tacrolimus+Glükokortikoid	0 (0)	0 (0)	-
Tacrolimus szint, $\mu\text{g/L}$	6,2 (4,9-7,8)	6,2 (5,6-7,4)	0,9883

9. táblázat. A vesetranszplantált, DSA– és DSA+ betegcsoportok alapvető klinikai és laboratóriumi paraméterei a beválogatáshoz képest 6 hónap elteltével

Az adatok átlag $\pm$ SD vagy medián (interkvartilis tartomány), valamint elemszám (százalék) értékeként vannak feltüntetve. APTI: aktivált parciális tromboplasztin idő; BMI: testtömeg index; DSA: donor specifikus antitest; eGFR: becsült glomeruláris filtrációs ráta; HLA: humán leukocita antigén; hsCRP: nagy szenzitivitású C-reaktív protein vizsgálat; IQR: interkvartilis tartomány; MPA: mikofenolsav;

mTORi: mammalian target of rapamycin inhibitors; n: esetszám; PI: protrombin idő; SD: standard deviáció; TI: trombin idő.

A követés során a fibrinogén, a VWF antigén szint, a FVIII aktivitás, a sPsel és az sEsel szint nem különbözött a csoportok között (10. A-E ábra). Az első vérvétel eredményeihez hasonlóan a VWF antigén szintek a betegek többségénél a referencia tartomány felső határértéke felett voltak (10. B ábra). Az ETP 6 hónappal a beválogatást követően ismét szignifikánsan emelkedett volt a DSA+ csoportban a DSA– csoporthoz képest (medián: 1701; IQR: 1382-1940 és 1458; 1221-1660; $p=0,0381$) (10. G ábra). A követés során a peak thrombin és a TGT időparaméterei (lag time és time to peak), hasonlóan az első vérvételhez, nem mutattak különbséget a vizsgálati csoportok között (10. F, H és I ábra). Az első vérvételi eredményeknek megfelelően az 50%CLT, valamint a C3 és C4 szintek a második vérvétel alkalmával sem mutattak különbséget a DSA– és a DSA+ betegek között (10. J-L ábra). A C3 hipokomplementémia előfordulási aránya nem változott a követés alatt.

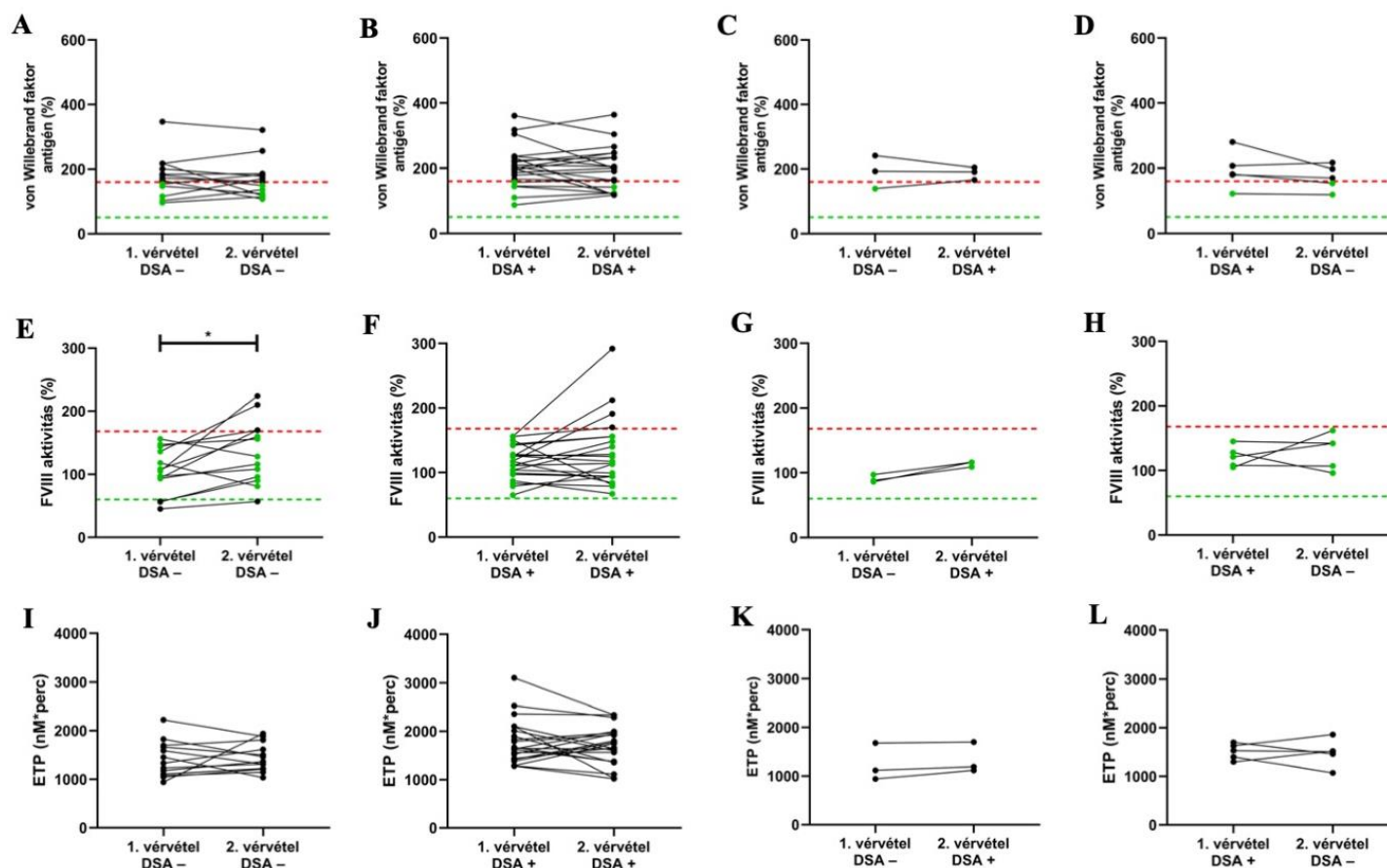


10. ábra. Az endotélkárosodás szolubilis markerei, a TGT, az alvadék lízis teszt paraméterei, valamint a komplement C3 és C4 faktorok szintje DSA– és DSA+ vesetranszplantált betegekben az utánkövetés során

A doboz-bajusz diagramokon a vizsgált paraméterek medián értékei és interkvartilis tartományai, ill. a teljes mérési tartományok láthatók az utánkövetés során (6 hónappal a beválogatást követően). Zölddel a DSA– betegek, narancssárga színnel a DSA+ betegek eredményeit ábrázoltuk. C3: komplement faktor C3; C4: komplement faktor C4; DSA: donor specifikus antitest; ETP: endogén trombin potenciál; FVIII: VIII-as véralvadási faktor; 50%CLT: 50%-os alvadék lízis idő. Alkalmazott statisztikai tesztek: Student t-teszt vagy Mann-Whitney U-teszt.

* $p < 0,05$

A DSA-k *de novo* megjelenése vagy a csökkenő DSA pozitivitása az utánkövetés során egyes betegekben nem mutatott szignifikáns összefüggést a VWF antigén szintek változásával. Meg kell azonban jegyezni, hogy azoknál a betegeknél, akiknél a követés során nem jelentek meg DSA-k (43%) a VWF antigén szintje a referencia tartomány felső határértéke alatt volt (11. A ábra). Ezzel szemben a DSA+ betegek mindössze 29%-ánál volt a VWF antigén szint a referencia tartományon belül (11. B ábra). Mindhárom *de novo* DSA pozitivitást mutató egyénnél az utánkövetés során meghatározott VWF antigén szint a referencia tartomány felső határértéke felett volt (11. C ábra), míg azoknál a betegeknél, akiknél határérték alá csökkent a DSA pozitívitas mértéke, a VWF antigén szintek nem mutattak jelentős változást (11. D ábra). Érdekes módon a FVIII aktivitás szignifikánsan emelkedett a DSA– betegeknél a követés során az első vérvételhez képest ($p=0,0200$) (11. E ábra), és hasonló, de nem szignifikáns tendencia volt megfigyelhető a DSA+ betegeknél ($p=0,0938$) (11. F ábra). Mindkét alcsoportban 4 beteg esetében a FVIII aktivitás értéke a referencia tartomány felső határértéke fölé emelkedett a beválogatáshoz képest 6 hónap múlva. Mindhárom *de novo* DSA+ egyénnél a FVIII aktivitás emelkedett a követés során (11. G ábra), azonban csökkenő DSA szintek esetén egyértelmű tendencia nem volt megfigyelhető az utánkövetés FVIII szintjeinek változásában (11. H ábra). Az ETP paraméter nem mutatott szignifikáns változást a 6 hónappal később mért mintákban egyik vizsgált alcsoportban sem (11. I-L ábra). A peak thrombin az ETP-vel parallel eredményeket mutatott az egyes alcsoportokban, azaz nem volt megfigyelhető jelentős változás a peak thrombin értékekben az első és a második mintavétel között (eredmények nincsenek bemutatva).



