

Doktori (PhD) értekezés tézisei

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

Lóczy Linda

Témavezető: Dr. Bagoly Zsuzsa



DEBRECENI EGYETEM
Laki Kálmán Doktori Iskola
Debrecen
2026

A TROMBIN GENERÁCIÓ PROGNOZTIKAI ÉRTÉKE KÜLÖNBÖZŐ KLINIKAI KÓRKÉPEKBEN

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: **Lóczy Linda**, okleveles klinikai laboratóriumi kutató

Készült a Debreceni Egyetem Laki Kálmán Doktori Iskolája
(Trombózis, hemosztázis és vaszkuláris biológia programja) keretében

Témavezető: **Dr. Bagoly Zsuzsa**, MTA doktora

Az értekezés bírálói: Dr. Brúgós Boglárka, PhD

Dr. Földesi Imre, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Balla József, akadémikus

tagok: Dr. Hudák Renáta, PhD

Dr. Réger Barbara, PhD

Az értekezés védésének helyszíne, időpontja: Debreceni Egyetem, ÁOK, Belgyógyászati Intézet
„A” épület tanterme, 2026. június 8. 13:00 óra

BEVEZETÉS

Mind a vérzési hajlam, mind a trombózis rizikó kimutatása kulcsfontosságú a klinikusoknak 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 trombózhajlam, 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 előnyeikhez 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 patomechanizmusához.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A hemosztázis rendszer

A hemosztázis az érrendszeri sérülésekre adott rendkívül kifinomult fiziológiás védekező mechanizmus. 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. 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. A koaguláció kaszkádszerű aktiválódási rendszerét először 1964-ben MacFarlane és munkatársai, valamint Davie és Ratnoff írták le. A vízésésre emlékeztető aktiválódási folyamatot *in vitro* körülmények között két szakaszra tagolták: intrinsic és extrinsic útvonalakra, mely a közös útvonalban folytatódott.

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; 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. E modell alapján a koagulációs kaszkád három fázisra tagolható, melyek az iniciációs, amplifikációs és propagációs szakaszok.

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

A véralvadás kezdetén a von Willebrand faktor (VWF) szubendotheliális mátrix fehérjékhez kötődik, így segíti elő a trombociták gyors adhézióját. A keringésben a VWF a VIII-as faktorrall (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 endotélsejtek szubcelluláris organelumaiban, a Weibel-Palade testekben tárolódik, és különböző aktivációs stimulusok hatására felszabadul. A VWF emelkedett szintje az endotélkárosodás érzékeny markere, egyéb biomarkerek mellett (pl. szolubilis P szelektin: sPsel, szolubilis E szelektin: sEsel, szolubilis VCAM-1, endotélsejt eredetű mikropartikula vizsgálat, stb). Fontos megjegyezni, hogy a VWF és a FVIII is 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 hatékony aktivátor, 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.

A trombin generációs teszt történelmi háttere és elve

A trombin a véralvadás kulcsenzime, képződése a koaguláció legfontosabb lépése. 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.

Az első trombin generációs módszert Macfarlane és Biggs fejlesztette ki, majd publikálta 1953-ban. 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. Ezután munkacsoportjával kifejlesztette a CAT (Calibrated Automated Thrombogram) assay-t, ami lehetővé tette a plazmamintában lévő trombin aktivitásának folyamatos monitorozását egy kalibrációs méréssel párhuzamosan. A TGT napjainkban használt formáját 2008-ban véglegesítették, ekkor leírták helyes laboratóriumi alkalmazását, az egyes paraméterek meghatározását, illetve validálását.

A koaguláció klasszikus szűrőtesztjei, a PI, az APTI, valamint a TI világszerte a leggyakoribb vizsgálatok a koagulációs rendellenességek kimutatására. Ezek a tesztek azonban nem tükrözik a véralvadás teljes élettani folyamatát. 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. A TGT viszont a véralvási kaskádról sokkal többet mutat, magába foglalva az alvadás természetes inhibitorának (antitrombin) és inaktivátorainak (protein C, kofaktorként protein S) hatását is. 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.

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.

A teszt főbb paraméterei a következők: a lag time (perc), mely a teszt kezdetétől a trombin generáció kezdetéig eltelt időt jelenti; az ETP (nM*perc) endogén trombin potenciál vagy görbe alatti terület; a peak thrombin (nM): a legnagyobb trombin aktivitást adja meg; a time to peak

(perc): a maximális trombin generáció eléréséhez szükséges időt jelenti. Megnevezésük angolul használatos, mivel nincs általánosan elfogadott magyar fordításuk.

