

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**HEMODINAMIKAI ÉS HEMOSZTÁZIS VIZSGÁLATOK
CEREBROVASCULARIS MEGBETEGEDÉSEKBEN**

Dr. OLÁH LÁSZLÓ

TÉMAVEZETŐ: DR. CSIBA LÁSZLÓ



**DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM,
NEUROLÓGIAI KLINIKA**

DEBRECEN, 2002.

I. BEVEZETÉS

A fejlett nyugati országokban és hazánkban a cerebrovascularis betegségek a daganatos és a cardiovascularis megbetegedések után a 3. helyet foglalják el a mortalitási statisztikában és első helyen állnak a mozgáskorlátozottsághoz vezető kórképek tekintetében. Míg azonban a fejlett országokban az elmúlt években a stroke gyakoriság és halálozás csökkent, hazánkban a tendencia nem ilyen kedvező.

A betegség megelőzése, kezelése alapvető népegészségügyi feladat, de a morbiditás és mortalitás csökkenése csak átfogó, a stroke-kal kapcsolatos klinikai módszerek komplex alkalmazásától várható. A stroke incidenciája a rizikófaktorok megelőzésével és kezelésével, míg a mortalitás a betegség és szövődményeinek eredményesebb kezelésével csökkenthető. A stroke nagy részét kitevő arteriális fokális agyi ischaemia közvetlen oka:

- 1) az agyat ellátó extracranialis erek (arteria carotisok, arteria vertebralisok) szignifikáns szűkülete, vagy occlusioja, mely az agyi perfúzió kritikus szint alá csökkenése esetén funkcionális, vagy morfológiai károsodáshoz vezet,
- 2) az agyat közvetlenül ellátó intracranialis erek (a. cerebri media, anterior, vagy posterior) vagy azok ágainak rövidebb-hosszabb ideig tartó elzáródása (melynek hátterében vagy az elzáródás helyén kialakuló thrombus, vagy a nyaki érszűkületről, illetve a szívből származó embolisatio áll),
- 3) a fenti mechanizmusok együttes jelenléte.

1.1. Az extracranialis erek szűkülete okozta hemodinamikai változások

Az extracranialis erek szűkülete általában atherosclerosis talaján alakul ki, melynek a genetikai tényezőkön túl számos oka lehet, például hypercholesterinaemia, dohányzás, hypertensio, diabetes mellitus. Ha a kialakult szűkület eléri a **hemodinamikai** szempontból kritikus értéket (kb. 70% átmérőcsökkenés), a léziótól distalisan csökken a perfúziós nyomás, hacsak ezt a Willis kör felől a kollaterális keringés az arteria communicans anterioron és posteriorokon keresztül nem tudja kompenzálni. Amennyiben erre a communicansok fejletlensége miatt nincs mód, a perfúziós nyomás csökken, ami a cerebralis autoreguláció révén a rezisztencia arteriolák vazodilatációját eredményezi. Ez a kompenzatorikus mechanizmus a cerebrovascularis rezisztencia csökkenését, s ezzel a vérátáramlás fokozódását idézi elő, ellensúlyozva a csökkent perfúziós nyomást. Ha azonban az arteriolák már maximálisan dilatáltak, a perfúziós nyomás csökkenésével a vérátáramlás is csökken. Ekkor a következő

kompenzációs lehetőség a kapilláris vérből történő fokozott oxigén extractio, mellyel még megfelelő szöveti oxigén ellátás biztosítható. A perfúziós nyomás további csökkenése azonban agyi ischaemia kialakulásához vezet, funkcionális, súlyos esetben morfológiai eltéréseket okozva.

1.2. A kóros alvadékonyság főbb okai és lehetséges szerepe cereбрalis ischaemiában

Az agyat közvetlenül ellátó intracranialis erek vagy azok ágainak elzáródása háttérben lokális thrombosis vagy a nyaki nagyérszűkületből, illetve a szívből származó embolisatio állhat. Mind a lokális thrombosis, mind az embolisatio közvetett vagy közvetlen oka az esetek túlnyomó részében a **keringő vér megalvadása** az arteriás rendszer meghatározott helyein. Ennek főbb okai A) az endothel felszín sérülése és/vagy a fokozott thrombocyta aktiváció, B) a szívizom elhalása vagy a pitvarfibrilláció miatti hypo-, vagy akinesis okozta stasis, valamint a C) plazmatikus alvadási faktorok fokozott aktivitása és/vagy a nem kielégítő fibrinolysis. Az ischaemiás stroke terápiájában bizonyítottan hatásos thrombolysis, illetve thrombocyta aggregatiót gátló szerek is a véralvadás jelentőségére hívják fel a figyelmet.

Az esetek egy részében tehát inkább **hemodinamikai okkal** (a perfúziós nyomás csökkenése), míg máskor a **véralvadás valamilyen okból történő aktivációjával** magyarázható az agyi keringészavar.

Dolgozatomban a fokális cereбрalis ischaemia kialakulásának két alapvető okát, a hemodinamikai változásokat és a hemosztázis rendszer eltéréseit vizsgáltam.

II. VIZSGÁLATAINK CÉLKITŰZÉSEI

Vizsgálatainkkal a következő kérdésekre kerestünk választ:

1. Milyen gyakran fordul elő carotis szűkület azokban a betegekben, akiknek súlyos alsóvégtagi érszűkülete van? Milyen a rizikófaktorok előfordulási gyakorisága, megoszlása ebben a betegcsoportban?

2. Milyen a cereбрalis vazoreaktivitás és a cerebrovascularis rezervkapacitás egészséges személyekben, illetve szimptomás és aszimptomás carotis stenosisban vagy occlusioban szenvedő betegekben? Hogyan változik a cereбрalis hemodinamika az átmeneti agyi ischaemia különböző fázisaiban?

3. Vannak-e hemosztázis eltérések akut ischaemiás stroke-ban? Milyen a thrombocyta aggregatio mértéke az agyi keringészavarban szenvedőkben? Milyen gyakori a coagulációs és fibrinolyticus rendszer zavara cerebralis ischaemiában?

III. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

III.1. Súlyos alsóvégtagi érszűkületben szenvedő betegek carotis Doppler vizsgálatával szerzett tapasztalataink

Ismert, hogy az atherosclerosis nemcsak egy éret érint, hanem több arteria megbetegedését okozza. Gyakran találkozunk olyan agyi keringészavarban szenvedő beteggel, akinek súlyos alsóvégtagi verőérszűkülete is van vagy szívinfarktusa volt. Ezért azt vizsgáltam, milyen a carotis szűkület előfordulási gyakorisága azokban a betegekben, akiknek súlyos, alsóvégtagi rekonstrukciós érműtétet igénylő verőérszűkületük volt.

Betegek és módszerek

Nyolcvanhárom beteget (71 férfi, 12 nő; átlagéletkor: 62±10 év) vizsgáltunk, akik súlyos, alsóvégtagi rekonstrukciós érműtétet igénylő érszűkületben szenvedtek. A kontroll csoportba (96 személy; 72 férfi, 24 nő; átlagéletkor: 63±11 év) azok kerültek, akiknek sem neurológiai tünetük, sem alsóvégtagi keringészavarra utaló eltérésük nem volt. A carotis Doppler vizsgálat mellett a stroke és atherosclerosis rizikófaktoraira irányuló anamnesis felvétel és vizsgálat történt.

A carotis rendszert az arteria carotis communis proximalis, látható szakaszától kezdve a carotis oszláson át, az arteria carotis interna lefutását distalis irányba követve vizsgáltuk (Siemens Sonoline-2; Siemens, München, Németország), s a B-mode képek alapján látott szűkületet mértük (legnagyobb átmérőcsökkenés a stenosis magasságában, a poststenoticus szakaszhoz viszonyítva). Súlyosság szerint 3 csoportot képeztünk: az 1-30%-os szűkületet enyhe, a 31-70 %-os szűkületet közepesen súlyos, a 71-99%-os szűkületet és occlusiót súlyos stenosisként értékeltük.

