

Új, prediktív biomarkerek vizsgálata aneurysma ruptúra okozta subarachnoid vérzést elszenvedett betegek esetében

Doktori (Ph.D.) tézis

Dr. Schranz Dániel

Klinikai Idegtudományi Doktori Iskola

**Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar**



Témavezető: Dr. Csécsesi Péter, Ph.D.

Doktori Iskola vezetője: Dr. Komoly Sámuel, Ph.D., D.Sc.

Idegsebészet Programvezető: Dr. Schwarcz Attila, Ph.D., D.Sc.

Pécs, 2022

1. Bevezetés

Az akut stroke az egyik vezető halálok és az egyik leggyakoribb kiváltó tényezője a tartós rokkantságnak. Hazánkban évente kb. 26 ezer akut stroke esetet regisztrálnak, jelentős megterhelést róva mind az egészségügyre, mind a társadalomra. A stroke esetén két ellentétes kategóriát különböztethetünk meg, 80-85%-a ischémiás eredetű, 15-20%-ban vérzéses. Az intracraniális vérzések további altípusokra oszthatóak, amelyeknél eltérő a kiváltó ok, a klinikai megjelenés, a klinikai lefolyás és a kezelés is. Lokalizáció szempontjából megkülönböztetünk intraparenchymalis, subarachnoidális, subdurális, epidurális vérzéses formákat.

A subarachnoidális vérzés (SAV) traumához köthető és spontán formáit különítjük el. Traumás kontúzió okozta a leggyakoribb forma, de a spontán SAV leggyakrabban, egy agyi artérián keletkezett aneurysma (kiboltosulás) rupturájához köthető. Az aneurysma ruptura okozta SAV (aSAV) előfordulási gyakorisága geográfiai regionként nagymértékben különbözik. Magyarországon körülbelül 10/100 000 eset/év, ami 1000 beteget jelent évente. Átlagos életkor 50-55 év közé tehető, enyhe női túlsúllyal. A SAV-t elszennvedett betegek számának csökkenése az elmúlt évtizedekben lényegesen elmarad az ischémiás stroke-os betegek csökkenő számához képest.

Az intracraniális aneurysmák leggyakrabban az elülső agyi keringési rendszeren alakulnak ki, mint az arteria communicans anterior és az a. cerebri anterior találkozásánál, az a. communicans posterior és az a. carotis interna találkozásánál, illetve az a. cerebri media elágazásánál.

Magasvérnyomás betegség, dohányzás, kötőszöveti betegségek (Ehler-Danlos szindróma), autosomalisan domináns polycisztás vesebetegség, mind hajlamosító tényezőként játszanak szerepet az aneurysma kialakulásában. Azonban az utóbbi időben felvetették a gyulladásos folyamatok szerepét is az aneurysma növekedésében és patogenezisében.

A legtöbb aneurysma mindaddig tünetmentes, amíg nem rupturál. Ezáltal vagy incidentálisan vagy megrepedéskor kialakuló SAV-ként kerülnek általában felfedezésre.

A SAV miatt jelentkező betegek klasszikus tünete az életük legrosszabb fájfájása. A fejfájáson kívül előfordulhat, eszméletvesztés, hypnoid tudatzavar, hányinger, hányás, nyaki merevség, tarkófájdalom, fotofóbia, okuláris vérzés, és fokális neurológiai kórjelek, mint agyidegtünetek, ophtalmoplégia, hemi-tetraparézis, afázia, neglekt.

A SAV diagnózisának alapköve a natív koponya CT vizsgálat. Amennyiben a CT-n SAV-ra utaló eltérés nem látszik, de mégis erős gyanúnk van SAV-ra, ebben az esetben

lumbálpunkciót kell végezni. A megjelenő xantochromia utalhat a vérzésre. A vérzés forrás azonosításához a CT angiográfia (CTA) egy szenzitív, gyors, viszonylag olcsó képalkotó módszer. A CTA 97%-os szenzitivitással képes az aneurysma megjelenítésére. A digitális szubtrakciós angiográfia (DSA) elvégzése a következő lépés, amely nemcsak a vaszkuláris malformáció pontosabb megítélésére, hanem egyúttal annak ellátására is alkalmas.

SAV-t követően nagy az újravérzés kockázata. Idegsebészeti klipp felhelyezése és az endovaszkuláris coiling az alkalmazható terápia az újravérzés esélyének csökkentése érdekében. A lehető leghamarabb (az első 24 órán belül) kezelni kell a vérzett aneurysmát. Az anatómiai variációk, az aneurysma mérete, morfológiája, a beteg általános állapota mind befolyásolja a döntést a két kezelési lehetőség között. A nemrégiben publikált adatok alapján az endovaszkuláris coiling a preferált ellátási forma, mivel 7 éves utókövetés során is kedvezőbb klinikai kimenetel volt elérhető az endovaszkuláris csoportban, összehasonlítva sebészeti kezelést kapó csoporttal, miközben a beteg számára kisebb megterheléssel jár.

A coiling során egy katéteren keresztül helyeznek el az aneurysma zsákban egy vékony, általában platinaspirált, amely ott feltekeredik, kitölti az aneurysmát, ezáltal kirekesztve a keringésből.

SAV-t követően gyakran szembesülünk komplikációkkal, amelyek nagymértékben hozzájárulnak az összmortalitás emelkedéséhez, és meghatározó szerepet játszanak a funkcionális kimenetel alakulásában.

Elsősorban az újravérzést, mint egyik legsúlyosabb komplikációt kell említenünk, amely rendkívül magas mortalitással jár együtt.

A késői agyi ischémia (KAI) az esetek mintegy 30%-ban alakul ki, tipikusan az iktus utáni 4-14 nap között. A KAI-ról akkor beszélünk, ha egy új fokális neurológiai kórjel jelenik meg (mint pl. hemiparézis, afázia, apraxia, hemianopia, neglect) vagy minimum 2 pont csökkenést észlelünk a Glasgow Coma Scale (GCS) skálán, amely minimum 1 órán át tart, amely nem volt észlelhető az aneurysma zárásakor, és nem tudható be egyéb oknak megfelelő klinikai értékelés, agyi képalkotó, és laborvizsgálatok elvégzését követően sem.

Az előző évtizedekben a cerebrális vazospazmust (CV) tartották a KAI egyedüli okozójának. Azonban nemrégiben CV-n kívül egyéb mechanizmusokat is feltártak, mint a vaszkuláris diszfunkciót, idegrendszeri gyulladást, hemorrheológiai eltéréseket, és terjedő depolarizációt, amelyek mind hozzájárulnak a KAI kialakulásához. A korai tanulmányok már bizonyították, hogy a vaszkuláris diszfunkció terápiája, kizárólag vazodilatátor ágensekkel nem elégségesek a KAI eredményes kezeléséhez.

SAV-t követő súlyos komplikációk közé tartozik még a hydrocephalus és epilepsziás roszszállétek is.

Az aSAV súlyosságának és a prognózisának megítélésére, számos skálát hoztak létre. A „World Federation of Neurosurgeons Scale” (WFNS), a GCS és a motoros neurológiai tünetek alapján osztályozza az aSAV-n átesett betegeket. A módosított Fisher skála a natív CT felvételen a vérzés kiterjedése, lokalizációja, kamrarendszerbe való betörése alapján osztályoz.

Mind a mai napig nem létezik SAV-t elszenvedett betegek körében egy megbízható, prehospitális prognosztikai factor. Specifikus szérumbiomarkerek vizsgálata egy biztató módszer lehet, azonban az ezidáig vizsgált szérumbiomarkerek prediktív értéke erősen korlátozott SAV-s betegnél.

Neuron és astrocyta specifikus biomarkereket, többek között a S100 β , neuron-specifikus enoláz (NSE), gliális fibrilláris savas protein (GFAP), apolipoprotein E (apoE) vizsgálták már, mint prognosztikai factorokat, a SAV-s betegek kimenetelének monitorzására.