A korábbi TGT-khez képest a CAT assay a módszer kalibrációval kiegészített módosítása. 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. 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. 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 valószínűleg magasabb trombin generációt eredményez.

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. 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. 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. 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 reagenseit a Fluoroskan Ascent (FL) fluoriméterhez ajánlja, a Technoclone a Ceveron nevű automatán történő mérésekhez. 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 felszint 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 µM), míg hemofiliás betegek vagy más faktorhiány esetében alacsony szöveti faktor koncentrációjú reagens alkalmazható (PPP Low reagens szöveti faktor: 1 pM, foszfolipid: 4 µM). Az úgynevezett MP reagens (nem tartalmaz szöveti faktort, foszfolipid: 4 µM) a PPP-ben lévő mikropartikulák koagulációs hatásának vizsgálatára ajánlott. 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. Irodalmi adatok alapján a TGT hasznos lehet olyan kórképekben, ahol emelkedett artériás- vagy vénás trombózis rizikó áll fenn, pl. diabetes mellitus, daganatos betegség, örökletes thrombophiliák (pl. antitrombin-, protein C- és protein S deficiencia, FV Leiden mutáció esetében). A többféle reagensnek köszönhetően a módszer az antikoaguláns terápia hatásának monitorozására is alkalmas. A teszt egyik legígéretesebb jövőbeli alkalmazása a hemofiliás betegek vérzéses rizikójának megítélése és az alkalmazott terápia követése.

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. 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. A vérzéses stroke esetek többsége (az össz stroke esetek mintegy 15%-a) agyi állományvérzés (intracerebrális hemorrhagia: ICH), fennmaradó hányada szubarachnoideális vérzés.

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

Az ICH etiológiája összetett. A magas vérnyomás az ICH egyik leggyakoribb kiváltó oka, a vérzések 30-60%-a ehhez kapcsolódik. 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, 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. Kockázati tényezők között említhető a diabetes mellitus, a dohányzás, az 50 év feletti életkor, az alkoholfogyasztás és a drogok használata is.

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. 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. 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. A diagnózis felállítását követően a cél a rávérzés kockázatának és a hematoma kiterjedésének csökkentése az első 24-72 órán belül. 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. 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.

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, ill. 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 felvételtől GCS érték a hosszútávú kimenetel meghatározó prediktora.

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

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.

Az állapotfelmérő skálák önmagunkban azonban nem elegendőek 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. Az akut stroke utáni hosszútávú funkcionális klinikai kimenetel értékelésének standard módszere a módosított Rankin Skála (mRS).

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 terület. A farmakológiai profilaxis elindítása komoly dilemmát okozhat az agyvérzett betegekben a klinikai gyakorlatban, mivel jelenleg nincs megfelelő evidencia a kis molekulásúlyú heparin (LMWH) profilaxis biztonságára vonatkozóan az ICH kialakulását követő első 48 órában.

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. 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%). A krónikus veseelégtelenség jelentős népegészségügyi probléma, mely a felnőtt lakosság 10-16%-át érinti világszerte. 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. A National Kidney Foundation szerint a krónikus vesebetegségben szenvedő betegek a legmagasabb kockázati csoportba sorolandók szív- és érrendszeri betegségek szempontjából. 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. 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. 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. 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. 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 élődonortól 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. 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. 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. 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 magvas sejt felszínén és a trombocitákon találhatók meg, míg a HLA II. osztályban HLA-DR, -DQ, -DP gének, amelyek pedig az antigén prezentáló sejteken találhatók. 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.

Az donor specifikus antitestek és az antitest mediálta kilökődés

Az ABMR a hosszú távú graft-túlélést befolyásoló szövödmények 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. 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 kialakulásának valószínűségét. 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.

Az ABMR patofiziológiájában központi elem a donor ellenes antitestek kötődése a graft entotélsejtjeihez, komplement aktivációt, gyulladásos választ, trombocita aktivációt, ezáltal a koagulációs kaszkád aktivációját, és szöveti károsodást okozva.

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. Napjainkban a DSA-k kimutatására a legelterjedtebb és legérzékenyebb módszer az úgynevezett „single antigen beads” Luminex-SAB technika, mely fluoreszcens gyöngyök felületére kötött közel 200 HLA antigén felhasználásával határozható meg az egyén alloantitest-készlete. 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).