Statisztikai analízis

A kontroll és a betegcsoport közötti különbség vizsgálatára variancia-analízist (ANOVA) használtunk és a Fischer LSD post hoc tesztet végeztük. A $p < 0.05$ értéket fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak.

III.2. A cerebralis hemodinamika vizsgálata

III.2.1. A cerebralis hemodinamikában a nemek között tapasztalt eltérések

A cerebralis hemodinamikát számos betegcsoportban vizsgálták, azonban meglehetősen kevés tanulmányt közöltek egészséges személyeken, s ezek eredményei is ellentmondóak. Ezért mi is vizsgáltuk a cerebrovascularis reaktivitást (CVR) és a rezervkapacitást (CRC) egészséges nőkben és férfiakban. További alcsoport analízist végeztünk a menopausa előtt illetve után lévő nők és hasonló korú férfiak között.

Betegek és módszerek

Huszonkilenc nőt és huszonhét hasonló korú férfit vizsgáltunk. A nőket további 2 alcsoportra osztottuk, attól függően, hogy volt-e rendszeres menstruációjuk (praemenopausa csoport) vagy már a menopausa után voltak (postmenopausa csoport). A férfiakat is 2 alcsoportra osztottuk a koruk alapján (fiatal és idős férfiak) úgy, hogy a két női és férfi alcsoport átlagéletkora és életkoreloszlása hasonló legyen.

A transcranialis Doppler vizsgálatokat EME TC-2 64 B típusú készülékkel (Eden Medizinische Elektronik, Überlingen, Németország) és 2 MHz-es szondával végeztük. A cerebrovascularis reaktivitást és a cerebrovascularis rezervkapacitást az arteria cerebri mediában (50 mm mélységben) mért, 1 g intravénás acetazolamid (Diamox; Lederle Parenterals, Puerto Rico, USA) hatására bekövetkező átlagsebesség változásból határoztuk meg. Az arteria cerebri mediában áramló vér sebességét az acetazolamid adása előtt és azt követően 5, 10, 15 és 20 perccel regisztráltuk. A cerebrovascularis reaktivitást az alábbi egyenlet alapján számoltuk: $CR = 100(v_t - v_0)/v_0$, ahol a v_t és v_0 az arteria cerebri mediában 50 mm mélységben mért átlagsebesség acetazolamid adás előtt (v_0), illetve különböző időpontokban (t) az acetazolamid adást követően (v_t), ahol $t = 5, 10, 15$ és 20 perc. A maximális sebesség növekedés %-os értékét (cerebrovascularis rezervkapacitás /CRC/) a következőképpen határoztuk meg: $CRC = 100(v_{max} - v_0)/v_0$, ahol v_{max} a maximális átlagsebesség az acetazolamid adást követően.

Statisztikai analízis

A nyugalmi áramlási sebesség és a cerebrovascularis rezervkapacitás férfiak és nők közötti összehasonlítására variancia-analízist (ANOVA) és páratlan t-tesztet használtunk. A cerebrovascularis reaktivitást a férfiak és nők között ismételt méréses variancia-analízis és Tukey post hoc teszt segítségével vizsgáltuk.

III.2.2 A cerebrális hemodinamika vizsgálata szimptómás és aszimptómás carotis stenosisban szenvedő betegekben

Az egészséges személyek hemodinamikája mellett azt is vizsgáltuk, hogy különbözik-e a cerebrovasculáris reaktivitás olyan tünetmentes és tünetes betegekben, akiknek 70%-os átmérőszűkületnél súlyosabb egyoldali carotis stenosisuk vagy oclusiojuk volt.

Betegek és módszerek

Az arteria carotisok vizsgálatát duplex ultrahanggal végeztük (Ultramark 4 Plus; ATL, Bothell, USA), a stenosisok súlyosságát a NASCET kritériumok (North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial) szerint határoztuk meg.

Betegeinket a részletes anamnesis, a neurológiai fizikális vizsgálat és a carotis duplex eredménye alapján két csoportra osztottuk. A tünetes (szimptómás) csoportba azokat a betegeket soroltuk, akiknek a lézió oldalának megfelelő ischaemiás cerebrovasculáris megbetegedésük volt. Az intracranialis vérzés kizárására koponya CT történt. Tünetmentesnek (aszimptómás) akkor tekintettük a beteget, ha az alapos anamnesisfelvétel során sem lehetett ischaemiás cerebrovasculáris betegségre utaló adatot kideríteni és a beteg neurológiai szempontból tünetmentes volt. Ebben a betegcsoportban a koponya CT-n egyik esetben sem találtunk ischaemiára jellemző eltérést.

Transcranialis Dopplerrel mindkét oldalon regisztráltuk az arteria cerebri mediában az átlagos áramlási sebességet nyugalomban, valamint 10 és 15 perccel 1 g acetazolamid intravénás injekciója után. Az adatok feldolgozása során az átlagos áramlási sebesség abszolút értékeit és az acetazolamid adás után a nyugalmi értékhez viszonyított %-os változást is vizsgáltuk. A tesztet 28, nem és átlagéletkor szempontjából hasonló, egészséges, kontroll személyen is elvégeztük. Az acetazolamid adását követően mért átlagos áramlási sebesség értékeket és azok %-os változását az alábbi szempontok szerint hasonlítottuk össze:

- a) az egyes csoportokon belül a stenosis vagy oclusio oldalán illetve az ellenoldalon;
- b) az egyes csoportok (szimptómás – aszimptómás) között, külön elemezve a kóros és a nem kóros oldalt;
- c) a két betegcsoport adatait a kontroll csoporthoz viszonyítva.

Statisztikai analízis

A statisztikai feldolgozáshoz Student-féle t-próbát használtunk. A többszörös összehasonlítás során Bonferroni-korrekciónak történt. A $p < 0.05$ értéket fogadtuk el szignifikánsnak.

III.2.3. A CO₂ reaktivitás vizsgálata perfúzió-súlyozott MR vizsgálattal átmeneti fokális agyi ischaemiában

A cerebralis ischaemia akut fázisában a vazoreaktivitás vizsgálata a „steal“ jelenség miatt veszélyeket rejthet magában. Ezért döntöttünk az állatkísérletek mellett, amikor átmeneti agyi ischaemia akut fázisában vizsgáltuk a cerebrovascularis reaktivitást. Az állatkísérletek további előnye, hogy az ischaemia és a reperfüzió kezdete és időtartama pontosan meghatározható.

Az agyi perfúziót, az ischaemiás károsodás súlyosságát, valamint a cerebrovascularis reaktivitást az elmúlt években bevezetett, perfúziós- és diffúziós-MR szekvenciák segítségével vizsgáltuk, 1 órás arteria cerebri media occlusio (MCAO) és 4.5 órás reperfüzió során. A kísérlet végén meghatároztuk a regionális ATP szintet is.

Arra kerestünk választ, hogyan változik a vazoreaktivitás a reperfüzió szakában attól függően, hogy (1) milyen súlyos volt az ischaemiás károsodás az occlusio során, illetve (2) hogyan alakult az energia-metabolizmus a reperfüzió alatt. Vizsgáltuk, hogy a CO₂ reaktivitás a reperfüzió során az energia-metabolizmus rendeződésével párhuzamosan javul-e, vagy tartós hemodinamikai károsodás marad a helyreállt energia-metabolizmusú szövetben is.

Módszerek

A kísérletekhez hím, 300 – 350 g közötti Wistar patkányokat (n=5) használtunk. Az anesztéziát 70%:30% arányban jelenlévő N₂O:O₂ gázokhoz kevert halothane-nal biztosítottuk. Tracheotomiát követően az állatokat mesterségesen lélegeztettük. A vérgázokat rendszeresen mértük és fiziológiás határértékeken belül tartottuk.

A carotis rendszer preparálását követően egy, az arteria cerebri media occlusioja (MCAO) céljából előre elkészített szilikonizált sebészi fonalat helyeztünk az arteria carotis internába úgy, hogy kettős katéterrendszer segítségével a fonál pozíciója kívülről is kontrollálható legyen. A módszer előnye, hogy a kontroll MR vizsgálatok elvégzését követően az arteria cerebri media occlusiojához (MCAO), majd 1 óra elteltével az ischaemiás szövet reperfüziójához a kísérleti állatot nem kellett az MR tomographból kivenni, pozícióját nem

kellett változtatni. Egy óra arteria cerebri media occlusiót és 4.5 óra reperfüziót követően a patkányokat folyékony nitrogénben lefagyasztottuk.

