

DOKTORI (PH.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Az akut fázis fehérje orozomukoid szerepe
neurológiai és szisztémás kórképekben

Dr. Závori László



Klinikai Idegtudományok Doktori Iskola

Témavezető:	Dr. Csécsi Péter, PhD
Programvezető:	Prof. Dr. Jánoszy József, PhD, DSc
Doktori Iskola vezetője:	Prof. Dr. Jánoszy József, PhD, DSc

Pécsi Tudományegyetem, ÁOK

Pécs, 2025

I. Bevezetés

Az orozomukoid (ORM), más néven alfa-1-sav glikoprotein, egy kulcsfontosságú akut fázis fehérje, amely alapvető szerepet játszik az immunrendszer szabályozásában, a gyulladás kontrollálásában és az érrendszeri stabilitás fenntartásában. Elsődlegesen a máj szintetizálja, de különböző fiziológiás és patológias ingerek hatására számos más szövet is termeli. Erősen glikozilált szerkezetű, szénhidrátláncai befolyásolják szerkezeti stabilitását, oldhatóságát és biomolekulákkal való kölcsönhatását. A lipokalin fehérjecsalád tagjaként képes számos bioaktív molekulát – köztük citokineket, zsírsavakat és gyógyszereket – megkötni és szállítani, ezáltal modulálva azok biológiai hozzáférhetőségét és funkcióját.

Az ORM a gyulladás egyik alapvető szabályozója, amely a fiziológiai kontextustól függően képes az immunválaszok felerősítésére vagy elnyomására. Akut gyulladás során az ORM szintje jelentősen – akár ötszörösére is – megemelkedhet, és ekkor fő funkciója a túlzott immunaktiváció korlátozása, a szövetkárosodás megelőzése és a homeosztázis helyreállítása. Ezt úgy éri el, hogy megköti a legfontosabb citokineket, mint például az IL-1, IL-6 és TNF- α , csökkentve ezzel azok biológiai hozzáférhetőségét és proinflammatorikus hatását. Emellett gátolja a neutrofil sejtek migrációját a gyulladás helyére, valamint hozzájárul a kapilláris barrier integritásának fenntartásához, megakadályozva a túlzott érfalli permeabilitást és ödémaképződést.

Az ORM nemcsak a szisztémás gyulladásban játszik szerepet, hanem különböző krónikus kórállapotokban is fontos tényező. Szerepet tulajdonítanak neki szív- és érrendszeri betegségekben, anyagcserezavarokban, valamint autoimmun kórképekben, mint például a rheumatoid arthritis (RA) és a szisztémás lupus erythematosus (SLE). Ezen betegségekben az ORM az immunmoduláció révén befolyásolja a gyulladásos jelátviteli kaszkádokat. Emellett kapcsolatba hozták a lipidanyagcserével is, ami magyarázhatja összefüggését a metabolikus szindrómával, az elhízással és az inzulinrezisztenciával. Az ORM széles körű szerepének köszönhetően egyre inkább elismert biomarkerként szolgál betegségek progressziójának és a terápia hatékonyságának monitorozásában.

Az újabb kutatások rávilágítottak az ORM neurológiai egészségben betöltött szerepére is, különös tekintettel a vér-agy gát (BBB) integritásának fenntartására és a neuroinflammatorikus folyamatok modulálására. Stroke, sclerosis multiplex és neurodegeneratív betegségek esetén az ORM hozzájárul az endotheliális funkció fenntartásához, valamint az immunsejtek központi idegrendszerbe (CNS) való bejutásának szabályozásához. Mivel képes stabilizálni az érfali permeabilitást és csökkenteni a túlzott neuroinflammatorikus választ, neuroprotektív szerepe is felmerülhet, bár pontos hatásmechanizmusai további vizsgálatokat igényelnek.

Az ORM gyulladásos, immunmoduláló és érrendszeri stabilitást fenntartó szerepei révén kiemelt figyelmet kap mind szisztémás, mind neurológiai betegségek esetében. A jelenlegi kutatások célja az ORM diagnosztikai és terápiás

lehetőségeinek feltérképezése, biomarkerként való alkalmazásának pontosítása, valamint új felhasználási területeinek azonosítása a betegségek kezelésében.

II. Célkitűzések

Ez a doktori értekezés az orozomukoid (ORM) sokrétű szerepét vizsgálja a gyulladás és az immunválaszok szabályozásában, különös tekintettel neurológiai és szisztémás betegségekre. Az ORM jelentőségét mint betegség biomarkert és potenciális terápiás célpontot is elemezzük.

Az első kutatási téma az aneurizmális szubarachnoidális vérzést (SAH) érinti, amely gyakran társul korai agysérüléssel (EBI) és intenzív gyulladásos válaszokkal. E projekt célja annak vizsgálata, hogy az emelkedett szérum ORM-szintek összefüggésben állnak-e a SAH klinikai kimenetelével, beleértve a késleltetett agyi ischaemia (DCI) kialakulását és az érintett betegek kórházi tartózkodásának időtartamát. Ebben az akut neurológiai kontextusban az ORM gyulladásos válaszokban betöltött szerepének feltárása hozzájárulhat az ORM prognosztikai markerként való alkalmazásának megalapozásához SAH-ban.

A második vizsgálat a hosszú COVID szindrómára összpontosít, amely egy krónikus gyulladásos állapot, amely az aktív fertőzési szakaszon túl is fennmarad, immunrendszeri diszregulációval társulva. A dolgozat ezen része az ORM-szinteket hasonlítja össze azoknál a betegeknél, akik elhúzódó COVID-19 tüneteket tapasztalnak, annak érdekében, hogy meghatározza az ORM potenciális diagnosztikai és prognosztikai jelentőségét. Ezen túlmenően célja az ORM

lehetséges szerepének feltárása a hosszú COVID patofiziológiájában, ami új irányt kínálhat a betegek kezelésében.

Ezek a kutatások együttesen demonstrálják az ORM multifaktoriális jelentőségét különböző kórfolyamatokban, valamint annak diagnosztikai és terápiás alkalmazási lehetőségeit. A következő fejezetek részletesen bemutatják az ORM szerepét először a SAH, majd a gyorsan fejlődő hosszú COVID szindróma területén.

III. Orozomukoid aneurizmális szubarachnoidális vérzésben

3.1 Adatok és módszertan

3.1.1 Vizsgált populáció

E prospektív megfigyeléses vizsgálat keretében egy Pécsi stroke-kezelési központban, Magyarországon kerültek bevonásra a betegek. A vizsgálatba beválasztásra került minden ≥ 18 éves beteg, akit aneurizmális szubarachnoidális vérzéssel (aSAH) diagnosztizáltak, és 2020 decembere és 2023 januárja között kórházi felvételre került. Az intézményi etikai bizottság előzetesen jóváhagyta a kutatást (IV/8468-1/2021/EKU), és minden betegről vagy törvényes képviselőjükről írásos beleegyezési nyilatkozat került beszerzésre. A beválasztási kritériumok közé tartozott: életkor > 18 év, spontán aneurizmális SAH, amelyet computer tomográfiával (CT) 24 órán belül diagnosztizáltak, és az aneurizma digitális szubtrakciós angiográfiával (DSA) igazolható volt. A kizárási kritéri-

umok a következők voltak: traumás SAH, terhesség, kórházi felvétel 24 órán túl az ictust követően, aneurizma-kezelés hiánya, arteriovenosus malformációból származó vérzés, hiányzó aláírt beleegyezési nyilatkozat, igazolt SARS-CoV-2 fertőzés, valamint egyéb szisztémás betegségek (krónikus neurológiai betegségek, daganatok, máj- vagy veseelégtelenség, illetve krónikus tüdőbetegség). Az összes beteg kezelése a korábban részletezett klinikai protokoll szerint történt. Párhuzamosan egy 105 fős, életkor és nem szerint illesztett egészséges kontrollcsoport került felállításra.

3.1.2 Klinikai és kimeneteli adatok meghatározása

A gyakori alapbetegségek (pl. hipertónia, cukorbetegség), dohányzási anamnézis, valamint a kezeléshez kapcsolódó szövődmények (makrovaszkuláris vazospasmus, késleltetett agyi ischaemia) azonosításra kerültek. Az anamnézisben szereplő laboratóriumi vizsgálatok eredményei és az aneurizma elhelyezkedése a kórházi dokumentációból kerültek kinyerésre. A betegek klinikai és radiológiai állapotának súlyosságát a WFNS és a módosított Fisher-pontozási rendszerek segítségével értékelték.

3.1.3 Mintavétel és feldolgozási protokoll

A vérminták levétele Vacutainer® csövekbe történt a betegektől az ictust követő 72 órán belül az ORM szintjének meghatározására. A minták centrifugálása 10 percen belül 3500 rpm-en 15 percig történt. Az így nyert szérumot azonnal -80°C-on tárolták további feldolgozásig. Az ORM szint meghatározása automatizált immun-turbidimetriás módszerrel történt, a Roche Diagnostics GmbH

(Basel, Svájc) által gyártott Tina-quant α 1-Acid Glycoprotein Gen.2 készlettel a Pécsi Tudományegyetem Laboratóriumi Medicina Tanszékén. Kontrollként életkor szerint illesztett egészséges populáció került alkalmazásra.