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 kezeléskombinációkat alkalmaznak. Az immunszuppresszív terápia alapvető hátránya, hogy fogékonyabbá teheti a betegeket a különféle fertőzésekkel szemben. A leggyakrabban alkalmazott fenntartó immunszuppresszív kezelés hármaskombinációjú, 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 felvételnél 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 felvételtől 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. 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. A stroke súlyosságának megítélésére az NIHSS pontrendszert alkalmaztuk, mely a betegek felvételekor és az eseményt követő 7. napon került megállapításra. A vérzésvolumen becslése kontrasztanyag nélküli, natív CT vizsgálat alapján történt felvételtől, a 14. napon és 3 hónappal az eseményt követően. A mortalitás rizikójának megítélésére az ICH-score-t alkalmaztuk. A betegeket 3 hónapig követve, a hosszú távú kimenetel értékeléshez az mRS-t felvételtől (akut stádiumban), 14. napon, valamint a 90. napon is meghatároztuk.

A tanulmány során a következő kimeneteket vizsgáltuk: 1/ hosszú távú kimenet 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, véralvadást gátló 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 élődonoros 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 részt vevő 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 felvételnél 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 alapterszetek (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 hisztopathológiai 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. Az eredmények értékelése során a következő TGT paramétereket használtuk: lag time (perc), ETP (nM*perc), peak thrombin (nM), time to peak (perc).

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 FXa 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 polisztirén 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. 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 érzékenységgű áramlási citometriai módszerrel történt a korábban leírtak szerint. 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 szérum tartalmaz specifikus HLA ellenes antitesteket, azok a megfelelő gyöngyökhöz kötődnek. A kötődést egy specifikus másodlagos antitesttel detektálják. Az egyes gyöngyökből származó fluoreszcens jeleket a Luminex rendszer detektálja, ami az eredményeket átlagos fluoreszcencia-intenzitásként (MFI) adja meg. A DSA pozitivitás küszöb értéke az 500 MFI, ekkor a beteg szérumából 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. 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 Kutatásetikai 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 tesztel 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 -tesztel 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.

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 rutin laboratóriumi paraméterek közül a glükóz, a CRP, a fibrinogén szint, a fehérvérsejtszám és a trombocitaszám szignifikánsan magasabb volt az ICH betegekben a kontrollokhöz képest (glükóz medián: 7,3; IQR: 5,8-9,8 mmol/L vs. 4,9; IQR: 4,6-6,0 mmol/L; $p < 0,0001$; CRP medián: 2,5; IQR: 1,1-6,2 mg/L vs. 1,8; IQR: 0,8-3,4 mg/L; $p = 0,0031$; fibrinogén medián: 3,8; IQR: 3,1-4,5 g/L vs. 2,4; IQR: 1,9-3,2 g/L; $p < 0,0001$; fehérvérsejtszám medián: 8,5; IQR: 6,7-11,4 G/L vs. 6,9; IQR: 5,8-8,1 G/L; $p < 0,0001$; trombocitaszám medián: 226; IQR: 180-272 G/L vs. 249; IQR: 215-298 G/L; $p = 0,0039$). A PI és APTI szignifikánsan rövidebb volt a betegekben az egészséges kontroll populációhoz képest (PI medián: 8,1; IQR: 7,8-8,6 sec vs. 9,2; IQR: 8,3-9,9 sec; $p < 0,0001$; APTI medián: 26,7; IQR: 24,6-29,2 sec vs. 28,4; IQR: 28,0-28,6 sec; $p = 0,0002$). A D-dimer szint és a FVIII aktivitás szignifikánsan magasabb volt a betegekben, mint a kontrollokból (D-dimer medián: 0,63; IQR: 0,38-1,00 mg/L vs. 0,28; IQR: 0,18-0,38 mg/L; $p < 0,0001$; FVIII aktivitás medián: 228; IQR: 153-289 % vs. 97; IQR: 83-123 %; $p < 0,0001$).

Stroke jellemzők és kimenetek az ICH kohorszban

A felvételtől 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 felvételtől a vérzés térfogatának mediánja 12,0 (IQR: 3,5-

29,8) cm³ 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.

Trombin generáció a betegekben és a kontrollokban

Az ICH betegek és az egészséges kontrollok TGT paramétereinek értékelésekor azt találtuk, hogy 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.

A lag time, az ETP és a time to peak paraméterek gyenge szignifikáns pozitív korrelációt mutattak a CRP-vel az ICH betegekben és az egészséges kontrollokban (ETP: betegek: $r = 0,2473$; 95% CI: 0,0323-0,4404; $p = 0,0209$; kontrollok: $r = 0,3610$; 95% CI: 0,2091-0,4960; $p < 0,0001$). Hasonló, szignifikáns pozitív korrelációt figyeltünk meg a 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.

