

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Fibrinolitikus paraméterek és az alvadék
méretének összefüggései az intravénás
trombolízis sikerességével iszkémiás stroke-ot
szenvedett betegekben**

Dr. Szegedi István

Témavezető:

Prof. Dr. Csiba László PhD, DSc, az MTA levelező tagja

Dr. Bagoly Zsuzsa, PhD



DEBRECENI EGYETEM

Ideg tudományi Doktori Iskola

Debrecen, 2021

**FIBRINOLÍTIKUS PARAMÉTEREK ÉS AZ ALVADÉK MÉRETÉNEK
ÖSSZEFÜGGÉSEI AZ INTRAVÉNÁS TROMBOLÍZIS SIKERESSÉGÉVEL
ISZKÉMIÁS STROKE-OT SZENVEDETT BETEGEKBEN**

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

Írta: Dr. **Szegedi István**, okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Idegtudományi Doktori Iskolája keretében

Témavezető: Prof. Dr. Csiba László, az MTA levelező tagja
Dr. Bagoly Zsuzsa, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Fülesdi Béla, az MTA doktora
Dr. Valikovics Attila, PhD

A doktori szigorlat időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Neurológiai Klinika, 312-es terem
2019. január 30. 13:00

Az értekezés bírálói:

Dr. Oláh Zsolt, PhD
Dr. Csányi Attila, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Fülesdi Béla, az MTA doktora
tagok: Dr. Oláh Zsolt, PhD
Dr. Csányi Attila, PhD
Dr. Czuriga Dániel, PhD
Dr. Vastagh Ildikó, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Klinika „A” épület
2021. november 2. 13:00

Bevezetés

A cerebrovaszkuláris betegségek a halálozás és rokkantság vezető okai közé tartoznak a fejlett országokban, Magyarországon évente több tízezer új stroke esetet diagnosztizálnak, egy néhány éve publikált adat szerint az évi incidencia 43.3/10 000 fő . Ezen betegségek leggyakoribb típusa az iszkémiás stroke (IS), melyet az agyállományt (ritkább esetekben gerincvelőt vagy retinát) ellátó artéria elzáródása okoz.. A stroke kialakulásának számos rizikófaktora ismert (pl.: diabetes mellitus, hypertonia, stb.) és az utóbbi évtizedekben jelentős előrehaladás történt a betegség patofiziológiájának megértésében, azonban még mindig rengeteg kérdés vár válasza a témában.

Az akut iszkémiás stroke terápiája az elzáródott érszakasz mielőbbi megnyitása, melyre jelenleg kétféle kezelés áll rendelkezésre: a legfontosabb kezelés továbbra is az intravénás trombolízis (vénás vérrögoldó kezelés) rekombináns szöveti plazminogén aktivátorral (rt-PA), emellett pedig egyre inkább teret hódít a mechanikus thrombectomy, melyet viszont csak akkor lehet alkalmazni, ha a stroke-ot nagy artéria elzáródása okozza.

Az intravénás trombolízis több mint 20 éve rutinszerűen alkalmazott, azonban nem csodaszer, hiszen csak a betegek kb. harmadánál érhető el klinikai javulás, illetve a betegek mintegy 6-8 százalékánál vérzéses szövődmény is kialakulhat.

A trombolízis relatív hatástalansága, illetve a vérzéses szövődmények kialakulása vélhetően kapcsolatban áll a hemosztázis rendszer egyes komponenseivel, a kialakult alvadék méretével, szerkezetével. A téma fontossága ellenére kevés tanulmányban vizsgálták akut stroke betegekben a koagulációs és/vagy fibrinolitikus rendszer markereit, és a tanulmányok többsége viszonylag kis betegcsoportot vizsgált. A hemosztázis rendszer vizsgálatával lehetőségünk nyílik a stroke kialakulásához és kezelésének sikertelenségéhez vezető patofiziológiai folyamatok mélyebb megértésére, melyek a jövőben segítséget nyújthatnak a terápiás kimenetel becslésében és megteremthetik az egyénre szabott terápia alapjait.

Irodalmi áttekintés

Iszkémiás stroke

Epidemiológia

Világszerte a stroke a halálozás második leggyakoribb és rokkantság leggyakoribb oka. Magyarországon az iszkémiás stroke teljes népességre vonatkozó előfordulási gyakorisága 40/10000 fő.

Definíció, típusai

A stroke a WHO definíciója szerint „Az agyműködés vérellátási zavara által okozott globális vagy fokális neurológiai diszfunkcióval járó, gyorsan kialakuló tünetegyüttes, mely több mint 24 órán keresztül fennáll, és amelynek bizonyíthatóan nincs más oka, mint az agy érrendszerében kialakult változás.”. A betegek 80%-a esetén a stroke iszkémiás, a fennmaradó 20% vérzéses stroke. A vérzéses csoporton belül további két alcsoportot különítünk el: spontán állományvérzések (15%) és a nem traumás subarachnoidealis vérzések (5%).

Az iszkémiás agyi működészavarok további típusa a tranziens iszkémiás attack (TIA). A régi definíció szerint ez olyan átmeneti neurológiai tünetegyüttes, melyet fokális agyi, gerincvelői vagy retina iszkémia okoz, és 24 óránál kevesebb ideig tart. A jelenlegi definíció szerint abban az esetben beszélünk TIA-ról, ha a tünetek kialakulása nem jár akut infarktus kialakulásával. A tünetek legtöbbször percekig tartanak. A TIA-k kb. egyharmadát egy hónapon belül stroke követi. Az ABCD2 skála alkalmazásával megbecsülhető az esetleges stroke veszélye.

Az iszkémiás stroke csoporton belül az etiológiát figyelembe véve számos altípust különítünk el. Vizsgálataink során a klasszikus TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment) kritérium rendszert használtunk az öt altípus elkülönítésére.

1. Nagyér atherosclerosis

Ezen betegeknél képalkotó vizsgálati eredmények alapján az agyat ellátó fő artériák területén 50%-nál nagyobb szűkület vagy elzáródás található, melyet feltehetően atherosclerosis okoz. Az agykérgi, cerebellaris iszkémiás léziók, illetve 1,5 cm-nél nagyobb agytörzsi vagy szubkortikális léziók valószínűleg nagyér eredetűek.

Klinikailag kérgi, agytörzsi vagy cerebellaris tünetek jellemzőek.

2. Kisérbetegség (lacunaris stroke)

Ezen betegeknek érdemi nagyérszűkület nincs. Képalkotó vizsgálattal akut infarktus nem mutatható ki, vagy a releváns lézió 1,5 cm-nél kisebb. Klinikai szempontból ide tartoznak a lacunaris szindrómák (tisztán motoros vagy tisztán szenzoros tünetek). Egyidejű hypertonia és/vagy diabetes mellitus támogatja a klinikai diagnózist.

3. Kardiogén stroke

Ebben a kategóriában olyan betegek találhatók, akiknél az érelzáródás hátterében egy szívből származó embólus áll. Az előzményben ismert valamilyen trombus képződésére hajlamosító kardiológiai betegség, pl.: pitvarfibrilláció, dilatatív kardiomiopátia. Klinikai és képalkotó vizsgálati szempontból hasonló jellegzetességei vannak, mint a nagyér atherosclerosis csoportnak. Előző stroke vagy TIA, mely több vaszkuláris régiót is érint, támogatja a klinikai diagnózist. A napi tevékenység során kialakuló stroke, a kérgi tünetek szintén a kardiogén eredet mellett szólnak.

4. Egyéb eredetű stroke

Különbféle ritka kórállapotok tartoznak ebbe a csoportba: trombofiliák, vaszkulitiszek, hematólógiai betegségek, stb. Képalkotó és laboratóriumi vizsgálattal igazolható az akut infarktus, tekintet nélkül annak méretére.

5. Ismeretlen eredetű stroke (kriptogén stroke)

Amennyiben alapos átvizsgálás ellenére sem található az agyi infarktus hátterében etiológiai tényező, ismeretlen eredetű, másnéven kriptogén stroke-ról beszélünk.

Rizikótényezők

Az iszkémiás stroke-nak számos befolyásolható és nem befolyásolható rizikófaktora van. A stroke alapvetően időskori betegség, az előfordulási gyakorisága az életkor előrehaladtával folyamatosan nő, megduplázódik minden évtized után 55 éves életkor felett. A stroke rizikó nemi különbségeket is mutat. Idősebb korban a relatív kockázat valamivel magasabb a férfiak körében. Ennek ellenére a betegség gyakoribb nőknél, mivel hosszabb a várható élettartamuk, így a prevalencia 80-85 év felett a nők felé tolódik el. Genetikai vizsgálatokkal számos mutációt találtak, melyek stroke-ot okozhatnak. A befolyásolható rizikófaktorok közül a leggyakoribb a hypertonia, mely egyenes összefüggést mutat a betegség kialakulásával. A cukorbetegség a stroke független kockázati tényezője, a cukorbetegségeknél kétszer nagyobb a stroke kockázata. A

cukorbetegség mortalitásának körülbelül 20%-áért stroke felelős. A dyslipidaemia szintén befolyásolja az iszkémiás stroke kialakulásának kockázatát: az emelkedett összkoleszterin szint növeli, a magasabb HDL szint csökkenti a rizikót. A pitvarfibrilláció, billentyűhibák is jelentős stroke rizikófaktorok.

Az életmód is hozzájárul az iszkémiás stroke kialakulásához: a fizikai inaktivitás, elhízás és a következményes metabolikus szindróma komoly kockázati tényezők. Az alkoholfogyasztás és stroke rizikó között fennálló kapcsolat J alakú görbével jellemezhető: enyhe alkoholfogyasztás csökkenti az iszkémiás stroke kialakulásának kockázatát, ezzel szemben a nagy mennyiségű fogyasztás növeli a rizikót. A dohányzás a stroke kialakulásának egyik fontos rizikófaktor, a kockázat arányos az elszívott cigaretta mennyiségével.

Diagnosztika

A stroke diagnózisa anamnesztikus adatok, klinikai és agyi képalkotó vizsgálati eredményeken alapul. Az anamnesztikus adatok felvétele során törekedni kell arra, hogy a lehető legpontosabban mérjük fel a tünetek kialakulásának körülményeit. A betegről vagy hozzátartozótól ki kell deríteni, hogy szed-e a beteg bármilyen olyan gyógyszert, mely alacsony vércukorszintet okozhat, volt-e már korábban epilepsziás roszulléte, érte-e trauma, lehet-e szó valamilyen gyógyszer, egyéb mérgező anyag túladagolásáról. Amennyiben az iszkémiás stroke lehetősége nem zárható ki, annak felderítése, hogy a tünetek mikor alakultak ki, kiemelkedően fontos, hiszen a különféle akut kezelésekre csak a tünetek kialakulásától számított meghatározott időablakokon belül van lehetőség. Az antikoaguláns kezelés tisztázása kiemelkedően fontos: ki kell deríteni, hogy a beteg milyen típusú alvadásgátló gyógyszert használ (K-vitamin antagonist, alacsony molekulásúlyú heparin, direkt orális antikoaguláns), mikor használta utoljára a gyógyszert, hiszen a kezelés bizonyos esetekben kontraindikálja a trombolízist.

