

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

VAZOKONSTRIKCIÓT KIVÁLTÓ TÉNYEZŐK HATÁSA A NEUROVASZKULÁRIS KAPCSOLATRA

Dr. Szabó Katalin Judit

Témavezető: **Dr. Oláh László**



DEBRECENI EGYETEM
Idegtudományi Doktori Iskola

Debrecen, 2015

VAZOKONSTRIKCIÓT KIVÁLTÓ TÉNYEZŐK HATÁSA A NEUROVASZKULÁRIS KAPCSOLATRA

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

Írta: Dr. Szabó Katalin Judit okleveles neurológus szakorvos, klinikai neuroszonológus

Készült a Debreceni Egyetem Idegtudományi doktori iskolája keretében

Témavezető: Dr. Oláh László, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Bari Ferenc, az MTA doktora

Prof. Dr. Soltész Pál, az MTA doktora

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Neurológiai Tanszék
2015. június 15. 11:00.

Az értekezés bírálói:

Dr. Pánczél Gyula, PhD

Dr. Szabó Sándor, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Bari Ferenc, az MTA doktora

Prof. Dr. Soltész Pál, az MTA doktora

Dr. Pánczél Gyula, PhD

Dr. Szabó Sándor, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati
Intézet, „A” épületének tanterme
2015. június 15. 13:00.

1. BEVEZETÉS ÉS ELMÉLETI HÁTTER

1.1. Cerebrális autoreguláció, az agyi erek átmérőjét és az agyi vérátáramlást befolyásoló mechanizmusok

Az agyi rezisztencia erek keresztmetszetének változása révén az agy vérellátása a vérnyomás tág határai között relatíve konstans, ugyanakkor a regionális agyi vérátáramlás a mindenkori körülményekhez, mint például a neuronális aktivitáshoz és a metabolikus változásokhoz gyorsan tud alkalmazkodni. Minderre a rezisztencia erek (elsősorban az arteriolák) vazokonstriktív és vazodilatációs képessége ad lehetőséget, mely bonyolult szabályozás alatt áll. A cerebrális erek tónusát és ezen keresztül a regionális agyi vérellátást három alapvető mechanizmus szabályozza: az érfali simaizomsejtek saját, intrinzik tulajdonságai (myogen szabályozás), az erek közelében lévő neuronok és asztrociták anyagcsere viszonyai (metabolikus szabályozás), és a perivaszkuláris idegek erekre gyakorolt hatásai (neurogén szabályozás). A simaizom réteggel rendelkező prekapilláris érszakaszok jellegzetes tulajdonsága, hogy az intraluminalis nyomás növekedésére az érfal vazokonstriktíval, míg az intraluminalis nyomás csökkenésére dilatációval válaszol. Ennek az ún. Bayliss-effektusnak különös jelentősége van az agyi autoreguláció szempontjából. Az agyi vérátáramlás autoregulatorikus, „önszabályozó” tevékenységén azt a mechanizmust értjük, mely biztosítja, hogy az agy vérátáramlása az agyi perfúziós középnyomás széles határai között (50-150 Hgmm között) állandó értéken maradjon.

Az agyi vérátáramlás szabályozásában a myogen szabályozás mellett fontos szerepet kap a metabolikus és humorális szabályozás. Jól ismert, hogy a vér parciális CO₂-koncentrációjának (pCO₂) az emelkedése és a pH csökkenése vazodilatációt, míg a pCO₂ csökkenése és a lúgos pH vazokonstriktíót eredményez. A fentieken túl számos egyéb metabolikus és humorális tényező is befolyásolja a rezisztencia erek átmérőjét, úgy mint az adenosin, laktát, NO, endothelin-1, prosztaciklin, stb. A fent említett myogen és humorális szabályozás mellett az agyi erek neurogén szabályozásáért szimpatikus, paraszimpatikus, valamint trigeminális eredetű rostok felelősek, a két alapvető beidegzést a kolinerg és adrenerg rendszer biztosítja.

1.2. A neurovaszkuláris kapcsolat és szabályozása

A neurovaszkuláris kapcsolat (NVC) a neuronális aktivációra bekövetkező regionális agyi vérátáramlás fokozódását, azaz a funkcionális hiperémiát jelenti. Erre a folyamatra az egyik legjobb és legegyszerűbb példa a vizuális inger kiváltotta áramlásnövekedés a látókéregben. A vizuális stimuláció (pl. olvasás) hatására a látókéreg neuronjai aktiválódnak, így különböző neurotranszmitterek, vasoaktív mediátorok szabadulnak fel, a neuronok oxigén, glükóz, ATP felhasználása fokozódik, CO₂, adenozin keletkezik, mely folyamatok hatására a rezisztencia erek lokális vazodilatációja jön létre. Az aktivált látókéregben lévő rezisztencia erek vazodilatációjának következtében az aktivált szövetet ellátó arteria cerebri posteriorban (ACP) a vérátáramlás, s ezáltal a vérátáramlási sebesség növekedik.

A kapcsolat szabályozásában a neuronok, a glia (asztrociták) és az endothel sejtek jól összehangolt működése szükséges. A folyamatban szereplő vasoaktív mediátorok között találunk különböző ionokat, metabolikus anyagcseretermékeket, humorális faktorokat és neurotranszmittereket. A neuronális aktiváció során kialakuló akciós potenciálok hatására létrejövő ionáram következménye az extracelluláris K⁺ koncentrációjának a növekedése. Az extracelluláris K⁺ koncentráció 8-10 mmol/L-rel történő emelkedése mind in vitro, mind in vivo körülmények között az arteriolák tágulását okozza. Tartós aktiváció során az ATP-szint csökkenése az ATP-szenzitív K⁺ csatorna megnyílását eredményezi az ereken, mely szintén vazodilatációhoz vezet.