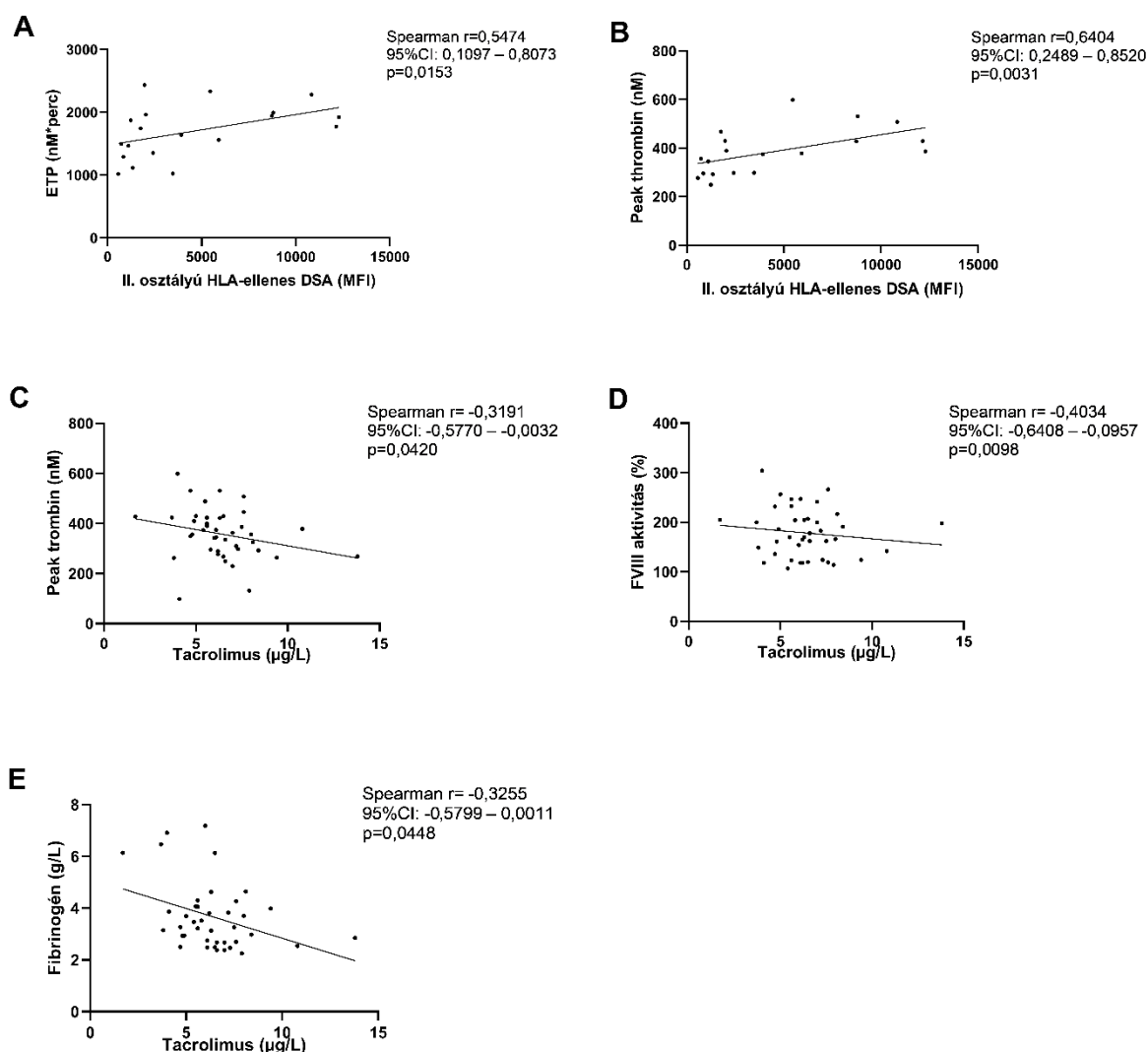
11. ábra. A von Willebrand faktor antigen (A-D), FVIII aktivitás (E-H) és az ETP (I-L) változása az egyes mintavételi időpontokban DSA pozitivitás szerint

Az 1. mintavételi időpont a beválogatást, a 2. időpont a 6 hónappal későbbi követést jelzi. DSA: donor specifikus antitest; ETP: endogén trombin potenciál; FVIII: VIII-as véralvadási faktor. Alkalmazott statisztikai tesztek: párosított t-teszt vagy Wilcoxon teszt.

**p < 0,05*

TGT paraméterek, DSA pozitivitás és a tacrolimus szintek közötti összefüggések a követés során

A DSA+ betegekben az első mintavételi eredményekhez hasonlóan, 6 hónappal később is szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a trombin képződés mértéke (ETP és peak thrombin) a DSA pozitivitás mértékével (12. A és B ábra). A peak thrombin, a FVIII aktivitás és a fibrinogén szintek szignifikáns negatív korrelációt mutattak a tacrolimus szinttel a követés során (12. C-E ábra). A DSA pozitivitás mértéke azonban nem korrelált a tacrolimus szinttel egyik vizsgálati időpontban sem (az eredmények nincsenek bemutatva). A transzplantáció óta eltelt idő nem mutatott összefüggést a vizsgált speciális hemosztázis paraméterekkel (az eredmények nincsenek bemutatva). A VWF antigén és a FVIII aktivitási értékek szignifikáns pozitív korrelációt mutattak mindkét vizsgálati időpontban (Spearman $r=0,5876$; 95% CI: 0,3408-0,7587; $p<0,0001$ és $r=0,5919$, 95% CI: 0,3429-0,7631; $p<0,0001$), a DSA– és DSA+ csoportok közötti lényeges különbség nélkül.



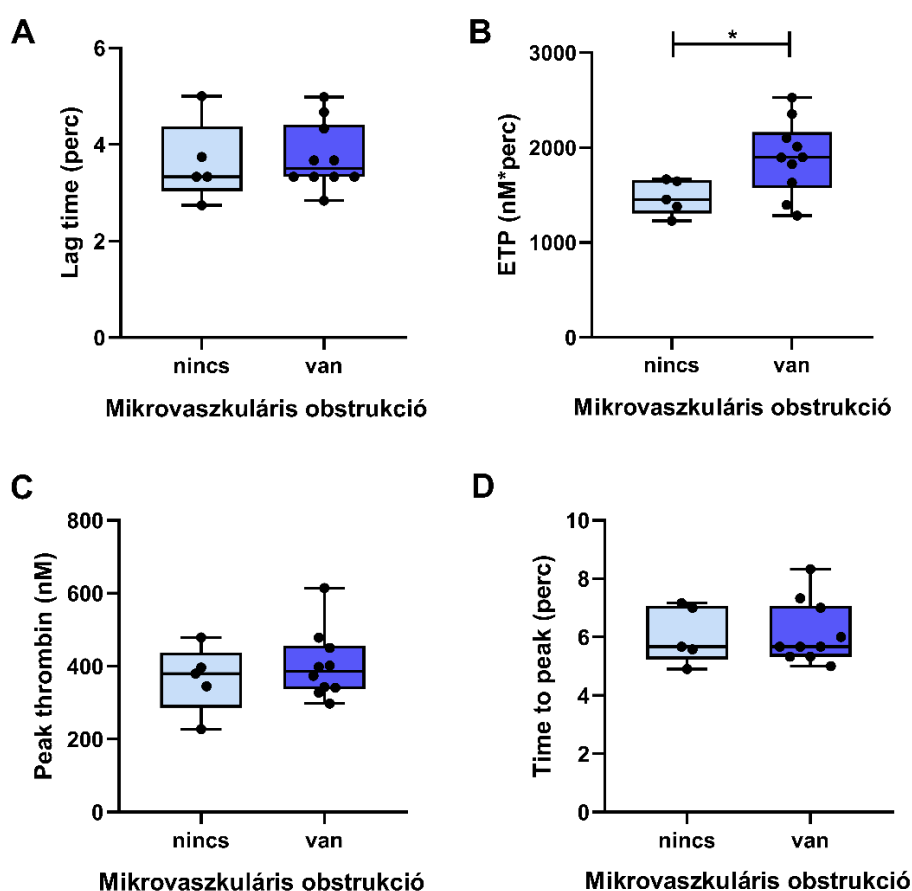
12. ábra. A trombin képződés mértékét jelző TGT paraméterek és az anti HLA II. osztályú DSA pozitivitás közötti összefüggés (A, B), valamint a peak thrombin (C), a FVIII aktivitás (D) és a fibrinogén (E) korrelációja a tacrolimus völgykoncentrációval a beválogatást követően 6 hónappal

CI: konfidencia intervallum; DSA: donor specifikus antitest; ETP: endogén trombin potenciál; FVIII: VIII-as véralvadási faktor; HLA: humán leukocita antigén; MFI: átlagos fluoreszcencia intenzitás. Alkalmazott statisztikai teszt: Spearman korreláció.

A TGT egyes paramétereit és a vesebiopsziákban megfigyelhető mikrovaskuláris obstrukció közötti összefüggés

A vesebiopsziákból végzett szövettani vizsgálatok eredményeit összevetettük a TGT paramétereivel. A minták értékelése a Banff klasszifikáció szerint történt (87). A betegek beválogatását követő egy éven belül 15 beteg esetében történt biopsziás mintavétel (2 DSA–

beteg és 13 DSA+ beteg). A HE festett szövettani metszetek vizsgálata során tíz DSA+ betegnél igazolódott mikrovaszkuláris obstrukció. Esetükben, ahogy a 13. ábrán látható, az ETP szignifikánsan magasabb volt azokhoz a betegekhez képest, akiknél nem állt fenn mikrovaszkuláris obstrukció szövettani jele (ETP medián: 1898; IQR: 1573-2165 vs. 1453; IQR: 1306-1656 nM*perc; $p=0,0425$). Kiemelendő, hogy a vizsgálat során meghatározott egyéb hemosztázis ill. komplement paraméterek szintje nem állt összefüggésben a mikrovaszkuláris obstrukció jelenlétével ebben a kohorszban (az adatok nincsenek bemutatva).



13. ábra. A TGT paraméterei (A-D) és a mikrovaszkuláris obstrukció jelenléte közötti összefüggés a vese graft biopsziákban

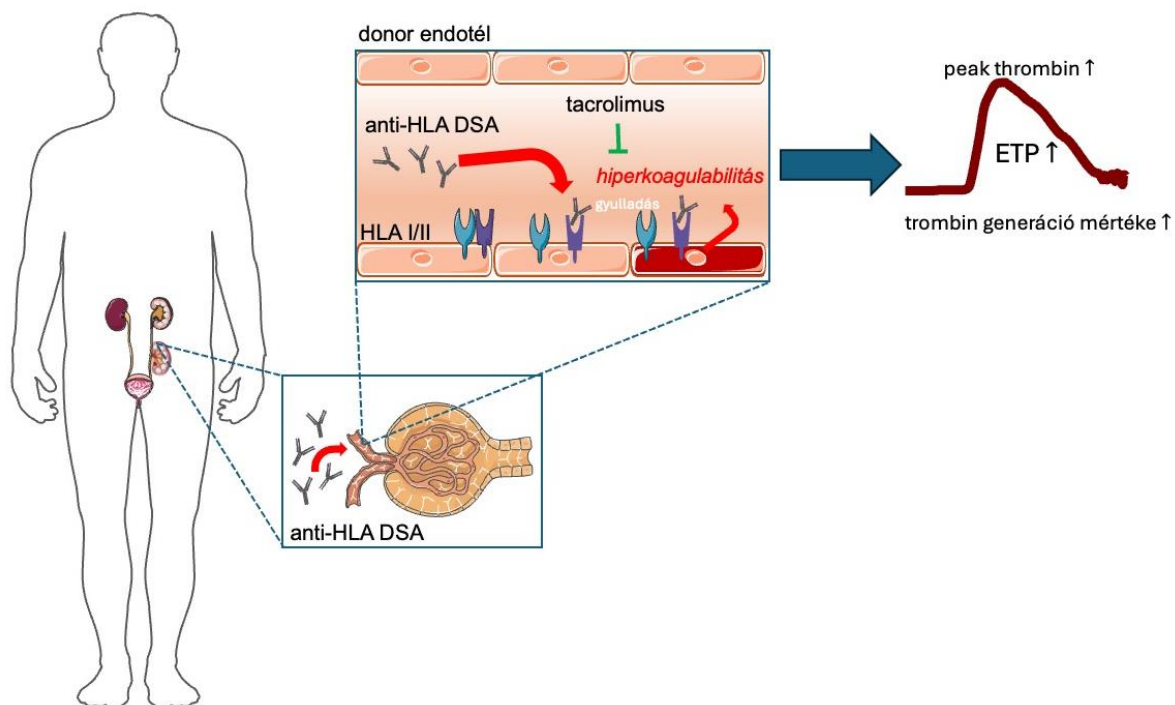
ETP: endogén trombin potenciál. Alkalmazott statisztikai tesztek: Student t-teszt vagy Mann-Whitney U-teszt. * $p<0,05$

A gyulladás és a TGT egyes paraméterei közötti összefüggés a DSA+ betegekben

A DSA+ betegeknél a trombin generáció mértéke (ETP vagy a peak thrombin) valamennyi vizsgált laboratóriumi paraméter közül a CRP, a fibrinogén, a VWF antigén, valamint a FVIII aktivitással (akut fázis fehérjékkel) mutatott szignifikáns összefüggést, míg a DSA– betegek

esetén hasonló összefüggések nem álltak fenn. Ezek az eredmények a gyulladás és a trombin generáció közötti kapcsolatra utalnak a DSA+ betegek csoportjában.