Részletes neurológiai vizsgálat során alapvetően kétféle tünettani csoportot lehet elkülöníteni: carotis (anterior) területi, illetve vertebrobasilaris (posterior) keringési zavarra jellemző tünetek. A stroke súlyosságának megállapítására az NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) rendszert használjuk, melynek 11 eleme van, a különféle elemek pontozása 0 és 4 pont közötti. A pontozórendszer maximális pontszáma 42. Más pontozóskálákhoz hasonlóan az NIHSS pontozást is nehéz alkalmazni, ha a betegnek már a stroke előtt is voltak neurológiai tünetei (pl. hemi- vagy tetraparesis, súlyos

látáscsökkenés vagy nyelvi akadály, dementia korlátozza az NIHSS értékét).

A fizikális vizsgálat és pontos anamnézis felvételének az a célja, hogy az agyi iszkémia lehetőségét elkülönítsük más, stroke-ot utánzó betegségektől, állapotoktól és felmérjük, hogy a beteg alkalmas-e valamilyen dezobliterációs kezelésre. A stroke-ot utánzó betegségek: hypoglycemia, encephalitis, migrén, epilepsziás rohamot követő átmeneti bénulás, központi idegrendszeri tumor, stb..

Az akut stroke gyanús beteg ellátásának következő lépése az agyi képalkotó vizsgálat elvégzése, mely lehet koponya CT, illetve koponya MR vizsgálat, illetve natív és kontrasztanyag adásával készült vizsgálatokat. A képalkotás célja a központi idegrendszeri vérzés kizárása, a kialakult károsodás kiterjedésének felmérése. Az arteria cerebri media (ACM) területi stroke kiterjedésének meghatározására rutinszerűen az Alberta stroke programme early CT score (ASPECTS) használatos, mely egy 10 pontos kvantitatív rendszer. A rendszer az ACM ellátási területét 10 szegmentumra osztja fel: 1 pont kerül levonásra, abban az esetben, ha egy adott szegmentumban megfigyelhető iszkémiás laesio. A felvételi CT vizsgálat során 7 vagy annál alacsonyabb pontszám a kedvezőtlen funkcionális kimenetel prediktora intravénás trombolízis esetén.

A diagnosztika fontos része az angiográfiás vizsgálatok elvégzése, mellyel igazolható a nagyérelzáródás fennállása. Az ereket elzáró alvadék méretének becslésére az anterior keringés területén az úgynevezett „clot burden score” (CBS) használható fel. Ez egy 10 pontos rendszer, mely segítségével az anterior keringés vizsgálható CTA felvételeken a kontrasztanyag telődés megléte alapján, különféle érszakaszokon: supraclinoidalis arteria carotis interna (ACI), proximalis ACM (arteria cerebri media) M1, distalis ACM M1 (2 pontos érszakaszok), ACM M2 ágak, ACA A1 ág, illetve infraclinoidalis ACI (1 pontos érszakaszok). Az ACM M1 és az ACA az ACI két végága. Az ACM M1 oszlása változó, leggyakrabban kettő, egy felső és alsó törzsre oszlik (M2 ágak). Általánosan elfogadott, hogy minél distalisabb a szívhez viszonyítva egy érszakasz, annál kisebb a lehetősége a jó kollaterálisnak. 10 pontot kap a beteg abban az esetben, ha minden érszakaszon van telődés.

Az akut dezobliterációs kezelés megkezdése előtt további vizsgálatokra van szükség: pulzoximetria, vércukorszint, vérkép thrombocytaszámmal, illetve hemosztázis szűrőtesztek (az utolsó kettő vizsgálat eredményével a legújabb irányelvek szerint nem várjuk meg kezelés kezdetét, csak abban az esetben, ha alapos gyanú van alacsony thrombocyta számra, illetve véralvadási zavarra pl.: gyógyszeresedés kapcsán).

Az akut fázis lezajlása után a további diagnosztika során egy komplex kardio-és

cerebrovaszkuláris átvizsgálás keretein belül a cél annak felderítése, hogy mi okozta a stroke-ot.

Kezelés

Az akut iszkémiás stroke (AIS) standard kezelési módszere az elzáródott ér dezobliterációja vénás vérrögoldó kezelés (intravénás trombolízis) segítségével. A kezelésre a tünetek kialakulásától számított 4,5 órán belül (arteria basilaris occlusio esetén 12 óra) van lehetőség, abban az esetben, ha beteg megfelel a beválogatási és kizárási feltételeknek. A legújabb, 2021-ben megjelent ESO vezérfonal 9 órán belül javasolja a vénás lízist és 24 órán belül a mechanikus vérrögeltávolítást válogatott esetekben, ha kellő mennyiségű ép agyszövet igazolható speciális vizsgálatok (perfúziós CT illetve MRI) segítségével. A kezelés során használt szer az alteplase (rt-PA; rekombináns szöveti plazminogén aktivátor). A dózisa 0,9 mg/kg, a maximális adag 90 mg. Ennek a 10%-át bólusban, 90%-át pedig perfúzorban adjuk 60 perc alatt. Az intravénás trombolízis hatékonyságát és biztonságosságát számos tanulmány igazolta, azonban nem tekinthetünk a kezelésre csodaszerként, mivel csupán a betegek 30-40%-ánál lesz kedvező a kimenetel. Az rt-PA alkalmazásával a korai rekanalizáció aránya kb. 25% azoknál a betegeknél, akiknél proximális ACM elzáródás van, és csak 10% azoknál a betegeknél, akiknél arteria carotis intera (ACI) elzáródás áll fenn. Ezen kívül az ismételt elzáródás esélye elérheti a 30%-ot. A rekanalizációs sikertelenség mellett intrakraniális vérzés is kialakulhat mellékhatásként, a vérzési kockázat minimalizálása mellett is. Számos kiindulási klinikai faktor befolyásolhatja az rt-PA terápia kimenetelét, ideértve a férfi nemet, a stroke súlyosságát felvételnél, az infarktus nagyságát, az előrehaladott életkort, a hiperglikémiát, stb. Tekintettel azonban az alacsony prediktív értékükre egyéni kezelési döntésekhez ezek nem használhatóak.

A trombolitikus terápia alternatív formája az intraarteriális lízis, melyre nagyérelzáródás esetén van lehetőség a tünetek kialakulásától számított 6 órán belül. Az eljárás invazív, intervenciós szakembert és komoly műszeres háttérrel igényel, így hétköznapi ritkábban használt kezeléssről van szó. Egységesen elfogadott intraarteriális dózis nincs (~10-80 mg rt-PA), és a vérzéses szövődmények aránya is meghaladja az intravénás terápia szövődményeit.

Az iszkémiás stroke másik fontos kezelési formája a katéteres vérrögeltávolítás (mechanikus thrombectomy), melyre kizárólag nagyérelzáródás esetén van lehetőség. Az

eljárást a tünetek kialakulásától számított 6 órán belül kell elvégezni. Válogatott betegcsoportnál kiterjesztett, 24 órás időablakon belüli kezelésre is sor kerülhet, ez azonban speciális képalkotó vizsgálatot igényel (perfúziós CT vagy MR).

Kimenetel

Az egyik fontos szövődmény az iszkémiás stroke vérzéses transzformációja, ami spontán, vérrögoldó kezelés nélkül is előfordul, főleg emboliás infarktusban és emelkedett vércukor mellett. A csak CT-n detektált gyakoriság 13-43%, a tüneteket is okozó gyakoriság 0.6-20% között ingadozik az irodalom szerint. Munkatársaink agyboncolás során tett megfigyelései szerint a kisebb-nagyobb vérzéses transzformáció gyakorisága 38%.

Azokban a betegkben sem elhanyagolható a stroke ismétlődésének kockázata, akiknél nem tudunk vérzéses transzformációról. A ismétlődés kockázata 7 napon belül az első iszkémiás stroke után 2%, 30 napon belül 4%, 1 éven belül 12% és 5 éven belül 29%. Az első iszkémiás stroke-ot követő 30 napos halálozás kb. 16-23% közötti. A neurológiai tünetek jelentős része a betegek többségénél 6 hónapon túl is fennáll: a betegek 40-50%-a hemiparetikus, kognitív deficit is gyakori és a betegek 15-20%-ánál tapasztalható szenzoros tünet, hemianopsia vagy aphasia. A tartósan fennálló tünetek általában rokkantságot okoznak, a betegek nagy része tartós ápolásra, gondozásra szorul, kb. negyedük intézeti elhelyezést igényel. A hosszú távú funkcionális kimenetel vizsgálatára a módosított Rankin skálát használjuk.

A prognosztikai vizsgálatok a klinikai gyakorlatban az alábbi szempontok miatt fontosak. Az iszkémiás stroke vérrögoldó kezelés nélkül is – spontán - hajlamosít vérzéses transzformációra, ami legtöbbször rosszabb kimenetellel társul. A vérrögoldó kezelést legtöbbször multimorbid, sok gyógyszert szedő betegeken végezzük, akiknél a szisztémás vagy cerebrális vérzés veszélye nagyobb. A vérrögoldó kezelés indikációja a napi gyakorlatban nem mindig egyértelmű, több tényező szól a beavatkozás, mások a hagyományos kezelés mellett. Ilyenkor nagyon fontosak az új ismeretek, amelyek segítségével eldönthetjük, hogy a várakozó vagy az aktív magatartást kövessük. Mivel sok esetben a beteg aphasiás, a lízisbe való beleegyezés a hozzátartozó feladata. A javulás vagy a rosszabb kimenetel esélyének minél pontosabb becslése fontos a hozzátartozó felvilágosítása során.

Hemosztázis rendszer rövid áttekintése

A hemosztázisnak három egymással átfedő része van: az iniciációs, amplifikációs és propagációs fázis. Az iniciációs fázis a szöveti faktort hordozó sejteken (endotél, szubendotéliális struktúrák) jön létre, melynek során kevés aktív koagulációs fehérje keletkezik. Az amplifikációs fázisban megtörténik a thrombocyták és a kofaktorok aktiválódása, mely nagymértékű trombin generációhoz vezet. A propagációs fázis az aktivált thrombocyták felszínén zajlik, mely során nagy mennyiségű trombin és fibrinalvadék képződik. A véralvadás amplifikációs fázisában és a kialakuló trombus propagációjában számos véralvadási fehérje vesz részt.