Továbbá az alvadási kaskád biomarkereit [Vaszkuláris endotheliális növekedési factor (VEGF), Endothelin-1, von Willebrand factor (vWF)] és inflammatorikus markereket [C-reactive protein (CRP), TNF- α , IL-1] is tanulmányozták, azonban eddig nem találtak olyan biomarkert, amely képes lenne az aSAV-t elszenvedett betegek kimenetelét előre jelezni, megfelelően magas specificitással és szenzitivitással.

Az aSAV thrombo-inflammatorikus kaskádot aktiválva idegrendszeri gyulladást okoz, amely hozzájárulhat a komplikációk, mint a vazospasmus és a KAI kialakulásához.

A tumor necrosis factor superfamily-14 (TNFSF14) vagy másnéven LIGHT (a rövidítés értelme: lymphotoxinnal homológ, indukálható expressziót mutató molekula, mely a herpes simplex virus D glikoproteinjével versenyez a herpesvirus belépési mediátoraként [HVEM], egy a T sejtekben expresszálandó receptor), a TNF szupercsalád egy új tagja, az aktivált T sejtek által termelt 29 kDa tömegű, II. típusú transzmembrán protein. A LIGHT/TNFSF14-t számos betegséggel összefüggésbe hozták, mint a szklerózis multiplex, gyulladásos bélbetegségek, graft versus host betegség és atherosclerosis. Gátolni, illetve ko-stimulálni képes az immunválaszt, különböző mechanizmusokon keresztül. Számos thrombo-inflammatorikus markert vizsgáltak már a cerebrovaszkuláris megbetegedések körében. A TNF szupercsalád több tagja fontos szerepet játszik az immunológiai folyamatokban, az immunsejtek aktivációjában, proliferációjában, differenciációjában, sőt a központi idegrendszerbe való vándorlásában is. A TNF szupercsalád számos tagja felbukkant az utóbbi

időben a SAV különböző állatmodelljeiben. Továbbá, a TNFSF12-t a SAV-t elszenvedett betegeknek egy olyan biomarkernek találták, amely képes lehet a kimenetelt megjósolni.

Az Oncostatin-M (OSM) a glikoprotein 130 (más néven IL-6/LIFR – leukemia inhibitory factor receptor) citokin család tagja. Több tanulmány bebizonyította, hogy előnyös hatást fejt ki sokféle központi idegrendszert érintő betegségben, mint pl. demyelinizációs kórképek, ischémiás stroke és gerincvelői sérülés. Feltehetőleg az intraarteriális simaizom sejtek és a perifériás vér mononukleáris (főként T) sejtek közötti celluláris interakcióiban a LIGHT/TNFSF14 és OSM közös hatása szerepelhet, ahogyan azt légúti gyulladásban már igazolták.

A zsírsav-kötő protein 3 (FABP3), szív-típusú FABP-ként is ismert (H-FABP), egy alacsony molekula súlyú (15 kDa) lipid-kötő protein, amely túlnyomó többségben a cytoplazmában expresszálódik és a sérült sejtekből rapidan a véráramba jut. Akut miokardiális infarktus (AMI) és stroke után 3 órával az emelkedett FABP3 szérumszintek jelezhetik a sejtszintű sérülést. Nemrégiben magasabb FABP3 szinteket regisztráltak olyan aSAV betegeknek, akiknél CV-ra utaló klinikai jeleket észleltek vagy kedvezőtlen 30 napos neurológiai kimenetellel rendelkeztek. Ueland és társai igazolták, hogy akut ischémiás stroke utáni első napokban észlelt emelkedett CXCL16 szérumszint. a kedvezőtlen kimenetellel függött össze.

A chemokinek fontos szerepet játszanak az atherogenezisben és a vaszkuláris gyulladásban. Az újonnan felfedezett CXC-chemokin ligand 16 (CXCL16) egyszerre egy interferon (IFN) γ által szabályzott chemokin és egy scavenger receptor, ami főként makrofágokban expresszálódik. Továbbá, emelkedett CXCL16 szérumszintet találtak AMI-n átesett betegnél, a kontroll csoporthoz képest és a szérumszint koncentráció összefüggött a kedvezőtlen kimenetellel is. Ezek az eredmények a vaszkuláris betegségekben betöltött kulcsfontosságú szerepét támogatják.

2. Célkitűzések

Az értekezésünk célkitűzése volt, olyan SAV-t követően fellépő patológias folyamatok által a véráramba kerülő, neuroinflammatorikus biomarkerek vizsgálata, amelyek képesek lehetnek a kimenetelt és a betegség progresszióját előre jelezni.

Specifikus célkitűzések:

1. Elsődleges célunk volt megállapítani, hogy a LIGHT/TNFSF14, OSM, FABP3 és CXCL16 markerek szérumszintje az aSAV első 24 órájában különbözik az életkorra korrigált kontrollokétól.
2. Másodsorban, a LIGHT/TNFSF14, OSM, FABP3 és CXCL16 szérumszintjének 30 napos prognosztikai szerepét megvizsgálni.
3. Harmadsorban, összefüggést feltárni a vizsgált markerek szérumszintje és KAI kialakulása között.
4. Végül, a molekulák egymás közötti asszociációját megvizsgálni.

3. Módszerek

A prospektív, megfigyeléses tanulmányunkba a Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Idegsebészeti Klinikáján 2018. október és 2020. szeptember között, aSAV miatt kezelt betegeket folyamatosan vontunk be.

A vizsgálat beválasztási kritériumai a következők voltak:

- kor > 18 életév;
- anamnézis alapján aSAV gyanúja, mely a tünetkezdettől 24 órán belül CT-angiográfiával, illetve digitális szubtrakciós angiográfiával (DSA) bizonyítást nyert (aneurysma igazolódott);
- a betegről vagy a hozzátartozójától beleegyező nyilatkozat megléte.

A kizárási kritériumok:

- a felvételt követően, de az endovaszkuláris ellátás előtt bekövetkező újra vérzés, amely legalább 3 pontszám esés kísért a GCS skálán vagy 4 pont növekedést az NIHSS pontszámában;
- malignus vagy autoimmun megbetegedés;
- aktív fertőző betegség (fertőzés tünetei lázzal, emelkedett C-reaktív proteinnel vagy procalcitoninnal, és egy pozitív diagnosztikus teszt mint pl. mellkas röntgen illetve vizelet vizsgálat);

- becsült glomeruláris filtrációs ráta, eGFR <50 és/vagy szérum kreatinin >120 $\mu\text{mol/L}$ két külön alkalommal mérve;
- egyidejűleg fennálló akut koronária szindróma (ha következők mindegyike teljesül: Troponin-I érték > 14 ng/L; jellemző klinikai tünetek; karakterisztikus EKG);
- biomarker mérés nem elérhető
- részvétel visszautasítása
- premorbid módosított Rankin skála értéke (mRS)>2;
- immunmoduláló kezelésben részesülő betegek.

Az életkor korrigált egészséges kontrollokat az Immunológiai és Biotechnológiai Intézet vont be a tanulmányba, ahol a biomarker mérések is történtek. A betegség súlyosságát a korházi felvételt követően a World Federation of Neurosurgeons Scale (WFNS) és a módosított Fischer score rendszerek alapján értékeltük. Demográfiai, klinikai és laboratóriumi adatokat gyűjtöttünk az orvosi kórtörténet felvétele mellett. További releváns változók, mint a mechanikus ventilláció, dekompresszív craniotomia és intraventriculáris drain szükségességét rögzítettük.

A kutatás protokollját a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Etikai Bizottsága elfogadta, és minden betegről részletes felvilágosítást követően beleegyező nyilatkozatot kaptunk a „good clinical practice” irányelve szerint (35403-2/2017/EKU).

3.1. Kimenetel

Célunk volt, hogy kiértékeljük az összefüggést a biomarkerek szérum szintje és

- a 30. napos kedvező (mRS:0-2) és kedvezőtlen (mRS:3-6) kimenetel között, mint elsődleges végpont.
- a KAI között, mint másodlagos végpont
- a 30. napos túlélés (mRS score<6) és halál (mRS=6) között, harmadlagos végpontként.