3.1.4 Statisztikai elemzés

A normáeloszlás vizsgálatára a Shapiro–Wilk tesztet használtuk. A kategorikus változók számokban és százalékokban, a folytonos változók mediánban és interkvartilis tartományban (IQR) kerültek bemutatásra. Az összehasonlításokat Mann–Whitney U-tesztel (folytonos változók), illetve χ^2 -tesztel (kategorikus változók) végeztük. A statisztikai elemzésekhez SPSS 19.0 és GraphPad Prism 9 szoftvereket használtunk.

3.2 Eredmények

3.2.1 Vizsgált populáció jellemzői

A végső elemzésbe összesen 151 beteg került bevonásra, akik 2020 decembere és 2023 januárja között vettek részt a vizsgálatban. A vizsgált populáció átlagéletkora 55 ± 12 év volt, a betegek 69,5%-a nő volt. A felvételnél mért szérumszint medián CRP-szint 14 mg/dL volt [IQR: 4–48]. A 3 hónapos funkcionális kimenetel szerint rétegzett alapvető jellemzők az **Táblázat 1**-ben kerülnek bemutatásra.

	Favourable	Unfavourable	p-Value
	(N = 71)	(N = 80)	
Age, years	52 $\pm$ 12	58 $\pm$ 12	0.002

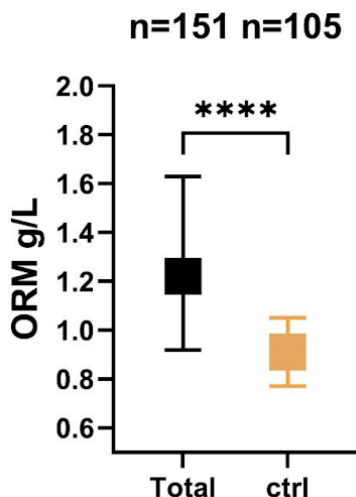
Female	51 (72)	65 (81)	0.529
Hypertension	31 (44)	41 (51)	0.393
NIDDM	3 (4)	14 (17)	0.015
Smoking	14 (20)	14 (18)	0.754
mFisher score	3 (2–3)	3 (3–4)	0.001
WFNS	1 (1–2)	4 (2–5)	< 0.001
SEBES Aneurysm location	1 (1–2)	3 (1–4)	< 0.001
ICA	11 (15)	7 (9)	0.670
MCA	18 (25)	22 (28)	0.325
ACoA	25 (36)	26 (33)	0.410
PCom	6 (9)	6 (7)	0.980
ACA	3 (4)	8 (10)	0.088
VB	8 (11)	11 (13)	0.650
CRP (mg/L)	8.3 (3–17)	27 (9–73)	< 0.001
NLR	4.2 (3–7)	6.4 (4–11)	0.002
WBC (G/L)	11.4 (8.7–13.4)	12.2 (10.4–15.7)	0.028
Neutrophile (G/L)	8 (6.5–10.8)	9.9 (7.5–12.9)	0.015
Lymphocyte (G/L)	1.7 (1.1–2.3)	1.4 (1.1–2)	0.093
Glucose (mmol/L)	7.2 (6.2–9.4)	8.1 (7.3–9.5)	0.145
Creatinine	60 (51–68)	61 (49–73)	0.654
Hydrocephalus	23 (32.4)	59 (73.8)	< 0.001
Intraparenchymal hematoma	2 (3)	19 (24)	< 0.001
Extraventricular drainage	12 (17)	57 (71)	< 0.001
Decompressive craniotomy	0 (0)	19 (24)	< 0.001
Mechanical ventilation	7 (10)	60 (75)	< 0.001
infection	6 (10)	26 (32)	0.004
Macrovascular vasospasm	12 (17)	30 (37)	0.007
Delayed cerebral ischemia	4 (7)	30 (37)	< 0.001

Táblázat 1: Vizsgált populáció jellemzői

Az értékek számokként (% a teljes mintából), átlag $\pm$ SD vagy medián (IQR) formájában vannak kifejezve. N, esetszám; NIDDM, nem inzulinfüggő diabétesz mellitusz; NLR, neutrofil-limfocita arány; WFNS-pontszám, World Federation of Neurosurgical Societies pontszám; ICA, arteria carotis interna; MCA, arteria cerebri media; ACoA, arteria communicans anterior; PCom, arteria communicans posterior; ACA, arteria cerebri anterior; VB, vertebrobasilaris rendszer; CSF, cerebrospinalis folyadék; DCI, késleltetett agyi ischaemia; WBC, fehérvérsejtszám; SEBES, Subarachnoid Haemorrhage Early Brain Edema Score

Az aneurizmák 100%-a coiling eljárással került ellátásra. A betegek közel fele rendelkezett artériás hipertónia anamnézissel (47%), és 11%-uk esetében volt jelen nem-inzulindependens diabetes mellitus (NIDDM). A betegek 24,5%-a súlyos állapotban (WFNS IV–V) került kórházi felvételre.

A betegek vizsgált populációjában a szérum ORM (g/L) medián értéke 1,22 (IQR: 0,94–1,60) volt, míg az egészséges kontrollcsoportban ($n = 105$) 0,91 (IQR: 0,77–1,05), $p < 0,001$ (**Ábra 1**). A kontrollcsoport medián életkora 58 év volt (IQR: 49–66 év), és 58,4%-uk volt nő. A ROC-görbe elemzésének eredményei szerint a szérum ORM-szintek alapján jól megkülönböztethetők voltak az aSAH-ban szenvedő betegek az egészséges kontrollcsoporttól, a görbe alatti terület (AUC) értéke 0,771 volt (95% CI: 0,702–0,840, $p < 0,001$).

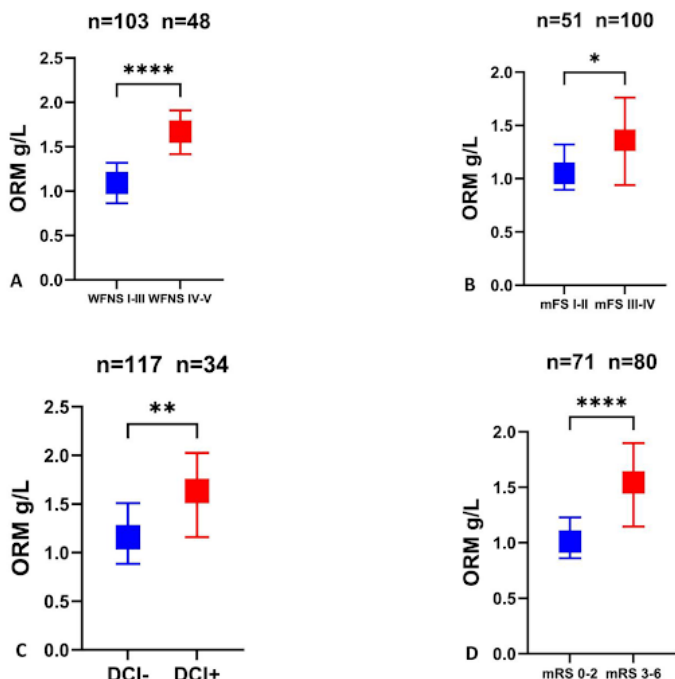


Ábra 1: A SAH utáni 72 órában mért szérums ORM szint a betegek és a kontrollcsoport esetében

ORM: orosomucoid; ctrl: control; n: number; SAH: subarachnoid haemorrhage; **** p < 0.0001.

3.2.2 A szérums ORM szint és a felvételi súlyossági pontszámok közötti összefüggés

Az ictust követő 72 órában mért szérums ORM szint szignifikánsan magasabb volt a felvételnélkor súlyos állapotú (WFNS IV–V) betegek esetében, mint azoknál, akik jó klinikai állapotban (WFNS I–III) kerültek felvételre (1.7 [IQR 1.5–1.9] vs. 1.1 [0.9–1.3], p < 0.001) (Ábra 2 A). Egy hasonló, de gyengébb összefüggés figyelhető meg a szérums ORM szint és a felvételi módosított Fisher-pontszám között (mFS I + II: 1 [0.9–1.3] vs. mFS III + IV: 1.4 [0.9–1.8], p = 0.021) (Ábra 2 B).



