

Carotis stenosis által kiváltott partialis és keringésleállás okozta globalis cerebralis ischaemia-indukálta gyulladáisos válasz vizsgálata

Doktori (PhD) értekezés tézisek

Dr. Mérei Ákos

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Pécs, 2019



Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskolavezető: Prof. Dr. Bogár Lajos

Programvezető: Dr. Jancsó Gábor

Témavezető: Dr. Mühl Diána egyetemi docens

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. Célkitűzések.....	4
Elektív CAS perioperatív időszakában kutatásaink során vizsgálni kívántuk:	4
CPR-t követően kutatásaink során vizsgálni kívántuk:	4
3. Vizsgálati módszerek	4
3.1. Betegcsoportok.....	5
3.2. Kontroll csoportok.....	6
3.3. Mérési módszerek	6
3.4. Statisztika	8
4. Eredmények	8
4.1. Az MMP-TIMP rendszer vizsgálata elektív CAS kapcsán.....	8
4.2. Cardiopulmonalis resuscitációt követően	10
5. Megbeszélés	16
6. Tézisek	18
7. A szerző publikációi	20
8. Köszönetnyilvánítás	23

1. Bevezetés

Statisztikai adatok alapján a cardiovascularis megbetegedések okozzák a legtöbb halálesetet Európában. Legújabb eredmények szerint a teljes európai mortalitás 45% cardiovascularis eredetű. Az ischaemiás szívbetegség a leggyakoribb cardiovascularis megbetegedés. Az ischaemiás szívbetegség egyik vezető halál oka a hirtelen szívmegállás. Korházon-kívüli hirtelen szívhalál gyakorisága világviszonylatban 38-55/100 ezer fő/ évre tehető. A stroke a második leggyakoribb cardiovascularis halál oka Európában és a fejlett világban, ennek jelentős hányadában az artéria carotis ágrendszer atherosclerosis talaján kialakuló thromboembolia áll. Az artéria carotis szűkületének komplex diagnosztikai és terápiás ajánlásait csakúgy, mint cardiopulmonalis resuscitációt (CPR) és a postresuscitációs ellátást nemzetközi guideline-ok szabályozzák. A postresuscitációs ellátás kulcskérdései a spontán keringés visszatérését (ROSC) követően a túlélés és a neurológiai kimenetel szempontjából kedvező célhőmérséklet optimalizálása (target temperature management), illetve a resuscitációt követő prognosztikai vizsgálatok, utóbbi egyik pillére lehetne a megfelelő érzékenységgű biomarkerek használata.

A mártix-metalloproteinázok (MMP-k) a meztincin szupercsaládba tartozó meghatározott szerkezetű aktív régióval rendelkező cink és kalcium függő endopeptidázok. A humán szervezetben 23 féle MMP azonosítható, melyek fő feladata az extracelluláris mátrix fehérjéinek bontása. Ezen kívül azonosított szerepük van komplikált élettani és patológiai folyamatokban is (morfogenezis, angiogenezis, gyulladásos válasz). A humán szervezetben az MMP-k aktivitásának gátlását a mátrix metalloproteináz szöveti inhibitorok (TIMP) végzik, melyből az emberi szervezetben négyféle fordul elő. A TIMP-ek az MMP-k gátlásán túl, igazoltan a proMMP-hez kapcsolódva azok aktiválódását is befolyásolni képesek, ismert szerepük van a sejt differenciálódás, morfológiai fejlődés és apoptózis szabályozásában is. Intakt agyi endothel funkció mellett az MMP-k és egyéb proteázok termelése minimális. Ischaemiás-reperfúziós agyi károsodás során az MMP-k (elsősorban MMP-9 és MMP-2) expressziója jelentősen fokozódik, ami szerepet játszik az cerebrális endothel, a vér-agy-gát károsodásában és az agyödéma kialakulásában.

Jelen dolgozatban az artéria carotis ágrendszer stenosisa miatt végzett elektív carotis stent behelyezés kapcsán létrejövő partialis, és a CPR-t követő globalis agyi ischaemia-reperfúzió során kialakuló MMP-TIMP rendszer időbeli kinetikáját, az újraélesztés utáni mortalitási mutatókat, a terápiás hipotermia hatását, valamint a protein S100B-t, mint prognosztikai markert kívántuk vizsgálni.

2. Célkitűzések

Elektív arteria crotis stent behelyezés (CAS) perioperatív időszakában kutatásaink során vizsgálni kívántuk:

1. Az MMP-9 időbeli változását.
2. A TIMP-1 időbeli változását.
3. Az MMP-9/TIMP-1 arányának időbeli változását.
4. Társbetegségek és gyógyszeres terápia hatását az MMP-9 és TIMP-1 plazma szintjére.
5. MMP-TIMP rendszer időbeli változását az elektív carotis endarterectomiát (CEA) követően észlelt változásokkal összehasonlítva.

CPR-t követően kutatásaink során vizsgálni kívántuk:

6. A 30 napos mortalitási adatokat.
7. A terápiás hipotermia hatását a 30 napos mortalitásra és a szérum laktát szintjére.
8. A protein S100B prognosztikai marker használatát.
9. Az MMP-9 időbeli változását.
10. A TIMP-1 időbeli változását.
11. Az MMP-9/TIMP-1 arányának időbeli változását.

3. Vizsgálati módszerek

Vizsgálatainkat a 2008-as Helsinkai Deklarációban foglalt etikai ajánlásoknak megfelelően végeztük a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Regionális Kutatásetikai Bizottsága által elfogadott írásos protokollok alapján. A vizsgálatainkhoz tartozó engedélyek számai:4330/2011, 4330/2013, 5016/2013, 5016/2014. A vizsgálatainkat a vizsgálat céljáról és annak menetéről történő részletes tájékoztatás után a bevont betegek, vagy akadályoztatottság esetén hozzátartozójuk írásos beleegyezésével végeztük.

3.1. Betegcsoportok

Az MMP-TIMP rendszer vizsgálata elektív CAS kapcsán

A Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központjában 2013. október 1. és 2015. november 30 között elektív artéria carotis stent behelyezésen átesett betegek kerültek bevonásra prospektív vizsgálatunkba.

Kizárási kritériumok:

- 18 év alatti életkor
- ismert daganatos alapbetegség
- ismert krónikus gyulladásoz vagy autoimmun megbetegedés
- ismert súlyos pszichiátriai alapbetegség
- korábbi, életminőséget súlyosan befolyásoló stroke
- immunválaszt befolyásoló gyógyszeres kezelés (pl. szteroid, citosztatikum)

A bevonni kívánt 30 főből 2 nem egyezett be a vizsgálatba, 3 a kizárási kritériumok miatt nem került bevonásra. Összesen 25 beteg mintáit vizsgáltuk.

Vizsgálatok CPR-t követően

A 30 napos mortalitási adatok és terápiás hipotermia (TH) hatásának retrospektív vizsgálatához Pécsi tudományegyetem Klinikai Központ multidiszciplináris intenzív osztályára 2009 június 1 és 2012 februárja 28 között nem traumás okból végzett CPR-t követően észlelt ROSC után felvett 18 évnél idősebb betegek kerültek bevonásra. A keringés- és légzésleálláshoz vezető ok, és a CPR során észlelt kezdeti szívritmus, krónikus alapbetegség nem szerepelt kizárási kritériumként.

