

**KORAI NEUROLÓGIAI JAVULÁS REPERFÚZIÓS KEZELÉST
KÖVETŐEN AKUT ISCHAEMIÁS STROKE-BAN**

PhD TÉZISFÜZET

DR. ANNUS ÁDÁM



Klinikai és Kísérletes Idegtudományok Képzési Program

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Általános Orvostudományi Kar

Szegedi Tudományegyetem

Neurológiai Klinika

Témavezetők:

Prof. Dr. Klivényi Péter, PhD, DSc

Dr. Sztriha László, PhD, FRCP

Szeged

2023

1. Bevezetés

A Global Burden of Disease közelmúltban készült becslései szerint a stroke a második vezető halálozási ok, és a harmadik együttes halálozási és rokkantsági ok világszerte. A stroke élethosszig tartó kockázata az elmúlt 20 évben körülbelül 50%-kal nőtt, és minden negyedik embert érint. A stroke esetek többségét iszkémiás események teszik ki.

Az iszkémiás stroke akut kezelése az elmúlt években jelentősen fejlődött. Az intravénás trombolízis (IVT) alteplázzal vagy tenekteplázzal (rekombináns szöveti plazminogén-aktivátorok) az első vonalbeli kezelés a tünetek megjelenésétől számított 4,5 órán belül. Bizonyos esetekben a kezelés időablakát a tünetkezdettől számított 9 óráig meg lehet hosszabbítani. A nagyér-okklúzióban (large vessel occlusion, LVO) szenvedő betegek esetében a mechanikus trombektómia (MT) hatékony endovaszkuláris eljárás a rekanalizációhoz. Metaanalízisek szerint az elülső keringési LVO-ban szenvedő betegek fogyatékoságának csökkentéséhez szükséges kezelési szám (number needed to treat) 2,6. Speciális esetekben az MT akár 24 órával a tünetek megjelenése után is elvégezhető.

Az iszkémiás stroke-al kapcsolatos randomizált klinikai vizsgálatok többsége a kezelés vagy beavatkozás hatékonyságát a módosított Rankin-skálával (mRS) méri. Az mRS egy 7 pontos skála (0-tól 6-ig), amely a betegek önellátási képességét méri, különös tekintettel a mobilitásra. A magasabb pontszámok súlyosabb fogyatékoságot jeleznek. Általában három hónappal a stroke után mérik fel a betegek állapotát. Az mRS előnyei, hogy rövid, egyszerű és magas az értékelők közötti megbízhatósága. Az mRS azonban nem veszi figyelembe a társbetegségeket, a polifarmáciát, a társadalmi-gazdasági tényezőket, a rehabilitáció elérhetőségét és minőségét, valamint a család által nyújtott támogatást.

Ezért úgy véljük, hogy a reperfüziós terápiák kezelési hatékonyságát feltehetően jobban tükrözi a National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) pontszámának rövid távú változása, mint a 90 napos mRS pontszám. A NIHSS pontszám a neurológiai károsodás mértékét jelzi, nem az önellátási képességet mutatja. A pontszámok 0 és 42 között mozognak, a magasabb pontszámok súlyosabb deficitet jeleznek. A NIHSS pontszám rövid távú javulását többnyire korai neurológiai javulásnak (early neurological improvement, ENI) nevezik az irodalomban. Sajnos az ENI meghatározása jelentősen eltér a különböző tanulmányokban. Az ENI különböző definíciói ellenére számos tanulmány igazolta, hogy az ENI korrelál a később felmért klinikai kimenetellel.

A tézis fókuszában a reperfúziós terápiákat (IVT és MT) követő ENI vizsgálata áll. Az ENI definíciója a tézisben szereplő tanulmányokban eltért. Ennek oka, hogy az ENI definícióját minden esetben a vizsgált stroke populáció klinikai adataihoz igazítottuk.

1.1. DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis

Akut ischaemiás stroke esetén a tünetkezdés pontos időpontját gyakran nehéz meghatározni. A stroke betegek körülbelül 14-27%-a érkezik a sürgősségi osztályra ismeretlen tünetkezdéssel. A jelenlegi irányelvek a tünetek megjelenését követő 4,5 órán belül javasolnak szisztémás IVT-t. Ha a tünetkezdés ismeretlen, és a beteget több mint 4,5 órája látták utoljára, a trombolitikus kezelésre való alkalmasság megítélésében speciális képalkotó eljárások segítenek. Az egyik ilyen lehetőség az MRI diffúzió súlyozott, ill. szabad víz elnyomós képek (diffusion weighted imaging, DWI- fluid-attenuated inversion recovery, FLAIR) közötti „mismatch” koncepció. A DWI felvételek percekben belül kimutatják a víz sejteken belüli diffúziójában bekövetkező, iszkémiából eredő változásokat. Ehhez képest a T2 súlyozott, és következésképpen a FLAIR képalkotás csak a citotoxikus ödémát követő vasogén ödéma kimutatására érzékeny. Egy multicentrikus, randomizált, kettős vak, placebo kontrollált vizsgálatban (Efficacy and Safety of MRI-based Thrombolysis in Wake-up Stroke, azaz a WAKE-UP vizsgálat) altepláz kezelésben részesültek olyan ismeretlen tünetkezdetű stroke betegek, akiket utoljára több mint 4,5 órával a tünetek észlelése előtt láttak jó állapotban, és MRI vizsgálatukon DWI-FLAIR mismatch látszódott. Az alteplázzal kezelt betegek a placeboval kezelt kontroll csoporthoz képest, 90 nappal a stroke után, szignifikánsan jobb funkcionális kimenetelt mutattak.

1.2. Prognosztikus biomarkerek akut iszkémiás stroke-ban

A biomarkerek fiziológiai vagy patológiai folyamatok objektív mutatói, melyeknek jelentős szerepe van a terápiás beavatkozásokra adott klinikai válaszok előrejelzésében és nyomon követésében. A véralapú biomarkerek számának jelentős növekedése ellenére a rutin klinikai gyakorlatban még mindig hiányoznak azok a prognosztikus biomarkerek, amelyek segíthetnének az iszkémiás stroke kimenetelének vagy a reperfúziós terápiára adott válasznak az előrejelzésében. Bár prognosztikai értéke még nem bizonyított, állatmodellek és klinikai vizsgálatok egyértelműen igazolták, hogy a kinurenin (KYN) útvonal aktiválódik akut ischaemiás stroke-ban.