Fibrinolízis

A fibrinolízis egy erősen szabályozott enzimatis folyamat, amely megakadályozza az intravaszkuláris fibrin felesleges felhalmozódását és lehetővé teszi a véralvadékok eltávolítását az érpályából. A fibrinolízis központi enzime a plazmin, mely egy szerin proteáz. Az enzim inaktív formája az egyláncú glikoprotein plazminogén, mely főként a májban képződik, emellett számos egyéb szövet extravaszkuláris terében, illetve a thrombocyták α -granulumaiban is megtalálható. A plazminogén-plazmin átalakulás a szöveti típusú, illetve urokináz típusú plazminogén aktivátorok (t-PA és u-PA) hatására jön létre. A szervezetben a t-PA az endothelsejtekben képződik és megfelelő koncentrációban hatékony módon alakítja át a plazminogént plazminná a fibrin felszínén, így rekombináns formáját trombusok oldására alkalmazzák.

A fibrinolitikus rendszer nagyon szorosan regulált. A rendszer egyik fő szabályozó eleme maga a fibrin alvadék, mely a fibrinolízis legfontosabb szubsztrátjaként lokalizálja a lízist. A fibrin nemcsak szubsztrátja, hanem regulátora is a fibrinolízisnek, mivel a plazminogént és a t-PA-t is a felszínéhez köti és ezáltal segíti a plazmin képződését. A fibrin-clearance azáltal gyorsul, hogy a C-terminális lizinmaradványok a fibrinolízis során egyre nagyobb mértékben keletkeznek és kerülnek a felszínre, új kötőhelyeket biztosítva a plazminogén számára.

A fibrin bontása során különböző fibrin degradációs termékek (FDP) jönnek létre, köztük a diagnosztikai gyakorlatban elterjedten vizsgált D-dimer. A D-dimer a keresztkötött fibrin degradációs termékeként hasznos információt nyújt a véralvadás és fibrinolízis lezajlásáról. A D-dimer szintek vizsgálata prediktív és prognosztikai értékkel bír számos

betegségben, így például disszeminált intravaszkuláris koagulációban (DIC), mélyvénás trombózisban, tüdőembóliában.

A fibrin lebontása során nagy jelentősége van az alvadék szerkezetének. A vékonyabb fibrinszálakból álló, kompakt alvadék lebontása lassabban történik, mint a vastag szálakból álló, lazább alvadéké. Magas trombinkoncentráció esetén megfigyelték, hogy, több elágazódást mutató, de vékonyabb fibrinrostokból álló fibrinalvadékok képződnek, alacsony trombinkoncentráció esetén pedig lazább szerkezetű, vastagabb fibrinszálakból álló alvadék jön létre. Az előbbi esetén a trombózis, utóbbi esetén a vérzés kockázata magasabb.

A fibrinolízis egyensúlyának szabályozásában az endogén fibrinolízis gátlók fontos szerepet játszanak.

A plazmin legfőbb gátlója az α_2 -plazmin inhibitor (α_2 -PI), mely a májban szintetizálódó glikoprotein. Három módon gátolja a fibrinolitikus útvonalat: komplexet képez a plazminnal; gátolja a plazminogén kötődését a fibrinhez; és a fibrint ellenállóbbá teszi a plazmin hatásával szemben azáltal, hogy az aktivált XIII-as faktor (FXIIIa) révén a fibrinhez keresztkötött formában van jelen.

A TAFI (trombin aktiválta fibrinolízis inhibitor) egy egyláncú plazmafehérje, amely trombin vagy trombin/trombomodulin komplex által katalizált proteolízis révén aktiválódik. A TAFIa azáltal nyomja el a fibrinolízist, hogy eltávolítja a C-terminális lizin maradványokat a fibrinről, megakadályozva ezáltal a t-PA ill. a plazminogén kötődést a fibrinhez és ezáltal a plazmin generációt.

A plazminogén aktivátor inhibitorok legfőbb típusa a plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1).

A fibrinolitikus rendszer egyes komponenseinek a vérrögoldó hatáson felül már ismert lokális, szervspecifikus funkciója is. Az agyállományban a t-PA számos központi idegrendszeri tevékenységhez kapcsolódik, amelyek nem feltétlenül állnak összefüggésben a plazminképződéssel. A t-PA-ról kimutatták, hogy közvetlenül, illetve plazminon keresztül is kulcsszerepet játszhat a neuronok, asztrociták, mikroglia és periciták modulálásában, komoly hatást gyakorolva számos központi idegrendszeri állapotra, beleértve az IS-t, neurodegeneratív betegségeket, a traumás agyi sérüléseket is. A fibrinolízis szervspecifikus hatásaival kapcsolatos állatkísérletes modellek eredményei igen érdekesek és számos betegség vonatkozásában biztatóak, azonban a klinikai következtetések levonására alkalmas humán vizsgálatok egyelőre még váratnak magukra.

Plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) biokémiája

A plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) egy egyláncú glikoprotein, mely a szerin proteáz inhibitorok családjába tartozik és kiemelkedően fontos szerepet játszik a fibrinolízis szabályozásában. A PAI-1 endotél sejtekben, simaizom sejtekben, adipocitákban, a májban, illetve a lépben képződik. A PAI-1 gén expresszióját indukálja a TNF-alfa, TGF-béta, egyéb citokinek, az inzulin és egyéb hormonok, proteázok és a hypoxia. A PAI-1 a t-PA és u-PA legfontosabb inhibitora. A PAI-1 keringésben detekálható szintjét számos tényező szabályozza, például gyulladásos folyamatok, elhízás, cirkadián ritmus és genetikai tényezők. Az emelkedett PAI-1 szintet több tanulmányban kardio- és cerebrovaszkuláris kórképek rizikótényezőjeként azonosították.

PAI-1 4G/5G polimorfizmus

A PAI-1 fehérjét a SERPINE 1 gén kódolja, mely emberben a 7. kromoszómára lokalizálódik. A gén inzerciók/deléciónak eltérései közül leginkább a 4G/5G polimorfizmus tanulmányozott, mely a promóter régió -675. helyén található. Ez a régió 4 vagy 5 guanin bázist tartalmazhat (4G ill. 5G allél). A polimorfizmus mindkét allélja képes megkötni transzkripciós faktorokat, azonban az 5G alléllal rendelkező promóter már egy represszor fehérje megkötésére is alkalmassá válik. Ennek köszönhetően az 5G allél alacsonyabb PAI-1 transzkripciós aktivitással lesz jellemezhető, mint a 4G allél. A 4G allélt hordozó egyének esetén a PAI-1 plazma szintje emiatt magasabb, míg az 5G allélt hordozók esetén a PAI-1 szint alacsonyabb lesz. Korábbi tanulmányok összefüggésbe hozták a 4G allél hatását fokozott fogékonysággal a trombotikus folyamatok kialakulásával szemben, emelkedett szívinfarktust követő halálozással, illetve szepszist követő halálozással is.

A XIII-as faktor biokémiája

A XIII-as faktor (FXIII) egy pro-transzglutamináz, mely a keringésben tetramer formában található: két katalitikus A alegységből, illetve két hordozó/inhibitor B alegységből áll (FXIII-A₂B₂). Az A alegység (FXIII-A) csontvelői eredetű sejtekben, elsősorban monocytákban/makrofágokban, míg a B alegység (FXIII-B) hepatocytákban termelődik. A fehérje celluláris formája a FXIII-A₂ dimer, mely számos sejtben megtalálható (monocyták, makrofágok, thrombocyták stb.). A FXIII aktiválódása két lépésben történik,

trombin, illetve Ca^{2+} közreműködésével. Az első lépésben a trombin általi hasítás eredményeképpen leválik a FXIII-A alegységről az aktivációs peptid, majd második lépésben Ca^{2+} jelenlétében leválnak a B alegységek, és a FXIII-A alegység aktív konformációt vesz fel. A FXIII a fibrinolízis egyik kulcs regulátora, többek között két fő mechanizmussal befolyásolja a fibrinolízist: 1) a fibrin-láncok keresztkötése révén az alvadékok ellenállóbbá teszi a fibrinolízissel szemben és 2) az α_2 -PI, illetve más plazmakomponensek fibrinhez való keresztkötése révén védi a fibrin alvadékokat és megakadályozza az azonnali eliminációját a plazmin ill. a fibrinolitikus rendszer által.

A FXIII-A Val34Leu polimorfizmusa

A FXIII-A leginkább tanulmányozott, gyakori genetikai alterációja a Val34Leu polimorfizmus (allélfrekvencia kaukázusi populáció esetén: ~25%). A polimorfizmus révén a gén 103. kodonja esetén G->T csere jön létre, melynek eredményeként valin->leucin csere alakul ki a fehérje 34-es pozíciójában. Az érintett terület csak 3 aminosavra található a trombin hasítási pozíciójától, így nem meglepő, hogy a trombin-hasítási sebességét jelentősen befolyásolja. A Leu34 allél mintegy 2,5-szer gyorsabban hasítódik a Val34 allélhoz képest, melynek következménye, hogy a FXIII aktiválódásának sebessége nő. A FXIII aktivációjának sebessége a polimorfizmus révén hatással van a keresztkötött fibrinháló molekuláris felépítésére, szerkezetére. A Leu34 allél jelenlétében vastagabb fibrinrostok, lazább hálószerkezet alakul ki, mely jelentősen befolyásolja az alvadék tulajdonságait, többek között a fibrinolízissel szembeni ellenállását is. A fibrin szerkezet ezen strukturális különbségei a biokémiai vizsgálatok alapján a fibrinogén koncentráció függvényében mutathatók ki. Magasabb fibrinogén koncentráció esetén a Leu34 allél hatása különösen szembetűnő, homozigóta egyének esetén a fibrin alvadék permeabilitása fokozott, és a fibrinolízissel szembeni ellenállása csökken a Val34 homozigóta, vad típusú egyének alvadékaihoz képest. A „magasabb” ebben az esetben valóban egy relatív fogalom, és a biokémiai kísérletek alapján nem a fibrinogén referencia-tartományához igazodik. Egy korai közleményben, mely ezt a kérdést vizsgálta in vitro kísérletekben, az a fibrinogén koncentráció, amely felett a FXIII-A Leu34 allél hatása a fibrin szerkezetre, permeabilitásra érvényesülni kezd tisztított körülmények között, 3,4 g/L-nek adódott. Ezen biokémiai kísérletes eredmények összhangban vannak a polimorfizmus klinikai vizsgálatokban kimutatott enyhe védő hatásával a szívinfarktus és a vénás tromboembóliás események ellen, melyet több

tanulmányban és metaanalízisben is leírtak . A legújabb *in vitro*, biokémiai eredmények alapján a Leu34 allél trombotikus eseményekkel szembeni védő hatása magasabb, 3,5 g/l feletti fibrinogén koncentráció mellett azáltal is érvényesülhet, hogy jóval kisebb, sejtes elemeket (vörösvérsejteket és thrombocytákat) is tartalmazó vérrög alakul ki a Leu34 allélt hordozókban a vad típusú allélre homozigóta egyénekhez képest. Ezen legújabb *in vitro* kísérletes eredmények igazolása klinikai vizsgálatokban még nem történt meg.

