

**HAEMORHEOLOGIAI ÉS
HAEMOSTASEOLOGIAI TÉNYEZŐK SZEREPE
ISCHAEMIÁS CEREBROVASCULARIS
KÓRKÉPEKBEN**

Ph.D. ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Dr. SZAPÁRY LÁSZLÓ

PTE ÁOK Neurológiai Klinika

Program- és témavezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán

PÉCS, 2004.

TARTALOMJEGYZÉK

| | |
|-------------------------|----|
| Rövidítések jegyzéke | 3 |
| Bevezetés | 4 |
| Célkitűzések | 9 |
| Módszerek és beteganyag | 10 |
| Eredmények | 19 |
| Következtetések | 24 |
| A szerző publikációi | 27 |
| Köszönetnyilvánítás | 34 |

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

| | |
|------------------|------------------------------------------------|
| AI | aggregációs index |
| ASA | acetilszalicilsav |
| COX | ciklooxygenáz |
| CT | computer tomograph |
| HDL | high density lipoprotein |
| Htc | haematocrit |
| IS | ischaemiás stroke |
| LDL | low density lipoprotein |
| MRI | mágneses rezonancia imaging |
| PMS | phenazin methosulfat |
| PFC | plazma fibrinogén koncentráció |
| PV | plazma viszkozitás |
| RCTT | relative cell transit time |
| SEM | standard error of mean (átlag standard hibája) |
| Tct | thrombocyta |
| TIA | transiens ischaemiás attack |
| TXA ₂ | thromboxan A ₂ |
| vvs | vörösvérsejt |
| TVV | teljes vér viszkozitás |
| vWf | von Willebrand faktor |

I. BEVEZETÉS

A cerebrovascularis kórképek jelentőségét az epidemiológiai adatok egyértelműen alátámasztják. A stroke incidenciája a fejlett országokban kb. 200/100.000 lakos/év, az esetek 30-50 %-ában az első ictus halállal végződik, így a cerebrovascularis betegségek a halálozási statisztika harmadik helyét foglalják el a szív- és érrendszeri, valamint a daganatos kórképek után. Hazánkban évente kb. 40.000 beteg kerül kórházi felvételre akut stroke következtében. Bár mortalitási adataink az elmúlt évtizedben csökkenő tendenciát mutattak, Magyarország még mindig az egyik legrosszabb helyet foglalja el Európában. Az stroke-ot túléltek 71%-a csökkent munkaképességű, 16%-a élete végéig ágyhoz kötött, ápolásra szorul.

Az agyérbetegségek közel 80%-a ischaemiás eredetű, ezen kórképek pathomechanizmusát vizsgálva a régóta jól ismert hemodinamikai tényezők, érfali elváltozások mellett az utóbbi két évtizedben irányult a figyelem a haemorheológiai faktorok jelentőségére.

A rheologia (áramlástan) a különböző anyagok erőbehatásra bekövetkező deformálódásával, folyási tulajdonságaival foglalkozó tudomány. A vér ezen sajátosságait a haemorheologia tanulmányozza.

A viszkozitás az egyik legfontosabb paramétere a vér rheológiai jellemzőinek, a vér mint folyadék belső súrlódását jellemző fizikai mennyiség. A viszkozitást adott hőmérsékleten az áramlást fenntartó nyírófeszültség és a létrehozott sebességgrádiens hányadosaként definiálhatjuk.

Az emberi érrendszerre is, elsősorban a nagyerek szintjén alkalmazható a rheologia egyik alaptörvénye, a Poiseuille-törvény, mely kimondja, hogy az adott érszakaszon mérhető áramlást elsősorban az ér sugara, a perfúziós nyomás, az érszakasz hossza, valamint a vér viszkozitása határozzák meg.

Mivel a vér nem-newtoni folyadék, viszkozitása korrekt módon csak függvény formájában fejezhető ki. A klinikai gyakorlatban a bizonyos nyírófeszültséghez illetve sebességgrádienshez tartozó viszkozitást értékeljük.

A teljes vér – mint szuszpenzió - viszkozitását több tényező együttesen befolyásolja:

- haematocrit (a szuszpendált részecskék mennyisége),
- plazma viszkozitás (a szuszpenziós folyadék tulajdonsága),
- vörösvérsejt aggregáció (a szuszpendált részecskék mérete),
- vörösvérsejt deformabilitás (a szuszpendált részecskék saját belső súrlódása).

A haematocrit értéke és a viszkozitás szoros korrelációban van. A mikrocirkulációt jellemző lassú áramlási viszonyok mellett a haematocrit 0,40-ről 0,50-re történő emelkedése a viszkozitást megduplázza. A plazma viszkozitást (PV) a víz és a benne oldott nagy molekulájú anyagok határozzák meg, legfontosabb szerepe a fibrinogénnek van. A vörösvérsejtek (vvs) aggregációja reverzibilis összetapadásukat jelenti. A fibrinogén és bizonyos globulinok az aggregációs készséget fokozzák, a vvs-ek között hidakat kialakítva aggregátumokat hoznak létre. A vvs-ek jellemző tulajdonsága, hogy nem merev, statikus vérkomponensek. A nyírási sebesség növelésével 50 s^{-1} felett passzív alakváltozást is mutatnak (deformáció), megnyúlnak, s így a mérhető vérviszkozitás tovább csökken.

Haemorheologiai faktorok szerepe ischaemiás cerebrovascularis kórképekben

Az emberi keringést haemodinamikai és haemorheologiai tényezők együttesen szabályozzák. Normál viszonyok között az agy vérátáramlásának fő meghatározója a nyomásgradiens és az érátmérő, a haemodinamikai rezerv kimerülése, érfali megbetegedés esetén a haemorheologiai faktorok már döntő tényezővé válnak.

Az ischaemiás cerebrovascularis kórképek pathomechanizmusában a vér áramlási sajátosságait meghatározó haemorheologiai faktorok kiemelkedő jelentőséggel

bírnak, a betegek több mint 40%-ában észlelhetők ezen tényezők eltérései, a kóros haemorheologiai viszonyok az agyi perfúzió károsodásához vezethetnek. Vitatott, hogy az akut stroke kapcsán gyakran észlelhető kóros haemorheologiai viszonyok a kórkép egyik oki tényezőjét képezik, vagy a kedvezőtlen áramlási viszonyok csak másodlagosan alakulnak ki. A polycytaemiás betegeknél mind a cerebialis infarctus kockázata, mind a mortalitás szignifikánsan magasabb. Több szerző igazolta a plazma fibrinogén koncentráció szignifikáns emelkedését akut ischaemiás stroke esetén. A vvs-ek hyperaggregabilitása a microvasculatura szintjén járul hozzá döntően az ischaemiás szövetkárosodáshoz. Az akut ischaemiás stroke során fellépő rheologiai zavarok az esetek jelentős részében perzisztálnak, növelve az újabb agyi ischaemia kockázatát.

Korábbi tanulmányok több rheologiai paraméter primér rizikófaktor szerepét igazolták cardio- és cerebrovascularis kórképekben. A különböző vascularis rizikófaktorok a haemorheologiai paraméterekre negatív hatással lehetnek. A magas vérnyomás a stroke leggyakoribb kockázati tényezője, a rheologiai faktorok a hipertonia súlyosságával és a szemfenéki képpel párhuzamosan romló tendenciát mutatnak. Diabetes mellitus esetén jellegzetes rheologiai eltérések az emelkedett haematocrit és vér viszkozitás valamint a csökkent vvs deformabilitás. Több korábbi tanulmány utal a rheologiai paraméterek és a hyperlipidaemia kapcsolatára, lipidszint csökkentő kezelés során a plazma fibrinogén szint és a PV csökkenését észlelték. Mind a dohányzás, mind a krónikus alkoholfogyasztás kedvezőtlenül befolyásolja a vér áramlási tulajdonságait.

A fenti adatok alapján összefoglalóan elmondható, hogy a haemorheologiai paraméterek fontos szerepet játszanak az akut agyi ischaemia pathomechanizmusában. Az ictus után gyakran észlelhető krónikus rheologiai zavarok ismételt stroke fellépésére hajlamosítanak. Az agyérbetegek rendszeres rheologiai kontrollja lehetővé teszi az észlelt eltérések korrekcióját, csökkentve az újabb agyi esemény fellépésének kockázatát.

A haemostaseologiai faktorok és az ischaemiás agyérbetegségek kapcsolata

A haemostasis biztosítja szervezetünk számára a vascularis integritást, a folyamaton az érfal, a subendothelialis mátrix, a vérlemezkék és a vér alvadási faktorai között lezajló reakciók sorozatát értjük.