Az MR vizsgálatok elvégzéséhez Bruker Biospec 4.7 T rendszert használtunk (Bruker Medical, Ettlingen, Németország), melynek a mágneses térereje 4.7 T. A diffúzió- és perfúzió-súlyozott felvételeket a caudatum-putamen szintjében értékeltük.

A kontroll (ischaemia előtti) fázisban, az 1 órás arteria cerebri media occlusio végén, valamint a reperfüziót követően 30, 90, 150, 210 és 270 perccel készítettünk egy diffúzió-súlyozott, valamint 2 perfúzió-súlyozott felvételt. Az első perfúzió-súlyozott felvételt követően 5 percig 6%-os CO₂-ot tartalmazó N₂O/O₂ keveréket lélegeztettünk a kísérleti állattal, s ennek utolsó 2 percében történt a második perfúzió-súlyozott MR vizsgálat. A vérgázokat mindkét perfúzió-súlyozott vizsgálat során meghatároztuk. A CO₂ adás előtti és alatti arteriás pCO₂, valamint perfúziós szignál-intenzitás ismeretében a CO₂ reaktivitási indexet (egységnyi CO₂ változás hatására kialakuló perfúziós szignál-intenzitás százalékos változása; mértékegység: %/Hgmm) az egyes pixelekből meghatároztuk.

A caudatum-putamen szintjében, az egyes pixelekből meghatároztuk a diffúziós koefficiens (ADC: apparent diffusion coefficient), majd az ischaemia és a reperfüzió különböző fázisaiban mért ADC és a kontroll ADC hányadosát. Az így számított relatív ADC értékeket minden pixelben a kontroll ADC százalékában fejeztük ki. Az ischaemiás károsodás becslésére az ischaemia végén készített relatív ADC térkép pixeljeit 5 alcsoportba osztottuk az ipsilateralis féltekében: <70%, 70-79%, 80-89%, 90-99%, ≥100%. Az így képzett pixel-alcsoportokban a CO₂ reaktivitást analizáltuk a kísérlet különböző fázisaiban: a MCAO előtt (kontroll fázis), az ischaemia végén, valamint a reperfüzió különböző szakaszaiban.

Az ischaemia végén a súlyos ischaemiás károsodást szenvedett területet a 80%-nál alacsonyabb relatív ADC értékkel bíró pixelek összességéként definiáltuk, mivel a relatív ADC ilyen mértékű csökkenése jól korrelál az ATP hiánnyal a fokális ischaemia akut fázisában. A kimenetelt a kísérlet végén a caudatum-putamen szintjében készített ATP kép alapján határoztuk meg. Az ischaemia végén észlelt, súlyos ischaemiás károsodást szenvedett szövet területét 2 részre osztottuk a kimeneteltől függően, miután az ATP és az ischaemia végén készült relatív ADC térképet egymással fedésbe hoztuk. Azt a területet, amelyben az ischaemia végén a relatív ADC kisebb volt 80%-nál, de a kísérlet végén az ATP szint normális volt, javult energia-metabolizmusú szövetként értékeltük, míg azt a területet, ahol az ischaemia végén a relatív ADC 80% alatt volt és a kísérlet végén az ATP szignifikánsan csökkent értéket mutatott, irreverzibilisen károsodott szövetként definiáltuk. A javult energia-metabolizmusú, valamint az

irreverzibilisen károsodott szövetekben külön-külön meghatároztuk a CO₂ reaktivitást, valamint az ellenoldal homológ területében mért értékhez viszonyított relatív perfúziós szignál-intenzitás időbeli változását.

Az ATP koncentráció és a szöveti pH meghatározása céljából a lefagyasztott állatok agyát –20°C-on távolítottuk el és ugyanezen a hőmérsékleten 20 µm vastagságú metszeteket készítettünk. A coronalis metszeteken a caudatum-putamen szintjében szubsztrát specifikus biolumineszcenciás módszerrel mértük az ATP regionális eloszlását. A regionális szöveti pH-t umbelliferon fluoreszcens módszerrel mértük.

Statisztikai analízis

A ischaemia és a reperfüzió különböző fázisai alatt az egyes pixel alcsoportokban meghatározott CO₂ reaktivitást az ischaemia előtti (kontroll fázis) értékkel hasonlítottuk össze, páros t-teszt segítségével. Ismételt méréses variancia-analízist és Scheffé tesztet használtunk a CO₂ reaktivitás összehasonlítására a javult energia-metabolizmusú és a véglegesen károsodott szövetekben. A p<0.05 értéket fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak.

III.3. Hemosztázis vizsgálatok agyi keringészavarokban

III.3.1. A thrombocytá aggregatio vizsgálata agyi keringészavarban acetil-szalicilát (ASA) adás előtt és után

Vizsgálataink során a multiparametriás aggregációs indexet és a dysaggregációs értéket mértük, s arra kerestünk választ, van-e kóros thrombocytá aggregatio agyi keringészavart követően, valamint, hogy kis dózisu (napi 100 mg) acetil-szalicilát (ASA) elegendő-e a kórosan emelkedett thrombocytá aggregatio normalizálásához.

Betegek és módszerek

Negyvenhárom, agyi keringészavarban szenvedő beteget (26 férfi és 17 nő; átlagéletkor: 62.5±12.5 év), valamint 16 egészséges személyt (9 férfi, 7 nő; átlagéletkor: 44.1±16.8 év) vizsgáltunk. A kezelés előtti multiparametricus aggregációs index (MAI) alapján betegeinket 2 csoportra osztottuk: 2 alatti (azaz normális) MAI értéke 17 (11 férfi, 6 nő; átlagéletkor: 61.8±10.3 év), míg 2 feletti (emelkedett) MAI értéke 26 betegnek volt (15 férfi, 11 nő; átlagéletkor: 62.9±14.0 év).

Azokban a betegekben, akikben a kezdeti MAI érték 2 felett volt (n=26), mértük a MAI-t és a dysaggregációs rátát a napi 100 mg ASA kezelés utáni 7. és 28. napon is. Mértük emellett a thromboxan-A₂ stabil metabolitjának a thromboxan-B₂-nek, valamint a prostacyclin stabil metabolitjának, a 6-keto-prostaglandin-F₁α-nak a koncentrációját kezelés előtt és a kezelés 28. napján.

A MAI meghatározásához aggregatio induktorként ADP-t (adenozin 5-difoszfát) és epinephrint használtunk. Az aggregatio értékelése a primer és szekunder aggregatio létrejöttéhez szükséges különböző induktor-koncentrációk, valamint az optimális induktor-koncentrációnál észlelt aggregatio mértéke alapján történt.

A dysaggregációs érték vizsgálatokor az 5 μM ADP-vel indukált thrombocytá aggregatiót követő dysaggregatio mértékét határoztuk meg. Az aggregációs vizsgálatokat Chrono Log Lumi 400 aggregométerrel (Chrono Log Co., Havertown, USA) végeztük. A szérumban thromboxan-B₂ és 6-keto-prostaglandin-F₁α (6KPGF₁α) koncentrációját radioimmunoassay kittel határoztuk meg (IZINTA, Budapest).

Statisztikai analízis

A betegek kezelés előtti és kezelés utáni értékeit páros, a kontroll csoport és a betegek kezelés előtti MAI értékét az F-teszt elvégzése után páratlan t-próbával hasonlítottuk össze. A p<0.05 értéket fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak.

