

**Az öregedést kísérő cerebrovaszkuláris eltérések:
agyi mikrovérzések kialakulása és a
neurovaszkuláris kapcsolat károsodása**

DOKTORI (PhD) DISSZERTÁCIÓ

Dr. Tóth Luca



PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
KLINIKAI IDEGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Témavezető: Dr. Tóth Péter, Ph.D

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Janszky József, Ph.D, D.Sc

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

PÉCS, 2023

BEVEZETÉS

Az életkorral összefüggő cerebrovaszkuláris változások

Világszerte több mint 1 milliárd 60 év feletti ember él jelenleg, továbbá a világ népességének 10%-a 65 év feletti, mely várhatóan a közeljövőben tovább emelkedik. Az egészséges öregedés során is számos sejt-, mikro- és makro-cerebrovaszkuláris változás történik, melyek összefüggésbe hozhatók az életkorral összefüggő kognitív hanyatlással, demenciával vagy járási rendellenességekkel, ami világszerte óriási terhet ró az egészségügyi rendszerekre. Az öregedéssel összefüggő cerebrovaszkuláris diszreguláció strukturális és funkcionális változásokat egyaránt magában foglal. Többek között az agyi mikrovérzések (cerebral microbleed – CMB) kialakulása is összefüggésbe hozható az életkor asszociált kognitív hanyatlással. Az öregedés során kialakuló neurovaszkuláris szétkapcsolás, azaz a neuronális aktivációhoz vezető véráramlás kisebb növekedése szintén hozzájárul a központi idegrendszer életkorral összefüggő diszfunkciójához.

Az agyi mikrovérzések kialakulása időskorban

Autoregulációs diszfunkció és öregedés okozta strukturális változások: cerebrális mikrovérzések kialakulásának alapja

Az agyi véráramlás autoregulációjának (AR) célja állandó agyi perfúzió biztosítása a perfúziós nyomás (cerebral perfusion pressure- CPP) változásainak ellenére. Az AR során az agyi erek myogén válaszával segítségével kialakuló vazodilatáción vagy vazokonstrikción keresztül 50 – 150 Hgmm artériás középnyomás (mean arterial pressure – MAP) értékek között, a nyomásváltozáshoz illesztett vaszkuláris rezisztencia változásának köszönhetően, az átáramlott vértérfogat kis mértékben változik. Az öregedés során az érrendszer rugalmatlansága, az ateroszklerózis, és a megváltozott myogén válasz szűkülő AR tartományt eredményez, ezáltal a rapidan kialakuló nyomásváltozásokhoz való rossz adaptációhoz vezet, ami okozhat hipoperfúziót, vagy magasabb nyomás esetén a mikrocirkuláció hidrosztatikus túlterhelését. A hidrosztatikus túlterhelés következtében a vér- agy – gát (blood-brain – barrier -BBB) károsodása alakul ki, ami parenchimális extravazációhoz idegszöveti gyulladáshoz CMB kialakulásához vezet. A CMB-k gyakorisága és száma is nő az életkorral, ami a mátrix metalloproteinázok (MMP) fokozott termelésének és aktiválásának, a proinflammatorikus közeget és az érfali törékenységet okozó fokozott NF-KB-aktivációnak, az érfal ateroszklerózisának és megváltozott kollagén/elasztin tartalmának tulajdonítható. Az öregedés közvetlen hatásán kívül a CMB-k egyéb ismert kockázati tényezőinek előfordulása is növekszik az életkor

előrehaladtával, így a diabetes, hipertónia, metabolikus betegségek vagy a traumás fejsérülés (traumatic brain injury - TBI).

A mikrovérzések kialakulása idősokban traumás fejsérülést követően

Az enyhe traumás agysérülés (mild traumatic brain injury - mTBI) az agyi trauma enyhe és egyben a leggyakoribb formája, ami a Glasgow Kóma Skála (GCS) 14-15-ös értékével definiálható, és kifejezetten az időseket érinti. Az idősek hajlamosabbak elesni és TBI-t szenvedni az ortosztatikussá váló megváltozott vaszkuláris alkalmazkodás, a gyakori látási rendellenességek, a kiszáradás, a károsodott egyensúly és az előregedett neuro-muszkuloszkeletális rendszer miatt.

A közvetlen agysérülés mellett a TBI az agyszövet másodlagos sérülését is kiváltja. A másodlagos változásokat az oxidatív stressz, mitokondriális diszfunkció, gyulladás és az MMP-k redox-függő aktivációja indítja el, ami a BBB sérüléséhez, neurovaszkuláris kapcsolás károsodáshoz és CMB kialakulásához vezet. A CMB-k vagy agyi mikrovérzések 5-10 mm átmérőjű hemosziderin felhalmozódások az agyi mikroerek körül, melyek az erek sérüléssel összefüggő vérzése miatt keletkeznek. A CMB-k összefüggésbe hozhatók a kognitív hanyatlással, egyensúly- és járászavarral, mely tényezők tovább növelik a TBI kialakulásának gyakoriságát.

Továbbá az idős kor független kockázati tényezője a CMB kialakulásának, részben az öregedéshez kapcsolódó oxidatív stressz, az érlemezés, az MMP aktiválódás, az érrendszeri kollagén módosulása következtében kialakuló fokozott fragilitás és a BBB diszfunkció miatt.

Az életkorral összefüggő CMB kialakulásában és a TBI által kiváltott CMB kialakulásában azonosított patobiológiai útvonalak részben azonosak. Továbbá, az öregedés növeli a hipertónia gyakoriságát és csökkenti a vazoprotektív faktorok (mint például az inzulinszerű növekedési faktor) jelenlétét és hatását, ami fokozza a TBI okozta érkárosodást és szövődeményeket.

Hipotézis I.

A fentiek alapján feltételeztük, hogy az öregedés és a fejsérülés szinergikusan hatnak egymásra az agyi mikrovérzések kialakulásában, ezért a TBI az időseknél a CMB-k számának növekedéséhez vezet.

Neurovaszkuláris kapcsolás és szétkapcsolás

A neurovaszkuláris kapcsolás (neurovascular coupling - NVC) egy olyan összetett mechanizmus, amely a lokális agyi véráramlás növelésével biztosítja az aktivált agyterületek megfelelő metabolikus ellátását. Az NVC komplex jelátviteli utak által szabályozott a neurovaszkuláris egységen (neurovascular unit – NVU) keresztül. Az intakt NVC elengedhetetlenül szükséges a magasabb agykérgi funkciók megvalósulásához és minden esetben ép cerebrovaszkuláris rendszert és metabolizmust követel.

A NVC-t a neuronális aktivitás során felszabaduló glutamát iniciálja, mely egyaránt hat a neuronokon, interneuronokon, endothelsejteken és az asztrocitákon is. A glutamát hatására az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció emelkedik, mely a neuronális ciklooxygenáz (COX-2) és a neuronális nitrogén-oxid-szintáz (nNOS), valamint a foszfolipáz-A₂ (PLA₂) aktivációját eredményezi, így vazóaktív anyagok, például nitrogén monoxid (NO), epoxi-eicosatriénsavak (EET) és prosztanoidok termelését indukálja, ami vazodilatációhoz vezet.

Az NVC aktivitásfüggő lokális hiperémia, azonban a vazodilatáció retrográd terjedése megfigyelhető, főként a K^+ - áram gap junction és myoendotheliális kapcsolatokon történő terjedésével.

