

BIOMARKER INVESTIGATIONS IN ACUTE BRAIN INJURY

Tihamér Molnár M.D.

PhD Thesis

**Department of Anesthesiology and Intensive Therapy
University of Pécs, Hungary**

Leader of the project: Assist. Prof. Zsolt Illés M.D., Ph.D.

Leader of program: Prof. Sámuel Komoly M.D., DSc.

Leader of Doctoral School: Prof. Sámuel Komoly M.D., DSc.

Pécs

2009



1. INTRODUCTION

Biomarkers

The ideal biochemical serum marker. In 1983, Bakay and Ward suggested that an ideal serum marker should have high specificity for the brain, a rapid appearance in serum, high sensitivity for brain injury, and be released only after irreversible destruction of brain tissue in a time-locked sequence with the injury. The age- and sex-related variability should be low to ensure a predictable relationship between the serum concentration and the amount of brain injury. Furthermore, reliable assays for immediate analyses should be available. Finally, and most importantly, it should show clinical relevance. These prerequisites have remained the most important properties of a biochemical serum marker of acute cerebral damage.

In clinical practice a biomarker can serve several objectives. There are a large number of studies assessing the value of biomarkers in the prognosis of (i) infection, (ii) acute focal brain injury (stroke, TBI) and (iii) global hypoxic brain damage due to cardiac arrest. However, biomarkers can provide additional information to the clinical evaluation, i.e. in the diagnosis of infection, minor head injury, or TIA/minor stroke, when neuroimaging is not sensitive enough. Furthermore, they are suitable for risk stratification and assessment of the response to certain therapies (antibiotics, immunomodulators, fibrinolytics, therapeutic hypothermia etc.). Biomarkers are not static but dynamic, presenting marked changes in response to different stimuli. Consequently, serial measurements could be more informative than a single one. Additionally, there is a continuous search for novel markers to better predict the outcome of patients with acute cerebral insults.

Markers of brain damage:

Neuron Specific Enolase (NSE): Enolases are glycolytic enzymes. NSE is located in the cytoplasm of neurons and is probably involved in increasing neuronal chloride levels during the onset of neural activity. In clinical practice, NSE is predominantly used as a marker for tumors of the amine precursor uptake and degradation system, such as small-cell lung cancer, neuroblastoma, and melanoma.

S100B protein: These proteins comprise a group of small Ca^{2+} -binding modulator proteins with a molecular mass of about 21 kDa. Members of this protein family have been implicated in the Ca^{2+} -dependent regulation of a variety of intracellular activities. The isoforms $\alpha\beta$ and $\beta\beta$ are predominantly present in astroglial cells of the CNS and commonly referred to as the brain-specific S100B protein. Serum S100 levels $>0.2 \mu\text{g/L}$ are considered pathologic. It is reasonable to hypothesize that S100B accumulates in the extracellular space after astrocyte death or due to increased release by activated astrocytes, or after cellular disintegration of the damaged parenchyma.

Markers of inflammation:

C-reactive protein (CRP): This acute phase protein is produced by the liver and by adipocytes. CRP rises in the sera whenever an inflammatory process is present and characteristically, its concentration depends only on the intensity of the stimulus and on the rate of synthesis. Recently, it was shown that elevated CRP levels independently predict the risk of future stroke and transient ischemic attack in the elderly. After acute stroke, a single CRP concentration measured within 72 hours was found to be an independent predictor of survival. There is an association between increased levels of CRP measured within 24 hours after ischemic stroke and unfavorable outcome, however an accompanying infection could not be ruled out if blood samples were taken within 24 hours after symptom onset. Others found that CRP concentration at discharge was better related to outcome than earlier measurements. Importantly, a CRP increase between 12 and 24 hours after symptom onset predicts an

unfavorable outcome and is associated with an increased incidence of cerebrovascular and cardiovascular events.

Procalcitonin (PCT): Procalcitonin is a prohormone physiologically transformed into calcitonin by the medullary cells of the thyroid. However, the origin of this substance can be extrathyroidal. High PCT serum levels were found in thyroidectomized septic patients, while calcitonin was undetectable. PCT, a marker of septicemia and infection severity has also been proposed as an indicator of systemic inflammatory response in noninfectious situations. There are only few studies related to PCT in stroke, although inflammatory response is a principal early component in the pathophysiology of stroke.

Leukocyte antisedimentation rate (LAR): We have recently established a simple test to examine systemic activation of leukocytes by measuring upward floating in a tube during one hour of gravity sedimentation. The LAR indicates the percentage of leukocytes crossing the middle line of the blood column upwards during 1 hour of sedimentation. In short, Westergreen blood sedimentation rate technique was modified for measuring leukocyte motion during gravity sedimentation of the whole blood. After one hour sedimentation, the leukocyte counts of upper and lower half sections were measured with an automatic cell counter (Coulter Counter CBC5, Coulter Electronics Ltd, Luton, UK) and results were expressed as a rate.

Role of leukocytes in acute ischemic stroke: Leukocytes accumulate in the region of cerebral ischemia in the early stage of stroke, within hours. The neurological outcome was shown to be worse and the infarct larger in patients with severe polymorphonuclear leukocyte (PMNL) accumulation. A significant correlation between stroke volume or stroke severity and an acute increase of white blood cell (WBC) in the peripheral blood have been reported. Increased aggregation of peripheral leukocytes in the absence of WBC elevation was also reported in major stroke. Increased in vitro adhesive properties, activation of leukocytes indicated by increased plasma oxidation of adrenaline to adrenochrome and higher plasma levels of cytokines and proteases have been shown in ischemic stroke and TIA. While these studies addressed the detrimental effect of leukocyte activation, it may also play a major role in defense against pathogens, and participate in combating infections. A deficient activation of leukocytes may thus contribute to an increased susceptibility to post-stroke infections.

N-terminal –prohormone of brain derived natriuretic peptide (NT-proBNP): Natriuretic peptides play an important role in the regulation of cardiovascular homeostasis and fluid volume. Increased plasma levels of natriuretic peptide hormones have been identified as predictors of cardiac dysfunction and death in many critical care settings, including congestive heart failure, myocardial infarction and septic shock. The prohormone brain natriuretic peptide (pro-BNP) is produced by ventricular myocytes in response to wall stress. In the circulation the biologically active hormone is separated from the N-terminal part of the prohormone termed NT-proBNP. It promotes natriuresis and diuresis, acts as a vasodilator and aldosterin antagonist, and also inhibits the endothelin release and smooth cell proliferation. Because BNP- or NT-proBNP-guided therapy of heart failure could reduce the occurrence of cardiac events and thereby decrease mortality, the marker itself seems to be an early predictor of prognosis and myocardial dysfunction in patients with septic shock. Investigation of their levels and prognostic roles in patients after cardio-pulmonary resuscitation (CPR) with or without sepsis is of great interest.

II. Acute brain injuries examined in the Thesis

Transient Ischemic Attack (TIA): It is an acute ischemia with the signs and symptoms of stroke, disappearing within a short period of time (less than 24 hours). Also called a mini-stroke, a TIA is due to a temporary ischemia to the brain and symptoms typically last for 2 to 30 minutes. Patients with TIA have a 25% greater risk of stroke within 90 days.

Stroke: In addition to being the third leading cause of death, many survivors of stroke have to adjust to a life with varying degrees of disability. While direct neurological deficits cause early deaths, infectious complications, particularly pneumonia and urinary tract infections, prevail in the postacute phase of stroke contributing to the poor outcome, which may suggest early alteration of immune responses. Recently, a loss of T cells in the peripheral blood of patients with acute ischemic stroke within 12 hours from onset of stroke symptoms, was revealed, which gradually normalized.

Perioperative cognitive dysfunction (POCD): Advances in anaesthetic and surgical techniques have led to the assumption that postoperative cognitive decline is currently less common than previously. The benefits of such technological advances, however, may have been offset by inclusion of older patients with more comorbidity. The neuro-behavioural outcomes range from the well-documented incidence of stroke to the less well-delineated postoperative delirium, cognitive difficulties (such as memory loss and visuospatial deficits), and depression. Prolonged postoperative cognitive dysfunction (POCD) is reported to occur frequently after cardiac surgery. However, it is rarely assessed in routine clinical practice and receives little attention after non-cardiac major surgery. The incidence of cognitive dysfunction has been reported to be between 1% and 60% depending on the type of operation.

Post-cardiac arrest syndrome (PCAS): Among cardiac arrest survivors, brain injury is the major determinant of functional outcome and quality of life. A major goal is to identify patients destined for poor neurological outcomes. The failure of injured structures to recover leads to a spectrum of neurological dysfunction including the inability to perform tasks independently, persistent vegetative state, coma, and brain death. The need for protracted high-intensity care of neurologically devastated survivors presents an immense burden to healthcare systems and society in general. To limit this burden, clinical factors and diagnostic tests are needed to prognosticate functional outcome. Beside others, biochemical markers have been used to prognosticate functional outcome after cardiac arrest. Numerous studies showed varying thresholds of NSE < from 30 to 65 µg/L associated with poor outcome and mortality. In cardiac arrest survivors, S100B exhibited similarly high specificity but low sensitivity. Interestingly, the non brain-originated PCT was found in successfully resuscitated out-of-hospital cardiac arrest victims as sensitive and specific as the brain originated S100B regarding the neurological outcome. In postresuscitation care, there is a great need for further biomarkers or their combination in order to distinguish the acute phase response due to tissue injury and the infectious complications.

2. AIM OF THE STUDIES

I. The innate immune response in patients with acute ischemic stroke complicated by post-stroke infections

Cerebrovascular diseases of acute onset, including ischemic stroke, are associated with diverse immune responses. The high incidence of infections in stroke patients is likely to be a result of an impaired immune function. Therefore, we investigated different biomarkers in patients within hours after onset of acute ischemic stroke and TIA to characterize the innate immune response and its relation to post-stroke infection and functional outcome. Furthermore, the aim of our study was to evaluate the most reliable markers in identifying a subset of stroke patients, which later develop infections.

Therefore, we addressed:

1. the relation of leukocyte activation to post-stroke infections;

2. whether post-stroke leukocyte activation depends on the duration of ischemia and the extent of infarct;
3. whether a simple bed-side tests to measure leukocyte activation could predict outcome and susceptibility for post-stroke infections;
4. serial measurement of leukocyte activation in the sera to compare acute ischemic stroke and TIA;
5. serial measurement of leukocyte activation in patients with or without post-stroke infections;
6. the relationship between leukocyte activation and functional outcome;
7. plasma hsCRP of patients with acute ischemic stroke compared to TIA and healthy controls;
8. plasma hsCRP as marker of stroke in first-ever or recurrent stroke subpopulations;
9. association between plasma hsCRP levels and NIHSS indicating the severity of symptoms,
10. association between the inflammatory aspect of atherogenesis represented by hsCRP and inflammation mediated by leukocytes;
11. serial measurement of hsCRP comparing patients with or without post-stroke infections;
12. the relationship between hsCRP and functional outcome in acute ischemic stroke;
13. the best cut-off value of hsCRP in prediction of infectious complications after acute ischemic stroke;
14. functional alterations in cytokine production and cytotoxicity of innate lymphocyte subsets capable of shaping adaptive T cell responses in the acute phase of ischemic stroke.

II. Measurement of brain derived biomarkers in the sera of cardiac patients with accidentally provoked transient neurological signs by intravenous dipyridamole (DP) stress test

Intravenously administered DP can induce short lasting and reversible minor neurologic deficit in high-risk vascular patients, that can be detected by using brain SPECT imaging providing a very early assessment of patients at risk of threatening cerebrovascular events. The aim of this prospective study therefore was to determine:

15. if DP-stress impacts biomarkers (S100B, NSE, hsCRP);
16. the frequency of transient neurological signs (TNS) during DP-stress;
17. if induced biomarkers and TNS could predict manifest cerebrovascular events in 7 years;
18. the best predictor of upcoming cerebrovascular events in patients with coronary artery disease.

III. Measurement of biomarkers of endothel and platelet activation in the sera of patients with non-cardiac surgery

Cardiac operations are frequently complicated by postoperative cognitive decline. Less common and less studied is postoperative cognitive decline after noncardiac surgery. Therefore, we examined:

19. the incidence of POCD after lung surgery at the Department of Surgery, University of Pécs, Hungary;
20. if MMSE were suitable for determination of POCD;
21. if biomarkers reflecting immuno-endothelial dysfunctions could be related to ischemia and neurocognitive alterations after lung surgery;
22. the best molecular predictors of susceptibility for POCD before major surgeries.

IV. Measurement of biomarkers in the sera of successfully resuscitated cardiac arrest victims

Increased plasma levels of natriuretic peptide hormones have been identified as predictors of cardiac dysfunction and death in many critical care settings. To date no studies were addressed to investigate the relationship between NT-proBNP and PCT in the serum of patients successfully resuscitated after in-hospital cardiac arrest with or without concomitant infection or sepsis. Therefore, we performed a serial analysis of S100B, PCT and NT-proBNP in the first 72 post-resuscitation hours in cardiac arrest victims to examine the role of these markers in prediction of septic complication:

23. differences in plasma levels of PCT, S100B and NT-proBNP in patients resuscitated due to either ventricular fibrillation or asystole/pulsless electrical activity;
24. differences in plasma levels of PCT, S100B and NT-proBNP in cardiac arrest victims with or without septic complication;
25. relationship between the measured biomarkers and clinical outcome.

3. EXPERIMENTS

I. THE INNATE IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH ACUTE ISCHEMIC STROKE COMPLICATED BY POST-STROKE INFECTIONS

1. Deficient leukocyte antisedimentation is related to post-stroke infections and outcome:

Patients with stroke are more susceptible to infections suggesting possible deficiencies of early immune responses, particularly of leukocytes. Here, we examined whether post-ischemic activation of leukocytes is related to duration of ischemia and extent of infarct. We also addressed, if dysregulated leukocyte activation might be related to post-stroke infection and influence outcome. We used leukocyte antisedimentation rate (LAR) to detect activation of leukocytes and correlated LAR with clinical and laboratory parameters. An additional aim was to test simple bed-side investigations in predicting outcome and susceptibility for post-stroke infections early.

LAR, a simple test to detect activation of leukocytes was serially examined and correlated with blood level of S100 β related to extent of infarct as well as to procalcitonin indicating infection and outcome in patients with acute ischemic events. Venous blood samples were taken from 61 healthy volunteers and 49 patients with acute ischemic events: 38 patients with acute ischemic stroke, and 11 patients with transient ischemic attack (TIA) where symptoms disappear in 24 hours and cranial CT scan does not indicate infarct. Sampling was done within 6 hours, at 24 and 72 hours after onset of symptoms. LAR was significantly higher in acute ischemic events within 6 hours after onset of stroke regardless of post-stroke infections. In addition, elevation of LAR was delayed and attenuated in TIA in contrast to definite stroke; we also observed a positive correlation between LAR and S100 β at 72 hours after the onset of ischemic stroke both indicating that the extent of tissue injury correlates with the magnitude of innate immune responses. Importantly, a deficiency in early elevation of LAR was associated with post-stroke infections and a poor outcome measured by Glasgow Outcome Scale.