Kizárási kritérium:

- 18 év alatti életkor

Összesen 57 beteg került bevonásra.

A protein S100B prognosztikai marker szerepének vizsgálatához prospektíven 20, 2011 június 15 és 2012 február 28 között nem traumás okból CPR-t követően észlelt ROSC után felvett 18 évnél idősebb betegek kerültek bevonásra. A keringés- és légzésleálláshoz vezető ok, és a CPR során észlelt kezdeti szívritmus, krónikus alapbetegség nem szerepelt kizárási kritériumként

Kizárási kritériumok:

- 18 év alatti életkor

- ismert daganatos alapbetegség

Az MMP-TIMP rendszer vizsgálatát CPR-t követően prospektíven 38, 2011 június 15 és 2012 február 28 között nem traumás okból CPR-t követően észlelt ROSC után felvett 18 évnél idősebb betegek kerültek bevonásra. A keringés- és légzésleálláshoz vezető ok, és a CPR során észlelt kezdeti szívritmus, krónikus alapbetegség nem szerepelt kizárási kritériumként.

Kizárási kritériumok:

- 18 év alatti életkor
- ismert daganatos alapbetegség
- immunválaszt befolyásoló gyógyszeres kezelés (pl. szteroid, citosztatikum)

3.2. Kontroll csoportok

Az MMP-TIMP rendszer vizsgálata elektív CAS kapcsán

Összehasonlító kontroll csoportként egy korábbi vizsgálat során a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központjában 2012. január. 01 és 2012. december. 31 között, elektív CEA-ra előjegyzett betegek randomizált 30 fős alcsoportjának adatait használtuk fel. Ezen korábbi betegcsoportnál kizárási kritériumok az alábbiak voltak:

- 18 év alatti életkor
- ismert daganatos alapbetegség
- korábbi, életminőséget súlyosan befolyásoló stroke
- immunválaszt befolyásoló gyógyszeres kezelés (pl. szteroid, citosztatikum)

Vizsgálatok CPR-t követően

Az MMP-TIMP rendszer CPR-t követő vizsgálatához kontrollként egy 20 fős önkéntes, korban és nemi megoszlásban a vizsgált betegcsoportéhoz illesztett, szemészeti ambulancián megjelent betegekből álló csoportot használtunk. Ezen betegek a vizsgálati csoporttal megegyező arányban rendelkeztek krónikus megbetegedésekkel. Gyulladásos megbetegedés fennállása kizárássá került.

3.3. Mérési módszerek

Mintavételek az MMP-TIMP rendszer vizsgálatához elektív CAS kapcsán

A vizsgálatokhoz artériás vérminták kerültek levételre. A mintavételeket három időpontban végeztük el. Első mintavételi időpont (T1): artériás kanül behelyezésekor a stent behelyezés előtt. Második időpont (T2): 60 perccel a stent behelyezését követően. Harmadik időpont (T3): a beavatkozást követő napon reggel 7 órakor.

Az összehasonlító kontroll csoportként használt elektív CEA-án átesett betegeknél a korábbi vizsgálatunk során négy időpontban történt mintavétel. Első mintavételi időpont (T1): az artériás kanül behelyezését követően, a műtét kezdetét megelőzően. Második időpont (T2): 60 perccel a kirekesztés felengedését követően. Harmadik időpont (T3): a műtétet követő napon reggel 7 órakor. Negyedik időpont (T4): a műtétet követő harmadik napon reggel 7 órakor. A carotis stent behelyezést követően negyedik vérvételt (T4) nem végeztünk, mert a betegek az első vagy második beavatkozást követő napon elbocsátásra kerültek.

Mintavételek a CPR-t követően

CPR-t követően mind a protein S100B, mind az MMP-TIMP rendszer meghatározását artériás vérmintából végeztük négy időpontban. Első időpont (T1): ROSC követően 2 órán belül. Második időpont (T2): ROSC után 24 órával. Harmadik időpont (T3): ROSC után 72 órával. Negyedik időpont (T4): ROSC után 120 órával.

Az MMP-TIMP rendszer vizsgálatához használt kontroll csoportban egy alkalommal történt mintavétel.

A protein S100B mérések menete

Az artériás natív vérmintákat 1500g-vel 10 perig tartó centrifugáltuk. Az így kapott plazmát -80°C -on tároltuk. A protein S100B kvantitatív meghatározását enzyme linked immunosorbent assay technikával (ELISA) végeztük a gyártó előírásainak megfelelően (RD192090100R, BioVendor – Laboratóriumedicina a.s., Brno, Czech Republic). A protein S100B plazma koncentrációit (ng/l) spektrofotométerrel határoztuk meg (Multiskan Ascent „microplate” fotométer Type 354; Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) 450 nanométeres abszorpciós hullámhosszon.

Az MMP-TIMP mérések menete

Az artériás, heparinnal antikoagulált vérmintákat alacsony sebességgel 4°C -on centrifugáltuk. Az így kapott plazmát -80°C -on tároltuk. A mintákból az MMP-9 és a TIMP-1 kvantitatív meghatározását ELISA technikával a gyártó előírásainak megfelelően (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA) végeztük. A plazma koncentrációkat (ng/ml)

spektrofotométerrel határoztuk meg (Multiskan Ascent „microplate” fotométer Type 354; Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) 450 nanométeres abszorpciós hullámhosszon standard MMP-9 és TIMP-1 görbékkel összevetve.

3.4. Statisztika

A statisztikai analíziseket a Statistical Package for the Social Sciences for Windows (SPSS, IBM Corporation, Armonk, NY, USA) programcsomag 21. verziójával készítettük. Az adatelemzést eloszlásvizsgálattal kezdtük (Kolmogorov-Smirnov teszt). Normál eloszlás esetén Student-féle t tesztet, nem normál eloszlást mutató paraméter esetében non-parametrikus teszteket (Wilcoxon és Mann-Whitney U-teszt) használtunk. A beteg és a kontroll csoportok adatait Mann-Whitney U-teszttel vetettük össze. A betegcsoportok adatainak időbeli alakulásának statisztikai elemzését Wilcoxon-teszttel végeztük. A vizsgált paraméterek minimum, maximum, medián és interkvartilis (IQR, standard 25-75 percentilis) értékeit tüntettük fel. Szignifikánsnak a $p < 0,05$ értéket határoztuk meg.

4. Eredmények

4.1. Az MMP-TIMP rendszer vizsgálata elektív CAS kapcsán

Vizsgálatunk során betegszámában, a betegek életkorában, a nemek megoszlásában, a gyógyszeres terápiában, a kísérő betegségek gyakoriságában, a súlyos szövődmények megjelenésében nem volt szignifikáns különbség a CAS csoport és a kontroll CEA csoport között. A plazma MMP-9 és TIMP-1 szinteket egyik vizsgálati időpontban sem befolyásolta a betegek életkora, neme, a beavatkozás oldalisége, korábbi stroke előfordulása, ellenoldali 50%-os arteria carotis stenosis jelenléte, korábbi azonos, vagy ellenoldali carotis intervenció, dohányzás, magasvérnyomás betegség, nem inzulin dependens diabetes mellitus fennállása.

Inzulin analóggal kezelt betegekben a plazma MMP-9 szintje szignifikánsan magasabb volt a második mérési ponton (T2) ($p < 0,05$).