Célkitűzés

Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy különféle fibrinolitikus paraméterek, illetve az agyi ereket elzáró alvadék mérete milyen összefüggést mutatnak az AIS miatt intravénás trombolízisben részesülő betegeknél a terápia rövid- és hosszú távú kimenetelével. Két prospektív, obszervációs klinikai tanulmányt végeztünk a témában:

1. Az elsőben célul tűztük ki a PAI-1 aktivitás és antigén szintek vizsgálatát konszekutív AIS betegekben, a trombolízis során több alkalommal. Célunk volt a PAI-1 szintek, a PAI-1 4G/5G polimorfizmus és terápia kimenetele, illetve biztonságossága közötti összefüggések vizsgálata.
2. A második vizsgálatban célkitűzésünk volt, hogy megvizsgáljuk, hogy a trombus mérete milyen hatással van az intravénás trombolízis kimenetelére. Célunk volt tanulmányozni a trombus méretét leíró clot burden score (CBS) és a különféle hemosztázis paraméterek, köztük a FXIII aktivitás és a FXIII-A Val34Leu polimorfizmus közötti összefüggéseket és hatásukat a lízis sikerére.

Betegek és módszerek

Betegek

A két prospektív, obszervációs vizsgálatunkba AIS betegeket válogattunk a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Neurológiai Klinikáján. Az első tanulmány esetében 131 konszekutív beteg beválogatása történt függetlenül attól, hogy a stroke milyen érellátási területet érintett. A második, eset-kontroll típusú tanulmányba kizárólag anterior keringést érintő, AIS betegeket válogattunk be. Az eset-kontroll tanulmány esetén minden LVO-ban (nagyérelzáródás) (CBS 0–9) szenvedő beteghez egy életkorban és nemben

illesztett LVO nélküli (CBS 10) beteget párosítottunk. A betegeket 519 konszekutív AIS beteg közül választottuk ki, akiket 59 hónap alatt vettünk fel a Neurológiai Klinikára 2011 és 2020 között.

Valamennyi beteg beválasztásánál a 2008-as ESO (European Stroke Organisation) irányelv bevonási és kizárási kritériumait használtuk. Minden beteg intravénás trombolízisben részesült standard protokoll alapján a 4,5 órás terápiás időablakon belül rt-PA alkalmazásával. Mechanikus thrombectomy egyik betegnél sem történt, mivel vagy nem volt még elérhető a hétköznapi gyakorlatban vagy a beteg nem volt alkalmas a beavatkozásra. Az AIS diagnózisát klinikai tünetek és NCCT és CTA alapján állítottuk fel. A trombolízis után 24 órával minden betegnél kontroll CT vizsgálat történt. A CBS-t a felvételi CTA vizsgálatnál, ASPECTS pontszámokat a felvételi és kontroll CT vizsgálatoknál négy radiológus határozta meg egymástól függetlenül.

Valamennyi beteg esetén részletes klinikai anamnézis felvétel történt, beleértve az alapvető antropometriai adatokat (kor, nem, BMI, stb.), cerebrovaszkuláris rizikófaktorokat (artériás hypertonia, dohányzás, stb.) és gyógyszereket. A cerebrovaszkuláris rizikófaktorok tekintetében a rizikót hordozó csoportba soroltuk a beteget, amennyiben a múltban vagy felvételnél igazolódott esetében a rizikó és/vagy ha az adott rizikóra célzott gyógyszeres kezelésben részesült.

A stroke súlyosságát az NIHSS felhasználásával határoztuk meg felvételnél és a kezelés utáni első ill. hetedik napon. A stroke etiológiájának meghatározására a TOAST kritériumokat használtuk. A vérzéses transzformáció osztályozását az ECASS II kritériumok segítségével végeztük, így két csoportot különítettünk el: szimptomatikus és aszimptomatikus vérzéses transzformációt. Vérzés esetén a becsült térfogatot a kontroll koponya CT alapján határoztuk meg a korábban leírtaknak megfelelően.

Mindkét vizsgálat során a következő kimenetekkel számoltunk:

1. A rövid távú kimenetel jellemzésére az NIHSS pontokban bekövetkezett legalább 4 pontos változást használtuk, ennek alapján definiáltuk a kedvező vagy kedvezőtlen kimeneteket.
2. A hosszú távú funkcionális kimenetel jellemzésére a módosított Rankin skálát használtuk (modified Rankin Scale, mRS) 90 nappal a stroke kialakulása után. Kedvezőtlennek tekintettük a hosszú távú kimenetelt, ha az mRS 3 és 6 pont közötti volt.
3. Külön kimeneteli változóként jellemeztük a vérzéses transzformáció jelenlétét vagy hiányát. Az ECASS II kritériumok alapján szimptomatikus ill.

aszimptomatikus vérzéses transzformációt különítettünk el.

A vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága és az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága is jóváhagyta. A tanulmányok protokollja megfelelt az 1975-ös Helsinkai Nyilatkozat etikai irányelveinek. Minden beteg vagy valamelyik hozzátartozó beleegyező nyilatkozatot írt alá bevélogatás előtt.

Vérvételek és laboratóriumi vizsgálatok

A perifériás vénás vérmintákat az első tanulmány esetén három alkalommal: a trombolízis előtt, közvetlenül utána és a beavatkozás után 24 órával vettük le. A második tanulmány esetén a trombolízis előtt ill. a terápia után 24 órával vett vérmintákat használtuk. A felvételi mintákból rutin laboratóriumi vizsgálatokat (elektrolitok, glükóz, vese- és májfunkció, hsCRP, teljes vérkép) végeztünk standard módszerekkel (Roche Diagnostics, Mannheim, Németország és Sysmex Europe GmbH, Hamburg, Németország). A véralvadás szűrővizsgálatait (protrombin idő, aktivált parciális tromboplastin idő és trombin idő) illetve a fibrinogén meghatározását Clauss módszerrel frissen szeparált, citráttal alvadásgátolt plazmamintákból végeztük rutin módszerekkel, BCS koagulométer segítségével (Siemens Healthcare Diagnostic Products, Marburg, Németország). A PAI-1 vizsgálatokhoz a vérmintákat Vacuette CTAD (nátrium-citrát, teofillin, adenzin és dipirimadol) vérlemezke gátlót is tartalmazó csövekbe vettük le, mely megakadályozta, hogy vérminta szállítása, tárolása során a vérlemezkékből utólagosan PAI-1 szabadulhasson fel. A minták feldolgozása azonnal megtörtént: két alkalommal centrifugáltuk őket 1500 g-vel, szobahőmérsékleten, 15 percen át. A plazma alikvotokat egyedi kódokkal láttuk el és -80°C -on tároltuk a további speciális hemosztázis vizsgálatokig. A PAI-1 aktivitás és antigén szinteket szendvics ELISA esszék segítségével végeztük (Technozym PAI-1 Actibind ELISA és Technozym PAI-1 Antigen ELISA, Technoclone, Bécs, Ausztria). Az Actibind esszé kizárólag a szabad, aktív PAI-1 meghatározására alkalmas (referencia tartomány: 1-7 U/ml, a gyártói leirat szerint). A Technozym PAI-1 antigén esszé a szabad, a t-PA-val komplexben lévő és latens PAI-1-et is méri (referencia tartomány: 7-43 ng/ml, a gyártói leirat szerint). A PAI-2 vagy más plazminogén aktivátor inhibitorok nincsenek hatással a vizsgálatokra. A PAI-1 aktivitás és antigén szinteket mindhárom vizsgált időpontban vett vérmintákból meghatároztuk.

Az első klinikai vizsgálatban ezen túl minden beteg esetén meghatároztuk a PAI-1 4G/5G polimorfizmust a LightMix® PAI-1 4G/5G kit segítségével (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). A genomi DNS-t a vérminták buffy-coat rétegéből vontuk ki standard módszerek alkalmazásával (QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen, Hilden, Németország). A PAI-1 4G/5G polimorfizmust a LightMix® segítségével a gyártó leírása szerint, LightCycler® 480 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország) készüléken határoztuk meg.

A második klinikai vizsgálat során végzett speciális hemosztázis mérések esetén szintén standard módszereket alkalmaztunk, a fent leírt, két alkalommal vett vérmintákból tárolt, citráttal alvadásgátolt plazmamintákból végeztük el a meghatározásokat. A plazminogén és az α 2-plazmin inhibitor (α 2-PI) aktivitásának mérésére kromogén tesztek alkalmaztunk és BCS koagulométeren végeztük a méréseket (Siemens Healthcare Diagnostic Products, Marburg, Németország). A D-dimer szinteket immun-turbidimetriás vizsgálattal határoztuk meg, szintén BCS koagulométeren (Siemens Innovance D-dimer, Marburg, Németország). A FXIII aktivitás plazmaszintjét ammónia felszabadulási vizsgálattal határoztuk meg kereskedelmi forgalomban kapható reagenskészlettel (Technochrome FXIII, Technoclone, Bécs, Ausztria). Az FXIII-A Val34Leu polimorfizmust a fent leírt módon izolált genomi DNS-ekből, az általunk korábban leírt módszerrel, valós idejű PCR-rel határoztuk meg, fluoreszcens rezonancia-energiatranszfer detektálással és oladási görbe elemzéssel, LightCycler® 480 készüléken. Valamennyi mérést kóddal ellátott alikvotokból végeztünk, a mérést végzők számára a betegazonosítási és a klinikai adatok titkosak voltak.