1.3. Kinurenin útvonal

A KYN útvonal a triptofán (TRP) metabolizmusának fő útvonala. Kiemelt szerepet játszik az N-metil-D-aszpartát (NMDA) receptor (NMDAR) által közvetített excitotoxicitásban, a reaktív oxigén gyökök (reactive oxygen species, ROS) termelésében és gyulladásos folyamatokban. Az első és egyben sebességmeghatározó lépés a TRP L-KYN-né történő átalakítása az indolamin-2,3-dioxigenáz (IDO) vagy a triptofán-2,3-dioxigenáz (TDO) által. Az L-KYN három különböző molekulává metabolizálódhat. A kinurenin-aminotranszferáz (KAT), a kinurenin-3-monooxigenáz (KMO) és a kinurenináz enzimek katalizálják a kinurénsav (KYNA), a 3-hidroxi-L-kynurenin (3-HK) és az antranilsav (AA) termelését. A 3-HK és az AA 3-hidroxi-antranilsavvá (3-HAA) és kinolinsavvá (QUIN) metabolizálódhat. A fent említett molekulákat együttesen kinurenineknek nevezzük. A KYN útvonal legjelentősebb neuroaktív vegyületei a KYNA, a 3-HK és a QUIN. A KYNA az NMDAR ismert endogén, kompetitív inhibitora. A 3-HK neurotoxikus vegyület, amely szabad gyökök termelését közvetíti. A QUIN szintén neurotoxikus metabolit, amely erős NMDAR-agonista és glutamáterg excitotoxicitáshoz vezet.

1.4. Közeli infravörös spektroszkópia (near-infrared spectroscopy, NIRS)

Reperfúziós terápiák alatt az akut ischaemiás stroke-os betegek állapotfelmérése a gyakori neurológiai vizsgálaton alapul. A közeli infravörös spektroszkópia (near infrared spectroscopy, NIRS) az akut stroke betegek monitorizálására használható ágy melletti, non-invazív, valós időben folyamatosan regisztráló eszköz. Tudomásunk szerint csak néhány megfigyeléses és kísérleti tanulmány mutatta be a NIRS-monitorizálás lehetőségeit akut ischaemiás stroke-ban.

A NIRS olyan fényforrást használ, amely a közeli infravörös tartományban (700-1100 nm) bocsát ki fotonokat. Ezek a fotonok néhány centiméter mélyen behatolnak a koponyán át az agyi parenchymába. A kibocsátott fény részben visszaverődik, szóródik és elnyelődik. Az oxigén-hemoglobin (Hb_{oxy}) és a dezoxi-hemoglobin (Hb_{deoxy}) abszorpciós spektruma különböző hullámhosszakon változik. Ez a különbség lehetővé teszi a Hb_{oxy} és Hb_{deoxy} koncentrációjának kiszámítását a kibocsátott és a visszaeső fény intenzitásának különbsége alapján, a Beer-Lambert-egyenlet segítségével:

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon \times c \times l$$

(A: abszorpció, I_0 : kibocsájtott fény intenzitása, I: visszaeső fény intenzitása, ε : abszorpciós együttható, c: koncentráció, l: fényút).

Az totál hemoglobin (Hb_T) koncentráció a Hb_{oxy} és a Hb_{deoxy} koncentrációk összege. A NIRS képes mérni az agykérgi vér oxigenizációját/szaturációját, azaz a Hb_{oxy} hányadát a Hb_T -hez képest. Utóbbi arányos az agyi vértérfogattal (cerebral blood volume, CBV).

Ismert tény, hogy az agyi kollaterális keringés kulcsfontosságú szerepet játszik az ischaemiás károsodás progressziójának csökkentésében. Azonban ennek valós idejű monitorizálása nem megoldott a mindennapi klinikai gyakorlatban. Multimodális MRI-vizsgálatok kimutatták, hogy a megnövekedett CBV, a megtartott agyi véráramlás (cerebral blood flow, CBF) és a késleltetett átlagos tranzitidő a kollaterális áramlás jelenlétére utalnak. Taussky és munkatársai CT perfúzió segítségével lineáris korrelációt mutattak ki a regionális O_2 szaturáció (rSO_2) és a CBF között. Így mind a CBV, mind a CBF korrelál az rSO_2 értékkel, amely valós időben mérhető a betegágy mellett, non-invazív módon a NIRS segítségével.

2. Célkitűzések

A tézis céljai a következők voltak:

- I. Az ENI vizsgálata altepláz kezelést követően a DWI-FLAIR mismatch-et mutató betegeknél. Továbbá összehasonlítottuk a kezelt betegek kimenetelét azokéval, akik nem részesülhettek IVT-ben, mert nem volt DWI-FLAIR mismatch az MRI-n vagy egyéb ellenjavallat állt fenn. Elemzésünkbe bevontuk ismeretlen tünetkezdetű betegeket, valamint olyan eseteket is, ahol differenciál diagnosztikai céllal a tünetek megjelenését követő 4,5 órán belül történt MRI vizsgálat. Az LVO-s betegeket kizártuk elemzésünkből.
- II. Pilot tanulmány elvégzése annak vizsgálatára, hogy a KYN útvonal metabolitjai és a releváns enzimek aktivitása az IVT előtt és 12 órával az IVT után mérve potenciális biomarkerei lehetnek-e az ENI előrejelzésének.

- III. Annak vizsgálata, hogy a NIRS alkalmas-e az elülső határterületi leptomeningeális kollaterális keringés monitorizálására, ill. elemezzük a reperfüziós kezelésekk alatti NIRS-mérések és az ENI közötti korrelációt.

3. Metodika

3.1. Betegek

3.1.1. *Betegek a DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis vizsgálatban*

Egycentrumú megfigyeléses vizsgálatot végeztünk 2017. január és 2020. április között IVT-vel kezelt betegek körében. Retrospektíve azonosítottuk azokat a betegeket, akiknél a tünetek alapján stroke merült fel, és az MRI vizsgálaton DWI hiperintenzitás látszódott. Az LVO-s betegeket kizártuk vizsgálatunkból. A WAKE-UP tanulmányhoz képest megengedőbb protokollt alkalmaztunk: részleges DWI-FLAIR mismatch esetén is részesülhettek IVT-ben a betegek. A stroke előtti önellátási képesség mértéke vagy az életkor nem voltak ellenjavallatai az IVT-nek. Az alteplázt kapott betegeknél az IVT után körülbelül 24 órával ismételt képalkotó vizsgálat történt (CT vagy MRI). Minden beteg vagy törvényes képviselője a kezelés előtt tájékozott beleegyezését adta. A Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Etikai Bizottsága jóváhagyta vizsgálatunkat (azonosító: 6/2017-SZTE), amelyet a Helsinki Nyilatkozat szerint végeztünk. Az alteplázzal kezelt betegek klinikai adatait összehasonlítottuk azokéval, akik DWI-FLAIR match vagy egyéb ellenjavallat miatt nem részesültek IVT-ben.

3.1.2. *Betegek a biomarker pilot vizsgálatban*

A prognosztikus biomarkerekkel kapcsolatos vizsgálatunkban olyan akut ischaemiás stroke-os betegek vettek részt, akik 2018 januárja és decembere között alteplázzal végzett IVT-n estek át. Kizárásra kerültek a MT-ben részesült betegeket, és azok, akiknek a stroke-ot megelőző mRS pontszámuk 2 felett volt. A betegadatokat a Stay Alive Akut Stroke Regiszterből, egy országos, multicentrikus adatbázisból gyűjtöttük. Minden beteg vagy törvényes képviselője tájékozott írásbeli beleegyezését adta a Regiszterben történő adatrögzítéshez. A biomarker pilot vizsgálatot a Helsinki Nyilatkozatnak megfelelően végeztük, és a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Etikai Bizottsága is jóváhagyta a protokollt (GINOP 2.3.2-15- 2016-00048). A biomarker-

vizsgálathoz szükséges vérvétel előtt minden beteg vagy hozzátartozója tájékozott beleegyezését adta.