A vizsgálatunk során a késői agyi ischemia definícióját a következőképpen állítottuk fel:

- ha a tudat vigilitása csökkent (legalább 2 pont csökkenés a GCS értékben vagy több mint 2 pont növekedés az NIHSS pontszámában) vagy de novo fokális deficit kialakulása, amely 1 óránál tovább tart és más okkal nem magyarázható;

- új, a feltételezett KAI-t követő MRI, diffúzió súlyozott felvételeken (DWI) megjelenő lézió;
- vagy minden előzőleg említett kritérium megvalósulása.

A tanulmányunkban alkalmazott KAI definíciót az American Heart Association 2010-ben publikált ajánlása alapján állítottuk fel. A funkcionális kimenetelt a 30. napon az mRS rendszer alapján határoztuk meg.

3.2. Mintagyűjtés

Az artériás vérmintákat minden betegről felvételnél, a tünetkezdettől számítva 24 órán belül, közvetlenül a beavatkozás előtt vettük le. A mintákat azonnal 4000r/perc fordulaton 15 percig centrifugáltuk. A felülúszót -80°C -on tároltuk az analízisig. LIGHT/TNFSF14, OSM, FABP3 és CXCL-16 koncentrációkat a MILLIPLEX MAP Human Cardiovascular Disease Magnetic Bead Panel 1 - Cardiovascular Disease Multiplex Assay (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) segítségével határoztuk meg. A Troponin-I szinteket ugyanezzel az assay segítségével mértük meg, azért hogy a fennálló akut coronária szindrómát kizárjuk. Minden mintát ugyanaz a technikus, ugyanazzal az eszközzel dolgozta fel, miközben minden klinikai adat ismeretlen volt számára. Az assay meghatározási limitje 43 pg/mL Troponin-I esetében, 1,6 pg/mL LIGHT/TNFSF14, 0,6 pg/mL OSM, 23,7 pg/mL FABP3, és 11,9 pg/mL CXCL-16. esetében.

3.3. Statisztikai analízis

Az SPSS (version 11,5; IBM, Armonk, NY, USA) segítségével értékeltük ki az adatokat. Normál eloszlások esetében a Kolmogorov-Smirnov tesztet használtunk. A klinikai és demográfiai faktorok analízisekor a katagórikus adatoknál a chi-négyzet tesztet, a folyamatos változóknál, Student T tesztet használtunk. A nem normális eloszlású adatokat a median és az interquartilis megadásával prezentáltuk és a Mann-Whitney teszt segítségével hasonlítottuk össze. A receiver operator curve (ROC) analízissel számítottuk a LIGHT/TNFSF14, OSM, FABP3 és CXCL16 (n=60) cutoff értékét, azért hogy a 30. napos túlélés és a KAI esetében meghatározzuk a legspecifikusabb és legszenzitívebb szérumértéket. Korrelációs analízist végeztünk Spearman's correlation coefficient (rho) segítségével. A túlélés független prediktorának meghatározásához bináris logisztikus regressziót használtunk. A $p < 0.05$ értékét tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1. A vizsgálatba bevont betegek karakterisztikája

A vizsgálat kezdetén 98 aSAV-t elszenvedett beteget vontunk be, de 38 beteg kizárásra került a **1.ábrán** részletezett indokok miatt. Végül a kutatásban 60 aSAV beteg és 21 egészséges kontroll vett részt. Sem a nemi eloszlás (női nem: SAV, 53,3% vs. kontroll, 61,9%, $p = 0,496$), sem az életkor ($58,1 \pm 11,2$ vs. 57 ± 17 , $p = 0,686$) nem mutatott szignifikáns különbséget a beteg és a kontroll csoport között. A beválasztási kritériumokat teljesítő aSAV betegcsoportban, a felvételi medián WFNS értéke 2 pont volt (IQR:1-4), míg a felvételnél kalkulált medián mFisher skála értéke 3 volt (IQR:3-4). A CT angiográfia során azonosított aneurysmák elhelyezkedése a következők szerint alakult: 10 (16,7%) a. communicans posterior; 10 (16,4%) a. carotis interna; 17 (28,3%) a. communicans anterior; 9 (15%) a. cerebri media; 7 (11,7%) a. cerebri anterior; és 7 (11,7%) aneurysma az a. vertebralis/basilaris.

A beteg csoportban 24 (40%) betegnél volt szükséges kamradrain behelyezésére; 31 (51,7%) beteg igényelt gépi lélegeztetést a hospitalizáció alatt és 16 (26,7%) betegnél alakult ki KAI. Az átlagos felvételnél szérumban C-reaktív protein (CRP) szint $49,5 \pm 63$ mg/L; a felvételnél átlagos neutrophil-lymphocita arány (NLR) $7,7 \pm 5$, és az átlagos felvételnél szérumban kreatinin szint $63,5 \pm 21,6$ $\mu\text{mol/L}$ volt.



1. Ábra. Flow chart ábrázolja a tanulmányba beválasztott és kizárt aneurysma ruptúra okozta subarachnoid vérzett betegeket.

4.2. Biomarker szintek a vizsgált betegpopulációban és kontrolloknál

A szérum FABP3, TNFSF14/LIGHT és OSM szint a tünetkezdet után 24 órán belül mérve szignifikánsan emelkedett volt a betegpopulációban az egészséges kontrollokéval összehasonlítva (FABP3 mediánja 3325 pg/mL, IQR: 1548-5297 vs 1373 pg/mL, 811-2498, $p=0.003$; TNFSF14/LIGHT mediánja: 18.1 pg/mL, IQR: 7.1–46.7 vs. 7.1 pg/mL, 7.1–7.3 és OSM mediánja: 10.3 pg/mL, 7.5–16.4 vs. 2.8 pg/mL, 2.8–4.9, $p < 0.001$).

A szérum CXCL-16 szintben nem mutatkozott különbség a betegcsoportban mért és az életkor korrigált kontrollok között (462 pg/mL, 360-563 vs. 431 pg/mL, 307-498, $p=0.242$).

4.3. Alcsoport analízis a kedvező és kedvezőtlen kimentelű csoportokban

A biomarkerek alpopuláció analízise azt mutatta, hogy a kedvezőtlen 30. napos funkcionális kimenetellel rendelkező betegek esetében, a FABP3 és CXCL-16 koncentrációja

emelkedett volt ($p=0.003$, $p<0.001$, külön-külön), a kedvező kimenetű csoporthoz képest, **1. táblázat**. Ugyanakkor nem találtunk szignifikáns különbséget a szérumban TNFSF14/LIGHT szintek között a két csoportban (kedvező kimenetel, medián: 20.2 pg/ml IQR (7–50) vs. kedvezőtlen, 16.6 pg/ml IQR (7–46), $p = 0.652$). Azonban, amikor a betegeket, mRS 0–3 mint kedvező vs. mRS 4–6 mint kedvezőtlen kimenetel szerint dichotomizáltuk, statisztikailag szignifikáns különbség alakult ki a TNFSF14/LIGHT szérumban (kedvező, medián 24 pg/ml (7–59) vs. kedvezőtlen 10.2 pg/ml (7.1–28), $p = 0.048$). Továbbá, szignifikáns korrelációt találtunk a túlélő betegeknél a LIGHT/TNFSF14 és OSM szintek között ($p<0.001$).