Az eredmények sematikus összefoglalását a 13. ábra mutatja.



14. ábra. Az anti-HLA DSA-k és a tacrolimus hiperkoagulációra, ill. a trombin generációra kifejtett hatásának sematikus ábrája

DSA: donor specifikus antitest; ETP: endogén trombin potenciál; HLA: humán leukocita antigén.

MEGBESZÉLÉS

A TGT egy olyan újszerű globális hemosztázis teszt, mely egyelőre kihasználatlan potenciállal bír több területen a klinikai gyakorlat számára. Az eredeti leírását követő időszakban a TGT-t elsősorban hiper- vagy hipokoagulabilitás vizsgálatára használták kutatási eszközként olyan állapotokban, amelyekben nem volt teljesen tisztázott a hemosztázis egyensúly eltolódásának mértéke vagy iránya. A TGT használatával egyetlen mérésen belül kimutatható hipo- és hiperkoagulációs állapot azonban nem csak kutatási célokat szolgálhat, hanem segítség számos kórkép esetén a klinikai döntéshozatalban. Különösen nagy segítséget nyújthat a hiperkoagulabilis állapotok diagnosztikájában, hiszen a teszt eredményei jobban korrelálnak a pretrombotikus, trombotikus állapotokkal, mint a hagyományos koagulációs szűrőtesztek (24).

Az ICH magas mortalitással és morbiditással járó sürgős ellátást igénylő állapot, ezért kiemelten fontos a diagnózis gyors felállítása, majd ennek ismeretében az azonnal megkezdett terápia. Meglepő módon kevés tanulmány áll rendelkezésre ebben a témában, annak ellenére, hogy a megfelelő prediktív értékű laboratóriumi tesztek hasznosak lehetnének az ICH-t szenvedett betegek kezelésének perszonalizálásában. Tanulmányunk elsők között vizsgálta a trombin generáció mértékét relatíve nagy ICH-t szenvedett betegkohorszban, és mutatta ki, hogy a trombin generáció mértéke összefügg a hematóma kialakulásával, és ígéretes vizsgálat lehet az ICH kimenetelének előrejelzésére. Az ICH betegek felvételtkor TGT paraméterei (ETP és peak thrombin) az eseményt követő 90. napon becsült hematóma térfogatával jó korrelációt mutattak, mely a kimenetel meghatározó jelzője. Eredményeink azt mutatták, hogy az emelkedett peak thrombin érték a betegek kedvezőtlen hosszútávú funkcionális kimenetelével társul, és szignifikáns, független előrejelzője a rossz hosszú távú kimenetelnek. Bár jogosan felmerülhet, hogy ICH-t szenvedett betegek esetén a mért hiperkoagulabilitással ellentétben hipokoagulabilitást várnánk, ezek az eredmények összhangban vannak korábbi irodalmi adatokkal, melyek szerint az emelkedett D-dimer szint kedvezőtlen kimenetellel társul ICH betegekben, kiterjedtebb véralvadás-aktivációt és alvadék lebomlást jelezve (88, 89). Eredményeink alapján a TGT még hasznosabb lehet az ICH prognózisának megítélésében, mint a D-dimer, mivel az összes releváns változót (beleértve a D-dimert) is tartalmazó logisztikus regressziós analízis során csak a peak thrombin és az NIHSS maradt a modellben, mint a rossz kimenetel független prediktora. A TGT eredményei a vizsgált ICH kohorszban egyértelműen arra utalnak, hogy az agyvérzett betegekben a hemosztázis egyensúlya a hiperkoagulabilitás irányába tolódott. A betegek és az egészséges kontrollok trombin generációs eredményeinek

összehasonlításakor a peak thrombin szignifikánsan magasabbnak bizonyult a betegekben. Ez a különbség, egyes alapvető laboratóriumi paraméterek és a TGT egyes paramétereinek közötti kapcsolat vizsgálata alapján az ICH betegekben fellelhető fokozott gyulladásos állapot jelenlétével magyarázható. Mivel az általunk vizsgált kohorszban az ICH elsődleges okaként a magas vérnyomás feltételezhető, így elképzelhető, hogy a háttérben álló fokozott ateroszklerotikus folyamat által kiváltott gyulladás idéz elő hiperkoagulabilitást a betegekben. Bár a fibrinogén, mint akut fázis fehérje, összefüggést mutatott a TGT egyes paramétereivel, azonban szintje a betegekben a referencia tartományon belül volt, és nem mutatott szignifikáns különbséget a különböző kimenetelű betegcsoportok között. Érdekes módon a PI és az APTI szignifikáns negatív korrelációt mutattak a peak thrombin paraméterrel az ICH kohorszban, melynek alapján feltételezhetjük, hogy a rövidebb koagulációs időket okozó tényezők összefüggésben állhatnak a nagyobb mértékű trombin képződéssel, azaz a magasabb peak thrombin értékkel. Bár a szintén akut fázis fehérje, a FVIII aktivitás értékei szignifikánsan magasabbak voltak az ICH betegekben a kontrollokhoz képest, a FVIII szintek nem mutattak összefüggést a TGT egyes paramétereivel ebben a kohorszban. Eredményeink felvetik további vizsgálatok szükségességét azoknak a mechanizmusoknak a feltárására (különös tekintettel a gyulladásos folyamatokra vonatkozóan), amelyek hozzájárulhatnak az ICH betegekben általunk megfigyelt magasabb mértékű trombin generációhoz.

A MEGA tanulmány óta ismert irodalmi adat, hogy számos fekvőbeteg-ellátást igénylő betegség közül (pl. akut miokardiális infarktus, iszkémiás stroke, rheumatoid arthritis, szívelégtelenség, veseelégtelenség, stb.) a vérzéses stroke-ot szenvedett betegek VTE rizikója a legmagasabb, nemre és korra való illesztést követően is (90, 91). Prospektív obszervációs tanulmányok egyértelműen kimutatták, hogy egyes befolyásoló tényezőkre való korrigálást követően, a vérzéses stroke-ban szenvedő betegeknél szignifikánsan magasabb a kockázata a kórházi VTE előfordulásának, mint az iszkémiás stroke-ban szenvedő betegeknél (92). Az általunk vizsgált kohorszban a követés 3 hónapos időszaka alatt 4 VTE-t regisztráltunk, annak ellenére, hogy valamennyi olyan beteg esetén, akit klinikailag magas kockázatúnak gondoltak, antikoaguláns terápiát alkalmaztak. Mivel az ICH betegekben a fokozott VTE kockázatának pontos patofiziológiája még nem teljesen ismert, kutatási eredményeink további adatokkal szolgálhatnak a vérzéses stroke-ban előforduló hiperkoagulabilitás jobb megértéséhez. Bár a TGT ígéretesnek tűnik a betegekben fellépő hiperkoagulabilitás mértékének megítélésére, további vizsgálatok szükségesek annak megerősítésére, hogy a TGT segíthet-e az ICH betegekben a VTE kockázatának pontosabb megítélésében, valamint az antitrombotikus kezelés egyénre szabásában.

A TGT korábban számos kórkép esetén bizonyult ígéretesnek az eltolódott hemosztázis egyensúly identifikálására. Érdekes módon az általunk vizsgált kohorszban az intracerebrális hematóma evolúciója pozitív irányú összefüggést mutatott a trombin képződés mértékével. Ez az információ fontos lehet a jövőben, mivel a hematóma növekedését vagy a csökkenését kiváltó/előidéző tényezőkre vonatkozó ismereteink még gyerekcipőben járnak, ugyanakkor jelentőséggel bírhatnak a jövőben új típusú terápiás megközelítések tervezésekor.

Második prospektív obszervációs tanulmányunkban először mutattuk ki, hogy a trombin generáció fokozott a DSA-val rendelkező vesetranszplantált betegekben a DSA– betegekhez képest. Az ABMR máig az allograft vesztés leggyakoribb oka a vesetranszplantációt követően (68). Bár az ABMR hátterében álló pontos patomechanizmus még nem teljesen tisztázott, a DSA-k megjelenése irodalmi adatok alapján idővel graft károsodást okoz (93). Eredményeink alapján elképzelhető, hogy a hiperkoaguláció szerepet játszhat a graft funkció elvesztését okozó patológiás folyamatokban. Az irodalomban napjainkig még csak néhány közlemény jelent meg, amelyben vesetranszplantált betegekben speciális hemosztázis markereket vizsgáltak, és ismereteink alapján a trombin generáció mértékét még nem vizsgálták korábban ebben a speciális betegcsoportban (94-96).

Kiemelendő, hogy a DSA+ csoportban az ETP paraméter szignifikánsan emelkedett volt a DSA– csoporthoz képest mindkét vizsgált időpontban (beválogatáskor, ill. 6 hónappal később), ami tartósan fennálló hiperkoagulabilitásra utal a DSA-val rendelkező betegekben. Bár a humorális kilökődés fokozott kockázatát több tanulmány is alátámasztotta az anti-HLA-II. osztályú DSA-val rendelkező betegeknél, a pontos patomechanizmust még mindig nem ismerjük (97, 98). Az általunk vizsgált kohorszban az anti- HLA-II. osztály ellenes antitestek szintje mindkét mintavételi alkalommal szignifikáns pozitív korrelációt mutatott az ETP-vel, ami közvetlen összefüggésre utal az antitestek jelenléte és a pretrombotikus állapot mértéke között. Kérdéses azonban, hogy az ABMR patomechanizmusában potenciálisan szerepet játszik-e a DSA+ betegekben látott hiperkoagulabilis állapot. Vizsgálatunkban a fokozott trombin generáció és a graftkilökődés közötti lehetséges ok-okozati összefüggésre utalt, hogy a vesebiopsziában mikrovaskuláris elzáródások jeleit mutató betegeknél szignifikánsan magasabb ETP-t találtunk a mikrovaskuláris elváltozásokat nem mutató graft szövettannal rendelkező betegekhez képest. Bár a vizsgálatunkban a *de novo* DSA-val rendelkező betegek száma túl alacsony volt (n=3) ahhoz, hogy biztos következtetéseket lehessen levonni az antitestek trombin generációt fokozó hatásával kapcsolatban, azonban meg kell jegyezni, hogy az ETP enyhe emelkedést mutatott a DSA-k *de novo* megjelenését követően mindhárom beteg esetén, ami szintén közvetlen hatásra utalhat. Vizsgálatunk a hiperkoaguláció és a graft

működése közötti összefüggést is feltárt: a veseátültetés funkciójának alakulása (szérumkreatinin, eGFR a 6 hónapos követéskor) szignifikáns korrelációt mutatott az ETP-vel és a trombin csúcstértékével a DSA+ betegeknel, és ezek az összefüggések nem voltak jelen a DSA nélküli betegcsoportban. Megfigyeléseink megerősítése érdekében nagyobb betegcsoportokon végzett prospektív vizsgálatokra, ill. az ok-okozati összefüggések megerősítésére transzlációs modelleken végzett tanulmányokra van szükség a jövőben.

