

TERÁPIÁS DÖNTÉSEKET BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK AKUT ISCHAEMIÁS STROKE KEZELÉSÉBEN

Doktori (PhD)-értekezés

Dr. Pusch Gabriella

Klinikai Orvostudományok
Klinikai Idegtudományok

Témavezető: Prof. Dr. Illés Zsolt

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
Általános Orvostudományi Kar
Neurológiai Klinika



PÉCS
2016

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	5
I. Bevezetés	7
1. Az akut ischaemiás stroke epidemiológiája	7
2. A post-stroke infekciók prevalenciája	7
3. Preventív antibiotikus kezelés akut stroke-ban	7
4. Az akut ischaemiás stroke-ot követő lokális szöveti változások	8
5. Az akut stroke által kiváltott immundepressziós szindróma	8
II. A post-stroke infekciók jellegzetességei klinikai végpontok tükrében	8
1. Célkitűzések	8
2. Betegek és módszerek	8
3. Eredmények	9
a. Demográfiai és komorbiditási adatok	9
b. Az akut ischaemiás stroke súlyossága és kimenetele	9
c. A post-stroke infekciók jellegzetességei különböző etiológia esetén	10
d. A post-stroke infekciók és a mortalitás kapcsolata	10
4. Megbeszélés	10
III. Biomarker vizsgálatok akut ischaemias stroke-ban klinikai végpontok tükrében	
1. Célkitűzések	12
2. Betegek és módszerek	12
3. Vizsgált biomarkerek	13

a. S-100B	13
b. C-reaktív protein (CRP)	13
c. Interleukin-6 (IL-6)	13
d. Monocyta-kemoattraktáns protein-1 (MCP-1)	13
e. Solubilis CD4 ligand (sCD40L)	13
f. P-selectin	13
g. Szöveti plasminogen aktivátor (tPA)	13
h. Interleukin-8 (IL-8)	14
4. Eredmények	14
a. Biomarkerek az ischaemiás stroke hyperakut fázisában	14
b. Biomarkerek az ischaemiás stroke akut fázisában	14
c. Korreláció az infarktus méretével	14
d. Korreláció a TOAST kritériumok alapján	15
e. Korreláció a post-stroke infekciókkal, mortalitással	16
f. Regressziós analízis	16
5. Megbeszélés	17
IV. Az L-arginin útvonal vizsgálata akut ischaemias stroke és szignifikáns carotis stenosis esetén klinikai végpontok tükrében	19
1. Az L-arginin útvonal metabolitok szerepe	19
2. Célkitűzések	19
3. Betegek és módszerek	19
4. Eredmények	20

a. Metabolit alapértékek akut stroke kezdetétől számított 6 órán belül	20
b. Az L-arginin útvonal metabolitok longitudinális változása	20
c. Az L-arginin útvonal metabolitok és S100B közötti korreláció	21
d. Az L-arginin útvonal metabolitok és CRP közötti kapcsolat	21
e. Prediktív tényezők post-stroke infekciók és mortalitás szempontjából	21
5. Megbeszélés	21
V. Tézisek: az új eredmények összefoglalása	23
VI. Publikációk jegyzéke	24
VII. Köszönetnyilvánítás	27

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACTH	adreno-corticotrop hormon
ADMA	aszimmetrikus dimethylarginin
AIS	akut ischaemiás stroke
BI	Barthel-index
CADASIL	cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy
CD40L	CD40 ligand
CNS	központi idegrendszer
DDAH	dimethylarginin dimethylaminhidroláz
eNOS	endothelialis nitric-oxid syntase
MCP-1	monocyta kemoattraktáns protein-1
hsCRP	nagy szenzitivitású C-reaktív protein
ICAM-1	intracellularis adhéziós molekula-1
IL-1	interleukin-1
IL-6	interleukin-6
IL-8	interleukin-8
mRS	módosított Rankin skála
NIHSS	National Institute of Health Scale
NO	nitric-oxid
PCT	procalcitonin

PRMT	protein metil-transzferáz
S100B	S-100-beta protein
SDMA	szimmetrikus dimethylarginin
SIIDS	stroke-indukált immundepressziós szindróma
TIA	transiens ischaemiás attack
TLR	Toll-like receptor
TNF- α	tumor necrosis faktor- α
TOAST	Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
tPA	szöveti plasminogen aktivátor
VCAM-1	vascularis sejt adhéziós molekula-1

I. BEVEZETÉS

I/1. Az ischaemiás stroke epidemiológiája

A stroke az agyműködés vérellátási zavara által okozott, globális vagy fokális zavarral jellemezhető, gyorsan kialakuló klinikai tünet együttes, amely több mint 24 órán keresztül áll fenn vagy halált okoz, s amelynek nincs más oka, mint az agyi érrendszerben kialakult elváltozás. A magas mortalitás mellett a gyógyulás rövid távú kilátásai is rosszak. Stroke-t követően a betegek 30-40%-az önálló életvitelben segítségre szorulóvá válik.

I/2. A post-stroke infekciók definíciója, prevalenciája

A stroke-ot követően kialakuló akut és krónikus szövődmények is meghatározzák a betegség kimenetelét és mortalitását. Ezek közül igen fontos a post-stroke infekciók szerepe, melyek az akut stroke-t követő 1-7. nap során megjelenő infekciókat jelentik. A stroke-t követő fertőzés szignifikánsan rontja a stroke funkcionális kimenetelét, és emeli halálozását.

I/3. Preventív antibiotikus kezelés akut stroke-ban

Az elmúlt években öt nagy, véletlen besorolásos, kontrollcsoportos vizsgálat folyt a stroke-ot követő preventív antibiotikus terápia lehetőségeiről.

Az *Early Systemic Prophylaxis of Infection After Stroke (ESPIAS)* vizsgálatban akut post-stroke időszakban alkalmazott levofloxacin hatását tanulmányozták, mellyel nem sikerült kivédeni a fertőzést, sőt, a mortalitás nem szignifikáns növekedését mutatták ki a kezelt csoportban.

A *Preventive ANtibacterial THERapy in acute Ischemic Stroke (PANTHERIS)* vizsgálatban a betegek moxifloxacin terápiában részesültek, mely szignifikánsan csökkentette az infekció kialakulását, de a túlélést és a neurológiai prognózist nem befolyásolta.

A *The Mannheim Infekction in Stroke Study (MISS)* vizsgálatban mezlocillin-sulbactam együttes adása szignifikánsan csökkentette a fertőzés kialakulását, és javította a betegek végállapotát.

A *PASS (Preventive Antibiotics in Stroke Study)* vizsgálatban a preventív ceftriaxone kezelés csökkentette ugyan az infekciók kialakulását, de nem javította a funkcionális kimenetelt.

A 2015-ben közölt *STROKE-INF* vizsgálatban az antibiotikum profilaxis a post-stroke pneumonia gyakoriságát és a mortalitást nem csökkentette, és nem javította a klinikai kimenetelt sem. Így III. B. evidencia áll rendelkezésre, arra vonatkozólag, hogy a preventív antibiotikus kezelésnek nincs létjogosultsága akut ischaemiás stroke-ot követően.

I/4. Az akut ischaemiás stroke-ot követő lokális szöveti változások

A postischaemiás agyszövet gyulladós folyamatokat aktivál, melyben elsőként az ősi, nem antigénspecifikus immunválasz vesz részt. Az agyszövet ischaemiája következtében necrosis és vér-agy-gát károsodás alakul ki, mely lehetővé teszi, hogy az immunrendszerrel addig elzárt, nem tolerált autoantigének belépjenek a perifériás keringésbe és számos immunsejtnek nyílik lehetősége az agyszöveti migrációra. A leukocyták infiltrációja obstrukciót okoz a mikrocirkulációban, melyet ischaemiás no-reflow jelenségnek nevezünk, a leukocytákból felszabaduló lysosomal enzimek és szabadgyökök pedig elősegítik a sejtek halálát.