Az endothelium károsodása, a subendotheliumnak és azon az adhezív makromolekuláknak felszínre kerülése thrombocytá adhéziót, aktivációt és aggregációt eredményez. A folyamat része a primer haemostasisnak, de fontos szerepe van az atherosclerosis pathomechanizmusában. Ha az intakt endothelium sajátosságai megváltoznak oly módon, hogy a normál szervfunkció továbbra már nem tartható fenn, endothelium diszfunkcióról beszélünk, ami korai jele az atheroscleroticus folyamatoknak. A diszfunkció megítélésére olyan molekula alkalmas, amely stabil, megtalálható a keringésben, szérumszintje könnyen meghatározható és specifikus az endothelsejtekre. Ezeknek a kritériumoknak a vWf felel meg leginkább.

A vWf egy plazmában található multimer glycoprotein, amely részt vesz a normál haemostasis kialakításában azzal, hogy megköti és stabilizálja a VIII. faktort a keringésben, valamint az érfalsérülés helyén leborgonyozza a thrombocytákat a subendothelialis mátrixhoz. A plazmában mért vWf aktivitást elsősorban az endothelsejtek által termelt molekulák határozzák meg, normál tartományát az irodalmi adatok 0,40-1,55 NE/ml között adják meg. Mérsékelt magasabb plazmaszinteket mutattak ki endothelium stimuláció esetén; jelentősen magasabb plazmaszinteket olyan súlyosabb állapotokban találunk, melyek az endothelsejtek direkt károsodásával járnak.

Fiziológiás körülmények között a thrombocyták szabadon keringenek az érpályában. Az endothelium sérülésekor, egy instabil atheroscleroticus plakk rupturája esetén a szabaddá váló subendothelialis képletek aktiválják a thrombocytákat. A vWf thrombocytákhoz való kötődését két mechanizmus szabályozza: a kezdeti interakció a kötőszövettel, és a véráramban fellépő nyírófeszültség. Mindkét tényező a vWf konformációjára hat.

Az adhéziót követően olyan struktúrák kell, hogy megjelenjenek a thrombocyták felszínén, amelyekkel egymáshoz tapadhatnak, aggregálódhatnak. Ehhez szükséges, hogy a thrombocyták membránja átalakuljon, amit az aktiválódás folyamata tesz lehetővé. Ennek során specifikus felszíni receptoraikhoz agonista molekula kötődik, ezek közül az ADP, a kollagén és az adrenalin bír kiemelkedő jelentőséggel. Fontos szerepe van az aktiválódás felgyorsításában a foszfolipáz A₂-nek, mely a membránlipidekből arachidonsavat hasít le. A COX enzim révén ebből keletkező thromboxán A₂ (TXA₂) a környezetben lévő thrombocytákat aktiválja. A folyamatok következménye a thrombocytá alakjának a megváltozása, melynek során a GP IIb/IIIa integrin családba tartozó receptor addig rejtett doménje a felszínre kerül, és ezzel hozzáférhetővé válik azon fehérjék számára (fibrinogén, vWf, vitronektin), melyek képesek a thrombocyták között hidat képezni, a vérlemezkék aggregálódását biztosítani. Az aktiválási reakciósorozat végeredménye a subendotheliumhoz kapcsolódó fehér thrombus.

A stroke 5 éven belül a betegek 40-50%-ánál recidivál, a riasztó epidemiológiai adatainak javulása a megfelelő secunder prevenciótól várható. A gyógyszeres kezelés alapját a thrombocytá aggregáció gátló kezelés jelenti, számos multicentrikus tanulmány igazolja ezen szerek hatékonyságát a cardio- és cerebrovascularis események előfordulási gyakoriságának és a mortalitás csökkentésében. A legrégebben és leggyakrabban használt gyógyszer az acetilszalicilsav (ASA), amely irreverzibilisen gátolja a ciklooxygenáz (COX) ezimet. Az elmúlt években új thrombocytá ellenes szerek is forgalomba kerültek, így a tienopiridinek csoportjába tartozó ticlopidin és clopidogrel, melyek az ADP -receptor antagonistái. Nemzetközi tanulmányok alapján ezen gyógyszerek preventív hatása mérsékelten felülmúlja az ASA effektivitását.

A secunder prevencióban részesülő betegek egy részénél a kezelés ellenére is kialakulhat újabb akut vascularis esemény. Azon betegeket, akiknél magas ASA dózis mellett sem lehetett megfelelő aggregáció gátlást kimutatni ex vivo módszerek segítségével, ASA non-respondereknek, azokat, akik kezdetben jól reagáltak a kezelésre, de változatlan dózis mellett fél-egy év múlva már elégtelen az aggregáció

gátlás hatékonysága, ASA rezisztensnek nevezzük. A jelenségek pontos mechanizmusa még nem tisztázott kellőképpen. Különböző munkacsoportok a non-responder betegek arányát 10-40% közöttinek adják meg.

A thrombocyta aggregáció gátló gyógyszerek széleskörű elterjedésével párhuzamosan egyre nagyobb igény mutatkozott azok biológiai hatékonyságának laboratóriumi eszközökkel történő megítélése. A mindennapi gyakorlatban a legelterjedtebb ex vivo módszer a vérlemezkék funkciójának vizsgálatára a Born által 1962-ben kifejlesztett turbidimetriás elven működő optikai aggregometria.

II. CÉLKITŰZÉSEK

1. Akut ischaemiás stroke betegek részletes haemorheologiai vizsgálata során tanulmányozni kívántuk az egyes rheologiai paraméterek jellegzetességeit az ictus fellépésekor, majd alakulásukat az akut stroke első hetében. Megvizsgáltuk, hogy befolyásolja-e a rheologiai faktorok alakulását a stroke típusa, súlyossága, a társuló gyulladásos, fertőzőes szövődmények. Értékeljük a haemorheologiai paraméterek hatását az akut ischaemiás stroke kimenetelére.

2. Nagy számú krónikus ischaemiás cerebrovascularis beteg vizsgálata során kívántuk tanulmányozni a haemorheologiai paraméterek jellegzetességeit. Összefüggéseket kerestünk a rheologiai paraméterek és a vascularis rizikófaktorok, a stroke típusa, a carotis stenosis súlyossága között.

3. In vitro körülmények között három, széles körben elterjedt és használt cerebrovascularis gyógyszer (pentoxiphyllin, piracetam és vinpocetin) antioxidáns hatását kívántuk vizsgálni. A szabadgyök generátor phenazin-methosulphatot (PMS) használva mértük a vörösvérsejtek deformálhatóságának változását az oxidatív stressz során, majd a fenti cerebrovascularis szerek alkalmazását követően.

4. A krónikus agyérbetegek kezelésében rutinszerűen használt vinpocetin infúziós kezelés haemorheologiai hatásait kívántuk értékelni a készítmény különböző dózisban történő alkalmazását követően.

5. Vizsgálni kívántuk a plazma lipid szintek, a haemorheologiai paraméterek, a thrombocyta aggregáció és az endothel diszfunkció alakulását krónikus cerebrovascularis betegeknel atorvastatin kezelést követően.

6. Nagy számú, preventív kezelésként thrombocyta aggregáció gátló gyógyszert szedő krónikus agyérbeteg aggregometriás vizsgálatával kívántuk értékelni különböző, rutinszerűen használt antiaggregációs készítmények hatékonyságát.

III. MÓDSZEREK ÉS BETEGANYAG

1. Haemorheologiai paraméterek vizsgálata

A vérvételek standard módon cubitális vénából történtek. A minták előkészítése és a mérések szobahőmérsékleten ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), a vérvételtől számítva legkésőbb 3 órán belül megtörténtek.

1.1. A fibrinogén meghatározásához 4,5 ml vért vettünk 3,8%-os nátrium-citrát tartalmú Vacutainer csőbe. A fibrinogén koncentráció méréséhez Clauss módszert használtunk.

1.2. A plazma és teljes vér viszkozitás mérése: A vért lítium-heparin (143 IU/4,5 ml) tartalmú Vacutainer csövekbe vettük le, a viszkozitás méréseket Hevimet 40 kapilláris viszkoziméteren (Hemorex Kft., Budapest) végeztük. A viszkoziméter két, temperált olajfürdőbe merülő, teflonból készült kapilláris csőből áll, melyek belső átmérője 0,6 mm, hossza pedig 500 mm. A beépített termosztát segítségével a mérőcsövek hőmérséklete állandóan 37°C -on tartható. A viszkoziméterben a nyomásgradiens a folyadék saját hidrosztatikus nyomásából származik. A kiértékeléshez a meniskusz pontos helyzet-idő diagramját egy optoelektronikus rendszer érzékeli. A folyási görbéből az e célra készített szoftver segítségével számolhatók a viszkozitás értékei. Az értékelés során a hazai és nemzetközi konvencióknak megfelelően általában a 90 s^{-1} sebességgradiensnél mért

adatokat használtuk. Mérési módszerünkkel itt a látszólagos teljes vér viszkozitás normál értékének felső határa 4,5 mPas, a plazma viszkozitás normál értékének felső határa pedig 1,3 mPas.