Statisztikai elemzés

A statisztikai analízist SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Release 22.0, Chicago, IL), a GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Prism Inc., La Jolla, Kalifornia) és a Stata 12 (Stata Corp, College Station, TX) szoftverek felhasználásával végeztük. Az adatok normalitásának értékelésére Shapiro-Wilk tesztet alkalmaztunk. Két csoport összehasonlítása során Student-féle t-próbát (parametrikus eloszlás) vagy a Mann – Whitney U tesztet (nem-parametrikus eloszlás) használtunk. Több csoport összehasonlítása esetén az adatok normalitásának függvényében ANOVA elemzést használtunk Bonferroni post hoc teszttel vagy Kruskal – Wallis elemzést Dunn – Bonferroni post hoc teszttel. Pearson, illetve Spearman-féle korrelációs koefficiens

segítségével határoztuk meg az összefüggések erősségét a folytonos változók között. A kategorikus változók összehasonlítására χ^2 tesztet vagy Fisher féle egzakt tesztet használtunk. A trombolízis utáni kedvezőtlen rövid- és hosszú távú kimenetel független prediktorainak meghatározására bináris, backward logisztikai regressziós modellt alkalmaztunk. A többváltozós modell egyes elemeit az egyváltozós modellek eredményei, korreláció és irodalmi adatok alapján választottuk be a statisztikai modellbe. A logisztikus regresszió eredményeit esélyhányadosként (odds ratio, OR) és 95%-os konfidencia intervallumként (confidence interval, CI) adtuk meg. A 0,05-nél kisebb p értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

A betegek felvételi paraméterei a PAI-1 4G/5G genotípusuk alapján

Az első vizsgálatba beválogatott 131 beteg közül 31 volt PAI-1 5G/5G homozigóta genotípusú. A felvételi klinikai vagy laboratóriumi jellemzők tekintetében nem különböztek szignifikánsan egymástól a PAI-1 5G/5G homozigóta betegek és a PAI-1 4G hordozók, kivéve abban, hogy a lízis utáni intrakraniális vérzés szignifikánsan gyakoribbnak adódott PAI-1 5G/5G homozigótákban (a vérzés gyakorisága 19,35% vs. 7 % a PAI-1 5G/5G homozigóták vs. a PAI-1 4G hordozók esetén, $P = 0,036$).

PAI-1 szintek a trombolízis alatt

A betegek felvételi értékeihez képest a PAI-1 aktivitás a trombolízis után közvetlenül átmenetileg csökkent a teljes kohorszban. A felvételi PAI-1 aktivitási szintekhez viszonyítva erősen szignifikáns csökkenést figyeltünk meg; az aktivitás medián értéke a referencia intervallum alsó határa alatt volt, közvetlenül a trombolízis után mérve (felvételi PAI-1 aktivitás: medián: 2,34, IQR: 1,46–5,17 U / ml; közvetlenül a trombolízis utáni PAI-1: medián: 0,94 , IQR: 0,73–1,18 U/ml). 24 órával a trombolízis után a PAI-1 aktivitás jelentős emelkedést mutatott (medián: 3,44, IQR: 1,65–7,60 U/L). A PAI-1 aktivitásokkal szemben a PAI-1 antigén szintek változatlanok maradtak a trombolízis során. A legjobb korrelációt a PAI-1 aktivitás és az antigén szint között 24 órával a trombolízis után figyeltük meg (Spearman r : 0,539, $P < 0,001$; r : 0,355, $P < 0,001$ és r : 0,752, $P < 0,001$, felvételkor, közvetlenül a trombolízis után, illetve 24 órával a

trombolízis után).

A PAI-1 4G/5G polimorfizmusnak nem volt hatása a PAI-1 aktivitás és antigén szintekre a trombolízist követően. A felvételi klinikai és laboratóriumi paraméterek közül a PAI-1 szintek jól korreláltak a BMI-vel és a CRP-vel, különösen a 24 órával a trombolízis után mért mintákban (PAI-1 aktivitás 24 órával a trombolízis és BMI: Spearman r : 0,338, $P < 0,001$; PAI-1 aktivitás 24 órával a trombolízis és CRP: Spearman r : 0,418, $P < 0,001$). A PAI-1 szintek elhanyagolható napszaki ingadozást mutattak a vizsgált kohorszban (a medián felvételi PAI-1 aktivitás 0:00 és 12:00 óra között: 2,81, IQR: 1,48–5,97 U/ml, vs. PAI-1 aktivitás 12:01 és 23:59 között: 2,09, IQR: 1,45–4,68 U/ml, $P = 0,363$).

A PAI-1 aktivitás és antigén szintek kapcsolata a stroke súlyosságával, etiológiájával és kimenetelével

A PAI-1 aktivitás és az antigén szintek a felvételnél nem mutattak összefüggést a stroke súlyosságával vagy etiológiájával. Felvételnél a PAI-1 aktivitás szintje szignifikánsan magasabb volt azoknál a betegeknél, akiknek a trombolízis után 24 órával rosszabb ASPECTS (< 7) értékük volt a natív CT felvételeken. A PAI-1 antigénszintek szignifikánsan magasabbak voltak felvételnél és 1 órával a lízis után azoknál is, akiknek az ASPECTS értékük rosszabb volt az eseményt követő 24. órában. Ezen összefüggések ellenére a trombolízis során mért PAI-1 aktivitás és antigén szintek nem mutattak összefüggést a rövid vagy hosszú távú funkcionális kimenetellel ill. a lízis utáni vérzéses transzformációval. A PAI-1 aktivitás és az antigén szintek nem mutattak összefüggést az intrakraniális hematoma becsült térfogatával.

A PAI-1 4G/5G polimorfizmus a vérzéses transzformáció független prediktora

Azoknál a betegeknél, akiknél a lízis után intrakraniális vérzés alakult ki ($n=13$) szignifikánsan alacsonyabb volt a BMI. A hipertónia és a hiperlipidémia gyakorisága szignifikánsan alacsonyabb volt ebben a csoportban, mint azoknál, akiknél nem volt vérzéses szövődmény. Bináris, backward logisztikus regressziós modellt alkalmazva (elemei: életkor, nem, BMI, felvételi NIHSS, hipertónia, hiperlipidémia, PAI-1 4G/5G genotípus) a PAI-1 5G/5G genotípus a lízis utáni vérzéses transzformáció szignifikáns, független kockázati tényezőjének bizonyult. A vérzés kockázata a PAI-1 5G/5G homozigóta betegeknél csaknem ötszörös volt (OR: 4,75, 95% CI: 1,18–19,06, $p = 0,028$).

A PAI-1 5G/5G genotípusú betegeknél a lízis utáni intrakraniális vérzés térfogatának mediánja nagyobb volt, mint a PAI-1 4G hordozók esetén, bár feltehetőleg a relatíve kis esetszám miatt az eltérés nem volt szignifikáns (medián: 16,82, IQR: 1,46–58,16 cm³ vs. medián: 0,67, IQR: 0,26–13,55 cm³, $p = 0,09$).

A trombus tömeg (clot burden score) összefüggése fibrinolitikus markerekkel és a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusával intravénás trombolízissel kezelt akut iszkémiás stroke-os betegeknél

A második, eset-kontroll típusú propektív obszervációs vizsgálatunkba összesen 200, olyan anterior keringés területi AIS-ben szenvedő beteget vontunk be, akiknél intravénás trombolízist végeztünk rt-PA-val: 100 LVO-s (CBS 0-9) és 100 LVO nélküli (CBS 10) kontroll AIS beteget, életkor- és nem szerint illesztve. A dohányzás lényegesen gyakoribb és az NIHSS szignifikánsan magasabb volt a CBS 0-9 csoportban. Jelentős különbségek voltak mind a radiológiai, mind a klinikai kimenetekben a két csoport között. A CBS 0–9 csoportban lévő betegeknél szignifikánsan gyakoribb volt a kedvezőtlen kimenetel rövid- és hosszú távon is, illetve alacsonyabb volt az ASPECTS pontszám a 24 órás kontroll CT vizsgálat során. A rutin laboratóriumi paraméterek közül a hsCRP szignifikánsan magasabb volt a CBS 0-9 csoportban. A plazminogén aktivitás a felvételnél szignifikánsan magasabb volt a CBS 0-9 csoportban, míg más hemosztázis paraméterek nem különböztek érdemben a két csoport között. Az FXIII-A Val34Leu polimorfizmus allélfrekvenciája Hardy-Weinberg egyensúlyban volt a teljes kohorszt vizsgálva (FXIII-A Val34Val: $n = 112$ [56%], FXIII-A Val34Leu: $n = 78$ [39%] és FXIII-A Leu34Leu: $n = 10$ [5%]). Az FXIII-A Val34Leu polimorfizmusának allélfrekvenciája egyik CBS-csoportban sem volt szignifikánsan különböző egy nagy populációs kontrollcsoporthoz viszonyítva.

A FXIII-A Leu34 allélje szignifikánsan gyakoribb volt a CBS 10 csoportban, ami összhangban áll az allél *in vitro* kísérletekben leírt, sejtes elemeket is tartalmazó vérrögtömeg-csökkentő hatásával. Egyváltozós analízis során a Leu34 allél jelentős védőhatást mutatott a nagyobb vérrögök (CBS 0-9) kialakulásával szemben (OR: 0,519; 95% CI: 0,298-0,922, $p = 0,0227$). A CBS 0-9 csoportban 11 betegnél alakult ki vérzéses transzformáció (11%), míg a CBS 10 csoportban ez a szövődmény 7 betegnél fordult elő (7%). Eredményeink alapján a két CBS csoportban kialakuló intrakraniális vérzés aránya az ECASS II (aSICH vagy SICH) szerint osztályozva nem mutatott szignifikáns

különbséget, ami arra utal, hogy a vérrög mérete nincs összefüggésben a lízis utáni vérzéses szövődményekkel a vizsgált kohorszban.

A CBS és egyes kulcsfontosságú fibrinolízis markerek közötti lehetséges összefüggések vizsgálatához a CBS 0–9-es betegcsoportokat további alcsoportokra osztottuk. A vizsgált hemosztázis markerek egyike sem mutatott szignifikáns összefüggést a CBS mértékével felvételnél vagy a lízis után 24 órával, ami kizárja a vizsgált hemosztázis paraméterek jelentős mértékű konsumpciójának lehetőségét nagyobb trombusok esetén. A trombolízis után 24 órával mért D-dimer szintek szintén nem mutattak szignifikáns különbséget a különböző CBS alcsoportok között. Összességében ez arra utal, hogy a CBS mértéke nincs összefüggésben a vizsgált fibrinolitikus markerekkel, így ezek a vizsgálatok nem lennének hasznosak a klinikai gyakorlatban a trombus méretének becslésére.

A CBS összefüggése a rövid- ill. hosszú távú funkcionális kimenetellel

Annak felderítésére, hogy mely klinikai vagy laboratóriumi paraméterek mutatnak összefüggést a trombolízis kimenetelével, bináris, backward, többváltozós logisztikus regressziós statisztikai modellt hoztunk létre. Az egyváltozós elemzések alapján az alacsony CBS, a felvételi magasabb NIHSS, a korábbi stroke és felvételi magasabb plazminogén szint szignifikáns összefüggést mutatott a kedvezőtlen rövid távú kimenetellel. Bár a FXIII-A Leu34 allél szignifikánsan gyakoribb volt a CBS 10-es betegcsoportban, a polimorfizmus nem mutatott összefüggést a rövid távú kimenetekkel. A többszörös logisztikus regressziós modell alapján (elemi: életkor, nem, előző stroke, felvételi NIHSS, felvételi plazminogén aktivitás, illetve CBS) csak az életkor, az NIHSS és a CBS bizonyult a rossz rövid távú kimenetel független prediktorának.