I/5. Az akut stroke által kiváltott immunszuppressziós szindróma (CIDS)

Az agyban zajló gyulladós folyamattal párhuzamosan szisztémásan is immunológiai változások kezdődnek. A szöveti sérülés hatására termelődő citokinek, például az interleukin-6 (IL-6), speciális neuronokat stimulálnak a hypothalamus paraventricularis magjaiban (PVN). A stimulus corticotropin-releasing faktor (CRF) termelődéséhez vezet, amelyen keresztül a PVN-neuronok szabályozzák a hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengelyt és a szimpatikus idegrendszert. A cortisol szekréciója ACTH-szabályozás alatt áll, ischaemiás stroke-ot szenvedett betegek esetében azonban azt találták, hogy a cortisolszint nem a szérumszintű ACTH-, hanem az IL-6-szinttel mutat szignifikáns korrelációt. A corticosteroidok immunszuppresszív hatással rendelkeznek, az így kialakuló immundepresszió növeli az infekció kialakulásának valószínűségét. Az immunszuppresszált állapotnak azonban előnyös hatása is van: gátolja a súlyos autoagresszív folyamatok beindulását a károsodott agyi területből felszabaduló, központi idegrendszerre specifikus antigénekkal szemben. Ezt a jelenséget az angol irodalom CIDS-nek (CNS-injury-induced immunodepression) nevezi.

II. A POST-STROKE INFEKCIÓK JELLEGZETESSÉGEI KLINIKAI VÉGPONTOK TÜKRÉBEN

II/1. Célkitűzések

Akut ischaemiás stroke miatt hospitalizált betegeknél prospektíven vizsgáltuk a post-stroke infekciók gyakoriságát, a stroke funkcionális kimenetelével és mortalitásával való kapcsolatát. Kérdés volt az is, hogy a betegek demográfiai, komorbiditási adatai, a stroke klinikai sajátosságai milyen kapcsolatban állnak a post-stroke infekciókkal és a stroke kimenetelével.

II/2. Betegek és módszerek

Prospektív vizsgálatunkba 106, akut ischaemiás stroke miatt felvett beteget vontunk be a stroke hiperakut fázisában, a tünetek kezdetétől számított 6 órán belül. Kizárási kritérium volt a felvételt megelőző 4 hétben fennálló bármely infekció, antibiotikus kezelés, láz, felvételt megelőző emelkedett procalcitonin (PCT) érték, és disszeminált malignus betegség. A betegek demográfiai, komorbiditási, adataikat rögzítettük, melyeket az **1. táblázat** tartalmaz. A stroke súlyosságát a National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) pontszám alapján állapítottuk

meg. A stroke 28 napos funkcionális kimenetelét a módosított Barthel skála (BI) segítségével értékeltük. A stroke etiológiai besorolását a TOAST kritériumrendszer alapján határoztuk meg. **Végpontokként** az infekció jelentkezését, a mortalitást, a 28. napos funkcionális kimenetelt tekintettük. Post-stroke infekcióként (PSI) definiáltuk az 1-7. nap között fellépő fertőzést. A statisztikai analízist SPSS 16.0 software segítségével végeztük.

1. táblázat

Demográfiai és komorbiditási adatok

	Összes beteg	Nő	Férfi
N	108	57	51
Életkor (átlag±SD)	69.79 (±12.01)	73.8 (±12.3)	65.77 (±10.26)
Hypertonia (%)	71.6	68.2	76.5
Diabetes mellitus (%)	15.6	14	17.6
Dohányzás (%)	20.2	7	35.3
Előző stroke/TIA (%)	19.3	22.8	15.7
Cardiogen (%)	37.6	49.1	25.5
Elhízás (%)	12.8	14	11.8

II/3. Eredmények

II/3. a. Demográfiai és komorbiditási adatok

A vizsgálatban szereplő betegek átlagéletkora 69.8 év volt, a nők átlagosan 8 évvel voltak idősebbek, mint a férfiak. Mindkét nemben a hypertonia volt a legjelentősebb rizikófaktor. Férfiaknál a dohányzás ötször gyakrabban fordult elő, nőbetegekben viszont csaknem kétszer gyakrabban volt jelen cardialis rizikófaktor (mübillentyű, pitvarfibrillatio). (**1. táblázat**).

II/3. b. A stroke súlyossága és kimenetele

A stroke súlyossága a felvételi NIHSS alapján (NIHSS1) férfi és nőbetegek tekintetében nem különbözött. A férfibetegek 7 napos (NIHSS7) és elbocsátáskor észlelt (NIHSS emissio) státusza a nőbetegekénél szignifikánsan jobb volt. A 28. napos funkcionális kimenetel (BI 28 nap) között azonban a két nem között szignifikáns különbség nem volt (**2. táblázat**).

2. táblázat: Az akut stroke súlyossága és 28 napos funkcionális kimenetele

	Átlag (± SD)	nő	férfi	P-érték (nő/férfi)
NIHSS1	11.01 (±5.63)	11.9 (±5.52)	10 (±5.64)	0.887
NIHSS7	9.4 (±7.03)	10.8 (±8.04)	7.3 (±4.62)	0.002
NIHSS emisszió	10.39 (±13.96)	12.5 (±17.5)	7.32 (±12.5)	0.081
BI 28 nap	68.6 (±38.53)	64.7 (±34.9)	72.1 (±28.35)	0.225

Mann-Whitney U test; NIHSS1: az 1. napon felvett National Institute of Health Stroke Scale; NIHSS7: a 7. napon felvett National Institute of Health Stroke Scale; NIHSS emisszió: a távozás 1. napján felvett National Institute of Health Stroke Scale; BI 28 nap: a stroke kezdetétől számított 28 nap múlva mért Barthel index

II/3. c. A betegek TOAST kritériumrendszer szerinti csoportosítása

Betegeink 52%-a cardioemboliás háttérű, 16%-a kísérbetegség talaján kialakuló, 32%-a pedig nagyér eredetű stroke-ot szenvedett el. A cardioemboliás etiológiával kialakult stroke-ban szenvedő betegek szignifikánsan idősebbek voltak a másik két betegcsoportnál. A lacunaris stroke funkcionális kimenetele mind a cardioemboliás, mind a nagyérbeteg csoporthoz képest szignifikánsan jobbnak bizonyult, utóbbi két csoport között érdemi különbség nem volt (**3. táblázat**).

3. táblázat: *A betegek kora és klinikai státusza a TOAST kritériumok alapján*

	Nagy ér athero- sclerosis	Cardio- embolia	Kísér betegség	<i>P</i> -érték nagyér cardioembolia	<i>P</i> -érték vs. nagyér kisérbetegség	<i>P</i> -érték vs. cardioemb. kisérbetegség	vs.
életkor	68.7±10.03	77.3±9.48	66.4±10.25	0.003	0.814	0.001	
NIHSS1	12.65±5.887	14.07±4.89	6.89±3.71	0.506	0.003	0.000	
BI 28 nap	60±30.1	61.3±36.68	85.3±19.2	0.694	0.024	0.020	

Mann-Whitney U test; NIHSS1: az 1. napon felvett National Institute of Health Stroke Scale; BI 28 nap: a stroke kezdetétől számított 28 nap múlva mért Barthel index

II/3. d. A post-stroke infekciók, komorbiditás és a mortalitás vizsgálata

Betegeink 21%-nál alakult ki post-stroke infekció, mely a férfibetegek 8%-át, a nőbetegek 34%-át érintette. A post-stroke fertőzésekkel a legerősebb korrelációt a cardioembolizációs etiológiájú stroke és az elhízás mutatta. Huszonegy beteget veszítettünk el (4 férfi és 17 nő), a mortalitás szignifikánsan korrelált a stroke súlyosságával. Az infekció kialakulása a betegek életkorával, a felvételi, a 7-napos és az elbocsátáskor mért NIHSS scorral szignifikánsan korrelált, a 28. napos funkcionális kimenetellel nem mutatott összefüggést. Az infekció jelenléte szignifikáns korrelációt mutatott a mortalitással.