Ábra 2: Az ictust követő 72 órában mért szérums ORM szintek különböző súlyossági és kimeneteli csoportokban. **(A)** SAH-betegek szérums ORM-szintjei a felvételi állapot alapján: jó állapotú (**WFNS I–III**) és súlyos állapotú (**WFNS IV–V**) betegek összehasonlítása. **(B)** ORM-szintek alacsony (**mFS I–II**) és magas (**mFS III–IV**) radiológiai SAH súlyosság esetén. **(C)** Az ORM-szintek összehasonlítása DCI-val rendelkező és DCI nélküli betegek között. **(D)** ORM-szintek a kedvező (**mRS 0–2**) és kedvezőtlen (**mRS 3–6**) 3 hónapos kimenetelű betegek között aneurizmális szubarachnoidális vérzés esetén

ORM, orosomucoid; mFS, modified Fisher score; WFNS, World Federation of Neurological Societies score; n, number; DCI, delayed cerebral ischemia

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$

3.2.3 Szérums ORM szintek a DCI és a 3 hónapos kimenetel viszonylatában

Az ictust követő 72 órában mért szérums ORM szint szignifikánsan magasabb volt a DCI-ben szenvedő betegek és a 3 hónapos kedvezőtlen funkcionális

kimenetellel rendelkező betegek esetében (p -érték = 0.009 és < 0.001 , **Ábra 2 C,D**). A bináris logisztikus regressziós elemzések azt mutatták, hogy az ictust követő 72 órában mért szérumszint életkorra, nemre, mRS-re és WFNS-re történő korrigálás után is független összefüggést mutatott a DCI előfordulásával. Emellett az ORM független összefüggést mutatott a kedvezőtlen 3 hónapos mRS kimenetellel is, amely az életkorra, nemre (Model a), mRS-re (Model b) és WFNS fokozatra (Model c) történő korrigálás után is fennállt, **Táblázat 2**. A szérumszint alapján történő megkülönböztetés hatékonysága a DCI-t mutató és nem mutató betegek között a görbe alatti terület (AUC) értéke alapján 0.713 volt (95% CI 0.562–0.864), **Táblázat 3**. A további ROC görbe-analízis kimutatta, hogy a tünetek megjelenését követő 72 órában mért szérumszint orozomukoid (ORM) szintek alkalmasak voltak a kedvező (mRS 0–2) és kedvezőtlen (mRS 3–6) 3 hónapos kimenetelű betegek elkülönítésére; a görbe alatti terület értéke 0.793 volt (95% CI 0.694–0.891, $p < 0.001$).

Variable	Multivariate		
	OR	95% CI	p-Value
DCI			
Model a	1.227	1.068–1.410	0.004
Model b	1.467	1.091–1.971	0.011
Model c	1.574	1.095–2.260	0.014
<u>Poor clinical outcome at 3 months</u>			
Model a	1.518	1.257–1.833	< 0.001
Model b	1.432	1.145–1.791	0.002
Model c	1.308	1.016–1.684	0.037

Táblázat 2: Korrigált esélyhányados a szérum ORM prediktív értékére DCI és kedvezőtlen funkcionális kimenetel esetén 3 hónapnál

DCI, delayed cerebral ischemia; OR, odds ratio; CI, confidence interval; mFS, modified Fisher score; WFNS, World Federation of Neurological Societies score; a Adjustments were made for age and sex; b Adjustments were made for age, sex, and mFS; c Adjustments were made for age, sex, mFS, and WFNS grade. Poor clinical outcome defined as modified Rankin score 3–6.

	Cut-off Value	AUC	p-Value	95% CI	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Power
DCI	1.270	0.713	0.009	0.562–0.864	68.8	60	AC
Poor functional outcome at 3months	1.200	0.793	< 0.001	0.694–0.891	72.5	68.3	AC

Táblázat 3: ROC elemzés a szérum ORM szint (g/L) folytonos változóként való összefüggéséről a DCI és a 3 hónapos kedvezőtlen funkcionális kimenetel tekintetében

ROC, receiver operating characteristic; AUC, area under the curve; CI, confidential interval; DCI, delayed cerebral ischemia; ORM, orosomuroid; power, ability to diagnose patients with and without the disease or condition based on the test, AUC of 0.8–0.9 is considered excellent, 0.7–0.8 is considered acceptable (AC), 0.5–0.7 is considered poor in terms of accuracy of the test under consideration

3.2.4 Magasabb szérum ORM-szinttel összefüggésbe hozható változók

Az egyváltozós bináris logisztikus regressziós elemzés eredményei erős összefüggést mutattak ki több jellemző és az aneurizmális szubarachnoidális vérzést követően megemelkedett orozomukoid (ORM) koncentráció között, **Táblázat 4.**

ORM Concentrations

(Categorised According to the Optimal Cut-off (≤ 1.20 g/L vs. > 1.20 g/L))

Variable	OR (95% CI)	p	C
Age	0.985 (0.949–1.022)	0.423	0.440
Gender			
Female	<i>Reference</i>		
Male	0.800 (0.311–2.056)	0.643	0.476
Smoking			
No	<i>Reference</i>		
Yes	0.595 (0.154–2.292)	0.450	0.472
WFNS	1.944 (1.378–2.741)	< 0.001	0.738
mFisher-score	1.854 (1.095–3.139)	0.022	0.676
CRP	1.023 (1.005–1.042)	0.014	0.690
Neutrophil count	1.191 (1.040–1.363)	0.011	0.690

Táblázat 4: Egyváltozós logisztikus regressziós elemzés nyers esélyhányadosai (OR) 95%-os konfidencia intervallummal (CI), a magasabb ORM-koncentrációhoz kapcsolódó klinikai és demográfiai tényezők tekintetében (az optimális küszöbérték alapján dichotomizálva)

C = a ROC-görbe alatti terület (c-statistic), amely a diagnosztikai pontosság átfogó mérőszáma; az 1-es érték tökéletes pontosságot jelöl. OR = esélyhányados (odds ratio), ORM = orozomukoid, WFNS = World Federation of Neurological Societies score, CRP = C-reaktív protein

3.3 Megbeszélés

Ez a vizsgálat a SAH-ot követő 72 órában mért szérum ORM-szintek és a legfontosabb klinikai kimenetek – a 3 hónapos funkcionális felépülés, a késleltetett agyi ischaemia (DCI) előfordulása, valamint a felvételtől gyulladási markerek – összefüggéseit elemezte.

3.3.1 Főbb eredmények

- Magasabb ORM-szintek szignifikánsan kapcsolódtak a kedvezőtlen 3 hónapos kimenetelhez, és független prediktorként jelentek meg.
- A SAH-ot kísérő BBB-károsodás és neuroinflammáció feltehetően elősegíti az ORM-termelődést, mivel a megemelkedett ORM endotheliális diszfunkcióra és kapilláris permeabilitás-változásokra utal.
- Az ORM TLR4/CD14-aktivációban játszott szerepe összeköti azt a korai agysérülés (EBI) folyamatával, ami tovább fokozza a neuroinflammációt és rontja a kimenetelt.

A mikrovaszkuláris endotheliális sejtek általában ORM-et termelnek a kapillárisfal integritásának fenntartása érdekében. SAH esetén kialakuló agyi ödéma azonban fokozhatja az ORM-szintézist, kompenzációs mechanizmusként a BBB stabilizálására. Habár az ORM támogatja az érrendszeri integritást, elősegítheti a gyulladásos kaszkádokat is TLR4-aktiváció révén, ami súlyosbíthatja a neuroinflammációt és ronthatja a prognózist. Az ORM kettős – védő és károsító – funkciója valószínűleg koncentrációfüggő, azonban további vizsgálatok szükségesek ezen összefüggések tisztázására.

Egy másik fontos eredmény, hogy a 72 órás ORM-szint önálló előrejelzője lehet a későbbi DCI-kialakulásnak. Tekintve, hogy a DCI hátterében érdiszfunkció, mikrotrombózis és oxidatív stressz állhat, az ORM-nek a vérlemezke-aktivációra gyakorolt hatása szerepet játszhat ezekben a folyamatokban. Érdekes módon az ORM koncentrációfüggő hatást mutat a trombózisra: bizonyos körülmények

között gátolhatja vagy fokozhatja a vérlemezke-aggregációt, ami hozzájárulhat a DCI patogeneziséhez.

Az ORM a asztrocita–mikroglia kölcsönhatásokban is szerepet kaphat, ahol a megemelkedett ORM a mikroglia-aktivitást módosíthatja. Ez összhangban áll korábbi eredményekkel, amelyek szerint a TLR4-mediált gyulladás neuronális apoptózishoz és vazospazmushoz vezet aSAH során. Az ORM egyszerre működhet gyulladásos mediátorként és védő tényezőként, mivel az angiogenezist és az oxidatív stressz-folyamatokat is befolyásolja – bár a végeredmény a lokális ORM-koncentrációtól, valamint a betegség adott szakaszától függ.

3.3.2 Klinikai összefüggések és a vizsgálat korlátai

- A szérum ORM erősen korrelált a WFNS- és mFS-pontszámokkal, valamint a CRP- és neutrofilszintekkel a felvételtkor. Különféle gyulladásos állapotokban igazolták korábban, hogy az ORM a CRP-hez hasonlóan megemelkedik, ami megerősíti annak gyulladásos marker szerepét SAH esetén.
- Habár az ORM tükrözheti az EBI súlyosságát, pontos szerepét a patofiziológiában nehéz tisztázni, többek között azért, mert a mérésre csak egy időpontban került sor, illetve nem álltak rendelkezésre hosszú távú ORM-adatok.
- További kutatások szükségesek az ORM dózisfüggő hatásainak megértéséhez, különösen a neuroinflammáció, az endotheliális integritás és a trombózis vonatkozásában aSAH-ban.

Összességében ez a tanulmány rámutat, hogy az ORM mérhető mértékben összefügg a SAH súlyosságával, és szerepet játszik a SAH utáni gyulladásos

kaszkádokban. A kulcsfontosságú klinikai kimenetekkel való korrelációja arra utal, hogy az ORM monitorozása segítheti a rizikóbecslést és a prognózis felállítását aSAH-betegeknél.

3.4 Következtetések

Az aSAH korai szakaszában az ORM fontos indikátora lehet az EBI-okozta károsodásnak. A pontos szerepének és jelentőségének feltárásához további, alaposabb vizsgálatok szükségesek.