A stroke súlyossága és a kimenetek vizsgálata

A stroke súlyossága, valamint a rövid távú funkcionális kimenetel nem mutatott szignifikáns összefüggést a TGT egyes paramétereivel. A hosszútávú funkcionális kimenetel szempontjából a kedvezőtlen kimenetel (mRS 2-6) szignifikánsan magasabb BMI-vel és D-dimer szinttel, nagyobb felvételkedori NIHSS értékkel, nagyobb vérzésvolumennel (mindhárom időpontban), magasabb ICH pontszámmal társult (BMI: mRS 0-1 medián: 24,04; IQR: 21,78-28,25 kg/m²

vs. mRS 2-6 medián: 27,31; IQR: 24,93-31,60 kg/m²; p=0,0090; D-dimer: mRS 0-1 medián: 0,36; IQR: 0,28-0,58 mg/L vs. mRS 2-6 medián: 0,72; IQR: 0,48-1,30 mg/L; p=0,0013; NIHSS: mRS 0-1 medián: 4; IQR: 4-6 vs. mRS 2-6 medián: 16; IQR: 11-21; p<0,0001; felvételi vérzésvolumen: mRS 0-1 medián: 2,3; IQR: 1,4-6,2 cm³ vs. mRS 2-6 medián: 17,0; IQR: 6,5-37,1 cm³; p<0,0001; 14. napi vérzésvolumen: mRS 0-1 medián: 3,1; IQR: 1,4-4,8 cm³ vs. mRS 2-6 medián: 19,0; IQR: 3,9-29,5 cm³; p=0,0008; 90. napi vérzésvolumen: mRS 0-1 medián: 0; IQR: 0 cm³ vs. mRS 2-6 medián: 1,0; IQR: 0-6,5 cm³; p=0,0120; ICH pontszám: mRS 0-1 medián: 0; IQR: 0-1 vs. mRS 2-6 medián: 2; IQR: 1-3; p=0,0005). A hosszú távon rosszabb kimenetű betegeknel a peak thrombin paraméter szignifikánsan emelkedett volt a kedvező hosszútávú funkcionális kimenetű (mRS 0-1) betegekhez képest (medián: 402,5; IQR: 344,8-473,8 nM vs. 326,4; IQR: 294,2-416,1 nM; p=0,0096).

A TGT prognosztikai értékének vizsgálatára ROC analízist végeztünk, a peak thrombin paraméter diagnosztikai hatékonysága és az optimális küszöbértékének megállapítása érdekében. A hosszútávú funkcionális kimenetel szempontjából statisztikailag optimális peak thrombin küszöbérték (339,1 nM) alapján a 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 felvételi 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).

A TGT paraméterek és az intracerebrális vérzés térfogatának összefüggése

Az ICH-t szenvedett betegekben a lag time és a time to peak paraméterek gyenge szignifikáns negatív korrelációt mutattak a felvételi 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 becsült 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 felvételi 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.

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

A FVIII aktivitás nem mutatott összefüggést a vérzés mennyiségével, 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. Huszonhét DSA+ eset és 16 DSA– kontroll alkotta az egyes vizsgálati csoportokat. A beválogatáskor meghatározott klinikai paramétereket vizsgálva, 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 (30/43; 70%) alkalmazott immunszuppresszív terápia a tacrolimus, glükokortikoid és MPA kombinációja volt.

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 vs. 3,1; IQR: 2,7-3,5 g/L; $p=0,0081$). A VWF antigén és sPsel szintek a betegek többségénél a referencia tartomány felső határa felett voltak, de a csoportok között nem volt szignifikáns különbség. A VWF antigén szintek szignifikáns korrelációt mutattak a sPsel szintekkel ($r=0,3788$; 95% CI: 0,0794-0,6155; $p=0,0122$). A FVIII aktivitás és a sEsel szintek nem különböztek az egyes vizsgálati csoportok között. Az első mintákból meghatározott TGT paraméterek közül az ETP szignifikánsan magasabb volt a DSA+ csoportban a DSA – betegekhez képest (medián: 1666; IQR: 1438-2012 nM*perc vs. 1230; IQR: 1097-1659 nM*perc; $p=0,0019$). 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; $p=0,0203$), míg a TGT időparaméterei esetén nem volt szignifikáns különbség a csoportok között. A CLA paraméterek, beleértve az 50%CLT-t is, nem különböztek a DSA– és a DSA+ csoportok között. Az első vérvétel alkalmával a C3 és C4 komplement szintek nem különböztek a vizsgált csoportok között. 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.