Korábbi kutatások során diszfunkcionális NVC igazolódott korfüggő rendellenességekben, illetve a fiziológiás öregedés során is.

Közelmúltban történt kutatások rávilágítottak, hogy a szekretált anti-geronikus faktorok fontos szerepet játszanak az öregedésben történő érrendszeri változások és az ezzel járó neurovaszkuláris diszfunkció kialakulásában. Az inzulinszerű növekedési faktor (Insulin like growth factor - IGF-1) egy, a hypophysealis növekedési hormon (GH) hatására a májban termelődő anabolikus hormon, amely szisztémásan hozzájárul az egészséges testösszetétel fenntartásához, azonban újabb preklinikai vizsgálatok bizonyították, hogy kritikus szerepet játszik az agyi fejlődésben, fontos hatást gyakorol a neuronális szerkezetre és a központi idegrendszer plaszticitására. A korfüggő növekedési hormon csökkenés miatt az életkor előrehaladtával az IGF-1 szintje jelentősen csökken, mely többszintű mechanizmuson keresztül - mint a megváltozott glutamát jelátvitel, a károsodott plaszticitás és a potenciálisan toxikus fehérjék csökkent eliminációja - hozzájárul az életkorral összefüggő cerebrovaszkuláris diszfunkcióhoz.

Fontos kiemelni, hogy preklinikai vizsgálatok alapján a keringő IGF-1 hiánya transzgenikus egérmodellekben károsítja mind az endothel által közvetített, mind az asztrocita-függő NVC-válaszokat, hasonlóan az öregedési fenotípushoz. Továbbá, az IGF1 receptorális jelátvitelének károsodása az endothelsejtekben és asztrocitákban jelentősen rontja az NVC-választ eregekben, hasonlóan a keringő IGF-1 hiány és az öregedés hatásaihoz. A korfüggő IGF-1 hiány sokrétű, összetett mechanizmusokon keresztül károsítja a neurovaszkuláris kapcsolást. Elsőként, az IGF-1 hiány az asztrocitákban csökkent glutamát receptor és transzporter expressziót eredményez, ezáltal neuronális aktiváció során redukált glutamát érzékenységhez

vezet. Másodsor, az IGF-1 hiánya az asztrociták által termelt, NVC-ben résztvevő vasoaktív mediátorok eltolódását okozza, így csökkent vazodilatátor és fokozott vazokonstriktor mediátorok generálásához vezet. Ennek megfelelően IGF-1-hiányos egerekből izolált agyszeletekben a glutamát stimulációra adott válasz során az értágító prosztaglandinok (PG) és az eikozanoidok (EET) termelése csökken, az érszűkítő 20-hidroxiénsavé pedig emelkedik a termelő enzimek IGF-1-függő diszregulációja miatt. Továbbá, az IGF-1-hiány a reaktív oxigénradikálok termelésének fokozásához vezet az endothelsejtekben, ami a pialis és kortikális arteriolák csökkent endothelfüggő dilatációját eredményezi. Ezen eredmények birtokában feltételezhető, hogy a keringő IGF-1 az NVC választ modulálja azonban, az életkorral összefüggő IGF-1-hiány szerepe az időskori neurovaszkuláris diszfunkciójában még nem tisztázott.

Hipotézis II.

Feltételeztük, hogy az életkorral összefüggő IGF-1-hiány egészséges időseknél neurovaszkuláris szétkapcsolással jár.

MÓDSZER

Minden kutatás a Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Idegsebészeti Klinikáján zajlott a szükséges etikai engedélyek birtokában (6552–4/2020/EUIG, 7270-PTE 2018).

CMB vizsgálata idős személyekben enyhe fejsérülést követően

Kutatásban részt vevő személyek

Az enyhe fejsérülés CMB képződésre gyakorolt korfüggő hatásának vizsgálatához retrospektív módszerrel vizsgáltuk 34, a Mayo kritériumok alapján mTBI-t szenvedett személy kórtörténetét és MRI (mágneses rezonancia imaging) felvételét. Kontrollcsoportként 43 korazonos, a kórelőzmény alapján fejsérülést nem szenvedett személy MRI-jét elemeztük.

CMB detektálás, képalkotási protokoll

A CMB-k detektálásához 3T MR szkennelvel készült szuszceptibilitás- és T1-súlyozott 3D mérés (MPRAGE) valamint FLAIR (fluid-attenuated inversion recovery) MR-felvételek elemzése történt. A kiértékelés Slicer szoftver segítségével történt.

Mikrovérzések analízise

A CMB-k számának és lokalizációjának meghatározása a klinikailag validált Microbleed Anatomic Rating Scale (MARS) szerint történt: (1) infratentoriális: agytörzs vagy kisagy; (2) mély: bazális ganglionok, talamusz, capsula interna és externa, corpus callosum, periventrikuláris vagy mély fehérállomány; (3) lobáris: kéreg vagy szubkortikális fehérállomány.

Neurovaszkuláris kapcsolás mérése idős személyekben

Kutatásban részt vevő személyek

A kutatásba 18-40 év közötti, illetve 60 év feletti olyan személyek bevonása történt önkéntes alapon, akinél neurológiai betegség vagy az IGF-1 szintjét befolyásoló bármilyen elváltozás nem volt jelen. A vizsgálat prospektív módszer szerint zajlott. Összesen 63 személy bevonása történt, 31 a fiatal korcsoportban (átlagéletkor: 28,4 ± 4,2 év, 11 nő, 20 férfi) és 32 idősebb felnőtt (átlagéletkor: 67,9 ± 4,1 év, 18 nő, 14 férfi).

NVC mérése

Az NVC-válaszok méréséhez transzkraniális Doppler ultrahangrendszerrel (transcranial doppler ultrasound - TCD) alkalmaztunk 2 MHz-es transzducerekkel. A transzducerek rögzítése manuálisan történt mindkét oldali temporális akusztikus csontablakhoz, így a középső cerebrális artériában (middle cerebral artery - MCA) a véráramlási sebesség (cerebral blood flow velocity – CBFV) 45-60 mm mélységben mérhető. A CBFV-méréssel párhuzamosan a vérnyomás méréséhez egy ujjbegyre erősíthető, non-invazív módon folyamatos vérnyomásmérést biztosító eszköz, illetve a kilégzés végi CO₂ méréséhez egy kapnográf alkalmazása történt.

Az MCA-k átlagos agyi véráramlási sebessége cm/s-ban mindkét oldalon folyamatosan rögzítése és későbbi elemzéshez az ICM+® szoftverbe történő integrálása történt. Az utófeldolgozás során mindkét oldali MCA cerebrovaszkuláris vezetési indexe (cerebrovascular conductance index - CVCi) meghatározása történt, a CBFv és a MAP hányadosaként cm/s/Hgmm-ben, ezáltal kiküszöbölhető a vérnyomásváltozás hatása az agyi véráramlás változására.

Az MCA-k NVC-válaszának elemzésére a Trail Making tesztet (TMT) alkalmaztuk. A TMT egy olyan neuropszichológiai felmérés, mely a vizuális keresésről, a feldolgozásról és a végrehajtó funkciókról ad információt egy könnyen teljesíthető feladat alapján. A vizsgálórendszer telepítése után 60 másodpercig (s) nyugalmi állapotban történt a bazális CBFv mérése, majd az önkéntesek elvégezték a TMT-tesztet, ezt követően ismét 60 s nyugalmi mérés történt. Pozitív kontrollként légzésvisszatartási tesztet (breath hold test - BHT) végeztünk, amikor a résztvevőket arra kértük, hogy tartsák vissza a lélegzetüket legalább 45 másodpercig vagy ameddig csak tudják. Ezt követően újabb nyugalmi állapot következett, mely során a CBFv és a MAP normalizálódott, majd negatív kontrolltesztként 60 s hiperventillációs teszt elvégzése történt.