A hosszú távú kimenetel vizsgálata során az egyváltozós analízisek feltárták, hogy idősebb kor, diabetes mellitus, alacsonyabb CBS, magasabb felvételi NIHSS, emelkedett szérum glükóz, emelkedett CRP, emelkedett kreatinin, magasabb felvételi D-dimer érték, magasabb felvételi fibrinogén szint és az alacsonyabb 24 órás FXIII aktivitás szignifikáns összefüggést mutatott a kedvezőtlen hosszú távú kimenetellel. A rövid távú kimenetel esetén megfigyeltékhez hasonlóan az FXIII-A Val34Leu polimorfizmus nem mutatott összefüggést a hosszú távú kimenetekkel ebben a betegcsoportban. A bináris, backward többszörös regressziós modellben a CBS, (CBS 0-9 vs. 10: OR: 2,501; 95% CI: 1,179-5,306, $p = 0,017$), továbbá az életkor, felvételi NIHSS és felvételi kreatinin bizonyult a

hosszú távú funkcionális kimenetel független prediktorának.

Diszkusszió

Annak ellenére, hogy a PAI-1 a leghatékonyabb természetes t-PA inhibitor, szerepe az iszkémiás stroke trombolitikus terápiájában nem teljesen tisztázott. Az első tanulmányunk egyik legfontosabb megállapítása, hogy a PAI-1 5G/5G genotípus jelenléte esetén jelentős a kockázata a lízis utáni vérzéses transzformációnak. Egy nemrégiben publikált szisztematikus összefoglaló közlemény szerint, mely az iszkémiás stroke kimenetelét potenciálisan előrejelző biomarkereket vizsgálta több, mint 6000 közlemény eredményeinek összegzésével, a PAI-1 az egyik legígéretesebb prognosztikai biomarker lehet a trombolitikus kezelés megkezdése előtt. A vizsgált betegcsoportunkban a lízis utáni ICH-ban szenvedő betegek 46,15%-a volt PAI-1 5G homozigóta. Többszörös logisztikus regressziós modellben, amely a lízis utáni vérzés összes lehetséges szokványos kockázati tényezőjét tartalmazta, a PAI-1 5G/5G genotípus jelenléte a legerősebb független kockázati faktor volt a hemorrhagiás transzformáció kialakulása szempontjából (OR: 4,75 95% CI: 1,18–19,06, P = 0,028). Ezen felül a PAI-1 5G/5G genotípusú betegeknél tendenciózusan nagyobb volt a kialakult intracerebrális hematomák becsült térfogata, amely szintén alátámasztja ennek a polimorfizmusnak a lízis utáni vérzés patofiziológiájában játszott lehetséges szerepét.

A PAI-1 5G/5G genotípus elméletileg két módon befolyásolhatja a lízis utáni vérzés kialakulását: egyrészt a plazma PAI-1 szintre gyakorolt hatásával, másrészt az agyban a PAI-1 lokális hatásával a parenchymában, korlátozva a túlzott mértékű t-PA aktivitást. A mi vizsgálatunkban 4G/5G polimorfizmusa nem volt hatással a plazma PAI-1 szintjére, ami összhangban van korábbi vizsgálatok eredményeivel. Elméletileg a PAI-1 5G/5G genotípus az ICH kialakulásához hozzájárulhat lokálisan is, az intracerebrális lézió helyén fellelhető alacsonyabb PAI-1 szinteken keresztül. A trombus lokális PAI-1 szintje lényegesen eltérhet a periférián detektált szintektől. A PAI-1 szintek a stroke lefolyása során is jelentős változást mutathatnak: egy állatkísérletes modellben akut stroke után az intravaszkuláris PAI-1 szintek növekvő tendenciát mutattak, ugyanezt a jelenséget megerősítettük ebben a tanulmányban, akut stroke betegeknél is. A PAI-1 szint ismert befolyásoló tényezőit (pl. BMI és gyulladás) tanulmányunk is megerősítette. Érdekes módon a lízis utáni ICH-ban szenvedő betegeknél szignifikánsan alacsonyabb volt a BMI. Bár az alacsony PAI-1 szintek, az alacsony BMI és a lízis utáni vérzés között potenciálisan

lehetséges az összefüggés, az ebben a tanulmányban alkalmazott backward regressziós modell alapján a BMI nem bizonyult a vérzés független kockázati tényezőjének, ennek igazolására további, nagyobb betegszámú vizsgálatokra van szükség.

A PAI-1 5G/5G genotípus és a vérzéses transzformáció közötti kapcsolat feltehetőleg túlmutat az intravaszkuláris fibrinolízis biokémiai folyamatán. Az asztrocitákból felszabaduló PAI-1 lokálisan csökkentheti a toxicitást és az idegsejtek károsodását azáltal, hogy korlátozza a túlzott t-PA aktivitást a parenchymában. Az asztrociták mellett az agyi endothel sejtek és periciták is expresszálják a PAI-1-et. Ezekből a sejtekből felszabaduló PAI-1 képes megakadályozni a vér-agy gát károsodását. Mivel a PAI-1 4G/5G polimorfizmus befolyásolja a PAI-1 transzkripció aktivitását az emberi asztrocitákban, a PAI-1 5G/5G genotípus hatása a lízis utáni vérzésre feltehetőleg inkább a lokális, szöveti szinten kifejeződő fibrinolitikus egyensúly eltolódásával, mint a plazma PAI-1 szintjével áll kapcsolatban.

Vizsgálatunk során kimutattuk, hogy a PAI-1 aktivitása szignifikánsan csökkent a trombolitikus kezelés során, ugyanakkor a PAI-1 antigénszintekben nem volt megfigyelhető változás (beleértve a szabad, a PAI-1-t-PA-komplex és a látens formákat is). A kohorszban a medián PAI-1 aktivitás közvetlenül a trombolízis után az alsó referencia határérték alá csökkent, ami azt jelzi, hogy a PAI-1 hatékonyan gátolja a felesleges rt-PA aktivitást a trombolitikus terápia során. Ennek ellenére a PAI-1 aktivitás és antigén szintek abszolút értékei nem mutattak szignifikáns összefüggést a kezelés hatékonyságával vagy biztonságosságával. Meg kell azonban jegyezni, hogy felvételnél és 1 órával a lízis után szignifikánsan magasabb volt a PAI-1 antigénszint azoknál a betegeknél, akiknél a 24 órás kontroll CT felvételen súlyosabb, nagyobb kiterjedésű iszkémiás lézió volt (ASPECTS <7). Ezeknél a betegeknél a medián PAI-1 antigénszint felvételnél és a lízis után 1 órával kétszer olyan magas volt, mint a kedvező pontszámú betegeknél. Hasonló, szignifikáns különbséget figyeltünk meg a felvételi PAI-1 aktivitási szintek között a két különböző radiológiai súlyosságú csoport között. Ezek az eredmények azt jelzik, hogy a megemelkedett PAI-1 aktivitás/antigén szintek felvételnél megjósolhatják a súlyosabb iszkémiás lézió kialakulását 24 órával a lízis után. A PAI szintek ilyen típusú összefüggését a képző eredményekkel korábban nem írták le. A PAI-1 aktivitás medián értéke a lízist követő 24 órában tendenciózusan magasabb volt a kedvezőtlen hosszú távú funkcionális kimenetelű betegeknél a jó kimenetelű betegekhez képest (mRS 3–6 vs. 0-2); azonban a különbség mértéke ebben a betegcsoportban nem érte el a statisztikai szignifikancia határértékét ($p = 0,091$).

Második tanulmányunkban a trombus tömeg összefüggését vizsgáltuk a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusával és a trombolitikus terápia kimenetelével. A CBS a trombus méretét és hosszát pontosan osztályozza, és korábbi vizsgálatokban már igazolták hasznosságát az intravénás trombolízisre potenciálisan kedvezőtlenül reagálók azonosításában. Vizsgálatunkban igazoltuk, hogy a magasabb CBS kedvezőbb rövid és hosszú távú kimenetellel jár, és a CBS-t az AIS trombolitikus kezelésének prognosztikus markereként lehet használni. Eredményeink alapján a rekanalizáció és a trombolízis kimenetele nagymértékben függ a trombus méretétől. Tanulmányunkban elsők között vizsgáltuk kulcsfontosságú hemosztázis markerek trombusmérettel való összefüggéseit AIS betegeknél. Feltételeztük, hogy a trombus mérete összefüggésben állhat az alvadékszerkezetet és a lízist szabályozó fő koagulációs vagy fibrinolízis fehérjék szintjével. Érdekes módon azt találtuk, hogy a felvételi plazminogén szint kivételével nem volt közvetlen összefüggés a trombusméret és a fibrinolízis főbb paraméterei között a betegek felvételekor (trombolízis előtt) vagy 24 órával később. A vizsgált betegcsoportban a plazminogén szint szignifikánsan alacsonyabb volt magasabb CBS pontszámú, kisebb trombusmérettel bíró betegeknél, ami a plazminogén jelentősebb mértékű beépülésének, konszumpciójának eredménye lehet.

Az alacsonyabb plazminogén szintek nemcsak a magasabb CBS pontszámmal (kisebb trombusmérettel) voltak összefüggésben, hanem a kedvezőbb rövid távú funkcionális kimenetellel is az egyváltozós statisztikai modellben. Többváltozós modellben azonban a felvételi plazminogén szintek független hatását a rövid távú kimenetelre nem tudtuk bizonyítani. Az irodalomban csak egy olyan tanulmány található, amelyben a hemosztázis fehérjék kapcsolatát vizsgálták a CBS-sel. Ebben a vizsgálatban kizárólag a fibrinogént mérték AIS betegek egy kisebb csoportjában, és azt állapították meg, hogy magasabb fibrinogén szint kisebb trombusmérettel van összefüggésben. A saját, sokkal több beteget tartalmazó vizsgálatunkban a felvételi és 24 órás lízis utáni fibrinogén szintek gyakorlatilag azonosak voltak a különböző CBS-es betegcsoportokban, vagyis ezt az összefüggést mi nem tudtuk megerősíteni. A fibrin és a fibrinolitikus rendszer mellett a trombus méretét befolyásolhatják a vörösvérsejtek és a thrombocyták is, amelyek a trombusok fontos celluláris elemei. Tanulmányunkban enyhén, de szignifikánsan csökkent vörösvértestszámot és hemoglobin-koncentrációt találtunk azoknál a betegeknél, akiknél magasabb volt a CBS (<10). További vizsgálatok nélkül egyelőre nem lehet azt kijelenteni, hogy ez a különbség a felhasználódás következménye vagy sem, de összességében a vörösvértestek száma nem volt összefüggésben a kimenetellel ebben a

kohorszban. A vérlemezkeszám szintén nem mutatott összefüggést a trombus méretével vagy a kimenetekkel.