1.3. A haematocrit meghatározása: A vért lítium-heparin (143 IU/4,5 ml) tartalmú Vacutainer csövekbe vettük le, a haematocrit meghatározása microhaematocrit centrifugával (Hemofuge, Heraeus Instr., Németország) történt.

1.4. A vörösvérsejt aggregáció mérése: A vért lítium-heparin (143 IU/4,5 ml) tartalmú Vacutainer csövekbe vettük le. A mérések Myrenne MA-1 aggregométerrel (Myrenne GmbH, Németország) történtek. Az aggregométer egy kúp-sík nyírás kamra segítségével, Schmid-Schönbein által leírt fényáteresztő-képesség változás alapján működik. A mérési elv lényege, hogy a vvs szuszpenzió fényáteresztő-képessége megnő abban az esetben, ha a vvs-ek aggregátumokat formálnak ("pénztekercs képződés"), mivel a komplexumok között kialakuló sejtszegény terek több fény átjutását teszik lehetővé. Az aggregáció mértékét az aggregációs index-szel (AI_M , AI_{M1}) jellemeztük. Az aggregométer két módban működtethető: M és M1. Mindkét mérés során 30 μ l vérmintát 600 s^{-1} sebesség grádienssel először diszaggregáltuk, majd a sebességgrádiens hirtelen nullára (M mód), vagy igen alacsonyra, 3 s^{-1} -ra (M1 mód) csökken, miközben a készülék a vérminta fénytranszmissziójának megváltozása alapján aggregációs indexet számít.

1.5. A vörösvérsejt filterabilitás meghatározása: A filtrációs méréseket St. George elven működő Carat FT-1 filtrométerrel (CARAT Diagnosztikai Kft., Budapest) végeztük. A mérőműszerben a vér egy 5 μ m pórusméretű membránon áramlik keresztül, az áramlást 4 vízcm állandó hidrosztatikus nyomás tartja fent. A számítógéphez kapcsolt műszer méri az áramlási sebesség változását. A lineárisan csökkenő áramlási sebességből meghatározható a sejtáthaladási idő (RCTT: Relative Cell Transit Time). Minden mérést szobahőmérsékleten (22 ± 1 °C) végeztünk, és háromszor megismételtük.

2. Cerebrovascularis támadáspontú gyógyszerek szabadgyökfogó hatásának vizsgálata

A vérmintákat cubitalis vénából lítium-heparin tartalmú kémcsövekbe vettük 6 önkéntes, nemdohányzó, egészséges férfitől. A vérmintákat 10 percig centrifugáltuk 2500 g-n, majd a plazmát és a fehérvérsejteket eltávolítottuk. Ezt követően a vvs szuszpenziót kétszer mostuk PBS-ben (phosphate buffered saline), egy glükóz tartalmú foszfát pufferben (pH: 7,4, ozmolalitása 300 mOsm, 10 mM glükózt tartalmaz). A második mosás után a felülúszót eltávolítottuk, majd a vvs szuszpenzió haematocritjét PBS-sel 20 %-ra állítottuk be. Ezt követően a vvs szuszpenzióhoz 1-1 cerebrovascularis gyógyszert adtunk három koncentrációban: az in vivo használt maximális terápiás szérumszint koncentrációban, annak tízszeresében és százszorosában, majd a vvs-ek oxidatív károsodását 1 mM-os fenazin-metoszulfáttal hoztuk létre. Az E-vitamin vízoldékony formáját, a Troloxot, szérumszint koncentrációban használtuk. A kontroll vérmintákat gyógyszer nélkül PMS-sel, ill. PMS nélkül mértük. A PMS és a gyógyszer hozzáadását követően a mintákat 20 %-os haematocrit mellett, 37 °C-on 120 percig inkubáltuk. Az inkubációs idő lejártá után a mintákat lecentrifugáltuk, a felülúszót eltávolítottuk, majd PBS puffer segítségével a vvs szuszpenzió haematocrit értékét 10 %-ra állítottuk be.

Vizsgált gyógyszerek:

Tanulmányunkban három széles körben elterjedt cerebrovascularis támadáspontú szer antioxidáns hatását vizsgáltuk a terápiás szérumszint koncentrációjuknak megfelelő dózisban (pentoxiphyllin 0,5 μ M, piracetam 50 μ M, vinpocetin 0,05 μ M), annak tízszeres és százszoros mennyiségében, és hasonlítottuk az ismert antioxidáns, a Trolox (az E-vitamin vízoldékony formája) terápiás szérumszint koncentrációjában (2 μ M) tapasztalható antioxidáns hatásához.

A pentoxiphyllint, a piracetamot és a Troloxot a Sigma-Aldrich Rt.-től, a vinpocetint a Richter Gedeon Rt.-től szereztük be.

A vörösvérsejt filtráció mérése:

A filtrációs méréseket St. George elven működő Carat FT-1 filtrométerrel (CARAT Kft., Budapest) végeztük, a korábban ismertetett módon. Az eredményeket a PMS indukálta RCTT emelkedés preventiójának százalékban kifejezett értékében adtuk meg:

$$(RCTT_{PMS} - RCTT_{PMS+gyógyszer}) / (RCTT_{PMS} - RCTT_{kontroll}) \times 100.$$

Kálium koncentráció meghatározása:

A filtrációs mérések mellett megvizsgáltuk a sejtekből történő kálium kiáramlást is. A kálium koncentrációt OMSZÖV OE 851 (OMSZÖV, Budapest) digitális lángfotométerrel határoztuk meg. Eredményeinket a PMS indukálta kálium kiáramlás preventiójának százalékban kifejezett értékében adtuk meg:

$$(K^+_{PMS} - K^+_{PMS+gyógyszer}) / (K^+_{PMS} - K^+_{kontroll}) \times 100.$$

3. Endothel diszfunkció vizsgálata

A vérmintákat a Shield Diagnostics módszertani leírása szerint perifériás vénából 3,2 %-os trinátrium citrátos Vacutainer csőbe vettük, 10 percig 2500 g-n centrifugáltuk, és a plazmából 1 ml-t Eppendorf csőbe szívtunk le. A méréseket a vérvételt követően 1 hónapon belül végeztük el, a mérésig a plazmát 2-8 °C-on tároltuk.

A von Willebrand faktor aktivitás meghatározása kvantitatív direkt ELISA kit-tel történt (termék kód: FVW200, Shield Diagnostics Ltd, UK) (74). A szobahőmérsékletre (22±1 °C) felmelegített mintákat, valamint a kit-ben található ismert aktivitású két kontrollt 1 : 20 arányban a mellékelt puffer oldattal hígítottuk. A kithoz mellékelt, ismert aktivitású kalibrátor oldatból nyolc koncentrációt tartalmazó feles hígítási sorozatot készítettünk. Az ily módon előkészített mintákból, kontroll és kalibrátor oldatokból meghatározott mennyiséget pipettáztunk a vWf funkcionális epitópját (GP Ib kötőhely) felismerő tisztított egér anti-vWf monoclonalis antitesttel

fedett lemezre. Szobahőmérsékleten 60 perces inkubáció után a mintákat leöntöttük a lemezről, és a nem kötött plazma-alkotórészeket mosópufferrel távolítottuk el. Ezt követően vWf konjugátumot, egér anti-humán monoclonalis anti-vWf antitestet pipettáztunk a lemezre. Szobahőmérsékleten 15 percig inkubáltuk, majd a nem kötött vWf konjugátumot mosással eltávolítottuk. A tetrametil-benzidin szubsztrátot tartalmazó oldat hozzáadása után a színreakció kialakulásáig 15 percig inkubáltuk a mintákat, majd kénsavat tartalmazó „stop” oldattal állítottuk le a reakciót. A minták extinkciós értékeit 450 nm-es hullámhosszon olvastuk le. Az ismert aktivitású kalibrátor oldatok extinkciós értékei alapján kalibrációs görbét vettünk fel, és a minták aktivitási értékeit ennek segítségével határoztuk meg.