	Kedvező (n=34)	Kedvezőtlen (n=26)	p-érték
Női nem	20 (58.8%)	12 (46.2%)	0.330
Életkor (év)	56.2±11.4	60.4±10.4	0.189
Diabetes mellitus	3 (9.1%)	6 (23.1%)	0.138
Felvételkori WFNS pontszám	2 (1-2)	4 (3-5)	<0.001*
Felvételkori mFisher pontszám	3 (2-3)	4 (3-4)	0.002*
Kamrai drainage	7 (20.6%)	17 (65.4%)	<0.001*
Gépi lélegeztetés	8 (23.5%)	23 (88.5%)	<0.001*
Dekompresszív craniectomia	2 (5.9%)	5 (19.2%)	0.110
Kreatinin (mmol/L)	61 (46-78)	61 (47-66)	0.730
CRP (mg/L)	7.3 (3-48)	59 (34-96)	<0.001*
NLR	6.5±5	9.2±5	<0.001*
PLR	169±66	217±135	0.135
Infekció a bentfekvés során	5 (14.7%)	14 (53.9%)	0.005
Késői Agyi Ischémi	5 (14.7%)	11 (42.3%)	0.017
Endokrin zavar bentfekvés során	8 (24.2%)	5 (19.2%)	0.645
szérumban TNFSF14 (pg/mL)	20.2 (7-50)	16.6 (7-46)	<0.652
szérumban CXCL-16 (pg/mL)	384 (313-502)	498 (456-623)	<0.001*
szérumban FABP3 (pg/mL)	2133 (1053-4567)	3773 (3295-13116)	0.003*
szérumban OSM (pg/mL)	9.68(7-12)	11.9 (8-19)	0.167

1. Táblázat. Klinikai és laboratóriumi jellemzők összehasonlítása aneurysma ruptura okozta subarachnoid vérzés után 30. napos kedvező (mRS 0-2 pont) és kedvezőtlen (mRS 3-6) kimenetű betegek esetén. A kategorikus változókat a gyakoriságként és százalékként ábrázoltuk, a folyamatos változókat az átlag ± standard deviáció vagy mediánként (25-75 percentilis) tüntettük fel. WFNS: World Federation of Neurological Surgeons skála; mFisher: módosított Fisher skála; CRP, C-reactive protein; NLR, neutrophil-lymphocyt arány; PLR, trombocyt-lymphocyte arány; CXCL-16, Chemokine (C-X-C motif) ligand 16; FABP3, Fatty-acid-binding protein 3.

4.4. A 30. napos kedvezőtlen kimenetel független prediktorai

A szérumban CXCL-16, mint a 30. napos kedvezőtlen kimenetel prediktorának „area under the curve” (AUC) értékét, 0.747-nek kalkuláltuk (95% CI =0.622-0.871; $p<0.001$). A ROC analízis alapján a szérumban CXCL-16>446.7 ng/L szint 80.8% szenzitivitással és 61.8% specificitással jelezte előre a 30. napos kedvezőtlen klinikai kimenetelt. Egy másik ROC analízis szerint, az FABP3>3149.3 pg/mL-es cutoff érték esetén (AUC of 0.724, 95% CI= 0.591-0.857; $p=0.003$), a 30. napos kedvezőtlen klinikai kimenetel prediktora, 80.8% szenzitivitással és 67.6% specificitással. A TNFSF14 nem mutatkozott a kedvezőtlen kimenetel független prediktorának, egyedül a mortalitás esetében találtunk ilyen összefüggést.

Az 1.táblázat mutatja a 30. napos kedvezőtlen kimenetellel összefüggő változókat, mint mFisher pontszám, WFNS érték, szérumban CRP szint, neutrophil-lymphocyták arány, szérumban FABP3 szint> 3149.3 pg/mL and CXCL-16 szint> 446.7 pg/mL. Amennyiben a fent megnevezett változókat egy bináris regressziós modellbe helyezzük, a kedvezőtlen kimenetel gyakran alkalmazott determináló tényezői (módosított Fisher és WFNS pontszám) mellett, a szérumban CXCL-16> 446.7 pg/mL szintet találtuk a 30. napos kedvezőtlen kimenetel független prediktorának 2. táblázat.

30. napos kedvezőtlen kimenetel				
Változók	B	Esély hányados	95% CI	p-érték
CXCL-16 > cutoff érték	-0.264	5.980	0.017-0.638	0.014*
kreatinin	0.048	2.685	0.991-1.112	0.101
mFisher pontszám	0.454	0.495	0.445-5.573	0.482
WFNS pontszám	0.439	1.127	0.690-3.489	0.288
CRP	0.010	1.118	0.992-1.028	0.290
FABP3 > cutoff érték	-1.006	0.933	0.047-2.816	0.334

2.Táblázat. Bináris logisztikus regressziós analízis az aneurysma ruptúra okozta subarachnoid vérzés utáni 30. napos kedvezőtlen kimenetellel ($mRS>2$) összefüggő változókat mutatja. CRP, C-reactive protein; mFisher, módosított Fisher score; WFNS, World Federation of Neurosurgical Societies skála; CXCL-16, Chemokine (C-X-C motif) ligand 16; CXCL-16 cutoff érték: 446.7 pg/mL; FABP3, Fatty-acid binding protein-3, FABP3 cutoff érték: 3149.3 pg/mL; * szignifikáns korrelációt jelzi ($p<0.05$)

CXCL-16 és FABP3 szignifikánsan korrelált számos faktoral az univariáns analízis során (**3. táblázat**). FABP3-mal összefüggésbe hozható változók, az mFisher score, WFNS score, szérumb kreatinin, szérumb CRP, trombocita szám és az NLR. Mind a két vizsgált marker korrelációt mutatott a gépi lélegeztetés illetve a kamradrain behelyezés szükségességével és a 4-10. napon mért átlagos GCS pontszámmal.

Paraméter	CXCL-16	FABP3
mFisher pontszám	0.253	0.537**
WFNS	0.200	0.538**
s-kreatinin (mg/dl)	-0.268*	-0.308*
C-reactive protein (mg/L)	0.116	0.343*
trombocita szám	-0.101	-0.428**
NLR	0.217	0.295*
GCS (4-10. napon, átlag)	-0.290*	-0.439**
FABP3	0.426**	N/A
CXCL-16	N/A	0.426**
Késői Agyi Ischémia	0.174	0.104

3.Táblázat. CXCL-16 and FABP3 szintekkel összefüggő változók a keresztmetszeti egyváltozós analízisben. Az értékeket Spearman korrelációs koefficiensként (ρ) fejeztük ki. * $P < 0.05$; ** $P < 0.001$. CRP, C-reactive protein; mFisher score, módosított Fisher skála; WFNS, World Federation of Neurosurgical Societies skála; CXCL-16, Chemokine (C-X-C motif) ligand 16; FABP3, Fatty-acid binding protein; NLR, neutrophil-lymphocyte arány; GCS, Glasgow coma scale

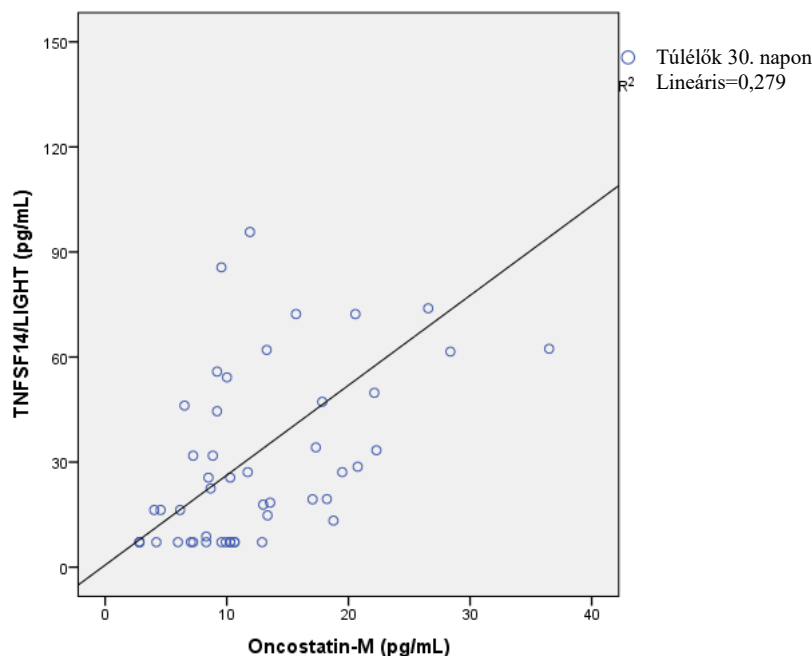
4.5. Alcsoport analízis túlélő és nem-túlélő betegek között

A továbbiakban, összehasonlítottuk a demográfiai és klinikai paramétereket a nem-túlélő ($n = 9$) és túlélő ($n = 51$) betegek között (**4. táblázat**). Szignifikánsan magasabb szérumb LIGHT/TNFSF14 koncentrációkat figyeltünk meg a túlélők között a nem-túlélőkhöz viszonyítva (medián: 22.5, IQR: 7–50 vs. 7.14, 7–7.14, $p = 0.011$) és szignifikáns korrelációt találtunk a LIGHT/TNFSF14 és OSM szintek között a túlélő betegekben ($p < 0.001$) (**2. ábra**).