III.3.2. A szöveti faktor vizsgálata fiatal, agyi keringészavarban szenvedő betegekben

A thrombocyták nemcsak a fokozott aggregatio révén jelenthetnek fokozott rizikót az agyi keringészavar szempontjából, hanem az aktivált thrombocyták a monocyták szöveti faktor expresszióját is fokozhatják, s így a véralvadást aktiváló legerősebb faktor megjelenését indukálhatják. Tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy fiatal, 50 évnél nem idősebb, agyi keringészavarban szenvedő betegekben a monocyták szerepet játszhatnak-e a thromboticus folyamatokban azáltal, hogy felszínükön a szöveti faktort expresszálják. Emellett a coagulációs és fibrinolyticus rendszer aktivációját jelző markereket is vizsgáltuk. Mivel a fiatal, agyi keringészavarban szenvedő betegek egy részében a betegség oka nem ismert, a lehetséges kóroki tényező kiderítése ezen betegekben segíthet az oki terápia megválasztásában.

Betegek és módszerek

Negyvennyolc, átmeneti agyi keringészavarban, vagy ischaemiás stroke-ban szenvedő beteget vizsgáltunk (23 férfi, 25 nő, életkor: 39.8 ± 9.3 év /17-50 év/). Az 50 év feletti betegeket, valamint azokat, akiknek agyvérzésük volt, atherosclerosisban, vagy cukorbetegségben szenvedtek, carotis szűkületük volt, migrainesek voltak, vagy a szív emboliaforrásként szerepelhetett nem vettük be a tanulmányba. Egyik beteg sem kapott acetil-szalicilátot, dicumarolt, vagy heparint a vizsgálat időpontjában. A kontroll csoport 40 önkéntes (21 férfi, 19 nő) személyből állt, akiknek thromboemboliás eredetű betegségük, vagy agyi keringészavaruk nem volt. A kontroll csoportban az átlagéletkor 36.9 év volt (18-50 év).

A Na-citrátot tartalmazó, vacutainer csőbe levett vér egy részét 2000 g-n 20 percig centrifugáltuk, és a plazma egy részéből D-dimer, thrombin-antithrombin (TAT) komplex, F1+2 fragment és C-reaktív protein meghatározás történt. A vérminta maradék részéből a mononucleáris sejteket izoláltuk, s a sejtszuspenziót két részre osztottuk. Az egyik részt 3-szor 30 s-ig szonikáltuk és lefagyasztottuk egyfázisú alvadási tesztre. A másik részt 1% hideg paraformaldehiddel fixáltuk, majd 0.1% azidtartalmú foszfátbufferban mostuk és megfestettük. Minden egyes méréshez legalább 10^6 sejtet használtunk és a festés 100 μ l 10 μ g/ml végleges koncentrációjú monoklonális szöveti faktor ellenes antitesttel történt. Ezt követően a sejteket azidtartalmú foszfát pufferban mostuk és 45 percig inkubáltuk 4°C-on 1:50 hígítású egér-ellenes fluoreszcein-izotiocianáttal. A felszíni immunfluoreszcenciát mutató festett sejteket Becton Dickinson FacScan flow-cytométerrel analizáltuk. A monocytákat részben az előre- és oldalszórásai sajátágaik alapján, részben CD 14 pozitivitásuk alapján azonosítottuk. Az immunfluoreszcencia eredményét a pozitív sejtek százalékos arányában adtuk meg egy megfelelően festett negatív kontrollhoz képest. Pozitív kontrollként olyan mononuclearis sejteket használtunk, melyeket 6 órán át lipopoliszahariddal stimuláltunk. Ezekben a mintákban a szöveti faktor pozitív monocyták aránya 35-40% volt, a többi sejt fluoreszcenciát nem mutató lymphocytá volt.

Az egyfázisú alvadási teszt során 5%-nál kevesebb neutrophil leukocytát tartalmazó sejt-lizátumot 100 μ l normál plazmával inkubáltunk 5 percig, majd a reakciót 100 μ l 25mM CaCl₂-dal indítottuk. Az alvadási időt mértük és a procoagulans aktivitás eredményeket rekombináns humán thromboplastin (Innovin, Dade, USA) hígítási sorával vetettük össze. A thromboplastin 10-szeres hígítását 100.000 mU-nak vettük. Az egyes mintákra kapott értékeket milli-unit/10⁶ monocytá egységre normalizáltuk

Statisztikai analízis

A szöveti faktor aktivitás és a felszíni immunfluoreszcencia értékek csoportok közötti összehasonlítása Mann-Whitney U teszttel történt. A $p < 0.05$ értéket fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak.

III.3.3. Természetes anticoagulans fehérjék és a fibrinolyticus rendszer vizsgálata fiatal, agyi keringészavarban szenvedő betegekben

Máig nem egyértelmű, hogy a természetes anticoagulansok (antithrombin-III, protein-C, protein-S) abnormis működése, illetve a fibrinolyticus rendszer csökkent aktivitása okozta prothromboticus állapot milyen mértékben lehet felelős az arteriális típusú ischaemiás stroke kialakulásáért. Úgy tűnik azonban, ha ez az állapot másodlagos, a véralvadást befolyásoló tényezőkkel társul, szignifikánsan emeli az agyi ischaemia kialakulásának veszélyét. A tanulmány célja volt a természetes anticoagulansok abnormis működésének és a fibrinolyticus rendszer zavarának a vizsgálata fiatal, agyi keringészavarban szenvedő betegekben.

Betegek és módszerek

Ötvenhárom, 15 és 49 év közötti fiatal felnőttet vizsgáltunk, akiknek átmeneti agyi keringészavara, vagy ischaemiás stroke-ja volt. A rutin hemosztázis (APTI, PI, TI) vizsgálatok mellett minden betegnél történt mellkas Rtg, EKG, neurológiai és cardiologiai vizsgálat, koponya CT vagy MR, a carotis és vertebralis rendszer duplex ultrahang vizsgálata vagy angiographia és transthoracalis echocardiographia. Transoesophagealis echocardiographiara csak néhány betegnél, indokolt esetben került sor. A betegeket az “aterothromboticus stroke”, “cardioemboliás stroke”, “kevert etiológiájú stroke”, “egyéb etiológiájú stroke”, illetve “ismeretlen eredetű stroke” csoportok egyikébe soroltuk az agyi keringészavar eredete alapján.

Az antithrombin-III (AT-III), protein-C, protein-S, plazminogén-aktivátor-inhibitor-1 (PAI-1), α -2-antiplazmin és plazminogén aktivitás mérésére a kereskedelmi forgalomban kapható kit-eket használtuk (Diagnostica Stago, Asnières, Franciaország), s a mérések az irodalomban leírtak szerint történtek. A lipoprotein (a) szint mérésére immunoturbidimetriás módszert használtunk. A vizsgált paraméterek normál tartományát a forgalomban lévő kitek tartalmazták. Az APC rátát az alvadási idő megnyúlása alapján mértük az aktivált parciális thromboplastin idő tesztet használva, s a 2 alatti értéket tekintettük kórosnak (Diagnostica Stago, Asnières, Franciaország).

A természetes anticoagulans fehérjék aktivitását (AT-III, PC, PS) és az aktivált protein-C rátát a beválogatáskor és 3 hónap múlva is meghatároztuk. A PAI-1, α -2-antiplazmin, plazminogén aktivitást és az Lp(a) szintet ugyancsak meghatároztuk a beválogatásnál, s egyidőben C reaktív protein koncentráció meghatározásra is vettünk vért. Azokat a betegeket kizártuk a tanulmányból, akiknél a C-reaktív protein szintje magasabb volt a normál értéknél (10 mg/l).

Statisztikai analízis

A statisztikai analízishez variancia-analízist, 2x2 kontingencia táblázatot és chi-négyzet tesztet használtunk. A $p < 0.05$ értéket fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak.

IV. VIZSGÁLATAINK EREDMÉNYEI

IV.1. Súlyos alsóvégtagi érszűkületben szenvedő betegek carotis Doppler vizsgálatával szerzett tapasztalataink

A súlyos alsóvégtagi érszűkületben szenvedő betegek 19%-ának súlyos, 37%-ának közepesen súlyos carotis szűkülete volt, szemben a kontroll csoporttal, melyben csupán 2%-ot tett ki a közepesen súlyos carotis stenosisban szenvedők aránya, súlyos nyaki érszűkületet pedig ebben a csoportban nem találtunk ($p < 0.01$). A betegek között nagyobb volt a hypertóniában szenvedők (59%) és az erős dohányosok aránya (68%), mint a kontroll csoportban (hypertónia: 25%, erős dohányos: 21%; $p < 0.05$ mindkét rizikófaktorra nézve), valamint szignifikánsan magasabb koleszterin, LDL-C, triglicerid és alacsonyabb HDL-C értékeket észleltünk a kontroll csoporthoz képest.