Vizsgálataink azt mutatták, hogy a tacrolimus szintek negatívan korreláltak a TGT egyes paramétereivel. Érdekes módon a tacrolimus szintek és az anti-HLA-II. osztályú DSA pozitivitás mértéke közötti közvetlen összefüggést nem figyeltünk meg, azonban akut fázis fehérjék (pl. FVIII/VWF, fibrinogén, komplement C4) szignifikáns negatív korrelációt mutattak a tacrolimus völgykoncentrációval a betegekben. Eredményeink arra utalnak, hogy a TGT jelentősen függhet a gyulladás és az immunszuppresszió mértékétől is, továbbá feltételezhető a gyulladás és a TGT közötti közvetett kapcsolat, ami alapján az immunszuppresszió mértéke összefügghet a hiperkoagulációhoz vezető patomechanizmussal a vesetranszplantált betegekben. A közelmúltban kimutatták, hogy a proinflammatorikus citokinek szintje jelentősen emelkedett a DSA-val rendelkező vesetranszplantált betegekben, és rosszabb graft túlélést okoz a szövettani elváltozások korai jelei nélkül is (99). Van Loon és munkatársai jelentős összefüggést mutattak ki a proinflammatorikus citokinek és a DSA-k jelenléte között, megfigyeléseik alapján a DSA-k immunaktivációt váltanak ki, ami nem mindig mutatható ki szövettani vizsgálattal (99). A szerzők leírták, hogy a citokinek szekréciója az endotél sejtekből, az NK sejtekből és a monocitákból is a DSA-k által közvetített. A DSA-k, az immunaktiváció és a hemosztázis rendszer aktiválódása egy érdekes kapcsolat az ABMR során, amely a betegek jövőbeni kezelését illetően hasznos potenciális lehetőségeket rejt magában.

Eredményeink szerint az alvadék lízis vizsgálat nem különbözött a két csoport között, ami arra utal, hogy a DSA+ betegekben csak a véralvadás egyensúlya borul fel, a fibrinolízis nem. Megfigyeléseink a hiperkoaguláció és a protrombotikus állapot egyensúlyának eddig ismeretlen szerepére utalnak az ABMR patomechanizmusában, ami további vizsgálatokra hívja fel a figyelmet. Ezen eredmények jelentősége kettős: egyrészt a TGT segíthet a vesebiopszia időzítésének és az immunszuppressziós kezelés esetleges módosításának meghatározásában, másrészt a hiperkoaguláció lehetséges szerepe a humorális kilökődés patomechanizmusában arra utalhat, hogy a profilaktikus antikoaguláció hasznos lehet a fokozott alvadásaktiváció esetében. Vizsgálatunk eredményei alapján a TGT hasznos lehet a DSA-val rendelkező betegekben kialakuló hiperkoaguláció azonosítására, ennek megerősítésére azonban több

prospektív vizsgálatra van szükség, ahol a megnövekedett TG, a hiperkoaguláció és a graft kilökődéséhez vezető okok közötti összefüggéseket vizsgálják.

Meg kell jegyezni, hogy a 6 hónapos követés során a TGT, valamint a VWF, a sEsel és sPsel szintekben sem volt lényeges változás a vizsgált alcsoportokban DSA-k jelenlétében vagy anélkül, ami azt jelzi, hogy az általunk megfigyelt változások a hemosztázis terén nem voltak átmeneti jellegűek a vesetranszplantált betegeknek.

Feltételeztük, hogy szignifikáns különbség van a DSA+ és DSA– betegek VWF antigén szintje között, azonban ez az összefüggés ebben a kohorszban nem igazolódott. A beválogatott egyének többségénél a VWF antigén szintje a referencia tartomány felső határ értéke fölött volt, ami nem függött a DSA-k jelenlététől. Korábban arról számoltak be, hogy a HLA ellenes DSA-k a VWF szekrécióját okozzák, ami vaszkuláris gyulladásához és mikrotrombózishoz vezethet, továbbá leírták azt is, a mi eredményeinkhez hasonlóan, hogy a tacrolimus kezelés a betegekben csökkentette VWF antigén szintet (100). Ezáltal a korábban publikált eredmények összhangban vannak a mi eredményeinkkel, amelyek arra utalnak, hogy a VWF antigén szinteket valószínűleg a gyulladás vagy az immunszuppresszió mértéke szabályozza ebben a betegcsoportban. Az általunk vizsgált kohorszban azonban a korábban leírtakkal ellentétben a DSA-val nem rendelkező betegekben is viszonylag magas arányban volt jelen emelkedett VWF antigén szint, mely jelenség magyarázata további kutatásokat igényel. Irodalmi adatok alapján az emelkedett VWF antigén szint a transzplantátum érkárosodásának hasznos markere (101, 102), de a szekretált VWF pontos forrását nem sikerült azonosítani. Érdekes, hogy az endotélkárosodást jelző sEsel nem volt emelkedett az általunk vizsgált kohorszban, de a sPsel, mint endotélkárosodás és vérlemezke aktivációs marker, a betegek többségénél emelkedett volt, függetlenül a DSA-k jelenlététől. Ez azzal magyarázható, hogy a megnövekedett VWF antigén szint nem csak közvetlenül az endotélkárosodás mértékét tükrözheti, hanem az sPsel-hez hasonlóan a vérlemezke aktivációt is. Az sPsel és a VWF antigén szintek között az első vérvételi eredmények alapján, illetve a FVIII és a VWF antigén szintek között ebben a kohorszban megfigyelt szignifikáns korreláció szintén arra utalhat, hogy az emelkedett VWF antigén szintek részben a vérlemezkékből származhatnak, és nem kizárólag az endotélkárosodásnak tulajdoníthatók (102, 103). Ugyanakkor a sPsel és a TGT paraméterek közötti korreláció hiánya arra utal, hogy a trombocita hiperreaktivitás nem függ össze a fokozott trombin generációval a vizsgált kohorszban, a DSA-k jelenlététől függetlenül. Okkal merülhet fel ezen túl, hogy a VWF antigén szint mérése hasznosabb lehet, mint más akut fázis fehérjék vagy gyulladásos markerek (pl. CRP) meghatározása vesetranszplantált betegekben, hiszen az emelkedett VWF antigén szint a már meglévő vaszkuláris betegségre is utalhat (104).

Annak ellenére, hogy a DSA-k meghatározó szerepet játszanak a graft kilökődésében, az ABMR folyamatának korai felismerése továbbra is kihívást jelent a klinikumban. Az akut kilökődés markereinek és terápiás célpontjainak keresése során a hemosztázis vizsgálata fontos lehet a mikrotrombózis, az iszkémia és a csökkent mikrokeringés kialakulásának megelőzése érdekében.

A mikrovaszkuláris obstrukció patomechanizmusa nemcsak a koagulációs rendszer, hanem a komplement rendszer aktiválódását is magában foglalhatja a DSA-kra adott válaszreakció részeként (105). Számos tanulmány vizsgálta a komplement aktiváló DSA-k szerepét a transzplantált szervek kimenetele szempontjából (106). A komplement rendszer szerepe az allograft károsodás patomechanizmusában ma már egyre inkább elismert (107). *In vitro* vizsgálatok alapján arra következtethetünk, hogy a koagulációs és komplement rendszer között számos kapcsolódási pont áll fenn (pl. többek között a trombin képes hasítani a C3 komplement faktort), ugyanakkor ezen folyamatok *in vivo* relevanciája még kevésbé ismert (108). Annak érdekében, hogy megvizsgáljuk a komplement rendszer és a véralvadás között potenciálisan fennálló trombo-inflammatorikus párbeszéd lehetőségét, meghatároztuk a C3 és C4 komplementek szintjét a kohorszban. Meglepetésünkre a C3 és C4 szintek, továbbá a C3 hipokomplementémia mértéke nem különbözött a DSA+ és DSA– betegekből, sem a betegek bevonásakor, sem a követés időpontjában. Érdekes módon azonban szignifikáns pozitív korreláció volt megfigyelhető a C3 és C4 szintek és egyes TGT paraméterek között, a DSA-k jelenlététől vagy hiányától függetlenül. Hasonlóan az egyéb akut fázis fehérjékhez, melyet a kohorszban vizsgáltunk, a C4 szintek szignifikáns negatív korrelációt mutattak a tacrolimus szintekkel. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a fent leírt hemosztázis eltérések, beleértve a fokozott trombin generációt ill. hiperkoagulációt, nem feltétlenül társulnak a C3 aktivációjával. Mivel napjainkban számos új hatásmechanizmusú terápiás lehetőség merül fel a graftrejekciók kivédése érdekében, beleértve a komplement rendszert érintő terápiás lehetőségeket, a jövőben érdemes lehet a kutatások fókuszába helyezni a trombo-inflammációs tengely egyes szereplőit, jobban megismerve a graft kilökődés hátterében álló egyes útvonalak (koaguláció aktiváció, komplement aktiváció) individuális szerepét meghatározott klinikai körülmények között (109).

Mindkét tanulmányunk eredménye értékelésekor kiemelendő, hogy a TGT klinikai gyakorlatban való alkalmazását jelenleg az korlátozza, hogy a teszt standardizálása még várat magára, mely lehetővé tenné a laboratóriumok közötti összehasonlítást, és egységes referencia tartományok kidolgozását. Fontos megjegyezni azonban, hogy számos olyan hemosztázis laboratóriumi teszt terjedt el a rutin diagnosztikai gyakorlatban világszerte, mely nem

standardizált és nincs egységes referencia tartománya (pl. APTI) (110). Az irodalomban jelenleg igen limitált azon közlemények száma, amik az általunk vizsgált kórképekben (ICH, vesetranszplantált betegek) vizsgálják a hemosztázis egyensúlyát speciális koagulációs tesztekkel. Vizsgálataink emiatt elsősorban hipotézisgeneráló vizsgálatok, melyek célja betekintést nyerni abba, hogy a TGT összefüggésben áll-e az ICH betegek kedvezőtlen kimenetelével, ill. vesetranszplantált betegek esetén a DSA-k jelenlétével. További hosszú távú követéses vizsgálatok szükségesek eredményeink ellenőrzésére és a vizsgálati körülmények optimalizálására, továbbá transzlációs kísérletek egyes ok-okozati összefüggések igazolására.