We conclude that an early activation of leukocytes indicated by elevation in LAR is characteristic of acute ischemic cerebrovascular events. A delayed and ameliorated leukocyte activation represented by LAR is characteristic to TIA in contrast to definite stroke. Our data

suggest that acute activation of leukocytes, which has been regarded detrimental so far, serves also to prevent post-stroke infections. Our data imply that concept about the post-ischemic role of leukocytes should be changed and dissected: recruitment of leukocytes in the CNS may be damaging but should be separated from the systemic activation, which may prevent post-stroke infections. A disregulated early immune response or deficient leukocyte activation may result in an increased susceptibility to infections in patients with stroke.

2. Relationship between C-reactive protein and early activation of leukocytes indicated by leukocyte antisedimentation rate (LAR) in patients with acute cerebrovascular events

A non-specific inflammatory response occurs after stroke and the degree of inflammation is predictive of outcome. The purpose of this study was to determine the relationship between the acute phase reactant C-reactive protein (CRP) and leukocyte antisedimentation rate (LAR) as a specific test to detect early activation of leukocytes. Here, we examined relationship among LAR, astroglia specific S100B indicating the extent of brain tissue damage and hsCRP in 49 patients within hours after onset of acute ischemic stroke (AIS) and transient ischemic attack (TIA) to characterize the innate immune response and its relation to the outcome.

Serum levels of hsCRP on admission was significantly higher in patients with acute ischemic stroke (AIS) compared to healthy subjects and were higher in patients with recurrent to first ever ischemic stroke. Increased basal levels of hsCRP also correlated with extent of infarct reflected by S100B levels in sera, but did not correlate with post-stroke infections. However, a higher rate of infection was observed among patients, in whom hsCRP was elevated at 72 hours but LAR did not increase. Therefore, such late elevation of hsCRP may indicate pre-clinical infections due to deficient leukocyte activation. Indeed, our data indicate that early (within 6 hours) and late (after 72 hours) changes in serum levels of hsCRP may reflect different pathological processes in stroke.

We can conclude that simple tests like LAR and hsCRP may help in predicting outcome and high risk of infectious complications.

3. Impaired function of innate T lymphocytes and NK cells in the acute phase of ischemic stroke

While direct neurological deficits cause early deaths, infectious complications prevail in the postacute phase of stroke contributing to the poor outcome. The increased susceptibility to infections after stroke may suggest early alteration of immune responses, thus immunodepression induced by stroke has been proposed. The few animal and human studies all addressed the rapid changes in the adaptive arm of the immune system, mainly T cells. We analyzed rapid changes in immunological functions of cells of the innate immunity or lymphocytes bridging the innate and the adaptive arms of the immune system, all capable of shaping subsequent immune responses through rapid production of cytokines and/or cytotoxicity. The analyzed cell subsets were V δ 2 T cells, CD3⁺CD56⁺ natural killer T (NKT)-like cells and CD3⁻CD56⁺ NK cells. Their frequencies, cytokine production, intracellular perforin, surface Fas ligand (FasL) expression, and NK cytotoxicity were measured in 28 patients' peripheral blood obtained within 6 hours and also after 72 hours of ischemic stroke. The paired samples were compared both with each other and with 20 healthy controls.

Percentages of V δ 2, NKT-like and NK cells at 6 and 72 hours after stroke were constant and similar to percentages in healthy subjects. In contrast, pro-inflammatory

intracellular IFN- γ expression by V δ 2 T cells, NKT-like cells and NK cells and IFN- γ production by isolated NK cells in culture was low at 6 hours and reached the level of healthy subjects by 72 hours after stroke. Anti-inflammatory IL-4, IL-5 and IL-10 production of NKT-like and NK cells was not altered. Intracellular perforin expression by V δ 2 T cells, NKT-like cells and NK cells, and NK cytotoxicity were low at 6 hours and reached the level of healthy subjects by 72 hours. The increase in IFN- γ production by V δ 2 T cells strongly correlated with decrease in NIHSS scores indicating clinical improvement.

According to our results, pro-inflammatory and cytotoxic but not anti-inflammatory responses of NK, NKT-like and V δ 2 T cells become acutely deficient in ischemic stroke, which may contribute to an increased susceptibility to infections. The rate of increase in pro-inflammatory cytokine IFN- γ correlates with the rate of improvement.

4. Immune responses and neuroimmune modulation in the pathogenesis of acute ischemic stroke and post-stroke infections

Acute-onset cerebrovascular diseases are connected to a number of immunological changes. Here, we summarized and reviewed immune responses participating in the evolution of atherosclerotic plaques and post-stroke local immune responses in the injured CNS as well as in the systemic circulation. Ischemic injury of the CNS alters the balanced neuroimmune modulation resulting in CIDS, the central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. Due to the immunodepression and reduced pro-inflammatory immune responses, the susceptibility for infection is increased; indeed, post-stroke infection plays a major role in stroke-related mortality. On the other hand, CIDS may protect against damaging autoimmune responses elicited by exposed CNS antigens. Investigation of immune responses related to ischemic stroke may result in novel therapies indicated by an increasing number of experimental and clinical trials altering post-stroke immune responses and preventing infections.

II. MEASUREMENT OF BRAIN DERIVED BIOMARKERS IN THE SERA OF CARDIAC PATIENTS WITH ACCIDENTALLY PROVOKED TIA BY INTRAVENOUS DIPYRIDAMOLE (DP) STRESS TEST

1. Dipyridamole stress test in the early evaluation of cerebral circulatory disorders?

The diagnosis of transient ischaemic attack (TIA) is mainly based on the clinical symptoms presented by the patient. Professionals in nuclear medicine have made a successful attempt to detect TIA by single photon emission tomography (SPECT) imaging. Acetazolamide stress test was used to improve the sensitivity of the examination till now. The aim of this study was to analyse the relationship between transient neurological symptoms provoked by dipyridamol (DP) test and the change in regional cerebral blood flow indicated by brain SPECT imaging. Patients with ischaemic heart disease were stressed by intravenously administered DP and considerably higher incidence (23%) of DP induced TIA was found than reported previously in the literature. The so called „TIA positive” patients were re-examined later on using the combination of dipyridamole stress test and brain SPECT imaging which was compared to baseline brain SPECT at rest. Perfusion abnormalities revealed by brain SPECT were topographically consistent with the neurological deficits.

We conclude that DP stress test provides an opportunity to provoke TIA safely, determining the high-risk patients threatened by cerebrovascular event. Combined with brain

SPECT it may have an important role in the neurologic diagnostic evaluation, management of cardiac patients prior to major surgery and the prevention of stroke.

2. “Cerebrovascular stressing”: drug-induced S100B elevation and transient neurological signs predict ischemic cerebrovascular events

This study was primarily conducted to compare the profile of serum S100B in the very early stage (within 6 hours after onset of symptoms) between stroke, spontaneous TIA and cardiac patients with and without dipyridamole (DP) induced transient neurological signs (TNS). Furthermore, we investigated the association between the clinical status (symptoms and signs provoked by DP), peak S100B levels and the risk of a future cerebrovascular event in patients with coronary artery disease who were stressed with DP. We found that DP itself did not influence the serum level of hsCRP, which is a good predictor of manifest stroke/TIA. However, DP had an impact on S100B protein release by presumably changing permeability of the BBB. Moreover, the median serum S100B level in cardiac patients with DP-induced TNS was very similar to spontaneous stroke/TIA and significantly differed from cardiac patients without DP-induced TNS.

Results of 7 years follow-up: Manifest ischemic events occurred in 48% of patients (TIA: 15/37, stroke: 3/37) in seven years. Importantly, new cerebrovascular events occurred in patients with DP-induced TNS twice as often as in patients without DP-induced TNS (64% vs. 30%, $p=0.05$). All ischemic events (TIA and stroke, $n=18$) and TIA ($n=15$) were more common among patients with DP induced elevation of S100B measured at T60 seven years earlier. When adjusted for age, gender and comorbidities in a multivariate analysis, DP-induced S100B above the cut-off value ($S100B \geq 0.11 \text{ ng/ml}$) indicated 70-times increased risk for manifest ischemic cerebrovascular events within 7 years.

As the DP stress test is basically performed by cardiologists, symptoms of TIA are often unrecognized. Therefore, S100B can be a surrogate marker to select (cardio)vascular patients with high-risk for cerebrovascular events, who can have the most benefit from early therapy. SPECT brain scan combined with DP test (S100B and neurological signs) might be an important diagnostic tool in the early recognition of silent cerebral circulatory disorders, stroke prevention and in the preoperative assessment of patients scheduled for cardiac surgery. In this context, for the analogy of “coronary stress” this method can serve as “cerebrovascular stress”.

III. MEASUREMENT OF BIOMARKERS OF ENDOTHEL ACTIVATION IN THE SERA OF PATIENTS WITH NON-CARDIAC SURGERY

1. Increased levels of baseline biomarkers reflecting platelet and endothelial activation predict early cognitive dysfunction after lung surgery

The reported high incidence of short term postoperative cognitive dysfunction (POCD) (33-83%) after cardiac surgery is mainly related to cardio-pulmonary bypass; however POCD is also frequent and potentially serious after elective lung surgery, where deleterious effect of pump is excluded.

The goal of this study was to examine biomarkers reflecting immuno-endothelial dysfunctions, which could be related to ischemia and neurocognitive alterations, in the early recognition of POCD after lung surgery: soluble P-selectin (sP-selectin), soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), soluble CD40 ligand (sCD40L), tissue plasminogen activator (tPA), interleukin-6 (IL-6), interleukin-

8 (IL-8), S100B and high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP). We investigated 35 patients with non-small cell lung cancer, who underwent elective lung surgery. Patients with neuropsychiatric event in the past medical history, pre-existing cognitive dysfunction (defined as MMSE score below 24), and certain types of neoplasm resulting *per se* elevation in serum level of S100B (e.g. malignant melanoma) were excluded. Biomarkers were measured preoperatively and on the second postoperative day. Early neurocognitive deficit was assessed on admission by mini-mental status examination (MMSE₀) and on the second postoperative day (MMSE₄₈). POCD was defined as a decrease in MMSE score >3 points from baseline. Nine patients had POCD within 48 hours (25.7 %). Baseline scores of MMSE showed no significant difference in patients with or without POCD; however MMSE₄₈ was significantly lower in patients with POCD, and the rate of decline in MMSE was significantly higher in the POCD group.

In summary, we found that molecules reflecting platelet and endothelium activation (sCD40L, sP-selectin, sVCAM-1, MCP-1) were increased preoperatively in patients developing POCD and remained elevated at least for 48 hours after lung surgery. We may hypothesize that the endothelium and platelets are more sensitive to immunological responses against tumors in a subpopulation of patients and become activated. Such pre-operative activation of platelets and endothelium can result in an increased activation/transmigration of leukocytes, disruption of blood-brain barrier and can also participate in brain ischemia resulting in POCD. In addition, these molecules may be used as potential biomarkers predicting susceptibility for POCD before major surgeries. Patients known to be at such an increased risk preoperatively may benefit from closer monitoring and earlier medical intervention or being offered non-surgical oncological treatment if the operative risk is considered to be unacceptable.

IV. MEASUREMENT OF BIOMARKERS IN THE SERA OF SUCCESSFULLY RESUSCITATED CARDIAC ARREST VICTIMS

1. Prognostic role of serum S100 β and procalcitonin in patients after cardio-pulmonary resuscitation

The prognostic value of S100 β considering the neurological outcome in patients after cardio-pulmonary resuscitation (CPR) is already well documented. The non-SIRS related changes in PCT levels indicating brain cell damage can provide additional information. The aim of this pilot study was to reveal any difference between survivals and non-survivals in serum S100 β and PCT levels after CPR regardless of the type of cardiac arrest.

A total of 20 victims after either in or out-of-hospital successful resuscitation were investigated. CPR and postresuscitation treatment were carried out according to the current advanced life support (ALS) protocol of the European Resuscitation Council. Physical neurological examination was performed and serum S100 β and PCT were serially measured on admission to the ICU (t_0), after 24 hrs (t_{24}) and 72 hrs (t_{72}), respectively. Biomarkers were compared in 9 survivors and 11 non-survivors. In accordance with other papers, serum S100 β level was higher in non-survivals indicating more severe anoxic brain tissue injury due to cardiac arrest, however the difference between the two groups was not significant ($p=0.06$). Interestingly, PCT serum level was very similar among survivors and non-survivors at any timepoints. Importantly, a significant negative correlation was found between PCT levels measured at t_{24} and the time of anoxia ($p<0.01$), however such association was not observed between S100 β and time of anoxia.

To decide whether these biomarkers have any impact on the prognosis of patients after CPR, we are going to expand the study with larger number of patients.

2. NT-proBNP as early marker of septic complications in patients after cardiopulmonary resuscitation

In the postresuscitation phase, there is a whole-body ischaemia/reperfusion syndrome, which leads to alteration in the immuno-inflammatory profile and results in potentially serious infectious complications. Interestingly, the non brain-originated PCT investigated in out-of-hospital cardiac arrest was similarly sensitive and specific to the CNS-derived S100B, regarding neurological outcome. Moreover, there is a strict association between outcome and septic complications. Recent studies also suggested that NT-proBNP may be an early prognostic factor of myocardial dysfunction in patients with septic shock. Here, we examined whether NT-proBNP and/or PCT are useful markers in recognition of patients after CPR at risk of sepsis in the early post-resuscitation phase.

After excluding preexisting conditions known to increase NT-proBNP levels, such as chronic heart insufficiency and renal insufficiency, a total of 35 patients were included into the study. Twenty-five patients suffered from asystole/pulseless electrical activity (ASYS/PEA) and 10 patients from ventricular fibrillation (VF). In the ASYS/PEA group, 28-day survival was significantly decreased compared to the VF group. Defined upon the criteria of the ACCP/SCCM consensus conference, patients were further divided into septic (S) and non-septic (NS) groups. In the ASYS/PEA group, 8 patients were septic and 17 non-septic. Our study confirmed that NT-proBNP levels were elevated in patients with sepsis even after cardiopulmonary resuscitation. Interestingly, we found similarly elevated natriuretic peptide both in patients with severe sepsis (ASYS/PEA-S) and ischaemia induced myocardial dysfunction (VF), despite the marked pathophysiological differences in the circulatory response. The elevated NT-proBNP level in the serum of successfully resuscitated patients after VF is not surprising, as severe ischemia always precedes VF similarly to acute coronary occlusion, where the prompt elevation of serum NT-proBNP has been already reported. Obviously, serum procalcitonin levels were also significantly higher in patients with sepsis; however, we also observed an increase in patients, where cardiac arrest was presumably forestalled by significant hypoxic period independently from infection.