Szérum IGF-1 szint mérése

Az IGF-1 szintjének meghatározása kemilumineszcens immunoassay-el történt.

Mágneses rezonancia képalkotással történt áramlás vizsgálat

A véráramlás mérése mindkét oldali MCA M1 szegmensében parasagittális, kétdimenziós, egyszeletű fáziskontraszt szekvenciával, perifériás kapuzással történt, 3T MR segítségével.

Járásvizsgálat

A járáselemzéshez egy non- invazív, marker alapú dinamikus talpi nyomásmérővel felszerelt járáselemző rendszert alkalmaztunk. A lépéshossz (cm), a lépésciklus hossza (cm), a lépésszélesség cm-ben, a járás sebessége (km/h), valamint a járás során a támasz és a lendítő fázis százalékos megoszlása került meghatározásra.

EREDMÉNYEK

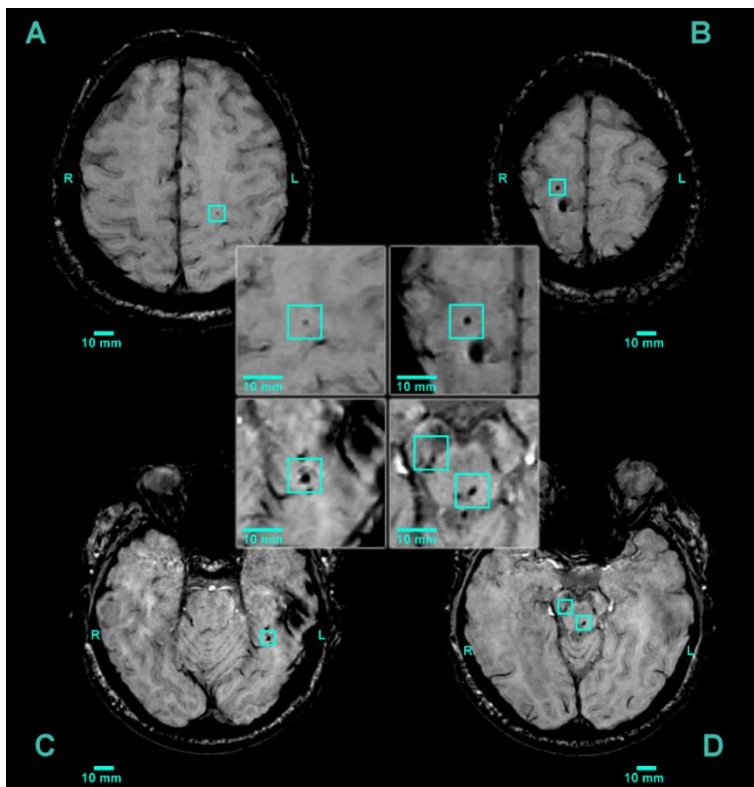
CMB vizsgálata idős személyekben mTBI-t követően

Kutatásban részt vevő személyek

A vizsgálatba 77 beteg bevonása történt meg. A bevont személyek eredményeit 4 alcsoportban vizsgáltuk: fiatal kontroll („Y”: n = 20, 10 nő, 10 férfi, életkor: 25±6 év); fiatal trauma („Y+mTBI”: n = 17, 11 nő, 6 férfi, életkor: 25±10 év); idős („A”: n = 23, 16 nő, 7 férfi, életkor: 68±5 év); idős trauma („A+mTBI”: n = 17, 9 nő, 8 férfi, életkor: 72±7 év). A kórtörténet és a cerebrovaszkuláris rizikófaktorokat tekintve nem volt különbség a vizsgált alcsoportok között.

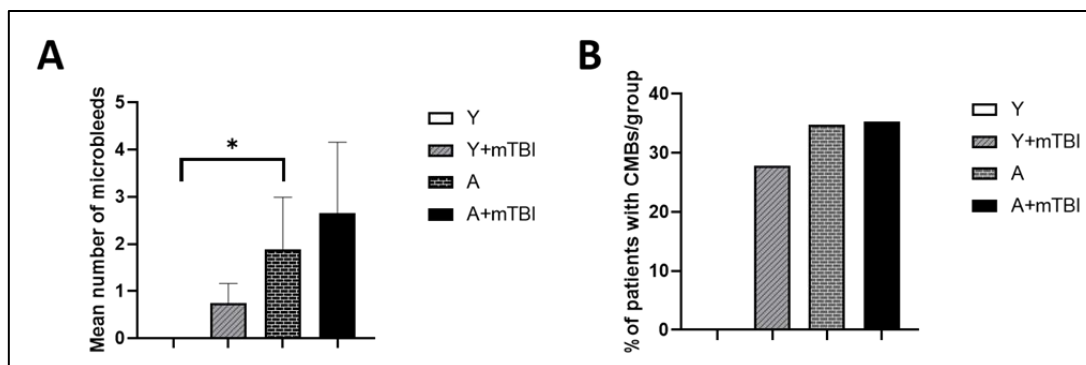
Az öregedés fokozza a mikrovérzések kialakulását

A korábbi preklinikai és klinikai kutatásokkal összhangban, amelyek szerint az öregedés a CMB kialakulásának független kockázati tényezője, vizsgálatunkban szignifikánsan magasabb CMB-szám igazolódott az idős személyeknél. (1. ábra) Továbbá, az öregedés szignifikánsan növelte a mikrovérzések gyakoriságát ($p < 0,05$) az idős csoportban, függetlenül az elváltozások számától. Érdekes módon, az enyhe fejsérülés nem növelte szignifikánsan a CMB-k számát vagy prevalenciáját az idős korosztályban. (2. ábra)



1. ábra: axiális SWI MRI (3 Tesla) vizsgálaton talált agyi mikrovérzéseket mutatja be egy idős, enyhe traumát (AT) szenvedett betegnél.

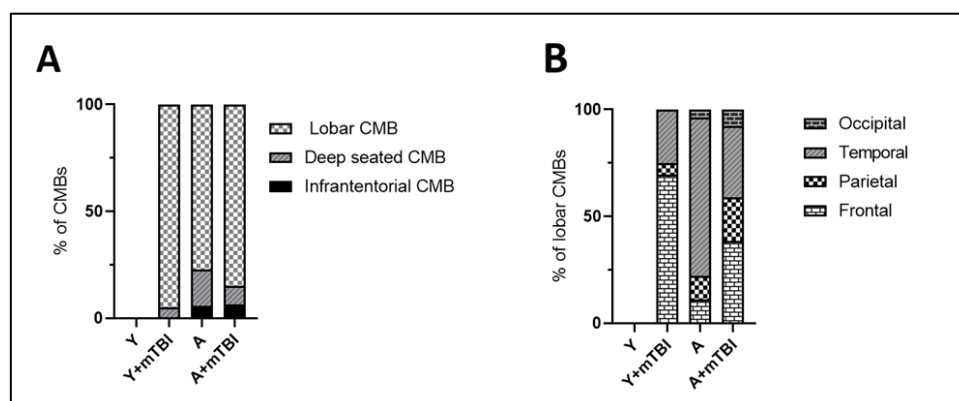
A CMB-eket a kék négyzetek jelölik: A.: bal corona radiata B.: jobb corona radiata C.: bal gyrus parahippocampalis D.: crus cerebri, fasciculus longitudinalis medialis.