Lipidcsökkentő terápia (statin) és az acetilszalicilát terápia nem módosította a plazma MMP-9 és TIMP-1 szintjét egyik vizsgálati időpontban sem.

Adenozin-difoszfát (ADP) receptor antagonistát szedő betegek T1 időpontban vett mintáiban szignifikánsan alacsonyabb MMP-9 szintet találtunk, mint ilyen típusú thrombocytá aggregációt gátló gyógyszert nem szedő betegekben ($p < 0,05$).

Vizsgálatunk eredményei alapján a plazma MMP-9 és TIMP-1 szinteket nem befolyásolta sem a beavatkozás során észlelt hipertenzió, sem a hipotenzió.

A CEA csoportban szignifikánsan magasabb plazma MMP-9 szintet találtunk a T3 időpontban a T1 mérési időpont értékeihez képest ($p < 0,05$). A CAS betegcsoportban nem volt szignifikáns különbség az egyes mérési időpontokban észlelt plazma MMP-9 szintek között. A T3 időpontban vett mintákban a CAS csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt az MMP-9 szint, mint a CEA csoportban ($p < 0,05$) (1. táblázat).

1. táblázat: Plazma MMP-9, TIMP-1 szintek és MMP-9/TIMP-1 arány CAS és CEA kapcsán.

	Csoport	T1	T2	T3	T4
MMP-9 (ng/ml)	CEA	290.9±112.1	284.7±247.5	488.6±249.8*	382.9±285.4
	CAS	259.8±244.9	239.1±221.3	180.9±159.7#	
TIMP-1 (ng/ml)	CEA	117.3±43.2	81.7±73.9*	88.5±41.6	117.2±52.3
	CAS	93.5±30.9	61.7±28.8*	70.7±30.2	
MMP-9/ TIMP-1	CEA	2.73±1.37	4.39±2.69	6.41±3.86*	3.40±2.50
	CAS	2.78±1.88	4.33±3.05	2.26±1.79#	

A táblázatban az adatokat átlag ± standard eltérés formájában ábrázoltuk. CEA: carotis endarterectomia kontroll csoport; CAS: carotis stent behelyezéssel átesett betegcsoport; T1: közvetlen az artéria punkciókor vett (preoperatív) minta; T2: 60 perccel a carotis kirekesztés felengedése után/stent behelyezése után vett minta; T3: az első beavatkozást követő napon vett minta; T4: a harmadik beavatkozást követő napon vett minta; *: $p < 0,05$ T1 időpontban vett mintához képest; #: $p < 0,05$ CEA csoporthoz képest.

Szignifikánsan alacsonyabb plazma TIMP-1 koncentrációkat találtunk mindkét betegcsoportban a T2 időpontban vett mintákban ($p < 0,05$) (1. táblázat)

A CEA csoportban szignifikánsan magasabb plazma MMP-9/TIMP-1 arányt találtunk a T3 időpontban T1 mérési időpontban talált értékhez képest ($p < 0,05$). A T3 időpontban vett mintákban a CAS csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt az MMP-9/TIMP-1 arány, mint a CEA csoportban ($p < 0,05$) (1. táblázat).

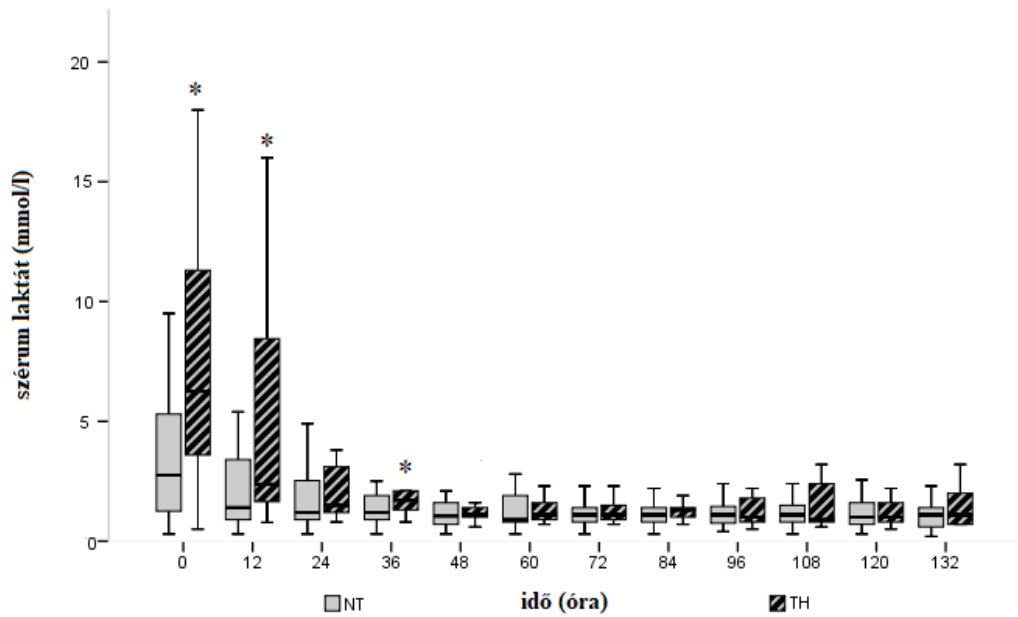
4.2. Cardiopulmonalis resuscitációt követően

Mortalitási adatok

A vizsgált 57 beteg (férfi: 38, nő:19) átlagéletkora 62 év volt. Az átlagéletkor nem különbözött a nemek között (64 vs 61 év). A cardiopulmonalis resuscitatio átlagos ideje 14,5 perc volt (minimum: 1 perc, maximum: 50 perc). ROSC-t követően terápiás hipotermiában 22 beteg részesül. A 30 napos halálozást 74%-nak találtuk, ami sem a betegek életkorával, sem a nemével nem mutatott összefüggést. Vizsgálatunkban a terápiás hipotermia alkalmazása nem járt a 30 napos halálozás javulásával (73% vs. 74%). A CPR hossza nem mutatott összefüggést a 30 napos halálozással. Nem volt szignifikáns különbség a CPR kezdetén észlelt szívritmusok mortalitási arányaiban (kamrafibrilláció: 73%, pulzus nélküli elektromos aktivitás: 71%, asystolia: 78%). A túlélők és elhunytak SAPSII értékei nem különböztek. Az intenzív osztályos felvételkor észlelt Glasgow Coma Scale (GCS) érték szignifikáns összefüggést mutatott a 30 napos halálozási értékekkel ($p < 0,05$). GCS: 6 cutt-off érték alatt szignifikánsan magasabb volt a 30 napos mortalitás.