IV. Orozomukoid hosszú COVID szindrómában

4.1 Bevezetés

A hosszú COVID szindróma a SARS-CoV-2 fertőzés lezajlása után tartósan fennmaradó tünetek miatt jelent komoly népegészségügyi kihívást. Különféle panaszok – például fáradtság, légszomj, kognitív problémák, alvászavarok, illetve izom- és ízületi fájdalmak – akár 12 hétnél tovább is észlelhetők. Bár a pontos folyamatok még nem tisztázottak, valószínűsíthető, hogy a vírus perzisztenciája, a krónikus gyulladás és az immunrendszer diszregulációja együttesen járulnak hozzá a hosszú COVID kialakulásához.

Becslések szerint a COVID-19-et elszenvedők akár 30%-ánál is megjelenhetnek elhúzódó tünetek, jelentősen befolyásolva a munkaképességet és a hétköznapi tevékenységek ellátását. A hosszú COVID nemcsak az egyén egészségi állapotát terheli meg, hanem az egészségügyi ellátórendszert is, mivel megnöveli az

egészségügyi erőforrások igénybevételét és jelentős gazdasági terheket ró a társadalomra. A kórkép több szervrendszert is érinthet, köztük a veséket, ami tovább nehezíti a hosszú távú kezelést. A rendelkezésre álló adatok arra utalnak, hogy veseműködési zavar idővel olyan egyéneknél is kialakulhat, akiknél a COVID-19 akut szakaszában nem jelentkezett vesekárosodás, noha ennek kapcsolata a hosszú COVID tüneteinek súlyosságával nem egyértelmű.

A jelen tanulmányban meghatározó biomarkerek mérése történt: cystatin C (CYSC), amely érzékeny vesefunkciós mutató, továbbá orozomukoid (ORM), mely egy gyulladáscsökkentő folyamatokban szereplő akut fázis fehérje. Emellett a L-arginin útvonal kulcsmolekulái (L-arginin, aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) és szimmetrikus dimetilarginin (SDMA)) is vizsgálatra kerültek, amelyekről korábbi kutatások bebizonyították, hogy rosszabb kimenetellel hozhatók összefüggésbe akut COVID-19 során, hosszú COVID esetén azonban szerepük még kevésbé ismert.

A biológiai paraméterek és a hosszú COVID tüneteinek súlyossága közötti összefüggések feltérképezésével a vizsgálat célja mélyebb betekintést adni a kórfolyamat háttérében álló patofiziológiai mechanizmusokba, valamint potenciális diagnosztikai és terápiás célpontok azonosítása.

4.2 Módszertan

4.2.1 Betegeanyag és vizsgálati protokoll

A Pécsi Tudományegyetemen prospektív megfigyeléses vizsgálat zajlott, amely során 158 hosszú COVID szindrómában szenvedő beteget szűrtek 2020 novem-

bere és 2021 szeptembere között. A betegeket a pécsi régió háziorvosai irányították a központba, amennyiben az alábbi beválasztási feltételek teljesültek:

- igazolt SARS-CoV-2 fertőzés
- a hosszú COVID szindróma konzisztens, tartós tünetei
- a tünetek 30 napnál tovább fennálltak a kezdeti megbetegedést követően

Azok a betegek kerültek be a poszt-COVID ambulanciára (alapvizit), akik megfeleltek a fenti kritériumoknak. Kizárási feltétel volt többek között a korábbi rosszindulatú vagy aktív autoimmun betegség, immunszuppresszív terápia, akut koronária szindróma, SARS-CoV-2 elleni védőoltás felvétele, igazolt veseelégtelenség, 18 éves kor alatti életkor, intenzív osztályos felvétel a fertőzés idején, illetve bármely körülmény, amely akadályozta volna a tünetek objektív felmérését.

Az alapvizit során ellenőrzésre került a beválasztási kritériumoknak való megfelelés, és minden beteg írásbeli beleegyező nyilatkozatot tett. Az alapvető vizsgálatok és a rutin vérvétel után a résztvevők kitöltötték egy strukturált kérdőívet, amely tüneteik erősségére vonatkozott. A tünetek kategóriákba csoportosítva (általános, légzőszervi, kardiovaszkuláris, neuropszichiátriai, bőrgyógyászati, gasztrointesztinális és mozgásszervi) kerültek értékelésre, vizuális analóg skálán pontozva. A laboreredményeket és az ellenanyag-meghatározást a Laboratóriumi Medicina Tanszék munkatársai végezték, vakon a betegek klinikai adataira. A demográfiai adatokat és a fertőzéshez kapcsolódó kórtörténeti információkat az elektronikus betegnyilvántartásból nyerték ki.

4.2.2 Vérvétel és mérési eljárások

Az alapvizit során a betegek vérmintáit Vacutainer® csövekbe vettük az ORM, CYSC, L-arginin, ADMA és SDMA koncentrációk meghatározására. A mintákat 10 percen belül, 3500 rpm-en 15 percig centrifugáltuk, majd az így nyert szérumot azonnal -80°C -on tároltuk további feldolgozásra. Az L-arginin, ADMA és SDMA plazmaszintjeit nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás (HPLC) módszerrel mértük, a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékével együttműködve. A szérum ORM és CYSC értékeit automatizált immun-turbidimetriás módszerrel határoztuk meg a Pécsi Tudományegyetem Laboratóriumi Medicina Tanszékén, a Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Németország) által forgalmazott Tina-quant α 1-Acid Glycoprotein Gen.2, valamint a DiaSys Diagnostic Systems GmbH (Holzheim, Németország) Cystatin C FS kitek felhasználásával. A perifériás vér SARS-CoV-2 elleni antitestjeit az alapvizit alkalmával egy teljesen automatizált cobas e801 analízátorral mértük. Kontrollcsoportként olyan, életkor szerint illesztett egyéneket alkalmaztunk, akik nem estek át COVID-fertőzésen.

4.3 Eredmények

A 158 előzetesen szűrt beteg közül végül 114 került be a vizsgálatba, míg 44-en különböző okok (pl. autoimmun vagy rosszindulatú betegségek, folyamatban lévő immunszuppresszív terápia, vagy SARS-CoV-2 elleni védőoltás) miatt kizárásra kerültek. A vizsgálati csoport szérum ORM medián értéke szignifikánsan eltért az egészséges kontrollcsoportétól, ugyanakkor a szérum cystatin C érté-

kek között nem volt számottevő különbség. A betegek átlagéletkora 50,5 év volt, és 63,2%-uk volt nő. Közülük 36% kórházi kezelést igényelt a fertőzés akut szakzában, a hosszú COVID tüneteinek medián száma pedig öt volt. **Táblázat 5** ábrázolja a betegek alapadatait a szérum ORM és CYSC medián értékei alapján képzett csoportok szerint.

		Serum Cystatin-c † (mg/L)		p-Value	Serum ORM (g/L) †		p-Value
		Medi- an > n = 59	Medi- an < n = 55		Medi- an > n = 55	Medi- an < n = 59	
Age	years (mean±SD)	45 ± 11	55 ± 11	< 0.001	50 ± 13	51 ± 10	0.925
Female	N (%)	39 (66%)	31 (56%)	0.338	34 (62%)	38 (64%)	0.777
HTN	N (%)	15 (25%)	20 (36%)	0.211	15 (27%)	22 (37%)	0.407
NIDDM	N (%)	7 (12%)	9 (16%)	0.429	9 (16%)	7 (12%)	0.370
Smoking	N (%)	3 (6%)	1 (2%)	0.620	1 (2%)	3 (5%)	0.376
BMI	mean ± SD	26 ± 5	29 ± 7	0.06	26 ± 7	29 ± 5	0.007
Hosp.	N (%)	13 (22%)	29 (53%)	0.001	15 (27%)	27 (44%)	0.063
O2 supp.	N (%)	8 (14%)	16 (29%)	0.065	6 (11%)	17 (29%)	0.02
Antiviral medication	N (%)	9 (15%)	30 (55%)	< 0.001	12 (22%)	27 (46%)	0.01
CTss ‡	median (IQR)	7 (0–12)	9 (5–13)	0.201	8 (0–12)	9 (5–12)	0.322

LOS	day me- an±SD	2 ± 3	4 ± 5	< 0.001	2 ± 3	4 ± 5	0.033
Nr of symp- toms	median (IQR)	6 (4–7)	5 (4–7)	0.522	5 (3–7)	6 (4–8)	0.401
Dura- tion of smell loss	day me- an±SD	17 ± 22	9 ± 10	0.05	8 (3–21)	4 (0–14)	0.055
IL-6 ‡ pg/mL	median (IQR)	30 (17–31)	28 (20–46)	0.820	31 (19–36)	28 (19–42)	0.871
Ferritin ‡	µg/L median (IQR)	469 (302– 658)	611 (462– 984)	0.391	566 (354– 1366)	615 (422– 915)	0.792
acu- te hs- Trop-T ‡	ng/L, medi- an(IQR)	7.6 (5–9)	8 (5–10)	0.998	9 (7–11)	5 (4–9)	0.196
eGFR	medi- an(IQR)	105 (99– 114)	94 (84– 107)	< 0.001	101 (86– 110)	102 (90– 109)	0.636

Táblázat 5: Demográfiai és akut SARS-CoV-2 fertőzéshez kapcsolódó változók a hosszú COVID betegek két csoportjában, melyek a szérumban cystatin C és orosomukoid mediánértéke alapján alacsonyabb és magasabb értékekre oszlanak

Abbreviations: N, number; NIDDM, non-insulin-dependent diabetes mellitus; BMI, body mass index; IL-6, interleukin-6; SD, standard deviation; IQR, interquartile range; ORM, orosomucoid; NLR, neutrophil-to-lymphocyte ratio; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus-2; CTss, computer tomography severity score; hs-Troponin-T, high sensitive Troponin-T. Az értékek folytonos változók esetében átlag (SD) vagy medián (interkvartilis tartomány, IQR) formájában, míg kategorikus változók esetében számok (százalék) formájában vannak kifejezve. A szignifikáns p-értékek dőlt betűvel vannak kiemelve; †, a követő vizit során mért; ‡, a index SARS-CoV-2 fertőzés felvételkor mért

Azoknál a betegeknél, akiknél magasabb az ORM-koncentráció, a fáradtság és a légszomj gyakoribb volt, mint azoknál, akiknél alacsonyabb az érték. Ezenkívül a CRP és az NLR magasabb értéket mutatott az ORM-medián feletti csoportban,

míg a troponin és D-dimer szintek magasabbak voltak a CYSC-medián feletti csoportban. Az **Táblázat 6** ábra bemutatja a hosszú COVID tünetei, valamint a szérum ORM és CYSC szintek és a laboratóriumi adatok közötti összefüggéseket az alapvizit során.