Limitációk

Mint minden klinikai vizsgálat esetén, mindkét tanulmányunk eredményeinek értékelésekor figyelembe kell venni a vizsgálatok limitációit. Az ICH betegeket vizsgáló tanulmányunk eredményeinek értelmezésekor limitáló tényező volt a vizsgálatba bevont egyének korlátozott száma. Megjegyzendő azonban, hogy az irodalomban elérhető, nem traumás, ICH-t szenvedett betegekről szóló kutatásokkal összevetve, amelyek a betegek felvételtkor mintáiban vizsgáltak speciális hemosztázis markereket, a mi tanulmányunk vont be eddig a legnagyobb számban betegeket. Az itt bemutatott eredmények természetesen további, nagyobb létszámú betegcsoport bevonásával végzett vizsgálatok révén várnak megerősítést. A vizsgálat monocentrikus volt, ami nyilvánvalóan hozzájárult a viszonylag alacsony esetszámhoz, azonban az egységes betegellátáshoz és mintakezeléshez is, és további előnye volt, hogy a relatíve szűk geográfiai régió miatt csak egy beteg morzsolódott le a 3 hónapos követés során. Mivel a TGT-nek jelenleg még nincsen gyártó által meghatározott referencia tartománya, a kutatásban egészséges kontroll egyének TGT paramétereit vizsgáltuk referenciaként. A beválogatás során betegek és a kontrollok életkora, ill. neme szignifikáns mértékben különbözött, ami részben korlátozta a beteg- és kontrollcsoport eredményei közötti közvetlen összehasonlítást. Megjegyzendő továbbá, hogy vizsgálatunknak nem volt célja, hogy felderítse, hogy a TGT vagy egyéb hemosztázis paraméterek segítséget nyújthatnak-e a VTE-kockázat értékelésében vagy az egyénre szabott antikoaguláns terápia alkalmazásában az ICH betegekben. A fenti feltételezések eldöntésére további, kifejezetten ezen kérdések megválaszolására tervezett klinikai vizsgálatok szükségesek.

A vesetranszplantált betegeket vizsgáló tanulmányunk limitációi közé tartozik, hogy szintén monocentrikus volt a betegek beválogatása, ami limitálta az esetszámokat, azonban ebben a betegcsoportban is előnyt jelentett az egységes mintakezelés és betegellátás. Sajnos a betegek beválogatását a vizsgálatba a COVID-19 második hulláma után le kellett állítani, mivel

lehetetlenné vált a COVID-19 szempontjából valamilyen formában nem érintett betegek (COVID-19 fertőzés/ COVID-19 utáni státusz vagy oltatlan egyén) bevonása, ami potenciálisan befolyásolhatta az alapvető hemosztázis paraméterek, ill. a TGT eredmények értékelését. Megfigyeléseink során a *de novo* DSA-t mutató betegek száma alacsony volt, ezért DSA-k megjelenésének direkt hatásával kapcsolatos következtetéseket nagyobb prospektív kohorszok vizsgálatával szükséges igazolni. Kutatásunk során az anti-HLA ellenes DSA-n kívül más autoantitestek (endotélsejt-ellenes antitestek, anti-MICA antitestek) hatását nem vizsgáltuk. A korlátozott esetszám akadályozta, hogy egyértelmű következtetéseket tudjunk levonni a hiperkoaguláció és a graft funkciójának változása, ill. az ABMR kialakulása közötti kapcsolatra vonatkozóan. A vizsgálatnak nem volt célja annak kiderítése, hogy a TGT vagy más hemosztázis vizsgálatok segítséget nyújthatnak-e a vesetranszplantált betegek személyre szabott kezelésében, vagy befolyásolhatják-e a graft kilökődéssel összefüggő szövettani elváltozásokat, ezen hipotézisek vizsgálatára a jövőben célzott vizsgálatok szükségesek.

Konklúzió

ICH-t szenvedett betegekben emelkedett mértékű trombin generációt mutattunk ki egészséges kontrollokhoz képest, mely feltételezhetően a betegekben látott magasabb mértékű gyulladásos paraméterekkel magyarázható. Eredményeink alapján az ICH-t szenvedett betegek felvételekor mért TGT peak thrombin paramétere hasznos lehet az intracerebrális vérzés kimenetelének előrejelzésében.

Vesetranszplantált betegekben szignifikánsan emelkedett mértékű trombin generációt mutattunk ki DSA+ betegekben a DSA– betegekhez képest. Az anti-HLA-II. osztályú DSA pozitivitás mértéke pozitív korrelációt mutatott a TGT ETP paraméterével a betegek bevélogatásakor és 6 hónappal később is, ami arra utalhat, hogy a hiperkoagulabilitás nem átmeneti a DSA+ betegekben. A tacrolimus szintek negatívan korreláltak a TGT egyes paramétereivel, valamint a VWF antigén és FVIII szintekkel. Eredményeink alapján felmerül, hogy a DSA-k jelenlétéhez társuló hiperkoagulabilitás mikrovaskuláris obstrukciók révén hozzájárulhat az ABMR patomechanizmusához, melynek igazolására további vizsgálatok szükségesek.

ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

- ICH-t szenvedett betegekben emelkedett mértékű trombin generációt mutattunk ki egészséges kontrollokhoz képest, mely feltételezhetően a betegekben látott magasabb mértékű gyulladásos paraméterekkel magyarázható. A TGT lag time, ETP és time to peak paraméterei szignifikáns pozitív korrelációt mutattak a CRP és fibrinogén szintekkel az ICH betegekben és az egészséges kontrollokban is.
- Az ICH hosszútávú funkcionális kimenetelének szempontjából a kedvezőtlen kimenetel (mRS 2-6) szignifikánsan magasabb D-dimer szinttel, nagyobb felvételtől NIHSS értékkel, nagyobb vérzésvolumennel (mindhárom vizsgálati időpontban) és magasabb ICH pontszámmal társult.
- A rossz hosszútávú kimenetelű ICH-t szenvedett betegeknél a peak thrombin paraméter szignifikánsan emelkedett volt a kedvező hosszútávú funkcionális kimenetelű (mRS 0-1) betegekhez képest.
- Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a statisztikailag optimális peak thrombin küszöbértéket (339,1 nM) használva az ICH kedvezőtlen kimenetele magas negatív prediktív értékkel zárható ki.
- Eredményeink alapján a felvételtől NIHSS és a küszöbérték feletti peak thrombin paraméter a kedvezőtlen funkcionális kimenetel független előrejelzői.
- Az ICH-t szenvedett betegekben a TGT időparaméterei gyenge szignifikáns negatív korrelációt mutattak a felvételtől intracerebrális vérzés térfogatával. A betegek követése során, a 90. napon a becsült vérzés mennyisége szignifikáns pozitív összefüggést mutatott az ETP és peak thrombin paraméterekkel.
- A vesetranszplantált DSA+ betegekben szignifikánsan emelkedett mértékű trombin generációt mutattunk ki a DSA– betegekhez képest a betegek bevonásakor. Ez az összefüggés 6 hónappal a beválogatás után is fennállt.
- Az anti-HLA-II. osztályú DSA pozitivitás mértéke pozitív korrelációt mutatott a TGT ETP paraméterével a betegek beválogatásakor és 6 hónappal később is, ami arra utalhat, hogy a hiperkoagulabilitás nem átmeneti a DSA+ betegekben.
- A tacrolimus szintek negatívan korreláltak a TGT egyes paramétereivel, valamint a VWF antigén, FVIII aktivitás és komplement C4 szintekkel a vesetranszplantált betegkohorszban.

- A DSA+ betegek vesebiopsziájából végzett szövettani minták vizsgálata során mikrovaszkuláris obstrukció igazolódott. Esetükben az ETP szignifikánsan magasabb volt azokhoz a betegekhez képest, akiknél nem állt fenn mikrovaszkuláris obstrukció szövettani jele. Eredményeink alapján felmerül, hogy a DSA-k jelenlétéhez társuló hiperkoagulabilitás mikrovaszkuláris obstrukciók révén hozzájárulhat az ABMR patomechanizmusához.
- A DSA+ betegeknek az első mintavételkor a TGT ETP paramétere a CRP és fibrinogén szintekkel mutatott szignifikáns pozitív korrelációt. Hat hónappal később a DSA+ betegekben mért peak thrombin paraméter a fibrinogén, a VWF antigén, valamint a FVIII aktivitás értékekkel mutatott szignifikáns pozitív korrelációt. A trombin generáció mértéke és ezen akut fázis fehérjék között látott összefüggések alapján az eredmények a gyulladás és a trombin generáció közötti kapcsolatra utalnak a DSA+ betegek csoportjában.

ÖSSZEFOGLALÁS

A trombin generációs teszt (TGT) hipo- és hiperkoagulabilitást is jelző, globális hemosztázis teszt, mely ígéretes lehet a jövőben különböző klinikai állapotokban a hemosztázis egyensúlyának megítélésére. Rutin diagnosztikai alkalmazásának egyelőre számos limitációja van, beleértve a standardizáció hiányát, valamint a teszt diagnosztikus, ill. prediktív értékére vonatkozó limitált adatokat egyes kórképekben. Célunk volt megvizsgálni, hogy a TGT hasznos vizsgálat lehet-e intracerebrális vérzést (ICH) szenvedett betegek rövid- illetve hosszútávú kimenetelének előrejelzésére. Vesetranszplantált betegek esetén feltételeztük, hogy az anti-HLA donor specifikus antitestek (DSA-k) jelenléte endotélkárosodást okoz, és az így kialakuló hiperkoagulabilitás detektálható TGT-vel, segítve az antitest mediált rejekció (ABMR) korai felismerését. Két prospektív, obszervációs tanulmányt végeztünk, 87 ICH beteg és 164 egészséges kontroll, ill. 27 DSA+ és 16 DSA– vesetranszplantált beteg bevonásával. A TGT-t beválogatáskor, ill. vesetranszplantált betegekben 6 hónap múlva is elvégeztük, meghatározva a lag time, peak thrombin, endogén trombin potenciál (ETP) ill. time to peak paramétereket. Az ICH betegek rövid- ill. hosszútávú kimeneteleit a 14. napon, ill. a 3. hónap végén határoztuk meg az NIHSS ill. a módosított Rankin skálák (mRS) segítségével. Vesetranszplantált betegekben 6 hónap elteltével ismételtük a graft állapotát tükröző, immunológiai és speciális hemosztázis teszteket (von Willebrand faktor: VWF, FVIII aktivitás, szolubilis E és P szelektin, alvadék lízis teszt, komplement C3, C4). A peak thrombin szignifikánsan magasabb volt ICH betegekben a kontrollokhoz képest, ill. kedvezőtlen kimenetel (mRS 2-6) esetén. A statisztikailag optimális küszöbérték (339,1 nM) mellett a peak thrombin szenzitivitása és specificitása az mRS 2-6 kimenet előrejelzésére 80,8 ill. 64,7%-nak adódott. Logisztikus regressziós modellben az NIHSS és a peak thrombin bizonyultak a kedvezőtlen kimenetel független előrejelzőjének. Vesetranszplantált DSA+ betegekben az ETP szignifikánsan magasabb volt a DSA– csoporthoz képest, mely 6 hónappal később is fennállt. A DSA szintek pozitívan korreláltak az ETP-vel, míg a tacrolimus szintek negatívan korreláltak az ETP ill. VWF/FVIII szintekkel. **Konklúzió:** ICH betegekben emelkedett trombin generációt mutattunk ki egészséges kontrollokhoz képest. Eredményeink alapján a betegek felvételekor mért TGT hasznos lehet az ICH kimenetelének előrejelzésében. DSA+ vesetranszplantált betegekben emelkedett mértékű trombin generációt mutattunk ki DSA– betegekhez képest. Eredményeink alapján felmerül, hogy a DSA-k jelenlétéhez társuló hiperkoagulabilitás mikrovaskuláris obstrukciók révén hozzájárulhat az ABMR patomechanizmusához, melynek igazolására további vizsgálatok szükségesek.