	Nem Túlélők ($n=9$)	Túlélők ($n=51$)	p-érték
Női nem	5 (55.6%)	27 (52.9%)	0.885
Életkor (év)	54.8±6.7	58.6±11.6	0.325
Diabetes mellitus	1 (11.1%)	8 (16%)	0.707
Felvételkori WFNS pontszám	5 (3-5)	2 (1-3)	0.007*
Felvételkori mFisher pontszám	4 (4)	3 (2-4)	0.005*

Kamrai drainage	6 (66.7%)	18 (35.3%)	0.077
Decompresszív craniectomia	1 (11.1%)	6 (11.8%)	0.955
Kreatinin(mmol/L)	71.4±30	62±20	0.363
CRP (mg/L)	92±94	41±52	0.052
NLR	7.1±5	7.8±5	0.874
PLR	202±102	188±106	0.392
Infekció a belfekvés során	4 (50%)	15 (29.4%)	0.390
Késői Agyi Ischémia	4 (44.4%)	12 (24%)	0.191
Endokrin zavar a belfekvés során	1 (11.1%)	12 (24%)	0.645
LIGHT/TNFSF14 (pg/mL)	7.14 (7)	22.5 (7-50)	0.011*
Oncostatin-M (pg/mL)	10.3 (3.9-12.6)	10.3 (8.3-17.3)	0.419
FABP3 (pg/mL)	3354 (3224-3894)	3075 (1496-5929)	0.928
CXCL-16 (pg/mL)	162 (126-315)	222 (171-275)	0.702

Táblázat 4. Klinikai és biokémiai jellemzők összehasonlítása a nem-túlélők és túlélők között aneurysma ruptúra okozta subarchnoid vérzést követően. A kategórikus változókat a gyakorisággént és százalékként ábrázoltuk, a folyamatos változókat az átlag ± standard deviáció vagy mediánként (25-75 percentilis) jeleztük. WFNS: World Federation of Neurological Surgeons skála; mFisher: módosított Fisher skála; CRP, C-reactive protein; NLR, neutrophil-lymphocytá arány; PLR, trombocytá-lymphocytá arány; CXCL-16, Chemokine (C-X-C motif) ligand 16; FABP3, Fatty-acid-binding protein 3; LIGHT/TNFSF14, Tumor necrosis factor superfamily 14; * szignifikáns korrelációt jelez ($p < 0.05$).



2. Ábra. A korrelációs diagram mutatja a szérumban LIGHT/TNFSF14 és Oncostatin-M szintek közötti pozitív korrelációt, az aneurysma ruptúra okozta subarchnoid vérzést túlélők csoportjában ($p = 0.001$).

4.6. Mortalitás független prediktorai

Az iktust követő első 24 órában mért szérumszint LIGHT/TNFSF14 és a felvételi módosított Fisher pontszám a 30. napos túlélés független prediktorának bizonyult, ugyanakkor az életkor, a nem, KAI, kórházban szerzett infekció nem **(5. táblázat)**. A >7.95 pg/ml LIGHT/TNFSF14 szérumszint 71% szenzitivitással és 78% specificitással (AUC: 0.763; 95% CI: 0.604–0.921, $p = 0.013$) prediktív a 30. napos túlélésre. Amikor a LIGHT/TNFSF14 szintet más változókkal kombináltuk, mint a mFisher pontszám vagy WFNS pontszám, a kétváltozós ROC analízis megnövekedett prediktív erőt mutatott a halálozás előjelzésének tekintetében mind a két kombinációban (LIGHT/TNFSF14+mFisher, Area: 0.878, 95% CI: 0.78–0.98; $p < 0.001$, and LIGHT/TNFSF14+WFNS, Area: 0.829, 95% CI: 0.72–0.94; $p = 0.002$). Azonban, LIGHT/TNFSF14+KAI megjelenése és LIGHT/TNFSF14+OSM kombinációk gyengébb prediktív erőt jeleztek a mortalitás tekintetében (AUC: 0.769, 95% CI: 0.61–0.93; $p = 0.011$; AUC: 0.758, 95% CI: 0.59–0.93; $p = 0.014$, külön-külön).

30. napos túlélés				
Változók	B	Esély hányados	95% CI	p-érték
LIGHT/TNFSF	0.067	4.096	1.002-1.141	0.043*
Életkor	0.097	2.952	0.986-1.231	0.086
Nem	0.019	0.000	0.119-8.730	0.986
mFisher pontszám	-2.357	4.358	0.010-0.866	0.037*
Késői Agyi Ischémia	0.570	0.221	0.164-19.035	0.639
Infekció	0.158	0.124	0.486-2.825	0.724

5.Táblázat Bináris logisztikus regresszió analízis mutatja az aneurysma rupturán átesett betegek 30. napos túléléssel ($mRS < 6$), függetlenül összefüggő változókat; LIGHT/TNFSF14, Tumor necrosis factor superfamily 14; mFisher pontszám, módosított Fisher skála; * szignifikáns korrelációt jelez ($p < 0.05$)

4.7. Korai agyi ischemia predikciója

Figyelemre méltó, hogy az iktustól számított első 24 órában szignifikánsan alacsonyabb szérumszintet találtunk azoknál a betegeknél, akiknél később KAI alakult ki, mint akinél nem lépett fel ilyen komplikáció (medián: 7, IQR: 7–19 vs. 25.6, (7–51), $p = 0.015$). Ugyanebben az összehasonlításban sem a CXCL-16, sem a FABP3, sem pedig az OSM felvételi koncentrációi nem mutattak szignifikáns korrelációt a KAI-val.

Egy külön analízist készítettünk, ahol a KAI volt a vizsgált kimenetel. A bináris logisztikus regresszió analízis alapján az életkor (OR: 0.9, 95% CI: 0.823–0.984, $p = 0.02$) és a CRP (OR: 1.02, 95% CI: 1.001–1.033, $p = 0.03$) bizonyult a KAI független prediktorának, de a LIGHT/TNFSF14 önmagában csak határérték szignifikanciát ért el ($p = 0.06$). Érdekesképpen, a LIGHT/TNFSF14 ROC analízise a KAI predikciójában, ugyanazt a 7,95 pg/ml (AUC: 0,702; 95% CI: 0,555-0,849; $p=0,018$) küszöbértéket találta, mint a mortalitás vizsgálatakor, de jelen esetben 72,7% szenzitivitással és 62,5% specificitással.

5. Diszkusszió

A tanulmányunkban 60 aSAV-t elszenvedett beteg egészségügyi adatait dolgoztuk fel és meghatároztuk a CXCL-16, FABP3, LIGHT/TNFSF14 és OSM szérumszinteket a tünetkezdést követő 24 órán belül. Az aSAV-t elszenvedett betegek 30. napos klinikai kimenetele, túlélése és a biomarker szérumszintek közötti kapcsolatot vizsgáltuk, továbbá ezek, KAI kialakulásával kapcsolatos potenciális prediktív értékét.