II/4. Megbeszélés

Klinikánkra felvett 106 beteg vizsgálata alapján betegeink átlagéletkora 69,8 év volt, a nők 8 évvel voltak idősebbek a férfiaknál. A legjelentősebb rizikófaktor mindkét nemben a hipertónia volt. Férfiaknál a dohányzás ötször gyakoribb volt, mint nőbetegek körében, míg kardiogen etiológia a nőbetegekben csaknem kétszer gyakrabban állt fenn. A nagyérbetegség talaján és cardioembolizációs etiológiával kialakult ischaemias stroke szignifikánsan súlyosabb volt, mint a lacunaris stroke. A mortalitást a stroke súlyossága alapvetően meghatározta. Post-stroke infekciók kialakulását a betegek 21%-nál tapasztaltuk, kialakulásuk a cardioembolizációs rizikófaktorok és elhízás fennállásával, az életkorral és a stroke súlyosságával korrelált. A betegek 19%-át veszítettük el, a mortalitás a stroke súlyosságával korrelált. A post-stroke infekciók fennállása esetén a mortalitás szignifikánsan magasabb volt.

Egy csaknem 20000 beteg bevonásával végzett svéd vizsgálatban azt találták, hogy a nőbetegek a férfiakhoz képest idősebb korban szenvednek el cerebrovascularis eseményt, a két nem között átlagosan 4 év különbség volt. Sajnálatosan, saját beteganyagunkban a férfibetegek csaknem 10 évvel, a nőbetegek csaknem 5 évvel fiatalabbak voltak a svéd vizsgálatban résztvevőkhöz képest. Mind férfi, mind nőbetegek körében a hipertónia másfélszer gyakrabban volt

észlelhető, a férfiak között kétszer, nők esetében másfélszer több volt a dohányzók aránya a fenti vizsgálathoz képest. A svéd vizsgálatban a cardiogen embolizáció gyakorisága a két nem között nem tért el szignifikánsan, ez viszont jelentős különbség saját beteganyagunkhoz viszonyítva; mi a nőbetegeknél kétszer gyakrabban észleltünk potenciálisan cardiogen embolizációt okozó kórállapotot.

A Framingham Heart Study-ban az életkor bizonyult a pitvarfibrillatio legjelentősebb rizikófaktorának. Tekintve, hogy vizsgálatunkban a nőbetegek jelentősen, 8 évvel idősebbek voltak, ez magyarázhatja azt, hogy a pitvarfibrillatio aránya a két nem között ennyire eltért. Betegeink 19%-át veszítettük el a vizsgált periódus alatt, a nőbetegek halálozása és funkcionális kimenetele rosszabb volt.

Betegeink 21%-nál alakult ki post-stroke infekció, mely megfelel a nemzetközi adatoknak, az infekció fennállása szignifikánsan korrelált a mortalitással, ezt az összefüggést számos nemzetközi vizsgálat is igazolta. Kardiogen embolizációra hajlamosító etiológia mellett – mely nőbetegeinknél szignifikánsan gyakrabban állt fenn a férfiakhoz képest - alakult ki a legsúlyosabb stroke és e csoportban volt a legmagasabb a post-stroke infekciók aránya is. Mindezek magyarázhatják a nőbetegek négyszer magasabb mortalitását. Az akut post-stroke időszakot túlélő beteg 28 napos funkcionális státuszát azonban a post-stroke infekciók jelentkezése már nem befolyásolta.

III. BIOMARKER VIZSGÁLATOK AKUT ISCHAEMIÁS STROKE-BAN KLINIKAI VÉGPONTOK TÜKRÉBEN

III/1. Célkitűzések

E tanulmányunkban 77 ischaemiás stroke miatt hospitalizált betegnél vizsgáltuk olyan nyolc biomarker koncentrációjának változását ischaemiás stroke akut fázisában, melyek részt vesznek a véralvadásban, endothelialis dysfunkcióban és a szisztémás immunválaszban. A biomarkerek 72 órán belüli változásának prediktív értékét elemeztük három elsődleges végpontra vonatkoztatva (halálozás, post-stroke infekció és funkcionális kimenetel). Arra voltunk kíváncsiak, mely paraméterek bírnak prediktív értékkel a stroke kimeneteli változóinak (post-stroke infekció, mortalitás és a funkcionális státusz) szempontjából.

III/2. Betegek és módszerek

Prospektív vizsgálatunkba 77, akut ischaemiás stroke miatt felvett beteget vontunk be a stroke hyperakut fázisában, a tünetek kezdetétől számított 6 órán belül. Kizárási kritérium volt a vérzéses stroke, a felvételt megelőző 4 hétben fennálló bármely infekció, antibiotikus kezelés, láz, felvételtkor észlelt emelkedett procalcitonin (PCT) érték, és disszeminált malignus betegség.

Mivel a vizsgált biomarkerek értékeit nemcsak az akut ischaemia, hanem a krónikus érbetegség is befolyásolhatja, ezért kontroll csoportként akut esemény nélküli, de előrehaladott érbetegségben, tünetmentes szignifikáns carotis stenosisban (70-99%) szenvedő 44 beteget is választottunk. A másik homogén kontroll csoport 66 Parkinson kóros betegből állt. A stroke súlyosságát a National Institute of Health Scale Score (NIHSS) alapján állapítottuk meg. A stroke 28 napos funkcionális kimenetelét módosított Barthel skála (BI) segítségével értékeltük. A stroke etiológiai besorolását a TOAST kritériumrendszer alapján határoztuk meg. Végpontokként az infekció jelentkezését, a mortalitást, és a 28. napos funkcionális kimenetelt (BI) tekintettük. Post-stroke infekcióként definiáltuk az 1-7. nap között fellépő fertőzést. A biomarkerek mérései a strotket követő 6 órán belül, majd 24 és 72 óránál történtek. A markerek abszolút értéke mellett azok változását is megfigyeltük, és klinikai kimeneteli végpontokkal korreláltaiva értékeltük. (SPSS 16.0 software).

III/3. Biomarkerek

III/3. a. S100B protein

Az S100B protein a kis molekulású Ca^{2+} -kötő fehérjék csoportjába tartozik, a fehérje foszforilációban, sejtproliferációban, intracelluláris Ca^{2+} homeostasis fenntartásában vesz részt. Egy 2012-ben publikált nagy metaanalízis alapján az S100B értéke erős korrelációt mutatott a radiológiailag mért agyállományi károsodás volumenével, mely összefüggés 48-72 órával a sérülést követően volt a legerősebb, ezért vizsgálatunkban ezt a markert használtuk az akut stroke által okozott agyállomány károsodás indirekt mérésére.

III/3. b. hsCRP

A C-reaktív protein (CRP) az akut fázis fehérjék közé tartozik. Emelkedett CRP érték időkben független rizikófaktor akut ischaemiás stroke és TIA kialakulása szempontjából. Több prospektív vizsgálat mutatta ki, hogy az emelkedett CRP érték független rizikófaktoraként növeli a cerebrovasculáris események incidenciáját.