Vizsgálatunkban igazoltuk, hogy a FXIII-A Val34Leu polimorfizmus jelentős hatással volt az alvadék méretére *in vivo*. A FXIII számos mechanizmussal vehet részt az alvadék ill. a trombus méretének korlátozásában, ideértve a vörösvérsejtek trombusokban való retenciójának szabályozását vagy a vérlemezék és a fibrin kapcsolatának downregulációját. A FXIII gyakoribb polimorfizmusai közül a FXIII-A Val34Leu polimorfizmust a leginkább vizsgált a trombotikus kórképek rizikójával összefüggésben. Metaanalízisek megerősítették, hogy a FXIII-A Leu34 allél enyhe védő hatást nyújt a koszorúér-betegség és a vénás tromboembóliák kialakulásával szemben, de iszkémiás stroke esetén egyelőre még nincs ezzel kapcsolatos evidencia. A FXIII-A Val34Leu polimorfizmusának hatását igazoltan befolyásolják gén-környezeti kölcsönhatások. Számos vizsgálat kimutatta, hogy a Leu34 védő hatása magas fibrinogén koncentráció esetén érvényesül. *In vitro*, kísérletes tanulmányokban igazolták, hogy a FXIII-A Leu34 allél jelenlétében képződött fibrin alvadék kevésbé ellenálló a fibrinolízissel szemben a FXIII-A Val34 allélhoz képest. Munkacsoportunk egy nemrég közölt kollaborációs vizsgálatában először mutattuk ki, hogy az *in vitro* kísérletekben rekonstruált, celluláris elemeket is tartalmazó teljes vérrög tömegét nagyban meghatározza a FXIII-A Val34 Leu polimorfizmus. Magas fibrinogénszintű (~ 3,5 g /l) plazmaminták alkalmazása során az alvadék tömege szignifikánsan nagyobb volt a FXIII-A Val34 genotípusú vérmintákból képzett vérrögök esetén a homozigóta Leu34 genotípusú vérmintákhoz képest. Az AIS-betegek jelenlegi kohorszában a felvételnél a fibrinogén mediánja 3,5 g/l felett volt mindkét vizsgált csoportban (CBS 0–9 vs CBS 10: 3,88 g/L vs. 3,91 g/L), ezért a Leu34 allél hatása mindkét csoport esetén érvényesülhetett. Az FXIII-A Leu34 allél CBS-re gyakorolt hatásának a fibrinogén szintek rétegezését is magába foglaló, komplex statisztikai elemzése során nem tudtuk ebben a kohorszban az allél fibrinogén-szint függő hatását kimutatni, amely feltehetőleg az akut esemény fibrinogénszintre gyakorolt hatásával magyarázható. Eredményeink alapján azonban egyértelműen igazoltuk, hogy a FXIII-A Leu34 allél jelenléte szignifikáns védelmet mutatott a nagyobb (CBS 0-9) alvadékok kialakulásával szemben (OR: 0,519; 95% CI: 0,298-0,922, $p = 0,0227$) a vizsgált kohorszban. A többváltozós elemzés során a polimorfizmus azonban nem bizonyult a funkcionális kimenetek független prediktorának. Mivel a trombolízis kimenetét számos tényező befolyásolja, elsősorban a stroke súlyossága és lokalizációja, valószínű, hogy az FXIII-A Val34Leu polimorfizmus nem járul hozzá jelentősen a

betegek általános funkcionális kimeneteléhez. Ez összhangban van egy korábbi tanulmányunkkal, ahol a FXIII-A Val34Leu nem volt hatással a kimenetelre egy kisebb, trombolízissel kezelt AIS betegcsoportban.

Többváltozós modellek alapján a CBS a rövid és hosszú távú kimenetek független prediktorának bizonyult a vizsgált kohorszban (CBS 0-9 vs. 10: OR: 2,777; 95% CI: 1,439-5,361, $p = 0,002$ és OR: 2,501; 95% CI: 1,179-5,306, $p = 0,017$). Korábbi vizsgálatok már felvetették, hogy az alacsonyabb CBS-sel (nagyobb trombusmérettel) rendelkező betegek nagyobb valószínűséggel profitálnak az endovaszkuláris kezelésből, mint önmagában az intravénás trombolízisből. Másrészt számos korábbi evidencia arra enged következtetni, hogy a trombus hosszán kívül az alvadék szerkezete, tulajdonságai (pl. kora) is fontos szerepet játszanak a rekanalizációban intravénás trombolízis és/vagy thrombectomy során. Tanulmányunkban igazoltuk, hogy a trombus mérete valóban az egyik legfontosabb, a trombolízist befolyásoló tényezők közé tartozik, és a trombus mérettel összefüggésben potenciális különbségek a kulcsfontosságú fibrinolitikus faktorok szintjeiben nem voltak detektálhatóak perifériás vérmintákban sem felvételnél, sem 24 órával a lízis után. Egyváltozós modellekben a magasabb felvételi D-dimer szintek, magasabb felvételi fibrinogén szintek és alacsonyabb 24 órás FXIII aktivitás szignifikáns összefüggést mutattak a kedvezőtlen hosszú távú kimenetellel. A többszörös logisztikus regressziós modellben azonban ezeket az asszociációkat nem tudtuk igazolni.

Konklúzió

Az akut iszkémiás stroke intravénás rt-PA kezelését követően a kedvezőtlen klinikai kimenetelhez és vérzéses szövődményekhez vezető mechanizmusok megértésében számos előrelépés született már, ennek ellenére individualizált kockázatbecslés egyelőre nem lehetséges. A trombolízis klinikai hatástalansága, valamint a vérzéses szövődmények feltehetőleg összefüggést mutatnak a hemosztázis rendszer főbb elemeivel, regulátoraival. Az akut stroke-os betegek koagulációs és/vagy fibrinolitikus markereivel kapcsolatban számos tanulmány áll rendelkezésre, de a legtöbb viszonylag kevés beteget tartalmaz, így alacsony a statisztikai erejük. További problémát jelent, hogy a vizsgálatok többsége esetén a vérvételek időpontját nem határozták meg pontosan a lízishez képest, vagy a lízis után történt csak vérvétel. Ezen korábbi eredmények alapján a kezelésre és a monitorozásra vonatkozó klinikai ajánlások egyelőre nem hozhatók létre. Ennek ellenére néhány marker potenciálisan alkalmasnak tűnik terápiás eredmények előrejelzésére. A

hemosztázis rendszer markereinek a trombolízis kimenetelét előrejelző prognosztikai értékről egy irodalmi összefoglaló közleményt közzeltünk .

Az irodalmi háttért tanulmányozva első tanulmányunkban a PAI-1 potenciális szerepére összpontosítottunk, és kimutattuk, hogy a PAI-1 4G/5G polimorfizmusa a vérzéses transzformáció független prediktora. Ezen eredményünk kiindulási pontja lehet olyan intervenciós tanulmányoknak, melyben betegágy-melletti (point-of-care) diagnosztika révén individualizált hemorrhagiás transzformáció rizikó lenne felállítható és mindez megteremthetné az alapjait a jövőben az egyénre szabott stroke terápiának. Másik tanulmányunkban a FXIII-A Val34Leu polimorfizmusát vizsgálva arra a következtetésre jutottunk, hogy a FXIII-A Leu34 allél jelenléte szignifikáns védelmet mutat a nagyobb méretű alvadékok kialakulásával szemben. Igazolva korábbi tanulmányok eredményeit, a nagyobb trombusméret (alacsony CBS) a kedvezőtlen rövid és hosszú távú kimenetel független prediktorának bizonyult.

A jövőben további jól tervezett, prospektív klinikai vizsgálatokra van szükség, nagy betegcsoportok bevonásával, hogy jobban megértsük a koagulációs és fibrinolitikus rendszert az rt-PA terápia során, és hogy megerősítést nyerjen a jelenleg ígéretesnek tűnő markerek prognosztikai értéke a klinikai döntéshozatalban. Az ilyen vizsgálatokból levont következtetések a trombolitikus kezelés hatékonyságának és/vagy biztonságosságának javulásához vezethetnek, és megteremthetik az egyénre szabott trombolitikus terápia alapjait.

Limitációk

A legtöbb obszervációs klinikai vizsgálathoz hasonlóan, tanulmányainknak is vannak korlátai. A betegek bevonása egyetlen központban történt (single-center study), mely miatt a mintaszámunk korlátozott. Összehasonlítva azonban más publikált tanulmányokkal, amelyekben akut iszkémiás stroke-os betegekben, trombolízis előtti és utáni mintákban vizsgálták a hemosztázis és/vagy a fibrinolízis biomarkereit, tanulmányaink az irodalomban eddig közzölt legnagyobb mintaszámú vizsgálatok között vannak. Mivel nem multicentrikus tanulmányokról van szó, a betegellátás és a minták kezelése egységes volt, ráadásul a lemorzsolódott betegek aránya figyelemre méltóan alacsony volt (PAI-1 vizsgálat: 17,5% a hosszú távú kimenetel esetében; CBS vizsgálat: 2% a rövid és 3,5 % a hosszú távú kimenetel esetében). Meg kell azonban jegyezni, hogy a viszonylag alacsony mintaszám az utánkövetés során lemorzsolódott betegek révén

bizonyos mértékben befolyásolhatta az eredményeket, így nagyobb klinikai vizsgálatokra van szükség az eredményeink megerősítéséhez. További limitáció, hogy a tanulmányainkban vizsgált hemosztázis ill. fibrinolitikus markerek szintjét perifériás vérmintákból határoztuk meg, és a lokális hemosztázis viszonyok az agyban ettől jelentősen eltérőek lehetnek, vagy hatásaik nem feltétlenül tükröződnek a periférián. A vizsgált fehérjék trombolízis kimenetelben betöltött pontos szerepének megítéléséhez emiatt további tanulmányokra van szükség.

Összefoglalás

Bevezetés: A rekombináns szöveti plazminogén aktivátorral (rt-PA) végzett trombolízis az akut iszkémiás stroke (AIS) legfontosabb kezelési módszere, azonban csak a betegek egy részénél hatékony. Prospektív, obszervációs vizsgálatainkban fibrinolitikus markerek, illetve az agyi ereket elzáró alvadék méretének összefüggését tanulmányoztuk intravénás trombolízisben részesülő betegeknél a terápia rövid- és hosszú távú kimenetelével.