Terápiás hipotermia hatása

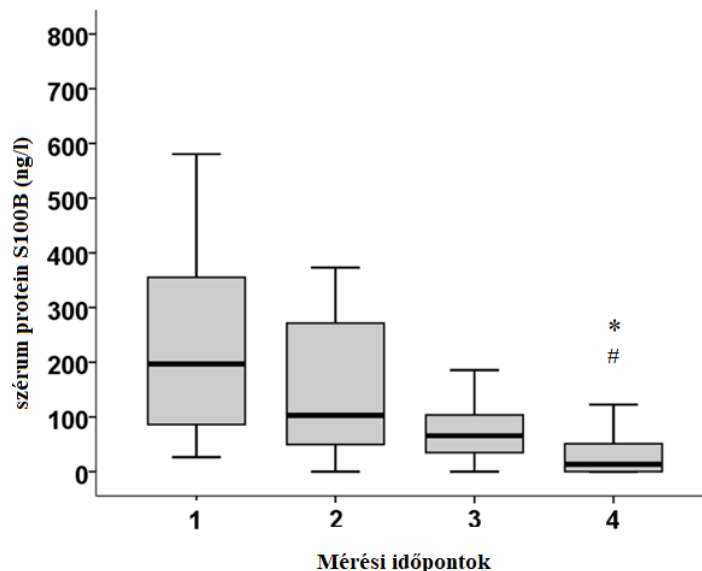
Vizsgálatunkban a terápiás hipotermia nem járt a 30 napos halálozás javulásával (73% vs. 74%). A betegek szérum laktát szintje szignifikánsan magasabb volt a terápiás hipotermia elérését követően (0h $p=0,006$) valamint a ROSC után 12 ($p=0,045$) és 36 órával ($p=0,049$). A terápiás hipotermia elérését követően vett első mintában a szérum laktát koncentrációjának mediánja több mint kétszerese volt a normotermiás betegekéhez viszonyítva (6.3 mmol/l vs 2.8 mmol/l). Terápiás hipotermia és normotermia esetén egyaránt a szérum laktát szint normál tartományba került a ROSC után 24 órával vett mintákban (1. ábra).



1. ábra: Szérum laktát koncentrációk normotermia (NT –szürke) és terápiás hipotermia (TH –sávos) esetén. Az adatok minimum, maximum, medián és interkvartilis tartomány (IQR) formájában láthatóak. *: $p < 0.05$ az NT csoporthoz viszonyítva.

Protein S100B eredmények

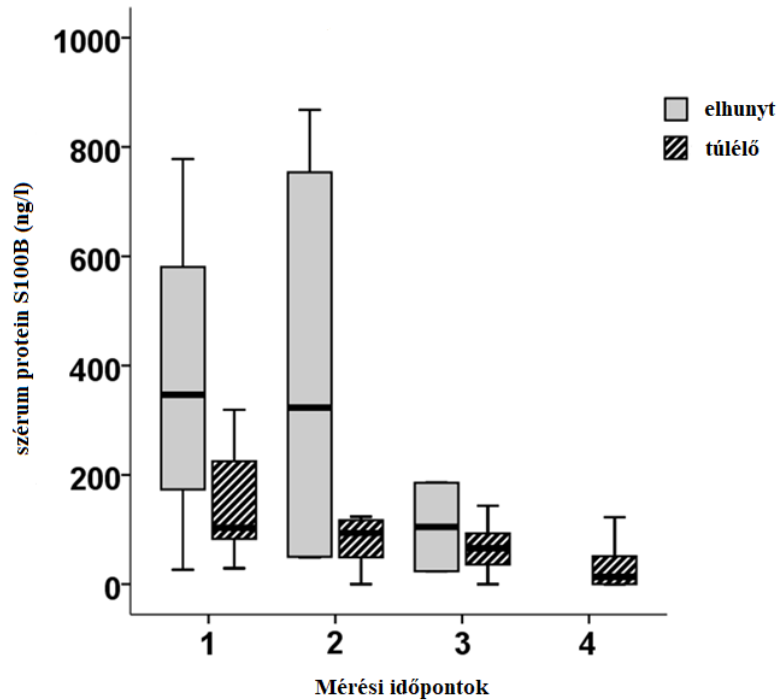
A negyedik mérési időpontban vett mintákban szignifikánsan alacsonyabb protein S100B koncentrációit találtunk az első ($p=0,001$) és a második ($p=0,019$) mérési időpontban talált koncentrációkhoz képest (2. ábra).



2. ábra: A szérum protein S100B koncentrációjának változása CPR-t követően. Mérési időpontok: 1: ROSC követően 2 órán belül vett minta; 2: ROSC után 24 órával vett minta; 3: ROSC után 72 órával vett minta; 4: ROSC után 120 órával vett minta. Az adatok minimum,

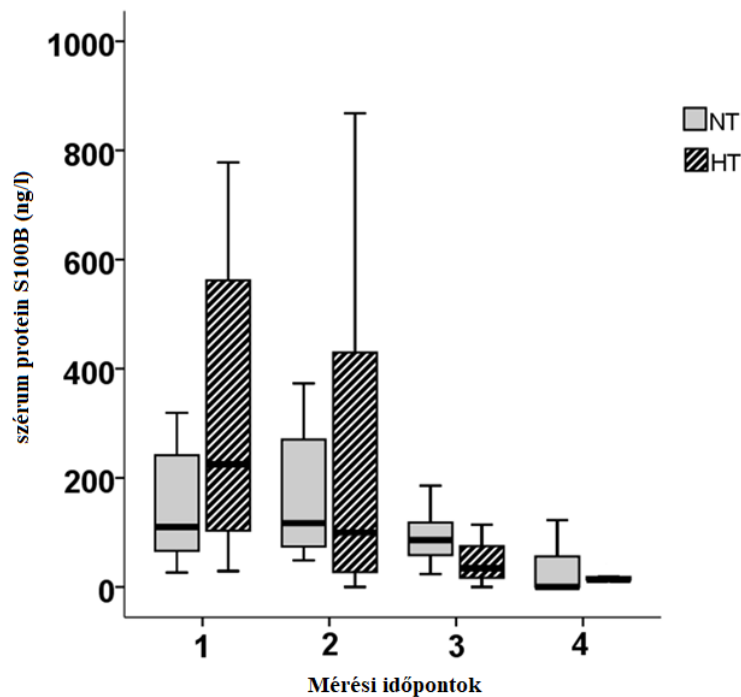
maximum, medián és interkvartilis tartomány (IQR) formájában láthatóak. *: $p < 0,05$ az első mérési időponthoz viszonyítva; #: $p < 0,05$ a második mérési időponthoz viszonyítva.

Az elhunytak és túlélők mintáiban mért protein S100B koncentrációi között szignifikáns különbséget nem találtunk, de az elhunytak első és második mérési időpontban mért értékek emelkedő tendenciát mutatnak (3. ábra).



3. ábra: A szérum protein S100B koncentrációjának változása elhunytak (szürke) és túlélő betegek (sávozott) mintáiban CPR-t követően. Mérési időpontok: 1: ROSC követően 2 órán belül vett minta; 2: ROSC után 24 órával vett minta; 3: ROSC után 72 órával vett minta; 4: ROSC után 120 órával vett minta. Az adatok minimum, maximum, medián és interkvartilis tartomány (IQR) formájában láthatóak.

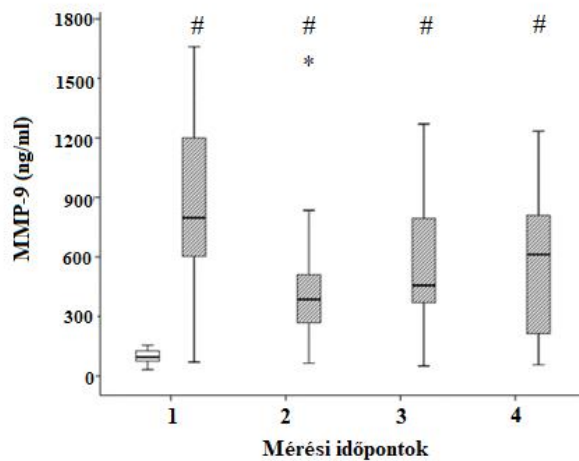
Terápiás hipotermia alkalmazása esetén nem észleltünk szignifikáns eltérést a protein S100 koncentrációkban normotermiás betegekhez viszonyítva (4. ábra).