III/3. c. IL-6

Az IL-6 adhéziós molekulák expresszióját, leukocyták aktivációját serkenti és protrombotikus állapotot idéz elő. Az akut stroke-ot emelkedett plazma IL-6 szint jellemzi, mely korrelál a stroke súlyosságával, az infarktus méretével és a stroke kimenetelével.

III/3. d. MCP-1

Az MCP-1 kemokin, mely szabályozza a neutrophil granulocyták, limfocyták migrációját, és belépésüket a központi idegrendszerbe.

III/3. e. CD40 ligand

A CD40L 32-39-kD molekulású transzmembrán protein, pleiotrop hatása ismert, mind az ősi és az adaptív immunitásban és trombotikus folyamatokban is fontos szerepet játszik.

III/3. f. P-selectin

A selectinek a leukocyták szövetekbe történő migrációban játszanak szerepet. Állatkísérletben az arteria cerebri media (ACM) elzáródást követően anti-P-selectin monoklonális antitesttel végzett kezelés csökkentette a leukocytainfiltrációt és az infarktus méretét.

III/3. g. Szöveti plazminogén aktivátor (tPA)

A tPA véralvadási folyamatokban vesz részt. Plazminogénból a plazminogén aktivátor hatására létrejövő plazmin a trombusban található fibrint degradációs termékévé hasítja. A rekombináns tPA akut ischaemiás stroke-ban, szelektált betegek kezelésére I. A. evidencia.

III/3. h. Interleukin-8

Az interleukin-8 (IL-8) a neutrofil granulocyták migrációját és fagocitózist indukálja. Experimentális vizsgálatokban az IL-8 receptor blokkoló reparixin csökkentette ACM occlusio esetén az infarktus volumenét és javította a neurológiai funkcionális kimenetelt.

III/4. Eredmények

E nyolc biomarker értékét akut ischaemiás stroke-ban 6 órán belül, 24 és 72 óra múlva, tünetmentes szignifikáns carotis stenosisban és Parkinson kórban szenvedő betegnél vizsgáltuk meg.

III/4. a. Biomarker koncentrációk ischaemiás stroke hyperacut fázisában (6 órán belül):

Az összes vizsgált biomarker szintje - az IL-8 kivételével - magasabb volt stroke esetén mindkét kontroll csoporthoz viszonyítva. Carotis stenosisban szenvedő betegek esetében a Parkinson betegekéhez képest szintén valamennyi vizsgált marker értékét magasabbnak találtuk a P-selectin kivételével.

III/4. b. Biomarker szintek változása stroke akut fázisában 6 órán belül, 24 és 72 óra múlva:

- (i) a kontrollcsoportokhoz képest magas 6 órás érték, majd további, szignifikáns emelkedés 72 óráig (IL-6, P-selectin);
- (ii) emelkedett érték 6 óránál, majd ezt követően szignifikáns csökkenés 72 óráig (IL-8);
- (iii) 24 óránál észlelt csökkenő érték után folyamatos emelkedés az első 72 órában, mely eltérések azonban nem szignifikánsak (tPA, CD40L és MCP-1).

III/4. c. A biomarker koncentrációk korrelációja az infarktus méretével

Az infarktus méretét indirekt módon az S100B 72 óránál mért koncentrációjával jellemeztük. Négy biomarker koncentrációja mutatott korrelációt a szöveti pusztulás mértékével:

- (i) A *hs CRP* 72 órás értéke pozitívan korrelált az S100B valamennyi időpontban történő értékével és annak változásával is.
- (ii) Az *IL-6* alapérték és 72 órás értéke erősen korrelált a 72 órás S100B értékkel. A 72 órás *IL-6* érték az S100B változással mutatott összefüggést.
- (iii) Az *IL-8* érték 72 óránál mutatott korrelációt az S100B 72 órán belüli változásával.
- (iv) A *P-selectin* alapértéke korrelált az S100B változásával (**4. táblázat**).

4. táblázat: Az infarktus méretére utaló S100B értékek és azok változásának korrelációi a vizsgált biomarkerekkel

Biomarkerek		S100B		
		6 h P-érték	72 h P-érték	Δ^a P-érték
hsCRP	6 óra	0.06	0.06	0.40
	72 óra	≤ 0.001	≤ 0.001	0.003
	Δ	≤ 0.001	0.005	0.11
tPA	6 óra	0.22	0.06	0.93
	72 óra	0.36	0.23	0.93
	Δ	0.88	0.80	0.25
P-selectin	6 óra	0.15	0.50	0.04
	72 óra	0.84	0.25	0.19
	Δ	0.34	0.91	0.15
MCP-1	6 óra	0.51	0.17	0.95
	72 óra	0.31	0.66	0.45
	Δ	0.10	0.10	0.43
IL-8	6 óra	0.86	0.10	0.48
	72 óra	0.08	0.36	0.02
	Δ	0.21	0.16	0.68
IL-6	6 óra	0.09	0.003	0.19
	72 óra	0.42	0.02	0.04
	Δ	0.80	0.35	0.16
CD40L	6 óra	0.65	0.55	0.30
	72 óra	0.65	0.32	0.07
	Δ	0.05	0.70	0.19

Median és interquartilis tartomány (Mann-Whitney U test), NM: nem mért; NA: nem értelmezhető * $\leq p0.01$, ** $\leq p0.05$ a 6 órán belüli és a 72 órás értékek között

III/4. d. Biomarker értékek a TOAST kritériumrendszer alapján

A TOAST kritériumokkal való összefüggésben a biomarkerekről az alábbi megállapítások tehetők:

- (i) A nagyér betegek és cardioembolizációs eredetű stroke betegek között egyik biomarker értéke sem különbözött szignifikánsan egyetlen mérési időpontban sem.
- (ii) Lacunaris stroke betegekben a 6 órán belül mért IL-6, valamint 72. órában mért hsCRP és S100 értékek szignifikáns eltérést mutattak a nagyérbetegekhez és cardioembolizációs etiológájú stroke betegekhez képest. A 72 óránál mért P-selectin szintek magasabbak voltak a nagyér elzáródásos és cardioembolizációs betegekben, mint lacunaris stroke-ban. A 72 óránál mért IL-8 érték a nagyérbeteg és lacunaris stroke betegek között mutatott szignifikáns különbséget.

III/4. e. Biomarker szintek korrelációja a post-stroke infekciókkal és a mortalitással

A biomarkerek szintjeit és azok változását vizsgáltuk klinikai végpontok tükrében.

A mortalitással szignifikánsan összefüggött:

- (i) a hsCRP szint 6 órás és 72 órás értéke, és annak változása
- (ii) a P-selectin és a CD40L értékeinek 6 és 72 óra közötti változása
- (iii) az IL-6 és az IL-8 szintek 6 órán belüli értéke
- (iv) az S100B szint 6 órán belüli és 72 órás értéke

Az *infekció* kialakulásával szignifikánsan összefüggött:

- (i) a hsCRP 72 órás értéke és annak változása
- (ii) a P-selectin szint változása
- (iii) az IL-6 és S100B szint 6 óránál és 72 óránál mért abszolút értéke és változása

III/4. f. Regressziós analízis

1. végpont, halálozás:

- (i) Az életkor egy évvel történő emelkedése 31%-kal;
- (ii) a hsCRP alapérték 1 egységnyi emelkedése 7%-kal;
- (iii) az IL-6 alapérték 100 egységnyi emelkedése pedig 9%-kal emelte a halálozás esélyét.