3.2. Képképző vizsgálati protokoll a DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis vizsgálatban

Minden betegnél akut multimodális agyi MRI-vizsgálat történt 1,5 T GE Signa Excite MRI-berendezéssel. Az akut stroke MRI-protokoll DWI, FLAIR és szuszeptibilitás-súlyozott angiográfiás (SWAN) vizsgálatból állt. DWI-FLAIR mismatch esetén, az ischaemiás DWI-lézióval nem volt átfedő jelváltozás a FLAIR-szekvenciákon. Részleges mismatch-ként definiáltuk, ha a DWI hiperintenzitásnál kisebb méretű FLAIR jelváltozást észleltünk. A betegeket akutan észlelő, stroke ellátásban képzett radiológus és neurológus szakorvosok vizuális értékelése alapján született meg a képképzőn észlelt eltérésekről a döntés.

3.3. Vérminták kezelése a biomarker pilot vizsgálatban

A biomarker-vizsgálathoz perifériás vénás vérmintákat vettünk közvetlenül az IVT előtt, illetve 12 órával a kezelés megkezdése után (A és B minták). A vérmintákat 13 percig 3000/perc sebességgel centrifugáltuk, és a szérumokat -80 °C-on tároltuk. A KYN metabolitok mérése tandem tömegspektrometriával (tandem mass spectrometry, MS/MS) összekapcsolt ultranagy teljesítményű folyadékkromatográfiával (ultra high performance liquid chromatography, UHPLC) történt.

3.4. NIRS pilot vizsgálat metodikája

A Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Etikai Bizottsága jóváhagyta pilot vizsgálatunkat (azonosító: 211/2016-SZTE). Minden résztvevő beteg vagy elsőfokú hozzátartozója a NIRS monitorizálást megelőzően írásbeli beleegyezését adta a vizsgálathoz. Az INVOS™ 5100C agyi/szomatikus oximétert (Medtronic, Minneapolis, MN, USA) használtuk a 24 órás folyamatos monitorizáláshoz. A NIRS-szenzorokat az elülső határterületeknek megfelelő kétoldali frontális régiók fölé helyeztük. A kiindulási rSO₂-t az IVT megkezdése előtt rögzítettük. Ezt követően rSO₂ méréseket körülbelül 30 másodpercenként végeztünk. 5 perces regisztrátumok átlag rSO₂-értékeit elemeztük, amelyeket az IVT megkezdésekor, valamint a kezelés megkezdése után 1 órával, 6 órával, 12 órával, 18 órával és 24 órával kalkuláltunk. Az interhemiszférikus rSO₂

különbséget ($IH\Delta rSO_2$) az ipszilaterális oldalon mért rSO_2 -ből kivont kontralaterális oldal felett mért rSO_2 értéként definiáltuk. Korábbi cikkek alapján az rSO_2 4%-os változását és az $IH\Delta rSO_2$ 2%-os változását tekintettük szignifikánsnak. LVO-val járó esetekben, az angiográfiás képek alapján a kollaterális keringés mértékét neuroradiológus határozta meg egy 3 fokozatú skálán (jó-közepesen-rossz).

3.5. Kimeneteli végpontok

3.5.1. Kimeneteli végpontok a DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis vizsgálatban

A kezelés hatékonyságát a felvételi és elbocsátási NIHSS pontszámok alapján vizsgáltuk. ENI-nek tekintettük, amennyiben az elbocsátási NIHSS pontszám alacsonyabb volt, mint a felvételi pontszám. A biztonságosság tekintetében az IVT-t követő kontroll képalkotón észlelt intracerebrális vérzést (intracerebral haemorrhage, ICH) vizsgáltuk. A vérzés mértékét az European Cooperative Acute Stroke Study II-ben (ECASS II) foglaltak szerint osztályoztuk. A tünetképző ICH-t (symptomatic ICH, sICH) szintén az ECASS II vizsgálati kritériumai szerint definiáltuk (legalább 4 pontos NIHSS pontszám romlást okozó vérzés).

3.5.2. Kimeneteli végpontok a biomarker pilot vizsgálatban

Biomarker vizsgálatunkban a hatékonysági végpontok az ENI és a stroke utáni 30, ill. 90 napos jó funkcionális kimenetel voltak. Az ENI-t a Neurological Disorders and Stroke Recombinant Tissue Plasminogen Activator Stroke Study (NINDS) kritériumai szerint határoztuk meg (legalább 4 pontos javulás a NIHSS pontszámában, vagy tünetmentessé vált a beteg), azonban nem a 24 órás, hanem az elbocsátási NIHSS pontszámot vettük alapul. A jó funkcionális kimenetelt $2 \geq$ mRS pontszámként határozzuk meg.

3.5.3. Kimeneteli végpontok a NIRS pilot vizsgálatban

A klinikai kimenetelt a NIHSS és mRS pontszámok alapján értékeltük. Az ENI-t itt is a NINDS kritériumai szerint határoztuk meg, de 24 órával a kezelés utáni NIHSS pontszám alapján. Jó funkcionális kimenetelnek a három hónapos, legfeljebb 2 pontos mRS pontszámot vettük.

3.6. Statisztikai analízis

Az ENI és a 30, ill. 90 napos jó funkcionális kimenetel kategorikus változók voltak a DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis és biomarker vizsgálatokban.

A folytonos klinikai változókat átlag \pm SD értékben fejeztük ki a biomarker vizsgálatban. A KYN-metabolitok és enzimaktivitások eloszlását a Shapiro-Wilk-teszttel vizsgáltuk. A normál eloszlású változókat átlag \pm SD-ben fejeztük ki. A nem parametrikus adatokat medián és IQR formájában közöltük. Az IVT előtti és 12 órás KYN metabolit koncentrációkat és enzimaktivitásokat egymintás t-próbával vagy Wilcoxon-féle előjeles rang teszttel hasonlítottuk össze (az adatok eloszlása alapján). A koncentrációk és enzimaktivitások átlagainak összehasonlítására (az ENI-t és jó funkcionális kimenetelt mutató és nem mutató csoportok között) független mintás t-próbát vagy Mann-Whitney U-tesztet használtuk (az adatok eloszlása alapján). A statisztikailag szignifikáns eredmények jobb szemléltetésére boxplotokat rajzoltunk. Továbbá, ha a statisztikai szignifikancia teljesült, receiver operating characteristic (ROC) analízist végeztünk. Kiszámítottuk a görbe alatti területet (area under the curve, AUC), valamint az érzékenységet (sensitivity, SN) és a specificitást (specificity, SP) a különböző küszöbértékekre. Regresszió analízist az alacsony esetszám miatt nem végeztünk.

A DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis vizsgálatban a Shapiro-Wilk tesztet alkalmaztuk a folytonos változók eloszlásának elemzésére. A parametrikus adatokat átlag \pm SD, míg a nem parametrikus adatokat medián és IQR értékben fejeztük ki. A csoportok közötti összehasonlításokat független mintás t-teszttel végeztük. A kategorikus változók összehasonlítására a Pearson-féle khi-négyszet próbát alkalmaztuk. Amennyiben az elemszám 5 vagy annál kevesebb volt, a Fisher-féle egzakt tesztet alkalmaztuk. A csoportok közötti ENI és halálozás összehasonlításához 95%-os konfidenciaintervallumokat (CI) és esélyhányadosokat (OR) számítottuk. Többváltozós logisztikus regresszió analízist is végeztünk az IVT és az ENI közötti összefüggés elemzésére. Az elemzésbe bevont változók az alábbiak voltak: életkor, nem, felvételi vércukorszint, felvételi szisztolés és diasztolés vérnyomás, felvételi NIHSS pontszám és az IVT. Az OR-t és a 95%-os CI-t ismét kiszámítottuk.

Mindkét vizsgálatban statisztikailag szignifikánsnak tekintettük, amennyiben a p érték $<0,05$ volt. Indokolt esetekben 95%-os konfidenciaintervallumokat (CI) számoltunk. Minden

elemzést az IBM SPSS (22-es verzió, IBM Corp., Armonk, USA) statisztikai szoftverrel végeztünk.

A NIRS pilot vizsgálat kis elemszáma miatt nem vontunk le statisztikai következtetéseket. Ehelyett azt tűztük ki célul, hogy részletesen leírjuk az öt NIRS-felvételt, és vizsgáljuk, hogyan korrelálhatnak a regisztrátumok eredményei az agyi érrendszeri hemodinamikával és a klinikai kimenetellel.

4. Eredmények

4.1. DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis vizsgálat eredményei

121 olyan beteget azonosítottunk, akiknél klinikailag akut ischaemiás stroke merült fel és MRI vizsgálatukon DWI hiperintenzitás látszódott. A különböző klinikai és képalkotási okok miatt kizárt betegek nélkül 71 eset került be a végső elemzésbe. Ebből 29 beteg részesült IVT-ben. Hat betegnél volt részleges DWI-FLAIR match az MRI-n. Ezen betegek közül kettőnél nem történt IVT: egyiküknél szulkális sziderózis, a másikon pedig korábbi intracerebrális vérzés igazolódott a SWAN felvételeken. Négy betegnél volt DWI-FLAIR mismatch, de egyéb kontraindikáció miatt nem kaptak alteplázt. A nem trombolizált betegeknek szignifikánsan több lacunaris infarktust észleltünk ($p=0,042$). Egyebekben a két csoport demográfiai és klinikai adatai hasonlóak voltak.

4.1.1. Hatékonysági és biztonságossági végpontok

Az IVT-vel kezelt csoportban szignifikánsan több betegnél volt ENI (OR, 3,16; 95% CI, 1,178-8,479; $p=0,020$). A többváltozós logisztikus regresszió analízisben az IVT volt az egyetlen változó, amely korrelált az ENI-vel (OR, 3,051; 95% CI, 1,135-8,206; $p=0,027$).

Csak az IVT-ben részesült betegeknek történt kontroll képalkotó vizsgálat. A nem trombolizált betegeknek nem állt fenn klinikai indikációja az ismételt képalkotó vizsgálatnak. Két trombolizált betegnek alakult ki ICH (6,90%). Az egyik betegnek I. típusú parenchymás vérzés (PH 1), a másikon pedig az infarktált területen kívül eső PH 2 látszódott. Csak a PH 2-es betegnek alakult ki sICH (3,45%). Ő öt nappal az IVT után meghalt.

Tizenhét betegnek nem állt rendelkezésre hosszú távú kimeneteli adat. A fennmaradó 53 beteg közül hatan haltak meg a stroke-ot követő 90 napon belül (11,32%):

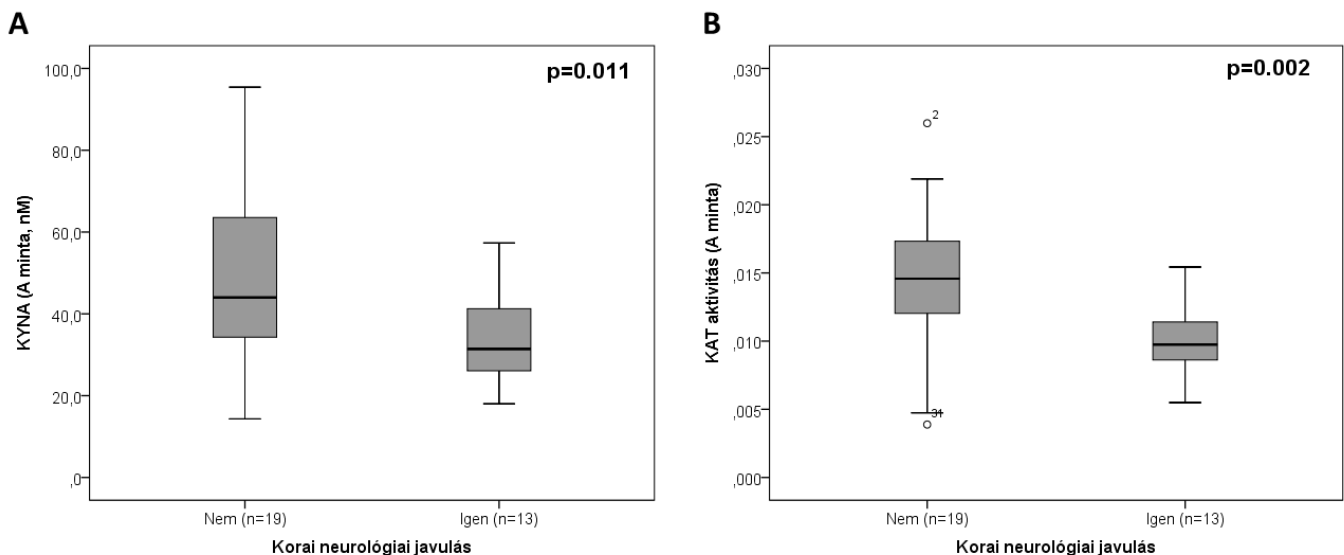
ketten a trombolizált (n=20, 10,00%) és négyen a nem trombolizált csoportban (n=33, 12,12%). Ez statisztikailag nem volt szignifikáns különbség (OR, 0,81, 95% CI, 0,134-4,856; p=1,000).

4.2. Biomarker pilot vizsgálat eredményei

Pilot vizsgálatunkban 48 beteg vett részt. Harminckilencről ismert volt, hogy a 4,5 órás IVT időablakon belül érkezett klinikánkra. A fennmaradó kilenc betegnél a stroke tünetkezdeté ismeretlen volt. Esetükben a WAKE-UP tanulmánynak megfelelően DWI-FLAIR mismatch alapján végeztünk IVT-t.