4. ábra: A szérum protein S100B koncentrációjának változása normotermia (szürke) és terápiás hipotermia (sávozott) alkalmazása esetén CPR-t követően. Mérési időpontok: 1: ROSC követően 2 órán belül vett minta; 2: ROSC után 24 órával vett minta; 3: ROSC után 72 órával vett minta; 4: ROSC után 120 órával vett minta. Az adatok minimum, maximum, medián és interkvartilis tartomány (IQR) formájában láthatóak.

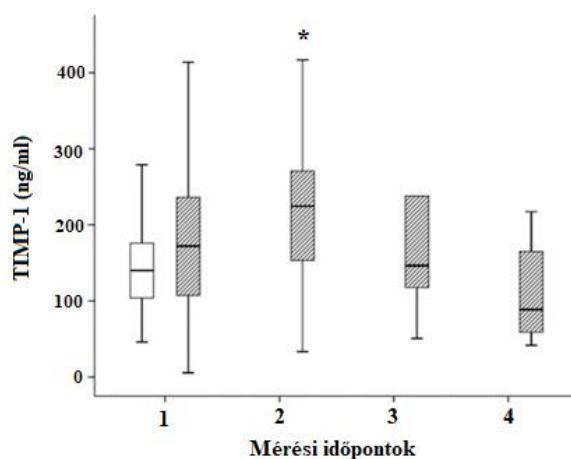
Az MMP-TIMP rendszer vizsgálata

CPR-t követően az T1 időpontban a kontroll csoporthoz képest szignifikánsan magasabb plazma MMP-9 koncentrációt mértünk ($p=0,001$). Az MMP-9 plazma szintje a teljes vizsgálat alatt szignifikánsan emelkedett maradt ($p= 0,001- 0,015$) a kontrollhoz képest. A T2 időpontban szignifikánsan alacsonyabb MMP-9 koncentrációt észleltünk az első mérési időponthoz (T1) viszonyítva ($p=0,009$), majd a negyedik mérési időpontra (T4) fokozatosan a kezdeti szintre emelkedő értékeket találtunk (5. ábra).



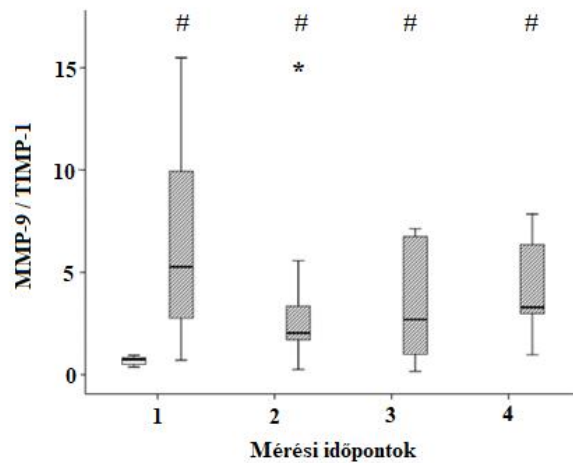
5. ábra: A plazma MMP-9 változása CPR követően (szürke) a kontroll csoporthoz (fehér) viszonyítva. Mérési időpontok: 1: ROSC követően 2 órán belül vett minta; 2: ROSC után 24 órával vett minta; 3: ROSC után 72 órával vett minta; 4: ROSC után 120 órával vett minta. Az adatok minimum, maximum, medián és interkvartilis tartomány (IQR) formájában láthatóak. *: $p < 0,05$ az első mérési időponthoz viszonyítva; #: $p < 0,05$ a kontroll csoporthoz viszonyítva.

A CPR-t követően a plazma TIMP-1 szintje a kontroll csoportban mért szinthez képest nem tért el egyik vizsgálati időpontban sem ($p=0,1 - 0,678$). A T1 értékhez képest a T2 mérési időpontban szignifikáns emelkedést észleltünk a plazma TIMP-1 szintjében ($p=0,041$), mely később (T3) a kezdeti szintre tért vissza és azon a szinten maradt (T4) (6. ábra).



6. ábra: A plazma TIMP-1 változása CPR-t (szürke) a kontroll csoporthoz (fehér) viszonyítva. Mérési időpontok: 1: ROSC követően 2 órán belül vett minta; 2: ROSC után 24 órával vett minta; 3: ROSC után 72 órával vett minta; 4: ROSC után 120 órával vett minta. Az adatok minimum, maximum, medián és interkvartilis tartomány (IQR) formájában láthatóak. *: $p < 0,05$ az első mérési időponthoz viszonyítva

Az MMP9/TIMP-1 arány minden mérési pontnál szignifikánsan magasabb volt a kontrollhoz viszonyítva ($p= 0,001 - 0,015$). A T2 mérési pontban szignifikánsan alacsonyabb MMP9/TIMP-1 arányt mértünk, mint a kiindulási érték ($p=0,001$), majd az arány fokozatosan emelkedett a kiindulási irányba (7. ábra).



7. ábra: A plazma MMP-9 /TIMP-1 arányának változása CPR-t követően (szürke) a kontroll csoporthoz (fehér) viszonyítva. Mérési időpontok: 1: ROSC követően 2 órán belül vett minta; 2: ROSC után 24 órával vett minta; 3: ROSC után 72 órával vett minta; 4: ROSC után 120 órával vett minta. Az adatok minimum, maximum, medián és interkvartilis tartomány (IQR) formájában láthatóak. *: $p < 0,05$ az első mérési időponthoz viszonyítva; #: $p < 0,05$ a kontroll csoporthoz viszonyítva.

5. Megbeszélés

Az arteria carotis interna extracranialis szakaszának intervenciói világszerte a relatíve gyakori érsebészeti és intervencióos radiológiai beavatkozások közé tartoznak. Bár jelenleg „arany standard” beavatkozásnak a CEA tekinthető, a bevezetőben említett nemzetközi ajánlások szerint megfelelő indikáció és betegszelekció esetén a CAS a CEA-val megegyező effektivitású, de kisebb invazivitású, a beteg számára kisebb műtéti megterheléssel járó intervencióos módnak tekinthető. Az MMP-TIMP rendszert CEA és CAS beavatkozást követően vizsgáló korábbi tanulmányok a beavatkozás után csak egy időpontban értékelték az MMP és TIMP szinteket. Az MMP-TIMP rendszer szerepét az agyi ischaemia-reperfúzió kapcsán több tanulmány felvetette. TIA-t vagy ischaemiás stroke-ot követően, az MMP szintek emelkedése mellett a TIMP plazma szintjének egyidejű csökkenése kialakulhat az ischaemiás agyi károsodás, majd a későbbi (szubakut) szakaszban a központi idegrendszer remodelációjának hatására is. Az MMP-TIMP rendszer elektív CAS és CEA során végzett vizsgálati eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a két beavatkozás perioperatív szövődmény gyakoriságában nem találtunk szignifikáns eltérést. Az endovascularis eljárás kisebb változást indukál az MMP-9, TIMP-1 szintekben, melyből arra lehet következtetni, hogy a klinikai tünetekkel nem járó szubklinikai központi idegrendszeri károsodás mértéke kisebb lehet. Ennek hátterében elsősorban a vér-agy-gát mérsékelt diszfunkciója és/vagy a microembolisatio alacsonyabb volta állhat, de szerepe lehet az arteria carotisban a beavatkozás során észlelhető véráramlás csökkenés mértékének és időtartamának is.