A neuronális aktiváció során létrejövő megnövekedett energiaigény relatív oxigén és glükóz hiányt okozhat. Míg a csökkent oxigénszint csak csekély mértékben és nem tartósan növeli meg a vérátáramlást, az ATP katabolizmusa során keletkező adenozin már egy olyan potens vazodilatátor, amely szerepet játszik a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásában. Az agyi aktiváció során keletkező laktát szintén fontos mediátor lehet, mely a H⁺ koncentráció emelkedését eredményezve okoz vazodilatációt. A neuronális aktiváció során felszabaduló vasoaktív neurotranszmitterek szintén hozzájárulnak a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges vazodilatációhoz. Ezek a neurotranszmitterek egyrészt a helyi interneuronokból, másrészt a távoli magokból származnak és szabályozzák az agyi vérátáramlást. Ismert, hogy a glutamát receptorok aktivációja vazodilatációt és következményes vérátáramlás növekedést eredményez. A neocortexben és a hippocampusban

az exogén glutamát vagy N-metil-D-aspartát (NMDA) a piális arteriolák és a cerebrális mikroerek tágulását eredményezik, mely folyamat NMDA-receptor blokkolókkal gátolható. A glutamát, receptorához kapcsolódva az intracelluláris Ca^{2+} -szint emelkedését váltja ki, ami a Ca^{2+} -dependens enzimeket aktiválja, ezek pedig vazodilatátor anyagok termelődéséhez vezetnek. Az egyik ilyen Ca^{2+} -dependens enzim a neuronális nitrogén-monoxid szintetáz (nNOS), ami a nitrogén-monoxid (NO) szintézisét végzi. Kimutatták, hogy a neuronális aktivitás kiváltotta agyi vérátáramlás növekedéshez az NO felszabadulás szignifikánsan hozzájárul, mely nNOS-gátlókkal felfüggeszthető. A glutamát által kiváltott intracelluláris Ca^{2+} -szint emelkedés a NOS-on túl a foszfolipáz A2 enzimet is aktiválja, ami arachidonsav képződéséhez vezet. Az arachidonsav a ciklo-oxigenáz (COX) útvonalon metabolizálódik, amely során vasoaktív prosztaglandinok keletkeznek.

A fenti folyamatok komplex módon járulnak hozzá a rezisztencia erek dilatációjához, mely biztosítja a megnövekedett anyagcseréhez szükséges glükóz és oxigén aktivált szöveti területre szállítását és az anyagcseretermékek eltávolítását.

1.3. A neurovaszkuláris kapcsolat humán vizsgálatának lehetőségei

A neurovaszkuláris kapcsolat egy összetett, precízen szabályozott folyamat, mely az emberi szervezetben többek között fMRI (funkcionális mágneses rezonanciás képalkotás), PET (pozitron emissziós tomographia), SPECT (single photon emissziós computer tomographia), near-infrared spektroszkópia Doppler vizsgálat (TCD) segítségével tanulmányozható. Mind az fMRI, mind a SPECT, PET költséges, műszer- és időigényes, nehezen elérhető vizsgálatok. Emellett a PET, SPECT vizsgálatok során radioizotóp beadása szükséges, így sugárterheléssel is járnak. Ezek miatt a gyakorlatban egyéb, könnyen alkalmazható, kiváló időbeli felbontással járó technikák, mint a transzkraniális Doppler vizsgálat és a near-infrared spektroszkópia terjedtek el a neurovascularis kapcsolat vizsgálatára. Vizsgálatainkhoz a transzkraniális Dopplert (TCD) használtuk, mellyel az os temporalen keresztül vizsgálható az agyi vérátáramlási sebesség az agyalapi artériákban. A módszer nem invazív, olcsó, egyszerűen kivitelezhető, kiváló időbeli felbontással rendelkezik és tetszőlegesen ismételhető. Legfőbb hátránya, hogy a térbeli felbontása meglehetősen rossz, s a koponyacsont vastagsága néhány személyben, elsősorban idősebb nőkben határt szab az alkalmazásának.

1.4. A transzkraniális Doppler szerepe az agyi vérátáramlás valamint a neurovaszkuláris kapcsolat vizsgálatában

Az Aaslid és munkatársai által 1982-ben kifejlesztett transzkraniális Doppler (TCD) vizsgálat lehetővé tette az intrakraniális arteriákban a véráramlási sebesség és a pulzatilitási index mérése révén a vaszkuláris rezisztencia nem invazív módon történő meghatározását. A módszer az elmúlt két évtizedben óriási fejlődésen ment keresztül. Ennek köszönhetően ma már nemcsak a subarahnoidalis vérzés (SAV) következtében kialakuló vazospasmus mértékének követésére és az intrakraniális arteriák stenosisainak és occlusionainak a diagnosztizálására használják, hanem szerepet kapott a neurovaszkuláris kapcsolat, a cerebrovaszkuláris reaktivitás, a cerebrális autoreguláció, az intrakraniális nyomásváltozás vizsgálatában csakúgy, mint a cerebrális mikroembólusok kimutatásában. A fentiek mellett a módszer segítséget nyújtott az agyhalál megállapításában, s a transzkraniális duplex technika révén lehetőséget teremtett az agyi parenchyma vizsgálatokra és az agyi perfúzió meghatározására is.

Az agyi vérátáramlásra gyakorolt eltérő stimulusok hatására létrejött véráramlási sebesség változás monitorozását funkcionális transzkraniális Doppler (fTCD) módszernek nevezzük. A fTCD alkalmas többek között az acetazolamid provokáció, a CO₂ inhaláció, az apnoe teszt, a hiperventiláció, az orthosztatikus reakció, a vizuális stimuláció és a kognitív stimuláció révén létrejövő véráramlási sebesség változásának a követésére. Irodalmi adatok szerint, amennyiben a vizsgált ér keresztmetszete állandó, a véráramlási sebesség változása az adott érben arányos az adott ér ellátási területében mérhető aktuális vérátáramlás változással. Az eddigi vizsgálatok alapján általánosságban elmondható, hogy a vasoaktív stimulusok hatásukat a kis átmérőjű rezisztencia ereken fejtik ki, míg a vizsgált intrakraniális nagy artériák átmérőjét nem, vagy csak sokkal kisebb mértékben befolyásolják. Ezek alapján az intrakraniális nagyarteriákban (arteria cerebri media és posterior) detektált áramlási sebesség változásából következtetni lehet az adott arteria által ellátott agyszövetben bekövetkező vérátáramlás változás mértékére.