2. végpont, post-stroke infekció:

- (i) A női nem 15-szeresére
- (ii) a P-selectin koncentráció 6 óra és 72 óra közötti emelkedése 22.7-szeresére;
- (iii) a 72 óránál mért 100 egységnyi IL-6 emelkedés 4%-kal emelte a post-stroke infekció esélyét.

3. végpont, 7-napos NIHSS érték:

- (i) A 2. napon mért NIHSS minden egyes ponttal történő emelkedése 0.9 ponttal;
- (ii) az IL-6 mérhető koncentrációja 6 óránál 2.5 ponttal;
- (iii) az obesitás 2.1 ponttal;
- (iv) az életkor minden egyes évvel történő emelkedése 0.2 ponttal;
- (iv) a férfi nem 1.6 ponttal emelte a 7 napos NIHSS értéket.

III/5. Megbeszélés

Magyarországi betegekben elsőként vizsgáltuk prospektíven a post-stroke infekciókra, mortalitásra és funkcionális kimenetelre prediktív értékkel bíró klinikai jellemzőket és szisztémás/lokális gyulladásban és thromboticus folyamatokban gyulladásban szerepet játszó biomarkerek és azok változásának összefüggéseit.

Parkinson kóros betegekhez viszonyítva, a tPA, P-selectin, MCP-1, IL-8, IL-6 és CD40L koncentrációját mind a stroke-ot követő a 6 órán belüli, mind a 72 órás mérésnél magasabbnak találtuk az akut szakban. A stroke betegek értékeit tünetmentes, szignifikáns carotis stenosisban szenvedő betegek eredményeivel hasonlítottuk össze. A IL-8 kivételével valamennyi biomarker 6 órás értéke szignifikánsan magasabb volt stroke-ban a carotis stenosis csoporthoz képest. Ez arra utal, hogy az emelkedett érték az akut ischaemiával függ össze. A carotis stenosis csoportban mért tPA, MCP-1, IL-8, IL-6 és CD40L koncentrációk azonban magasabbak voltak Parkinson kór csoporthoz képest is, ez azt jelezheti, hogy magasabb értékek fennállhatnak előrehaladott atherosclerosisban, melyet az akut vascularis esemény még tovább emel. Regressziós modell alkalmazásával több faktort találtunk, mely a kimeneteli végpontok tekintetében erős prediktív értékkel bírt: elsősorban a hsCRP, az IL-6, a P-selectin, a felvételi NHSS érték és az obezitás. E három biomarker, a P-selectin, az IL-6 és a hsCRP értékek időbeni változása is hasonló dinamikát mutatott: a felvételnél mért értékek mind a carotis stenosis, mind a Parkinson kór csoporthoz képest szignifikánsan magasabbak voltak, majd 72 óráig még tovább emelkedtek.

A P-selectin korai emelkedése az endothel dysfuncióval és a thrombocytákkal való aggregációval lehet kapcsolatban, míg késői emelkedése a szöveti leukocyták infiltrációjára utalhat. A P-selectin szerepét igazolhatja, hogy kísérleti permanens arteria cerebri media-elzáródást követően az anti-P-selectin monoklonális antitesttel végzett kezelés csökkentette a leukocytainfiltrációt és az infarktus méretét. Vizsgálatunkban a P-selectin értékének változása a post-stroke infekciók kialakulásával korrelált, elképzelhető, hogy a P-selectin 72 óránál mért emelkedése már korai, de még szubklinikus infekció fennállására utal.

Az IL-6 szerepe ischaemiás stroke-ban ellentmondásos. Az IL-6 magasabb értéke a korai neurológiai deficiéttel, az infarktus volumenének indirekt mérésére alkalmazott S100B értékkel, a testhőmérséklettel és a késői rossz kimenetellel korrelált egyéb vizsgálatokban is. A korai, szisztémás emelkedés a thrombotikus folyamatokkal függhet össze, míg késői aktivációja a leukocyták aktivációját jelezheti. A leukocyták aktivációnak előnyös és hátrányos hatása egyaránt van; a szöveti sérülés területére történő fehérvérsejt infiltráció és lokális aktivitás káros hatása mellett azonban védőmechanizmusként működhet a post-stroke infekciók megelőzésében.

A felvételnél észlelt, 5 mg/ml feletti hsCRP érték prediktív értékkel bírt a súlyosabb tünetek (NIHSS) kialakulása szempontjából a post-stroke infekciók jelentkezésétől függetlenül is. A hsCRP késői emelkedése viszont a post-stroke infekciókkal mutatott szoros összefüggést. Mivel a hsCRP értékek az infarktus volumenét jelző S100B értékkel is korreláltak, így

megállapítható, hogy a kiterjedtebb infarktust elszenvedett betegek fogékonyabbak post-stroke infekciók kialakulására, mely esetükben a súlyosabb immun-dysfunctionis szindróma következménye lehet.

Ismert tény, hogy post-stroke infekciók jelentkezése a mortalitást szignifikáns mértékben rontja, logikusnak látszott tehát preventív antibiotikus kezelés alkalmazása, de a 2015-ben közölt STROKE-INF vizsgálat alapján III.B. evidencia áll rendelkezésre, arra vonatkozólag, hogy a preventív antibiotikus kezelésnek a post-stroke időszakban nincs létjogosultsága. Felmerült, hogy a patogén kórokozó jelenlétén kívül egyéb predisponáló tényezők is szerepet játszanak az infekciók kialakulásában. A közelmúltban körvonalazódott az ősi és adaptív immunrendszer szerepe és vált elfogadottá a stroke által kiváltott immundepressziós szindróma fogalma. Jelenleg a vizsgálatok fókuszában immunmoduláns kezelés alkalmazása áll akut stroke-t követően, melyeket az **5. táblázatban** foglaltunk össze.

5. táblázat: Immunmoduláns kezelések alkalmazása akut stroke-ban

Gyógyszer	Mechanizmus	Stroke kezdete	Kezelés hossza	Fázis	Klinikai, radiológiai kimenetel	Összefoglalás
Enlimomab	anti-ICAM-1 monoclonal At	0-6 h	5 nap	Fázis III n: 625	SAE, mRS score mortalitás, infarktus volumen	Experimentális strokeban hatékony, klinikai vizsgálatot terminálták
rh IL-1a	IL-1 receptor antagonist	1-4 hó	30 nap	Fázis II n=34	Biztonságos, jól tolerálható, mRS score-t csökkentette	Biztonságos, hatékony
Minocyclin	korai gyulladási signalok modulálása	6-24 h	5 nap	Open-label n=152	Biztonságos, jól tolerálható, mRS score-t csökkentette	Experimentális strokeban hatékony, klinikai vizsgálatot terminálták
Fingolimod	Lymphocyták kilépés gátlása a nyirokrendszerből	0-4.5 h, alteplázzal kombinálva	3 nap	Open-label n=47	Biztonságos, jól tolerálható, az infarktus méretét és az mRS score-t csökkentette	Csökkentette a reperfüziós károsodást, javította a klinikai kimenetelt
Natalizumab	£4-integrin blokkoló	0-9 óra	egy dózis	Fázis II n=200	NA	folyamatban

ICAM-1: intracelluláris sejt adhéziós molekula; rh-IL-1a: recombináns human IL-1 antagonist; SAE: súlyos mellékhatás; mRS: módosított Rankin skála

2016-ban tervezték befejezni azt a placebo-kontrollált vizsgálatot, melyben IL-1 antagonist kezelés hatását vizsgálják ischaemiás stroke-ban és subarachnoideális vérzésben szenvedő

stroke betegeken. Végpontokként az 1 és 3 hónapos funkcionális kimenetelt, illetve a stroke-ot követő 3 napon belül gyulladásra utaló biomarkerek értékét tekintik.