Légzés- és keringésleállást követően a teljes szervezetet érintő globális ischaemia és anoxia alakul ki. A következményes sejtkárosodás mértékét alapvetően meghatározza az ischaemia hossza, a sejt egyéni rezisztenciája és az extracelluláris környezet állapota. Vizsgálatunk elvégzése idején az ERC 2010-ben kiadott ajánlása volt érvényben, mely alapján sokkolandó ritmus miatt reanimált, komatózus beteg postresuscitatio ellátása során 12-24 órára enyhe terápiás hipotermia (32-34°C maghőmérséklet) alkalmazását javasolta a betegek neurológiai kimenetelének javítása céljából. Eredményeink alapján nem találtunk különbséget a 30 napos mortalitási adatokban a terápiás hipotermia alkalmazása esetén, ugyanakkor terápiás hipotermia hatására a szérum laktát szint magasabb volt a kezdeti és a ROSC után 12. és 36. órában vett mintákban, mint normotermia esetén. Az emelkedett laktátszint irodalmi eredmények alapján a ROSC-t követően korrelál a mortalitással és a neurológiai kimenetellel.

A protein S100B egy kisméretű savas protein, mely a kalcium-kötő proteincsalád tagja. Élettani körülmények között szerepe van a sejtproliferációban, differenciációban és a kalcium-homeosztázis szabályozásában. Egészséges egyéneknél a szérumban a szintje elhanyagolható mennyiségű ($<0,05 \mu\text{g/l}$). Az intakt vér-agy-gáton nem jut át, ezért a vér-agy-gát permeabilitás fokozódásának markereként is vizsgálták. Vizsgálatunk során a felvételt követően és a ROSC-ot követő első napon a 30 napos mortalitást figyelembe véve az elhunytak között a protein S100B szintekben emelkedő tendenciát észleltünk a túlélőkhöz viszonyítva, de szignifikáns különbséget nem sikerült igazolnunk. A terápiás hipotermia alkalmazása esetén nem találtunk különbséget a protein S100B szérumban a normotermiával kezelt betegekhez képest. Nem volt különbség a 30 napos mortalitásban sem a két csoport között. A jelenleg aktuális 2015-ös ERC ajánlás a protein S100B-ről említést tesz, mint lehetséges biomarkerről, melynek korrelálhat az anoxiás-ischaemiás károsodás mértékével és így a neurológiai kimenetel súlyosságával. Az S100B fő limitációja a definiált küszöbérték hiánya, mely miatt CPR-t követő prognosztikai markerként való használata nem javasolt.

Az MMP-TIMP rendszer és az MMP-9 szerepét fokális agyi ischaemia során több kutatócsoport is vizsgálta. A globális agyi ischaemia-reperfúzió kapcsán az ismeretek szegényesek. Vizsgálatunk fő célkitűzése sikeres CPR-t követően kialakult globális agyi ischaemia és reperfúzió kapcsán az MMP-9, a TIMP-1 és ezek arányának időbeli változásának elemzése humán populációban. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a MMP-9 szintje ROSC-t követően megemelkedik és szintje egy átmeneti csökkenést követően, de végig magas marad egészen a CPR-t követő 5. napig. A TIMP-1 szintje közvetlenül a ROSC-t követően nem magas, viszont a CPR után 1 nappal megemelkedik, majd ismét a normál tartományba süllyed. Az MMP-9/TIMP-1 arány a CPR-t követő 5 napban mindvégig magasabb a normálnál, de átmenetileg csökken a 24. órában. Az ischaemiás-reperfúziós károsodást követően létrejövő MMP-9 szint emelkedést a TIMP-1 szint emelkedése csak kismértékben követi, erre utal az általunk igazolt magas MMP-9/TIMP-1 arány is. Az MMP-9, mint proteáz, magas koncentrációban a fő szöveti inhibitor hiányában emelkedett proteolitikus kapacitása által a gyulladáshoz vezet. Ez magyarázata lehet a globális agyi ischaemiás-reperfúziós károsodást követő, gyakran tapasztalható jelentős neurológiai funkcióvesztésnek.

6. Tézisek

Az elektív arteria carotis stent behelyezést perioperatív időszakában az MMP-TIMP rendszer vizsgálata során az alábbiakat állapítottuk meg:

1. Az arteria carotis interna stenosis miatt végzett intervenciók során az MMP-9 és TIMP-1 szintjét nem befolyásolja a betegek életkora, neme, a beavatkozás oldalisége, a korábbi nem major stroke előfordulása, az ellenoldali 50%-ot meghaladó arteria carotis stenosis jelenléte, a korábbi azonos, vagy ellenoldali carotis intervenció, a dohányzás, a magasvérnyomás betegség és a nem inzulin dependens diabetes mellitus fennállása.
2. Az arteria carotis interna stenosis miatt végzett intervenciók után 1 órával az inzulin analóggal kezelt diabetes mellitusos betegekben magasabb MMP-9 szint mérhető, melynek okát egyelőre nem tudjuk magyarázni.
3. Az ADP receptor antagonistá hatású thrombocytá aggregáció gátló szerek alkalmazása esetén – melyek irodalmi adatok alapján ischaemiás stroke-t követően az MMP-9 szintet csökkentik – az intervenciót megelőzően alacsonyabb MMP-9 szint mérhető. Ez pozitív hatású lehet elsősorban az atheroscleroticus plakk instabilitása szempontjából. Eredményeink alapján ez a hatás a beavatkozást követően a vizsgált posztoperatív szakban már nem észlelhető.
4. CAS perioperatív időszakában az MMP-9 szintje érdemben nem változik, míg CEA-t követően az első postoperatív napon emelkedik, majd a kezdeti szintre csökken. A reperfüziót követő napon CAS után alacsonyabb MMP-9 mérhető, mint CEA-t követően.
5. A TIMP-1 perioperatív kinetikája mindkét beavatkozás után azonos, közvetlenül a reperfüziót követően csökken, majd a kiindulási szintre emelkedik. Ez a fokozott ECM átalakulás jeleként értelmezhető.
6. Az MMP-9/TIMP-1 arány CAS után nem változik, míg CEA műtöttekben az első postoperatív nap emelkedik, majd a kezdeti szintre csökken. A reperfüziót követő napon CAS után alacsonyabb az MMP-9/TIMP-1 arány, mint CEA-n átesett betegekben. Ennek hátterében elsődlegesen az MMP-9 szint eltérő perioperatív kinetikája áll, a TIMP-1 szerepe az eredményeink alapján nem jelentős.
7. CAS és CEA kapcsán az MMP-TIMP rendszerben észlelt változás legvalószínűbb oka – az irodalmi adatokkal összevetve – a beavatkozás során kialakuló vér-agy-gát diszfunkció és/vagy microembolisatio mértékének különbsége.
8. A perioperatív szövődmények gyakoriságában eltérést nem tudtunk igazolni, de a MMP-TIMP rendszer perioperatív változása felvetheti a klinikai tünetekkel nem járó (szubklinikai)

mértékű központi idegrendszeri károsodás lehetőségét, ennek későbbi következménye nem tisztázott.