Szignifikáns különbségeket detektáltunk az A és B mintákban mért szérumszintek tekintetében a KYN, AA, KYNA, xanturénsav (XA), pikolinsav (PICA) és QUIN esetében. Az IDO, a monoamin-oxidáz (MAO) és a KAT enzimaktivitását a következő arányok alapján számítottuk ki: KYN/TRP, 5-hidroxi-3-indol-ecetsav (5-HIAA)/serotonin (SERO) és KYNA/KYN.

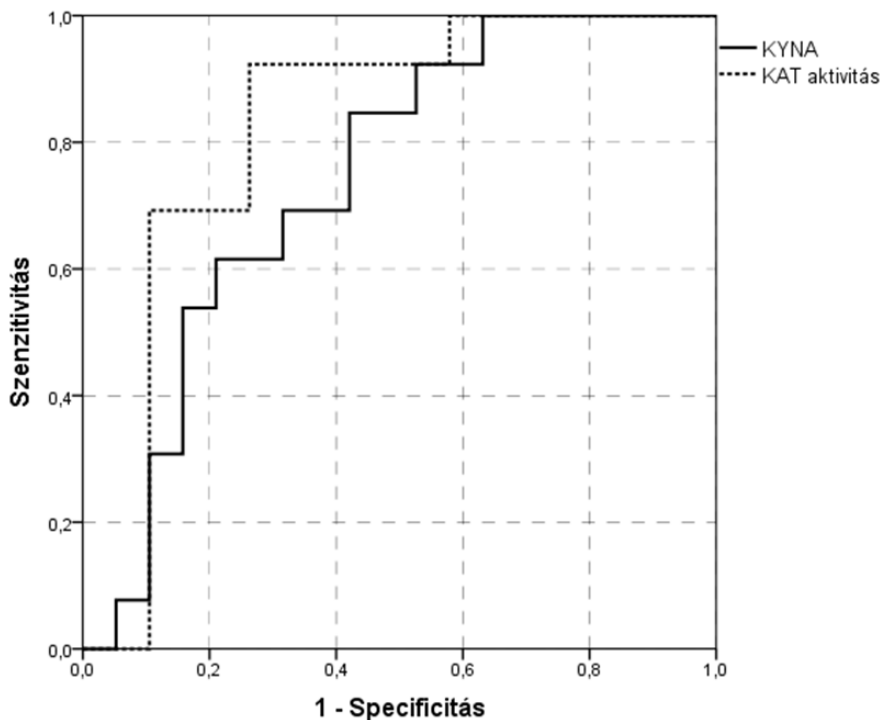
Az ENI-t mutató betegeknél szignifikánsan alacsonyabb volt az A mintában a KYNA koncentráció és alacsonyabb a KAT-aktivitás az ENI-t nem mutató páciensekhez képest (független mintás t-próba, p=0,01, illetve Mann-Whitney U-teszt, p=0,002, 1. ábra).



1. Ábra Boxplotok mutatják a kezelés előtti KYNA-szintek (A) és a KAT-aktivitás (B) közötti szignifikáns különbséget az ENI-t nem mutató, ill. ENI-t elérő betegek között. A boxon belüli vízszintes vonalak a mediánt jelölik. A boxok végei az első és harmadik

kvartiliseket jelölik. A whiskerek a legmagasabb és legalacsonyabb, még nem kiugró értékekig terjednek (az IQR 1,5-szereseként definiálva). A kiugró értékeket körök jelzik.

ROC-analízist végeztünk az ENI-re vonatkozóan az IVT előtti KYNA-szintekkel és KAT-aktivitással (2. ábra). A KYNA-koncentrációra vonatkozó AUC 0,74, 95% CI 0,57-0,91, $p=0,02$ volt. Az ENI előrejelzésére szolgáló optimális határkoncentráció 37,8 nM volt (SN 69,2%; SP 68,4%). Hasonlóképpen, a KAT-aktivitás AUC értéke 0,82, 95% CI 0,67-0,98, $p=0,002$, és az optimális határérték 0,0127 volt (SN 92,3%; SP 73,7%).



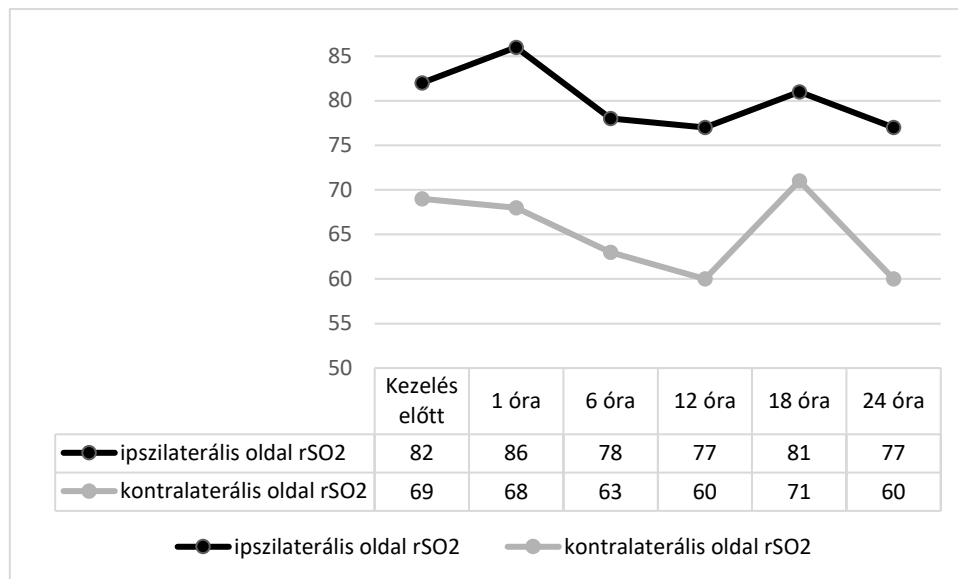
2. Ábra A trombolízis előtti KYNA-koncentráció és KAT-aktivitás ENI-t prediktáló ROC görbéi.