2. ábra a vizsgált korcsoportokban talált CMB-k átlagos számát \pm SEM mutatja. **A:** A CMB-k átlagos száma szignifikánsan magasabb volt az idős csoportban. $*p < 0.05$
B: a panel a CMB-vel rendelkező betegek arányát mutatja az adott csoport %-ában kifejezve (“Y”: 0%, “Y+mTBI”: 27,78%, “A”: 34,78%, “A+mTBI”: 35,29%). Az idős, fejsérülést szenvedett személyekben („A+mTBI”) szignifikánsan több személyben volt látható CMB, mint a fiatal csoportban.

CMB lokalizációja mTBI-t követően fiatal és idős személyekben

A CMB-k lokalizációjának elemzése során a legtöbb lézió szupratentoriálisan (lobárisan és bazális ganglionokban) igazolódott. Az idős kor növelte a parietális és occipitális CMB-k számát, a fiatal csoporthoz képest enyhe fejsérülést követően. Továbbá, az enyhe fejsérülés a fiatalokhoz képest az idősekben fokozta a parietális lebenyben kialakuló mikrovérzések számát. (3. ábra)



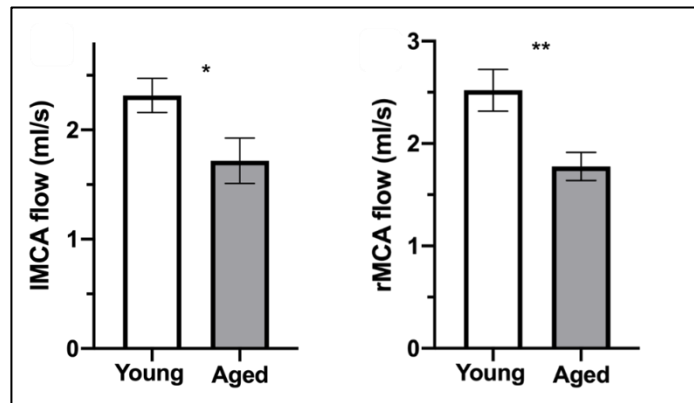
3. ábra: a különböző vizsgálati csoportokban az összes CMB százalékos lokalizációját mutatja be a MARS osztályozás alapján. **A:** Minden vizsgálati csoportban a lobáris CMB-k voltak a leggyakoribbak, függetlenül az életkortól vagy a TBI-től. Az idős mTBI (A+mTBI) csoportban a trauma nélküli idősekhez képest (A) kevesebb CMB igazolódott infratentoriális lokalizációban, de a különbség nem érte el a szignifikancia szintet. **B:** A leggyakrabban észlelt lobáris lokalizációt részletesen elemezve igazolódott, hogy az öregedés fokozza a parietális és occipitális CMB-k számát enyhe traumás agysérülést (A+mTBI) követően ($p < 0,05$ vs. Y+mTBI) valamint, hogy az enyhe fejsérülés több mikrovérzés kialakulásához vezet a frontális, parietális és occipitális lebenyben az öregedés során ($p < 0,05$ vs. A).

A neurovaszkuláris kapcsolás korfüggő vizsgálata

A MAP és a kilégzés végi CO₂ szintek a vizsgálatok során normál tartományban voltak, és nem mutattak különbséget a vizsgált csoportok között.

Az idősekben csökkent a bazális véráramlás

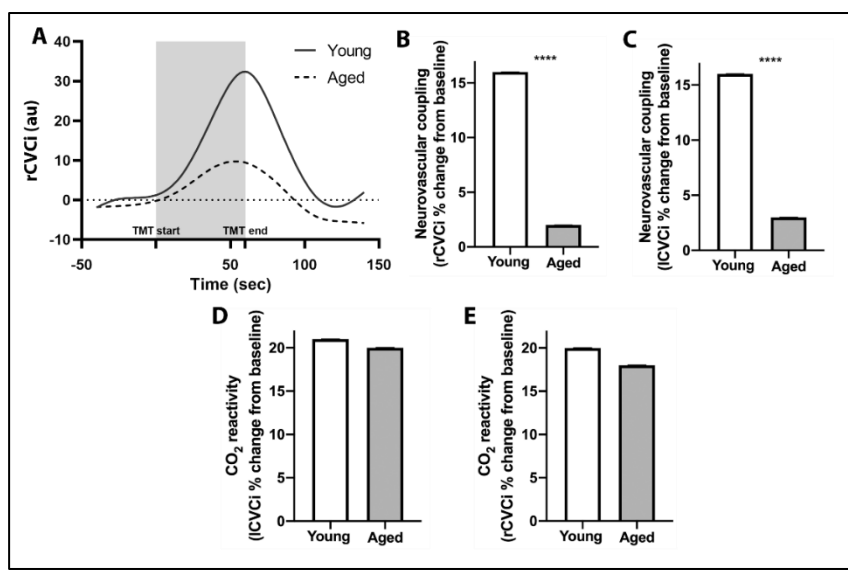
A betegek egy alcsoportján (fiatal n=9, idős n=12) fáziskontraszt MRI vizsgálat történt, az MCA-k bazális agyi véráramlásának mérésére, és mindkét MCA-ban szignifikánsan csökkent átlagos bazális áramlási sebesség igazolódott. (4. ábra)



4. ábra: Átlagos áramlási sebesség ml/s-ban a bal (IMCA) és a jobb (rMCA) MCA-ban fiatal (n = 12, bal MCA FV: 2.39±0.56 ml/s, jobb MCA FV: 2.57±0.65 ml/s) és idős személyekben (n = 9, bal MCA FV: 1.71±0.65 ml/s, jobb MCA FV: 1.79±0.43 ml/s). Az adatok átlag ± S.E.M. -ként kerültek feltüntetésre *p < 0.05, **p < 0.003

Az öregedés károsodott NVC válaszhoz vezet

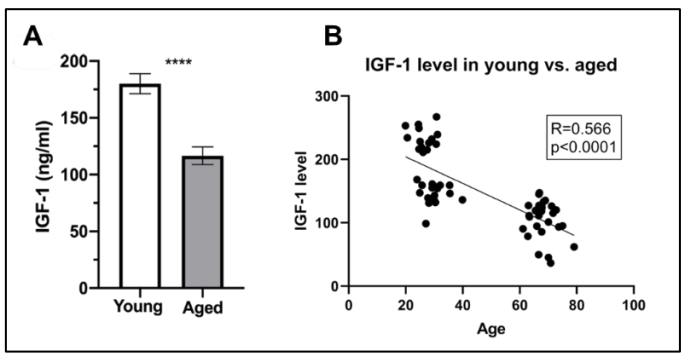
A neurovaszkuláris kapcsolás jellemzésére a TMT során mért CVCi-t alkalmaztuk. A TMT során mind a fiatal (n=31), mind az idős (n=32) vizsgálati csoportokban szignifikánsan növekedett a CVCi a bal és a jobb MCA-ban is. A CVCi %-os változása szignifikánsan magasabb volt a fiatal egyéneknél. (5. ábra) Pozitív kontrollként légzésvisszatartási tesztet végeztünk, amely mindkét korcsoportban szignifikáns CVCi-növekedést idézett elő. (5. ábra)