A cardiopulmonalis resuscitációt követően végzett vizsgálataink alapján az alábbiakat állapítottuk meg:

- 1.** CPR után a terápiás hipotermia alkalmazása nem jár kedvezőbb kimenetellel a 30 napos mortalitást végpontnak tekintve.
- 2.** CPR-t követően 24 órán át fenntartott terápiás hipotermia esetén a ROSC-t követően 12 és 36 órával magasabb szérumszintet mértünk, mint normotermia esetén. Az irodalmi eredmények alapján a ROSC-t követően a korai szakaszban (12-24 óra) észlelt magas laktát szint prediktív a kedvezőtlen neurológiai kimenetelre.
- 3.** A 30 napos mortalitást figyelembe véve, a túlélők és az elhunytak szérumszintje között nem találtunk egyértelmű különbséget.
- 4.** Terápiás hipotermia és normotermia alkalmazása esetén a protein S100B szintek nem különböztek, mely párhuzamban áll azzal, hogy a 30 napos mortalitásban sem találtunk különbséget.
- 5.** CPR-t követően az MMP-9 szintje tartósan (legalább 5 napig) emelkedett a normál értékhez képest, de a ROSC után 24 órával átmenetileg csökken a szintje.
- 6.** CPR után a TIMP-1 csak a ROSC-t követő 24. órában emelkedett. Ez irodalmi adatok alapján elsősorban a reperfüzió során kialakuló megemelkedett ECM átépülésre utal.
- 7.** CPR után a MMP9/TIMP-1 arány tartósan magas, de a ROSC után 24 órával átmenetileg csökkenő kinetikát mutat.
- 8.** A CPR-t követően észlelt MMP-9 és TIMP-1 kinetika alapján megállapítható, hogy az MMP-9, mint proteáz magas koncentrációban a fő szöveti inhibitorának relatív hiányában a gyulladásos válasz fokozódásához vezethet, ennek szerepe lehet a globális agyi ischaémia-reperfüziós károsodás kedvezőtlen neurológiai kimenetelében.

7. A szerző publikációi

A tézisben szereplő vizsgálatokhoz kapcsolódó publikációk listája:

1. **Merei, A** ; Nagy, B ; Woth, G ; Lantos, J ; Kover, F ; Bogar, L ; Muhl, D: Comparison of the perioperative time courses of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitor (TIMP-1) during carotid artery stenting (CAS) and carotid endarterectomy (CEA). BMC Neurology 18 : 1 p. 128 Paper: 128 , 7 p. (2018) *IF (2017): 2,170*
2. **Mérei, Ákos**; Nagy, Bálint ; Woth, Gábor ; Nóra, Zsidó ; Lantos, János ; Mühl, Diána: Effects of therapeutic hypothermia and kinetics of serum protein S100B after cardiopulmonary resuscitation *Signa Vitae* 10 : 2 pp. 109-130. (2015) *IF: 0,154*
3. Nagy, B ; Woth, G ; **Mérei, Á** ; Nagy, L ; Lantos, J ; Menyhei, G ; Bogár, L ; Mühl, D: Perioperative time course of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), its tissue inhibitor TIMP-1 & S100B protein in carotid surgery *Indian Journal Of Medical Research* 143 : 2 pp. 220-226. , 7 p. (2016) *IF: 1,532*

Előadás kivonatok:

1. **Mérei Á**, Nagy B, Woth G, Zsidó N, Lantos J, Mühl D: Terápiás hypothermia effektusa és protein S100B kinetika reanimációt követően. *Aneszteziológia és Intenzív Terápia*. 2014;44(S1):15.
2. Nagy B, Woth G, **Mérei Á**, Lantos J, Bogár L, Mühl D: Dynamics of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) after cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation*. 2015;96S:137. *IF:5,414*
3. Nagy B, Woth G, **Mérei Á**, Nagy L, Lantos J, Menyhei G, Bogár L, Mühl D: Mátrix metalloproteinázok és endogén inhibitoraik vizsgálata carotis endarterectomián átesett betegeken. *Érbetegségek*. 2013;20(4):96-97.
4. Nagy B, Woth G, **Mérei Á**, Nagy L, Lantos J, Menyhei G, Bogár L, Mühl D: When should we measure matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 regarding postoperative cognitive dysfunction after carotid surgery? *European Surgical Research*. 2014;52S:134. *IF: 2,474*
5. Nagy B, Woth G, **Mérei Á**, Nagy L, Lantos J, Menyhei G, Bogár L, Mühl D: A mátrix metalloproteináz-9 (MMP-9) – endogén szöveti inhibitor-1 (TIMP-1) rendszer perioperatív vizsgálata carotis endarterectomián átesett betegeken. *Aneszteziológia és Intenzív Terápia*. 2014;44(S1):4.

A tézisben szereplő vizsgálatokhoz nem kapcsolódó publikációk listája:

1. Mühl, D; **Mérei, Á**: Rekedtség háttérében álló életveszélyes aorta plakkruptúra: Hoarseness as a result of life-threatening aortic plaque rupture Aneszteziológia és Intenzív Terápia 46 : 3 pp. 40-45. (2016)
2. Rendeki S; Keresztes D.; Woth G; **Mérei Á**; Rozanovic M; Rendeki M; Farkas J; Mühl D ; Nagy B: Comparison of VividTrac®, Airtraq®, King Vision®, Macintosh Laryngoscope and a Custom-Made Videolaryngoscope for difficult and normal airways in mannequins by novices BMC Anesthesiology 17(1):68.6 p. (2017) *IF:1,788*
3. Woth, G ; Nagy, B ; **Merei, A** ; Ernyey, B ; Vincze, R ; Kaurics, Z ; Lantos, J ; Bogar, L; Muhl, D: The effect of Na-selenite treatment on the oxidative stress-antioxidants balance of multiple organ failure. Journal of Critical Care 29 : 5 pp. 883.e7-883.e11. (2014) *IF: 1,995*
4. Mikolás E, Cseh J, Pap M, Szijártó I A, Balogh A, Laczy B, Bekő V, Fisi V, **Mérei A**, Molnár G A, Szeberényi J, Wittmann I :Effects of erythropoietin on glucose metabolism Hormone and Metabolic Research 44:(4) pp. 279-285. (2012) *IF: 2,145*
5. Nagy G, Szijarto IA, Gaszner B, Lanyi E, Marko L, **Merei A**, Molnar GA, Nemeth K, Betlehem J, Wittmann I: Effects of Mono- and Dual Blockade of the Renin-Angiotensin System on Markers of Cardiovascular Status in Hypertensive Patients with Mild and Moderate Renal Failure Kidney & Blood Pressure Research 34:(3) pp. 150-157. (2011) *IF: 1,464*
6. Brasnyo P, Molnar GA, Mohas M, Marko L, Laczy B, Cseh J, Mikolas E, Szijarto IA, **Merei A**, Halmai R, Meszaros LG, Sumegi B, Wittmann I: Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients British Journal of Nutrition 106:(3) pp. 383-389. (2011) *IF:3,013*
7. Mohás M, Kisfali P, Baricza E, **Mérei A**, Maász A, Cseh J, Mikolás E, Szijártó I A, Melegh B, Wittmann I:A Polymorphism within the Fructosamine-3-kinase Gene is Associated with HbA1c Levels and the Onset of Type 2 Diabetes Mellitus Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes 118:(3) pp. 209-212. (2010) *IF: 1,826*
8. Wagner Z, **Mérei Á**, Wittmann I: Az emelkedett húgysavszint csökkentésének lehetőségei hypertóniában Granum 12:(4) pp. 5-7. (2009)