		Serum Cystatin-c † (mg/L)		p-Value	Serum ORM (g/L) †		p-Value
		Medi- an >, n = 59	Medi- an <, n = 55		Medi- an >, n = 55	Medi- an <, n = 59	
Anti-SARS-CoV-2 S-Ig	U/mL medi- an,IQR	72 (28– 147)	180 (116– 482)	< 0.001	108 (31– 279)	143 (65– 352)	0.098
Anti-SARS-CoV-2 NC-Ig	U/mL medi- an,IQR	54 (19– 104)	59 (23– 115)	0.309	58 (23– 107)	54 (24– 112)	0.710
Symp- toms VAS score *	median, IQR	16 (10–19)	15 (10–20)	0.989	15 (6–20)	16 (12–19)	0.338
Nr of symp- toms	median, IQR	6 (3–9)	4 (2–8)	0.200	4 (2–8)	5 (3–8)	0.293
CRP mg/L	median, IQR	1 (0.5–3)	2 (1–4)	0.052	0.9 (0.5– 1.7)	3.3 (1.5–7)	< 0.001
hsTrop- T	ng/L medi- an,IQR	4 (3–5)	5.4 (4–9)	< 0.001	4 (3–6)	4 (3–8)	0.288
NLR	median, IQR	2 (1.6– 2.6)	2.2 (1.8– 3.2)	0.025	1.9 (1.5– 2.6)	2.1 (1.8– 3.2)	0.036
WBC	G/L medi- an,IQR	6.1 (4.9– 7.3)	6.6 (5.2–8)	0.162	6.1 (4.7– 7.8)	6.6 (5.3– 7.9)	0.131

Creat.	μmol/L medi- an,IQR	66 (57–75)	72 (55–84)	0.081	70 (62–77)	67 (54–78)	0.234
GGT	U/L medi- an,IQR	17 (14–34)	33 (18–56)	0.002	17 (14–30)	33 (18–60)	< 0.001
D-di- mer	μg/L medi- an,IQR	281 (202– 431)	374 (221– 546)	0.028	352 (221– 486)	310 (202– 459)	0.606
LDH	U/L medi- an,IQR	328 (281– 357)	355 (308– 429)	0.006	317 (282– 357)	355 (317– 411)	0.001
Fatigue	N, %	40 (67.8%)	38 (69.1%)	0.882	29 (53%)	48 (81%)	0.001
Depres- sion	N, %	9 (15.3%)	6 (10.9%)	0.585	9 (16.4%)	6 (10.2%)	0.410
Dyspnea	N, %	14 (23.7%)	13 (23.6%)	0.991	8 (15%)	19 (32%)	0.03
Cardio- vasc.	N, %	37 (62.7%)	28 (50.9%)	0.257	33 (60%)	31 (52.5%)	0.455
Neuro.	N, %	28 (47.5%)	20 (36.4%)	0.259	23 (41.8%)	25 (42.4%)	0.952
Pain	N, %	19 (32.2%)	18 (32.7%)	0.952	15 (27.3%)	22 (37.3%)	0.318
Gastro- int.	N, %	5 (8.5%)	7 (12.7%)	0.549	6 (10.9%)	7 (11.9%)	0.873
Smell loss	N, %	19 (32.2%)	5 (9.1%)	0.004	13 (26.6)	12 (20.3%)	0.821
Fatigue	VAS median IQR	0 (0–7)	3.5 (0–7)	0.513	0 (0–5)	7 (0–8)	0.006

Táblázat 6: Összefüggések a hosszú COVID betegek szérum cystatin-c és orosomucoid mediánértékei, valamint a követő viziten mért változók között

Abbreviations: N, number; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus-2; VAS, visual analogue scale; S-Ig, spike immunoglobulin; CRP, C-reactive protein; NLR, neutrophil-lymphocyte ratio; GGT, gamma-glutamyl transferase; LDH, lactate dehydrogenase; WBC, white blood cell count. Az értékek folytonos változók esetében

átlag (SD) vagy medián (IQR) formájában, míg a kategorikus változókat számok (százalékos arány) formájában adjuk meg. A szignifikáns p-értékek dőlt betűvel vannak kiemelve; †, a követő viziten mért; *, a három legjelentősebb tünet VAS pontszámának összege.

A kezdeti vizit során mért szérumszintű kreatinin- és CYSC-értékek erős pozitív összefüggést mutattak a szérumszintű SDMA szintjeivel. Ezzel szemben, a betegek által a kezdeti vizit során jelentett hasi és izomfájdalom súlyossága negatív összefüggést mutatott a szérumszintű L-arginin szintjeivel. Az **Táblázat 7** ábra keresztmetszeti elemzést mutat be az alapviziten mért L-arginin, ADMA és SDMA szintekről, valamint a klinikai változókról.

	L-Arginine ^c	ADMA ^c	SDMA ^c
Hospitalization	0.038	0.161	0.179 *
Length of hospitalization	-0.002	0.119	0.187 *
Age	-0.065	0.100	0.157
Sex	-0.092	-0.159	0.039
Serum Cystatin-C ^a	-0.039	0.203 *	0.350 **
Serum ORM ^a	0.031	0.029	-0.030
Serum S-Ig ^a	0.038	-0.044	0.079
Serum NC-Ig ^a	-0.094	-0.098	-0.119
hsTroponine-T acute ^b	-0.410 *	-0.516 **	-0.097
WBC ^a	-0.028	-0.070	-0.179 *
Creatinine ^a	0.108	-0.104	0.272 **
GOT ^a	0.075	0.155	0.184 *
hs-Troponine-T ^a	0.009	0.026	0.192 *
Abdominal pain VAS	-0.264 *	0.055	-0.020
Joint pain VAS	-0.006	-0.104	-0.235 *
Muscle pain VAS	-0.225 *	-0.060	-0.012
Fatigue VAS	-0.053	-0.039	-0.102

Fatigue	0.044	0.028	−0.030
---------	-------	-------	--------

Táblázat 7: Keresztmetszeti elemzés az alapviziten mért L-arginin, ADMA és SDMA szintek, valamint a klinikai változók között

Abbreviations: ORM, orosomucoid; WBC, white blood cell count; GOT, glutamate-oxaloacetate transaminase; VAS, visual analogue scale; S-Ig, SARS-CoV-2 spike immunoglobulin G; SARS-CoV-2 nucleocapsid immunoglobulin; a measured on follow-up visit; b measured on admission related to index SARS-CoV-2 infection; c $\mu\text{mol/L}$ values are Spearman correlation coefficients (ρ). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

A kezdeti vizit során bináris logisztikus regressziós modellt alkalmaztunk annak meghatározására, hogy a szérum ORM-szintek mennyire prediktálják a hosszú COVID szindrómás betegek fáradtságának kialakulását. A beválasztási kritériumok több változót tartalmaztak, például az életkort, nemet, a SARS-CoV-2 fertőzés idején bekövetkezett kórházi kezelést, valamint a kezdeti vizit során mért szérum ORM-szinteket. Az eredmények azt mutatták, hogy a kezdeti vizit során mért szérum ORM-szintek függetlenül szignifikáns prediktív erővel rendelkeznek a hosszú COVID szindrómás betegek fáradtságának kialakulására (OR: 9.670, 95% CI: 1.34–9.93, $p = 0.025$), **Táblázat 8.**

Variables	B	Odds Ratio	95% CI	p-Value
Age	−0.011	0.989	0.95–1.03	0.564
Serum ORM †	2.269	9.670	1.34–9.93	0.025
Sex	0.792	2.209	0.95–1.03	0.067
Hospitalization	0.324	1.383	0.54–3.56	0.501

Táblázat 8: Bináris logisztikus regressziós analízis azon változókra vonatkozóan, melyek függetlenül kapcsolódnak a hosszú COVID szindrómás betegek kontroll vizit során tapasztalható fáradtságához