Tanulmányainkban a vizuális aktiváció hatására az arteria cerebri posteriorban folyó vér áramlási sebesség változását vizsgáltuk. A vizuális stimuláció (olvasás) hatására a látókéreg aktiválódik, így a neuronális aktiváció következményeként az aktivált területet ellátó rezisztencia erek kitágulnak, mely az adott területet ellátó intrakraniális arteriában

(arteria cerebri posterior) az áramlás és ezáltal az áramlási sebesség növekedéséhez vezet. Ez az áramlási sebességváltozás kiválóan detektálható transzkraniális Dopplerrel, a vizsgálat különösebb előkészület nélkül tetszőleges időpontban ismételhető és külső ágens beadását nem igényli.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Mint a bevezetésben hangsúlyoztam, a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához a rezisztencia erek dilatációja szükséges. Jelen vizsgálataimmal arra kerestem a választ, hogy a vazodilatációval ellentétes vazokonstriktiót kiváltó tényezők, mint a nem-szteroid gyulladásgátlók és a hiperventiláció következtében kialakuló hipokapnia és alkalózis, hogyan befolyásolják a neurovaszkuláris kapcsolatot.

Tudományos munkáim során az alábbi két kérdésre kerestem a választ:

I. A nem-szteroid gyulladásgátlók közül a mindennapi klinikai gyakorlatban széles körben használt indomethacin és naproxen, terápiás dózisban, orálisan adva gátolja-e a neurovaszkuláris kapcsolatot egészséges emberi szervezetben.

II. A hiperventiláció kiváltotta hipokapnia és következményes vazokonstriktió hogyan befolyásolja a neurovaszkuláris kapcsolatot egészséges személyekben.

A neurovaszkuláris kapcsolat vizsgálatához vizuális stimulációt (olvasást) használtunk, melynek során az arteria cerebri posteriorban regisztráltuk a véráramlási sebesség változását és vizuális kiváltott válasz (VEP) vizsgálattal becsültük a neuronális aktiváció mértékét.

3. VIZSGÁLATI SZEMÉLYEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Vizsgálati személyek

A vizsgálatok a Debreceni Egyetem Regionális Etikai Bizottságának engedélyével történtek, a vizsgált személyek megfelelő felvilágosítása és írásos beleegyezése után. A vizsgálatba fiatal (20 és 35 év közötti), egészséges, rendszeres gyógyszeres kezelésben nem részesülő önkénteseket vontunk be. Cerebrovaszkuláris rizikófaktorok (pl. dohányzás, hipertónia, elhízás, diabetes mellitus, hiperlipidémia, migrén) jelenléte, valamint koronária és perifériás artériás érbetegség a vizsgálatba való bevonás kizáró tényezői voltak.

3.2. Funkcionális transzkraniális Doppler (fTCD)

Vizsgálatainkban a vizuális stimuláció (olvasás) hatására bekövetkező neuronális aktiváció mértékét a vizuális kiváltott válasz paramétereinek alapján becsültük (Neuropack készülék, Nihon Kohden Corp, Tokió, Japán), míg a látókéreg aktivációjának eredményeként az arteria cerebri posteriorban (ACP) bekövetkezett áramlási sebesség változását TCD-vel vizsgáltuk (MultiDop T2, DWL, Erlingen, Németország).

A vizsgálat kezdetén 2 MHz-es transzkraniális szondát rögzítettünk mindkét oldalon egy fejpánt segítségével úgy, hogy a temporális csontablakon át az arteria cerebri posterior P2 szegmensében tudjuk a véráramlási paramétereket regisztrálni. Ehhez a vizsgálati mélységet 58 mm-re állítottuk és a szondától távolodó irányú áramlást kerestünk. Amennyiben a fenti paramétereknek megfelelő, erős szignált sikerült detektálni, s az áramlási sebesség az arteria cerebri posteriorra jellemzően szemnyitásra nőtt, szemcsukásra csökkent, a szondát rögzítettük. A vizsgálataink során a csúcshisztolés, az átlag- és a végdiasztolés sebességet regisztráltuk. Mivel a Doppler műtermékek a csúcshisztolés sebességet befolyásolják a legkevésbé, a vizsgálatok értékelésekor ezt a paramétert használtuk. Vizuális stimulációként egy érzelmileg semleges szöveget tartalmazó könyv hangtalan olvasására kértük az önkénteseket. Ezt az úgynevezett „olvasási tesztet” korábban sakktáblaminta stimulációval összehasonlították és validálták.

A vizsgálat során az önkéntesek 20 másodpercig a szemüket csukva tartották (nyugalmi fázis), majd kinyitották és 40 másodpercig olvastak (stimulációs fázis). Ezt az egy perces ciklust 10 alkalommal megismételtük, s a sebességértékeket minden személyben átlagoltuk. A jobb és bal oldali értékek között nem volt szignifikáns különbség, így az értékelés során a két oldal értékeinek átlagával számoltunk. A vizsgálat során nyert beat-to-beat értékeket másodpercenkénti felbontásban ábrázoltuk.

A vizsgálat során a szemek zárásakor a látókéreg deaktiválódik, s ennek hatására az arteria cerebri posteriorban mérhető áramlási sebesség csökken, majd egy alapszinten stabilizálódik. Szemnyitás után az áramlási sebesség emelkedik, maximumát elérve enyhén csökken, majd stabilizálódik.