It seems that on ICU admission, serum NT-proBNP was similar to the inflammatory markers such as procalcitonin in septic patients, who underwent cardiopulmonary resuscitation, therefore it might be useful in early recognition of post-arrest septic complications.

4. SUMMARY OF THESESES

- 1.** Activation of leukocytes represented by elevation in LAR happens within hours after onset of ischemic stroke.
- 2.** Although LAR was elevated in TIA compared to healthy subjects, it was delayed and ameliorated compared to definitive ischemic stroke.
- 3.** Decreased activation of leukocytes reflected by a deficient elevation of LAR may predispose to post-stroke infections and predict worse outcome.
- 4.** Concept about uniformly harmful post-ischemic role of leukocytes should be changed and dissected: recruitment of leukocytes in the ischemic brain may be damaging by amplifying brain injury. However, systemic activation of leukocytes plays an important role in preventing post-stroke infections.

5. A positive correlation exists between LAR and S100 β on the 3rd post-stroke day indicating a relationship between innate immune responses and the volume of infarct.
6. CRP on admission was significantly higher in patients with acute ischemic stroke (especially in recurrent stroke), however not in TIA patients, demonstrating that CRP is an indicator of atherothrombosis and an independent predictor of increased cardiovascular risk in apparently non-infected patients.
7. CRP has a predictive value for poor prognosis (GOS) and more severe symptoms (NIHSS) irrespective of post-stroke infections.
8. Early elevation of hsCRP also correlated with serum levels of S100B at 72 hours, supporting the hypothesis that magnitude of tissue injury may have an impact on acute phase reactants.
9. We also observed a late increase of hsCRP in patients with a tendency of decreased leukocyte activation, indicating a higher rate of infection. Such a late elevation of hsCRP by 72 hours thus may be an early pre-clinical sign of infections due to deficient leukocyte activation. Indeed, our data indicate that early (within 6 hours) and late (after 72 hours) changes in serum levels of hsCRP may reflect different pathological processes in stroke.
10. The percentages of particular innate lymphocytes V δ 2, NKT-like and NK cells do not change in the acute phase of ischemic stroke in contrast to published decrease of conventional $\alpha\beta$ T cells.
11. In contrast to the percentages, an acute functional deficiency of innate T lymphocytes and NK cells occurred in the acute phase of ischemic stroke, within 6 hours: pro-inflammatory cytokine production, expression of perforin and NK cytotoxicity were decreased, while there was no change in production of Th2 cytokines and Th2-related ICOS expression. We may hypothesize that such early deficiency or its dysregulated normalization may substantially influence susceptibility to infections, similar to animal models of cerebral ischemia.
12. Normalization of IFN- γ production by $\gamma\delta$ T cells correlated with rate of clinical improvement, suggesting that pro-inflammatory cytokines might participate in neuroregeneration in stroke, similar to spinal cord injury.
13. The stress agent dipyridamole (DP) can provoke transient neurological signs (TNS) in cardiac patients indicating subclinical cerebrovascular disorder. Additionally, DP stress combined with brain SPECT imaging is suitable for an early visualisation of cerebral circulatory disorders.
14. Investigating the association between peak S100B and the risk of future cerebrovascular events in cardiac patients after DP-stress, we found that both elevation of S100B and TNS were more common among patients who experienced manifest stroke/TIA within seven years (75% and 67 %, respectively). In multivariate analysis, only DP-induced elevation of S100B was a good independent predictor of stroke and TIA after adjusting for confounding factors: the risk of such events within seven years was 70-times higher compared to patients without such elevation.
15. Molecules reflecting platelet and endothelium activation (sCD40L, sP-selectin, sVCAM-1, MCP-1) are increased preoperatively in patients developing POCD and remain elevated at least for 48 hours after lung surgery. These molecules may be potential biomarkers predicting susceptibility for POCD before major surgeries: such patients may benefit from closer monitoring and earlier medical intervention or being offered non-surgical oncological treatment if the operative risk is considered to be unacceptable.
16. Prior pulseless electric activity (PEA) arrest, patients often have long, undetected hypoxic periods triggering the release of inflammatory markers such as PCT.

Contrary, significantly lower inflammatory response can be detected in patients in ventricular fibrillation arrest, accompanied by better survival regardless of anoxic time.

17. NT-proBNP is elevated after successful cardiopulmonary resuscitation in patients who became septic, and its kinetics is similar to inflammatory markers such as procalcitonin; therefore it might be useful in early recognition of post-arrest septic complications.

5. BIBLIOGRAPHY

ARTICLES

1. Molnar T, Zambo K, Schmidt E, Tekeres M. Dipyridamole teszt az agyi keringészavarok korai felismerésében? [Dipyridamole stress test in the early evaluation of cerebral circulatory disorders?] **Orv Hetil**, 2000, 141:2717-2722
2. The In TIME-II Investigators: Intravenous NPA for the treatment of infarcting myocardium early. InTIME-II, a double-blind comparison of single-bolus lanoteplase vs accelerated alteplase for the treatment of patients with acute myocardial infarction. **Eur Heart J**, 2000, 21:2005-2013
(Impact factor: 5.153)
3. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. A szérum S100 β és procalcitonin szintjének prognosztikai jelentősége újraélesztett betegeknél. [Prognostic role of serum S100 β and procalcitonin in patients after cardio-pulmonary resuscitation] **Újraélesztés**, 2004, 1:51-56
4. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Pusch G, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Deficient leukocyte antisedimentation is related to post-stroke infections and outcome. **J Clin Pathol**, 2008, 61:1209-1213
(Impact factor: 2.24)
5. Molnár T. S100 fehérje meghatározás és szerepe az intenzív osztályon. [Measurement and importance of serum S100B in the intensive care] **Focus Medicinae**, 2008, 2:25-31
6. Molnar T, Jakab L, Palinkas L, Molnar FT, Bogar L, Illes Z. Increased levels of baseline biomarkers reflecting platelet and endothelial activation predict early cognitive dysfunction after lung surgery **Eur J Anaesthesiol**, 2009, 26:708-10
(Impact factor:1.435)
7. Molnar T, Papp V, Szereday L, Pusch G, Szapary L, Bogar L, Illes Z. Relationship between C-reactive protein and early activation of leukocytes indicated by leukocyte antisedimentation rate (LAR) in patients with acute cerebrovascular events **Clin Hemorheol and Microcirc**, 2009 (in press)
(Impact factor: 0.977)

8. Peterfalvi A, Molnar T, Pusch G, Szereday L, Illes Z. Impaired function of innate T lymphocytes and NK cells in the acute phase of ischemic stroke.
Cerebrovasc Dis, 2009 (in press)
(*Impact factor: 3.041*)
9. Papp V, Molnár T, Illés Z. Az immunválasz és a neuroimmun moduláció szerepe az akut ischaemiás stroke és a post-stroke infekció patogenezisében. [Immune responses and neuroimmune modulation in the pathogenesis of acute ischemic stroke and post-stroke infections]
Ideggy Szle/Clin Neursoci, 2009 (in press)
10. Molnar T, Bogar L, Koszegi T, Szakmany T. NT- proBNP: a szeptikus komplikáció korai markere újraélesztett betegekben. [NT-proBNP as early marker of septic complications in patients after cardio-pulmonary resuscitation]
Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 2009 (in press)
11. Molnar T, Szabo Z, Schmidt E, Barta E, Zambo K, Illes Z. "Cerebrovascular stressing": drug-induced S100B elevation and transient neurological signs predict ischemic cerebrovascular events
Atherosclerosis, 2009 (submitted)

Cumulative impact factor:

12.85

Cumulative impact factor of published papers related to Theses:

7.69

CONGRESS ABSTRACTS

1. Molnár T, Nagy F, Czopf J. Brainstem auditory evoked potentials (BAEP), blink reflex (BR) and masseter inhibitory reflex (MIR) examinations in healthy subjects and patients with brainstem lesions. Congress of Clinical Neurophysiology for Eastern European Countries, **1993**, Szczecin, Poland
2. Molnár T, Nagy F, Schneider J, Czopf J. Experiences with computer-analysed blink reflex (BR) and masseter inhibitory reflex (MIR) data obtained from healthy subjects and from patients with brainstem lesions. VIIth European Congress of Clinical Neurophysiology, **1995**, Budapest, Hungary
3. Molnár T, Zámbó K. Agyi SPECT vizsgálatok migrénes betegekben. Migrén Szimpózium, **2000**, május, Pécs
4. Molnár T, Zámbó K, Schmidt E, Tekeres M. Új lehetőség az agyi keringészavarok korai felismerésében? Dipyridamole teszt a neurológiai diagnosztikában? XXX. MAITT kongresszus, **2000**, Siófok, Hungary
5. Molnár T, Bogár L. Gyulladásos markerek és a neuromuscularis funkció zavarának összefüggése tartósan lélegeztetett betegekben. Fiatal Magyar Aneszteziológusok V.Kongresszusa, **2001** május, Sopron

6. Molnár T, Zábó K, Schmidt E, Udvaros E, Bogár L. Dipyridamole stress test for early evaluation of cerebral circulatory disorders. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, **2001**, Napoli, Italy, **Eur J Nuc Med**, 2001, 28(8):951-1298. (p1222)
(*Impact factor: 3.464*)
7. Molnár T, Zábó K, Schmidt E, Bogár L. Initial experience with a pharmacological stress test for early evaluation of cerebral circulatory disorders. European Stroke Conference, 29th May-1st June, **2002**, Geneva, Switzerland, **Cerebrovasc Dis**, 2002, 18 (suppl 2):
(*Impact factor: 1.852*)
8. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. Szérum S100B változása gyógyszer indukálta TIA esetén. XXXI. MAITT Kongresszus, **2003** június 19-21, Pécs
9. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. Change of S100B in the sera of patients with drug-induced TIA. Biochemical Markers of Brain Damage Congress, 25th-27th September, **2003**, Lund, Sweden
10. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. Changes of biomarkers in the sera of patients with coronary artery disease after drug-induced Transient Ischemic Attack (TIA). European Stroke Conference, 12-15 May, **2004**, Mannheim-Heidelberg, Germany, **Cerebrovasc Dis**, 2004, 17 (suppl 5):1-125, p120
(*Impact factor: 2.150*)
11. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. S100B release in a human model of transient ischemic attack. 6th International Meeting for Brain Energy Metabolism, 21-24 May, **2004**, Heraklion, Crete, Greece
12. Molnár T, Szakmány T, Kőszegi T, Bogár L. A szérum S100B és PCT szint prognosztikai jelentősége újraélesztett betegeknél. Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság XXXII. Kongresszusa, **2004**, május 26-29, Eger
13. Molnár T.: Központi idegrendszeri prognosztizálás újraélesztett betegekben. Budapest Aneszteziológiai Szimpózium, **2005**, február 19, Budapest
14. Molnár T, Zábó K, Szabó Z. Pulse pressure predicts transient myocardial perfusion abnormalities during dipyridamole stress test. Fifth International Congress of The Croatian Society of Nuclear Medicine, May 15-18, **2005**, Opatija, Croatia, **Nucl Med Rev** 2005, 8(1):1-86. (p.56)
(*Impact factor: 1.097*)
15. Molnár T, Zábó K, Szabó Z. Pulse pressure predicts transient myocardial perfusion abnormalities during dipyridamole stress test. Fifteenth European Meeting on Hypertension, June 17-21, **2005**, Milan, Italy, **Hypertension**, 2005, 45 (1055)
(*Impact factor: 6.331*)

16. Molnar T, Koszegi T, Szakmány T. Changes of procalcitonin and S100B after ventricular fibrillation and pulseless electrical activity. 18th ESICM Annual Congress, September 25-28, **2005**, Amsterdam, The Netherlands, **Int Care Med**, 2005, 31(Suppl 1):460
(Impact factor: 3.724)
17. Molnar T, Bogar L, Koszegi T, Szakmany T. NT-proBNP: a new sepsis marker in patients after cardio-pulmonary resuscitation? 8th Congress of the ERC, May 11-13. **2006**, Stavanger, Norway, **Resuscitation**, 2006, 69:96.
(Impact factor: 2.314)
18. Jónás A, Szakmány T, Molnár T. Az NT-proBNP és a microalbuminuria szerepe subarahnoidális vérzésben. MAITT Kongresszus, **2006**, Május 18-21, Szeged, **Aneszteziológia és Intenzív Terápia**, 2006, 36(Suppl 1):30.
19. Molnár T, Jónás A, Szakmány T, Bogár L. The role of BNP and microalbuminuria in patients with subarachnoid haemorrhage. 19th Annual Congress of ESICM, 24-27 September, **2006**, Barcelona, Spain, **Int Care Med**, 2006, 32(Suppl 1):0888.
(Impact factor: 4.406)
20. Molnár T, Bártai I, Bogár L. Intraoperative SEP monitoring during scoliosis surgery. XXXV. MAITT Kongresszus, május 18 -19, **2007**, Debrecen, **Aneszteziológia és Intenzív Terápia**, 2007, 37(Suppl 1):13.
21. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Increased level of C-reactive protein (CRP) at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte antisedimentation rate and S100b and predicts outcome. 16th European Stroke Conference, Glasgow, UK, **2007**, május 29-június1. **Cerebrovasc Dis**, 2007, 23 (suppl 2):63.
(Impact factor: 2.534)
22. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. A rapid elevation in leukocyte antisedimentation rate differentiates acute ischemic stroke from TIA earlier than S100beta. 16th European Stroke Conference, Glasgow, UK, **2007**, május 29-június1 **Cerebrovasc Dis**, 2007, 23 (suppl 2):64.
(Impact factor: 2.534)
23. Péterfalvi Á, Szereday L, Molnár T, Szapáry L, Pál J, Mikó É, Komoly S, Illés Z. Az adaptív immunválasz akut változásai ischaemiás stroke-ban. A Magyar immunológiai Társaság XXXVI. Vándorgyűlése, Hajdúszoboszló, **2007**. Október 17-19. Magy Immunol/Hun Immunol, 2007, 6:35
24. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Z. A rapid elevation in leukocyte antisedimentation rate differentiates acute ischemic stroke from transient ischemic attack (TIA) earlier than S100b. A Magyar immunológiai Társaság XXXVI. Vándorgyűlése, Hajdúszoboszló, 2007. Október 17-19. Magy Immunol/Hun Immunol, **2007**, 6:35

25. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Z. Increased level of C-reactive protein (CRP) at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte antisedimentation rate and S100b and predicts outcome. A Magyar immunológiai Társaság XXXVI. Vándorgyűlése, Hajdúszoboszló, 2007. Október 17-19. *Magy Immunol/Hun Immunol*, **2007**, 6:35
26. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Increased level of C-reactive protein (CRP) at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte antisedimentation rate and S100b and predicts outcome. 17th Meeting of the European Neurological Societies, Rhodes, Greece, 2007. június 16-20.
J Neurol, 2007, 254 (Suppl 3):III/57.
(*Impact factor: 2.98*)
27. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. A rapid elevation in leukocyte antisedimentation rate differentiates acute ischemic stroke from TIA earlier than S100beta. 17th Meeting of the European Neurological Societies, Rhodes, Greece, 2007. június 16-20.
J Neurol, 2007, 254 (Suppl 3):III/143.
(*Impact factor: 2.98*)
28. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Increased level of C-reactive protein (CRP) at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte antisedimentation rate and S100b and predicts outcome. 29th International Danube Symposium, Würzburg, Germany, 2007. Június 2-5.
J Neurol Transm, 2007, 114:CXXIV.
(*Impact factor: 2.93*)
29. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. A rapid elevation in leukocyte antisedimentation rate differentiates acute ischemic stroke from TIA earlier than S100beta. 29th International Danube Symposium, Würzburg, Germany, 2007. Június 2-5.
J Neurol Transm, 2007, 114:CXXIV.
(*Impact factor: 2.93*)
30. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Z. Az ősi immunválasz akut változásai ischaemiás stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság VIII. Konferenciája. Budapest, **2007**. május 24-26.
31. Péterfalvi Á, Szereday L, Molnár T, Szapáry L, Pál J, Mikó É, Illés Z. Az adaptív immunválasz akut változásai ischemiás stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság VIII. Konferenciája. Budapest, **2007**. május 24-26.
32. Molnar T and Illes Z. Increased level of C-reactive protein at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte anti-sedimentation rate and S100b and predicts outcome. Pecs-Tübingen Neuroimmunology Days, Pécs **2007**. április 13-14.

33. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Pusch G, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Zs: Korai leukocyte aktiváció vizsgálata akut stroke-ban és annak haszna a post-stroke infekció előrejelzésében. MAITT XXXVI. Kongresszusa, Balatonfüred, **2008**, Május 16 -17, **Aneszteziológia és Intenzív Terápia**, 2008, 38(Suppl 1):10.
34. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Pusch G, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Zs: Post-stroke gyulladáshoz vezető szövődmények etiológiai megközelítése. Immundepresszió vagy iatrogén infekció? MAITT XXXVI. Kongresszusa, Balatonfüred, **2008**, Május 16 -17, **Aneszteziológia és Intenzív Terápia**, 2008, 38(Suppl 1):11.
35. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Banati M, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Early activation of leukocytes indicated by a simple test of leukocyte antisedimentation rate (LAR) differentiates TIA from definitive stroke and is related to post-stroke infections resulting in poor outcome. 8th Annual Meeting of the Federation-of-Clinical-Immunology-Societies, JUN 05-09, **2008** Boston, MA, USA.
Clin Immunol, 2008, 127 (Suppl):S153
(Impact factor:3.60)
36. Molnar T, Peterfalvi A, Bogar L, Illes Z. Role of leukocyte antisedimentation rate in prediction of early recognition of post-stroke infection. 28th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine, 18-21 March, Brussels, Belgium.
Crit Care, 2008, 12 (Suppl 2):P175
(Impact factor:4.55)
37. Molnár T, Pálincás D, Pisztrai L, Czeiter Endre, Ezer E, Büki A. Effect of different fluid resuscitation on brain tissue oxygen depth in patients with severe traumatic brain injury. 4th Pannonian Symposium on CNS Injury, Pécs, **2008**, szeptember 8-10.
Clin Neurosci/Idegy Szle, 2008,
38. Molnár T, Jakab L, Pálincás L, Molnár FT, Bogár L, Illés Zs. Vérlemezke és endothel aktivációs biomarkerek szerepe a posztoperatív kognitív deficit előrejelzésében. MAITT XXXVII. Kongresszusa, Balatonfüred, **2009**, Május 14 -16.
Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 2009, 38(Suppl 1):11.
39. Molnar T and Illes Z. Early immune response in stroke predicts outcome and post stroke infections. 2nd Pécs-Tübingen Neuroimmunology Days, June 26-27, **2009**, Tübingen, Germany
40. Molnár T, Bánáti M, Szereday L, Pusch G, Szapáry L, Bogár L, Illés Zs. A CRP, korai leukocyte aktiváció és a post-stroke infekció összefüggései akut ischémias stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság IX. Konferenciája. Pécs, **2009**. szeptember 03-05.

AWARDED LECTURES

1. Molnár T. [Biomarker investigations in acute brain injury] Biomarkerek vizsgálata akut központi idegrendszeri inzultusokban. Környey Társaság Tudományos ülése. Pécs, 2009. március 27.
Környey Emlékérem

2. Péterfalvi Á, Szereday L, Molnár T, Szapáry L, Pál J, Mikó É, Illés Z. [Acute changes of adaptive immunity in ischemic stroke] Az adaptív immunválasz akut változásai ischiemiás stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság VIII. Konferenciája. Budapest, 2007. május 24-26.
2nd prize
3. Jónás A, Szakmány T, Molnár T. [Role of NT-proBNP and microalbuminuria in subarachnoideal bleedings] Az NT-proBNP és a microalbuminuria szerepe subarachnoidalis vérzésben. XXXVI. MAITT Kongresszus, 2006, Május 18-21., Szeged
2nd prize
4. Molnár T, Bogár L. [Relationship between inflammatory markers and neuromuscular dysfunction in patients on long-term ventilatory support] Gyulladásos markerek és a neuromuscularis funkció zavarának összefüggése tartósan lélegeztetett betegeken. Fiatal Magyar Aneszteziológusok V.Kongresszusa, 2001 május, Sopron
1st prize
5. Molnár T, Zábó K, Schmidt E, Tekeres M. [Novel possibilities in early recognition of cerebral circulatory disorders?] Új lehetőség az agyi keringészavarok korai felismerésében? Dipyridamole teszt a neurológiai diagnosztikában? XXX. MAITT kongresszus, 2000, Siófok, Hungary
1st prize

CHAPTER

Molnar T: Anesthesia - Central nervous disorders, Anesthesiology and Intensive Therapy, (editor: Bogar L), Budapest, Medicina 2009, 271-275.

ACKNOWLEDGEMENTS

I sincerely thank my tutor Zsolt Illés, whose help, stimulating suggestions, concepts and encouragement supported me all the time during my research and writing of the thesis. I very much appreciate his leadership through the wonders of neuroimmunology and biomarker research.

I would like to express my gratitude to my first supervisor Prof. József Czopf (Department of Neurology) and Prof. Miklós Tekeres (Department of Anesthesiology and Intensive Therapy), who encouraged me to take the first steps in clinical research.

I am very grateful to Prof. Lajos Bogár (Department of Anesthesiology and Intensive Therapy), whom I consider my honorary tutor for all the help he has given to me, for always being there when I was in need, for teaching and forming my attitude towards research and life.

I thank Tamás Szakmány for teaching me the principles of statistics and Prof. Sámuel Komoly (Department of Neurology) for his support.

I thank everybody, who contributed to my work with co-operation, encouragement and advices. I especially thank collaborators and staff in the Department of Anesthesiology and Intensive Therapy, Department of Neurology, Department of Medical Microbiology and Immunology, Department of Laboratory Medicine and Department of Immunology and Biotechnology.

At last, but not at least, I am especially grateful to my family, my beloved wife, son and daughters and my parents, whose love enabled me to complete this work.

1. BEVEZETÉS

I. Biomarkerek

Az ideális biokémiai marker. Bakay és Ward szerint a központi idegrendszer (KIR) ideális szérumban markere agy-specifikus és magas szenzitivitással jelzi az agyszövet irreverzibilis sérülését. Kinetikájára jellemző a rapid megjelenés a szérumban, a rövid felezési idő, valamint az alacsony életkor- és nem függő variabilitás, mely alapján a szérumban koncentráció változásai és a sérülés nagysága között szoros korreláció áll fenn. Megbízható laboratóriumi módszerekkel gyorsan bemérhető, és végül, de nem utolsó sorban a marker változása klinikai relevanciával bír.

A klinikai gyakorlatban egy biomarker mérése számos indikációval történhet. Több tanulmány vizsgálta különböző markerek prognosztikus értékét: (i) infekcióban, (ii) akut fokális agysérülésekben (stroke, zárt koponya trauma), (iii) újraélesztést követő globális hypoxiás agykárosodásban. Egyes biomarkerek diagnosztikus információt is hordoznak, például központi idegrendszeri infekcióban, enyhe koponyatraumában, TIA/minor stroke esetén, amikor a képalkotó vizsgálatok nem elég érzékenyek. Alkalmasként lehetnek rizikóbecslésre, illetve bizonyos terápiák hatékonyságának ellenőrzésére (pl. antibiotikus kezelés, immunmodulátorok, fibrinolysis, terápiás hypothermia etc.). Változásuk a szérumban dinamikusan tükrözi a különböző kiváltó stimulus nagyságát (például bakteriális infekció vagy aspecifikus szövet nekrosis), ennél fogva sorozatos mintavétellel hasznosabb információhoz juthatunk, mint egy egyszeri adat értelmezésével. Végül meg kell jegyezni, hogy jelenleg is intenzív kutatás folyik újabb markerek irányában, hogy az akut központi idegrendszeri sejsérülés kimenetelét nagyobb pontossággal becsülhessük meg.

Központi idegrendszer sérülésének markerei:

Neuron Specifikus Enolase (NSE): a glycolyticus enzimek csoportjába tartozik. Az NSE az idegsejtek cytoplasmájában található és valószínűleg az idegsejt aktivitáshoz kapcsolódó klorid szint emelésében játszik szerepet. A klinikai gyakorlatban az NSE elsősorban tumormarkerként terjedt el a kissejtes tüdőrák, a neuroblastoma és a melanoma esetében.

S100B protein: Ca^{2+} -kötő modulátorfehérjék közé tartozik, mely számos Ca^{2+} -dependens intracelluláris folyamatban vesz részt. Az $\alpha\beta$ és $\beta\beta$ izoformok elsősorban a KIR astroglia sejtjeiben fordulnak elő. A patológiásnak tartott S100 szérumban szint: $>0.2 \mu\text{g/L}$. Úgy gondoljuk, hogy az astrocyták pusztulása vagy az aktivált astrocyták fokozott szekréciója következtében megemelkedik az S100B szint az extracelluláris térben, mely a károsodott vérgyáton keresztül jutva a szisztémás keringésben is mérhetővé válik.

Gyulladásos markerek:

C-reaktív protein (CRP): A máj és adipocyták által termelt akut fázis fehérje. Gyulladásos folyamatokban mindig megemelkedik a szintje, mely arányos a stimulus intenzitásával és a szintézis gyorsaságával. Újabb irodalmi adatok szerint az emelkedett CRP szint független rizikófaktora a stroke/TIA-nak az idős populációban. Akut stroke után 72 órán belül mért CRP független prediktora volt a túlélésnek. Az első post-stroke napon mért CRP és a kedvezőtlen kimenetel közötti összefüggés elemzésekor felhívják a figyelmet, hogy a stroke-ot kísérő akut infekció nem zárható ki. Más szerzők, a kórházi távozáskor mért CRP koncentráció és a klinikai kimenetel között jobb korrelációt találtak.

Procalcitonin (PCT): Fiziológiai körülmények között a calcitonin prohormonja, azonban extrathyreoid eredetű is lehet. Ezt bizonyítja, hogy thyreoidectomizált sepsis betegekben is magas PCT szinteket találunk, miközben a calcitonin szint mérhetően is lehet. A PCT

nemcsak a szepszisnek és az infekció súlyosságának markere, hanem a nem infekciózus eredetű szisztémás gyulladásos válaszreakciónak is indikátora. Eddig nagyon kevesen vizsgálták a PCT szerepét stroke betegekben, annak ellenére, hogy a stroke patofiziológiájában jelentős szerepe van a korai gyulladásos válaszreakciónak.

A leukocyták szerepe akut ischemiás stroke-ban

Már néhány órával a stroke kezdete után leukocytákkumulációt találunk az ischemiás régióban. Ez arányos az infarktus nagyságával és a kedvezőtlen klinikai kimenetellel. Pozitív korrelációt találtak a perifériás vérben bekövetkező leukocytosis és a stroke volumen illetve súlyosság között is. Mások leukocytosis nélkül is fokozott fehérvérsejt aggregációt észleltek súlyos stroke-ban. In vitro tanulmányok is megerősítették a leukocyták fokozott aktivációját és adhesív tulajdonságainak megváltozását, feltehetően a szimpatikus idegrendszeri hatásra. Emellett, a keringő cytokinek és proteázok szintjének emelkedése kíséri minden akut cerebrovascularis eseményt (TIA/stroke). Miközben, az idézett eredmények elsősorban a leukocytákkaktiváció káros hatásairól szólnak, nem szabad elfeledkezni, hogy a patogének elleni küzdelemben az immunrendszer első vonalát a leukocyták képezik, aktivációjuk hasznos az infekció leküzdésében. A szisztémás leukocytákkaktiváció és annak vizsgálata tehát lényeges információt adhat, a magas mortalitásért felelős, post-stroke infekció előrejelzése szempontjából.

Leukocytákkantiszedimentációs hányados (LAR): A szisztémás leukocytákkaktiváció mérésére egy nagyon egyszerű laboratóriumi tesztet alkalmaztunk, melynek során a Westgren csőben történő mozgását vizsgáltuk a fehérvérsejteknek az egy órás teljes vér gravitáció alatt. Definíció szerint, a LAR a teljes vér egy órás gravitációs szedimentációjának végén, a véroszlop közepvonalán áthaladt (aktivációjukkal arányban felfelé mozgó) leukocytákkarányát fejezi ki százalékban. Ehhez a véroszlop felső és alsó felének szeparált leukocytaszám meghatározása szükséges az egy órás ülepités elteltével, majd egy egyszerű matematikai képlet segítségével a LAR kifejezhető ($\text{felsőWBC} - \text{alsóWBC} / \text{felsőWBC} + \text{alsóWBC} \times 100 = \text{LAR}\%$).

Az „agyi eredetű” nátriuretikus peptid N-terminális prohormonja (NT-proBNP): A nátriuretikus peptidek (NP) fontos szerepet játszanak a szervezet cardiovascularis és folyadék homeosztázisának szabályozásában. A pangásos szívelégtelenség, a szívinfarktus és a szeptikus sokk által okozott pumpafunkciózavar prediktorának bizonyult a plazmában mért magas NP szint. A pro-BNP a kamrai myocytákk„endocrin” funkciójának a terméke, termelődését a kamrafal feszülése indukálja. A keringésben, a biológiailag aktív hormon leválasztása után visszamaradó N-terminális peptid szakasz könnyen mérhető markert jelent. Mivel a szívelégtelenség BNP- illetve NT-proBNP-vezetett terápiája csökkentette a kardiális események számát, egyúttal a mortalitást is kedvezően befolyásolta, ezért a marker szeptikus betegek miokardiális diszfunkciójának illetve prognózisának tekintetében is prediktor lehet. Újraélesztett betegekben a szeptikus szövödmények korai felismerésében szerepét még nem vizsgálták.