Vizsgálatunkban a P-selectin érték változása a post-stroke infekciók, a 6 és 72 órás IL-6 értékek pedig az infekciók és a mortalitás szempontjából jelezték nagy prediktív értékkel a kedvezőtlen kimenetelt. Vizsgálatunk alapján a stroke által kiváltott immundepressziós szindróma veszélyének leginkább kitett betegek korai azonosítása lehetővé válik; e betegek a jelenleg intenzív kutatások fókuszában álló, új terápiás eljárásokból a későbbiekben profitálhatnak.

IV. AZ L-ARGININ ÚTVONAL VIZSGÁLATA AKUT ISCHAEMIÁS STROKE ÉS TŰNETMENTES CAROTIS STENOSIS ESETÉN

IV/1. Az L-arginin útvonal metabolitok szerepe

Az aszimmetrikus dimethylarginin (ADMA) és a szimmetrikus dimethylarginin (SDMA) az L-arginin protein lebontási termékei. Az ADMA gátolja az endothelsejtekben található endothelialis nitric-oxid szintáz (eNOS) működését, csökkentve a nitric-oxid (NO) mennyiségét. A NO a vascularis integritás fenntartásában játszik fontos szerepet. Az SDMA a NO precursor argininnel kompetitív az endothel sejtekbe történő bejutásban. Az eNOS és a vascularis NO a cerebralis ischaemia korai fázisában játszik szerepet a keringés fenntartásában. Ischaemiás stroke-ot követően mért ADMA szint a stroke súlyosságával mutatott korrelációt, a stroke-ot követő 72 óránál mért értéke a rossz kimenetel független prediktorának bizonyult.

IV/2. Célkitűzések

Ebben a munkánkban 4 fő témakört vizsgáltunk:

- (i) Az L-arginin útvonal elemzése előrehaladott atherosclerosisban és akut ischaemiás stroke-ban szenvedő betegeknél egészséges kontrollcsoporthoz viszonyítva;
- (ii) Az L-arginin metabolitok dinamikájának változása post-stroke időszakban;
- (iii) A metabolitok értékeinek összefüggései a kialakuló infarktus méretével;
- (iv) A vizsgált paraméterek prediktív értéke mortalitás és stroke progresszió szempontjából.

IV/3. Betegek és módszerek

Prospektív vizsgálatunkba 55, akut ischaemiás stroke miatt felvett beteget vontunk be a stroke hyperacut fázisában, a tünetek kezdetétől számított 6 órán belül. A betegek demográfiai, komorbiditási adatait rögzítettük. Az eredményeket szignifikáns carotis stenosisban szenvedő 44 beteg, valamint 45 egészséges kontroll méréseivel hasonlítottuk össze. Az L-arginin ADMA és SDMA szintek meghatározása stroke a kezdetétől számított 6 órán belül, majd 24 és 72 óra múlva történt.

IV/4. Eredmények

IV/4. a. Metabolit alapértékek stroke kezdetétől számított 6 órán belül

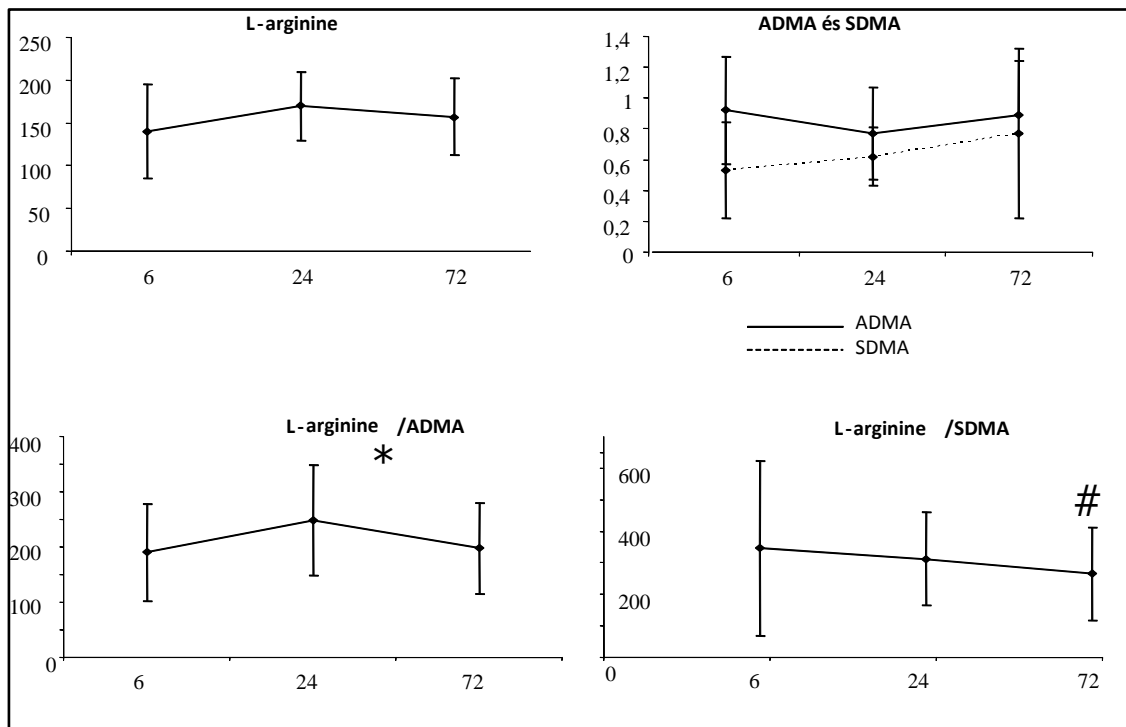
Mindhárom metabolit koncentrációja (L-arginin, ADMA és SDMA) szignifikánsan magasabb volt akut ischaemiás stroke esetén 6 órán belül a carotis stenosisos és egészséges kontrollcsoporthoz viszonyítva.

IV/4. b. Az L-arginin származékok longitudinális változása

Az mért L-arginin, ADMA és SDMA időbeli változását a 6 órás, 24 órás és 72 órás koncentráció értékek alapján állapítottuk meg. Az L-arginin értéke 24 óránál emelkedett volt az ADMA kismértékű csökkenése mellett, az SDMA értéke pedig folyamatosan növekedett. Így az L-arginin/ADMA arány szignifikánsan magasabb volt 24 óránál, azonban utána csökkent. Az L-arginin/SDMA arány pedig folyamatos csökkenést mutat (**1. ábra**).

1. ábra

L-arginin, ADMA és SDMA szintek időbeli változása a vérben akut ischaemiás stroke-ban



L-arginin és methylarginin derivátumok időbeli változása akut ischaemiás strokeban. Az L-arginin, az aszimmetrikus dimethylarginin (ADMA), szimmetrikus dimethylarginine (SDMA), és az L-arginin/ADMA valamint az L-arginin/SDMA arány változása stroke-t követő 6 órán belül, majd 24 óra és 72 óra múlva. Átlag \pm standard deviáció.

*szignifikánsan emelkedett L-arginin/ADMA arány 24 óránál a 6 órás értékhez képest.

szignifikánsan alacsonyabb L-arginin/SDMA arány 72 óránál a 6 órás értékhez képest.

IV/4. c. Az L-arginin metabolitok és az S100B koncentráció közötti korreláció

Az L-arginin útvonal és az agyi infarktus nagysága közötti összefüggésekre az agyi károsodás volumenére indirekt módon utaló S100B 6 órás és 72 órás méréseivel kerestünk választ. Az S100B koncentrációja pozitívan korrelált az SDMA értékkel 72 óránál. Az ADMA abszolút értéke nem mutatott összefüggést az S100B koncentrációkkal, azonban az S100B változása korrelált az ADMA 72 órán belüli változásával.