9. Szigeti N, Fábíán Gy, László T, **Mérei Á**, Wittmann I: Ritka vérzésforrás a felső emésztőrendszerben – a görögdinnyegyomor Magyar Belorvosi Archivum 62:pp. 129-134. (2009)
10. Szigeti N, Molnár G A, Markó L, Fábíán Gy, Cseh J, **Mérei Á**, Szijártó I, Wittmann I: Microalbuminuria colorectalis carcinomában Magyar Belorvosi Archivum 6:pp. 460-465. (2009)
11. Markó L, Mikolás E, Molnár G A, Wagner Z, Kőszegi T, Szijártó I A, Mohás M, Matus Z, Szabó Z, Böddi K, **Mérei Á**, Wittmann I: Normo- és microalbuminuriás cukorbetegekben a HPLC-vel mért vizeletalbumin-fluoreszcencia a vesefunkciós paraméterekkel függ össze, nem a glikémiás értékekkel Diabetologia Hungarica 17:(3) pp. 229-238. (2009)
12. Marko L, Molnar GA, Wagner Z, Boddi K, Koszegi T, Szabo Z, Matus Z, Szijarto I, **Merei A**, Nagy G, Wittmann I: Measurement of the modification and interference rate of urinary albumin detected by size-exclusion HPLC Physiological Measurement 30:(10) pp. 1137-1150. (2009) *IF: 1,430*
13. Markó L, Szijártó I A, Cseh J, Kőszegi T, Szabó Z, Molnár G A, Matus Z, **Mérei Á**, Wittmann I: A HPLC-vel mérhető vizeletalbumin koncentrációja -80 °C-os tárolás során jelentősen csökken. Lehetséges mechanizmusok és következmények Hípertonia és Nephrologia 13:(2) pp. 88-93. (2009)

Előadás kivonatok:

1. Nagy B, Woth G, **Mérei Á**, Lantos J, Bogár L, Mühl D: Altered balance of matrix metalloproteinases and their natural inhibitors during severe sepsis. Infection. 2013;41S:7-8. *IF: 2,864*
2. Woth G, Nagy B, **Mérei Á**, Ernyey B, Kaurics Z, Vincze R, Lantos J, Bogár L, Mühl D: The effect of sodium selenite substitution on oxidative stress markers and antioxidants in severe sepsis. Infection. 2013;41S:57. *IF: 2,864*
3. G, Woth ;B, Nagy; **A, Merei** ; B, Ernyey ; Z, Kaurics ; R, Vincze ; J, Lantos ;L, Bogar ; D, Muhl: Szelén szupplementáció hatása a súlyos szepszis során kialakuló oxidatív stresszre Aneszteziológia és Intenzív Terápia 43 : S1 p. 19 (2013)
4. Szijarto IA, **Merei A**, Fisi V, Fesus G, Cseh J, Mikolas EZ, Molnar GA, Wittmann I: Does Oxidative Stress Affect the Vasoactive Effect of Insulin? Kidney & Blood Pressure Research 35:(6) p. 42. (2010) *IF: 1,500*

5. Halmai R, Szijarto IA, Degrell P, **Merei A**, Brasnyo P, Wittmann I: Chronic cigarette smoking could contribute to diabetic nodular glomerulosclerosis Diabetologia. 2010; 53:(Suppl1) S475. *IF: 6,973*
6. Brasnyo P, Molnar GA, Mohas M, Marko L, Laczy B, Cseh J, Mikolas E, Szijarto IA, **Merei A**, Halmai R, Meszaros LG, Sumegi B, Wittmann I: Effect of resveratrol on insulin sensitivity, oxidative stress and Akt pathway in humans Diabetologia 2010,53 (Suppl1) S1-S556. *IF: 6,973*
7. Brasnyó P, Molnár G A, **Mérei Á**, Cseh J, Mikolás E, Halmai R, Mészáros G L, Sümegi B, Wittmann I: Rezveratrol hatása 2-es típusú diabeteses betegekben. Új eredményeink Diabetologia Hungarica 18:(S1) pp. 63-64. (2010)
8. Szijártó I A, **Mérei Á**, Fisi V, Fésüs G, Cseh J, Mikolás E Zs, Molnár G A, Wittmann I: Az oxidatív stressz befolyásolhatja az inzulin vazoaktív hatását? Diabetologia Hungarica 18:(S1) pp. 205-206. (2010)

Kumulatív IF: eredeti közlemény: 17,517 előadás kivonat: 29,062

8. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek Dr. Mühl Diánának elmúlt évek alatt nyújtott megszámlálhatatlan erőfeszítése nélkül tudományos munkám nem készülhetett volna el. Köszönet illeti minden kutatótársamat, különösen Dr. Nagy Bálint és Dr. Woth Gábor adjunktus urakat, akik szakmai segítségére, javaslataira és tanácsaira munkám során bármikor számíthattam. Szeretném köszönetemet kifejezni Dr. Lantos János Tanár Úrnak, hogy kimagasló kutatói ismeretével a dolgozatban bemutatott vizsgálatok laboranalitikai háttértudását biztosította. Köszönet illeti Dr. Kövér Ferenc Főorvos Urat, aki vizsgálatok alapjául szolgáló endovaszkuláris beavatkozásokat végezte. Szeretném megköszönni munkahelyi vezetőmnek Prof. Dr. Bogár Lajosnak, hogy támogatta és lehetővé tette tudományos munkám elvégzését. Köszönettel tartozom Prof. Dr. Dóczi Tamásnak és Prof. Dr. Büki Andrásnak, hogy az Idegsebészeti Klinikán végzett intézetvezetői munkájukkal a vizsgálatokat lehetővé tették és támogatták. Szintén köszönettel tartozom Prof. Dr. Menyhei Gábornak és az Érsebészeti Klinikán dolgozó kollégáinak. Hálával tartozom a Döme Tibornének és Tóthné Fajtik Csillának a vizsgálati minták levételében és feldolgozásában nyújtottak segítséget.

Szintén hálával tartozom az Idegsebészeti Klinika Neurointervenciós Labor aszisztenseinek és munkatársainak a mintavételben nyújtott segítségükért. Köszönet illeti a PTE KK Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet és a PTE KK Idegsebészeti Klinika és a PTE ÁOK Sebészeti Oktató és Kutató Intézet további dolgozóit. Külön köszönöm a vizsgálatokban részt vevő betegeknek, illetve hozzátartozóiknak, akik vállalták a tudományos kutatásunkban történő részvételt.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani családomnak, szüleimnek, testvéremnek és páromnak, hogy mindvégig mellettem álltak, biztattak olykor nélkülöztek, de támogatásukkal lehetővé tették fenti munkám elvégzését.