II. Az akut agysérülés vizsgált fajtái:

Tranziens Ischemiás Attack (TIA): A stroke tüneteivel és klinikai jeleivel járó akut neurológiai esemény, mely azonban 24 órán belül teljesen regrediál; háttérben átmeneti agyi ischemia áll. Amennyiben nem kezdik meg a preventív kezelést, nagy eséllyel alakul ki definitív stroke (25%-al nagyobb valószínűség 90 napon belül).

Stroke: Világszerte magas incidenciával van jelen, az iparosodott államokban pedig a harmadik vezető halálok. A túlélő betegekben is gyakran alakul ki tartós életminőség romlás. Hazánkban évente 40-50.000 kórházi felvétel történik stroke miatt, a régióban magasnak számító mortalitási adatokkal. A post-stroke szövödmények között első helyen állnak az

infekciók (különösen a tüdőgyulladás és a húgyuti gyulladás), melyek hozzájárulnak a kedvezőtlen klinikai kimenetelhez és a stroke-ot követő korai immunválasz defektusára utalnak. Mind az ősi-, mind az adaptív immunitás (deficiens leukocyták aktivációja illetve T sejt hiány) zavarát ki lehet mutatni az akut ischémiás stroke-ot követően 12 órán belül.

Perioperatív kognitív diszfunkció (POCD): Az anesztézia és a sebészeti technika fejlődése révén a POCD csökkenését várhatnánk, ezzel szemben egyre több idős, számos társbetegséggel élő ember kerül műtetre, így végsősoron a statisztika nem az előzetes várakozást igazolta. A POCD heterogén tünetcsoport, mely magában foglalja a jól definiált stroke-ot és a kevésbé pontosan körülírt postoperatív delíriumot, a kognitív zavarokat és a depressziót. Elhúzódó POCD gyakran fordul elő szívsebészeti beavatkozás után, azonban ritkán méri a rutin klinikai gyakorlatban. A 'nem-kardiális' nagy sebészeti beavatkozások után pedig nem kap elég figyelmet, bár a kognitív diszfunkció incidenciája műtét típusától függően 1% és 60% között van.

Post-cardiac arrest szindróma (PCAS): A sikeres újraélesztés után a funkcionális kimenetel és az életminőség fő meghatározója az agy intaktsága. Fontos lenne a prognózis megbízható becslése. A károsodott idegrendszeri struktúrák helyreállása vagy helyre nem állása alapján a neurológiai diszfunkció spektruma ez enyhébb fogyatékoságtól az agyhalálig terjedhet. A súlyosan fogyatékos túlélők, nemcsak a magasán kvalifikált intenzív osztályos ellátásra, hanem az egész egészségügyi rendszerre, egyúttal a társadalomra is nagy terhet rónak. Ezért a diagnosztika és a prognosztika fejlődése kívánatos, melyre egyebek mellett, biokémiai markereket is használunk. Számos tanulmány igazolta a neuron specifikus enoláz (NSE) hasznát a mortalitás és a kedvezőtlen kimenetel előrejelzésére. Emellett az S100B bizonyult hasznos markernek. Érdekes módon, a nem agyi eredetű PCT a kórházon kívüli sikeres újraélesztettekben az S100B-hoz hasonló szenzitivitással és specificitással jelezte előre a kimenetelt, ezáltal a hypoxiás agyi inzultus kiegészítő markere lehet. Továbbra is nagy igény mutatkozik olyan biomarkerek vagy azok kombinációja után, melyek a szövetsérülés okozta aspecifikus gyulladásos válaszreakciót képesek elkülöníteni az infekciótól, javítva a poszt-reszuscitációs ellátás minőségét.

2. CÉLKITŰZÉSEK

I. Az ősi immunválasz szerepének vizsgálata akut ischémiás stroke-ban és post-stroke infekcióban

A cerebrovasculáris betegségeket, így az akut ischémiás stroke-ot is változatos immunológiai válaszreakció kíséri. A magas incidenciával előforduló infekciós szövődmények valószínűleg az immunrendszer károsodott működéséből adódnak. Ezért órákkal a stroke/TIA tüneteinek kezdete után, az „ősi immunitást” jellemző különböző biomarkerek prediktív értékét vizsgáltuk a post-stroke infekció és a funkcionális kimenetel szempontjából. Próbáltunk olyan markert találni, mely megbízhatóan előrejelzi azt a stroke populációt, akik fogékonyabbak a később kifejlődő infekciókra.

Ezért vizsgáltuk, hogy:

1. Mi az összefüggés a fehérvérsejtek aktivációja és a post-stroke infekció között?
2. Függ-e a post-stroke leukocyták aktivációja az ischémia időtartamától és az infarctus nagyságától?
3. Előrejelezhető-e egyszerű tesztekkel a fogékonyság a post-stroke infekcióra és becsülhető-e a kimenetel?
4. A különböző időpontokban mért leukocyták aktiváció mutat-e különbséget akut ischémiás stroke-ban és TIA-ban?

5. A sorozatban mért leukocita aktiváció eltér-e azokban a stroke betegekben, akiknél később infekció alakul ki?
6. Van-e statisztikai összefüggés a fehérvérsejt aktiváció nagysága és a funkcionális kimenetel között?
7. Különbözik-e a hsCRP szintje az akut ischémias stroke, a TIA és egészséges kontrollok plazmájában?
8. Különbözi-e a hsCRP az első stroke inzultus és a visszatérő stroke szubpopuláció plazmájában?
9. Van-e statisztikai korreláció a plazma hsCRP és a tünetek súlyosságát jellemző NIHSS pontszám között?
10. Van-e összefüggés az atherogenesis gyulladáshoz kapcsolódó hsCRP és a fehérvérsejtek által mediált gyulladáshoz kapcsolódó válasz között?
11. A hsCRP mutat-e különbséget annak függvényében, hogy mely stroke betegeknek lesz infekciója?
12. Van-e kapcsolat a hsCRP és az akut ischémias stroke kimenetele között?
13. Mi a legjobb hsCRP küszöbérték, mely előre jelzi az infekciót akut ischémias stroke után?
14. Megkíséreltük a citokin termelésben és az adaptív T-sejt válaszáért felelős ősi lymphocita populációk citotoxicitásában bekövetkező eltéréseket vizsgálni akut stroke-ban.
15. Érintettek-e az ősi immunrendszer sejtjei, köztük a CD3⁺CD56⁺ NKT-szerű sejtek akut ischaemiás neurológiai eseményekben?

II. Szívbetegben intravénás dipyridamole (DP) terhelés alatt bekövetkező tranzienst neurológiai jelek és az agyi eredetű biomarkerek szérumszintjének vizsgálata

Intravénás infúzióban beadott DP rövid ideig (percekig) tartó, reverzibilis neurológiai deficitet provokálhat magas rizikójú vaszkuláris betegekben, mely agyi SPECT vizsgálattal detektálható. A teszt alkalmazásával kiválasztott betegek korai prevenciójával a fenyegető cerebrovaszkuláris esemény potenciálisan kivédhető. A következő kérdésekre kerestük a választ:

16. A DP-stressz befolyásolja-e a biomarkerek (S100B, NSE, hsCRP) szintjét?
17. Milyen gyakran fordulnak elő tranzienst neurológiai jelek (TNS) DP-stressz alatt?
18. A biomarkerek és a TNS képesek-e előre jelezni manifeszt cerebrovaszkuláris eseményt: milyen incidenciával fordul elő új cerebrovaszkuláris esemény az emelkedett biomarker szint és/vagy a DP stressz által provokált TNS alapján szelektált rizikócsoportban 7 éves utánkövetés alatt?

III. Endothel és vérlemezké aktivációs markerek vizsgálata nem-szívsebészeti nagy műtéten átesett betegekben a posztoperatív kognitív deficit (POCD) előrejelzésére

POCD gyakori komplikáció szív- és tüdőműtétek után. A posztoperatív kognitív zavaroknak kisebb irodalma van a nem szívsebészeti műtétekkel kapcsolatban.

Ezért vizsgáltuk:

19. A POCD incidenciáját tüdőműtétek után a PTE Mellkassebészeti Osztályán.
20. Alkalmazható-e a Mini Mental State (MMS) vizsgálat a POCD felismerésére?
21. Vannak-e olyan biomarkerek, melyek a tüdőműtétek után kialakuló kognitív zavarokért felelős immuno-endothelialis diszfunkciót tükrözik?
22. Van-e a perioperatív (pre- és posztoperatív) időszakban prediktív markere a POCD kialakulásának tüdőműtétek után?

IV. Biomarker vizsgálatok sikeresen újraélesztett betegekben

Számos klinikai tanulmány szerint, a nátriuretikus peptid hormonok a kardiális diszfunkció és a mortalitás prediktorai kritikus állapotú betegekben. Tudomásunk szerint mostanáig nem történt vizsgálat, mely az NT-proBNP és a PCT közötti összefüggést elemezte volna, kórházban sikeresen újraélesztett betegek szeptikus szövődményeit illetően. Ezért az S100B, PCT és NT-proBNP szérumszintjének változását vizsgálva a reanimációt követő első 72 órában a következő kérdésekre kerestük a választ:

23. Van-e összefüggés a szív megállás fajtája (kamrafibrilláció vagy asztolia/PEA) és a biomarkerek (PCT, S100B és NT-proBNP) plazmaszintje között?
24. A sorozatban mért markerek kinetikája mutat-e különbséget a később szeptikussá váló sikeresen újraélesztett betegekben?
25. Van-e összefüggés a mért markerek és a klinikai kimenetel között?

3. VIZSGÁLATOK

I. AZ ŐSI IMMUNVÁLASZ VIZSGÁLATA AKUT ISCHÉMIÁS STROKE-BAN ÉS POST-STROKE INFEKCIÓBAN

1. Az elégtelen leukocita antiszedimentáció összefügg a poszt-stroke infekciók kialakulásával és a kedvezőtlen kimenetellel

A stroke betegek fertőzések iránti fokozott fogékonysága az immunválasz korai érintettségét veti fel. Az irodalomban ismert a poszt-stroke "immunparalízis" fogalma. Akut ischaemiás cerebrovaszkuláris események (TIA/stroke) kapcsán vizsgáltuk a leukocytaktivációt, valamint annak összefüggéseit az ischaemia időtartamával és az infarktus nagyságával. Vizsgáltuk továbbá az elégtelen leukocytaktiváció és a poszt-stroke infekciók, valamint a rossz kimenetel közötti esetleges kapcsolatot. A leukocyták szisztémás aktivációjának mérésére az ú.n. leukocyt antiszedimentációs rátát (LAR) alkalmaztuk, majd a kapott értékeket korreláltattuk a különböző klinikai és laboratóriumi paraméterekkel. A LAR-teszt kivitelezése a süllyedés (Westergreen) méréséhez hasonló módon történik, a ráta kiszámításához a leukocytaszám meghatározása is szükséges. A kimenetel, és a poszt-stroke infekciókra való fogékonyság korai prognosztizálására alkalmas egyszerű, a betegágyánál kivitelezhető vizsgálatok tesztelése is célunk volt.

A szisztémás leukocytaktivációt jellemző LAR érték sorozatos mérésére került sor, a stroke-ot, illetve TIA-t követő több időpontban, majd korreláltattuk az infarktus nagyságát jelző S100B vérszintekkel, az infekcióra utaló procalcitonin-szintekkel, valamint a kimenetellel. 61 egészséges kontroll személytől, és összesen 49 akut ischaemiás eseményen átesett betegtől (38 akut ischaemiás stroke- és 11 TIA-betegtől) gyűjtöttünk vérmintákat a vizsgálatokhoz. A TIA betegek szelektálása retrospektív módon történt (a tünetek 24 órán belül regrediáltak, a képalkotó vizsgálat eredménye negatív volt). A betegektől a tünetek fellépésétől számítva 6 órán belül, majd 24 és 72 óra múlva vettünk perifériás vért. A LAR értékei a későbbi poszt-stroke infekciók kialakulásától függetlenül szignifikánsan magasabbak voltak a 6 órás mintákban akut ischaemiás történésekben. Mindemellett a LAR lassabban, és kevésbé emelkedett TIA-ban a definitív stroke-hoz képest. Emellett, pozitív korrelációt észleltünk ischaemiás stroke-ban 72 óra elteltével a LAR és az S100B értékei között. Mindkét eredmény a szövetkárosodás nagysága és az ősi immunválasz mértéke közötti összefüggést jelzi. Ezen túlmenően akut ischaemiás stroke-ban, poszt-stroke infekció kialakulása és a kedvezőtlen klinikai kimenetel (alacsony GOS érték) esetén a LAR korai emelkedésének elmaradását észleltük.

Eredményeink szerint az emelkedett LAR által kifejezett korai, fokozott leukocytaktiváció jellemző az akut ischaemiás cerebrovaszkuláris eseményekre. TIA-ban a LAR és a leukocytaktiváció kisebb mértékű és lassabb, mint definitív stroke-ban. Eredményeink azt támasztják alá, hogy az eddig kifejezetten károsnak tekintett akut leukocytaktivációnak szerepe van a poszt-stroke infekciók elleni védelemben. A leukocytaktiváció hatása kettős: a központi idegrendszerben lokális károsodáshoz vezethet, azonban a szisztémás aktiváció fontos a poszt-stroke infekciók megelőzése szempontjából. A nem megfelelően szabályozott korai immunválasz vagy elégtelen leukocytaktiváció, a fertőzések iránti fokozott fogékonysághoz vezethet stroke-betegekben.

2. Akut ischémiás stroke után, a korai és a késői CRP emelkedésért különböző patológiai folyamatok felelősek

Aspecifikus gyulladási válaszreakció alakul ki stroke után, melynek súlyossága befolyásolja a kimenetelt. Célunk a CRP és a szisztémás fehérvérsejt aktivációt jellemző LAR közötti összefüggés vizsgálata volt, hiszen a leukocyták képezik a szervezet első védelmi vonalát az infekciókkal szemben. Az infarktus nagyságát az S100B protein mérésével jellemeztük. Összesen 49 akut cerebrovaszkuláris esemény (akut ischémiás stroke/TIA) kapcsán vizsgáltuk az ősi immunválasz és a kimenetel közötti összefüggést.