Számos mechanizmus felelős az aSAV-t követő kedvezőtlen klinikai kimenetelért. Egy nemrégiben publikált tanulmány az életkort, az iktust követő eszméletvesztést, a felvételi GCS pontszámot, a nagy aneurysma méretet, az „Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II physiologic” pontszámot, felvételi módosított Fischer skála pontszámot a mortalitás prediktorának találta. Továbbá, a subarachnoid vérzés kapcsán fellépő szisztémás válasz befolyásolja a légzőszervrendszert (akut respiratorikus distressz szindróma, ARDS, pulmonális ödéma), a szívet (aritmiák, kontraktilitási abnormalitások), a folyadék-elektrolit homeosztázist. A szisztémás gyulladásos válasz szindróma (SIRS) indukálása által is képes a mortalitást befolyásolni.

A SAV, glutamát excitotoxicitáson keresztül képes agyi károsodást okozni, ezáltal túlzott Ca^{2+} beáramláshoz vezethet és az apoptózis kaszkádrendszerét beindíthatja. A súlyos SAV-t elszenvedett betegek liquorjában szignifikánsan magasabb glutamát szinteket mértek, mint a kevésbé súlyos esetekben. A CXCL-16 olyan fiziológiás neuroprotektív mechanizmusokat indukál, amelyek által a neuronok ellenállnak az ischémia okozta sejthalálnak és a glutamát okozta excitotoxicitásnak. CXCL-16 közvetlenül az astrocytákon keresztül szabadít fel szolúbilis faktorokat, amik a túlzott glutamát expozíció miatti excitotixikus károsodás esetén neuroprotektív mechanizmust aktiválnak.

Továbbá, a szérumban és a liquorban CXCL-16 szintek szignifikánsan emelkedettnek bizonyultak különböző gyulladásos állapotokban, mint bakteriális- és virális meningitis, szklerózis multiplex és szisztémás lupus erythematosus. Ezek az adatok a CXCL-16 nélkülözhetetlen szerepét sugallják a központi idegrendszerbe történő T sejt homing regulációjában.

Eredményünk, miszerint az emelkedett szérumban CXCL-16 szint a kedvezőtlen kimenetel független prediktora, a trombo-inflammatorikus rendszer fontosságát jelezheti az aSAV kimenetelében. Minél súlyosabb a neuronális károsodás, annál kifejezettebb neuroprotektív mechanizmusok aktiválódnak, azonban ezek a folyamatok nem feltétlenül javítják a kimenetelt a már kialakult, irreverzibilis károsodás mértéke miatt.

A közelmúltban publikált adatok alapján a magas CXCL-16 szérumban szintek függetlenül összefüggnek a kedvezőtlen kimenetellel koszorúérbetegségben és akut koronária szindrómában. Számos magyarázata létezik ezeknek az eredményeknek: (1) CXCL-16 aktiválja a CD8^{+} T sejteket, ami apoptózishoz vezet az atherosclerotikus plakk környezetében; (2) CXCL-16 képes az aktivált T-sejtek migrációját irányítani a károsodott szövetekhez; (3) ahol lokálisan szekretált citokinek és matrix metalloproteinázok által segítheti a plakk képződést és trombózis kialakulását. Az apoptózis és a sérült cerebrális

mikroérhálózat hozzájárul a SAV patológiás folyamataihoz, ezáltal az emelkedett szisztémás CXCL-16 szint hozzájárulhat a SAV-indukálta szövetkárosodáshoz ezeken a mechanizmusokon keresztül. A CXCL-16 molekula membrán kötött és szolúbilis formája ismert teljesen eltérő biológiai funkciókkal. Míg a szolúbilis forma elsődlegesen egy chemoattraktáns, addig a transzmembrán forma a lymphocyták adhézióját segíti. Tehát, a két forma ellentétes funkciót tölthet be a trombo-inflammatórikus folyamatokban. A TNFSF14-hez hasonlóan, amelyet az aSAV kimenetelének egyik lehetséges prediktoraként tartjuk számon, a CXCL-16 is egy kétarcú molekula, pro- és anti-inflammatórikus szignálokat közvetít. További vizsgálatok szükséges a két forma külön-külön történő mérésére, és az ellentétes funkció pontos mechanizmusának feltárása érdekében.

További eredményeink közé tartozik a megállapítás, hogy az SAV utáni kedvezőtlen kimenetel esetén a kezdeti szérumban FABP3 szintek emelkedettek voltak. Emellett a FABP3 szintek pozitív korrelációt mutattak a SAV súlyossági pontrendszerekkel (WFNS and mFisher), CRP-vel and NLR-rel, valamint a szérumban CXCL-16 szinttel, miközben negatív korrelációt mutatott a szérumban kreatininnal, a trombocytaszámmal, és a GCS pontszámmal. Másik, kisebb tanulmányban is a szérumban FABP3 szint szignifikáns kapcsolatot mutatott a súlyossági skálákkal, mint a mFisher skála, SAV esetében. Egy közelmúltban publikált kutatás szerint magasabb FABP3 liquor szintet mértek súlyos SAV-en átesett betegeknél, mint az enyhe lefolyásúaknál. Akut ischémiás stroke korai fázisa esetén is emelkedett szinteket találtak, felvetve a FABP3, mint a cerebrális károsodás és a klinikai súlyosság gyors markerét. Fontos megjegyezni, hogy a FABP3 szenzitívebb markere a minor agyi sérülésnek, mint a gyakran használt markerek (S100B, NSE). Továbbá, kiválóan elkülöníti a CT pozitív és CT negatív enyhe traumás agyi károsodást, illetve egy szenzitív markere az akut koszorúér történéseknek és a szívelégtelenségnek. A szíveredetű FABP3 kizárása miatt vizsgálatunkban hs-troponin és NT-pro BNP szinteket is mértünk.

Az FABP3 elsődlegesen a neuronális szövetben található és 0,01%-t adja az összes citoszolikus agyi fehérjének. A szérumban koncentrációja akut ischémiás stroke után napokig emelkedett marad, ezáltal, a SAV-t követő első 24 órán belül mért szisztémás koncentrációja a szöveti károsodás kiterjedését jelezheti a tanulmányunkban. Feltételezhetően, a szövetkárosodás során, ami lehet pl. ischémia, hosszú-szénlancú zsírsavak termelődnek magas koncentrációban, amik a celluláris folyamatokat, enzimfunkciókat (Na-K-ATPase) befolyásolhatják és az homeosztázist felboríthatják. A FABP3 a patológiás folyamatok során képződött hosszú szénlancú zsírsavakat képes megkötni, és szerepet játszik ezeknek a zsírsavaknak a sejtből való eliminációjában, megvédve azt, azok káros hatásaitól.

Feltételezésünk szerint a SAV-t elszenvedett betegeknél észlelt emelkedett FABP3 szint háttérben hasonló patofiziológiai folyamatok állnak, mint az enyhe traumás agyi károsodás vagy akut ischémiás stroke esetén.

Szignifikáns pozitív korrelációt igazoltunk a CXCL-16 és FABP3 biomarker szintek között. Hasonló megfigyelést ezidáig nem publikáltak. Figyelembe véve, hogy a két fehérje különböző patológiai mechanizmusokban, szignál transzdukciós utakban vesz részt, a megfigyelt korreláció további alapos vizsgálata alapvető jelentőségű.