4.3. NIRS pilot vizsgálat eredményei

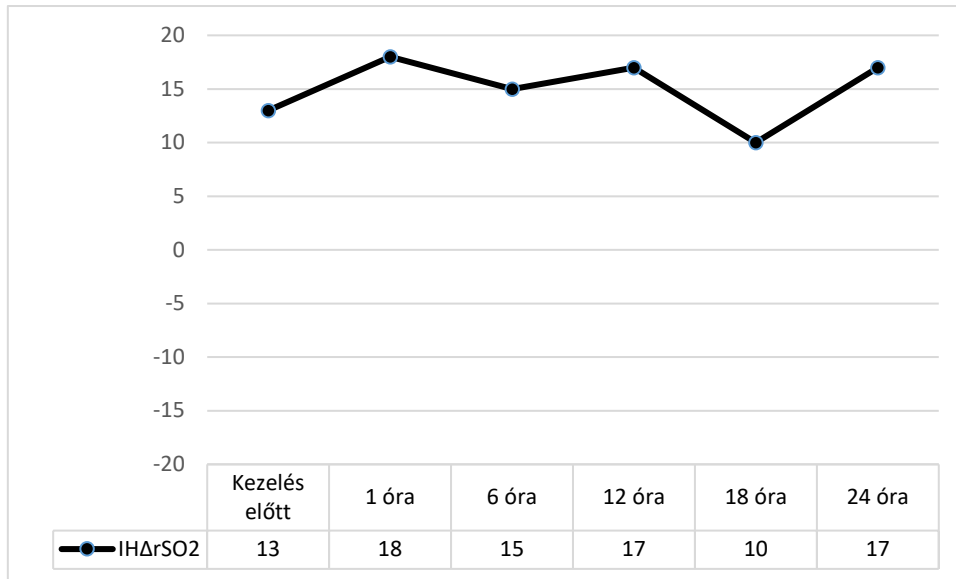
Vizsgálati populációnk öt akut stroke beteget foglalt magába, akiknek bal oldali elülső keringési infarktusa volt. A 3. betegnél az M1 szegmens elzáródása miatt MT is történt. Valamennyi résztvevő az „Egészségügyi szakmai irányelv az akut ischaemiás stroke diagnosztikájáról és kezeléséről”-ben foglalt ajánlásoknak megfelelően kapott alteplázt. A vizsgálat teljes időtartama alatt minden betegnél mértük a vérnyomást, a SpO₂-t, a szívfrekvenciát és folyamatos elektrokardiográfiás monitorizálás is történt. A téziszüzetben helyhiány miatt csak az ötödik beteg részletes leírása szerepel.

4.3.1. Ötödik beteg NIRS monitorizálásának deskriptív analízise

Az ötödik betegnél az ipszilaterális félteke felett emelkedett rSO_2 -értékeket detektáltunk (82% vs. 69%, 3. ábra). A szignifikánsan magas $IH\Delta rSO_2$ -értékek valószínűleg a krónikus jobb oldali arteria carotis interna (ACI) okklúzió következményei lehetnek, ami a Willis-körön keresztül kompenzatórikus kollaterális keringéshez vezetett, és ennek következtében a bal oldali ACI, artéria cerebri media (ACM) és az artéria cerebri anterior (ACA) krónikusan megnagyobbodott. A bal ACM és ACA fokozott véráramlása magyarázhatja az ipszilaterális határterület feletti magas rSO_2 -értékeket, ami jól fejlett leptomeningeális kollaterálisokra utal. Az $IH\Delta rSO_2$ -érték a 24 órás monitorizálás során végig magas maradt (4. ábra), és a beteg három hónap múlva ENI-t és jó funkcionális eredményt ért el.



3. Ábra Ötödik beteg rSO_2 (%) trendje



4. Ábra Ötödik beteg IHDΔrSO₂ (%) trendje.

5. Diskusszió

5.1. DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis vizsgálat diskussziója

Való élet adataink is támogatják a DWI-FLAIR mismatch alapján indikált altepláz-kezelés hatékonyságát LVO nélküli betegeknél. A 90 napos mRS pontszám helyett az ENI-t vizsgáltuk, mert véleményünk szerint jobban tükrözi a kezelés hatékonyságát. Tekintettel arra, hogy vizsgálatunkban a felvételi NIHSS pontszámok relatíve alacsonyak voltak (5 és 4,5 pont volt a medián a trombolizált és a nem trombolizált csoportokban), ezért úgy ítéltük meg, hogy a NINDS kritériumok szerinti ENI definíció nem ad valós képet a terápia hatékonyságáról. A kontroll NIHSS pontszámokat nem 24 óra elteltével, hanem emissziókor vettük fel, ami feltehetően nem befolyásolta a terápia hatékonyságának megítélését, lévén hogy a kórházi tartózkodás mediánja mindkét csoportban csak öt nap volt.

Sajnálatos módon a 90 napos kimenetelre vonatkozó adataink hiányosak voltak. Következésképpen az ENI-t nem tudtuk korreláltatni a 90 napos mRS pontszámokkal. Azonban a relatíve alacsony kiindulási NIHSS pontszámok miatt úgy véltük, hogy az ENI általunk alkalmazott definíciója az altepláz kezelésre adott kedvező válasznak tekinthető, amely jó eséllyel 90 nap elteltével is jó funkcionális kimenetelhez vezet.

A biztonságosság tekintetében összehasonlítottuk adatainkat a WAKE-UP vizsgálat eredményeivel. Az ECASS II szerinti PH2 százalékos aránya hasonló volt: 3,45% a mi vizsgálatunkban, szemben a randomizált klinikai vizsgálat 4,0%-ával. A sICH százalékos

aránya szintén hasonló volt: 3,45% a mi populációnkban, szemben a WAKE-UP vizsgálat 2,8%-ával. Vizsgálatunkban az alteplázzal kezelt betegeknek a 90 napos 10%-os halálozás magasabb volt, mint a WAKE-UP vizsgálatban mért 4,1%. Ennek lehetséges magyarázatai, hogy betegeink idősebbek voltak, több érrendszeri kockázati tényezővel rendelkeztek, és a stroke előtti állapotuk rosszabb volt. A pre-stroke mRS alapján nem kontraindikáltuk az IVT-t, míg a WAKE-UP vizsgálatba csak 0 vagy 1 mRS pontszámmal rendelkező betegek kerültek be. Vizsgálatunkban csak négy olyan beteg szerepelt, akiknél az IVT részleges DWI-FLAIR mismatch alapján történt. Ezért adataink alapján nem vonható le érdemi következtetés az altepláz kezelés biztonságosságára és hatékonyságára vonatkozóan a részleges mismatch-et mutató betegeknek.

Vizsgálatunk fő limitációi az alacsony elemszám és az adatgyűjtés retrospektív jellege. A nem trombolizált csoportban olyan betegek voltak, akiknél a DWI-FLAIR match alapján valószínűsíthető, hogy a tünetkezdés meghaladta a 4,5 órát. Emiatt az ENI arányának a két csoport közötti összehasonlítása mellett logisztikus regresszió analízist is végeztünk. Elemzésünk alapján az IVT volt az egyetlen olyan változó, amely predikálta az ENI-t.

5.2. Biomarker pilot vizsgálat diszkussziója

Tudomásunk szerint a biomarker vizsgálatunk az első az irodalomban, amely a KYN-metabolitok szérumszintjének és enzimatis aktivitásának változásait elemezte IVT-ben részesült akut ischaemiás stroke-os betegeknek. Pilot vizsgálatunk fő eredménye, hogy az ENI-t mutató betegeknek szignifikánsan alacsonyabb volt a KYNA-koncentráció és alacsonyabb a KAT-aktivitás az altepláz-kezelés előtt az ENI-t nem mutató betegekhez képest. Ezek alapján felmerül, hogy az IVT előtti KYNA szint és KAT aktivitás az ENI potenciális biomarkerei.