ORM, orosomucoid; †, measured on baseline visit

Az egyváltozós elemzés során pozitív korrelációt figyeltünk meg a felvételnél mért szérumszint CYSC koncentráció és a S-IG koncentráció között. Annak meghatározása érdekében, hogy a szérumszint CYSC függetlenül összefügg-e a felvételnél mért szérumszint S-IG szinttel, bináris logisztikus regressziós analízist végeztünk az összes releváns paraméter bevonásával. Eredményeink azt mutatták, hogy a szérumszint CYSC és a szérumszint S-IG szintek között szignifikáns összefüggés figyelhető meg, jelezve, hogy a szérumszint CYSC függetlenül prediktálja a felvételnél mért szérumszint S-IG szintet (OR: 5.377, 95% CI: 1.822–12.361; $p = 0.02$), **Táblázat 9.**

Variables	B	Odds Ratio	95% CI	p-Value
BMI	0.068	2.581	0.985–1.164	0.108
Serum ORM †	0.913	0.782	0.239–18.855	0.376
Sex	0.167	0.119	0.456–3.063	0.730
Hospitalization	–1.453	8.169	0.086–0.634	0.004
Serum CYSC †	3.875	5.377	1.822–12.361	0.02
Age	0.004	0.026	0.957–1.053	0.782

Táblázat 9: Bináris logisztikus regressziós analízis az anti-SARS-CoV-2 spike antitest (S-Ig) szint és a demográfiai/klinikai változók között (bináris osztályozás: 0: $\leq$ medián, 1: $>$ medián)

ORM, orosomucoid; CYSC, cystatin-C; BMI, body mass index; †, measured on baseline visit

Emellett az antivirális kezelést kapó betegeknél szignifikánsan magasabb májfunkciós értékek és CYSC-szintek figyelhetők meg, míg a két csoport között az egyéb vesefunkciós paraméterekben nem volt számottevő különbség (**Táblázat 10**).

	Favipiravir (n = 29) vs. No Antiviral Med.	Remdesivir (n = 10) vs. No Antiviral Med.
Serum Cystatin-C ^a	0.001	0.034
Serum Creatinine ^a	0.823	0.521
Serum SDMA ^a	0.085	0.844
Serum BUN ^a	0.476	0.704
Serum GOT ^a	0.015	0.671
Serum GPT ^a	< 0.001	0.074
Serum GGT ^a	0.006	0.059

Táblázat 10: Összefüggések a felvételtkor mért szérum vesefunkciós és máj-markerek, valamint az antivirális kezelés között

Abbreviations: GOT, glutamate-oxaloacetate transaminase; GPT, glutamate pyruvate alanine aminotransferase; GGT, gamma-glutamyl transferase; BUN, blood urea nitrogen; SDMA, symmetric dimethylarginine; ^a measured at baseline visit. The comparisons between groups were performed with the Mann-Whitney U test; p-values are reported as exact numbers

4.4 Megbeszélés

Ez a tanulmány azt vizsgálta, hogyan kapcsolódnak a SAH után 72 órával mért szérum cystatin C (CYSC) és orozomukoid (ORM) szintek a hosszú COVID tüneteivel, a vesefunkcióhoz és a felvételtkori gyulladásos markerekhez. Főbb eredményeink a következők:

4.4.1 Főbb eredmények

- A szérum CYSC független prediktorként jelent meg a SARS-CoV-2 spike IgG szintre, ami a súlyos akut fertőzés következtében kialakuló szubklinikai vesekárosodást tükrözi.

- A CYSC szintek szoros pozitív korrelációt mutattak az SDMA értékekkel, erősítve szerepét a vesefunkció romlásának jelzőjeként.
- Az ORM független prediktorként azonosult a hosszú COVID-hoz társuló fáradtság kialakulásában, és összefüggést mutatott annak súlyosságával.
- Az alacsonyabb L-arginin szintek magasabb hasi és izomfájdalom súlyosságával voltak összefüggésben.

A megemelkedett CYSC értékek korábbi kutatások szerint összefüggésbe kerültek a súlyos COVID-19-tel és a hosszú távú vesefunkció romlásával. Míg az eGFR-t általában kreatinin alapján becsülik, a CYSC érzékenyebb mutató, amely lehetővé teszi a vesefunkció romlásának korai felismerését. A hosszú COVID esetében a normális kreatinin mellett megemelkedett CYSC arra utal, hogy a súlyos akut fertőzés következtében kialakuló szubklinikai vesekárosodás az akut fázison túl is fennmarad.

4.4.2 A CYSC és az SDMA szerepe

Vizsgálatunk során megállapításra került, hogy a magasabb CYSC értékek összefüggtek a súlyos, kórházi kezelést igénylő COVID-19 kórtörténettel, ami megerősíti a vesefunkció romlása és a betegség súlyossága közötti kapcsolatot. A CYSC szintek szoros kapcsolatban álltak az SDMA értékekkel, bár az SDMA gyengébb összefüggést mutatott a kórházi kezelés gyakoriságával. Kiemelendő, hogy a CYSC független prediktorként jelent meg a SARS-CoV-2 spike IgG szintre, míg az SDMA esetében ez az összefüggés nem volt megfigyelhető, ami

arra utal, hogy a hosszú COVID esetében a vesefunkció romlásának különböző útvonalai is szerepet játszhatnak.

Mivel az antivirális kezelést kapó betegeknél a CYSC és az ORM szintje jelentősen megemelkedett, mérlegeltük a gyógyszerrel összefüggő vesefunkciós vagy szisztémás diszfunkció lehetőségét. Azonban mivel a kreatinin és az SDMA szintje nem mutatott lényeges eltérést, a megemelkedett CYSC és ORM értékek valószínűleg nem közvetlenül az antivirális kezelés következményei.

4.4.3 ORM és a fáradtság hosszú COVID esetében

A szérum ORM független prediktornak mutatkozott a hosszú COVID betegek fáradtságának kialakulása tekintetében. Korábbi kutatások szerint a magasabb ORM-szintek összefüggésbe hozhatók a krónikus fáradtság szindrómával (CFS), ahol az ORM enyhe hipokortizolizmust és a hipotalamusz-agyalapi tengely (HPA) diszfunkcióját tükrözi. Az teszteszt utáni fáradtság és állatkísérletek eredményei is alátámasztják az ORM szerepét a fáradtság modulációjában.

Érdekes módon a rövid távú kortikoszteroid kezelés javulást eredményezett a poszt-COVID tünetekben, ami az immunrendszer modulációjára utal. Korábbi vizsgálatokban SARS-CoV-2 fertőzés után mellékvese elégtelenséget is megfigyeltek, amely összhangban áll az ORM lehetséges kapcsolatával a glucokortikoid rendszer diszfunkciójában a hosszú COVID fáradtság esetében. Bár a vizsgálat nem tudta közvetlenül megerősíteni ezt a hipotézist, a fáradtsággal járó magas ORM-szintek átfedő mechanizmusokra utalnak a CFS esetében.

4.4.4 L-arginin és a fájdalom súlyossága

Megállapításra került, hogy az alacsonyabb szérum L-arginin szintek összefüggésbe hozhatók a megnövekedett hasi és izomfájdalom súlyosságával. Az L-arginin ismert analgetikus hatású, csökkenti a neuropátiás fájdalmat és a gyulladásos válaszokat. Emellett az L-arginin kölcsönhatásba lép az opioid rendszerrel, elősegítve endogén fájdalomcsillapító anyagok, például a kiotorfin és a met-enkephalin felszabadulását.

Az L-arginin a nitrogén-monoxid (NO) prekursora is, melynek pro- és antinociceptív hatásai befolyásolhatják a gerincvelői fájdalomfeldolgozást. Továbbá, az L-arginin serkenti a kollagén szintézist, ami hozzájárulhat a gyulladás csökkentéséhez és a fáradtságérzet mérsékléséhez. Ezek a mechanizmusok segíthetnek megmagyarázni, miért áll fenn az összefüggés a magasabb L-arginin szintek és az alacsonyabb hasi, valamint izomfájdalom súlyosság között.

4.4.5 További kutatási irányok

További tényezők, például az miRNS-ek és az extracelluláris mátrix átalakulása hozzájárulhatnak a hosszú COVID esetében megfigyelhető érrendszeri és gyulladásos változásokhoz. Jövőbeni vizsgálatoknak célszerű lenne megvizsgálniuk, hogy a védőoltások milyen hatással vannak a hosszú COVID tüneteire és a szérum metabolit szintekre, mivel az új adatok potenciális immunmoduláló hatásokat sugallnak. A nagyobb populációkon végzett elemzések és kockázatstratifikációs modellek tovább tisztáznák a CYSC és az ORM prediktív biomarkerként betöltött szerepét.

4.4.6 Összegzés

Vizsgálatunk azt mutatta, hogy a szérum CYSC független prediktora a SARS-CoV-2 spike IgG szintnek, ami valószínűleg a súlyos akut fertőzés következtében kialakuló szubklinikai vesekárosodást tükrözi. Az ORM kulcsfontosságú biomarkernek bizonyult a hosszú COVID fáradtságában, megerősítve szerepét a szisztémás gyulladásban és a potenciális HPA-tengely diszfunkciójában. Ezenkívül a magasabb L-arginin szintek összefüggtek az alacsonyabb hasi és izomfájdalom súlyossággal, ami a fájdalom modulációjára utal. Ezek az eredmények hozzájárulnak a hosszú COVID patofiziológiájának növekvő megértéséhez, és potenciális biomarkereket jelölnek ki a monitorozás és beavatkozás területén.