4. Thrombocytá aggregáció gátlás vizsgálata

A thrombocytá aggregáció méréséhez cubitális vénából 12 ml vért vettünk, 3,8 %-os nátrium-citrát tartalmú Vacutainer csövekbe. A mintákat 150 g-n 10 percig centrifugáltuk, majd a thrombocytá dús felülúszót (platelet rich plasma, PRP) óvatosan eltávolítottuk. Ezt követően thrombocytá szegény plazma (platelet pure plasma, PPP) nyeréséhez a maradék mintákat 10 percig 2500 g-n ismételtén centrifugáltuk. A mérésekhez használt küvettákba 450-450 µl PRP-t, illetve PPP-t pipettáztunk, majd a vérlémezkék aggregációját 50 µl ADP (50 µM és 10 µM), kollagén (2 µg/ml), illetve adrenalin (10 µM) hozzáadásával indukáltuk. Vizsgálatainkat a Born-féle turbidimetriás elven működő Carat TX-4 (Carat Diagnosztika Kft., Budapest) négycsatornás thrombocytá aggregométerrel végeztük. Az individuális különbségek kiküszöbölésére a készülék tárolja a thrombocytá dús és thrombocytá szegény plazmák fényáteresztő képességét (PRP: 0 %, PPP: 100 %), majd az induktorokkal kiváltott aggregáció mértékét a PPP-PRP optikai sűrűségkülönbségéhez viszonyítva számolja. A szuszpenzió fényáteresztő képessége az aggregáció mértékével párhuzamosan nő, melyet a műszerhez kapcsolt számítógép programja ábrázol. A maximális aggregáció értékét – mely a megfelelő

gyógyszeres kezelés hatására csökken – egészséges, gyógyszermentes egyéneken mért referencia értékekkel hasonlítottuk össze. A mérés 10 perces időtartama alatt 37°C-os inkubációt és folyamatos mágneses keverést (1000 rpm) alkalmaztunk. A minták vizsgálata a vérvételt követő 2 órán belül megtörtént.

Az ASA hatásának kontrolljához a kollagén és adrenalin, míg a tineopiridinek esetén az ADP indukálta aggregációt vizsgáltuk. Az aggregáció maximumának csökkenését akkor tekintettük az alkalmazott terápia következményének, ha az a kezeletlen kontroll populációra jellemző normál tartományon (átlag \pm 2 SD) kívül esett, ellenkező esetben hatástalannak véleményeztük a kezelést. Amennyiben az alkalmazott gyógyszeres terápia kontrolljához használt induktorokkal kiváltott maximális aggregáció a referencia tartomány minimuma és 40 % közé esett, akkor gyenge, míg 30-40 % között mérsékelt gátlást állapítottunk meg. Teljes (optimális) gátlást véleményeztünk, ha a maximális aggregáció értéke 30 % alatt volt.

ASA készítmények esetén laboratóriumi módon megfelelő a gátlás, ha a kollagén és adrenalin indukálta maximális aggregáció mérsékelt vagy teljes tartományba esik. Ticlopidin kezeléskor szintén a mérsékelt és teljes, míg clopidogrel esetében a multicentrikus vizsgálatok eredményeit figyelembe véve - a fenti módszer alkalmazásakor már az ADP indukálta aggregáció gyenge gátlásakor is megfelelőnek véleményeztük a terápiát.

5. Neurológiai vizsgálatok és beavatkozások

5.1. Akut ischaemiás stroke kapcsán elvégzett vizsgálatok.

Akut ischaemiás stroke miatt felvett betegek haemorheológiai vizsgálatát végeztük el. Az akut ischaemiás stroke diagnózisát a klinikai kép, a képalkotó vizsgálatok bizonyították. A laboratóriumi vizsgálatok minden esetben az első 24 órában elvégezhetőek voltak. A klinikai tünetek és a képalkotó vizsgálatok alapján agyérbetegeinket 3 alcsoportra osztottuk: 1. Nagy artériás infarctus, 2. Agyi embólia, 3. Agyi kisérbetegség (status lacunaris).

Carotis duplex scannel (ALT APOGEE 800 Plus) diagnosztizált carotis stenosis mértéke alapján 5 csoportot különítettünk el. Az első csoportba tartoztak azok a betegek, akiknek nem volt carotis stenosisa. A második csoportban enyhe fokú (<30%), a harmadik csoportban közepes fokú (30-60 %), a negyedik csoportban súlyos fokú (60-99%) carotis stenosis volt igazolható. Az ötödik csoportot a carotis oclusios esetek alkották.

A neurológiai tünetek súlyossága alapján a betegeket 3 csoportra osztottuk. Az elsőbe az enyhe neurológiai tünetekkel rendelkező betegeket, a második és a harmadik csoportba a közepesen súlyos, és a súlyos tünetekkel rendelkező betegek kerültek.

A betegség kimenetele alapján a következő kategóriákat hoztuk létre: 1. Javuló vagy stagnáló állapot, 2. Progresszív klinikai kép és/vagy exitus.

Vizsgáltuk a stroke-hoz társuló infekcióra utaló klinikai tüneteket és laboratóriumi paramétereket (CRP, fehérvérsejtszám, procalcitonin, süllyedés, leoltások mikrobiológiai vizsgálata).

5.2. Krónikus agyérbetegek vizsgálata

Valamennyi beteg esetében rutin belszervi és neurológiai vizsgálat történt. Az agyérbetegség diagnózisát a klinikai kép és a képalkotó vizsgálatok eredménye alapján állítottuk fel, az anamnézisben szereplő agyi ischaemiás történés a vizsgálatot minimum 3 hónappal megelőzte. A dinamika szerinti osztályozást használva az agyérbetegeket TIA-t illetve agyi infarctust (stroke) elszenvedett csoportokra osztottuk. Utóbbi betegeinknél a pathomechanizmus alapján 3 alcsoportot hoztunk létre: 1. Nagy artériás infarctus, 2. Agyi embólia, 3. Kísér betegség.

Értékeljük a cardiovascularis rizikófaktorok előfordulási gyakoriságát és összefüggésüket a haemorheológiai eltérésekkel.

A carotis stenosis mértéke alapján 5 csoportot különítettünk el az akut stroke betegeknél ismertetett módon.

6. Beteganyag

Munkánkban a klinikai vizsgálatok során összesen 764 beteg és 94 egészséges önkéntes kontroll vérmintájának mérése során kapott eredményeinket ismertetjük.

6.1. Akut ischaemiás stroke betegek

46 akut ischaemiás stroke beteg (31 férfi, 15 nő, átlagéletkor: 67 ± 13 év) haemorheológiai vizsgálatát végeztük el. Betegeink megoszlása a stroke típusa szerint: 1. Nagy artériás infarctus: 21 beteg (átlagéletkor: 68 ± 8 év), 2. Agyi embólia: 6 beteg (átlagéletkor 65 ± 10 év), 3. Agyi kisérbetegség: 19 beteg (átlagéletkor: 66 ± 9 év).

6.2. Krónikus ischaemiás agyérbetegek

297 krónikus fázisú (több mint 3 hónappal a stroke vagy TIA kialakulása után) ischaemiás cerebrovascularis beteg (átlagéletkor 61 ± 8 év) haemorheológiai vizsgálata. Betegeink megoszlása a stroke típusa szerint: 1. Nagy artériás infarctus: 82 beteg (átlagéletkor: 63 ± 6 év), 2. Agyi embólia: 57 beteg (átlagéletkor: 57 ± 7 év), 3. Kisérbetegség (status lacunaris): 80 beteg (átlagéletkor: 61 ± 6 év).

6.3. Parenteralis vinpocetin kezelés haemorheológiai hatásának értékelése

30 krónikus stádiumú (több mint 3 hónappal az ictus után) agyérbeteg részletes haemorheológiai vizsgálatát végeztük el parenterális vinpocetin alkalmazása mellett. A betegek felénél (kis dózisú csoport) 7 napon keresztül napi 30 mg vinpocetin intravénás adását alkalmaztuk (500 ml Salsol infúzióban). A többi beteg esetében (nagy dózisú csoport) 7 alkalommal növekvő dózisban napi 30-30-40-40-60-60-70 mg vinpocetint adtunk 500 ml Salsol infúzióban. Betegeink kiindulási rheológiai paramétereit egészséges kontroll csoport értékeihez viszonyítottuk. A haemorheológiai paraméterek meghatározására közvetlenül az infúziós kezelés előtt, illetve azt követően került sor.

6.4. Atorvastatinnal végzett vizsgálatok

27 krónikus ischaemiás, hyperlipidaemiás agyérbeteg vizsgálatát végeztük el. A betegek a vizsgálat előtt lipid csökkentő kezelésben nem részesültek. Napi 10 mg hidroximetil-koenzimA (HMG-CoA) reductáz gátló atorvastatin adagolása mellett meghatároztuk a teljes koleszterin, LDL-koleszterin, plazma triglycerid és a magas densitású lipoprotein (HDL) szinteket. Értékeljük a haemorheologiai paramétereket valamint a thrombocytá aggregációt az atorvastatin kezelés előtt, majd 1 és 3 hónappal a kezelést követően. Meghatároztuk a von Willebrand faktor aktivitás értékét kiinduláskor, majd 1 hónapos kezelést követően.

6.5. Aggregometriás vizsgálatok

661, thrombocytá aggregáció gátló gyógyszer szedő krónikus ischaemiás cerebrovascularis beteg (átlagéletkor: 60 ± 11 év) aggregometriás vizsgálatát végeztük el. Az aggregometriás vizsgálatot legalább 3 hónappal az akut eseményt követően végeztük el.