5. ábra a neurovaszkuláris kapcsolás károsodása idős személyekben. **A:** Reprezentatív ábra a CVCi változásáról a jobb MCA-ban mérve a TMT során egy 25 éves (fiatal) és egy 65 éves (idős) személynél. A feladat által kiváltott maximális NVC-válasz (szürke terület) a fiatal személynél 32,4%, míg az idős személynél 9,7% volt a kiindulási értékhez képest. **B - C:** az oszlopdiaagram a bal (B) és jobb (C) CVCi változásának összegzését mutatja a kiindulási értékhez képest $\% \pm \text{SEM}$ -ben a TMT során (fiatal csoport átlag bal MCA CVCi: $16 \pm 0,02$, jobb MCA: $16 \pm 0,02$, idős csoport: jobb MCA CVCi változás: $2 \pm 0,01$, bal MCA CVCi változás: $3 \pm 0,01$). **D-E:** Kontrollként CO_2 -reaktivitás vizsgálta az idős és a fiatal csoportokban, a CVCi %-os változásában kifejezve a bal (D) és a jobb (E) MCA-ban a légzésvisszatartási vizsgálat során. Az adatok átlag \pm S.E.M. -ként kerültek feltüntetésre **** $p < 0,0001$

A szérum IGF-1 szint csökkent időskorban

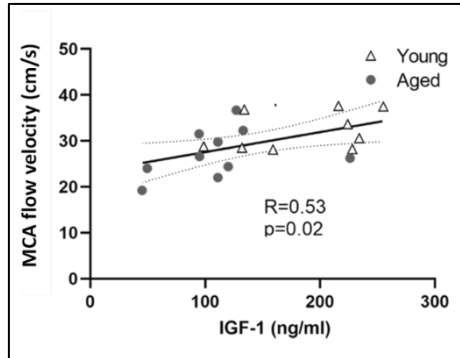
A szérum IGF-1 szint szignifikánsan csökkent az idős személyeknél a fiatal vizsgálati csoporthoz képest (fiatal $n=31$, átlagos IGF-1 koncentráció \pm S.E.M.: $176,22 \pm 8,84$ ng/ml vs. idős $n=32$, átlagos IGF-1 koncentráció: $115,70 \pm 7,59$ ng/ml). (6. ábra)



6. ábra: szérum IGF-1 szint a fiatal és az idős korosztályban. **A:** A fiatal vizsgálati csoportban szignifikánsan magasabb a szérum IGF-1 szint. **** $p < 0,0001$ **B:** A szérum IGF-1 szint (ng/ml) korrelál az életkorral (években) a fiatal ($n = 31$) és idős ($n = 32$) önkéntesekben

A csökkent IGF-1 szint a bazális agyi keringés csökkenésével jár

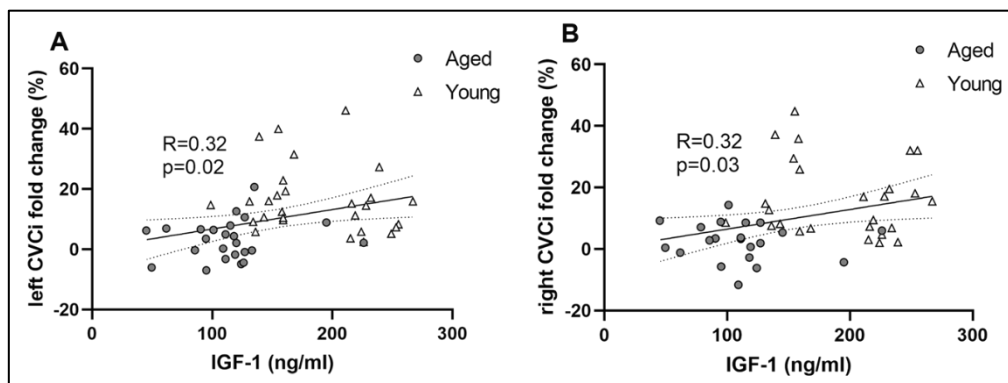
A szérumban IGF-1 szintje mindkét vizsgált csoportban szignifikáns korrelációt mutatott a fáziskontrasztos MRI-vel mért bazális véráramlással ($R=0,53$, $p=0,02$). (7. ábra)



7. ábra a szérumban IGF-1 szint (ng/ml) és az MCA bazális áramlási sebessége közötti korrelációt mutatja fiatal és idős önkénteseknél.

A szérumban IGF-1 szint korrelál a neurovaszkuláris kapcsolással

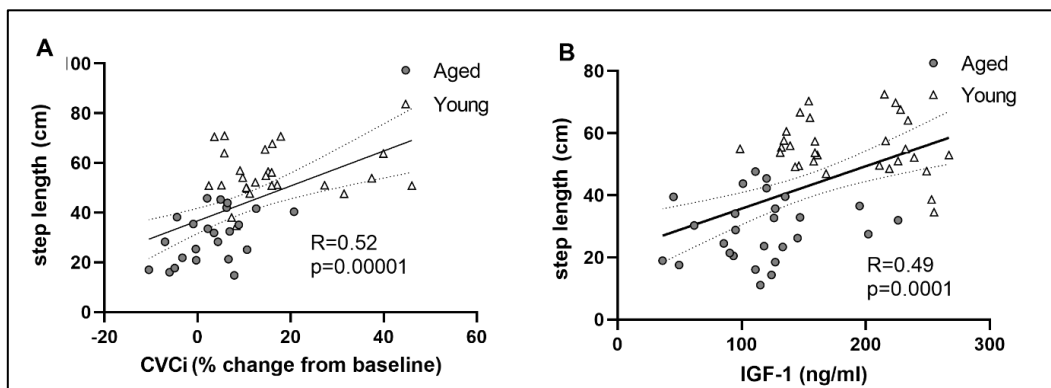
A szérumban IGF-1 szintje szignifikánsan korrelál a kiindulási (bazális) és a TMT során mért CVCi változásával a vizsgált résztvevőkönél (bal MCA CVCi $R=0,32$, $p=0,02$, jobb MCA CVCi: $R=0,32$, $p=0,03$). Ez alapján a szérumban IGF-1 szint korrelál a neurovaszkuláris kapcsolással és annak diszfunkciójával az öregedés során (8. ábra).



8. ábra A CVCi és az IGF-1 szint korrelációja időseknek és fiataloknak a bal (A) és jobb MCA-ban (B).

A járászavar korrelál a neurovaszkuláris kapcsolás zavarával és a csökkent IGF-1-szinttel idős egyéneknél

A mozgásanalízis során kapott eredmények az időseknél megváltozott járásfunkciót mutatott a fiatal csoporthoz képest. Továbbá, erős korreláció igazolódott az átlagos lépéshossz és a TMT alatt az MCA-ban mért CVCi %-os változásával, valamint a szérumban IGF-1 szintek között a vizsgált résztvevőkben, ami azt jelzi, hogy a járászavar korrelál az öregedéssel összefüggő neurovaszkuláris kapcsolás károsodásával és a szérumban IGF-1 életkorral összefüggő csökkenésével egészséges személyekben. (9. ábra)



9. ábra Az életkorral összefüggő járászavarok korrelálnak a neurovaszkuláris szétkapcsolással és az IGF-1 hiányával. **A:** Korrelációs ábra az átlagos lépéshossz és a CVCi %-os változása között a kognitív teszt során fiatal és idős önkéntesek jobb MCA-jában ($R=0,52$, $P=0,00001$). **B:** Összefüggés az átlagos lépéshossz és az IGF-1 szérumban koncentráció között fiatal és idős önkéntesek esetében ($R=0,49$, $P=0,0001$).