Azért, hogy az egyes személyek adatait összehasonlíthassuk, az abszolút sebesség mellett meghatároztuk a relatív áramlási sebességértékeket is úgy, hogy az aktuális áramlási sebességet a szemcsukás utolsó 5 másodpercében mért nyugalmi áramlási sebességhez viszonyítottuk és annak százalékában fejeztük ki. A maximális relatív áramlási sebességnövekedés meghatározásához a szemnyitás és olvasás során, vagyis a stimulációs fázisban mért legmagasabb relatív áramlási sebességet használtuk.

3.3. Vizuális kiváltott válasz vizsgálat

A fTCD mellett vizuális kiváltott válasz (VEP) vizsgálatok is történtek a látókéreg aktivitásának becslésére. A VEP vizsgálat során a két szemet külön-külön ingereltük, miközben mindkét occipitális régióról elvezettük a kiváltott válaszpoteenciálokat. Munkámban a mintaváltással nyert P100-as csúcs amplitudóját és latenciáját használtam a statisztikai összehasonlítás során.

3.4. Vizsgálati protokollok

A nem-szteroid gyulladásgátlók (indomethacin és naproxen) neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatását tanulmányozó vizsgálatainkba egészséges önkénteseket vontuk be. Minden önkéntesen három alkalommal végeztünk funkcionális TCD és VEP vizsgálatot. Először kontroll vizsgálat során határoztuk meg a vizuális stimuláció kiváltotta áramlási sebességváltozást és végeztünk VEP vizsgálatot (kontroll fázis), majd a vizsgálati személy 2 egymást követő napon, napi 3-szor 25 mg indomethacint vett be, melyet követően a funkcionális TCD és VEP vizsgálatokat megismételtük (indomethacin fázis). Négy héttel később a vizsgálati egyén 2 egymást követő napon, napi kétszer 550 mg naproxent szedett és a vizsgálatokat újból megismételtük (naproxen fázis). A vizsgálat során mért abszolút áramlási sebességértékekből minden fázis alatt meghatároztuk a relatív sebességértékeket is úgy, hogy az aktuális áramlási sebességet a szemcsukás utolsó 5 másodpercében mért nyugalmi áramlási sebességhez viszonyítottuk, és annak százalékában fejeztük ki.

A hipokapnia (respirációs alkalózis) indukálta vazokonstriktió neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatását tanulmányozó vizsgálatainkban minden önkéntes, egészséges egyén esetében két alkalommal végeztünk funkcionális TCD és VEP vizsgálatot. Először normál légzésszám mellett (normoventiláció) határoztuk meg a vizuális stimuláció kiváltotta véráramlási sebességváltozást az a. cerebri posteriorban és végeztünk VEP vizsgálatot, majd

ugyanazon vizsgálati személyt percenként 35-40 légvételre kértük öt percen át (hiperventilációs fázis). A hiperventiláció (HV) jól ismert mellékhatásaként minden vizsgálati személyben szédülés, fejfájás jelentkezett, melynek minimalizálására a standard 10 perces vizsgálat helyett öt percen át végeztettük az erőltetett légzést. A normoventiláció és hiperventiláció alatt a TCD szondák pozíciója változatlan maradt. A hiperventiláció során az adatgyűjtést egy perccel az erőltetett légzés megkezdése után kezdtük el, és összesen 4 ciklust mértünk és átlagoltunk. A vizsgálat során mért abszolút áramlási sebességértékekből a normo- és hiperventilációs fázis alatt is meghatároztuk a relatív sebességértékeket úgy, hogy az aktuális áramlási sebességet a szemcsukás utolsó 5 másodpercében mért nyugalmi áramlási sebességhez viszonyítottuk, és annak százalékában adtuk meg.

Ahhoz, hogy a hiperventiláció hatásosságát ellenőrizzük, a kilégzésvégi szén-dioxid (CO₂) szintet kapnográf segítségével mértük (Capnograd, Novamatrix Medical Systems Corp., Wallingford, USA). A kapilláris vérgáz szinteket szintén ellenőriztük a hiperventilációs fázis előtt és közvetlenül utána.

3.5. Statisztikai módszerek

Az adatokat átlag±szórás (SD) formájában tüntettük fel. A varianciák homogenitását F teszttel ellenőriztük. A kontroll (gyógyszermentes/ normoventilációs) fázisokban és a gyógyszerhatás/hiperventilációs fázis alatt mért, vizuális inger kiváltotta abszolút és relatív véráramlási sebesség változásokat ismételt méréses variancia-analízissel hasonlítottuk össze. Páros t-próbát alkalmaztunk a kontroll és a NSAID/hiperventilációs fázisok alatt mért pulzus, szisztolés és diasztolés vérnyomás, légzési frekvencia, vérgáz szintek, a nyugalmi áramlási sebesség és pulzatilitási index (PI), a maximális relatív áramlási sebesség, valamint a VEP vizsgálat során kapott P100 hullám latencia és amplitúdó értékek összehasonlítására. Ha a statisztikai próba szignifikáns eltérést jelzett, akkor Scheffe post-hoc tesztet végeztünk. Az eltérést $p < 0.05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A nem-szteroid gyulladásgátlók (indomethacin és naproxen) neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatása

Vizsgálatainkba összesen 15 önkéntest vontunk be (8 férfit és 7 nőt), átlagéletkoruk 25 ± 4 év volt. Az alap laboratóriumi értékekben nem találtunk szignifikáns különbséget. A szisztolés és diasztolés vérnyomás, valamint a pulzus értékek a kontroll, indomethacin és naproxen fázisok alatt nem különböztek szignifikánsan. A VEP paraméterek (P100 hullám amplitudó és latencia) értékeiben szintén nem volt szignifikáns eltérés a kontroll, indomethacin és naproxen fázisok között. Minden vizsgálati személy rendelkezett megfelelő csontablakkal, így minden önkéntesben mindkét oldali arteria cerebri posteriort sikerült TCD-vel vizsgálni.