IV.2. A cerebrális hemodinamika vizsgálata

IV.2.1. A cerebrális hemodinamikában a nemek között tapasztalt eltérések

Nem volt szignifikáns különbség a férfiak és nők kora, vérnyomása, pulzusa, hematokritja, vérgázértéke és súlya között. Tizennyolc nőnek még rendszeresen volt menstruációja, 11 nő már a menopausa után volt. Azért, hogy a női prae- és postmenopausa alcsoportokhoz hasonló koreloszlású és átlagéletkorú férfi alcsoportokat képezhessünk, a 47 éves

kor alatti férfiakat a fiatal (n=16), a 47 év feletti férfiakat pedig az idős alcsoportba (n=11) soroltuk.

A nyugalmi áramlási sebesség az arteria cerebri mediában magasabb volt a nőkben (63 ± 4 cm/s), mint a férfiakban (57 ± 4 cm/s; $p<0.02$). Az 1 g acetazolamid hatására az arteria cerebri mediában jelentkező abszolút és relatív sebességváltozás (cerebrovascularis reaktivitás) kifejezettebb volt a nőkben, mint a férfiakban ($p<0.01$). A %-os értékben kifejezett maximális sebességnövekedés (cerebrovascularis rezervkapacitás) szintén nagyobb volt a nőkben ($57.9\pm 23.9\%$) a férfiakban észlelt értékhez képest ($43.7\pm 17.8\%$; $p<0.001$). Az alcsoport analízis során jobb cerebrovascularis rezervkapacitást észleltünk ($p<0.01$) azokban a nőkben, akiknek rendszeres volt a menstruációjuk (praemenopausa), mint a hasonló korú férfiakban. Ugyanakkor hasonló eltérést nem találtunk a menopausa után lévő nők és az idősebb férfiak között.

IV.2.2. A cerebrális hemodinamika vizsgálata szimptomás és aszimptomás carotis stenosisban szenvedő betegekben

Összesen 36, egyoldali szignifikáns arteria carotis stenosisban, vagy occlusioban szenvedő beteget vizsgáltunk (24 férfi, 12 nő). A carotisokon észlelt elváltozások közül 12 tünetmentes stenosis volt, 12 szimptomás stenosis, 12 pedig szimptomás occlusio.

Az aszimptomás csoportban az acetazolamid intravénás adása után sem az abszolút, sem a relatív átlagos áramlási sebesség értékeiben nem találtunk szignifikáns különbséget a stenosis oldala és az ellenoldal között. Ezzel szemben a szimptomás csoportban 10 és 15 perccel az acetazolamid adása után mind az abszolút, mind a relatív áramlási sebesség szignifikánsan alacsonyabb volt az obstruktív oldalon, mint az ellenoldalon ($p<0.01$).

A szimptomás csoportban az acetazolamid adás után a lézió oldalán mért abszolút és relatív áramlási sebesség nemcsak az ellenoldalhoz képest volt szignifikánsan alacsonyabb, hanem a kontroll személyekben és az aszimptomás betegek stenoticus oldalán észlelt értékekhez képest is ($p<0.01$). Ugyanakkor az aszimptomás csoport obstruktív oldalán és a kontroll csoportban mért abszolút és relatív áramlási sebességértékek között nem volt különbség sem a 10. sem a 15. percben.

IV.2.3. A CO₂ reaktivitás vizsgálata perfúzió-súlyozott MR vizsgálattal átmeneti fokális agyi ischaemiában

A CO₂ teszt rövid időtartamától eltekintve, a kísérlet során az összes élettani paraméter a normális határok között volt. Az 5 percig tartó 6%-os CO₂-dal történő lélegeztetés 17-23 Hgmm-rel emelte az arteriális pCO₂-t, emellett szignifikáns pH csökkenést és enyhe, de szignifikáns vérnyomás emelkedést eredményezett. Az arteria cerebri media sikeres occlusióját (MCAO), valamint a reperfúzió sikerét perfúzió-súlyozott MR vizsgálattal igazoltuk. Az 1 órás ischaemia során az ADC szignifikánsan csökkent az ipsilateralis arteria cerebri media ellátási területében, majd a reperfúziót követően javulást mutatott.

Az ischaemia előtti (kontroll) CO₂ reaktivitás az ipsilateralis féltekében kissé alacsonyabb volt ($3.52 \pm 0.88\%/Hgmm$) az ellenoldalhoz képest ($4.05 \pm 0.97\%/Hgmm$), de a különbség nem volt szignifikáns.

Az ischaemiás károsodás súlyosságának megítélésére az ischaemia végén mért relatív ADC-t használtuk. Az arteria cerebri media occlusio (MCAO) során fordított CO₂ reaktivitást észleltünk azokban az alsoportokban, melyekben a relatív ADC 90% alatti értéket mutatott, vagyis ezen területekben a perfúziós szignál nem növekedett, hanem csökkent a CO₂ adását követően („steal” jelenség). A CO₂ reaktivitás ugyan pozitív volt azokban a területekben, melyekben az ADC nem vagy alig csökkent a MCAO során (relatív ADC $\geq 90\%$), de itt is jelentősen csökkent reaktivitás értékeket ($< 1\%/Hgmm$) találtunk a kontrollhoz képest.

Reperfúziót követően a CO₂ reaktivitás 1%/Hgmm alatt maradt abban a területben, amely súlyos ischaemiás károsodást szenvedett a MCAO alatt (ischaemia végén mért relatív ADC $< 80\%$), jelezve, hogy a vazoreaktivitás nem rendeződött a 4.5 órás reperfúzió során. Abban a területben azonban, ahol a relatív ADC 80% fölött maradt az ischaemiás periódus végén (enyhe ischaemiás károsodás), a CO₂ reaktivitás fokozatosan javult, s a reperfúzió végére nem találtunk szignifikáns eltérést a kontroll fázis során mért értékhez képest.

A súlyos ischaemiás károsodást szenvedett területet (ischaemia végén mért relatív ADC $< 80\%$) két részre osztottuk attól függően, hogy a reperfúzió végén csökkent, vagy normális ATP koncentrációt találtunk. Azt az ischaemia során súlyosan károsodott régiót, melyben a reperfúzió végén az ATP koncentráció csökkent volt, irreverzibilisen károsodott területként, míg ahol az ATP tartalom normális volt, javult energia-metabolizmusú területként definiáltuk. A CO₂ reaktivitás drámaian csökkent a MCAO során mindkét csoportban, melyet enyhe javulás követett a reperfúzió első két órájában. A későbbi időszakban azonban a vazoreaktivitás ismét csökkent

az irreverzibilisen károsodott szövetben, míg a javult energia-metabolizmusú területben további lassú javulást észleltünk. Bár a 4.5 órás reperfúzió végére szignifikánsan jobb vazoreaktivitást találtunk a javult energia-metabolizmussal jellemezhető szövetben (1.1 ± 0.5 %/Hgmm), mint az irreverzibilisen károsodott területben (0.2 ± 0.5 %/Hgmm), ez az érték a javult energia-metabolizmusú területben is messze alacsonyabb volt a kontroll fázisban mért értékhez képest (3.5 ± 1.4 %/Hgmm; $p < 0.01$).

A szöveti pH a kísérlet végén 7.02 ± 0.13 volt abban a területben, melyben az ATP szint normalizálódott, míg ugyanez az érték 6.33 ± 0.23 volt az irreverzibilisen károsodott szöveti területben ($p < 0.02$). Adataink azt jelzik, hogy bár a javult energia-metabolizmusú területben javul a vazoreaktivitás a reperfúzió során, de ez messze elmarad a kontroll értéktől a normalizálódott ATP szint és a normális szöveti pH ellenére.