Felületesen szemlélve, diszkrepancia észlelhető a jelenlegi szakirodalom és eredményeink közt koronária betegek esetében. Emelkedett LIGHT/TNFSF14 plazmaszinteket találtak instabil anginasoknál. Közelmúltban bebizonyítottak, hogy emelkedett LIGHT/TNFSF14 szintek független összefüggést mutattak a stabil koronária betegek kardiovaszkuláris történéseinek előfordulásával. LIGHT/TNFSF14 részt vesz a kontrollálatlan immunválasz kialakulásában, ami autoimmunitáshoz és más szöveti destrukcióval járó betegségekhez, mint például gyulladásos bélbetegségekhez, aszmához vagy tüdőfibrózishoz vezethet. Ezzel ellentétben, más publikációk az emelkedett szisztémás LIGHT/TNFSF14 szinteknek védő szerepet tulajdonítanak. Szklerózis multiplexben (SM) szenvedő betegek relapszusa közben mérhető emelkedett LIGHT/TNFSF14 szérumszintek jelezhetik, hogy a LIGHT/TNFSF14 szolúbilis formája egy kompenzatórikus mechanizmusként működik, amely a stimuláló jelátviteli szignálokat csökkenti a herpesvirus entry mediátoron keresztül, ezáltal a gyulladásos válaszreakció erősségét mérsékli SM relapszusban. LIGHT/TNFSF14 szintek csökkenése SM betegek natalizumab kezelésekor jelezheti a betegséget módosító kezelés hatására bekövetkező gyulladás regresszióját. LIGHT/TNFSF14 szérum szintje csökken az agyrázkódást elszenvedett betegnél az egészséges kontrollokhoz viszonyítva. LIGHT/TNFSF14 két celluláris jelátviteli receptort aktivál, a lymphotoxin receptort (LTR) és a HVEM-t, és a Decoy receptor-3 (DcR3) által inaktiválódik. A plazmában cirkuláló LIGHT/TNFSF14 nincs kötve a DcR3-hoz. Ez a „szabad LIGHT/TNFSF14” az úgynevezett szolúbilis forma, amely megtartotta receptor kötő képességét. Ezt a formát T sejt aktiváció gátlónak tartják, éppen ellentétes funkciót feltételezve a membrán-kötött formához képest. A membrán-kötött LIGHT/TNFSF14 szerteágazó stimuláló hatása van az immunrendszerre és potenciálisan autoimmunitást indukálhat. A TNF szupercsalád másik tagja, a TWEAK szérumszintje szignifikánsan magasabb volt a kedvezőtlen kimenetellel rendelkező SAV-t elszenvedett betegeknél. Hasonlóan a LIGHT-hoz, a TWEAK fehérjének is ismert egy szolúbilis és egy membrán-kötött formája. A két forma feltehetőleg különböző szerepet tölt be a biokémiai folyamatokban, hasonlóan ahhoz, amit a LIGHT esetében leírtak. Feltételezésünk

szerint, a LIGHT két formájának aránya (szolubilis vs. membrán-kötött) a mérésünk időpontjában sorsdöntő jelentőségű a SAV-t követő betegséglefolyásban. Összefoglalva, számos releváns teória magyarázhatja a aSAV-ban elhunyt betegek alacsony LIGHT/TNFSF14 szintjeit.

Elsőként, ismert, hogy a LIGHT/TNFSF14 lebomlása a mátrix metalloproteinázok (MMPs) által hozzájárul, mind a LIGHT/TNFSF14 mind a HVEM szérumszintjének jelentős csökkentéséhez. A MMPs számos típusának a szintje szignifikánsan magasabb volt az aSAV betegeknél a kontrollokhoz viszonyítva és maga a subarachnoid vérzés emeli a mátrix metalloproteináz-9 (MMP-9) aktivitását és expresszióját a vérben és a liquorban. Számos kísérleti modell igazolta a MMP-9 szerepét a SAV-t követő vér-agy-gát diszfunkcióban és az ezt követő vazogén ödéma kialakulásában. Ezekből az adatokból arra következtethetünk, hogy a magasabb MMP koncentrációk feltehetőleg csökkentik a LIGHT/TNFSF14 szinteket az aSAV-ban elhunytaknál.

Másodsorban, a DcR3 fokozott expresszáldása jelentős fokú lehet a pro-inflammatorikus hatásának kifejeződése miatt SAV-ben. A LIGHT/TNFSF14-re kifejtett neutralizáló hatása közre játszhat a SAV-t követő kedvezőtlen kimenetelben. Számos tanulmány emelkedett szérum DcR3 szinteket mutatott néhány krónikus gyulladásos folyamatban, mint pl, szepszis, ARDS és kardiovaszkuláris megbetegedésekben. Interleukin-6 (IL-6) fokozza a DcR3 expresszióját. Ezzel ellentétben, magasabb szérum IL-6 koncentrációkat detektáltak kedvezőtlen kimenetellel rendelkező aSAV betegeknél. Ezáltal logikusan feltételezhető, hogy az emelkedett DcR3 aktivitás csökkenti a LIGHT/TNFSF14 szérumszinteket az aSAV miatt elhunyt betegnél.

Harmadrészt, a magasabb szubakut LIGHT/TNFSF14 szintek a túlélőknél, felvetik ezen biomarker védő szerepét a SAV-ben megjelenő gyulladásos válaszreakció ellenében. *Krause és társai* bebizonyították a TNFSF14 intesztinális gyulladásból való felépülésben betöltött facilitáló szerepét egerekben. Súlyosabb betegséglefolyást figyeltek meg mindegyik colitis modellben LIGHT/TNFSF14 expresszió hiányában, illetve amikor a LIGHT/TNFSF14 interakcióját az egyik receptorával (HVEM és LT β R) blokkolták. *Yang és társai* szerint LIGHT/TNFSF14 protektív szerepet tölt be a ciszplatin-indukálta akut veseelégtelenség egér modelljében. Ezt a hatást a gyulladásos molekulák és az apoptózis csökkenésével kapcsolták össze. Egy colitis egérmodellben a LIGHT/TNFSF14 fontos szerepet töltött be az inflammáció elleni védekezésben. Továbbá, súlyosabb betegség lefolyás volt észlelhető, a LIGHT/TNFSF14 hiányos állatokban.

Fontosnak tartjuk megemlíteni, hogy az OSM koncentrációk erős pozitív korrelációt mutattak a LIGHT/TNFSF14 szintekkel a túlélő betegeknél. *Guo és társai* bebizonyították az OSM szerepét JAK2/STAT3-mediálta neuroprotekciónak indukálásában ischémiás stroke-t elszenvedett betegnél. A STAT3 aktiváció indukálta neuroprotektív hatást már számos szerző publikálta. *Weiss és társai* szerint az OSM fehérje szignifikáns mértékben csökkentette az excitotoxicus sejthalált mind in vitro és in vivo. *Han és társai* artéria cerebri média okklúziós patkány stroke modelljében az OSM termelődése folyamatosan emelkedett az agyban 12 és 72 óra között. Továbbá, az OSM proteinnel való kezelés szignifikánsan javította a neurofunkcionális felépülést, miközben a gyulladásos mediátorok expressziója csökkent. *Mikami és társai* kimutatták a bronchiális sejtek LIGHT/TNFSF14 indukálta OSM produkcióját. Összefoglalva, a túlélőknél megfigyelt LIGHT/TNFSF14 és OSM közötti kapcsolat újdonságnak számít. Feltételezésünk szerint, a két ligand együttes expressziója szükséges SAV-hoz kapcsolt gyulladásos folyamatok megfékezéséhez, ami végső soron a kedvezőbb kimenetel kialakulásához hozzájárul.

Kutatásunkban szignifikánsan alacsonyabb LIGHT/TNFSF14 szérumszinteket találtunk a KAI-t elszenvedő betegeknél összehasonlítva azokkal, akiknél ez a komplikáció nem jelentkezett, ugyanakkor nem bizonyult a KAI független prediktorának. Többféle mechanizmus közrejátszik a SAV-t követő vazospasmus és KAI kialakulásában. Közelmúltban publikált tanulmányok bebizonyították, hogy nem csak a vazospasmus az egyetlen kiváltó tényezője a KAI-nek, hanem további mechanizmusok éppolyan jelentős szerepet játszanak. Ahogy korábban említettük a LIGHT/TNFSF14 molekulának van pro- és anti-inflammatorikus tulajdonsága is és a KAI kialakulása az agyi gyulladásos folyamatokkal összefüggésbe hozható. Mindazonáltal, egy nemrégiben publikált kutatás nem talált kapcsolatot a KAI kialakulása és az inflammatorikus molekulák, mint pl. IL-6, IL-8, IL-10, ICAM-1, VCAM-1, IFN γ között. További patogenetikai tényező a KAI létrejöttében, a mikrotrombus képződés. A vérlemezkék felszínéről hiányzó LIGHT/TNFSF14 gyors trombocita aggregációt képes okozni. Egy másik kutatás szerint a trombocytákhoz kapcsolt LIGHT/TNFSF14 részt vesz az endotéliumhoz való adhézióban, miközben a szolubilis LIGHT/TNFSF14 pro-inflammatorikus állapotot vált ki, a vaszkuláris endotheliális sejtekben, hozzájárulva a trombusképződéshez. A tanulmányunkban a szolubilis LIGHT/TNFSF14 szintje csak a SAV korai fázisában zajló folyamatokat mutatja, mivel a mintavétel az első 24 órán belül történt. A jövőben, későbbi vizsgálatokban célszerű lenne vizsgálni a LIGHT/TNFSF14 különböző formáinak (membrán-kötött és szolubilis) kinetikáját a szisztémás keringésben és egymáshoz viszonyított arányukat.