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 (MFI-ben kifejezve) az első mintavételkor ($r=0,5494$; 95% CI: 0,1534-0,7934; $p=0,0081$). Valamennyi további vizsgált laboratóriumi paraméter közül kizárólag a hemoglobin koncentráció mutatott szignifikáns korrelációt a DSA pozitivitás mértékével a betegek bevonásakor ($r= -0,4714$; 95% CI: -0,7508 – -0,0488; $p=0,0081$). A TGT lag time ($r= -0,3667$; 95% CI: -0,6101 – -0,0645; $p=0,0192$), ETP ($r= -0,3909$; 95% CI: -0,6262 – -0,0904; $p=0,0128$) és time to peak paraméterei ($r= -0,3123$; 95% CI: -0,5685 – -0,0008; $p=0,0498$), valamint a VWF antigén ($r= -0,3748$; 95% CI: -0,6144 – -0,0713; $p=0,0173$) és C4 komplement szintek ($r= -0,4247$; 95% CI: -0,6502 – -0,1304; $p=0,0063$) szignifikáns negatív korrelációt mutattak a tacrolimus szintekkel a vizsgált kohorszban.

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. A DSA+ csoportban szignifikánsan magasabb volt a betegek BMI értéke a DSA– csoporthoz képest (átlag: $25,1 \pm 4,2$ vs. $28,6 \pm 5,5$; $p=0,0302$). A transzplantáció óta eltelt idő szignifikánsan hosszabb volt a DSA-val rendelkező betegeknél (DSA+ betegek átlag: $34,6 \pm 16,9$ vs. DSA– betegek: $23,9 \pm 11,7$; $p=0,0481$). A DSA+ betegeknél az albumin szint szignifikánsan alacsonyabb (átlag: 47 ± 3 vs. 44 ± 4 ; $p=0,0237$), míg a CRP szignifikánsan magasabb volt a DSA– csoporthoz képest (medián: 1,4; IQR: 0,6-2,2 és 3,1; IQR: 0,9-7,7; $p=0,0266$). A graft funkciót tükröző laboratóriumi paraméterek nem különböztek szignifikánsan a két csoport között az utánkövetés során sem.

A követés során a fibrinogén, a VWF antigén szint, a FVIII aktivitás, a sPsel és az sEsel szint nem különbözött a csoportok között. Az első vérvétel eredményeihez hasonlóan a VWF antigén szintek a betegek többségénél a referencia tartomány felső határértéke felett voltak. Az ETP 6

hónappal a beválogatást követően ismét szignifikánsan emelkedett volt a DSA+ csoportban a DSA– csoporthoz képest (medián: 1701; IQR: 1382-1940 vs. 1458; 1221-1660; $p=0,0381$). 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. 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. A C3 hipokomplementémia előfordulási aránya nem változott a követés alatt.

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. Ezzel szemben a DSA+ betegek mindössze 29%-ánál volt a VWF antigén szint a referencia tartományon belül. Mindhárom *de novo* DSA pozitivitást mutató egyénnél az utánkövetés során meghatározott VWF antigén szint a referencia tartomány felső határértéke felett volt, míg azoknál a betegeknél, akiknél határérték alá csökkent a DSA pozitivitás mértéke, a VWF antigén szintek nem mutattak jelentős változást. Érdekes módon a FVIII aktivitás szignifikánsan emelkedett a DSA– betegeknél a követés során az első vérvételhez képest ($p=0,0200$), és hasonló, de nem szignifikáns tendencia volt megfigyelhető a DSA+ betegeknél ($p=0,0938$). 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, azonban csökkenő DSA szintek esetén egyértelmű tendencia nem volt megfigyelhető az utánkövetés FVIII szintjeinek változásában. Az ETP paraméter nem mutatott szignifikáns változást a 6 hónappal később mért minták eredményeiben egyik vizsgált alcsoportban sem. 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.