IV.3. Hemosztázis vizsgálatok agyi keringészavarokban

IV.3.1. A thrombocyta aggregatio vizsgálata agyi keringészavarban acetil-szalicilát kezelés előtt és után

Betegeink kezelés előtti multiparametricus aggregációs index (MAI) értéke (3.8 ± 0.5 $1/\mu\text{mol}$) szignifikánsan nagyobb volt a kontroll csoporthoz képest (0.9 ± 0.1 $1/\mu\text{mol}$; $p < 0.002$). A betegek 60%-ában ($n=26$) találtunk kórosan emelkedett ($\text{MAI} > 2$ $1/\mu\text{mol}$) thrombocyta aggregációt. Az így kiválasztott betegcsoportban a kezelés előtt észlelt fokozott thrombocyta aggregatio napi 100 mg ASA adása mellett már a 7. napra jelentősen csökkent és a kezelés további 3 hetében lényegesen nem változott (**1.táblázat**).

1. táblázat. Az ASA kezelés előtt kórosan fokozott thrombocyta aggregációt ($\text{MAI} > 2$ $1/\mu\text{mol}$) mutató betegek ($n=26$) laboratóriumi értékei (átlag \pm standard error).

Paraméter	Kezelés előtt	Kezelés 7. napja	Kezelés 28. napja
MAI ($1/\mu\text{mol}$)	5.53 ± 0.68	2.58 ± 0.36 ***	2.05 ± 0.32 ***
Dysaggregációs érték (%)	2.23 ± 0.34	13.04 ± 1.75 ***	13.35 ± 1.66 ***
TXB2 (pg/ml)	1890 ± 193	-	1462 ± 197 *
6KPGF1 α (pg/ml)	931 ± 117	-	977 ± 127 (NS)

(A kezelés 7. és 28. napján kapott értékeket a kezelés előtti értékhez hasonlítottuk.

Szignifikancia szintek: *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$, NS: nem szignifikáns.)

A MAI-hez hasonlóan a dysaggregációs érték is csökkent thrombocyta aggregációt jelzett a 100 mg ASA kezelés 7. és 28. napján a kezelés előtti értékhez képest. A kezelés 28. napján a thromboxan-B2 (TXB2) koncentráció a kezelés előtti értékhez viszonyítva szignifikánsan csökkent ($p < 0.05$), míg a 6-keto-prostaglandin-F1 α (6KPGF1 α) esetében szignifikáns változást nem észleltünk (**1. táblázat**).

IV.3.2. A szöveti faktor vizsgálata fiatal, agyi keringészavarban szenvedő betegekben

A betegeket akut és krónikus csoportba soroltuk, attól függően, hogy a vérvétel a tünetek kezdete után 48 órán belül, vagy 4-14 nap között történt. Ennek a beosztásnak megfelelően az akut csoportba 25, a krónikus csoportba 23 beteg került. Az eredményeket a nemek és a koreloszlás alapján válogatott kontroll csoport (n=40) értékeihez hasonlítottuk.

A szöveti faktor antigén szintje mind az akut ($p < 0.01$), mind a krónikus csoportban szignifikánsan ($p < 0.05$) magasabb volt a kontrollhoz képest (**2. táblázat**). Bár a monocyták a szöveti faktort a sejtfelszínen megjelenítik, a szöveti faktor funkcionális aktivitása nagymértékben függ a töltéssel bíró foszfolipidektől, így a valós aktivitást a lizált sejtekben mérhető procoagulans aktivitás jelzi. Az egyfázisú alvadási teszt során a szöveti faktor aktivitás magasabb volt mind az akut, mind a krónikus betegcsoportban a kontroll csoporthoz képest, de szignifikáns eltérés csak az akut csoportban volt ($p < 0.05$) (**2. táblázat**).

2. táblázat. Monocytá szöveti faktor antigén és szöveti faktor aktivitás, valamint F1+2 fragment, TAT komplex és D-dimer szint a betegekben és a kontrollokban (átlag \pm standard error)

	Kontroll	Agyi keringészavar	
		Akut	krónikus
Szöveti faktor antigén (%)	3.2 \pm 0.7	10.7 \pm 1.8 **	9.1 \pm 1.7 *
Szöveti faktor aktivitás (mU)	109 \pm 25	220 \pm 29 *	193 \pm 31
TAT (ng/ml)	3.1 \pm 0.3	23.9 \pm 8.3 ***	30.7 \pm 9.6 **
F1+2 (nmol/l)	1.41 \pm 0.20	5.53 \pm 1.24 ***	3.18 \pm 0.64 *
D-dimer (ng/ml)	254 \pm 33	301 \pm 59	488 \pm 80 *

(Szöveti faktor antigén: a pozitív monocyták %-os aránya a negatív kontrollhoz képest. Szöveti faktor aktivitás: milli-unit/10⁶ monocytá; Szignifikancia jelzések: *** $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ a kontroll csoporthoz képest.)

A betegekben szignifikánsan emelkedett a thrombin-antithrombin-komplex (TAT komplex) és az F1+2 fragment koncentrációja (az akut csoportban $p < 0.005$ mindkét markerre nézve, a krónikus csoportban $p < 0.05$ az F1+2 fragmentre és $p < 0.01$ a TAT komplexre). A fibrinolysis rendszer aktivációjára a D-dimer szint mérésével következtettünk. Az agyi keringészavar akut fázisában nem találtunk eltérést, de a krónikus fázisban a D-dimer szint szignifikánsan nagyobb volt a kontroll csoporthoz képest ($p < 0.05$; **2. táblázat**).

IV.3.3. Természetes anticoagulans fehérjék és a fibrinolyticus rendszer vizsgálata fiatal, agyi keringészavarban szenvedő betegekben

A betegek átlagéletkora 38.5 ± 9.8 év volt (férfiak 39.6 ± 9.9 év, $n=21$; nők: 37.8 ± 9.8 év, $n=32$). Negyvenhat betegnek (20 férfi, 26 nő) ischaemiás stroke-ja, míg 7 betegnek (1 férfi, 6 nő) átmeneti agyi keringészavara volt.

Egy beteg kivételével, akinél lupus anticoagulanst észleltünk, a rutin hemosztázis teszt (prothrombin idő, aktivált parciális thromboplastin idő, thrombin idő) negatív volt. A további vizsgálatok kórosan alacsony AT-III aktivitást igazoltak az 53 beteg közül 5 betegben, a protein-C és protein-S aktivitás pedig 9 illetve 13 esetben volt alacsonyabb a referencia tartomány alsó értékénél. Az APC ráta 9 betegben volt 2 alatti. Több paraméterben találtunk kóros értéket 10 betegben, míg legalább egy eltérés 26 betegben volt észlelhető.

Három hónap múlva a kóros értékkel bíró betegek aránya szignifikánsan csökkent: az AT-III aktivitás az összes vizsgált betegben normális volt, kórosan alacsony protein-C aktivitást 1 betegben, kórosan alacsony protein-S aktivitást pedig 3 betegben találtunk. Ugyancsak 3 betegben maradt 2 alatt az APC ráta. Az ismételt vizsgálat során többszörös eltérést nem találtunk, egy eltérést 7 betegben észleltünk. A molekulárbiológiai vizsgálatok egy betegben igazoltak Leiden mutációt (homozygota), míg 3 esetben prothrombin 20210 G->A mutációt találtunk (mindhárom beteg heterozygota volt).

A fibrinolyticus rendszert csak a beválogatáskor vizsgáltuk, 3 hónap múlva ismételt vizsgálat nem történt. Az akut fázis hatás minimalizálása érdekében csak azon betegek adatait értékeltük, akikben az egyidőben vizsgált C-reaktív protein szintje a normál tartományban volt. Emelkedett PAI-1 aktivitást 51-ből 23 esetben észleltünk, az Lp(a) szint 51-ből 10 betegben volt kórosan magas, míg az alfa-2-antiplazmin aktivitás 50-ből 4 esetben bizonyult magasabbnak a normál tartomány felső értékénél. A plazminogén aktivitás 48-ből 2 betegben volt kórosan alacsony. Több eltérés igazolódott 8 betegben.