DISZKUSSZIÓ

A cerebrális mikrovérzések kialakulása idős személyekben enyhe fejsérülést követően

Korábbi vizsgálatok eredményét megerősítve, több CMB-t találtunk az idős korosztályban vizsgált személyek közt, mint a fiatalokban, azonban a hipotézisünkkel ellentétben nem észleltünk szignifikáns különbséget az agyi mikrovérzések számában az idős (A) és az idős, enyhe traumás agysérülést szenvedett (A+mTBI) betegek között (2. ábra).

Korábbi tanulmányok vizsgálták a CMB-k hatását az agyműködésre, és megállapították, hogy ezek a léziók klinikai jelentőséggel bírnak, és összefüggésbe hozhatók a kognitív hanyatlással, mentális- és járászavarokkal, feltehetően a CMB-k kumulatív hatása, illetve a neurológiai funkciók anatómiai elhelyezkedéssel összefüggő doménspecifikus károsítása, esetleg a két folyamat együttes hatásaként. Például a prefrontális területeket a bazális ganglionokkal összekötő fronto – szubkortikális hálózatok károsodása a végrehajtó funkciók károsodásával jár, és az említett területekről a talamuszba projektáló pályák dezorganizációja memóriazavarokat eredményez. Eredményeink alapján az idős személyekben mTBI-t követően detektálható CMB-k eloszlása módosul. (3. ábra) Nevezetesen, az adatok alapján az occipitális és parietális mikrovérzések száma szignifikánsan magasabb volt az időseknél mTBI-t követően, mint a fiatal résztvevőknél. Ez a jelenség magyarázatot adhat a CMB-k fontos funkcionális következményeire. Ennek megfelelően a parietális és occipitális lebenyek döntő szerepet játszanak a vizuospatialis és szenzoros információk integrálásában, a kognitív feldolgozásban, a testtartás és a motoros kontroll biztosításában, a vizuális feldolgozásban, valamint a koordináció vizuospatialis és kognitív finomhangolásában a gyors mozgáskorrekciókkal együtt.

Bár logikusnak tűnik az a feltételezés, hogy (még az enyhe agyi trauma is) fokozott kognitív zavarokat eredményez az időseknél, legjobb tudomásunk szerint ezt a hipotézist egyetlen tanulmány sem vizsgálta. A jövőben fontos kérdés lenne az öregedés és a traumás fejsérülés szinergikus hatásának vizsgálata a mikrovérzések kialakulásában és ezzel összefüggésben a kognitív hanyatlásban betöltött szerepének meghatározása.

A neurovaszkuláris kapcsolás korfüggő zavara

Kutatásunkban megerősítést nyert a korábbi laboratóriumi állatokon végzett vizsgálatok eredménye, mely szerint egészséges idős emberekben a kognitív feladatok alatt észlelhető neurovaszkuláris kapcsolás a fiatal személyekhez képest gyengült. Fontos kiemelni, hogy vizsgálatunk során is igazolódott, hogy az öregedés

hatására a bazális CBF is csökken, ezáltal az alacsonyabb bazális perfúzió tovább limitálja a már károsodott neurovaszkuláris válaszok kapacitását az aktív agyterületek metabolikus igényeinek kielégítésére.

Az öregedés során végbemenő folyamatok melyek a neurovaszkuláris kapcsolás károsításához vezetnek, még nem teljesen azonosítottak. Az életkorral összefüggő IGF-1-hiányt korábbi kutatások összefüggésbe hozták az idegrendszeri funkciók hanyatlásával. A közelmúltban történt vizsgálataink során bizonyítást nyert egereken, hogy az IGF-1 jelátvitel zavara az agyban, akár a májban történő IGF-1 termelés adenovírus okozta megszüntetésével, akár az agyi erek endothelsejtjein lévő IGF-1 receptorok blokkolásával az állatok neurovaszkuláris válaszainak jelentős csökkenéséhez vezet a neuronális aktiváció során, ami járási és kognitív diszfunkcióval egyaránt összefügg. Ezen adatok alapján kutatásunk során azt a hipotézist vizsgáltuk, miszerint az idősekben az IGF-1 hiány neurovaszkuláris szétkapcsolással jár.

A kutatásunkba bevont idős személyekben a szérum IGF-1 szintjének szignifikáns, életkorral összefüggő csökkenése igazolódott (6. ábra), emellett bizonyítottuk, hogy az IGF-1 szintje szignifikánsan korrelál a neurovaszkuláris diszfunkcióval (8. ábra), ami alapján az a következtetés vonható le, hogy az IGF-1 hiánya károsítja a neurovaszkuláris jelátvitelt, ami neurovaszkuláris kapcsolás károsításához vezet az idősödő emberekben. Tekintettel a preklinikai kutatások során igazolt IGF-1 hiánnyal összefüggő endothel és asztrocita diszfunkció kialakulására, jövőbeli humán kutatások során ezen folyamatok a neurovaszkuláris szétkapcsolásban betöltött szerepét szükséges igazolni, farmakológiai terápiás célpontokhoz azonosításához.

Fenti adatok alapján elmondható, hogy számos bizonyíték utal arra, hogy laboratóriumi állatokban az ép neurovaszkuláris kapcsolás elengedhetetlen a normális idegi funkciók fenntartásához. Munkánkban először mutatjuk be, hogy az idősebb egyéneknél megfigyelt járási zavarok szignifikánsan korrelálnak a neurovaszkuláris kapcsolás sérülésével (9. ábra). Az idegi károsodás kialakulásában a neurovaszkuláris diszfunkció kóros szerepére utalnak azon preklinikai vizsgálatok, melyek azt mutatják, hogy 1) a csökkent neurovaszkuláris kapcsolás a cerebrovaszkuláris rizikófaktorok, például a magas vérnyomás, a cukorbetegség, valamint az öregedés állatmodelljeiben károsodott kognitív és járásfunkcióval járnak együtt, és 2) a neurovaszkuláris kapcsolás közvetlen farmakológiai gátlása egereken károsítja a normál kogníciót és járást. Ezt támasztják alá azok az eredményeink is, amelyek szerint az IGF-1 hiánya szignifikánsan korrelál a járászavarral a vizsgált idős korosztályban (9. ábra). Jövőbeni vizsgálatok szükségesek annak bizonyítására, hogy az IGF-1 szintjének növelése helyreállítaná-e a neurovaszkuláris kapcsolást, a járást és a kognitív funkciókat az idős emberekben.

ÖSSZEFOGLALÁS, TÉZISEK ÉS JÖVŐBENI PERSPEKTÍVÁK

Az életkorral összefüggő cerebrovaszkuláris változásokról bizonyított, hogy szignifikáns hatással vannak az életkorral összefüggő kognitív hanyatlásra és a járási zavarokra, ami világszerte óriási terhet ró az idősödő társadalmakra. Jelen dolgozatban az életkorral összefüggő cerebrovaszkuláris változások két aspektusát vizsgáltuk, így az agyi mikrovérzések kialakulását a normál öregedés során és enyhe traumás agysérülést követően, valamint az öregedéssel összefüggő neurovaszkuláris diszfunkciót, amelyek mindegyike bizonyítottan hozzájárul az agyi funkciók életkorral összefüggő hanyatlásához.