A nyugalmi, abszolút csúcshisztolés áramlási sebesség értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak mind a naproxen ($p < 0.01$), mind az indomethacin ($p < 0.01$) gyógyszerhatás idején a kontroll fázishoz képest, ugyanakkor a naproxen és indomethacin fázisok között nem volt szignifikáns különbség. Mindkét NSAID gyógyszerhatás idején a pulzatilitási index értéke szignifikánsan nagyobb volt ($p < 0.01$) a kontroll fázishoz képest, azonban a két NSAID fázisban a pulzatilitási indexek között szignifikáns eltérés nem volt. Az áramlási sebességben és a pulzatilitási indexben észlelt fentebb jelzett eltérések az NSAID készítmények agyi rezisztencia erekre kifejtett vazokonstriktív hatására utal.

A vizuális stimuláció (olvasás) hatására az abszolút csúcshisztolés áramlási sebesség mind a kontroll periódusban, mind a naproxen és indomethacin hatás idején nőtt a nyugalmi fázishoz képest. A vizuális stimuláció során mért csúcshisztolés áramlási sebességek tekintetében az ismételt méréses variancia-analízis a kontroll, indomethacin és naproxen fázisok között szignifikáns különbséget jelzett (group main effect < 0.01). Amikor két csoportot hasonlítottunk össze egymással, az ismételt méréses variancia-analízis azt igazolta, hogy a stimulációs fázisban mérhető csúcshisztolés áramlási sebesség mind az indomethacin (group main effect: $p < 0.01$), mind a naproxen (group main effect: $p < 0.05$) hatás ideje alatt alacsonyabb volt a kontroll fázishoz képest, míg az indomethacin és a naproxen hatás alatti sebesség értékeiben nem volt szignifikáns eltérés (group main effect: $p = 0.44$).

Hogy a különböző (kontroll, indomethacin, naproxen) fázisokat egymással összehasonlíthassuk, meghatároztuk a relatív sebesség értékeket is. Ismételt méréses

variancia-analízissel az abszolút sebesség értékekhez hasonlóan a stimulációs fázisban mért relatív áramlási sebesség értékekben is szignifikáns különbséget észleltünk a kontroll, indomethacin és naproxen fázisokban (group main effect: $p < 0.01$). Amikor két csoportot hasonlítottunk össze egymással, a vizuális stimuláció alatt mért relatív csúcshisztolés áramlási sebesség az indomethacin (group main effect: $p < 0.01$) és a naproxen (group main effect: $p < 0.05$) fázisban is alacsonyabb volt a kontroll fázishoz képest, azonban az indomethacin és a naproxen hatás alatti sebesség értékeiben nem találtunk szignifikáns eltérést (group main effect: $p = 0.24$).

A maximális relatív véráramlási sebességnövekedés (azaz a 40 másodperces vizuális stimulációs fázis során mért relatív csúcshisztolés áramlási sebesség legnagyobb értéke) tekintetében is szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk ha a kontroll és indomethacin ($p < 0.01$), valamint kontroll és naproxen ($p < 0.02$) fázisokat hasonlítottuk össze. A két nem-szteroid gyulladásgátló hatása idején mért maximális relatív csúcshisztolés sebesség értékében nem volt szignifikáns eltérés ($p = 0.38$).

4. 2. A hipokapnia indukálta vazokonstriktió neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatása

Vizsgálatainkba 14 önkéntes, egészséges egyént vontunk be (7 nőt és 7 férfit), átlagéletkoruk 25 ± 4 év volt. A hiperventiláció (HV) alatt a vérnyomás értékek nem változtak, azonban a szívfrekvencia (a légzési frekvenciához hasonlóan) szignifikánsan nőtt ($p < 0.001$). A kilégzésvégi pCO_2 és a kapilláris pCO_2 koncentráció szignifikánsan csökkent ($p < 0.001$), a vér pH-ja és oxigén koncentrációja pedig növekedett ($p < 0.001$). A VEP paraméterek (P100 hullám amplitúdó és latencia) értékeiben nem volt szignifikáns különbség a normoventilációs és HV fázisok között. A hiperventiláció és következményes hipokapnia okozta vazokonstriktió eredményeként a szemcsukás során az ACP-okban mért nyugalmi abszolút csúcshisztolés áramlási sebesség szignifikánsan csökkent ($p < 0.01$), míg a pulzatilitási index értéke szignifikánsan nőtt ($p < 0.001$) a normoventilációs értékekhez képest. A vizuális stimuláció (olvasás) kiváltotta, abszolút csúcshisztolés sebesség növekedés mind a normo-, mind a hiperventilációs fázisban megfigyelhető volt. A vizuális stimuláció során mért csúcshisztolés áramlási sebességek tekintetében az ismételt méréses variancia-analízis (ANOVA) a kontroll és hiperventilációs fázisok között szignifikáns különbséget igazolt (group main effect < 0.001).

Hogy a normo- és hiperventilációs fázisokat összehasonlíthassuk, az abszolút sebesség mellett meghatároztuk a relatív sebesség értékeket is. Ismételt méréses variancia-analízissel az abszolút sebesség értékekhez hasonlóan a stimulációs fázisban mért relatív áramlási sebesség értékekben is szignifikáns különbséget észleltünk a normo- és hiperventilációs fázisok között (group main effect: $p < 0.001$), s a vizuális stimuláció kiváltotta áramlási sebesség változások dinamikája is szignifikánsan eltért a kontroll és a hiperventilációs fázisban (group with time-of-measurement interaction: $p < 0.001$).

A 40 másodperces vizuális stimulációs fázis során mért maximális relatív véráramlási sebesség növekedés szignifikánsan alacsonyabb volt a hiperventiláció során ($12 \pm 5\%$) a normoventilációs fázishoz képest ($26 \pm 7\%$, $p < 0.001$).

5. MEGBESZÉLÉS

Eredményeink azt igazolták, hogy mind a NSAID készítmények közé tartozó indomethacin és naproxen, mind a hiperventiláció kiváltotta hipokapnia vazokonstriktiót idézett elő a cerebrális rezisztencia ereken és gátolta a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges vazodilatációt, miközben a neuronális aktiváció mértékét jelző kiváltott válasz paraméterekben nem volt szignifikáns eltérés a kontroll fázishoz képest.