4.5 Limitációk

Több korlátot is figyelembe kellett venni a vizsgálat tervezése során. Először is, a tanulmány egyetlen központban zajlott, ami mintavételi torzításhoz és az eredmények általánosíthatóságának korlátozásához vezethetett. Az eredmények megerősítéséhez multicentrikus, nagyobb betegcsoportos vizsgálatok szükségesek. Másodszor, a szigorú kizárási kritériumok miatt mindössze 114 beteget vontunk be, ami csökkentheti a statisztikai erőt, így az eredményeket óvatosan kell értelmezni és nagyobb léptékű vizsgálatokkal validálni. Harmadszor, a betegek glucokortikoid szintjeit nem vizsgáltuk, ami megnehezíti az ORM megfigyelt szintjének pontos értelmezését. Emellett a COVID-variánsok

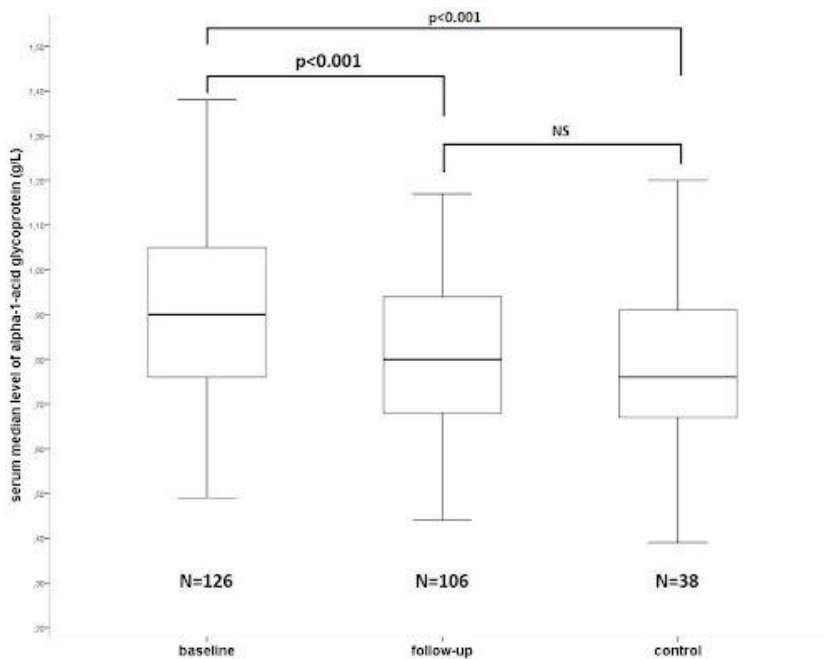
elkülönítését sem vettük figyelembe, ami potenciális zavaró tényező lehet, mivel az egyes variánsok eltérő módon befolyásolhatják a hosszú COVID tüneteit.

4.6 Jövőbeli kutatási irányok

Annak megállapítása érdekében, hogy a szérum ORM szint változásai tartósak-e vagy ideiglenesek, a kezdeti betegcsoportnál 3 hónapos követővizitet végeztünk. Az eredmények csökkenő tendenciát mutattak az ORM szintekben a kezdeti vizit és a követővizit között (**Ábra 3**). Emellett egy egészséges kontrollcsoportot is bevontunk, melyben szignifikáns különbséget találtunk az alapvizitkor mért szérum ORM szintek és az eredeti betegcsoport értékei között. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a megemelkedett ORM szintek idővel végül csökkennek és visszatérnek az egészséges egyének szintjére. Az adatok alapos értékelése után a kutatási eredmények publikációját tervezzük.

4.7 Összegzés

Ez az értekezés átfogóan vizsgálta az orozomukoid (ORM) neurológiai és szisztémás patofiziológiákban betöltött sokrétű szerepét, kiemelve annak potenciális alkalmazhatóságát biomarkerként és terápiás célpontként a SAH és a hosszú COVID szindróma esetében. Az eredmények azt mutatták, hogy az ORM szerepe jelentős lehet mind a közvetlen, mind a szisztémás kockázatok esetében, és ez potenciális lehetőséget biztosít további diagnosztikai és terápiás stratégiák fejlesztésére.



Ábra 3: A kontrollvizit során mért ORM-szintek összehasonlítása az alapvizit és az egészséges kontrollcsoport értékeivel

V. Összegzés

Ez a dolgozat átfogóan vizsgálta az orozomukoid (ORM) sokrétű szerepét, különös tekintettel annak neurológiai és szisztémás kórfolyamatokban betöltött funkcióira. Értékelte továbbá az ORM potenciális hasznosságát biomarkerként és terápiás célpontként két specifikus állapot, az aneurizmális szubarachnoidális vérzés (SAH) és hosszú COVID szindróma esetében. Az eredmények alátámasztják az ORM jelentőségét számos patofiziológiai folyamatban, valamint kiemelik a személyre szabott orvoslásban rejlő lehetőségeit.

5.1 Az új tudományos eredmények összefoglalása

Az első vizsgálat középpontjában az ORM aneurizmális szubarachnoidális vérzésben (SAH) betöltött szerepe állt, amely továbbra is jelentős morbiditással és mortalitással jár a korai agyi károsodás (EBI) és a késleltetett agyi ischaemia (DCI) miatt. A vizsgálatban azonosítottuk az ORM szignifikánsan emelkedett szintjét SAH-ban szenvedő betegekben, amely összefüggést mutatott mind a vérzés súlyosságával, mind a hosszú távú funkcionális kimenetellel. A szérum ORM medián értéke aSAH betegekben 1,22 g/L (IQR 0,94–1,60) volt, szemben az egészséges kontrollok 0,91 g/L (IQR 0,77–1,05) értékével ($p < 0,001$). Eredményeink szerint az ORM alkalmas lehet a korai agyi károsodás (EBI) indikátoraként, illetve prediktív biomarkerként szolgálhat a DCI és a hosszabb kórházi tartózkodás előrejelzésére is. Az ORM az akut fázisban zajló gyulladásos folyamatok szabályozásával aktív szerepet tölthet be az agy sérülésre adott válaszában, befolyásolva a neuroinflammáció mértékét és a neuroprotekciónak a fokát.

A második vizsgálat a hosszú COVID szindrómára fókuszált, amelyet tartós tünetek és krónikus gyulladás jellemeznek a SARS-CoV-2 fertőzés akut fázisa után. Kutatásunk megállapította, hogy a hosszú COVID-ban szenvedő betegeknél az ORM szintje jelentősen megváltozott, ami alátámasztja az akut fázis fehérje szerepét a tartós immunológiai zavarokban. A hosszú COVID-dal érintett betegek szérum ORM szintje szignifikánsan magasabb volt az egészséges kontrollokhoz képest, és logisztikus regresszióval kimutattuk, hogy a magasabb ORM-szint jelentősen növeli a fáradtság kialakulásának kockázatát (OR: 9,670,

95% CI 1,34–9,93; $p = 0,025$). Az ORM mint potenciális biomarker azonosítása új irányokat nyithat meg a hosszú COVID diagnosztizálásában és monitorozásában. Ezen kívül, az ORM modulációja új terápiás lehetőséget jelenthet a hosszú COVID tüneteinek kezelésében az alapvető gyulladásos folyamatok célzott befolyásolásával.

A két vizsgálat együttesen igazolja, hogy az ORM kiemelt jelentőségű gyulladásos és immunológiai folyamatok szabályozásában, szintje pedig tükrözi és potenciálisan befolyásolja a különböző betegségek súlyosságát és lefolyását. A SAH esetében az ORM nem csupán passzív indikátor, hanem aktív résztvevője a neuroinflammatorikus folyamatoknak, ezáltal lehetőséget kínál a klinikai lefolyás előrejelzésére és a kezelés személyre szabására. A hosszú COVID esetében az ORM megváltozott szintje a krónikus gyulladásos állapotokban betöltött jelentőségére utal, valamint alkalmassá teszi a hosszú távú komplikációk diagnosztikus és prognosztikus markereként való alkalmazásra.

5.2 Klinikai és kutatási perspektívák

A SAH-n és hosszú COVID-on túl az ORM sokféle egészségi állapotban betöltött változatos szerepe biológiai funkcióinak sokféleségéből fakad. Az ORM szerepet játszik az endoteliális működésben, a kapillárisok barrier-integritás fenntartásában, a gyógyszermegkötésben és transzportban, a szfingolipid-anyagcserében, valamint a gyulladásos és immunválaszok modulációjában. Emelkedett ORM-szinteket igazoltak számos szisztémás betegségben, mint például kardiovaszkuláris és metabolikus zavarokban, autoimmun betegségeken

(például rheumatoid arthritis, szisztémás lupus erythematosus, gyulladásos bélbetegségek), valamint neurodegeneratív állapotokban, mint az Alzheimer-kór és a sclerosis multiplex. E fehérje képessége, hogy befolyásolja a gyulladásos folyamatokat és stabilizálja a sejtkörnyezetet, kulcsfontosságú szereplővé teszi az egészség és betegség homeosztázisának fenntartásában.