Ki kell emeljünk, hogy a DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis vizsgálatához hasonlóan az ENI-t biomarker tanulmányunkban is a felvételi és az elbocsátási NIHSS-pontszámok közötti különbség alapján értékeltük (24 órás NIHSS pontszámok nem álltak rendelkezésre). Tekintettel arra, hogy a vizsgált beteganyagunkhoz illett a NINDS kritériumrendszer (az átlagos kiindulási NIHSS pontszám 8,81 volt), ezért ezt alkalmaztuk az ENI meghatározására. A betegek mintegy 40%-a mutatott ENI-t, és 60%-uknál kedvező volt a funkcionális kimenetel az IVT-t követő 30 és 90 napon. Egyváltozós regresszió analízis alapján az ENI-t mutató betegeknek szignifikánsan nagyobb volt az esélye annak, hogy 30

napon belül $mRS \leq 2$ -t érjenek el (OR 5,385, 95%CI 1,261-22,987, $p=0,023$), mint azoknál a betegeknél, akiknél nem volt ENI. Ugyanez igaz volt a 90 napos funkcionális eredményekre is, de ez a tendencia statisztikailag nem volt szignifikáns az egyváltozós modellben (OR 4,333, 95%CI 0,978-19,202, $p=0,054$).

Fontos megjegyezni, hogy a KYN metabolitokat a betegek szérumból mértük. Ezért eredményeink nem tükrözik a KYN metabolitok és enzimek intracerebrális változásait.

5.3. NIRS pilot vizsgálat diszkusziója

NIRS tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy a NIRS alkalmas-e a leptomeningeális kollaterálisok monitorizálására az elülső határterületeken, és elemeztük a NIRS-mérések és az ENI közötti korrelációt. Bár eredményeink a kis elemszám miatt csak hipotézis generálóak, úgy gondoljuk, hogy a NIRS monitorizálás hasznosságára kiváló példa az ötödik beteg esete. A krónikus jobb oldali ACI elzáródás miatt a bal félteke felett szignifikánsan magasabb rSO_2 értékeket mértünk. Ennek egy lehetséges magyarázata a bal carotis rendszer fokozott véráramlása, amely a Willis-körön keresztül mindkét agyfélteke megfelelő perfúzióját biztosította. A tartósan fokozott véráramlás a bal oldali elülső keringéshez tartozó erek megnagyobbodását és egy jól fejlett leptomeningeális kollaterális rendszer kialakulását eredményezte. A kollaterális keringés a vizsgálat alatt mindvégig stabil maradt (az $IH\Delta rSO_2$ stabil és magas volt a 24 órás monitorizálás során). Ennek megfelelően a beteg ENI-t és 90 nap múlva jó funkcionális kimenetelt mutatott.

A NINDS kritériumok alapján öt betegből háromnak sikerült 24 órán belül ENI-t elérni. Három hónap elteltével négy beteg funkcionális eredménye volt kedvező. Ha a NINDS kritériumokat az elbocsátási NIHSS pontszámokra alkalmazzuk, akkor mind a négy beteg ENI-t mutatott, akiknél az $mRS \leq 2$ volt három hónappal a stroke után.

A NIRS monitorizálás lehetőséget adna az egyénre szabott cél vérnyomás és SpO_2 tartományok elérése. Akut ACI elzáródást szenvedett betegek számára előnyös lehet a megnövelt szisztémás vérnyomás a megfelelő kollaterális keringés fenntartása érdekében. Egy átmeneti, disztális ACM okklúziós egér modellben az enyhe indukált magas vérnyomás javította a kortikális kollaterális keringést és jelentősen csökkentette az infarktus térfogatát.

Tanulmányunkban a NIRS monitorizálást a két frontális régió felett elhelyezett két csatornával végeztük. További értékes információt szolgáltatna, ha több érzékelőt helyeznénk el az agyféltekék felett. Rummel és munkatársai többcsatornás NIRS monitorizálást

alkalmaztak az agyi artériák átmeneti ballonos elzárása során, és a kollaterális keringés hemodinamikai változásai következtében eltérő rSO₂ változásokat mutattak ki az ischaemiás mag és a határterületek felett.

5.4. Új javaslat a korai neurológiai javulás definiálására

Az irodalomban a reperfüziós terápiát követő ENI-re különböző definíciók léteznek. Az eltérő definíciók ellenére az ENI jól korrelál az mRS-sel mért hosszú távú funkcionális eredményekkel. Az IVT és az MT tényleges hatékonyságát feltehetően a NIHSS pontszám 24 órás változása tükrözi a legjobban. Bár irodalmi adatok alapján az elbocsájtási NIHSS pontszámok is hasonlóan korrelálnak a három hónapos funkcionális eredménnyel, mint a 24 órás pontszámok, előbbieket már egyéb terápiás beavatkozásoktól is függenek.

A NIHSS pontszámok változásának ideális mérése még mindig vitatott. Korábbi tanulmányok és saját klinikai tapasztalatunk alapján az 1. táblázatban új kritériumrendszert javasolunk az ENI pontosabb meghatározására. A betegeket három csoportba soroljuk a kezdeti NIHSS pontszámuk alapján. A Study of the Efficacy and Safety of Alteplase in Participants With Mild Stroke (PRISMS) vizsgálatban az enyhe stroke-ot (a NIHSS pontszám 0 és 5 között volt, és a tüneket nem ítélték életminőséget jelentősen korlátozóknak) elszenvedő betegek körülbelül 90%-ának mRS értéke 90 nappal a stroke után 0-2 volt. Az új kritériumrendszer százalékos változásai Agarwal és munkatársai munkáján alapul.

Stroke súlyossága	ENI definíciója
Enyhe stroke (NIHSS ≤ 5)	NIHSS pontszám legalább 1 pontos csökkenése 24 óra elteltével
Mérsékelt stroke (5 < NIHSS < 15)	NIHSS pontszám 24 óra elteltével ≤ 5 (vagyis minor stroke) vagy legalább 40%-os javulás a kiindulási NIHSS pontszámhoz képest
Súlyos stroke (16 ≤ NIHSS)	24 óra elteltével legalább 40%-os javulás a kiindulási NIHSS pontszámhoz képest

1. Táblázat. ENI új kritériumrendszerének javaslata

6. Konklúziók

Az ENI vizsgálata alapvető fontosságú az IVT és MT utáni prognózis előrejelzésében. A jó kollaterális keringés kulcsfontosságú az ischaemiás agykárosodás progressziójának csökkentésében és így az ENI elérésében. Munkánk alapján a NIRS monitorizálás értékes valós idejű információt nyújt a leptomeningeális kollaterálisok állapotáról, és segít a reperfüziós terápiák hatásainak követésében.

A tézis tartalmazza az első olyan tanulmányt, amelyben a KYN metabolitok szérumszintjének és enzimatis aktivitások változásait elemeztük olyan akut ischaemiás stroke-os betegeknél, akik IVT-ben részesültek. Eredményeink alapján a kezelés előtti KYNA szérumszint koncentráció és a KAT aktivitás az ENI potenciális biomarkerei.

A tézis továbbá való élet adatokat szolgáltat az ENI és az IVT közötti összefüggésről LVO nélküli akut ischaemiás stroke-os betegeknél, akiknél DWI-FLAIR mismatch állt fenn. A vérzéses szövődmények aránya hasonló volt, mint a nagy klinikai tanulmányokban, ahol ismert tünetkezdettű betegek részesültek IVT-ben.