5.1. A nem-szteroid gyulladásgátlók (indomethacin és naproxen) cerebrális hemodinamikára és neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatása

A ciklo-oxigenáz (COX) enzimet gátló, nem-szteroid gyulladásgátló gyógyszerek közé tartozó naproxent és indomethacint széles körben használjuk markáns fájdalomcsillapító hatásuk miatt. Vizsgálataink során azt találtuk, hogy ezek a gyógyszerek terápiás dózisban, orálisan alkalmazva szignifikánsan csökkentik a látókérget ellátó arteria cerebri posteriorban mérhető nyugalmi véráramlási sebességet, s növelik a pulzatilitási indexet, mely változások a cerebrális rezisztencia erek vazokonstriktióját jelzik. Mindezek mellett, mind az indomethacin, mind a naproxen hatás alatt csökkent a vizuális stimulus kiváltotta véráramlási sebesség változás az arteria cerebri posteriorban, miközben a látókéreg neuronális aktivációját jelző vizuális kiváltott válasz paramétereiben nem volt változás a kontroll fázishoz képest. Mivel a naproxen és indomethacin cerebrális rezisztencia erekre gyakorolt hatásai között nem

észleltünk szignifikáns különbséget, eredményeink azt jelzik, hogy nemcsak az indomethacin, hanem egyéb nem-szteroid gyulladásgátló gyógyszer, mint pl. a naproxen is képes a neurovaszkuláris kapcsolatot gátolni. Tudomásunk szerint ez volt az első olyan transzkraniális Doppler tanulmány, mely igazolta a nem-szteroid gyulladásgátlók neurovaszkuláris kapcsolatra kifejtett gátló hatását.

Bár számos nem-szteroid gyulladásgátló ismert, a legtöbb cerebrális hemodinamikával foglalkozó tanulmányban az indomethacin hatását vizsgálták. Ennek háttérében feltehetően az állt, hogy az indomethacin egy jól ismert, erős vazokonstriktív hatással bíró szer, melyről kimutatták, hogy a bazális agyi vérátáramlást kb. 20-40%-al csökkentette. Az indomethacin markáns vazokonstriktor hatását többek között traumás agyállomány vérzésben az intrakraniális nyomásfokozódás csökkentésére, valamint újszülötteknél a ductus arteriosus persistens zárására is felhasználták. Az egyéb NSAID készítményekkel szemben az indomethacin használata mellett szólt az is, hogy az egyéb NSAID készítmények (ibuprofen, diclofenac, aszpirin) vazóaktív hatása nem volt olyan meggyőző, mint az indomethaciné.

Vizsgálataink során azt találtuk, hogy mind az indomethacin, mind a naproxen hatására csökkent a nyugalmi cerebrális véráramlási sebesség és emelkedett a pulzatilitási index, mely változások mindkét, NSAID csoportba tartozó szer cerebrális rezisztencia erekre gyakorolt vazokonstriktív hatását jelezték. Más szerzőkkel ellentétben eredményeink azt igazolták, hogy az indomethacinon túl a naproxennek is van a cerebrális rezisztencia erekre gyakorolt érszűkítő hatása.

A nyugalmi véráramlás csökkentése mellett kimutatták, hogy az indomethacin gátolja a vazodilatációval járó folyamatokat, beleértve a hiperkarbia és acetazolamid indukálta cerebrális vazoreaktivitást is. Az is ismert állatkísérletekből, hogy nemcsak a NO-szintáz, hanem a COX enzim gátlása is jelentősen csökkenti a neuronális aktiváció indukálta áramlás növekedést, jelezve, hogy az NO mellett a prosztanoidok is fontos szerepet játszanak a neurovaszkuláris kapcsolatban. Állatkísérletek mellett, egy humán tanulmány is bizonyította, hogy a prosztaglandin szintézist gátló indomethacin a funkcionális agyi aktiváció során csökkentette a vazodilatatív választ, azonban az acetyl-szalicilat vizsgálatakor már nem találtak hasonló hatást.

Összhangban a fenti megfigyelésekkel fTCD vizsgálataink is igazolták az indomethacin neurovaszkuláris kapcsolatot gátló hatását. Eredményeink azonban arra utaltak, hogy az indomethacin mellett a naproxen is vazokonstriktor hatással bír, s nemcsak az agyi vérátáramlási sebességet csökkentette, hanem az agykérgi aktiváció indukálta áramlási választ is gátolta. Vizsgálataink azt is igazolták, hogy az indomethacin és naproxen fent említett

hatásai nemcsak kísérleti körülmények között, hanem a mindennapi klinikai gyakorlatban, a gyógyszerek szokásos, terápiás dózisban történő alkalmazása esetén is megfigyelhetők.

A géntechnológia fejlődése és a szelektív COX inhibitorok megjelenése lehetővé tette annak vizsgálatát, hogy mely COX izotípusok lehetnek felelősek a neurovaszkuláris kapcsolatért. Azok a megfigyelések, melyek szerint COX1 deficiens egerek szomatoszenzoros kérgében, a szenzoros stimuláció hatására a véráramlás szignifikánsan növekedett, de a COX2 izoenzim szelektív gátlása után az áramlás változás mértéke csökkent, a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásában a COX2 elsődleges szerepét hangsúlyozták. Ezekkel az eredményekkel összhangban, megfigyelték azt is, hogy a COX2 izoenzimet gátló meloxicam intravénás alkalmazása patkányokban csökkentette a neuronális aktiváció által kiváltott cerebrális vérátáramlás növekedést és a BOLD választ. Ugyanakkor egy funkcionális near-infrared spektroszkópiás humán vizsgálat adatai szerint a COX-1 genotípus-(L237M, rs5789)-függő enzimfunkció csökkenése heterozigóta L/M hordozókban együtt járt a vizuális stimuláció kiváltotta hemodinamikai válasz 42% -os csökkenésével, mely azt sugallta, hogy a COX2 mellett a COX1 izoenzim is modulálta a neurovaszkuláris kapcsolatot.