6.6. Egészséges kontrollok

Akut ischaemiás stroke betegek és krónikus agyérbetegek haemorheologiai paramétereinek, valamint vinpocetinnel és atorvastatinnal végzett kezelés kiindulási haemorheologiai paramétereinek összehasonlító vizsgálatánál: 68 egészséges kontroll (átlagéletkor 36 ± 6 év).

6.6.1. Egészséges önkéntesek az in vitro mérésekhez: 6 fiatal, egészséges férfi.

6.6.2. Atorvastatinnal végzett kezeléskor a von Willebrand faktor aktivitás összehasonlító vizsgálatánál: 20 egészséges kontroll (átlagéletkor: 30 ± 8 év).

7. Statisztikai értékelés

Az adatokat középérték, SD, SEM és Student féle "t"-próba segítségével értékeltük. Az eredmények interpretálásához a $p < 0,05$ eltéréseket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

IV. EREDMÉNYEK

1. Haemorheologiai paraméterek vizsgálata akut ischaemiás stroke-ban

Betegeinknél a Htc, a PFC, a PV és TVV szignifikánsan emelkedett volt ($p < 0,05-0,0001$) a kontrolloknál mért értékhez képest. Nem mutatott érdemi különbséget az M1 módban meghatározott vvs aggregáció.

Megvizsgáltuk a rheologiai paraméterek alakulását felvételnél, a stroke 2-3. napján, illetve az 5-6. napon. Szignifikáns ($p < 0,01-0,001$) emelkedést csak a fibrinogén koncentráció esetében találtunk az 5-6. napon, a felvételi értékekhez és a 2-3. napon mért értékhez képest.

Értékeljük a rheologiai faktorok jellegzetességeit a stroke különböző alcsoportjaiban. A vér viszkozitás felvételnél szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb volt a nagyér és kisér thrombosissal rendelkező csoportokban, mint az agyi embóliás betegeknél. Az 5-6. napon mért aggregációs index szintén a kisérbeteg csoportban volt emelkedett ($p < 0,05-0,01$), összehasonlítva a nagyér infarctusos csoporttal.

Megvizsgáltuk, hogy az akut stroke kapcsán észlelhető fertőzőes, gyulladásos szövődmények milyen hatással bírnak a rheologiai viszonyokra. Mind a három mérési időpontban szignifikánsan ($p < 0,05-0,01$) emelkedettebb volt a PFC azon betegeknél, akiknél infekcióra utaló jelet találtunk. Az 5-6. napon mért vérviszkozitás szintén magasabb ($p < 0,05$) volt az infekcióval rendelkező betegeknél.

Összefüggést kerestünk a rheologiai faktorok és a carotis stenosis mértéke között. Szignifikáns eltérést egyik paraméter esetében sem találtunk.

Értékeljük a tünetek súlyossága és a rheologiai paraméterek közötti kapcsolatot. A PFC mindhárom mérési időpontban szignifikánsan ($p < 0,05-0,001$) magasabb volt a súlyos tünetekkel rendelkező betegeknél, mint az enyhe esetekben. Ugyanezen paraméter a 2-3. és 5-6. napon magasabb ($p < 0,05$) volt a közepes súlyosságú tünetekkel bíró esetekben is, mint az enyhe tüneteket okozó stroke-ban. Az 5-6. napon a PV értékei szignifikánsan ($p < 0,05-0,01$) magasabbak voltak a közepesen súlyos és a súlyos stroke-s betegeknél, mint az enyhe esetekben.

Megvizsgáltuk, van-e kapcsolat a betegség kimenetele és a rheologiai paraméterek közt. A felvételnél és a 2-3. napon mért PFC szignifikánsan magasabb volt azon betegekben, akik elhunytak-és/vagy progrediált az állapotuk, mint azokban, akik javultak.

2. Haemorheologiai faktorok vizsgálata krónikus agyérbetegeknél

A cerebrovascularis betegeknél a Htc, a PFC valamint a PV és a TVV, valamint a vvs aggregáció szignifikánsan emelkedett volt a kontroll csoporthoz képest ($p < 0,05-0,0001$). A vvs deformabilitás mértéke ugyanezen betegeknél szignifikánsan ($p < 0,01$) alacsonyabb volt a kontroll csoportnál. Pozitív korrelációt észleltünk a férfi nem és a Htc, valamint a TVV között ($p < 0,0001$).

A cardiovascularis rizikófaktorok és az egyes haemorheologiai paraméterek összefüggéseit összehasonlítva, a hypertóniás, hyperlipidaemiás betegek esetében a Htc, a PFC, a PV és TVV, valamint a vvs aggregáció szignifikánsan emelkedett volt a kontroll csoporthoz képest ($p < 0,05-0,0001$). Ugyanezen rheologiai paraméterek mutattak pozitív korrelációt a dohányzó és rendszeres alkoholfogyasztó betegek esetében ($p < 0,05-0,0001$) is. A diabeteses agyérbetegeknél a Htc, a PFC, PV, TVV kóros emelkedését észleltük ($p < 0,0001$). Ischaemiás szívbetegség társulása esetén csak a Htc mutatott szignifikáns emelkedést ($p < 0,025$).

TIA és a stroke különböző alcsoportjaiban mért rheologiai faktorokat összehasonlítva, a TIA betegek valamennyi paramétere szignifikánsan kóros eltérést mutatott a kontroll csoporthoz képest. Nem találtunk szignifikáns különbséget a TIA és stroke betegek rheologiai paraméterei között. A stroke különböző alcsoportjaiban a kóros rheologiai paraméterek nem mutattak jellemző megoszlást.

Értékeltek a rheologiai paraméterek a carotis stenosis súlyossága szerint. A Htc, a PV, TVV valamint a vvs aggregáció szignifikánsan emelkedett volt súlyos fokú carotis stenosis esetén, összehasonlítva a normál és enyhe carotis statusú betegekénél mért értékekkel.

3. Cerebrovascularis támadáspontú gyógyszerek szabadgyökfogó hatásának vizsgálata

A PMS-sel kezelt vvs szuszpenziók filtrálhatóságát hasonlítottuk össze kontroll csoportéval. Az oxidatív stressz hatására a vvs-ek rigiditása jelentős mértékben fokozódott, filtrálhatóságuk csökkent, az RCTT szignifikánsan ($p < 0,001$) megnyúlt.

A kontroll, illetve a PMS-sel kezelt minták felülúszójának kálium koncentrációját meghatározva megállapítottuk, hogy a sejtmembrán károsodása következtében kálium áramlott ki a sejtekből, a felülúszó kálium koncentrációja szignifikánsan ($p < 0,001$) megemelkedett.

A különböző cerebrovascularis gyógyszerek és az ismert antioxidáns, az E-vitamin scavenger kapacitását vizsgáltuk a vvs deformabilitás javulása tekintetében. Terápiás szérum koncentráció mellett csak a vinpocetin rendelkezett szignifikáns ($p < 0,01$) scavenger aktivitással. Szignifikáns ($p < 0,05$) antioxidáns kapacitást a pentoxiphyllin csak százszoros szérum koncentráció ($50 \mu\text{M}$) mellett mutatott. A piracetam tízszeres szérum koncentráció mellett fejtett ki szignifikáns protektív hatást ($p < 0,01$), és ez a koncentráció emelésével fokozódott ($p < 0,001$). A vinpocetin már alacsony (terápiás), $0,05 \mu\text{M}$ koncentrációt alkalmazva is szignifikáns ($p < 0,01$), kb. 20 %-os protektív, antioxidáns sajátssággal rendelkezett, ez a hatás a koncentráció emelésével tovább nőtt, és az alkalmazott legmagasabb koncentráció mellett volt a legnagyobb ($p < 0,001$). A referencia szerként használt E- vitamin szignifikáns ($p < 0,01$) scavenger aktivitással rendelkezett, melyet a vinpocetin terápiás koncentrációban is megközelített.

A vizsgált gyógyszerek antioxidáns kapacitása a kálium kiáramlás prevenciójának mértékében az előzőhöz hasonló eredményűnek bizonyult.

4. Parenteralis vinpocetin haemorheologiai hatásainak vizsgálata

A krónikus cerebrovascularis betegek vinpocetin infúziós kezelését megelőzően meghatározott haemorheologiai paramétereinek átlagértékeit egészséges kontroll csoporttal összehasonlítva a 6. táblázat mutatja be. Kiinduláskor valamennyi vizsgált rheologiai faktor emelkedett volt az agyérbeteg csoportban, szignifikáns eltérést ($p < 0,01-0,0001$) a PFC, a PV és TVV, valamint a vvs deformabilitás értékeiben tapasztaltunk. A kis illetve nagy dózisú vinpocetinnel kezelt betegek kiindulási rheologiai paraméterei egymáshoz viszonyítva érdemi eltérést nem mutattak.