SUMMARY

The thrombin generation test (TGT) is a global haemostasis test indicative of both hypo- and hypercoagulability and may be a promising method for assessing haemostasis balance in various clinical conditions in the future. The diagnostic application of routine has several limitations, including lack of standardisation and limited data on the diagnostic or predictive value of the test in some pathologies. We aimed to investigate whether TGT can be a useful test for predicting outcomes in patients with intracerebral haemorrhage (ICH). We hypothesized that in kidney transplant recipients, the presence of anti-HLA donor specific antibodies (DSAs) causes endothelial damage and the resulting hypercoagulability can be detected by TGT, which may help in the early detection of the development of antibody-mediated rejection (ABMR). Two prospective observational studies were performed, including 87 patients with ICH and 164 healthy controls, and 27 DSA+ and 16 DSA– renal transplant patients. TGT determination was performed at the time of enrolment in all groups and 6 months later in renal transplant patients, determining lag time, peak thrombin, endogenous thrombin potential (ETP) and time to peak parameters. Short- and long-term outcomes of ICH patients were determined at day 14 and at the end of month 3, respectively, using the NIHSS and the modified Rankin scales. In renal transplant patients, graft evolution, immunological and specific haemostasis tests (von Willebrand factor: VWF antigen, FVIII activity, soluble E and P selectin, clot lysis assay, complement C3 and C4 levels) were repeated after 6 months. Results: Peak thrombin was significantly higher in patients with ICH compared to controls and in patients with unfavourable outcome (mRS 2-6). At the statistically optimal threshold (339.1 nM), the sensitivity and specificity of peak thrombin to predict mRS 2-6 outcome were 80.8 and 64.7%, respectively. In a logistic regression model, NIHSS and peak thrombin parameters were the only independent predictors of adverse outcomes. Estimated bleeding volume at day 90 showed a significant positive correlation with ETP and peak thrombin. ETP was significantly higher in transplanted DSA+ patients compared to the DSA– group, which persisted 6 months later. The degree of anti-HLA II DSA positivity showed a positive correlation with ETP, whereas tacrolimus levels were negatively correlated with ETP and VWF/FVIII levels. **Conclusions:** Elevated levels of thrombin generation were detected in patients with ICH compared to healthy controls. Our results suggest that the TGT test may be useful in predicting the outcome of ICH. In patients with anti-HLA class II DSAs, TGT was significantly increased as compared to DSA– kidney transplant recipients. Hypercoagulability, associated with the presence of DSAs, may potentially contribute to the pathomechanism of ABMR, warranting future prospective studies.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Mackman N, Tilley RE, Key NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(8):1687-93.
2. Dahlback B. Blood coagulation. *Lancet.* 2000;355(9215):1627-32.
3. Barrett KE, S.M. Barman, S. Boitano, and H.L. Brooks. *Ganong's Review of Medical Physiology.* 23rd ed. ed: The McGraw-Hill Companies; 2010.
4. Wolberg AS, Aleman MM, Leiderman K, Machlus KR. Procoagulant activity in hemostasis and thrombosis: Virchow's triad revisited. *Anesth Analg.* 2012;114(2):275-85.
5. Riddel JP, Jr., Aouizerat BE, Miaskowski C, Lillicrap DP. Theories of blood coagulation. *J Pediatr Oncol Nurs.* 2007;24(3):123-31.
6. Macfarlane RG. An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and Its Function as a Biochemical Amplifier. *Nature.* 1964;202:498-9.
7. Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall Sequence for Intrinsic Blood Clotting. *Science.* 1964;145(3638):1310-2.
8. Luchtman-Jones L, Broze GJ, Jr. The current status of coagulation. *Ann Med.* 1995;27(1):47-52.
9. Hoffman M, Monroe DM, 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 2001;85(6):958-65.
10. Lillicrap D. Extending half-life in coagulation factors: where do we stand? *Thromb Res.* 2008;122 Suppl 4:S2-8.
11. Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR. Transmission of a procoagulant signal from tissue factor-bearing cell to platelets. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1996;7(4):459-64.
12. Monroe DM, Hoffman M. What does it take to make the perfect clot? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(1):41-8.
13. Wiman B, Hamsten A. The fibrinolytic enzyme system and its role in the etiology of thromboembolic disease. *Semin Thromb Hemost.* 1990;16(3):207-16.
14. Crawley JT, Zanardelli S, Chion CK, Lane DA. The central role of thrombin in hemostasis. *J Thromb Haemost.* 2007;5 Suppl 1:95-101.
15. Hemker HC, Giesen P, AlDieri R, Regnault V, de Smed E, Wagenvoort R, et al. The calibrated automated thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2002;32(5-6):249-53.
16. Macfarlane RG, Biggs R. A thrombin generation test; the application in haemophilia and thrombocytopenia. *J Clin Pathol.* 1953;6(1):3-8.
17. Hemker HC, Willems GM, Beguin S. A computer assisted method to obtain the prothrombin activation velocity in whole plasma independent of thrombin decay processes. *Thromb Haemost.* 1986;56(1):9-17.
18. Hemker HC, Wienders S, Kessels H, Beguin S. Continuous registration of thrombin generation in plasma, its use for the determination of the thrombin potential. *Thromb Haemost.* 1993;70(4):617-24.
19. Hemker HC, Giesen P, Al Dieri R, Regnault V, de Smedt E, Wagenvoort R, et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2003;33(1):4-15.
20. Spronk HM, Dielis AW, De Smedt E, van Oerle R, Fens D, Prins MH, et al. Assessment of thrombin generation II: Validation of the Calibrated Automated Thrombogram in platelet-poor plasma in a clinical laboratory. *Thromb Haemost.* 2008;100(2):362-4.
21. Baglin T. The measurement and application of thrombin generation. *Br J Haematol.* 2005;130(5):653-61.
22. Tanaka KA, Key NS, Levy JH. Blood coagulation: hemostasis and thrombin regulation. *Anesth Analg.* 2009;108(5):1433-46.

23. Castoldi E, Rosing J. Thrombin generation tests. *Thromb Res.* 2011;127 Suppl 3:S21-5.
24. Al Dieri R, de Laat B, Hemker HC. Thrombin generation: what have we learned? *Blood Rev.* 2012;26(5):197-203.
25. Hemker HC, Giesen PL, Ramjee M, Wagenvoort R, Beguin S. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma. *Thromb Haemost.* 2000;83(4):589-91.
26. Ninivaggi M, Apitz-Castro R, Dargaud Y, de Laat B, Hemker HC, Lindhout T. Whole-blood thrombin generation monitored with a calibrated automated thrombogram-based assay. *Clin Chem.* 2012;58(8):1252-9.
27. Tripodi A. Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory. *Clin Chem.* 2016;62(5):699-707.
28. Kern A, Varnai K, Vasarhelyi B. [Thrombin generation assays and their clinical application]. *Orv Hetil.* 2014;155(22):851-7.
29. Dargaud Y, Luddington R, Gray E, Lecompte T, Siegemund T, Baglin T, et al. Standardisation of thrombin generation test--which reference plasma for TGT? An international multicentre study. *Thromb Res.* 2010;125(4):353-6.
30. Arzneimitteln THvDu. Ceveron Thrombin generation - Fully automated- as easy as a routine assay. In: Arzneimitteln THvDu, editor.
31. Thrombinoscope. Method and Products. In: Stago D, editor.
32. Tripodi A, Branchi A, Chantarangkul V, Clerici M, Merati G, Artoni A, et al. Hypercoagulability in patients with type 2 diabetes mellitus detected by a thrombin generation assay. *J Thromb Thrombolysis.* 2011;31(2):165-72.
33. Besser M, Baglin C, Luddington R, van Hylckama Vlieg A, Baglin T. High rate of unprovoked recurrent venous thrombosis is associated with high thrombin-generating potential in a prospective cohort study. *J Thromb Haemost.* 2008;6(10):1720-5.
34. Beltran-Miranda CP, Khan A, Jaloma-Cruz AR, Laffan MA. Thrombin generation and phenotypic correlation in haemophilia A. *Haemophilia.* 2005;11(4):326-34.
35. Varadi K, Turecek PL, Schwarz HP. Thrombin generation assay and other universal tests for monitoring haemophilia therapy. *Haemophilia.* 2004;10 Suppl 2:17-21.
36. Aho K, Harmsen P, Hatano S, Marquardsen J, Smirnov VE, Strasser T. Cerebrovascular disease in the community: results of a WHO collaborative study. *Bull World Health Organ.* 1980;58(1):113-30.
37. Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Hennerici MG. Classification of stroke subtypes. *Cerebrovasc Dis.* 2009;27(5):493-501.
38. Hartley A, Marshall DC, Saliccioli JD, Sikkil MB, Maruthappu M, Shalhoub J. Trends in Mortality From Ischemic Heart Disease and Cerebrovascular Disease in Europe: 1980 to 2009. *Circulation.* 2016;133(20):1916-26.
39. Szocs I, Bereczki D, Belicza E. [Results of stroke care in Hungary in the frame of international comparison]. *Orv Hetil.* 2016;157(41):1635-41.
40. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Barker-Collo SL, Parag V. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review. *Lancet Neurol.* 2009;8(4):355-69.
41. Feigin VL. Stroke in developing countries: can the epidemic be stopped and outcomes improved? *Lancet Neurol.* 2007;6(2):94-7.
42. Elliott J, Smith M. The acute management of intracerebral hemorrhage: a clinical review. *Anesth Analg.* 2010;110(5):1419-27.
43. McGurgan IJ, Ziai WC, Werring DJ, Al-Shahi Salman R, Parry-Jones AR. Acute intracerebral haemorrhage: diagnosis and management. *Pract Neurol.* 2020;21(2):128-36.
44. Hankey GJ. Stroke. *Lancet.* 2017;389(10069):641-54.
45. Csiba L. Fejezetek a neurológiából. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó; 2016.