5.2. A hipokapnia indukálta vazokonstriktió neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatása

Jól ismert, hogy a vér parciális szén-dioxid nyomásának (pCO₂) emelkedése (hiperkapnia) és a pH csökkenése vazodilatációt, míg a pCO₂ szint csökkenése és a pH növekedése vazokonstriktiót eredményez. Hiperventiláció során a vér pCO₂ szintje csökken, respirációs alkalózis jön létre, s ennek következtében vazokonstriktió alakul ki. Korábbi vizsgálatok azt igazolták, hogy a hiperkapnia kiváltotta vazodilatációnak nem volt lényeges hatása a neurovaszkuláris kapcsolatra, mint ahogy az acetazolamid mellett jelentkező vazodilatáció sem befolyásolta azt szignifikáns mértékben. Jelen tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy az ellenkező érválaszt, vagyis a vazokonstriktiót indukáló hipokapnia milyen hatással van a neurovaszkuláris kapcsolatra.

Eredményeink azt bizonyították, hogy annak ellenére, hogy a vizuális kiváltott válasz paraméterei nem változtak számottevően, a vizuális stimulációval kiváltott, a. cerebri posteriorban mért relatív áramlási sebességváltozás szignifikánsan alacsonyabb volt hiperventiláció alatt, mint normoventiláció során. Ezek az eredmények azt mutatták, hogy bár a neuronális aktiváció mértéke nem változott, a kérgi aktiváció által kiváltott lokális

vazodilatáció a hipokapnia okozta vazokonstrikció idején nem tudott teljes mértékben kialakulni. Tudomásunk szerint ez volt az első olyan humán tanulmány, amely azt bizonyította, hogy a hipokapnia indukálta vazokonstrikció szignifikánsan gátolta a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulását.

Míg a vizuális stimuláció kiváltotta maximális relatív véráramlási válasz a hiperventiláció alatt ($12 \pm 5\%$) kevesebb, mint a fele volt a kontroll fázisban mért értéknek ($26 \pm 7\%$), a vizuális kiváltott potenciálok paraméterei nem változtak jelentősen. Mindez a neurovaszkuláris kapcsolat gátlása mellett azt is jelezte, hogy a fiziológiás vérátáramlás növekedés mintegy fele is elegendő ahhoz, hogy a vizuális stimuláció során a neuronális működés még ép maradjon. Eredményeink összhangban vannak azokkal a megfigyelésekkel, melyek szerint a neuronális aktiváció okozta cerebrális vérátáramlás növekedés mértéke 2-10-szeres ahhoz képest, mint ami a megnövekedett agyi oxigén anyagcseréhez szükséges a kérgi aktiváció során. Ezek az eredmények azt jelzik, hogy a neurovaszkuláris kapcsolat jelentős biztonsági tartalékokkal működik fiziológiás feltételek között. Ennek ellenére, a szignifikáns pCO₂ csökkenés és az alkalózis neuronális funkcióra gyakorolt potenciális káros hatása patológiás körülmények között nem hagyható figyelmen kívül. Zárt koponyasérült betegekben például igazolták, hogy a hiperventiláció a vazokonstrikció révén iszkémiás károsodást indukálhat. Ezért azokban a betegségekben, melyek az oxigenizáció zavarával, vagy a vérátáramlás csökkenésével járhatnak, mérlegelnünk kell a hiperventiláció és a következményes hipokapnia lehetséges kedvezőtlen hatásait.

5.3. Eredményeink klinikai jelentősége

Vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy mind a NSAID készítmények, mind a hipokapnia szignifikánsan csökkentette a látókérget ellátó arteria cerebri posteriorban mérhető nyugalmi véráramlási sebességet és szignifikánsan növelte a pulzatilitási indexet, mely változások a cerebrális rezisztencia erek vazokonstrikcióját jelezték. Emellett, mindkét vazokonstrikciót kiváltó tényező szignifikánsan csökkentette a vizuális stimulus kiváltotta relatív cerebrális véráramlási sebesség növekedést anélkül, hogy a látópálya neuronális aktivációjának mértékét jelző vizuális kiváltott választ érdemben befolyásolta volna.

Mivel egészséges személyekben a neurovaszkuláris kapcsolat jelentős tartalékokkal rendelkezik, vizsgálatainkban a rezisztencia erek vazokonstrikciója és a neuronális aktiváció indukálta vazodilatáció gátlása a neuronális aktivációt nem befolyásolta. Patológiás körülmények között azonban nem zárható ki, hogy a tanulmányainkban vizsgált

vazokonstriktiót kiváltó tényezők a megfelelő vérellátást biztosító, vazodilatációt igénylő kompenzatorikus folyamatokat gátolják, s ezáltal növelik a kedvezőtlen kimenetel kockázatát. Emiatt minden olyan betegségben, mely a cerebrális perfúzió csökkenésével (pl. súlyos carotis stenosis, iszkémiás penumbra, subarachnoidális vérzést követően kialakult vazospasmus) vagy hipoxiával (pl. tüdőbetegség, anaemia), illetve fokozott véráramlási vagy fokozott oxigén igénnyel (pl. status epilepticus) jár, a hiperventilációt és a NSAID készítmények alkalmazását kellően meg kell fontolni, s lehetőség szerint ezek mellőzése javasolt.