A hét napos, kis dózisban alkalmazott vinpocetin kezelés során szignifikáns javulást ($p < 0,05$) észleltünk a vvs aggregáció mértékében mind az M , mind az M_1 módú vizsgálat során. A többi vizsgált rheologiai paraméter értékei a kezelés mellett csökkentek, de a javulás mértéke nem volt szignifikáns. A nagy dózisban alkalmazott vinpocetin esetében a legtöbb rheologiai paraméter, így a Htc, a PV, TVV valamint a vvs aggregatio szignifikáns csökkenése ($p < 0,05-0,005$) volt igazolható a kezelést követően. A PFC és a vvs deformabilitás értékei nem szignifikáns mértékű javulást mutattak.

5. Atorvastatin hatásának vizsgálata a haemorheologiai paraméterekre, endothel diszfunkcióra és thrombocytá aggregációra

A plazma össz koleszterin 1 és 3 hónappal a kezelést követően egyaránt 27 % -kal csökkent ($p < 0,001$). A triglycerid az 1 hónap után 20 %-kal, a 3 hónap után 10%-kal csökkent ($p < 0,001$). Az LDL-koleszterin redukciója 40 % és 38 % volt ($p < 0,001$). A HDL-koleszterin szint nem változott szignifikánsan.

Betegeink valamennyi vizsgált, kiindulási rheologiai paramétere szignifikáns, kóros eltérést mutatott a kontroll csoporthoz képest ($p < 0,05-0,001$).

Az atorvastatin kezelés során a Htc, a PFC, a PV és a vvs aggregáció nem mutattak szignifikáns változást. A TVV a kezelés első hónapjában csökkenő tendenciájú volt, majd szignifikáns csökkenést mutatott a 3. hónapot követően ($p < 0,05$). A vvs deformabilitás szignifikáns ($p < 0,05$) javulását észleltük már 1 hónapos kezelés során. A kollagén indukálta thrombocytá aggregáció szignifikánsan csökkent 1 és 3 hónap múlva változatlan thrombocytá aggregáció gátló terápia ellenére ($p < 0,05-0,001$). Az adrenalin és az ADP indukált vérlemezke aggregáció nem mutatott statisztikailag értékelhető változást.

A kiinduláskor mért vWf aktivitás szignifikánsan ($p < 0,01$) magasabb volt az agyérbetegeknél a kontroll csoport értékéhez képest. 1 hónapos atorvastatin kezelés során értéke szignifikáns csökkenést mutatott az alapértékhez képest ($p < 0,05$).

6. Thrombocytá aggregáció gátló szerek aggregometriás vizsgálata

A napi 100 mg ASA-t szedő betegek mindössze 17%-ánál volt teljesen hatásos a thrombocytá aggregáció gátlás, 20%-nál mérsékelt eredményt hozott a kezelés. A laboreredmények alapján a kezelték csupán 37%-a részesült egyértelműen hatékony prevencióban. A betegek 20%-nál gyenge, 43%-nál hatástalan volt 100 mg ASA kezelés antiaggregációs hatása.

Mérsékelt hatású 100 mg ASA terápia esetén, 44 betegnél 200 mg-ra, 55-nél pedig 300 mg-ra emeltük az ASA napi dózisát. A 200 mg-os dózist szedők közül 23% teljes, 34% mérsékelt, 16% gyenge, 27% hatástalan aggregáció gátlást mutatott. Eszerint ezen dózis mellett a betegek 57%-a ért el hatásosnak értékelhető eredményt.

A napi 300 mg ASA kezelésben részesült betegek 24%-ánál kaptunk hatásos gátlást, mérsékelt eredményt mutatott a betegek 26%-a, 30%-nál gyenge, 20%-nál hatástalan gátlást mértünk. Eredményeink alapján a 300 mg ASA dózist szedő betegeknél közel 50%-ban volt a kezelés hatékony.

82 beteg a korábban ismertetett indikációk alapján 2x250 mg ticlopidin terápiaiban részesült. Ezen esetek 33%-nál teljes, 20%-nál mérsékelt, 21%-nál gyenge, 26%-nál pedig hatástalan volt a thrombocytá aggregáció gátlás. Összesítve, a

ticlopidint szedő betegek 53%-ánál tapasztaltunk laboratóriumiilag eredményes kezelést.

Napi 75 mg clopidogrel esetében a betegek 18%-a teljes, 15%-a mérsékelt, 36%-a gyenge, míg 31%-uk hatástalan thrombocytá aggregáció gátlást mutatott. A hatástalan és gyenge gátlás esetén a dózist emelve napi 150 mg-ra az esetek 22%-ban teljes, 33%-ban mérsékelt, 17%-ban gyenge és 28%-ban hatástalan gátlást kaptunk.

V. KÖVETKEZTETÉSEK

Vizsgálataink során tanulmányoztuk a haemorheologiai paraméterek változásait akut és krónikus cerebrovascularis betegségekben. Megvizsgáltuk több cerebrovascularis támadáspontú készítmény in vitro antioxidáns effektusát. Értékeltek a parenteralis vinpocetin kezelés haemorheologiai, atorvastatin kezelés haemorheologiai és haemostaseologiai hatásait. Tanulmányoztuk a gyakorlatban használt thrombocytá aggregáció gátló gyógyszerek ex vivo hatékonyságát.

1./ Akut ischaemias stroke kapcsán értékeltük a rheologiai paraméterek alakulását.

Megállapítottuk, hogy az ictus napján a legtöbb rheologiai paraméter már kóros tartományban volt, valószínűsítve a kedvezőtlen áramlási sajátságok fennállását már az agyi érelzáródást megelőzően, jelezve azok oki szerepét a kórkép pathomechanizmusában. Eredményeink alapján a legmeghatározóbb és legjellemzőbben viselkedő rheologiai faktornak a plazma fibrinogén koncentráció bizonyult, szoros korrelációt mutatva a stroke súlyosságával, kimenetelével, a társuló infekciókkal. A plazma fibrinogén koncentráció alakulásával párhuzamosan jellemző a teljes vér viszkozitás infekciókkal és a plazma viszkozitás stroke súlyosságával mutatott asszociációja. A korábbi irodalmi adatok és jelen vizsgálatunk alapján a haemorheologiai tényezők döntő jelentőséggel bírnak egyrészt az agyi érkatasztrófa létrejöttében, másrészt a stroke akut fázisában a vér áramlási viszonyainak alakulása döntően befolyásolhatja a kórkép kimenetelét.

2./ Krónikus ischaemiás agyérbetegek haemorheologiai jellemzőit vizsgáltuk.

Megállapítottuk, hogy a betegcsoportot komplex, súlyos haemorheologiai zavar jellemzi a szekunder prevenciók terápia ellenére. Adataink alátámasztják a korábbi megfigyeléseket, melyek szerint a „klasszikus” vascularis rizikófaktorok az agyérbetegek haemorheologiai viszonyait kedvezőtlen irányba befolyásolják. A stroke különböző alcsoportjaiban az egyes paraméterek domináló szerepe tanulmányunkban nem igazolható. A kóros haemorheologiai eltérések pozitív korrelációt mutatnak az artéria carotis interna stenosis súlyossági fokával, valószínűsítve a rheologiai faktorok fontos szerepét az atherosclerosis indukálásában. A kóros rheologiai viszonyok az újabb stroke fellépésének valószínűségét növelik, a betegek rendszeres haemorheologiai vizsgálata elősegíti az aktuálisan alkalmazott preventív gyógyszeres kezelés hatékonyságának megítélését, szükség szerint annak módosítását vagy kiegészítését indikálja.

3./ In vitro rheologiai modellen tanulmányoztuk a szabadgyök generátor fenazin-metoszulfát (PMS) vörösvérsejt károsító hatását illetve a károsodás kivédésének lehetőségeit.

A vizsgált cerebrovascularis gyógyszerek közül a vinpocetin rendelkezett jelentős, míg a piracetam még klinikailag értékelhető antioxidáns hatással. Figyelembe véve a szabad gyökök kóros szerepét számos cerebrovascularis betegség pathogenesisében és/vagy progressziójában, eredményünk rávilágíthat e széles körben elterjedt gyógyszerek használatának további lehetséges előnyeire.

4./ Különböző dózisú vinpocetin infúziós kezelés haemorheologiai hatásait értékeltük.

Vizsgálati eredményünkkel elsőként igazoltuk, hogy a parenterálisan, nagy dózisban alkalmazott vinpocetin több rheologiai paraméter szignifikáns javulását eredményezi. A vér áramlási tulajdonságainak kedvező irányú változása az agyi perfúzió javulását eredményezi. A vinpocetin kedvező rheologiai, agyi keringést fokozó és neuroprotektív hatásai a készítmény alkalmazását indikálják mind a stroke szekunder prevenciójában, mind a krónikus agyi hypoperfúzióval járó kórállapotok esetében.