46. Balami JS, Buchan AM. Complications of intracerebral haemorrhage. *Lancet Neurol.* 2012;11(1):101-18.
47. Flower O, Smith M. The acute management of intracerebral hemorrhage. *Curr Opin Crit Care.* 2011;17(2):106-14.
48. Rajashekar D, Liang JW. Intracerebral Hemorrhage. *StatPearls.* Treasure Island (FL)2024.
49. Berge E, Whiteley W, Audebert H, De Marchis GM, Fonseca AC, Padiglioni C, et al. European Stroke Organisation (ESO) guidelines on intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Eur Stroke J.* 2021;6(1):I-LXII.
50. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, et al. 2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2018;49(3):e46-e110.
51. Hemphill JC, 3rd, Bonovich DC, Besmertis L, Manley GT, Johnston SC. The ICH score: a simple, reliable grading scale for intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 2001;32(4):891-7.
52. Kasner SE. Clinical interpretation and use of stroke scales. *Lancet Neurol.* 2006;5(7):603-12.
53. Lyden P. Using the National Institutes of Health Stroke Scale: A Cautionary Tale. *Stroke.* 2017;48(2):513-9.
54. van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke.* 1988;19(5):604-7.
55. Banks JL, Marotta CA. Outcomes validity and reliability of the modified Rankin scale: implications for stroke clinical trials: a literature review and synthesis. *Stroke.* 2007;38(3):1091-6.
56. Greenberg SM, Ziai WC, Cordonnier C, Dowlatshahi D, Francis B, Goldstein JN, et al. 2022 Guideline for the Management of Patients With Spontaneous Intracerebral Hemorrhage: A Guideline From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2022;53(7):e282-e361.
57. Nagy J. Krónikus vesebetegségek "epidémiája". *Orvosi Hetilap.* 2013(154):43-51.
58. Zsolt T. A belgyógyászat alapjai2011.
59. National Kidney F. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002;39(2 Suppl 1):S1-266.
60. Eckardt KU, Berns JS, Rocco MV, Kasiske BL. Definition and classification of CKD: the debate should be about patient prognosis--a position statement from KDOQI and KDIGO. *Am J Kidney Dis.* 2009;53(6):915-20.
61. Lamb EJ, MacKenzie F, Stevens PE. How should proteinuria be detected and measured? *Ann Clin Biochem.* 2009;46(Pt 3):205-17.
62. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet.* 2013;382(9888):260-72.
63. Kramer A, Boenink R, Stel VS, Santiuste de Pablos C, Tomovic F, Golan E, et al. The ERA-EDTA Registry Annual Report 2018: a summary. *Clin Kidney J.* 2021;14(1):107-23.
64. Augustine J. Kidney transplant: New opportunities and challenges. *Cleve Clin J Med.* 2018;85(2):138-44.
65. <https://www.ovsz.hu/szervdonacio>
66. van den Berg-Loonen EM, Billen EV, Voorter CE, van Heurn LW, Claas FH, van Hooff JP, et al. Clinical relevance of pretransplant donor-directed antibodies detected by single antigen beads in highly sensitized renal transplant patients. *Transplantation.* 2008;85(8):1086-90.
67. Kramer CSM, Roelen DL, Heidt S, Claas FHJ. Defining the immunogenicity and antigenicity of HLA epitopes is crucial for optimal epitope matching in clinical renal transplantation. *HLA.* 2017;90(1):5-16.

68. Allison SJ. Transplantation: The molecular landscape of ABMR. *Nat Rev Nephrol.* 2015;11(5):255.
69. Zhang R. Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018;13(1):182-92.
70. Clotet-Freixas S, McEvoy CM, Batruch I, Pastrello C, Kotlyar M, Van JAD, et al. Extracellular Matrix Injury of Kidney Allografts in Antibody-Mediated Rejection: A Proteomics Study. *J Am Soc Nephrol.* 2020;31(11):2705-24.
71. Mohan S, Palanisamy A, Tsapepas D, Tanriover B, Crew RJ, Dube G, et al. Donor-specific antibodies adversely affect kidney allograft outcomes. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(12):2061-71.
72. Oweira H, Ramouz A, Ghamarnejad O, Khajeh E, Ali-Hasan-Al-Saegh S, Nikbakhsh R, et al. Risk Factors of Rejection in Renal Transplant Recipients: A Narrative Review. *J Clin Med.* 2022;11(5).
73. Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med.* 2010;363(15):1451-62.
74. Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, Roufosse C, Glotz D, Seron D, et al. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: Revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. *Am J Transplant.* 2018;18(2):293-307.
75. Lachmann N, Todorova K, Schulze H, Schonemann C. Luminex((R)) and its applications for solid organ transplantation, hematopoietic stem cell transplantation, and transfusion. *Transfus Med Hemother.* 2013;40(3):182-9.
76. Gombos P, Opelz G, Scherer S, Morath C, Zeier M, Schemmer P, et al. Influence of test technique on sensitization status of patients on the kidney transplant waiting list. *Am J Transplant.* 2013;13(8):2075-82.
77. Loupy A, Haas M, Solez K, Racusen L, Glotz D, Seron D, et al. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. *Am J Transplant.* 2017;17(1):28-41.
78. Cornell LD. Histopathologic Features of Antibody Mediated Rejection: The Banff Classification and Beyond. *Front Immunol.* 2021;12:718122.
79. Jain S, Iverson LM. Glasgow Coma Scale. *StatPearls.* Treasure Island (FL)2024.
80. Brott T, Adams HP, Jr., Olinger CP, Marler JR, Barsan WG, Biller J, et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke.* 1989;20(7):864-70.
81. Talens S, Malfliet JJ, Rudez G, Spronk HM, Janssen NA, Meijer P, et al. Biological variation in tPA-induced plasma clot lysis time. *Thromb Haemost.* 2012;108(4):640-6.
82. Pieters M, Philippou H, Undas A, de Lange Z, Rijken DC, Mutch NJ, et al. An international study on the feasibility of a standardized combined plasma clot turbidity and lysis assay: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2018;16(5):1007-12.
83. Donkel SJ, Benaddi B, Dippel DWJ, Ten Cate H, de Maat MPM. Prognostic Hemostasis Biomarkers in Acute Ischemic Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019;39(3):360-72.
84. Gitto S, Romanelli RG, Cellai AP, Lami D, Vizzutti F, Abbate R, et al. Altered clot formation and lysis are associated with increased fibrinolytic activity in ascites in patients with advanced cirrhosis. *Intern Emerg Med.* 2021;16(2):339-47.
85. Lisman T, de Groot PG, Meijers JC, Rosendaal FR. Reduced plasma fibrinolytic potential is a risk factor for venous thrombosis. *Blood.* 2005;105(3):1102-5.
86. Nemes B, Barta A, Ivadi G, Karai B, Szantho E, Hevessy Z, et al. T Cell Subset Profile and Appearance of Donor-specific Antibodies in Primary and Retransplanted Kidney Recipients. *Transplant Proc.* 2019;51(4):1215-25.

87. Roufosse C, Simmonds N, Clahsen-van Groningen M, Haas M, Henriksen KJ, Horsfield C, et al. A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology. *Transplantation*. 2018;102(11):1795-814.
88. Hu X, Fang Y, Ye F, Lin S, Li H, You C, et al. Effects of plasma D-dimer levels on early mortality and long-term functional outcome after spontaneous intracerebral hemorrhage. *J Clin Neurosci*. 2014;21(8):1364-7.
89. Delgado P, Alvarez-Sabin J, Abilleira S, Santamarina E, Purroy F, Arenillas JF, et al. Plasma d-dimer predicts poor outcome after acute intracerebral hemorrhage. *Neurology*. 2006;67(1):94-8.
90. van Veen JJ, Gatt A, Makris M. Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet? *Br J Haematol*. 2008;142(6):889-903.
91. Ocak G, Vossen CY, Verduijn M, Dekker FW, Rosendaal FR, Cannegieter SC, et al. Risk of venous thrombosis in patients with major illnesses: results from the MEGA study. *J Thromb Haemost*. 2013;11(1):116-23.
92. Pinho J, Costa AS, Araujo JM, Amorim JM, Ferreira C. Intracerebral hemorrhage outcome: A comprehensive update. *J Neurol Sci*. 2019;398:54-66.
93. Djamali A, Kaufman DB, Ellis TM, Zhong W, Matas A, Samaniego M. Diagnosis and management of antibody-mediated rejection: current status and novel approaches. *Am J Transplant*. 2014;14(2):255-71.
94. Levitsky J, Freifeld A, Lyden E, Stoner J, Florescu D, Langnas A, et al. Evaluation of the coagulation and inflammatory responses in solid organ transplant recipients and donors. *Clin Transplant*. 2009;23(6):943-50.
95. Malyszko J, Malyszko JS, Hryszko T, Mysliwiec M. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor in hypertensive kidney transplant recipients. *Transplant Proc*. 2006;38(1):105-7.
96. Stallone G, Pontrelli P, Rascio F, Castellano G, Gesualdo L, Grandaliano G. Coagulation and Fibrinolysis in Kidney Graft Rejection. *Front Immunol*. 2020;11:1807.
97. Pollinger HS, Stegall MD, Gloor JM, Moore SB, Degoe SR, Ploeger NA, et al. Kidney transplantation in patients with antibodies against donor HLA class II. *Am J Transplant*. 2007;7(4):857-63.
98. Freitas MC, Rebellato LM, Ozawa M, Nguyen A, Sasaki N, Everly M, et al. The role of immunoglobulin-G subclasses and C1q in de novo HLA-DQ donor-specific antibody kidney transplantation outcomes. *Transplantation*. 2013;95(9):1113-9.
99. Van Loon E, Lamarthee B, Barba T, Claes S, Coemans M, de Loo H, et al. Circulating Donor-Specific Anti-HLA Antibodies Associate With Immune Activation Independent of Kidney Transplant Histopathological Findings. *Front Immunol*. 2022;13:818569.
100. Beland S, Desy O, Ung RV, Vallin P, Latulippe E, Riopel J, et al. Tacrolimus prevents von Willebrand factor secretion by allostimulated human glomerular endothelium. *Am J Transplant*. 2018;18(9):2314-21.
101. Rios DR, Mota AP, Carvalho MG, Fernandes AP, Gomes KB, Dusse LM, et al. ADAMTS13 and von Willebrand factor assessment before and after kidney transplantation. *Clin Chim Acta*. 2011;412(23-24):2353-4.
102. Zietek Z. Endothelial Markers: Thrombomodulin and Von Willebrand Factor and Risk of Kidney Thrombosis After Transplantation. *Transplant Proc*. 2021;53(5):1562-9.
103. Kanaji S, Fahs SA, Shi Q, Haberichter SL, Montgomery RR. Contribution of platelet vs. endothelial VWF to platelet adhesion and hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2012;10(8):1646-52.
104. Lip GY, Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? *Cardiovasc Res*. 1997;34(2):255-65.