A kórházi felvételnél mért (bazális) hsCRP szignifikánsan magasabb volt akut stroke-ban, mint egészséges kontrollokban illetve magasabb volt visszatérő stroke eseményben, mint az első stroke-ot elszenvedőkben. Az emelkedett bazális hsCRP pozitív korrelációt mutatott az infarktus nagyságával, de nem korrelált a később kialakult post-stroke infekcióval. Viszont gyakrabban alakult ki infekció és rosszabb volt a kimenetel azokban a betegekben, akiknél emelkedett 72 órás hsCRP szintet és a LAR emelkedésének hiányát észleltük. Ezért, a késői hsCRP emelkedést a szubklinikus infekció korai jelének tartjuk, melynek hátterében a szisztémás leukocytaktiváció zavara állhat. Vagyis a korai (6 órán belüli) és a késői (72 órán túli) CRP emelkedés különböző patológiai folyamatokat jelez akut ischémiás stroke-ban.

Eredményeink azt mutatják, hogy egyszerűen elvégezhető tesztekkel (LAR és hsCRP) feltehetően előre jelezhető, hogy mely stroke betegek hajlamosak infekciós szövődésre, és egyúttal becsülhető a rosszabb prognózis.

3. Az ősi immunrendszer T sejtjei és az NK sejtek funkciója károsodott akut ischaemiás stroke-ban

Míg akut ischaemiás stroke-ban, a korai halálhoz elsősorban az elszenvedett neurológiai lézió vezet, a posztakut fázisban fertőzőes komplikációk, főleg tüdőgyulladás és húgyúti infekciók dominálnak, és járulnak hozzá a kedvezőtlen kimenetelhez. A fertőzések iránti fokozott fogékonyság stroke-ban az immunválasz korai érintettségét veti fel. Az eddig elvégzett kevés számú állatkísérletes és humán vizsgálat elsősorban az adaptív immunrendszer T sejtjeire fókuszált. Tanulmányunkban az ősi immunrendszer sejtjei, illetve az ősi és az adaptív immunrendszert összekötő, azok határán álló T sejtek akut változásait állítottuk vizsgálataink középpontjába. Ezen sejtek közös tulajdonsága, hogy nagy mennyiségű citokin gyors termelése vagy a citotoxicitás révén vesznek részt az immunválasz szabályozásában. Vδ2 T sejteket, CD3⁺CD56⁺ natural killer T (NKT)-szerű sejteket, valamint CD3⁻CD56⁺ természetes ölő (NK) sejteket vizsgáltunk. Flow citométerrel mértük a sejt számot, a citokintermelést, az intracelluláris perforin és a felszíni Fas ligand (FasL)

expressziót 28 akut ischaemiás stroke-ot elszenvedett beteg perifériás vérében a tünetek kezdetétől számított 6 órán belül, majd 72 óra múlva. Ezen időpontokban az NK sejtek citotoxicitását is vizsgáltuk nem radioaktív, kolorimetriás citotoxicitás esszével. A fenti két időpontban mért eredményeket egymással, valamint 20 egészséges kontroll személy hasonló módon mért adataival hasonlítottuk össze.

A V δ 2, NKT-szerű és NK sejtek száma a stroke-ot 6 illetve 72 órával követően nem változott, és hasonló volt az egészséges egyénekből mért sejtszámokkal. Ezzel szemben a V δ 2, NKT-szerű és NK sejtek gyulladáskeltő, intracelluláris IFN- γ expressziója, valamint a szeparált NK sejtek IFN- γ termelése a 6 órán belüli mintákban alacsony volt, majd a stroke-ot követően 72 órával érte el az egészségesekben mért szintet. A gyulladásgátló IL-4, IL-5 és IL-10 citokinek termelése nem változott NKT-szerű és NK sejtek esetében. Valamennyi vizsgált sejt intracelluláris perforin expressziója, továbbá az NK citotoxicitás a stroke tünetek kezdetétől számított 6 órán belül alacsony volt, majd 72 óra elteltével normalizálódott.

Eredményeink szerint, akut ischaemiás stroke-ban zavart szenved a V δ 2, NKT-szerű és NK sejtek pro-inflammatórikus és citotoxikus immunválasza, mely szerepet játszhat a poszt-stroke fertőzések iránti fokozott fogékonyság kialakulásában. Ugyanakkor a V δ 2 T sejtek IFN- γ termelésének emelkedése a 3. napra korrelál a klinikai javulás mértékével, mely a spinalis sérüléshez hasonlóan a gyulladáskeltő immunválasz neuroregenerációban játszott szerepére utalhat.

4. Az immunválasz és a neuroimmun moduláció szerepe az akut ischaemiás stroke és a post-stroke infekció patogenezisében

Az akut kezdettel járó cerebrovaszkuláris betegségek számos, különböző immunológiai változással állnak kapcsolatban. Immunológiai folyamatok fontos szerepet játszanak a stroke-ot megelőző érfali plakkok kialakulásában, meghatározóak azonban a stroke-ot követően is, két fő módon: a post-stroke immunválasz egyrészt az agyban a szöveti sérüléshez járul hozzá, a stroke azonban a szisztémás immunválaszra is hatást gyakorol, mely több következménnyel jár. Az idegrendszer és immunrendszer között fennálló egyensúly megbomlása miatt idegrendszeri deprimáló hatások érik az immunrendszer elemeit, és kialakul a CIDS (*central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome*). A CIDS kettős hatása: csökkenti a szisztémás immunválasz hatékonyságát és így növelheti a fertőzésre való hajlamot – a post-stroke infekció okozza a stroke-on átesett betegek halálozásának nagy százalékát –, másrészt véd az infarktus területéből felszabaduló agyszöveti antigénekre adott autoimmun folyamatok ellen.

Az új terápiás lehetőségek kutatásaiban az idegrendszer-immunrendszer, e finoman regulált folyamatainak összessége és a post-stroke infekció mortalitásra gyakorolt hatása fontos szempont lehet.

II. SZÍVBETEGEK BEN, INTRAVÉNÁS DIPYRIDAMOLE (DP) TERHELÉS ALATT BEKÖVETKEZŐ TRANZIENS NEUROLÓGIAI JELEK ÉS AZ AGYI EREDETŰ BIOMARKEREK SZÉRUM SZINTJÉNEK VIZSGÁLATA

1. Dipyridamole stressz teszt az agyi keringészavarok korai felismerésében?

A tranziens ischaemiás attackok felismerése javarésztben a beteg elmondása alapján történik, hiszen a tünetek gyakran rövid ideig tartanak. Korunk egyik progresszíven fejlődő

diszciplínája, a nukleáris medicina gyakorlói eredményes kísérletet tettek a múltó jellegű agyi ischaemia egyes fotonemissziós tomográfia (SPECT) által történő detektálására, sőt a vizsgálat érzékenységének fokozására provokációs eljárást dolgoztak ki. Az intézetükben végzett kardiológiai indikációjú dipyridamol (DP) teszttel kombinált szívizomperfúziós SPECT-vizsgálatok (n = 100) során a betegek 23%-ában (n = 23) változatos lokalizációjú, átmeneti neurológiai tüneteket (TIA) észleltünk. Ezen gyakoriság jelentősebb, mint az irodalomban eddig közölt adatok (1.22/10.000), melynek háttérében az állhat, hogy a terhelés során neurológiai fizikális vizsgálat is történt. A „TIA-pozitív” betegeket ezért további vizsgálatoknak vetettük alá oly módon, hogy a DP terhelést agyi SPECT-vizsgálattal kombináltuk. Munkánk célja a DP terhelés során jelentkező átmeneti neurológiai tünetek és a kimutatható agyi vérátáramlás-eltérések közötti összefüggés tanulmányozása volt. Hangsúlyozzuk, hogy valamennyi TIA-pozitív betegnél, az agyi SPECT is pozitívnek bizonyult, közöttük a topográfiai egybeesés jónak mondható. Eredményeink arra hívják fel a figyelmet, hogy koronária betegekben a dipyridamol-teszt múltó jellegű agyi ischémiát válthat ki, ezért agyi SPECT-vizsgálattal kombinálva szerephez juthat a neurológiai a cerebrovaszkuláris események korai diagnózisában és megelőzésében.

2. “Cerebrovaszkuláris stressz teszt”: a dipyridamole indukálta S100B emelkedés és tranziens neurológiai jelek előrejelzik az ischémiás cerebrovaszkuláris eseményeket

A tanulmány alapvetően két részből áll:

1. Prospektíven az S100B szérumszintjét hasonlítottuk össze az akut ischémiás stroke korai (6 órán belül) szakában illetve spontán TIA-ban, valamint koronária betegek két csoportjában, aszerint, hogy a dipyridamole (DP) indukált-e tranziens neurológiai jeleket (TNS).

2. Retrospektíven elemeztük, hogy a klinikai kép (DP által provokált tünetek és kórjelek) és az S100B protein emelkedése, hogyan függ össze a 7 éves utánkövetés során a friss cerebrovaszkuláris események bekövetkezésével azokban a szívbetegben, akik 7 évvel ezelőtt DP terhelésen estek át. Azt találtuk, hogy a bazális hsCRP szint, - mely önmagában jó prediktora a manifeszt stroke/TIA bekövetkeztének – nem mutat összefüggést a DP indukálta TNS-el, ezzel szemben az S100B protein, feltehetően a vér-agy gát átmeneti zavar miatt mérhetővé válik a szisztémás keringésben. DP indukálta TNS esetén, a koronária betegek szérumában mért S100B mediánja hasonló volt, mint az akut stroke/spontán TIA korai szakában mért érték, viszont szignifikánsan különbözött a gyógyszeres terhelés során TNS-t nem mutató szívbetegétől.

7 éves követés eredménye: Manifeszt agyi ischémiás esemény a betegek 48%-ban fordult elő 7 év alatt. A DP indukálta TNS csoportban kétszer olyan gyakorisággal fordult elő cerebrovaszkuláris esemény, mint a TNS negatív csoportban (64% vs. 30%). Az összes cerebrovaszkuláris esemény szignifikánsan gyakoribb volt azokban a betegekben, akiknél a DP terhelést követő 60 perces szérumszintben az S100B emelkedett volt (cut-off érték: $S100B \geq 0.11 \text{ ng/ml}$). Az életkor, nem és társbetegségek figyelembevételével történt többszörös regressziós analízis azt mutatta, hogy ha a DP indukálta $S100B \geq 0.11 \text{ ng/ml}$, a manifeszt ischémiás cerebrovaszkuláris esemény bekövetkezésére a kockázat 70-szeres a 7 év utánkövetés alatt.

Mivel a DP terhelést kardiológusok végzik, a TNS gyakran nem kerül felismerésre. Ezért a DP terhelés után 1 órával mért S100B, szenzitív kiegészítő marker lehet a cerebrovaszkuláris szempontból fenyegetett rizikócsoport szűrésére, lehetőséget teremtve a korai prevenció megkezdésére. Másrészt a szívsebészeti műtétre kerülő manifeszt koronária betegek műtéti előkészítésekor is több figyelmet kaphat a stroke megelőzése. Ilyen

értelemben beszélhetünk a “szív terhelés” analógiájára a “cerebrovaszkuláris terhelés” klinikai hasznáról.

III. ENDOTHEL ÉS VÉRLEMEZKE AKTIVÁCIÓS MARKEREK VIZSGÁLATA NEM-SZIVSEBÉSZETI, NAGY MŰTÉTEN ÁTESETT BETEGEKBEN A POSZTOPERATÍV KOGNITÍV DEFICIT (POCD) ELŐREJELZÉSÉRE

1. A vérlemezke és az endothel aktiváció bizonyos markerei már a műtét előtt előrejelzik a POCD kialakulására való fogékonyságot

Rövid távon a POCD incidenciája kiemelkedően magas (33-83%). Szívműtéteket követően, elsősorban a “szívmotorral” hozták összefüggésbe, azonban gyakori és súlyos szövődményként jelentkezik tüdő műtéteket követően is, ahol az előbb említett kársosító tényező nem jön szóba.

Tanulmányunk célja olyan immuno-endotheliális biokémiai markerek vizsgálata volt, melyek a neuro-psihiátriai eltérések hátterében álló ischémiával kapcsolatba hozhatók, és segítséget nyújthatnak a POCD korai felismerésében. A szolubilis P-selectin (sP-selectin), a szolubilis vaszkuláris sejt adhéziós molekula-1 (sVCAM-1), a monocyta kemoattraktáns protein-1 (MCP-1), a szolubilis CD40 ligand (sCD40L), a szöveti plazminogén aktivátor (tPA), az interleukin-6 (IL-6), az interleukin-8 (IL-8), az S100B és a magas szenzitivitású C-reactive protein (hsCRP) szintjét vizsgáltuk 35 elektív tüdő műtéten átesett betegben. A POCD diagnosztikájára a Mini Mental Status tesztet (MMS) és a fizikális vizsgálatot használtuk. Kizártuk a neurológiai és psihiátriai előzménnyel terhelt betegeket illetve a preoperatív kognitív zavarral rendelkezőket (MMS teszt <24). Az önmagában is S100B emelkedést okozó melanoma malignum is kizárási tényező volt. Valamennyi biomarker mérése megtörtént a műtét előtti- és a második posztoperatív napon. Ugyanígy az MMS teszt is rögzítésre került (MMS₀ és MMS₄₈). POCD definíciója: amennyiben az MMS teszt pontszámának csökkenése >3 volt a “baseline” értékhez képest. POCD 9 betegben alakult ki 48 órán belül (25.7 %). A “baseline” MMS pontszám nem mutatott különbséget a POCD és POCD nélküli betegekben. Az MMS₄₈ értelemszerűen alacsonyabb volt a POCD csoportban

A biomarkerek közül, a sCD40L, sP-selectin, sVCAM-1, MCP-1 már a preoperatív szakban szignifikánsan magasabb volt és az is maradt a posztoperatív második napon, azokban a betegekben, akiknél a műtét után POCD alakult ki.

Feltételezzük, hogy az endothelium és a vérlemezkek érzékenyebben vesznek részt a tumor ellenes immunválasz során a betegek egy bizonyos csoportjában. Ez a fokozott endothel és vérlemezke aktiválódás már a preoperatív időszakban megteremtheti az alapját a fokozott leukocita aktiváció és transzmigráció számára, mely a vér-agy gát zavarához illetve regionalis agyi ischémiához vezetve POCD klinikai képében manifestálódhat. A fenti markerek preoperatív mérése előrejelezheti a POCD kialakulására való fogékonyságot nagy sebészeti beavatkozások után. A rizikócsoport fokozott monitorozásával, a POCD korai felismerésével és elhárító lépések (hypoxia, infekció kezelése, medikáció megkezdése etc.) megtételével a morbiditási adatok és a kórházi ápolási napok száma is talán csökkenthető lehet. Mindezentúl gyakorlati haszna lehet, hogy segít a műtéti rizikótényezők feltérképezésében, így a nem-sebészeti onkológiai kezelés helyes indikációjának felállításában.