6. Új eredmények és konklúzió

Ad 1.

The szérumban FABP3, LIGHT/TNFSF14 és OSM szintek emelkedettek voltak az aSAV-s betegnél az egészséges kontrollokhoz viszonyítva, a CXCL-16-nál hasonló összefüggést nem tudtunk igazolni.

Ad 2.

A kórházi felvételnél mért alacsonyabb szérumban CXCL-16 és FABP3 szintek előre jelezték a 30. napos kedvező funkcionális klinikai kimenetelt. Továbbá, pozitív korrelációt figyeltünk meg a CXCL-16 és FABP3 szérumszintek között a tanulmányunkban.

Ad 3.

A felvételnél mért emelkedett szérumban LIGHT/TNFSF14 szint a 30. napos túlélés független prediktorának bizonyult az aSAV-n átesett betegek esetében. Emellett pozitív korrelációt találtunk a LIGHT/TNFSF14 és OSM szintek között az aSAV-t túlélőknél.

Ad 4.

Összefüggést sikerült feltárni az alacsonyabb szérumban LIGHT/TNFSF14 szintek és KAI kialakulása között, de ez a korreláció nem mutatkozott a többi vizsgált molekula esetében.

Összefoglalva, a magasabb szérumban LIGHT/TNFSF14 szintek protektív szerepe igazolódott az aSAV esetén a vizsgált kohortban, amíg az emelkedett CXCL-16 and FABP3 szintek a kedvezőtlen klinikai kimenetellel mutattak független kapcsolatot. A pro- és anti-inflammatorikus tulajdonságaik ezáltal egymással ellentétes hatásuk már számos klinikai vizsgálatban igazolást nyertek, azonban, annak a pontos patofiziológiai mechanizmusa, hogy mikor jelenik meg a védő illetve a toxikus funkció, ezidáig nem teljesen tisztázott, további kutatómunkát igényel.

Habár a prospektív tanulmányunknak számos limitációja van, de a kis esetszámon elért statisztikailag robosztus eredményeink, további transzlációs kutatásokhoz járulhatnak hozzá, annak érdekében, hogy alaposabban megértsük az aSAV-t követő komplex gyulladásos választ. A CXCL-16, FABP3, LIGHT/TNFSF14 és OSM rendszerek potenciális előnyös szerepét további, aSAV-el foglalkozó tanulmányok tárhatják fel, ezáltal a jövőben potenciális,

új terápiás célpontként szolgálhatnak illetve a kimenetelre és betegség súlyosságára vonatkozóan, precízebb prediktív eszközként szolgálhatnak. Mivel a KAI egy multifactoriális és különösen magas morbiditással járó komplikáció, az inflammatorikus rendszer szerepe a patofiziológiájában további részletes tanulmányozást igényel. Mindazonáltal, olyan nagyobb esetszámú prospektív tanulmányok szükségesek, amelyek nem csak a szérum, hanem a membrán-kötött inflammatorikus biomarkerek széles körét is mérve, a klinikai mindennapokban hasznosítható adatokat szolgáltatnak.

7. Publikációs lista

7.1. Tézishez kapcsolódó publikációk

1. **Schranz D**, Molnar T, Erdo-Bonyar S, Simon D, Berki T, Nagy C, Czeiter E, Buki A, Lenzser G, Csecsei P. Increased level of LIGHT/TNFSF14 is associated with survival in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurol Scand.* 2021 May;143(5):530-537. doi: 10.1111/ane.13394.

IF:3,209

2. **Schranz D**, Molnar T, Erdo-Bonyar S, Simon D, Berki T, Zavori L, Szolics A, Buki A, Lenzser G, Csecsei P. Fatty Acid-Binding Protein 3 and CXC-Chemokine Ligand 16 are Associated with Unfavorable Outcome in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2021 Nov;30(11):106068. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.106068.

IF:2,126

Tézishez kapcsolódó kumulatív impakt faktor: **5,335**

7.2. További publikációk

1. Horváth RA, Sütő Z, Cséke B, **Schranz D**, Darnai G, Kovács N, Janszky I, Janszky J. Epilepsy is overrepresented among young people who died from COVID-19: Analysis of nationwide mortality data in Hungary. *Seizure.* 2022 Jan;94:136-141. doi: 10.1016/j.seizure.2021.11.013.

IF:3.184

2. Molnar T, Varnai R, **Schranz D**, Zavori L, Peterfi Z, Sipos D, Tőkés-Füzesi M, Illes Z, Buki A, Csecsei P. Severe Fatigue and Memory Impairment Are Associated with Lower Serum Level of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Patients with Post-COVID Symptoms. *J Clin Med.* 2021 Sep 23;10(19):4337. doi: 10.3390/jcm10194337.

IF:4.202

8. Köszönetnyilvánítás

Mindenek előtt, óriási hálámat szeretném kifejezni a PhD témavezetőm, Dr. Csécsai Péter felé. Ő kísért tudományos utamon egészen az egyetemi szakdolgozat témaválasztásától kezdve, egészen ez a PhD dolgozat befejezéséig. Segített megérteni a tudományos publikáció alapjait, a szakmai irodalom folyamatos tanulmányozásának fontosságát, a kritikus gondolkodást, és segített fejleszteni készségeimet az ötleteim és eredményeim prezentációjához. Ezen kívül életem más területein is, mint az első munkahely megszerzése, nélkülözhetetlen szerepet vállalt. Az Ő közreműködése, odaadása, támogatása nélkül ez a PhD munka bizonyára nem valósulhatott volna meg.

Köszönetet szeretnék mondani A PTE KK Neurológiai Klinika igazgatójának Prof. Dr. Janszky Józsefnek, a PTE KK Idegsebészeti Klinika igazgatójának Prof. Dr. Schwarcz Attilának, és mindkét klinika összes dolgozójának, hogy a kutatásom végrehajtásához optimális körülményeket biztosítottak.

Különösképpen szeretném nagyra becsülésemet kifejezni az Idegsebészeti Klinika Neurointervenciók munkacsoportja összes dolgozójának, akik lehetőséget biztosítottak az endovaszkuláris ellátás megismeréséhez, állandóan képeztek, oktattak.

Külön köszönetemet szeretném kinyilvánítani Dr. Molnár Tihamér felé, a PTE KK Aneszteziológiai és Intenzív terápiás Intézetének egyetemi docense, intézetigazgató helyettese felé, aki mindig megválaszolta a biomarker kutatással és publikációval kapcsolatosan felmerülő kérdéseimet, illetve, témavezetőm mellett, több alkalommal is kijavította, átnézte írásaimat.

Ezekén túl hálás vagyok A PTE KK Immunológia és Biotechnológiai Intézetének a vizsgálat során felmerült laboratóriumi mérések korrekt és pontos kivitelezéséért.

Végül, de nem utolsó sorban családomnak és barátaimnak külön hálával tartozom, akik mindvégig támogattak, még nehezebb időkben is és megértették, amikor a velük együtt töltött idő helyett PhD dolgozatomon munkálkodtam.