5./ Értékeljük a haemorheologiai paraméterek, a thrombocyta aggregáció és az endothel diszfunkció alakulását krónikus cerebrovascularis betegeknél atorvastatin kezelést követően.

Az atorvastatin kezelés kedvező antilipaemiás effektusa mellett már kis dózisban és rövid távon alkalmazva is javította a haemorheologiai paramétereket és az endothel diszfunkciót. Ezen hatások, valamint a valószínűsíthető direkt thrombocyta aggregációt gátló effektus adhatják az atorvastatin igazolt cardio- és cerebrovascularis preventív effektusának egyik hátterét, igazolják a gyógyszer használatát a secunder prevencióban.

6./ Különböző, rutinszerűen használt thrombocyta aggregáció gátló készítmények ex vivo hatékonyságát értékeltük.

Eredményeink alapján a prevencióban rutinszerűen alkalmazott 100 mg ASA kezelés a betegek mindössze 37%-ában biztosít hatékony aggregáció gátlást. Magasabb dózisú (200-300 mg) ASA kezeléssel az aggregáció gátló hatás 50-57%-ban optimális, azaz dóziszfüggő effektivitás igazolható. Az ADP-receptor blokkolók laboratóriumi igazolható hatékony antiaggregációs hatása 53-72%, azaz az ADP-receptor blokkolók esetében is beszélhetünk a non-responsio fogalmáról. Kiemelendő, hogy teljes aggregáció gátlás legnagyobb arányban ticlopidin esetében észlelhető. Clopidogrel esetében elsőként igazoltuk, hogy a dózis növelése az antiaggregációs hatás fokozódásával jár együtt.

A laboratóriumi vizsgálatok eredményeinek klinikai felhasználásával kapcsolatban felmerülő kérdések megválaszolását nagymértékben elősegítené egy, a morbiditási és mortalitási végpontokat az alkalmazott thrombocyta aggregáció gátló kezelés ex-vivo hatékonyságával összehasonlító prospektív, multicentrikus tanulmány elvégzése.

VI. A SZERZŐ PUBLIKÁCIÓI

1. Az értekezés alapjául szolgáló teljes közlemények

1. PÁL E., MAGYAR H., SZAPÁRY L. Az artéria vertebralis duplex ultrahang vizsgálata. *Lege Artis Medicinae*, 7, 427-77, 1997.
2. SZAPÁRY L., SZŐTS M., PÁL E., NAGY Á., CZOPF J. Fiatalkori ischaemiás stroke. *Orv. Hetilap*, 142, 607-610, 2001.
3. HORVÁTH B., MÁRTON Zs., HALMOSI R., ALEXY T., SZAPÁRY L., VÉKÁSI J., BÍRÓ Zs., HABON T., KÉSMÁRKY G., TÓTH K. Cerebrovascularis támadáspontú gyógyszerek szabadgyökfogó hatásának vizsgálata. *Orv. Hetilap*, 143, 13-17, 2002.
4. HORVATH, B., MARTON, ZS., HALMOSI, R., ALEXY, T., SZAPARY, L., VEKASI, J., BIRO, ZS., HABON, T., KESMARKY, G. and TOTH, K. In vitro antioxidant properties of pentoxifylline, piracetam and vinpocetine. *Clin. Neuropharmacol.*, 25, 37-42, 2002.
5. SZAPÁRY L., HORVÁTH B., ALEXY T., MÁRTON Zs, KÉSMÁRKY G., SZŐTS M., NAGY F., CZOPF J. és TÓTH K. Vinpocetin hatása krónikus agyérbetegségben szenvedők hemoreológiai viszonyaira. *Orv. Hetilap*, 144, 973-978, 2003.

6. SZAPÁRY L., SZÓTS M., HORVÁTH B., MÁRTON Zs., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., JURICKAY I., NAGY F., GAÁL V., PÁLFI A., KOLTAI K. és TÓTH K. A kardiovaszkuláris rizikófaktorok hatása az agyérbetegek hemoreológiai viszonyaira. Orv. Hetilap, 144, 1085-1090, 2003.

7. ALEXY T., STEF Gy., MÁRTON Zs., HORVÁTH B., KOLTAI K., PÁLFI A., FEHÉR G., BÓCSA Z., PUSCH G., SZAPÁRY L., KÉSMÁRKY G., VERESS G., TÓTH K. A rutinszerűen alkalmazott trombocita aggregáció gátló kezelés hatékonyságának felmérése érbetegekben. Kardiológus, 2, 5-24, 2003.

8. SZAPÁRY L. A cerebrovaszkuláris kórképek kezelése. Granum, 6, 26-30, 2003.

9. SZAPÁRY L., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., SZÓTS M., PUSCH G., GAÁL V., PÁLFI A., KOLTAI K., JURICKAY I., TÓTH K. A krónikus ischaemiás agyérbetegségek haemorheológiai jellemzői. Agyérbetegségek, 9, 2-7, 2003.

10. HORVÁTH B., HEGEDÜS D., SZAPÁRY L., MÁRTON Zs., ALEXY T., KOLTAI K., GYEVNÁR Zs., JURICKAY I., TÓTH K. és KÉSMÁRKY G. A von Willebrand faktornak, mint az endothelium diszfunkció markerének vizsgálata érbetegekben. Orv. Hetilap, közlésre elfogadva, 2003.

11. SZAPARY, L., HORVATH, B., MARTON, Zs., ALEXY, T., KESMARKY, G., SZOTS, M., KOLTAI, K., CZOPF, J., TOTH, K. Short term effect of low dose atorvastatin on hemorheological parameters, platelet aggregation and endothelial dysfunction in cerebrovascular patients with hyperlipidemia. CNS Drugs, in press, 2003.

12. SZAPARY, L., HORVATH, B., MARTON, Zs., ALEXY, T., DEMETER, N., SZOTS, M., KLABUZAI, A., KESMARKY, G., JURICKAY, I., GAAL, V.,

CZOPF, J., TOTH, K. Hemorheological disturbances in patients with chronic cerebrovascular diseases. Clin. Hemorheol. Microcirc., under publication.

13. HORVATH, B., SZAPARY, L., MARTON, Zs., ALEXY, T., KESMARKY, G. and TOTH, K. Short-term effects of atorvastatin on hemorheologic parameters, platelet aggregation and endothelium dysfunction in patients with hypercholesterolemia. (reviewed letter) Eur. Heart J., accepted for publication, 2003.

14. SZAPÁRY L., CSALÓDI R., PUSCH G., HORVÁTH B., ALEXY T., MÁRTON Zs., KÉSMÁRKY G., SZÓTS M., KOLTAI K., TÓTH K: A thrombocytáaggregáció-gátló kezelés hatékonyságának aggregometriás vizsgálata ischaemiás agyérbetegeknél. Agyérbetegségek, 9, 12-17, 2003.

15. HORVATH, B., HEGEDUS, D., SZAPARY, L., MARTON, Zs., ALEXY, T., JURICKAY, I., KOLTAI, K., TOTH, K. AND KESMARKY G. Examination of von Willebrand factor activity and effect of atorvastatin therapy on endothelial dysfunction in vascular diseases. Clin. Cardiol., under publication.

2. A szerző egyéb publikációi

Könyvfejezet

SZAPÁRY L. Nyelészavart okozó neurológiai kórképek. In: Szondatáplálás Magyarországon 2000. Eds.: Mózsik Gy., Figler M., Terján É. Akadémiai Kiadó, 2000; 66-72.

Teljes közlemények

1. PFUND Z., SZAPARY L., JASZBERENYI O., NAGY F., CZOPF J. Headache in intracranial tumors. Cephalalgia, 19, 787-790, 1999.

2. SZAPÁRY L., PÁL E., ILLÉS ZS., NÁDOR GY., KASÓ G., CZOPF J. Spontán cerebellaris vérzések. Idegyógyászati szemle, 51, 113-118, 1998.

3. SZÓTS M., SZAPÁRY L., NAGY F., VETŐ F. Herediter haemorrhagiás teleangiectasia szövődményeként kialakult agytályog családi halmozódása. Orv. Hetilap, 142, 2309-2312, 2001.

4. SZAPÁRY L. A stroke és következményei. Granum, VI, 5. szám, 5-7, 2003.

3. Idézhető előadáskivonatok

1. SZAPARY, L., HORVATH, B., MARTON, ZS., ALEXY, T., DEMETER, N., SZOTS, M., KLABUZAI, A., JURICKAY, I., GAAL, V., CZOPF, J., and TOTH, K. Hemorheological disturbances in chronic phase cerebrovascular patients. 11th European Stroke Conference, 29 May – 1 June, 2002, Geneva, Switzerland, Cerebrovasc. Dis., 13 (Suppl. 3), 37, 2002.