Az L-arginin útvonal és hsCRP érték korrelációját mind a stroke hyperakut és akut fázisában, valamint és carotis stenosis betegekben is megvizsgáltuk. A hsCRP 6 órán belüli értéke negatívan korrelált az L-arginin értékkel, azonban 72 órás értéke az SDMA-val mutatott pozitív korrelációt. Az ADMA és SDMA koncentrációja pedig korrelált a hsCRP 72 órán belüli változásával.

IV/4. e. Prediktív tényezők post-stroke infekciók és mortalitás szempontjából

Az L-arginin útvonal tekintetében egyik metabolit sem bírt prediktív értékkel mortalitás szempontjából. Az SDMA 6 és 72 óra közötti változása viszont prediktív értékű volt post-stroke infekciók kialakulására.

Logisztikus regressziós analízissel, melyben valamennyi változó szerepelt, a 72 órán belüli SDMA és hsCRP változás a post-stroke infekció kialakulásának független prediktora volt.

IV/5. Megbeszélés

Az akut ischaemiás stroke hyperacut fázisában valamennyi L-arginin metabolit értéke emelkedett volt mind carotis stenosis, mind egészséges kontrollokhoz képest, így az eltérés az akut vascularis esemény következményének tartható. A hyperacut fázisban emelkedett L-arginin fontos mechanizmus lehet a cerebrális vérátamlás javításában azáltal, hogy emeli a vasodilatator NO szintjét. Az ischaemiás esemény szubakut fázisában (12-48 óra múlva) azonban az emelkedett NO koncentráció már toxikus hatású lehet, és késői károsodást hozhat létre. Egy 2013-ban publikált tanulmányban, 111 subarachnoidealis vérzésen átesett betegnél magasabb L-arginin:ADMA arány esetén gyakrabban észleltek kedvező kimenetelt, a mortalitás csökkenését a kedvezőbb agyi perfúzióval magyarázták. Transcranialis Doppler UH vizsgálattal azonban azt találták, hogy az emelkedett ADMA érték a vazospasmus mértékével nem függött össze. Az eredményeket úgy interpretálták, hogy az emelkedett ADMA érték elsősorban a mikrocirkulációban okoz kedvezőtlenebb áramlási viszonyokat, a nagyerek tónusát kevésbé befolyásolja. Vizsgálatunkban az L-arginin/ADMA arány átmeneti emelkedését észleltük 24 óránál, az átmenetileg megemelkedő L-arginin szint, védő, kompenzatorikus mechanizmus része lehet, mely a károsodott terület vazodilatációját segíti elő. Állatkísérletben az L-arginin intravénás adása növelte az eNOS-függő cerebrális vérátáramlást. Azt találtuk, hogy sem az ADMA abszolút értékeinek, sem azok változásának nem volt prediktív értéke a stroke kimenetelére és post-stroke infekciók fellépésére.

Az SDMA időbeni változásáról hyperacut ischaemiás esemény esetén sokkal kevesebb adat áll rendelkezésre. Vizsgálatunkban az SDMA 72 órán belüli változása a post-stroke infekciók szempontjából prediktív értékűnek bizonyult. Klinikai vizsgálatokban az SDMA koncentráció az ischaemiás stroke-ot követő 30 napban a kedvezőtlen kimenetellel korrelált. Más vizsgálatban az ADMA nem, de az SDMA független rizikófaktornak bizonyult cardiovascularis mortalitás szempontjából.

Megvizsgáltuk az L-arginin útvonal kapcsolatát az infarktus nagyságát jelző S100B-val és az atherosclerosisra és infekcióra egyaránt utaló hsCRP-vel. Az L-arginin érték inverz módon korrelált a korai hsCRP szinttel, azaz valóban protektív szerepe lehet. Ezzel szemben a hsCRP emelkedés a magasabb ADMA koncentrációval mutatott szignifikáns összefüggést. Az infarktus mérete és az L-arginin metabolitok értéke között tehát összefüggés tételezhető fel. Az L-arginin út kapcsolatát szintén megvizsgáltuk klinikai kimeneteli végpontokkal. A post-stroke 72. óránál mért csökkent L-arginin és az SDMA 72 óra alatti változása az infekciók független prediktorának bizonyult.

Összefoglalva, az L-arginin, ADMA, SDMA koncentráció már a stroke korai fázisában emelkedett, súlyosabb endothel diszfunkciót jelezve. A korai magas L-arginin szint, majd átmeneti emelkedése adaptív válasz lehet az érfali bántalomra. A 72 óránál mért, ekkor már csökkenő értéket mutató L-arginin és ezzel párhuzamosan emelkedő SDMA post-stroke infekció korai prediktorai lehetnek. Felmerül a kérdés, hogy az L-arginin-ADMA-SDMA szintek normalizálását célzó lehetséges terápiás beavatkozások javíthatják-e az endothelialis diszfunkciót és a vascularis történés kimenetelét. Az L-arginin útvonal modulátorai a statinok, angiotenzin-konvertáló enzim inhibitorok és izoform-specifikus NOS gátlók. Az észlelt biomarker eltérések azonban egy, már elszenvedett irreverzibilis szöveti sérülés következményei is lehetnek, mindezek tisztázásához további vizsgálatok szükségesek.

V. TÉZISEK: AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Akut ischaemias stroke kapcsán 6 órán belül észlelt magas hsCRP érték a stroke súlyosságával korrelált.
2. A hsCRP szint 72 órás emelkedése a post-stroke infekciók kialakulásával mutatott szoros összefüggést.
3. Az infarktus nagyságát jelző S100B érték 6 és 72 órás mérései a post-stroke infekciók jelentkezésével és a mortalitással mutattak összefüggést.
4. A 6 és 72 óránál mért IL-6 értékek mind a kedvezőtlen kimenetel, mind a post-stroke infekciók prediktorai voltak.
5. A P-selectin szint 6-72 óra közötti változása rendkívül nagy prediktív értékkel jelezte előre a post-stroke infekciót.
6. Az L-arginin, ADMA, SDMA koncentráció már a stroke korai fázisában emelkedett, súlyosabb endotél diszfunkciót jelezve.
7. A 72 óránál mért, ekkor már csökkenő értéket mutató L-arginin és ezzel párhuzamosan emelkedő SDMA post-stroke infekció korai prediktorai lehetnek.

VI. PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A dolgozat témájával szorosan összefüggő publikációk:

1. **Pusch G**, Debrabant B, Molnar T, Feher G, Papp V, Banati M, Kovacs N, Szapary L, Illes Z. Early Dynamics of P-selectin and Interleukin 6 Predicts Outcomes in Ischemic Stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2015 Aug; 24(8):1938-47. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.05.005. Epub 2015 Jun 4. **IF: 1.669**
2. Molnar T, **Pusch G**, Papp V, Feher G, Szapary L, Biri B, Nagy L, Keki S, Illes Z. The L-arginin pathway in akute ischemic stroke and severe carotid stenosis: temporal profiles and association with biomarkers and outcome. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2014 Sep;23(8):2206-14. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.05.002. Epub 2014 Jul 10. **IF: 1.669**
3. Molnar T, **Pusch G**, Nagy L, Keki S, Berki T, Illes Z. Correlation of the L-arginine pathway with thrombo-inflammation may contribute to the outcome of acute ischemic stroke. *Közlésre benyújtva, J Stroke Cerebrovasc Dis.*

A dolgozat témájához szorosan kapcsolódó publikációk jegyzéke:

4. Fust G, Munthe-Fog L, Illes Z, Szeplaki G, Molnar T, **Pusch G**, Hirschberg K, Szegedi R, Szeplaki Z, Prohaszka Z, Skjoedt MO, Garred P. Low ficolin-3 levels in early follow-up serum samples are associated with the severity and unfavorable outcome of akute ischemic stroke. *J Neuroinflammation.* 2011 Dec 29;8(1):185 **IF: 3.827**
5. Molnar T, Papp V, Banati M, 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 akute cerebrovascular events. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2010;44(3):183-92. **IF: 2.838**
6. Peterfalvi A, Molnar T, Banati M, **Pusch G**, Miko E, Bogar L, Pal J, Szereday L, Illes Z. Impaired function of innate T lymphocytes and NK cells in the akute phase of ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2009;28(5):490-8. **IF: 3.535**
7. Molnar T, Peterfalvi A, Szereday L, **Pusch G**, Szapary L, Komoly S, Bogar L, Illes Z. Deficient leucocyte antisedimentation is related to post-stroke infekciós and outcome. *J Clin Pathol.* 2008 Nov;61(11):1209-13. **IF: 2.342**

A dolgozat témájához szorosan nem kapcsolódó publikációk jegyzéke:

- 8.** Faludi B, Tóth M, **Pusch G**, Komoly S. Dynamic changes in sleep-related breathing abnormalities in bilateral paramedian mesencephalon and thalamus stroke: a follow-up case study. *Sleep Breath.* 2015 Jun 13. [Epub ahead of print] **IF: 2.482**
- 9.** Fehér G, **Pusch G**. Role of antihypertensive drugs in the treatment of migraine *Orv Hetil.* 2015 Feb 1;156(5):179-85. doi: 10.1556/OH.2015.30056.
- 10.** Szapáry L, Koltai K, Tibold A, Fehér A, Harang G, **Pusch G**, Fehér G. Clopidogrel resistance in cerebrovascular disease -- results of one-year follow-up. *Orv Hetil.* 2015 Jan 11;156(2):53-9. doi: 10.1556/OH.2015.30057.
- 11.** Deli G, Bosnyak E, **Pusch G**, Komoly S, Feher G. Diabetic neuropathies: diagnosis and management. *Neuroendocrinology.* 2013;98(4):267-80. doi: 10.1159/000358728. Epub 2014 Jan 22. **IF: 4.934**
- 12.** Feher A, **Pusch G**, Harang G, Gasztonyi B, Papp E, Werling D, Menyhart M, Komaromy H, Szapary L, Feher G. Aspirin resistance in cerebrovascular patients. *Int J Cardiol.* 2011 Oct 6;152(1):111-2. Epub 2011 Jul 27 **IF: 7.078**
- 13.** Toth P, Koller A, **Pusch G**, Bosnyak E, Szapary L, Komoly S, Marko L, Nagy J, Wittmann I Microalbuminuria, indicated by total versus immunoreactive urinary albumins, in akute ischemic stroke patients. . *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2011 Nov;20(6):510-6. Epub 2010 Sep 2. **IF: 2.723**
- 14.** Feher A, **Pusch G**, Koltai K, Tibold A, Gasztonyi B, Szapary L, Feher G. Statintherapy in the primary and the secondary prevention of ischaemic cerebrovascular diseases. *Int J Cardiol.* 2011 Apr 14;148(2):131-8. Epub 2010 Sep 16. **IF: 7.078**
- 15.** Feher G, Feher A, **Pusch G**, Koltai K, Tibold A, Gasztonyi B, Papp E, Szapary L, Kesmarky G, Toth K. Clinical importance of aspirin and clopidogrel resistance. *World J Cardiol.* 2010 Jul 26;2(7):171-86.
- 16.** Feher G, **Pusch G**, Szapary L. Aspirin resistance in healthy volunteers. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;43(3):263-4. **IF: 1.78**
- 17.** Feher G, Feher A, **Pusch G**, Lupkovics G, Szapary L, Papp E. The genetics of antiplatelet drug resistance. *Clin Genet.* 2009 Jan;75(1):1-18. Review. **IF: 3.304**

- 18. Pusch G**, Feher G, Szomor A, Kover F, Gomori E, Illes Z. Intravascular lymphoma presenting with neurological signs but diagnosed by prostate biopsy: suspicion as a key to early diagnosis. *Eur J Neur.* 2009;16(3):e39-4 10. (2003) suppl. 1. - 59. p. **IF: 2.903**
- 19.** Feher G, **Pusch G**, Szapary L Optical aggregometry and aspirin resistance. *Acta Neurol Scand.* 2009 Feb;119(2):139 **IF: 2.324**
- 20. Pusch G**, Feher G, Koltai K, Tibold A, Gasztonyi B, Papp E, Lupkovics G, Szapary L. Aspirin resistance: focus on clinical endpoints. *J Cardiovascular Pharmacol.* 2008;52(6): 475-84. Review. **IF: 2.29**
- 21. Pusch G**, Szapary L, Alexy T, Horvath B, Kesmarky G, Marton Z, Szots M, Czopf J, Toth K. Effects of antiplatelet drugs on platelet aggregation in the secondary prevention of stroke. In: 7th congress of the European Federation of Neurological Societies. Helsinki, 30 August-2 September 2003 = *European Journal of Neurology*,
- 22.** Szapary L, Horváth B, Márton Zs, Alexy T, Késmárky G, Szóts M, **Pusch G.**, Gaál V, Pálfi A, Koltai K, Juricskay I, Tóth K A krónikus ischaemiás agyérbetegségek haemorheológiai jellemzői *Agyérbetegségek*, 9. (2003) . - 2-7. p.
- 23.** Alexy T, Stef Gy, Márton Zs, Horváth B, Koltai K, Pálfi A, Fehér G, Bócsa Z, **Pusch G**, Szapary L, Késmárky G, Veress G, Tóth K A rutinszerűen alkalmazott trombocita aggregáció gátló kezelés hatékonyságának felmérése érbetegekben *Kardiológus*, 2. (2003). - 5-24. p.

VII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Dr. Illés Zsolt professzor úrnak, aki bevezetett a klinikai szempontokat szem előtt tartó kutatások szemléletébe, azok tervezésébe, kivitelezésébe és ötleteivel, támogatásával segítséget nyújtott az eredmények értelmezésében. Köszönöm a vizsgálatokhoz, valamint a dolgozat megírásához nyújtott minden segítségét.

Szeretnék köszönetet mondani Doktori Iskolánk vezetőjének, Dr. Komoly Sámuel professzor úrnak a támogatásáért és belém vetett bizalmáért.

Köszönöm Dr. Molnár Tihamér adjunktus úrnak, hogy megtanított a klinikai kutatásokban alkalmazott statisztika módszertanára, használatára illetve a kapott eredmények adekvát értékelésére.

Köszönettel tartozom Dr. Kovács Norbert docens úrnak, hogy nagy segítséget nyújtott a Parkinson kóros kontroll betegcsoport összeállításában.

Köszönöm Szapáry László docens úrnak, klinikánkon működő stroke munkacsoport vezetőjének a carotis stenosisban szenvedő betegcsoport összeállításában játszott szerepét.

Köszönöm valamennyi asszisztensnek, elsősorban a korábban sürgősségi ambulanciánkon dolgozó Simon Szilviának és Szurofkáné Margitnak a mintagyűjtésben játszott szerepét.

Köszönöm Pál Attiláné, Mártinak, hogy a vérminták kezelését precízen végezte és dokumentálta.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm családomnak és barátaimnak a támogatást, hogy e munka során végig mellettem álltak.