6. ÚJ EREDMÉNYEK, MEGÁLLAPÍTÁSOK

- A terápiás dózisban, orálisan alkalmazott, nem szelektív nem-szteroid gyulladásgátló gyógyszerek közül nemcsak az indomethacin, hanem a naproxen is szignifikánsan csökkentette a látókérget ellátó arteria cerebri posteriorban mérhető nyugalmi véráramlási sebességet és növelte a pulzatilitási indexet egészséges emberi szervezetben, jelezve, hogy az indomethacin mellett más NSAID is okozhat vazokonstriktiót a cerebrális rezisztencia ereiben.
- A naproxen és az indomethacin szignifikánsan csökkentette a vizuális stimulus kiváltotta cerebrális véráramlás növekedést anélkül, hogy a látókéreg neuronális aktivációjának mértékét jelző vizuális kiváltott választ befolyásolta volna, vagyis mindkét vizsgált NSAID gátolta a neurovaszkuláris kapcsolatot.
- A naproxen és az indomethacin rezisztencia erekre gyakorolt hatása között nem volt szignifikáns különbség, mely az indomethacinhoz hasonlóan potens vazokonstriktor hatást jelez a naproxen esetében is.
- A hiperventiláció szignifikánsan csökkentette a vizuális stimulus kiváltotta cerebrális vérátáramlás növekedést az emberi szervezetben anélkül, hogy a vizuális kiváltott választ lényegesen gátolta volna.
- A vizuális stimuláció kiváltotta maximális relatív véráramlási válasz a hiperventiláció alatt kevesebb, mint a fele volt a normoventiláció során mért értéknek, miközben a vizuális kiváltott potenciálok paraméterei nem változtak jelentősen. Mindez a neurovaszkuláris kapcsolat gátlása mellett azt is jelezte, hogy a fiziológias vérátáramlás növekedés mintegy fele is elegendő ahhoz, hogy a vizuális stimuláció során a neuronális működés még ép maradjon. Megfigyelésünk arra utal, hogy a neurovascularis kapcsolat jelentős biztonsági tartalékkal működik.

- A terápiás dózisú, orálisan alkalmazott naproxen, indomethacin valamint a hiperventiláció okozta vazokonstrikció gátolta a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges vazodilatációt, s így csökkent vér és/vagy oxigén ellátás, illetve fokozott vér/vagy oxigén igény esetén növelheti a kedvezőtlen klinikai kimenetel rizikóját.

7. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/79/2015.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Szabó Katalin Judit
Neptun kód: IRYH3T
Doktori Iskola: Idegtudományi Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10038815

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Szabó, K.**, Rosengarten, B., Juhász, T., Lakó, É., Csiba, L., Oláh, L.: Effect of non-steroid anti-inflammatory drugs on neurovascular coupling in humans.
J. Neurol. Sci. 336 (1-2), 227-231, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2013.10.048>
IF:2.262 (2013)
2. **Szabó, K.**, Lakó, É., Juhász, T., Rosengarten, B., Csiba, L., Oláh, L.: Hypocapnia induced vasoconstriction significantly inhibits the neurovascular coupling in humans.
J. Neurol. Sci. 309 (1-2), 58-62, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2011.07.026>
IF:2.353



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. □ Tel.: (52) 410-443
E-mail: publikaciok@lib.unideb.hu □ Honlap: www.lib.unideb.hu



További Közlemények

3. Káplár, M., Sweni, S., Kulcsár, J., Cogoi, B., Esze, R., Somodi, S., Papp, M., Oláh, L., Magyar, M.T., **Szabó, K.**, Kovács, K., Hársfalvi, J., Paragh, G.: Mannose-binding lectin levels and carotid intima-media thickness in type 2 diabetic patients.
J. Diabetes Res. "accepted by Publisher" (2015)
IF:3.536 (2013)
4. **Szabó K.J.**, Ádány R., Balla J., Balogh Z., Édes I., Fekete I., Káplár M., Mátyus J., Oláh L., Olvasztó S., Paragh G., Páll D., Pfliegler G., Vajda G., Zeher M., Csiba L.: Újabb ismeretek a különböző vascularis kórképek megelőzésében, diagnosztikájában és terápiájában.
Orv. Hetil. 153 (13), 483-498, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2012.29340>
5. **Szabó K.J.**, Csiba L.: Az életkor, a nem és a vascularis rizikófaktorok hatása a carotis intima-media vastagságára, a cerebralis és cardialis hemodinamikai paraméterekre.
Vasc. Neurol. 2 (3), 75-81, 2010.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 8,151

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 4,615

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, 2015.04.10.



8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Kiemelt köszönettel tartozok témavezetőmnek, **Dr. Oláh László** egyetemi docensnek a közös kutatómunka lehetőségéért, tudományos munkámban végzett állandó, önzetlen segítségéért és tanácsaiért.

Köszönöm **Dr. Csiba László** Professzor Únak, hogy tudományos munkáimat vezérelte orvostanhallgató korom óta, tanácsokat adott és támogatásával külföldi kongresszusokon mutathattam be kutatási eredményeinket.

Köszönet illeti **Dr. Bernhard Rosengartent** a funkcionális TCD vizsgálati protokoll létrehozásában végzett munkájáért.

Köszönöm a segítséget a Neurológiai Klinika elektrofiziológiai labor munkatársainak; köztük **Paluskáné Peterman Tündének** a VEP vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségét.

Hálás vagyok **Borók Józsefnének** és **Dr. Csapó Krisztinának**, hogy segítettek megtanulni a carotis Duplex ultrahang vizsgálatok technikai kivitelezését.

Hálás vagyok **Dr. Pallagi Edinának**, a VEP vizsgálatok kiértékelésében végzett segítségéért.

Köszönöm **Dr. Kardos Lászlónak** a statisztikai munkáját.

Köszönöm szeretett családtagjaimnak, **Édesapámnak** és **Anyukámnak**, hogy mindig mellettem állnak, támogattak az orvosi pályám során és akiktől többek között a tudományos munka iránti szeretetet is kaptam.

Hálás vagyok **férjemnek**, hogy az életem szemtanúja lett.

Nem utolsó sorban köszönöm minden barátomnak, ismerősömnek, fiatal orvos **kollégáimnak** akik önkéntesként vettek részt vizsgálatainkban, nélkülük nem jutottunk volna el az eredményeinkhez.