105. Manook M, Kwun J, Sacks S, Dorling A, Mamode N, Knechtle S. Innate networking: Thrombotic microangiopathy, the activation of coagulation and complement in the sensitized kidney transplant recipient. *Transplant Rev (Orlando)*. 2018;32(3):119-26.
106. Al-Awadhi S, Raynaud M, Louis K, Bouquegneau A, Taupin JL, Aubert O, et al. Complement-activating donor-specific anti-HLA antibodies in solid organ transplantation: systematic review, meta-analysis, and critical appraisal. *Front Immunol*. 2023;14:1265796.
107. Golshayan D, Schwotzer N, Fakhouri F, Zuber J. Targeting the Complement Pathway in Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2023;34(11):1776-92.
108. Heurich M, McCluskey G. Complement and coagulation crosstalk - Factor H in the spotlight. *Immunobiology*. 2023;228(6):152707.
109. Gibson B, Connelly C, Moldakhmetova S, Sheerin NS. Complement activation and kidney transplantation; a complex relationship. *Immunobiology*. 2023;228(4):152396.
110. Binder NB, Depasse F, Mueller J, Wissel T, Schwerts S, Germer M, et al. Clinical use of thrombin generation assays. *J Thromb Haemost*. 2021;19(12):2918-29.

TÁRGYSZAVAK

Trombin generációs teszt

Nem traumás vérzéses stroke

Kimenetel

Mortalitás

Hiperkoagulabilitás

Antitest mediált rejekció

Donor specifikus antitestek

Endotélkárosodás

KEYWORDS

Thrombin generation test

Non traumatic intracerebral hemorrhage

Outcomes

Mortality

Hypercoagulability

Antibody mediated rejection

Donor specific antibodies

Endothelial damage

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Bagoly Zsuzsának a PhD tanulmányaim során nyújtott rengeteg támogatásért és a belém vetett hitért, hogy TDK hallgató korom óta értékes szakmai tanácsokkal látott el, és végig biztatott a munkám során. Köszönöm, hogy az utolsó hajrában is végig mellettem állt.

Köszönetet mondok Dr. Bereczky Zsuzsannának, a DE ÁOK LMI Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék vezetőjének, valamint Prof. Muszbek Lászlónak, hogy az intézetben lehetőséget biztosítottak a kutatómunka elvégzéséhez.

Köszönet továbbá Prof. Csiba Lászlónak, hogy biztosította a kutatásainkhoz szükséges vérmintákat és a betegek klinikai eredményeit, valamint Neurológia Klinika valamennyi dolgozójának, akik valamilyen formában segítséget nyújtottak a kutatásainkban.

Köszönetet mondok Dr. P. Szabó Rékának és Dr. Nemes Balázsnak, hogy a vizsgálatainkhoz a betegek klinikai adatait és a vérmintákat rendelkezésünkre bocsátották, illetve, hogy szakmai tanácsokkal láttak el a kollaborációs munka során.

Köszönettel tartozom valamennyi társszerzőnek, akik szakmai és gyakorlati tudásukkal segítettek a dolgozat alapjául szolgáló közlemények elkészítését.

Köszönet illeti Prof. Kappelmayer Jánost, a Laboratóriumi Medicina Intézet korábbi vezetőjét, hogy a méréseinkhez használt műszereket rendelkezésünkre bocsátotta. Ezenkívül köszönöm a DE ÁOK Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék és a Laboratóriumi Medicina Intézet valamennyi dolgozójának, akik hasznos szakmai tanácsokkal láttak el a kutatómunkám elvégzése során.

Hálával tartozom a Családomnak, akik minden lehetséges módon támogattak a tanulmányaim során, és mindent megtettek azért, hogy ez a dolgozat megszülethessen.

A tanulmányok megvalósulását és a megjelent publikációk létrejöttét az alábbi pályázati támogatások tették lehetővé: OTKA K120042, FK128582, GINOP-2.3.2-15-2016-00043, HUN-REN-DE Cerebrovaszkuláris Kutatócsoport, ÚNKP-19-3-DE-I-108, ÚNKP-23-4-I-DE-239, MTA-DE Lendület Hemosztázis és Stroke munkacsoport.



Nyilvántartási szám: DEENK/44/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Lóczi Linda

Doktori Iskola: Laki Kálmán Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Lóczi, L.**, P. Szabó, R., Orbán-Kálmándi, R. A., Hodossy-Takács, R., Szilvási, A., Szalai, Z., Nagy, G., Antal-Szalmás, P., Nemes, B. Á., Bagoly, Z.: Increased thrombin generation in kidney transplant recipients with donor-specific antibodies directed against human leukocyte antigens.
Front. Immunol. 15, 1-14, 2024.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1407407>
IF: 5.9
2. **Lóczi, L.**, Orbán-Kálmándi, R. A., Árokszállási, T., Fekete, I., Fekete, K., Héja, M., Tóth, J., Csiba, L., Bagoly, Z.: Thrombin generation as a predictor of outcomes in patients with non-traumatic intracerebral hemorrhage.
Front. Neurol. 13, 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2022.912664>
IF: 3.4

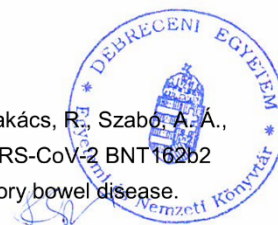
További közlemények

3. Szegedi, I., Bomberák, D., Éles, Z., **Lóczi, L.**, Bagoly, Z.: Cardiovascular disease and microbiome: focus on ischemic stroke.
Pol. Arch. Intern. Med. 135 (7-8), 1-10, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.20452/pamw.17088>
IF: 4.7 (2024)
4. Bagoly, Z., Tóth, E. L., Orbán-Kálmándi, R. A., **Lóczi, L.**, Deli, T., Török, O., Kozma, B., Baráth, S., Singh, P., Hevessy, Z., Tóth, J., Katona, É., Molnár, S., Krasznai, Z. T.: Complex evaluation of coagulation, fibrinolysis, and inflammatory cytokines in SARS-CoV-2 infected pregnant women: a prospective, case-control study.
Front. Immunol. 16, 1-18, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2025.1556878>
IF: 5.9 (2024)





5. Bagoly, Z., Jouppila, A., Orbán-Kálmándi, R. A., **Lóczy, L.**, Bomberák, D., Kádár, Z. A., Deák, Á., Mátrai, Á. A., Bekéné Debreceni, I., Kappelmayer, J., Németh, N., Lassila, R.: Escalating doses of intravenous APAC demonstrate anticoagulant effect in pigs.
Thromb J. 23 (1), 1-12, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12959-025-00742-8>
IF: 2.2 (2024)
6. Tóth, E. L., Orbán-Kálmándi, R. A., Bagoly, Z., **Lóczy, L.**, Deli, T., Török, O., Deliné Molnár, S., Baráth, S., Singh, P., Hevessy, Z., Katona, É., Fagyas, M., Szabó, A. Á., Molnár, S., Krasznai, Z. T.: Case report: Complex evaluation of coagulation, fibrinolysis and inflammatory cytokines in a SARS-CoV-2 infected pregnant woman with fetal loss.
Front. Immunol. 15, 1-10, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2024.1329236>
IF: 5.9
7. Hudák, L., Kovács, K. B., Bagoly, Z., Szegedi, I., Bencs, V., **Lóczy, L.**, Orbán-Kálmándi, R. A., Péter-Pakó, H., Fülesdi, Z., Busi, B., Nagy, A. C., Perjési-Kiss, B., Oláh, L., Csiba, L.: Clinicopathological Observations in Acute Stroke Patients Treated with Intravenous Thrombolysis.
J. Clin. Med. 13 (19), 1-11, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm13196012>
IF: 2.9
8. Mátrai, Á. A., Varga, Á., Baráth, B., Ványolos, E., Orbán-Kálmándi, R. A., **Lóczy, L.**, Bagoly, Z., Jouppila, A., Lassila, R., Németh, N., Deák, Á.: Heparin-like effect of a dual antiplatelet and anticoagulant (APAC) agent on red blood cell deformability and aggregation in an experimental model.
J Thromb Thrombolysis. 57 (8), 1329-1338, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11239-024-03040-8>
IF: 2.2
9. Ghansah, H., Orbán-Kálmándi, R. A., Bekéné Debreceni, I., Katona, É., Rejtő, L., Váróczy, L., **Lóczy, L.**, Laat, B. d., Huskens, D., Kappelmayer, J., Bagoly, Z.: Low factor XIII levels and altered fibrinolysis in patients with multiple myeloma.
Thromb. Res. 234, 12-20, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2023.12.004>
IF: 3.4
10. Stercel, V., **Lóczy, L.**, Kadenczki, O., Nemes, É., Nagy, B. J., Hodossy-Takács, R., Szabó, A. Á., Fagyas, M., Kappelmayer, J., Szabó, T., Bagoly, Z.: Effect of anti-SARS-CoV-2 BNT162b2 mRNA vaccination on thrombin generation in children with inflammatory bowel disease.
Front. Immunol. 14, 1-12, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1257072>
IF: 5.7





11. Ghansah, H., Bekéné Debreceni, I., Váróczy, L., Rejtő, L., **Lóczy, L.**, Bagoly, Z., Kappelmayer, J.:
Patients with multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance
have variably increased thrombin generation and different sensitivity to the anticoagulant
effect of activated protein C.
Thromb. Res. 223, 44-52, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2023.01.010>
IF: 3.7
12. Székely, E. G., Orbán-Kálmándi, R. A., Szegedi, I., Katona, É., Baráth, B., Czuriga-Kovács, K. R.,
Lóczy, L., Molnárné Vasas, N., Fekete, I., Fekete, K., Berényi, E., Oláh, L., Csiba, L., Bagoly,
Z.: Low [alfa]2-Plasmin Inhibitor Antigen Levels on Admission Are Associated With More
Severe Stroke and Unfavorable Outcomes in Acute Ischemic Stroke Patients Treated With
Intravenous Thrombolysis.
Front. Cardiovasc. Med. 9, 1-14, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fcvm.2022.901286>
IF: 3.6
13. **Lóczy, L.**, Kappelmayer, J., Tarr, T., Bagoly, Z.: Antiphospholipid syndrome and the risk of
myocardial infarction: current evidence and uncertainties.
Kardiol. Pol. 78 (1), 6-14, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.33963/KP.15090>
IF: 3.108

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 52,608

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
9,3**

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a
tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2026.02.04.