IV. BIOMARKER VIZSGÁLATOK SIKERESEN ÚJRAÉLESZTETT BETEGEKBEN

1. A szérumban mért S100B és a procalcitonin (PCT) szerepe sikeresen újraélesztett betegekben

Az S100B prognosztikus szerepe az újraélesztett betegek neurológiai kimenetele szempontjából az irodalomban jól dokumentált. A nem SIRS eredetű, inkább az agyi sejtérüléssel összefüggésbe hozható PCT szint változás vizsgálata informatív lehet. Ezért tanulmányunk célja az volt, hogy a szív-megállás etiológiájától függetlenül összehasonlítsuk az S100B és PCT szérumban mért szinteket az első 72 órát túlélő és nem túlélő újraélesztett betegekben.

Összesen 20 kórházon kívül illetve kórházon belül reszuscitált beteget vizsgáltunk. A kardiopulmonális reszuscitáció és a posztreszuscitációs kezelési elvek az Európai Reszuscitációs Társaság „Advanced Life Support” (ALS) protokollja szerint történt. Neurológiai betegvizsgálat és sorozatos biomarker (S100B, PCT) vizsgálat történt az intenzív osztályra történő felvételkor (t_0), 24 óra múlva (t_{24}) és 72 óra múlva (t_{72}). A biomarker szinteket összehasonlítottuk a 9 túlélő (T) és 11 nem túlélő (NT) betegben. Más tanulmányokkal összehangban, a szérumban mért S100B magasabb volt az NT csoportban jelezve az újraélesztés kapcsán elszenvedett súlyosabb anoxiás agykárosodást, azonban a különbség statisztikailag nem volt szignifikáns ($p=0.06$), valószínűleg a kis esetszám miatt. Ezzel szemben a PCT szérumban mért szintje nagyon hasonló volt valamennyi vizsgált időpontban a két csoportban. Érdekes módon, szignifikáns negatív korrelációt találtunk a PCT (t_{24}) és az anoxia idő között ($p<0.01$), azonban hasonló összefüggést nem találtunk az S100B vonatkozásában.

Annak eldöntésére, hogy a fenti biomarkerek együttes követésének milyen szerepe lehet az újraélesztett betegek prognózisát illetően nagyobb esetszámú tanulmány szükséges.

2. NT-proBNP, mint az újraélesztést követően kialakuló szepszis korai markere

A közvetlen posztreszuscitációs fázist az egész test ischémiá/reperfúziós szindróma jellemzi, melynek során szisztémás gyulladáshoz vezetődő válaszreakció észlelhető immunológiai eltérésekkel és következményes infekciókkal. Újabban, a nem központi idegrendszeri eredetű PCT-t kórházon kívüli újraélesztés kapcsán ugyanolyan szenzitívnek és specifikusnak találták a neurológiai kimenetel tekintetében, mint az S100B proteint. Másrészt, a szeptikus komplikációk és a kedvezőtlen kimenetel között szoros kapcsolat áll fenn. Újabb irodalmi adatok, az NT-proBNP prognosztikus értékéről számoltak be szeptikus betegek miokardiális diszfunkcióját illetően. Tanulmányunkban az NT-proBNP és PCT lehetséges prognosztikus értékét vizsgáltuk, a korai posztreszuscitációs időszakban bekövetkező szepszis korai felismerése szempontjából.

A krónikus szív- és veseelégtelenségben szenvedő betegeket a tanulmányból kizártuk, mivel ezek önmagukban is felelősek lehetnek az NT-proBNP szintjének emelkedéséért. Ezek után 35 beteget vizsgáltunk. A keringésleállás etiológiája alapján: 25 esetben asystolia/pulzusnélküli elektromos aktivitás (ASYS/PEA) és 10 esetben kamra fibrilláció (VF) miatt történt az újraélesztés. A 28 napos túlélési adatok az ASYS/PEA csoportban szignifikánsan rosszabbak voltak, mint a VF csoportban. Az American College of Chest Physician/Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) konszenzus konferenciájának kritériumai szerint a betegeket szeptikus (S) és nem szeptikus (NS) csoportokba osztottuk. Az ASYS/PEA csoportban 8 beteg vált szeptikussá. A VF csoportban senki sem lett szeptikus. Eredményeink azt mutatták, hogy a szérumban mért NT-proBNP szintje a reanimáció után közvetlenül a PCT-hez hasonlóan szignifikánsan magasabbak voltak azokban a betegekben, akik szeptikussá váltak. Érdekes módon, az ASYS/PEA-S csoportban és a VF csoportban

hasonlóan emelkedett volt a korai NT-proBNP érték, annak ellenére, hogy eltérő patofiziológiai tényezők felelősek érte. Önmagában a VF után észlelhető emelkedett NT-proBNP szint nem meglepő, hiszen a kamrafibrillációt többnyire súlyos ischémia előzi meg. Hasonlóan ahhoz, amikor hirtelen kialakuló akut koronária elzáródásban, prompt NT-proBNP emelkedést írtak le mások.

Újraélesztett betegekben, a szérumban NT-proBNP az intenzív osztályos felvételkor a procalcitoninhoz hasonlóan jelentős emelkedést mutat azokban a betegekben, akik később szeptikussá váltak, ezért monitorozása kiegészítő információval szolgálhat.

4. TÉZISEK

1. A LAR által jelzett szisztémás leukocyte aktiváció órákkal az ischémiás stroke kezdete után bekövetkezik.
2. Habár a leukocyte aktiváció TIA-ban is nyomonkövethető egészségesekhez képest, a definitive ischémiás stroke-ban gyorsabb és markánsabb.
3. A csökkent szisztémás leukocyte aktiváció poszt-stroke infekció kialakulására predisponál, és előrejelzi a rossz kimenetelt.
4. A leukocyta poszt-ischémiás káros szerepéről korábban kialakított elképzelés revideálásra szorul: míg az ischemia által súlytott agyi régiókban megfigyelhető leukocyta infiltráció súlyosbíthatja az infarktust, addig a szisztémás leukocyta aktiváció fontos szerepet játszik a poszt-stroke infekciók megelőzésében.
5. Az infarktus nagysága és az ősi immunválasz közötti kapcsolatra hívja fel a figyelmet az S100B és a LAR között fennálló pozitív korreláció.
6. Akut ischémiás stroke betegek kórházi felvételekor mért CRP (különösen a rekurrens stroke esetén) szignifikánsan magasabb, mint TIA-ban és egészségesekben, jelezve, hogy a CRP az atherotrombózis érzékeny markere, és a kardiovaszkuláris rizikó infekciótól független prediktora.
7. A CRP emelkedése prediktív értékű a rossz prognózis (GOS) és a klinikai kép súlyossága (NIHSS) szempontjából függetlenül a poszt-stroke infekciótól.
8. A korai hsCRP emelkedés és a 72 órás S100B közötti pozitív korreláció a szövetsérülés nagysága és az akut fázis reakció közötti összefüggésre utal.
9. A késői hsCRP emelkedés, melyet csökkent szisztémás leukocyta aktivitás kísér, a post-stroke infekció markere. A 72 órás hsCRP, a deficiens fehérvérsejt aktiváció miatt kialakuló infekció preklinikai jelének tekinthető.
10. A korai (6 órán belüli) és a késői (72 órás) hsCRP emelkedés valószínűleg különböző patológiai folyamatokat reprezentál stroke-ban.
11. Az ősi immunrendszerhez tartozó V δ 2, NKT-szerű és NK sejtek száma nem változik akut ischaemiás stroke-ban, míg korábbi kutatások az adaptív immunrendszer T sejtjei számának csökkenését találták.
12. A változatlan sejtszámokkal ellentétben az ősi immunrendszer limfocitáinak funkcionális deficienciája mutatható ki akut ischaemiás stroke-ban a tünetek kezdetétől számított 6 órán belül: alacsonyabb szintű a gyulladáskeltő citokinek termelése, a perforin expresszió és az NK citotoxicitás, azonban a Th2-es citokinek termelésében valamint a Th2-es immunválasszal összefüggő ICOS expressziójában nincs eltérés. Feltételezhetjük, hogy az immunválasz korai deficienciája vagy nem megfelelő normalizációja alapvetően befolyásolja az infekciók iránti fogékonyságot csakúgy, mint az állatkísérletes modellekben.

13. A V δ T sejtek IFN- γ termelésének normalizálódása korrelál a klinikai javulással, mely a gyulladáskeltő immunválasz neuroregenerációban játszott szerepére utalhat a spinális sérüléshez hasonlóan.
14. A kardiológiai diagnosztikában, a “szívterhelés” során intravénásan beadott dipiridamole (DP) tranziens neurológiai jeleket (TNS) provokálhat, jelezve a cerebrovaszkuláris rendszer érintettségét is. Amennyiben agyi SPECT vizsgálattal kombinálják, a TNS-ért felelős perfúzió zavarok vizualizálhatóak. A “szívterhelés” analógiájára végzett “cerebrovaszkuláris teszt” lehetővé teszi, hogy asymptomás betegekben kezdjük el a primér stroke prevenciót illetve az invazív kardiológiai beavatkozások során nagyobb figyelmet kapjon a cerebrovaszkuláris rendszer perioperatív védelme.
15. A DP teszt kapcsán kialakuló átmeneti neurológiai tünetek (TNS) illetve a szérum S100B csúcskoncentráció és a 7 éves követés során kialakult ischémiás cerebrovaszkuláris esemény között összefüggést találtunk. Mind az emelkedett S100B (≥ 0.11 ng/ml), mind a klinikai jelek szignifikánsan gyakrabban fordultak elő azokban a szívbetegekben, akikben manifeszt stroke/TIA alakult ki 7 éves követés alatt (összes esemény: 75%, TIA: 67 %). A befolyásoló tényezők figyelembevételével végzett regressziós analízis szerint a stroke/TIA-t előrejelző legjobb független prediktor a DP-indukálta S100B emelkedés volt, és 70-szeres kockázatot jelzett 7 év alatt (OR:70).
16. Bizonyos vérlemezke és endothel aktivációs markerek (sCD40L, sP-selectin, sVCAM-1, MCP-1) preoperatív emelkedett szintjét találtuk azokban a tüdő műtéten átesett betegekben akikben POCD alakult ki. A különbség a postoperatív 48. órában is szignifikáns maradt a POCD és POCD nélküli csoportok között. Ezek a molekulák prediktív értékű biomarkerek lehetnek már a preoperatív szakban a POCD-re való fogékonyság előrejelzésében. A rizikó csoport szorosabb monitorozása és a hatékony terápia korai megkezdése révén csökkenthető a postoperatív morbiditás illetve az elfogadhatatlanul magas műtéti rizikó esetén a nem sebészeti onkológiai kezelés felajánlható.
17. A pulzus nélküli elektromos aktivitás (PEA) okozta keringésleállást gyakran hosszú, hypoxiás periódus előzi meg, mely gyulladáshoz vezető markerek (PCT) felszabadulását indukálja. Ezzel szemben kamra fibrilláció (VF) miatt újraélesztett betegekben szignifikánsan alacsonyabb PCT szinteket mérhetünk, szignifikánsan jobb túlélési aránnyal, függetlenül az anoxia és spontán keringés visszatérési időtől, melyet a PEA és VF csoportokban mérhető hasonló S100B értékek jeleznek.
18. Közvetlenül sikeres újraélesztés után mért NT-proBNP szignifikánsan magasabb azokban a betegekben, akik szeptikussá váltak az intenzív osztályon. Az NT-proBNP a PCT-re emlékeztető kinetikát mutat, így hasznos kiegészítő marker lehet a posztreszuszcitációs szakban kialakuló szepszis korai felismerésében.

5. IRODALOM

CIKKEK

1. Molnar T, Zambo K, Schmidt E, Tekeres M. Dipyridamole teszt az agyi keringészavarok korai felismerésében?
Orv Hetil, 2000, 141:2717-2722
2. The In TIME-II Investigators: Intravenous NPA for the treatment of infarcting myocardium early. In TIME-II, a double-blind comparison of single-bolus lanoteplase vs accelerated alteplase for the treatment of patients with acute myocardial infarction.
Eur Heart J, 2000, 21:2005-2013
(*Impakt faktor: 5.153*)
3. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. A szérum S100 β és procalcitonin szintjének prognosztikai jelentősége újraélesztett betegeknél.
Újraélesztés, 2004, 1:51-56
4. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Pusch G, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Deficient leukocyte antisedimentation is related to post-stroke infections and outcome.
J Clin Pathol, 2008, 61:1209-1213
(*Impakt faktor: 2.24*)
5. Molnár T. S100 fehérje meghatározás és szerepe az intenzív osztályon.
Focus Medicinae, 2008, 2:25-31
6. Molnar T, Jakab L, Palinkas L, Molnar FT, Bogar L, Illes Z. Increased levels of baseline biomarkers reflecting platelet and endothelial activation predict early cognitive dysfunction after lung surgery
Eur J Anaesthesiol, 2009, 26:708-10
(*Impakt faktor:1.435*)
7. Molnar T, Papp V, Szereday L, Pusch G, Szapary L, Bogar L, Illes Z. Relationship between C-reactive protein and early activation of leukocytes indicated by leukocyte antisedimentation rate (LAR) in patients with acute cerebrovascular events
Clin Hemorheol and Microcirc, 2009 (in press)
(*Impakt faktor: 0.977*)
8. Peterfalvi A, Molnar T, Pusch G, Szereday L, Illes Z. Impaired function of innate T lymphocytes and NK cells in the acute phase of ischemic stroke.
Cerebrovasc Dis, 2009 (in press)
(*Impakt faktor: 3.041*)
9. Papp V, Molnár T, Illés Z. Az immunválasz és a neuroimmun moduláció szerepe az akut ischaemiás stroke és a post-stroke infekció patogenezisében.
Ideggy Szle/Clin Nursoci, 2009 (in press)
10. Molnar T, Bogar L, Koszegi T, Szakmany T. NT- proBNP: a szeptikus komplikáció korai markere újraélesztett betegeknél.
Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 2009 (in press)

11. Molnar T, Szabo Z, Schmidt E, Barta E, Zambo K, Illes Z. "Cerebrovascular stressing": drug-induced S100B elevation and transient neurological signs predict ischemic cerebrovascular events
Atherosclerosis, 2009 (submitted)

Kumulatív impakt faktor: 12.85
A Tézisekhez kapcsolódó közlemények impact faktora: 7.69