2. SZAPARY, L., HORVATH, B., MARTON, ZS., ALEXY, T., SZOTS, M., CSALODI, R., KLABUZAI, A., JURICKAY, I., CZOPF, J. and TOTH, K. Effects of low dose acetyl salicylic acid (ASA) and ticlopidine on platelet aggregability in chronic phase ischemic stroke (IS) patients. 11th European Stroke Conference, 29 May –1 June, 2002, Geneva, Switzerland, Cerebrovasc. Dis., 13 (Suppl. 3), 19, 2002.

3. KLABUZAI, A., CZOPF, J., GATI, I., SZAPARY, L., MERKLI, H. Low-oestrogen oral contraceptives in cerebral venous thrombosis. 11th European Stroke Conference, 29 May - 1 June, 2002, Geneva, Switzerland, Cerebrovasc. Dis., 13 (Suppl. 3), 35, 2002.

4. SZAPARY, L., HORVATH, B., MARTON, Zs., ALEXY, T., KESMARKY, G., SZOTS, M., JURICKSKAY, I., CZOPF, J., TOTH, K. Hemorheological disturbances and platelet aggregation in patients with chronic cerebrovascular diseases. 11th International Congress of Biorheology and 4th International Conference on Clinical Hemorheology, September 22-26, 2002, Antalya, Turkey, Biorheology 39, 606-607, 2002.

5. KLABUZAI, A., CZOPF, J., GATI, I., NAGY, A., MELEG, B., SZAPARY, L. Hereditary thrombophilia in cerebral venous thrombosis in Pécs (Hungary). 6th Congress of European Federation of Neurological Societies, October 26-29, 2002, Vienna, Eur. J. Neurol., 9 (Suppl. 2), 104, 2002.

6. SZAPARY, L., SZOTS, M., HORVATH, B., MARTON, Zs., ALEXY, T., KESMARKY, G., KLABUZAI, A., JURICKSKAY, I., GAAL, V., CZOPF, J. and TOTH, K. The effects of cardiovascular risk factors on hemorheological parameters in patients with chronic cerebrovascular diseases. 6th Congress of European Federation of Neurological Societies, October 26-29, 2002, Vienna, Eur. J. Neurol., 9 (Suppl. 2), 169, 2002.

7. KÉSMÁRKY G., HORVÁTH B., HEGEDŰS D., ALEXY T., MÁRTON Zs., SZAPÁRY L. JURICKSKAY I. és TÓTH K. A von Willebrand-faktornak mint az endothelium diszfunkció markerének mérése érbetegekben. A Magyar Belgyógyász Társaság XXXIX, Nagygyűlése, 2002, november 21-23, Budapest, Magyar Belorv. Arch., 55, 80, 2002.

8. HORVÁTH B., HEGEDŰS D., KÉSMÁRKY G., SZAPÁRY L., MÁRTON Zs., ALEXY T., JURICKSKAY I., KOLTAI K., GYEVNÁR ZS., és TÓTH K. A von Willebrand faktor vizsgálata és befolyásolásának lehetősége atorvastatin terápiával érbetegekben. Magyar Kardiológusok Társasága 2003. évi Tudományos Kongresszusa, 2002, május 14-17, Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2. A9, 2003.

9. SZAPÁRY L., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., SZŐTS M., CZOPF J., TÓTH K. Effect of vinpocetine on the hemorheological condition of chronic cerebrovascular patients. A Magyar Stroke Társaság VI. Nemzeti Kongresszusa, 2003, április 10-12, Zalakaros. Clinical Neuroscience, 56, 261, 2003.

10. SZAPÁRY L., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., SZŐTS M., JURICKSKAY I., GAÁL V., PÁLFI A., KOLTAI K., CZOPF J., TÓTH K. Hemorheological parameters and cardiovascular risk factors of stroke. A Magyar Stroke Társaság VI. Nemzeti Kongresszusa, 2003, április 10-12, Zalakaros. Clinical Neuroscience, 56, 261, 2003.

11. SZAPÁRY L., HORVÁTH B., MÁRTON ZS., ALEXY T., KÉSMÁRKY G., SZŐTS M., KOLTAI K., CZOPF J., TÓTH K. Short term effect of low dose atorvastatin on hemorheological parameters, platelet aggregation and endothelial function in cerebrovascular patients with dyslipidemia. A Magyar Stroke Társaság VI. Nemzeti Kongresszusa, 2003, április 10-12, Zalakaros. Clinical Neuroscience, 56, 262, 2003.

12. PUSCH G., SZAPÁRY L., ALEXY T., HORVÁTH B., KÉSMÁRKY G., MÁRTON ZS., SZŐTS M., PÁLFI A., KOLTAI K., CZOPF J., TÓTH K. Effects of antiplatelet drugs on platelet aggregability in the secondary prevention of stroke. A Magyar Stroke Társaság VI. Nemzeti Kongresszusa, 2003, április 10-12, Zalakaros. Clinical Neuroscience, 56, 262, 2003.

13. HORVÁTH B., HEGEDŰS D., KÉSMÁRKY G., SZAPÁRY L., MÁRTON Zs., ALEXY T., JURICKSKAY I., KOLTAI K., GYEVNÁR Zs., és TÓTH K. A von Willebrand faktor vizsgálata és befolyásolásának lehetősége atorvastatin terápiával értegekben. A Magyar Belgyógyász Társaság 50. Nagygyűlése, Pécs, 2003, június 26-28, Magyar Belorv. Arch., Suppl. 2, 56, 58-59, 2003.

14. ALEXY T., STEF GY., MÁRTON Zs., HORVÁTH B., KOLTAI K., PÁLFI A., FEHÉR G., BÓCSA Z., PUSCH G., SZAPÁRY L., KÉSMÁRKY G., VERESS G. és TÓTH K. A rutinszerűen alkalmazott trombocita aggregáció gátló kezelés hatékonyságának felmérése érbetegekben. A Magyar Belgyógyász Társaság 50. Nagygyűlése, Pécs, 2003, június 26-28, Magyar Belorv. Arch., Suppl. 3/2, 56, 31, 2003.

15. KESMARKY, G., ALEXY, T., HORVATH, B., MARTON, ZS, KOLTAI, K., SZAPARY, L., and TOTH, K. Efficiency of antiplatelet therapy in vascular patients. Congress of the European Society of Cardiology, 30 August-3 September, 2003, Vienna, Austria, Eur. Heart J., 24, 370, 2003.

16. PUSCH, G., SZAPARY, L., ALEXY, T., HORVATH, B., KESMARKY, G., MARTON, ZS., SZOTS, M., CZOPF, J., TOTH, K. Effects of antiplatelet drugs on platelet aggregation in the secondary prevention of stroke. Congress of the European Federation of Neurological Societies, 30 August- 2 September, 2003, Helsinki, Finland, Eur. J. Neurol. 10(Suppl. 1) 59, 2003.

17. SZAPARY, L., HORVATH, B., ALEXY, T., MARTON, Zs., KESMARKY, G., SZOTS, M., KOLTAI, K., CZOPF, J., TOTH, K. Short-term effect of atorvastatin on hemorheological parameters, platelet aggregation and endothelial function in cerebrovascular patients with dyslipidemia. Congress of the European Federation of Neurological Societies, 30 August- 2 September, 2003, Helsinki, Finland, Eur. J. Neurol. 10 (Suppl. 1) 131, 2003.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Vizsgálatainkat a PTE ÁOK Neurológiai Klinikán és az I. sz. Belgyógyászati Klinika Haemorheologiai Laboratóriumában végeztük.

Köszönetet szeretnék mondani program és témavezetőmnek, Dr. Tóth Kálmán professzornak, aki biztosította a lehetőséget a kutatások technikai feltételeihez, munkámat végig támogatta és szakmailag felügyelte.

Köszönettel tartozom munkahelyem, a PTE Neurológiai Klinika igazgatójának, dr. Czopf József professzornak, aki mind tudományos, mind klinikai pályámat önzetlenül segítette.

A dolgozat nem készülhetett volna el a Haemorheologiai Laboratóriumban dolgozó munkatársaim segítségével és támogatása nélkül, melyért köszönetet szeretnék mondani dr. Horváth Beátának, dr. Alexy Tamásnak, dr. Márton Zsoltnak és dr. Koltai Katalinnak, valamint a Laboratórium vezetőjének, dr. Késmárky Gábornak.

Eredményeink statisztikai értékelésében dr. Juricskay István nyújtott önzetlen segítséget, munkám klinikai részét több munkatársam támogatta, kiemelt köszönet illeti dr. Szóts Mónikát és dr. Pusch Gabriellát.

A technikai segítségért hálával tartozom Nagy Lászlóné, Pavlik Ferencné, Ángyán Lászlóné, Halas Anna és Pál Attiláné asszisztensnőknek, valamint Bognár Ernő informatikusnak.

Végül, de nem utolsósorban köszönettel tartozom családomnak szeretetükért, támogatásukért és türelmükért.