V. ÖSSZEFOGLALÁS, MEGFIGYELÉSEINK GYAKORLATI HASZNOSÍTÁSA

Dolgozatomban a fokális agyi ischaemia kialakulásának két fő okát, az atherosclerosis talaján kialakuló szignifikáns arteria carotis interna stenosis és a következményes hemodinamikai változásokat, valamint a fokozott alvadékonyságot vizsgáltam. A humán tanulmányok mellett állatkísérletekben is tanulmányoztuk a hemodinamikai eltéréseket rövid ideig tartó cerebralis ischaemia és az azt követő korai reperfüzió során. Tapasztalatainkat az alábbiakban foglalhatjuk össze.

➤ Az atherosclerosis egyidőben számos eret érint. A súlyos alsóvégtagi érszűkületben szenvedő betegek közel 40%-ában találtunk közepesen súlyos és közel 20%-ában súlyos carotis stenosis. Emellett a vizsgált betegcsoportban az atherogenesis rizikófaktorait nagyobb arányban észleltük, mint a hasonló betegségben nem szenvedőkben. Adataink arra hívják fel a figyelmet, hogy az **alsóvégtagi arteriák szűkülete esetén az arteria carotisok vizsgálatát is el kell végezni**, a rizikófaktorokat vissza kell szorítani, s a másodlagos prevenciót el kell kezdeni.

➤ Ahhoz, hogy a betegekben észlelt hemodinamikai változásokat értékelni tudjuk, szükség van a kontroll értékek egészséges személyekben történő meghatározására. Ennek során azt tapasztaltuk, hogy **a nők cerebrovascularis rezervkapacitása nagyobb mint a férfiaké**. Alcsoport analízissel igazoltuk, hogy ez a menopausa előtt álló nők és a hasonló korú férfiak között kifejezett, míg az ennél idősebb korosztályban a nemek közötti eltérés nem szignifikáns. Eredményeink a női nemi hormonok szerepére utalnak.

➤ Megállapítottuk, hogy egyoldali, súlyos carotis szűkület esetén a szimptomás betegekben a rezervkapacitás a lézió oldalán szignifikánsan csökkent az ellenoldalhoz és a kontroll csoporthoz képest, míg aszimptomás carotis stenosisban hasonló eltérést nem találtunk. A szimptomás és aszimptomás csoportok közötti különbség legvalószínűbb magyarázata, hogy az aszimptomás betegekben a kollaterális keringést biztosító arteria communicansok feltehetően jól fejlettek, s ez a carotis stenosisból distalisán egyébként kialakuló perfúziócsökkenést képes megakadályozni. Emiatt neurológiai tünetek nem alakulnak ki – hacsak nem embolisatio útján -, illetve a rezervkapacitás nem csökken. A szimptomás betegekben feltehetően a nem megfelelő kollaterális keringés lehet az ellenkező irányú változások hátterében.

➤ Mivel napjainkban az ischaemiás stroke egyik bizonyítottan hatásos terápiája (szelektált betegekben) a thrombolysis, fontosnak tartottuk a vazoreaktivitás vizsgálatát átmeneti fokális agyi ischaemiában is. Ezeket a kísérleteket patkányokban végeztük és megállapítottuk, hogy a reperfüzió korai fázisa alatt a CO₂ reaktivitás javulása attól függ, hogy mennyire volt súlyos az

ischaemia alatti károsodás. Ha súlyos ischaemiás károsodás alakult ki egy területben, a kontroll értéktől jóval alacsonyabb vazoreaktivitást észleltünk a 4.5 órás reperfúzió során még akkor is, ha helyreállt az energia-metabolizmus. **Eredményeink az ischaemia alatt kialakult károsodás jelentőségére hívják fel a figyelmet**, s a CO₂ reaktivitás elhúzódo zavarát jelzik a reperfúzió során javuló energia-metabolizmus ellenére.

➤ Az **agyi keringészavarban** szenvedő betegek hemosztázis vizsgálatai során **fokozott thrombocyta aggregatiót észleltünk** a kontroll csoporthoz képest, **melyet 100 mg acetil-szalicilát tartósan és hatásosan gátolt**. Megállapítottuk, hogy mind a multiparametricus aggregációs index, mind a dysaggregációs ráta alkalmas a thrombocyta aggregatio monitorozására. Az említett módszerek lehetőséget adnak az acetil-szalicilát kezelésre nem reagáló szűrésére és követéses vizsgálattal az egyéni terápiás dózis is megállapítható. Szükség esetén a beteg más támadáspontú thrombocyta aggregatiót gátló szerre állítható át.

➤ A thrombocyták nemcsak direkt, hanem indirekt úton, a monocyták szöveti faktor expressziója révén is hozzájárulhatnak a cerebralis ischaemia kialakulásához. **Agyi keringészavarban** szenvedő betegekben **a monocyták szöveti faktor antigen szintje és procoagulans aktivitása szignifikánsan nagyobb** volt a kontroll csoporthoz képest. Eredményeink felhívják a figyelmet a monocyták szerepére, s további kutatások szükségesek azt vizsgálni, hogy a monocyta szöveti faktor blokkolása javítja-e a kimenetelt ischaemiás strokeban.

➤ Agyi keringészavarban szenvedő fiatal betegekben (<50 év) a beválogatáskor végzett első vérvételkor meglepően nagy arányban találtuk legalább egy természetes anticoagulans fehérje csökkent aktivitását, vagy alacsony aktivált protein-C rátát. A második vérvételkor (3 hónap múlva) azonban ez az arány szignifikánsan csökkent, s a leggyakoribb eltérés a protein-S csökkent aktivitása és az APC rezisztencia volt. A fibrinolyticus rendszer vizsgálatakor szintén nagy arányban találtunk csökkent fibrinolyticus aktivitásra utaló adatot, de ismételt vizsgálatokat nem végeztünk. Az eltérések gyakoribbak voltak az ismeretlen eredetű agyi keringészavarban szenvedőkben, mint azokban, akiknél ismert volt a betegség oka, de a különbség nem volt szignifikáns. Adataink azt jelzik, hogy **a cerebralis ischaemia befolyásolhatja a mérések eredményét**. Elgondolkodtató azonban, hogy a beválogatáskor számos betegben észlelt fokozott alvadékonyság és/vagy csökkent fibrinolysis – függetlenül attól, hogy ez a stroke oka, vagy csak a következménye - hozzájárulhat a cerebralis ischaemia progressziójához.

Összefoglalva, agyi keringészavar esetén, illetve az agyi keringészavar rizikófaktoraiában a beteg komplex átvizsgálására van szükség, melyben mind a **neurosonológiai**, mind a **hemosztázis** vizsgálatoknak fontos szerepe van. Az agyi keringészavar kialakulásának megelőzése érdekében azokat a betegeket kell sürgősen átvizsgálni (carotis Doppler, echocardiographia), akiknek már van egyéb arteriás érszűkültre jellemző panaszuk. Érdemes megvizsgálni a thrombocyta aggregatio mértékét, s ezt az acetil-szalicilát megfelelő dóziséval, vagy más thrombocyta aggregatiót gátló szerrel vissza kell szorítani. Csökkent vazoreaktivitás esetén, aszimptomás betegeknél is fontolóra kell venni az endarterectomia végzését.

Ha az agyi keringészavar mégis kialakul, a fiatalabb, cardiologiai eltéréssel és carotis stenosisal nem rendelkező betegeknél a természetes anticoagulánsok és a fibrinolyticus rendszer vizsgálata javasolt, különösen ha már volt vénás thrombosis a betegnek. Nem szabad elfelejteni, hogy hemodinamikailag szignifikáns szűkület esetén fokozott lehet a thrombocyta aggregatio, ami a monocyták szöveti faktor expresszióján és a thromboxan termelésén keresztül a fokozott alvadékonysághoz is hozzájárulhat. Mindez fokozhatja a thrombusképződés és az embolisatio veszélyét.