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

A DSA+ betegekben az első mintavételi eredményekhez hasonlóan, 6 hónappal később a trombin képződés mértéke (ETP és peak thrombin) szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a DSA pozitivitás mértékével (ETP: $r=0,5474$; 95% CI: 0,1097-0,0873; $p=0,0153$; peak

thrombin: $r=0,6404$; 95% CI: 0,2489-0,8520; $p=0,0031$). A peak thrombin, a FVIII aktivitás és a fibrinogén szintek szignifikáns negatív korrelációt mutattak a tacrolimus szinttel a követés során (peak thrombin: $r=-0,3191$; 95% CI: -0,5770 – -0,0032; $p=0,0420$; FVIII aktivitás: $r=-0,4034$; 95% CI: -0,6408 – -0,0957; $p=0,0098$; fibrinogén: $r=-0,3255$; 95% CI: -0,5799 – -0,0011; $p=0,0448$). A DSA pozitivitás mértéke azonban nem korrelált a tacrolimus szintekkel egyik vizsgálati időpontban sem. A transzplantáció óta eltelt idő nem mutatott összefüggést a vizsgált speciális hemosztázis paraméterekkel. A VWF antigén és a FVIII aktivitási értékek szignifikáns pozitív korrelációt mutattak mindkét vizsgálati időpontban a DSA– és DSA+ csoportok közötti lényeges különbség nélkül ($r=0,5876$; 95% CI: 0,3408-0,7587; $p<0,0001$ és $r=0,5919$; 95%CI: 0,3429-0,7631; $p<0,0001$).

A TGT egyes paraméterei és a vesebiopsziákban megfigyelhető mikrovaszkuláris obstrukció közötti összefüggés

A vesebiopsziákból végzett szövettani minták értékelése a Banff klasszifikáció szerint történt. 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 az ETP szignifikánsan magasabb volt azokhoz a betegekhez képest, akiknél nem állt fenn mikrovaszkuláris obstrukció szövettani jele (medián: 1898; IQR: 1573-2165 nM*perc 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.

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

A DSA+ betegekben 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 (CRP: $r=0,4344$; 95% CI: 0,0534–0,7050; $p=0,0236$; fibrinogén: $r=0,4062$; 95% CI: 0,0008–0,6969; $p=0,0439$; VWF antigén: $r=0,4701$; 95% CI: 0,0920–0,7297; $p=0,0177$; FVIII aktivitás: $r=0,5894$; 95% CI: 0,2533–0,7986; $p=0,0019$), 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.

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.

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 felvételtől 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. 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 paraméterei 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 kimenetű 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. 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. 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. Eredményeink alapján elképzelhető, hogy a hiperkoaguláció szerepet játszhat a graft funkció elvesztését okozó patológias 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.

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. 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 mikrovaszkuláris elzáródások jeleit mutató betegeknél szignifikánsan magasabb ETP-t találtunk a mikrovaszkuláris 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. 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. 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 fibrinolízisé 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 betegeknél.

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 betegeken csökkentette VWF antigén szintet. 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 betegeken 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, 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. 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 betegeken, hiszen az emelkedett VWF antigén szint a már meglévő vaszkuláris betegségekre is utalhat.

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. Számos tanulmány vizsgálta a komplement aktiváló DSA-k szerepét a transzplantált szervek kimenetele szempontjából. A komplement rendszer szerepe az allograft károsodás patomechanizmusában ma már egyre inkább elismert. *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. 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- betegekben, 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.

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). 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.

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 bevételekor 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.

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 felvételtől mintáiban vizsgáltak speciális hemosztázis markereket, a mi tanulmányunk volt 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.

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 tesztek (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.

Az értekezés új eredményei, megállapításai

- 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 mikrovaskuláris obstrukció igazolódott. Esetükben az ETP szignifikánsan magasabb volt azokhoz a betegekhez képest, akiknél nem állt fenn mikrovaskuláris obstrukció szövettani jele. Eredményeink alapján felmerül, hogy a DSA-k jelenlétéhez társuló hiperkoagulabilitás mikrovaskuláris obstrukciók révén hozzájárulhat az ABMR patomechanizmusához.
- A DSA+ betegeknél 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.



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

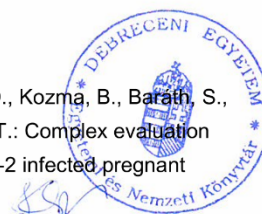
Jelölt: Lóczi Linda
Doktori Iskola: Laki Kálmán Doktori Iskola

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

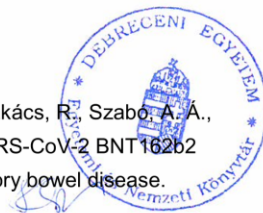
További közlemények

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., Joupila, 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., Joupila, 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 tudománymetriai ellenőrzését a
tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2026.02.04.



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 létrejöhessen.

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.