Továbbá, az ORM sokoldalúsága akut fázisfehérjeként arra utal, hogy expressziója és aktivitása széles spektrumú fiziológiás és patológias ingerek hatására finoman szabályozható. Ezáltal szerepet játszhat különböző betegségek mechanizmusában. Az ORM képes különböző bioaktív molekulák kötésére, amelyek hozzáférhetőségét szabályozva befolyásolja a gyulladásos és immunválaszokat, valamint a sejtek metabolizmusát. Mindezek alapján terápiás célt jelenthet az ORM szintjének vagy aktivitásának modulációja, illetve gyulladáscsökkentő tulajdonságainak utánzása, amely számos kórállapotban előnyös lehet a gyulladás csökkentésében és az immunrendszeri egyensúly helyreállításában.

Az ORM klinikai alkalmazási lehetőségei széleskörűek és ígéretesek. Biomarkerként kritikus diagnosztikai és prognosztikai információt nyújthat, lehetővé téve a betegségek súlyosságának értékelését, a kimenetel előrejelzését, valamint a kezelések személyre szabását. Fejlett technológiák, például point-of-care tesztek, bioszenzorok és omikai megközelítések tovább fokozhatják az ORM diagnosztikus értékét, így a betegek számára hozzáférhetőbbé, gyorsabbá és informatívabbá téve annak vizsgálatát.

Összességében e kutatások eredményei elősegíthetik az ORM diagnosztikai és terápiás integrációját a klinikai gyakorlatba, hozzájárulva a személyre szabott gyógyítás jövőjének formálásához.

VI. Publikációk

A dolgozat az alábbi közleményeken alapul

- [1] **Zavori, L.,** Varnai, R., Molnar, T., Szirmay, B., Farkas, N., Schwarcz, A., & Csecsei, P. (2023). Acute Phase Protein Orosomuroid (Alpha-1-Acid Glycoprotein) Predicts Delayed Cerebral Ischemia and 3-Month Unfavorable Outcome after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. International Journal of Molecular Sciences, 24(20), Article 20. <https://doi.org/10.3390/ijms242015267>; **IF: 4.9 (2023)**
- [2] **Zavori, L.,** Molnar, T., Varnai, R., Kanizsai, A., Nagy, L., Vadkerti, B., Szirmay, B., Schwarcz, A., & Csecsei, P. (2023). Cystatin-c May Indicate Subclinical Renal Involvement, While Orosomuroid Is Associated with Fatigue in Patients with Long-COVID Syndrome. Journal of Personalized Medicine, 13(2), 371. <https://doi.org/10.3390/jpm13020371>; **IF: 3.0 (2023)**

A szerző további közleményei

- [1] Csecsei, P., Acs, P., Gottschal, M., Imre, P., Miklos, E., Simon, D., Erdos-Bonyar, S., Berki, T., **Zavori, L.,** & Varnai, R. (2024). The relevance of combined testing of cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein and ubiquitin C-terminal hydrolase L1 in multiple sclerosis and peripheral

- neuropathy. *Neurological Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s10072-024-07790-4>; **IF: 2.7 (2023)**
- [2] Orban, B., Tengölics, R., **Zavori**, L., Simon, D., Erdo-Bonyar, S., Molnar, T., Schwarcz, A., & Csecsei, P. (2024). The difference in serum metabolomic profiles between the good and poor outcome groups at 3 months in the early and late phases of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12), 6597. <https://doi.org/10.3390/ijms25126597>; **IF: 4.9 (2023)**
- [3] Molnar, T., Lehocski, A., Fekete, M., Varnai, R., **Zavori**, L., Erdo-Bonyar, S., Simon, D., Berki, T., Csecsei, P., & Ezer, E. (2024). Mitochondrial dysfunction in long COVID: Mechanisms, consequences, and potential therapeutic approaches. *GeroScience*. <https://doi.org/10.1007/s11357-024-01165-5>; **IF: 5.3 (2023)**
- [4] Csizek, Z., Mikó-Baráth, E., Budai, A., Frigyyik, A. B., Pusztai, Á., Nemes, V. A., **Zavori**, L., Fülöp, D., Czigler, A., Szabó-Guth, K., Buzás, P., Piñero, D. P., & Jandó, G. (2023). Artificial intelligence-based screening for amblyopia and its risk factors: Comparison with four classic stereovision tests. *Frontiers in Medicine*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1294559>; **IF: 3.1**
- [5] Csecsei, P., Olah, C., Varnai, R., Simon, D., Erdo-Bonyar, S., Berki, T., Czabajszi, M., **Zavori**, L., Schwarcz, A., & Molnar, T. (2023). Different kinetics of serum ADAMTS13, GDF-15, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the early phase of aneurysmal subarachnoid hemorrhage.

International Journal of Molecular Sciences, 24(13), 11005. <https://doi.org/10.3390/ijms241311005>; **IF: 4.9**

- [6] Kanizsai, A., **Zavori**, L., Molnar, T., Tőkés-Füzesi, M., Szalai, Z., Berecz, J., Varnai, R., Peterfi, Z., Schwarcz, A., & Csecsei, P. (2023). Adverse reactions after booster SARS-CoV-2 vaccination have less impact on antibody response than after basic vaccination scheme. *Vaccines*, 11(1), 182. <https://doi.org/10.3390/vaccines11010182>; **IF: 5.2**
- [7] Spantler, D., Csecsei, P., Borocz, K., Berki, T., **Zavori**, L., Schwarcz, A., Lenzser, G., & Molnar, T. (2022). Serum periostin may help to identify patients with poor collaterals in the hyperacute phase of ischemic stroke. *Diagnostics*, 12(8), 1942. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12081942>; **IF: 3.6**
- [8] Kanizsai, A., Molnar, T., Varnai, R., **Zavori**, L., Tőkés-Füzesi, M., Szalai, Z., Berecz, J., & Csecsei, P. (2022). Fever after vaccination against SARS-CoV-2 with mRNA-based vaccine associated with higher antibody levels during 6 months follow-up. *Vaccines*, 10(3), 447. <https://doi.org/10.3390/vaccines10030447>; **IF: 7.8**
- [9] Varnai, R., Molnar, T., **Zavori**, L., Tőkés-Füzesi, M., Illes, Z., Kanizsai, A., & Csecsei, P. (2022). Serum level of anti-nucleocapsid, but not anti-spike antibody, is associated with improvement of long COVID symptoms. *Vaccines*, 10(2), 165. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020165>; **IF: 7.8**

- [10] Schranz, D., Molnar, T., Erdo-Bonyar, S., Simon, D., Berki, T., **Zavori**, L., Szolics, A., Buki, A., Lenzser, G., & Csecsei, P. (2021). Fatty acid-binding protein 3 and CXC-chemokine ligand 16 are associated with unfavorable outcome in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 30(11), 106068. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.106068>; **IF: 2.677**
- [11] Molnar, T., Varnai, R., Schranz, D., **Zavori**, L., Peterfi, Z., Sipos, D., Tőkés-Füzesi, M., Illes, Z., Buki, A., & Csecsei, P. (2021). Severe fatigue and memory impairment are associated with lower serum level of anti-SARS-CoV-2 antibodies in patients with post-COVID symptoms. *Journal of Clinical Medicine*, 10(19), 4337. <https://doi.org/10.3390/jcm10194337>; **IF: 4.964**
- [12] G. Xantus, L. **Zavori**, C. Matheson, V.A. Gyarmathy, L.M. Fazekas, P. Kanizsai, Cannabidiol in low back pain: scientific rationale for clinical trials in low back pain, *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 14 (2021) 671–675. <https://doi.org/10.1080/17512433.2021.1917379>; **IF: 3.54**
- [13] Xantus, G., & **Zavori**, L. (2021). Learning from errors. In M. S. Firstenberg & S. P. Stawicki (Eds.), *Teamwork in Healthcare*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.94126>
- [14] Xantus, G., Rékassy, B., & **Záavori**, L. (2021). Koronavírusvaccina-vade-mecum. *Orvosi Hetilap*, 162(8), 283–292. <https://doi.org/10.1556/650.2021.32172>; **IF: 0.707**

- [15] Xantus, G., Anna Gyarmathy, V., Johnson, C. A., Sanghera, P., **Zavori**, L., & Kanizsai, P. L. (2021). The role of vitamin E acetate (VEA) and its derivatives in the vaping associated lung injury: Systematic review of evidence. *Critical Reviews in Toxicology*, 51(1), 15–23. <https://doi.org/10.1080/10408444.2020.1858754>; **IF: 6.184**

VII. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, *Dr. Csécsi Péternek* a doktori munkám során nyújtott folyamatos támogatásáért, útmutatásáért és szakmai tanácsaiért. Mentorálása nélkülözhetetlen volt kutatásom kihívásainak leküzdésében; türelmét és biztatását különösen nagyra értékelem.

Hálával tartozom továbbá barátaimnak és mentoraimnak, *Dr. Verzár Zsófiának*, *Dr. Jándó Gábornak* és *Dr. Kanizsai Péternek*, akik tanácsaikkal, támogatásukkal és szakmai meglátásaikkal jelentősen hozzájárultak a munka sikeréhez, valamint szakmai és személyes fejlődésemhez. Családomnak és barátaimnak külön köszönettel tartozom kitartó támogatásukért és bátorításukért. Megértésük és a belém vetett hitük folyamatos motivációt és erőt adott számomra a folyamat során. Végül szeretném megköszönni mindenkinek, aki bármilyen módon segítette munkám létrejöttét – akár hasznos tanácsokkal, akár lelki támogatással. Az ő hozzájárulásuk nélkül ez a dolgozat valószínűleg soha nem készült volna el ilyen formában.