Amennyiben CT eltérést még nem okozó, friss, a kialakulás kezdetétől számított 3 órán belüli fokális cerebrális ischaemiában reperfüziót tudunk indukálni szöveti plazminogén aktivátorral, a betegség kimenetele elsősorban attól függ, hogy mennyire volt súlyos az ischaemiás károsodás a reperfüzió előtt. Ha súlyos volt az ischaemia, kicsi a javulás esélye. Ezt használják ki, amikor thrombolysis előtt diffúzió- és perfúzió-súlyozott MRI vizsgálatokkal meghatározzák az irreverzibilisen, illetve a reverzibilisen károsodott agyszövet térfogatát. Ezen eljárások gyakorlati alkalmazása az MRI vizsgálatok fontosságát hangsúlyozza.

VI. PUBLIKÁCIÓS LISTA

VI.1. A szerző teljes terjedelmű közleményei (vastagon kiemelve az értekezéshez felhasznált közlemények):

1. **Oláh L, Fülesdi B, Valikovics A, Csiba L, Olvasztó S, Bánfi Cs, Kozlovsky B. Alsóvégtagi verőérszűkület miatt operált betegek carotis-Doppler vizsgálatával szerzett tapasztalataink. *Ideggy Szle* 1993;46:322-325.**
2. Pallagi E, Oláh L. A cluster fejfájás. *Orv Hetil* 1994;135:1515-9.
3. Valikovics A, Oláh L, Fülesdi B, Munkácsy Cs, Csiba L. A vazoreaktivitás vizsgálata egészséges személyek esetében transcranialis és carotis Dopplerrel. *Ideggy Szle* 1996;49:30-35.
4. **Oláh L, Misz M, Bereczki D, Fekete I, Bordánné JE, Takács EI. Kis dózisú acetilszalicilát hatásosan gátolja a thrombocyta-aggregációt ischaemiás stroke után. *Orv Hetil* 1996;137:455-9.**
5. Valikovics A, Oláh L, Fülesdi B, Káposzta Z, Ficzer A, Bereczki D, Csiba L. Cerebrovascular reactivity measured by transcranial Doppler in migraine. *Headache*. 1996;36:323-8. (IF:2.25)
6. Fülesdi B, Valikovics A, Orosz L, Oláh L, Limburg M, Dink L, Káposzta Z, Csiba L. A cerebrovascularis reaktivitás vizsgálata az arteria carotisok tünetmentes és tünetet okozó atheroscleroticus laesióiban szenvedő betegekben. *Orv Hetil* 1998;139:623-8.
7. **Misz M, Oláh L, Kappelmayer J, Blaskó G, Udvardy M, Fekete I, Csépany T, Ajzner É, Csiba L. Haemostasis eltérések ischaemiás strokeban. *Orv Hetil* 1998;139:2503-7.**
8. **Kappelmayer J, Bereczki D, Misz M, Oláh L, Fekete I, Csiba L, Blaskó G. Monocytes express tissue factor in young patients with cerebral ischemia. *Cerebrovasc Dis* 1998;8:235-9. (IF:1.74)**
9. Grüne M, van Dorsten FA, Schwindt W, Oláh L, Hoehn M. Quantitative T*(2) and T'(2) maps during reversible focal cerebral ischemia in rats: separation of blood oxygenation from nonsusceptibility-based contributions. *Magn Reson Med* 1999;42:1027-32. (IF:3.75)
10. **Oláh L, Valikovics A, Bereczki D, Fülesdi B, Munkácsy Cs, Csiba L. Gender-related differences in acetazolamide-induced cerebral vasodilatory response: a transcranial Doppler study. *J Neuroimaging* 2000;10:151-6. (IF:0.97)**

11. **Oláh L, Franke C, Schwindt W, Hoehn M. CO₂ reactivity measured by perfusion MRI during transient focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2000;31:2236-44. (IF:5.53)**
12. Franke C, van Dorsten FA, Oláh L, Schwindt W, Hoehn M. Arterial spin tagging perfusion imaging of rat brain. Dependency on magnetic field strength. *Magnetic Resonance Imaging*. 2000;18:1109-1113. (IF:1.39)
13. Maeda K, Mies G, Oláh L, Hossmann KA. Quantitative measurement of local cerebral blood flow in the anesthetized mouse using intraperitoneal [¹⁴C]iodoantipyrine injection and final arterial heart blood sampling. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000;20:10-4. (IF:5.71)
14. Paschen W, Oláh L, Mies G. Effect of transient focal ischemia of mouse brain on energy state and NAD levels: no evidence that NAD depletion plays a major role in secondary disturbances of energy metabolism. *J Neurochem* 2000;75:1675-80. (IF:4.90)
15. Oláh L, Wecker S, Hoehn M. Secondary deterioration of apparent diffusion coefficient after 1-hour transient focal cerebral ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;10:1474-1482. (IF:5.71)
16. Oláh L, Wecker S, Hoehn M. Relation of apparent diffusion coefficient changes and metabolic disturbances after 1 hour of focal cerebral ischemia and at different reperfusion phases in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001; 21:430-439. (IF:5.71)
17. **Oláh L, Misz M, Kappelmayer J, Ajzner É, Csépany T, Fekete I, Bereczki D, Blaskó G, Csiba L. Natural coagulation inhibitor proteins in young patients with cerebral ischemia. *Cerebrovasc Dis* 2001;12:291-297. (IF:1.74)**

VI.2. Az értekezés témájában megjelent absztraktok

1. Valikovics A, Oláh L, Fülesdi B, Bereczki D, Csiba L. Cerebrovascular reserve capacity measured by transcranial Doppler in migraine. *Eur J Neurol*. 1995;2 (Suppl1):81.
2. Fülesdi B, Káposzta Z, Molnár C, Oláh L, Limburg M, Valikovics A, Csiba L. Evaluation of the cerebrovascular reserve capacity in asymptomatic and symptomatic carotid artery obstructive disease. *Eur J Neurol*. 1995;2 (Suppl2):41.
3. Valikovics A, Magyar T, Hegedűs I, Kappelmayer J, Oláh L, Bereczki D, Csiba L. Microembolization in the middle cerebral artery of patients with high risk for embolic stroke. *Eur J Neurol*. 1996;3 (Suppl5):47.

4. Csiba L, Valikovics A, Magyar T, Oláh L, Czuriga I. Transcranial Doppler investigations on hypertensive patients during physical exercise. *Cerebrovascular Diseases*. 1998;8 (Suppl3):18.
5. Franke C, Oláh L, Schwindt W, Hoehn M. CO₂ reactivity during transient focal cerebral ischemia: a perfusion-weighted MRI investigation in rat brain. Eight Scientific Meeting of International Society for Magnetic Resonance in Medicine Page 175; Number: 1283; 1-7 April, 2000 Denver USA (poster).

VI.3. Egyéb könyvrészletek, posztetek, előadások

1. Mies G, Trapp T, Kilic E, Oláh L, Hata R, Hermann DM, Hossmann K-A (2001) Relationship between DNA fragmentation, energy state, and protein synthesis after transient focal cerebral ischemia in mice. In: *Maturation Phenomenon in Cerebral Ischemia IV: Defensive Mechanisms versus Apoptosis Neuronal Recovery, and Protection in Cerebral Ischemia*. Eds: Bazan N, Ito U, Kuroiwa T, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, (Oral presentation in New Orleans, USA, November 1999)
2. Oláh L, Wecker S, Hoehn M. Secondary deterioration of ADC after one hour transient focal cerebral ischemia in rats. A magnetic resonance imaging study. *Eur J Neurosci*. 2000; 12 (Suppl1):118. (Forum of European Neuroscience; 2000, Brighton; poster)
3. Daoud R, Mies G, Oláh L, Hossmann K-A, Stamm S. Intracellular translocation of transformer-2 beta protein following transient focal cerebral ischemia in mice. *Eur J Neurosci*. 2000; 12 (Suppl1):347. (Forum of European Neuroscience; 2000, Brighton; poster)
4. Wecker S, Oláh L, Hoehn M. Secondary deterioration of ADC in transient focal cerebral ischemia in rats. Eight Scientific Meeting of International Society for Magnetic Resonance in Medicine Page 176; Number: 1293; 1-7 April, 2000 Denver USA (poster).