Tézis I.:

Eredményeink alapján az öregedés az agyi mikrovérzések számának növekedéséhez vezet, összehasonlítva fiatal személyekkel, továbbá az enyhe traumás agysérülés és az öregedés nem szinergikusan növeli a CMB-k számát. Emellett megállapítottuk, hogy az öregedés a mikrovérzések lokalizációját befolyásolta enyhe koponya trauma után. Ennek megfelelően több occipitális és temporális lebenyi elváltozást találtunk az időseknél a fiatal traumás betegekhez képest, ami hatással lehet a traumás mikrovérzések hosszútávú következményeire és szövődményeire. Vizsgálataink fő limitációi a retrospektív módszer és a viszonylag kis elemszám. A jövőbeni prospektív vizsgálatoknak nagyobb betegszámon szükséges alátámasztani az eredményeinket. Jövőbeni kutatások célja lehet azon mechanizmusok azonosítása, melyeken keresztül az öregedés és a traumás fejsérülés kölcsönösen hat az agyi érrendszer működésére és a CMB-k kialakulására, különös tekintettel a mitokondriális oxidatív stresszre, a redox-érzékeny mátrix-metalloproteinázok aktiválódására, az agyi érfal módosulására, a proinflammatorikus citokinek termelődésére és a vér-agy gát sérülésére.

Tézis II.:

Bizonyítottuk, hogy az életkorral összefüggő IGF-1-hiány korrelál az öregedés okozta neurovaszkuláris kapcsolás károsodásával és a csökkent bazális agyi véráramlással emberekben, és mindkettő korrelál az életkorral összefüggő járászavarokkal. Jövőbeli kutatások célja lehet, olyan klinikai beavatkozások azonosítása, melyek az életkorral összefüggő neurovaszkuláris diszfunkció helyreállítására irányulnak, az időskorban kognitív hanyatlás és a járászavar megelőzése érdekében.

Publikációs lista (impakt faktor: 59.629)

Publikációk, melyekre jelen dolgozat közvetlenül épül:

- Toth L, Czigler A, Horvath P, Kornyei B, Szarka N, Schwarcz A, Ungvari Z, Buki A, Toth P. Traumatic brain injury-induced cerebral microbleeds in the elderly. *Geroscience*. 2021 Feb;43(1):125-136. doi: 10.1007/s11357-020-00280-3. Epub 2020 Oct 3. PMID: 33011936; PMCID: PMC8050119. (D1, Impact factor: 7.581)
- Toth L, Czigler A, Horvath P, Szarka N, Kornyei B, Toth A, Schwarcz A, Ungvari Z, Buki A, Toth P. The Effect of Mild Traumatic Brain Injury on Cerebral Microbleeds in Aging. *Front Aging Neurosci*. 2021 Sep 30;13:717391. doi: 10.3389/fnagi.2021.717391. PMID: 34658836; PMCID: PMC8514735. (Q1, Impact factor: 4.504)
- Toth L, Czigler A, Hegedus E, Komaromy H, Amrein K, Czeiter E, Yabluchanskiy A, Koller A, Orsi G, Perlaki G, Schwarcz A, Buki A, Ungvari Z, Toth PJ. Age-related decline in circulating IGF-1 associates with impaired neurovascular coupling responses in older adults. *Geroscience*. 2022 Dec;44(6):2771-2783. doi: 10.1007/s11357-022-00623-2. Epub 2022 Jul 23. PMID: 35869380; PMCID: PMC9768079. (D1, Impact factor: 7.581)

További publikációk:

- Bogár PZ, Tóth L, Rendeki S, Mátyus L, Németh N, Boros M, Nagy B, Nyitrai M, Maróti P. Az egészségügyi szimulációs oktatás jelene és jövője Magyarországon [The present and the future of medical simulation education in Hungary]. *Orv Hetil*. 2020 Jun;161(26):1078-1087. Hungarian. doi: 10.1556/650.2020.31761. PMID: 32541086.
- Tóth L, Bors V, Pallag A, Pinczker V, Dóczy T, Cserháti P, Shenker B, Büki A, Nyitrai M, Maróti P. Traumás gerincvelősérültek rehabilitációja alsó végtagi humán exoskeletonnal [Rehabilitation of traumatic spinal cord injury with lower limb exoskeleton]. *Orv Hetil*. 2020 Jul;161(29):1200-1207. Hungarian. doi: 10.1556/650.2020.31781. PMID: 32628619.
- Toth L, Czigler A, Szarka N, Toth P. The role of transient receptor potential channels in cerebral myogenic autoregulation in hypertension and aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020 Jul 1;319(1):H159-H161. doi: 10.1152/ajpheart.00403.2020. Epub 2020 Jun 19. PMID: 32559134.
- Mondello S, Guedes VA, Lai C, Czeiter E, Amrein K, Kobeissy F, Mechref Y, Jeromin A, Mithani S, Martin C, Wagner CL, Czigler A, Tóth L, Fazekas B, Buki A, Gill J. Circulating Brain Injury Exosomal Proteins following Moderate-To-Severe Traumatic Brain Injury: Temporal Profile, Outcome Prediction and Therapy Implications. *Cells*. 2020 Apr 15;9(4):977. doi: 10.3390/cells9040977. PMID: 32326450; PMCID: PMC7227241.

- Czigler A, Toth L, Szarka N, Szilágyi K, Kellermayer Z, Harci A, Vecsernyes M, Ungvari Z, Szolics A, Koller A, Buki A, Toth P. Prostaglandin E₂, a postulated mediator of neurovascular coupling, at low concentrations dilates whereas at higher concentrations constricts human cerebral parenchymal arterioles. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2020 Feb;146:106389. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2019.106389. Epub 2019 Nov 2. PMID: 31689497.
- Czigler A, Toth L, Szarka N, Berta G, Amrein K, Czeiter E, Lendvai-Emmert D, Bodo K, Tarantini S, Koller A, Ungvari Z, Buki A, Toth P. Hypertension Exacerbates Cerebrovascular Oxidative Stress Induced by Mild Traumatic Brain Injury: Protective Effects of the Mitochondria-Targeted Antioxidative Peptide SS-31. *J Neurotrauma.* 2019 Dec 1;36(23):3309-3315. doi: 10.1089/neu.2019.6439. Epub 2019 Aug 1. PMID: 31266393; PMCID: PMC6857460.
- Rendeki S, Nagy B, Bene M, Pentek A, Toth L, Szanto Z, Told R, Maroti P. An Overview on Personal Protective Equipment (PPE) Fabricated with Additive Manufacturing Technologies in the Era of COVID-19 Pandemic. *Polymers (Basel).* 2020 Nov 16;12(11):2703. doi: 10.3390/polym12112703. PMID: 33207712; PMCID: PMC7697679.
- Környei BS, Szabó V, Perlaki G, Balogh B, Szabó Steigerwald DK, Nagy SA, Tóth L, Büki A, Dóczy T, Bogner P, Schwarcz A, Tóth A. Cerebral Microbleeds May Be Less Detectable by Susceptibility Weighted Imaging MRI From 24 to 72 Hours After Traumatic Brain Injury. *Front Neurosci.* 2021 Sep 30;15:711074. doi: 10.3389/fnins.2021.711074. PMID: 34658762; PMCID: PMC8514822.
- P Varga, D Lorinczy, L Toth, A Pentek, M Nyitrai, P Maroti. Novel PLA-CaCO₃ composites in additive manufacturing of upper limb casts and orthotics—A feasibility study. *Mater. Res. Express.* 2019 Jan 28;6:4:045317. doi: 10.1088/2053-1591/aafdbc
- Luca Toth, Adam Schiffer, Miklos Nyitrai, Attila Pentek, Roland Told, Peter Maroti. Developing an anti-spastic orthosis for daily home-use of stroke patients using smart memory alloys and 3D printing technologies. *Materials & Design*, 2019 Jan 28; 195: 109029. ISSN: 0264-1275. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.109029>.
- Shenker Benjámín, Tóth Luca, Maróti Péter, Büki András, Fehér Melinda, Klauber András, Révay Edit, Erdősi Petra, Farkasinszky Diána Edina, Nagy Nikolett, Varga Edina, Szabó-Szemenyei Eszter, Vadai Kitti, Papp Leila, Hrivnák Gergely, Cserhádi Péter. Alsó végtagi exoskeleton segítségével történő rehabilitációs tevékenység kezdeti tapasztalatai. *IDŐSGYÓGYÁSZAT.* 2021.6:1-2:15-20.