Az ENI meghatározása a tézisben szereplő tanulmányok között eltérő volt. A jövőbeli ellentmondások elkerülése érdekében az ENI egy új kritériumrendszerét fogalmazzunk meg. Az általunk javasolt új kritériumrendszer alapján az ENI hasznos hatékonysági mutató lehet a jövőbeni, akut stroke kezelését vizsgáló klinikai vizsgálatoknak.

7. Köszönetnyilvánítás

Rendkívül hálás vagyok a témavezetőimnek, Klivényi Péternek és Sztriha Lászlónak a tudományos és személyes támogatásukért. Köszönettel tartozom Vécsei Lászlónak, amiért lehetővé tette, hogy a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Neurológiai Klinikáján dolgozhassak. Köszönöm továbbá minden kollégám segítségét, akik részt vettek a dolgozat alapját képező projektek elkészítésében. Hálás vagyok a Neurológiai Klinika Stroke Osztályán dolgozó ápolóknak is az odaadó munkájukért. Nagyra értékelem továbbá a Klinika biobankjában dolgozó munkatársaim segítségét, akik a biomarker vizsgálathoz szükséges vérmintákat kezelték és tárolták.

Végül, de nem utolsósorban hihetetlenül hálás vagyok a családomnak, különösen feleségemnek, Beának a folyamatos támogatásáért.

A biomarker és NIRS vizsgálatok a GINOP (2.3.2-15- 2016-00048.) pályázat keretein belül valósultak meg. A DWI-FLAIR mismatch alapján végzett trombolízis vizsgálatot a

TKP2020 NKFIH-1279-2/2020 program és a Szegedi Tudományegyetem Open Access Alapja (támogatási szám: 5833) támogatta. A Nemzeti Tehetség Program (NTP-NFTÖ-21-B-0206) szintén támogatta kutatásomat. Hálás vagyok a Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézetének, hogy rendelkezésemre bocsátották az INVOS™ 5100C Cerebral/Somatic Oximetert a NIRS vizsgálathoz.

A tézisfüzetben található tudományos állítások referenciái a disszertációban találhatóak.

A tézishez közvetlenül kapcsolódó közlemények

- I. **Annus Á**, Gera FZ, Sztriha L, Klivényi P. DWI-FLAIR mismatch guided thrombolysis in patients without large-vessel occlusion: real-world data from a comprehensive stroke centre. *Helicon*. 2022 Dec 5;8(12):e12069. DOI: 10.1016/j.helicon.2022.e12069. (IF: 3.776, [2021])
- II. **Annus Á**, Tömösi F, Rárosi F, Fehér E, Janáky T, Kecskeméti G, Toldi J, Klivényi P, Sztriha L, Vécsei L. Kynurenic acid and kynurenine aminotransferase are potential biomarkers of early neurological improvement after thrombolytic therapy: a pilot study. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2021 Dec;30(12):1225-1232. DOI: 10.17219/acem/141646. (IF: 1.736)
- III. **Annus Á**, Nagy A, Vécsei L, Klivényi P. 24-hour near-infrared spectroscopy monitoring of acute ischaemic stroke patients undergoing thrombolysis or thrombectomy: a pilot study. *Journal of Stroke and Cerebrovasc Diseases*. 2019 Aug;28(8):2337-2342. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.05.026. (IF: 1.787)

A tézishez közvetlenül kapcsolódó közlemények impakt faktora: **7.299**

A tézishez közvetlenül nem kapcsolódó közlemények

- I. **Annus Á**, Juhász LÁ, Szabó E, Rárosi F, Szpisjak L, Vécsei L, Klivényi P. Connection between small vessel disease related stroke and the MTHFR C677T

polymorphism in a Hungarian population. *Heliyon*. 2020 Nov 2;6(11):e05305.
DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e05305. eCollection 2020 Nov.

- II. **Annus Á**, Bencsik K, Járdánházy T, Vécsei L, Klivényi P. Unilateral thalamic infarction causing downward gaze palsy in a patient with uncorrected tetralogy of Fallot: a case report. *Ideggyógyászati Szemle*. 2016 Nov 30;69(11-12):415-419.
DOI: 10.18071/isz.69.0415. (IF: 0.322)
- III. **Annus Á**, Csáti A, Vécsei L. Prion diseases: New considerations. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2016 Nov;150:125-132. DOI: 10.1016/j.clineuro.2016.09.006.
(IF: 1.381)
- IV. **Annus Á**, Vécsei L. Spotlight on opicapone as an adjunct to levodopa in Parkinson's disease: design, development and potential place in therapy. *Drug Design Development and Therapy*. 2017 Jan 9;11:143-151. DOI: 10.2147/DDDT.S104227.
(IF: 2.935)
- V. **Annus Á**, Bencsik K, Obál I, Kincses ZT, Tiszlavicz L, Höftberger R, Vécsei L. Paraneoplastic neuromyelitis optica spectrum disorder: A case report and review of the literature. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2018 Feb;48:7-10. DOI: 10.1016/j.jocn.2017.10.030. (IF: 1.593)
- VI. Boros FA, Maszlag-Török R, Szűcs M, **Annus Á**, Klivényi P, Vécsei L. Relationships of ischemic stroke occurrence and outcome with gene variants encoding enzymes of tryptophan metabolism. *Biomedicines*. 2021 Oct 11;9(10):1441. DOI: 10.3390/biomedicines9101441. (IF: 4.757)
- VII. Kalmár PJ, Tárkányi G, Nagy CB, Csécséi P, Lenzser G, Bosnyák E, Karádi ZN, **Annus Á**, Szegedi I, Büki A, Szapáry L. Comparing endovascular treatment methods in acute ischemic stroke due to tandem occlusion focusing on clinical aspects. *Life (Basel)*. 2021 May 20;11(5):458. DOI: 10.3390/life11050458. (IF: 3.253)

- VIII. Tárkányi G, Csécsei P, Szegedi I, Fehér E, **Annus Á**, Molnár T, Szapáry L. Detailed severity assessment of Cincinnati Prehospital Stroke Scale to detect large vessel occlusion in acute ischemic stroke. *BMC Emergency Medicine*. 2020 Aug 24;20(1):64. DOI: 10.1186/s12873-020-00360-9. (IF: 2.119)
- IX. Majláth Z, **Annus Á**, Vécsei L. Kynurenine system and multiple sclerosis, pathomechanism and drug targets with an emphasis on laquinimod. *Current Drug Targets*. 2018;19(7):805-814. DOI: 10.2174/1389450117666161223125417. (IF: 2.642)
- X. Juhász A, Aschermann Z, Ács P, Janszky J, Kovács M, Makkos A, Harmat M, Tényi D, Karádi K, Komoly S, Takáts A, Tóth A, Nagy H, Klivényi P, Dibó G, Dézsi L, Zádori D, **Annus Á**, Vécsei L, Varannai L, Kovács N. Levodopa/carbidopa intestinal gel can improve both motor and non-motor experiences of daily living in Parkinson's disease: An open-label study. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2017 Apr;37:79-86. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2017.02.001. (IF: 4.721)

A tézishez közvetlenül nem kapcsolódó közlemények impact faktora: **23.723**

Kumulatív impact faktor: **31.022**