KONGRESSZUSI ELŐADÁSOK, POSZTEREK

1. Molnár T, Nagy F, Czopf J. Brainstem auditory evoked potentials (BAEP), blink reflex (BR) and masseter inhibitory reflex (MIR) examinations in healthy subjects and patients with brainstem lesions. Congress of Clinical Neurophysiology for Eastern European Countries, **1993**, Szczecin, Poland
2. Molnár T, Nagy F, Schneider J, Czopf J. Experiences with computer-analysed blink reflex (BR) and masseter inhibitory reflex (MIR) data obtained from healthy subjects and from patients with brainstem lesions. VIIth European Congress of Clinical Neurophysiology, **1995**, Budapest, Hungary
3. Molnár T, Zámbo K. Agyi SPECT vizsgálatok migrénes betegekben. Migrén Szimpózium, **2000**, május, Pécs
4. Molnár T, Zámbo K, Schmidt E, Tekeres M. Új lehetőség az agyi keringészavarok korai felismerésében? Dipyridamole teszt a neurológiai diagnosztikában? XXX. MAITT kongresszus, **2000**, Siófok, Hungary
5. Molnár T, Bogár L. Gyulladásos markerek és a neuromuscularis funkció zavarának összefüggése tartósan lélegeztetett betegeken. Fialal Magyar Aneszteziológusok V.Kongresszusa, **2001** május, Sopron
6. Molnár T, Zámbo K, Schmidt E, Udvaros E, Bogár L. Dipyridamole stress test for early evaluation of cerebral circulatory disorders. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, **2001**, Napoli, Italy,
Eur J Nuc Med, 2001, 28(8):951-1298. (p1222)
(*Impact factor: 3.464*)
7. Molnár T, Zámbo K, Schmidt E, Bogár L. Initial experince with a pharmacological stress test for early evaluation of cerebral circulatory disorders. European Stroke Conference, 29th May-1st June, **2002**, Geneva, Switzerland,
Cerebrovasc Dis, 2002, 18 (suppl 2):
(*Impact factor: 1.852*)
8. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. Szérum S100B változása gyógyszer indukálta TIA esetén. XXXI. MAITT Kongresszus, **2003** június19-21, Pécs

9. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. Change of S100B in the sera of patients with drug-induced TIA. Biochemical Markers of Brain Damage Congress, 25th-27th September, **2003**, Lund, Sweden
10. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. Changes of biomarkers in the sera of patients with coronary artery disease after drug-induced Transient Ischemic Attack (TIA). European Stroke Conference, 12-15 May, **2004**, Mannheim-Heidelberg, Germany,
Cerebrovasc Dis, 2004, 17 (suppl 5):1-125, p120
(*Impact factor: 2.150*)
11. Molnár T, Kőszegi T, Szakmány T, Bogár L. S100B release in a human model of transient ischemic attack. 6th International Meeting for Brain Energy Metabolism, 21-24 May, **2004**, Heraklion, Crete, Greece
12. Molnár T, Szakmány T, Kőszegi T, Bogár L. A szérum S100B és PCT szint prognosztikai jelentősége újraélesztett betegeknél. Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság XXXII. Kongresszusa, **2004**, május 26-29, Eger
13. Molnár T.: Központi idegrendszeri prognosztizálás újraélesztett betegekben. Budapest Aneszteziológiai Szimpózium, **2005**, február 19, Budapest
14. Molnár T, Zambó K, Szabó Z. Pulse pressure predicts transient myocardial perfusion abnormalities during dipyridamole stress test. Fifth International Congress of The Croatian Society of Nuclear Medicine, May 15-18, **2005**, Opatija, Croatia,
Nucl Med Rev 2005, 8(1):1-86. (p.56)
(*Impact factor:1.097*)
15. Molnár T, Zambó K, Szabó Z. Pulse pressure predicts transient myocardial perfusion abnormalities during dipyridamole stress test. Fifteenth European Meeting on Hypertension, June 17-21, **2005**, Milan, Italy,
Hypertension, 2005, 45 (1055)
(*Impact factor: 6.331*)
16. Molnar T, Koszegi T, Szakmány T. Changes of procalcitonin and S100B after ventricular fibrillation and pulseless electrical activity. 18th ESICM Annual Congress, September 25-28, **2005**, Amsterdam, The Netherlands,
Int Care Med, 2005, 31(Suppl 1):460
(*Impact factor: 3.724*)
17. Molnar T, Bogar L, Koszegi T, Szakmany T. NT-proBNP: a new sepsis marker in patients after cardio-pulmonary resuscitation? 8th Congress of the ERC, May 11-13. **2006**, Stavanger, Norway,
Resuscitation, 2006, 69:96.
(*Impact factor: 2.314*)
18. Jónás A, Szakmány T, Molnár T. Az NT-proBNP és a microalbuminuria szerepe subarahnoidális vérzésben. MAITT Kongresszus, **2006**, Május 18-21, Szeged,
Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 2006, 36(Suppl 1):30.

19. Molnár T, Jónás A, Szakmány T, Bogár L. The role of BNP and microalbuminuria in patients with subarachnoid haemorrhage. 19th Annual Congress of ESICM, 24-27 September, **2006**, Barcelona, Spain,
Int Care Med, 2006, 32(Suppl 1):0888.
(Impact factor: 4.406)
20. Molnár T, Bártai I, Bogár L. Intraoperative SEP monitoring during scoliosis surgery. XXXV. MAITT Kongresszus, május 18 -19, **2007**, Debrecen,
Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 2007, 37(Suppl 1):13.
21. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Increased level of C-reactive protein (CRP) at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte antisedimentation rate and S100b and predicts outcome. 16th European Stroke Conference, Glasgow, UK, **2007**, május 29-június1.
Cerebrovasc Dis, 2007, 23 (suppl 2):63.
(Impact factor: 2.534)
22. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. A rapid elevation in leukocyte antisedimentation rate differentiates acute ischemic stroke from TIA earlier than S100beta. 16th European Stroke Conference, Glasgow, UK, **2007**, május 29-június1
Cerebrovasc Dis, 2007, 23 (suppl 2):64.
(Impact factor: 2.534)
23. Péterfalvi Á, Szereday L, Molnár T, Szapáry L, Pál J, Mikó É, Komoly S, Illés Z. Az adaptív immunválasz akut változásai ischaemiás stroke-ban. A Magyar immunológiai Társaság XXXVI. Vándorgyűlése, Hajdúszoboszló, **2007**. Október 17-19. Magy Immunol/Hun Immunol, 2007, 6:35
24. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Z. A rapid elevation in leukocyte antisedimentation rate differentiates acute ischemic stroke from transient ischemic attack (TIA) earlier than S100b. A Magyar immunológiai Társaság XXXVI. Vándorgyűlése, Hajdúszoboszló, 2007. Október 17-19. Magy Immunol/Hun Immunol, **2007**, 6:35
25. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Z. Increased level of C-reactive protein (CRP) at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte antisedimentation rate and S100b and predicts outcome. A Magyar immunológiai Társaság XXXVI. Vándorgyűlése, Hajdúszoboszló, 2007. Október 17-19. Magy Immunol/Hun Immunol, **2007**, 6:35
26. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Increased level of C-reactive protein (CRP) at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte antisedimentation rate and S100b and predicts outcome. 17th Meeting of the European Neurological Societies, Rhodes, Greece, 2007. június 16-20.
J Neurol, 2007, 254 (Suppl 3):III/57.
(Impact factor: 2.98)

27. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. A rapid elevation in leukocyte antisedimentation rate differentiates acute ischemic stroke from TIA earlier than S100beta. 17th Meeting of the European Neurological Societies, Rhodes, Greece, 2007. június 16-20.
J Neurol, 2007, 254 (Suppl 3):III/143.
(*Impact factor: 2.98*)
28. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Increased level of C-reactive protein (CRP) at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte antisedimentation rate and S100b and predicts outcome. 29th International Danube Symposium, Würzburg, Germany, 2007. Június 2-5.
J Neurol Transm, 2007, 114:CXXIV.
(*Impact factor: 2.93*)
29. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. A rapid elevation in leukocyte antisedimentation rate differentiates acute ischemic stroke from TIA earlier than S100beta. 29th International Danube Symposium, Würzburg, Germany, 2007. Június 2-5.
J Neurol Transm, 2007, 114:CXXIV.
(*Impact factor: 2.93*)
30. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Z. Az ősi immunválasz akut változásai ischaemiás stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság VIII. Konferenciája. Budapest, **2007**. május 24-26.
31. Péterfalvi Á, Szereday L, Molnár T, Szapáry L, Pál J, Mikó É, Illés Z. Az adaptív immunválasz akut változásai ischemiás stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság VIII. Konferenciája. Budapest, **2007**. május 24-26.
32. Molnar T and Illes Z. Increased level of C-reactive protein at onset of acute ischemic stroke correlates with elevation of leukocyte anti-sedimentation rate and S100b and predicts outcome. Pecs-Tübingen Neuroimmunology Days, Pécs **2007**. április 13-14.
33. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Pusch G, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Zs: Korai leukocyte aktiváció vizsgálata akut stroke-ban és annak haszna a post-stroke infekció előrejelzésében. MAITT XXXVI. Kongresszusa, Balatonfüred, **2008**, Május 16 -17, **Aneszteziológia és Intenzív Terápia**, 2008, 38(Suppl 1):10.
34. Molnár T, Péterfalvi Á, Szereday L, Pusch G, Szapáry L, Komoly S, Bogár L, Illés Zs: Post-stroke gyulladáshoz vezető szövődmények etiológiai megközelítése. Immundepresszió vagy iatrogén infekció? MAITT XXXVI. Kongresszusa, Balatonfüred, **2008**, Május 16 -17, **Aneszteziológia és Intenzív Terápia**, 2008, 38(Suppl 1):11.
35. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, Banati M, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Early activation of leukocytes indicated by a simple test of leukocyte antisedimentation rate (LAR) differentiates TIA from definitive stroke and is related to post-stroke infections resulting in poor outcome. 8th Annual Meeting of the Federation-of-Clinical-Immunology-Societies, JUN 05-09, **2008** Boston, MA, USA.
Clin Immunol, 2008, 127 (Suppl):S153

(Impact factor:3.60)

36. Molnar T, Peterfalvi A, Bogar L, Illes Z. Role of leukocyte antisedimentation rate in prediction of early recognition of post-stroke infection. 28th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine, 18-21 March, Brussels, Belgium.
Crit Care, 2008, 12 (Suppl 2):P175
(Impact factor:4.55)
37. Molnár T, Pálincás D, Pisztrai L, Czeiter Endre, Ezer E, Büki A. Effect of different fluid resuscitation on brain tissue oxygen depth in patients with severe traumatic brain injury. 4th Pannonian Symposium on CNS Injury, Pécs, **2008**, szeptember 8-10.
Clin Neurosci/Idegy Szle, 2008,
38. Molnár T, Jakab L, Pálincás L, Molnár FT, Bogár L, Illés Zs. Vérlemezke és endothel aktivációs biomarkerek szerepe a posztoperatív kognitív deficit előrejelzésében. MAITT XXXVII. Kongresszusa, Balatonfüred, **2009**, Május 14 -16.
Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 2009, 38(Suppl 1):11.
39. Molnar T and Illes Z. Early immune response in stroke predicts outcome and post stroke infections. 2nd Pécs-Tübingen Neuroimmunology Days, June 26-27, **2009**, Tübingen, Germany
40. Molnár T, Bánáti M, Szereday L, Pusch G, Szapáry L, Bogár L, Illés Zs. A CRP, korai leukocyte aktiváció és a post-stroke infekció összefüggései akut ischemiás stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság IX. Konferenciája. Pécs, **2009**. szeptember 03-05.

DÍJAZOTT ELŐADÁSOK

1. Molnár T. Biomarkerek vizsgálata akut központi idegrendszeri inzultusokban. Környey Társaság Tudományos ülése. Pécs, 2009. március 27.
Környey Emlékérem
2. Péterfalvi Á, Szereday L, Molnár T, Szapáry L, Pál J, Mikó É, Illés Z. Az adaptív immunválasz akut változásai ischemiás stroke-ban. A Magyar Stroke Társaság VIII. Konferenciája. Budapest, 2007. május 24-26.
2. díj
3. Jónás A₂, Szakmány T, Molnár T. Az NT-proBNP és a microalbuminuria szerepe subarachnoidalis vérzésben. XXXVI. MAITT Kongresszus, 2006, Május 18-21., Szeged
2. díj
4. Molnár T, Bogár L. Gyulladásos markerek és a neuromuscularis funkció zavarának összefüggése tartósan lélegeztetett betegeken. Fialal Magyar Aneszteziológusok V.Kongresszusa, 2001 május, Sopron
Legjobb poszter

5. Molnár T, Zámbo K, Schmidt E, Tekeres M. Új lehetőség az agyi keringészavarok korai felismerésében? Dipyridamole teszt a neurológiai diagnosztikában? XXX. MAITT kongresszus, 2000, Siófok, Hungary
Legjobb 35 év alatti előadó

KÖNYVFEJEZET

Molnar T: A központi idegrendszeri betegségek anesztéziája – Aneszteziológia és Intenzív Terápia, Tankönyv, (szerkesztette: Bogár Lajos), Budapest, Medicina 2009, 271-275.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Őszintén köszönöm, témavezetőmnek Illés Zsolt egyetemi docensnek a segítségét, aki tudását mindig önzetlenül osztotta meg velem. Hálás vagyok, hogy bevezetett a neuroimmunológia világába, hogy folyamatos gondolkodásra, és újra gondolkodásra, analízisre és szintézisre ösztönzött.

Szeretném kifejezni hálámat néhai neurológia professzoromnak Czopf Józsefnek és jelenlegi munkahelyem korábbi vezetőjének, Prof. Tekeres Miklósnak, akik bátorítást adtak, hogy az első lépéseket a klinikai kutatás irányába megtegyem.

Rendkívül hálás vagyok jelenlegi főnökömnek, Prof. Bogár Lajosnak, aki mecénásként örködött felettem. Tanított, talán mert látta, hogy tanítható vagyok. Bízott, ha lankadni látott. Türelmes volt hozzám, amikor szükségben voltam. Nemcsak kutatási, hanem életszemléletet is adott.

Hálás vagyok Dr. Szakmány Tamásnak, aki a statisztika alapjait lerakta az életemben és ezt úgy tette, hogy meg is szerettem azt. Köszönöm Prof. Komoly Sámuel támogatását.

És még számos nevet sorolhatnék az Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézetből, a Neurológiai Klinikáról, az Orvosi Mikrobiológia és Immunitástani Intézetből, az Immunológiai és Biotechnológiai Intézetből, a Laboratóriumi Medicina Intézetből, akik a tudomány kertjében önzetlenül dolgoztak, hogy végül egy gyümölcs formájában, ez a munka is elkészülhessen, másoké mellett.

Végül teljes szívemből köszönöm szeretett feleségemnek, Zsuzsának és gyermekeimnek, Máténak, Abigélnek és Lídiának, valamint szüleimnek a türelmüket. Szeretetük képessé tett arra, hogy befejezzem ezt a munkát.