Módszerek: Az első vizsgálatban 131 konszekutív, intravénás rt-PA kezelésben részesülő AIS betegben vizsgáltuk a plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) szintek, a PAI-1 4G/5G polimorfizmus és terápia kimenetele, illetve biztonságossága közötti összefüggéseket. A második, eset-kontroll tanulmányban 200 AIS beteg esetében vizsgáltuk a trombus méretét leíró clot burden score (CBS) és a különféle hemosztázis paraméterek, köztük a XIII-as faktor (FXIII) aktivitás és a FXIII-A Val34Leu polimorfizmus közötti összefüggéseket és hatásukat a trombolízis sikerére. A perifériás vénás vérmintákat a trombolízis előtt, közvetlenül utána (csak az első tanulmány esetén) és a kezelés után 24 órával vizsgáltuk. A rövid távú kimenetel jellemzésére az NIHSS legalább 4 pontos változását használtuk. A hosszú távú funkcionális kimenetel jellemzésére a módosított Rankin skálát használtuk 90 nappal a stroke kialakulása után.

Eredmények: A PAI-1 aktivitása szignifikánsan csökkent a trombolitikus kezelés során, ugyanakkor a PAI-1 antigénszintekben nem volt változás. A PAI-1 aktivitás ill. antigénszintek nem mutattak összefüggést a terápia kimenetelével. Bináris, backward logisztikus regressziós modellt alkalmazva a PAI-1 5G/5G genotípus a lízis utáni vérzéses transzformáció szignifikáns, független kockázati tényezőjének bizonyult (OR: 4,75; 95% CI:1,18–19,06, $p=0,028$). Egyváltozós analízis során a FXIII-A Leu34 allél jelentős védőhatást mutatott a nagyobb vérrögök (CBS 0-9) kialakulásával szemben (OR: 0,52; 95%CI:0,30–0,92, $p=0,0227$). A többváltozós analízis feltárta, hogy a CBS a rövid és hosszú távú kimenetek független prediktora (CBS 0–9 vs. 10: rövid távú kimenetel OR:2,78; 95%CI:1,44–5,36, $p = 0,002$, hosszú távú kimenetel OR:2,50; 95%CI: 1,18–5,31, $p=0.017$), míg a vizsgált hemosztázis paraméterek ilyen hatását nem tudtuk igazolni.

Konklúzió: Az általunk vizsgált kohorszban a PAI-1 4G/5G polimorfizmusa a vérzéses transzformáció független prediktorának bizonyult. A FXIII-A Leu34 allél jelenléte szignifikáns védelmet mutatott a nagyobb méretű alvadékok kialakulásával szemben. Eredményeink alapján a nagyobb trombusméret (alacsony CBS) a trombolízis kedvezőtlen rövid és hosszú távú kimenetelének független prediktora.

Új tudományos megállapítások

- Akut iszkémiás stroke miatt intravénás trombolízisben részesülő, 131 beteget tartalmazó prospektív obszervációs vizsgálatunk során megállapítottuk, hogy a PAI-1 aktivitása szignifikánsan csökkent a trombolitikus kezelés során, ugyanakkor a PAI-1 antigénszintekben nem volt megfigyelhető változás (beleértve a szabad, a PAI-1-t-PA-komplex és a látens formákat is).
- Felvételnél a PAI-1 aktivitás, felvételnél és 1 órával a lízis után a PAI-1 antigénszint szignifikánsan magasabb volt azon betegeknél, akiknél a 24 órás kontroll CT felvételen súlyosabb, nagyobb kiterjedésű iszkémiás lézió volt megfigyelhető (ASPECTS <7). A PAI-1 aktivitás és antigén szintek azonban egyik vizsgált időpontban sem mutattak szignifikáns összefüggést a terápia hatékonyságával vagy biztonságosságával.
- Többszörös logisztikus regressziós modellben, amely a lízis utáni hemorrhagiás transzformáció valamennyi kockázati tényezőjét tartalmazta, a PAI-1 5G/5G genotípus jelenléte a legerősebb független kockázati tényező volt a hemorrhagiás transzformáció kialakulása szempontjából (OR: 4,75 95% CI: 1,18–19,06, P = 0,028).
- Akut iszkémiás stroke miatt intravénás trombolízisben részesülő, 200 beteget magában foglaló prospektív obszervációs eset-kontroll vizsgálatunkban megállapítottuk, hogy a felvételi plazminogén szint szignifikánsan alacsonyabb volt magasabb CBS pontszámú, kisebb trombusmérettel bíró betegeknél, ami a plazminogén jelentősebb mértékű beépülésének, konzumpciójának eredménye lehet.
- Egyváltozós modellben a FXIII-A Leu34 allél jelenléte szignifikáns védelmet mutatott a nagyobb (CBS 0-9) alvadékok kialakulásával szemben (OR: 0,519; 95% CI: 0,298–0,922, p = 0,0227) a vizsgált kohorszban, mely összhangban áll az allél biokémiai kísérletekben kimutatott alvadék-méret csökkentő hatásával.
- Egyváltozós modellekben a magasabb felvételi D-dimer szintek, magasabb felvételi fibrinogén szintek és alacsonyabb 24 órás FXIII aktivitás szignifikáns összefüggést mutattak a kedvezőtlen hosszú távú kimenetellel, de többváltozós modellben ezen hemosztázis tényezők hatásait a kimenetelre nem lehetett igazolni.
- Többváltozós modellek alapján a trombus méret (CBS) a trombolízis rövid és hosszú távú kimenetelének egyik legfontosabb független prediktorának bizonyult a vizsgált kohorszban (CBS 0-9 vs. 10: OR: 2,777; 95% CI: 1,439–5,361, p = 0,002 és OR: 2,501; 95% CI: 1,179–5,306, p = 0,017).

Publikációs lista



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/389/2021.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Szegedi István

Doktori Iskola: Idegtudományi Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Szegedi, I.**, Orbán-Kálmándi, R. A., Nagy, A. C., Sarkady, F., Molnárné Vasas, N., Sik, M., Lánczi, L., Berényi, E., Oláh, L., Crişan, A., Csiba, L., Bagoly, Z.: Decreased clot burden is associated with factor XIII Val34Leu polymorphism and better functional outcomes in acute ischemic stroke patients treated with intravenous thrombolysis.
PLoS One. 16 (7), 1-16, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0254253>
IF: 3.24 (2020)
2. Bagoly, Z., **Szegedi, I.**, Orbán-Kálmándi, R. A., Tóth, N. K., Csiba, L.: Markers of Coagulation and Fibrinolysis Predicting the Outcome of Acute Ischemic Stroke Thrombolysis Treatment: a Review of the Literature.
Front. Neurol. 10, 1-13, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2019.00513>
IF: 2.889
3. **Szegedi, I.**, Nagy, A. C., Székely, E. G., Czuriga-Kovács, K. R., Sarkady, F., Lánczi, L., Berényi, E., Csiba, L., Bagoly, Z.: PAI-1 5G/5G genotype is an independent risk of intracranial hemorrhage in post-lysis stroke patients.
Ann. Clin. Trans. Neurol. 6 (11), 2240-2250, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/acn3.50923>
IF: 3.66





További közlemények

4. Orbán-Kálmándi, R. A., **Szegedi, I.**, Sarkady, F., Fekete, I., Fekete, K., Molnárné Vasas, N., Berényi, E., Csiba, L., Bagoly, Z.: A modified in vitro clot lysis assay predicts outcomes and safety in acute ischemic stroke patients undergoing intravenous thrombolysis.
Sci. Rep. 11 (1), 1-14, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-92041-1>
IF: 4.379 (2020)
5. Kalmár, J. P., Tárkányi, G., Nagy, B. C., Csécsei, P., Lenzser, G., Bosnyák, E., Kárádi Nozomi, Z., Annus, Á., **Szegedi, I.**, Büki, A., Szapáry, L.: Comparing Endovascular Treatment Methods in Acute Ischemic Stroke Due to Tandem Occlusion Focusing on Clinical Aspects.
Life (Basel). 11 (5), 1-10, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/life11050458>
IF: 3.817 (2020)
6. Bagoly, Z., Baráth, B., Orbán-Kálmándi, R. A., **Szegedi, I.**, Kissné Bogáti, R., Sarkady, F., Csiba, L., Katona, É.: Incorporation of [alfa]2-Plasmin Inhibitor into Fibrin Clots and Its Association with the Clinical Outcome of Acute Ischemic Stroke Patients.
Biomolecules. 11 (3), 1-13, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biom11030347>
IF: 4.879 (2020)
7. Kešnerová, P., Školoudík, D., Herzig, R., Netuka, D., **Szegedi, I.**, Langová, K., ANTIQUE Trial Group: Peripheral Vascular Resistance in Cerebral Arteries in Patients With Carotid Atherosclerosis - Substudy Results of the Atherosclerotic Plaque Characteristics Associated with a Progression Rate of the Plaque and a Risk of Stroke in Patients With the Carotid Bifurcation Plaque Study (ANTIQUÉ).
J. Ultrasound Med. [Epub ahead of print], 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jum.15703>
IF: 2.153 (2020)
8. Tárkányi, G., Csécsei, P., **Szegedi, I.**, Fehér, E., Annus, Á., Molnár, T., Szapáry, L.: Detailed severity assessment of Cincinnati Prehospital Stroke Scale to detect large vessel occlusion in acute ischemic stroke.
BMC Emerg Med. 20 (1), 1-6, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12873-020-00360-9>
IF: 2.119
9. Tárkányi, G., Kárádi, Z. N., Szabó, Z. S., **Szegedi, I.**, Csiba, L., Szapáry, L.: Relationship between leukocyte counts and large vessel occlusion in acute ischemic stroke.
BMC Neurol. 20 (1), 1-8, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12883-020-02017-3>
IF: 2.474





10. **Szegedi, I.**, Orbán-Kálmándi, R. A., Csiba, L., Bagoly, Z.: Stroke as a Potential Complication of COVID-19-Associated Coagulopathy: a Narrative and Systematic Review of the Literature. *J Clin Med.* 9 (10), 3137-3148, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm9103137>
IF: 4.241
11. Finnsdóttir, H., **Szegedi, I.**, Oláh, L., Csiba, L.: The applications of transcranial doppler in ischemic stroke. *Ideggyogy. Szle.* 73 (11-12), 367-378, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18071/isz.73.0367>
IF: 0.427
12. **Szegedi, I.**, Szapáry, L., Csanádi, Z., Csiba, L.: Potential biological markers of atrial fibrillation: a chance to prevent cryptogenic stroke. *Biomed Res. Int.* 2017 (8153024), 1-10, 2017.
IF: 2.583

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 36,861

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
9,789**

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

Debrecen, 2021.07.20.