Konferencia absztraktok:

- Toth, Luca; Schiffer, Adam; Pinczker, Veronika; Müller, Péter János; Buki, Andras; Maroti, Peter. Initial Results of Lower Limb Exoskeleton Therapy with Human Gait Analysis for a Paraplegic Patient. In: Łach, Agnieszka; Gorczowska, Magdalena; Piaseczna, Natalia (szerk.) *Innovations and*

Developments of Technologies in Medicine, Biology and Healthcare: Proceedings of the IEEE EMBS International Student Conference (ISC) Cham, Svájc: Springer International Publishing (2022) pp. 151-157. Paper: Chapter 20, 7 p.

- Adam, Visnyei; Andras, Buki; Peter, Maroti; Luca, Toth. Evaluation of the effect of age and body mass index on static gait parameters. In: Csiszár, Beáta; Hankó, Csilla; Kajos, Luca Fanni; Mező, Emerencia (szerk.) Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences 2021: Book of Abstracts Pécs, Magyarország : Doctoral Student Association of the University of Pécs (2021) 128 p. pp. 7-7., 1 p.
- Luca, Toth; Andras, Czigler; Viktoria, Kovacs; Nikoletta, Szarka; Peter, Toth. Evaluation of neurovascular coupling by transcranial doppler ultrasound system. In: Csiszár, Beáta; Hankó, Csilla; Kajos, Luca Fanni; Mező, Emerencia (szerk.) Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences 2021: Book of Abstracts. Pécs, Magyarország: Doctoral Student Association of the University of Pécs (2021) 128 p. pp. 92-92., 1 p.
- Shenker, Benjamin; Tóth, Luca; Maróti, Péter; Hrivnák, Gergely; Cserháti, Péter. First impressions with lower extremity exoskeleton during rehabilitation of spinal cord injured patients. In: Burger, Helena; Fazekas, Gábor; Vidmar, Gaj (szerk.) Congress of European Forum for Research in Rehabilitation: Book of abstracts with programme Ljubljana, Szlovénia: University Rehabilitation Institute Republic of Slovenia (2021) 165 p. pp. 58-58., 1 p.
- Toth, L; Pallag, A; Bors, V; Pinczker, V; Schiffer, A; Buki, A; Doczi, T; Maroti, P. Initial results of a novel exoskeleton therapy in a chronic spinal cord injury patient (2020). Medical Conference for PhD Students 2020.
- Toth, L; Pallag, A; Bors, V; Pinczker, V; Schiffer, A; Tasnadi, E; Buki, A; Doczi, T; Maroti, P. Introducing exoskeletons to medical care and research purposes in Hungary (2019). 18th International Summer School on Biocomplexity, Biodesign Bioinnovation, Biomanufacturing & Bioentrepreneurship.
- Toth, L; Czigler, A; Kornyei, B; Toth, A; Szarka, N; Szilagyi, K; Schwarcz, A; Ungvari, Z; Buki, A; Toth, P. The effect of aging on the development of cerebral microbleeds after traumatic brain injury: a case report (2019) 19th European Congress of Neurosurgery (EANS 2019)
- Tóth, Luca; Lőrinczy, Dénes; Schiffer, Ádám; Péntek, Attila; Ábrahám, Hajnalka; Zsebe, Tamás; Meiszterics, Zoltan; Gelányi, László; Páli, Jenő; Nyitrai, Miklós et al. Developing Phoenix, an affordable anti-spastic orthosis for the daily home-use of stroke patients – preliminary results (2019) 8th Interdisciplinary Doctoral Conference

Köszönetnyilvánítás

Először is szeretném kifejezni mély hálámat témavezetőmnek, Dr. Tóth Péternek, aki ezt a munkát lehetővé tette. Az ő útmutatásai és tanácsai lehetővé tették, hogy elsajátítsam a klinikai vizsgálatok megtervezésének és kivitelezésének módszertanát, hogyan kell a célra összpontosítani és újragondolni az eredeti ötleteket a cél elérése érdekében. Nagyon hálás vagyok továbbá türelméért, folyamatos támogatásáért és inspirációjáért ezen az úton, valamint a lehetőségért, hogy csatlakozhattam a kutatócsoportjához. A tőle megszerzett készségek messze túlmutatnak ezen a dolgozaton.

Szeretném megköszönni Büki András Professor Úrnak, az Idegsebészeti Klinika korábbi igazgatójának a lehetőséget, hogy az Idegsebészeti Klinikán kezdjem el a PhD munkámat, továbbá a kutatómunkával kapcsolatos szakmai tanácsait, valamint Schwarcz Attila Professor Úrnak, az Idegsebészeti Klinika jelenlegi igazgatójának a támogatását.

Köszönettel tartozom az Idegsebészeti Klinika és a 3D Nyomtatási és Vizualizációs Központ, Biomechanikai Laboratórium minden munkatársának, akik szakértelemmel, tanácsokkal, tudással és gyakorlati ismeretekkel támogatták munkámat.

Szeretném kifejezni hálámat doktorandusz társaimnak és kollégáimnak, akik megkönnyítették és örömtelivé tették a hosszú laboratóriumi órákat. A közös projektek és célok lehetőséget teremtettek arra, hogy együtt dolgozhassak Dr. Czigler Andrásal, aki hihetetlen támogatást nyújtott a kutatómunka során és őszinte visszajelzésekkel segítette a munkámat -többnyire a késő esti telefonhívásaim során-. Hálás vagyok, hogy az elmúlt években a közös munka kapcsán kapcsolatunk igazi barátsággá fejlődhetett.

Külön köszönet illeti az önkénteseket, akik fáradságot és időt nem kímélve részt vettek a vizsgálatokban.

Őszinte köszönetemet fejezem ki Nyitrai Miklós Professor Úrnak, aki a graduális éveim végén rengeteg időt fordított a pályaválasztásommal kapcsolatos kérdéseimre, bátorított arra, hogy elkezdjem a PhD-t és betekintést nyerjek a kutatók világába; illetve az azóta is töretlen támogatásáért.

Nem vállalkozhattam volna erre az útra közeli családom, sógoraim és sógornőim, valamint fantasztikus, lojális és őszinte barátaim folyamatos támogatása, türelme és bátorítása nélkül. Köszönöm mindannyiótok segítségét.

Végtelen hálával tartozom szeretett társamnak, Dr. Maróti Péternek, aki inspirációval, türelemmel és kimeríthetetlen kitartással támogatta munkámat. Az ő támogatása és inspirációja segített abban, hogy a megkezdett munka folytatását más területeken is megalapozhassam, a jövőben kamatoztathassam. Köszönöm Peti!