

A hipotermia transzlációs kutatása: terápiás alkalmazása és farmakológiai indukciója humán és kísérleti modellekben

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Pótóné Oláh Emőke

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Transzlációs Medicina Program

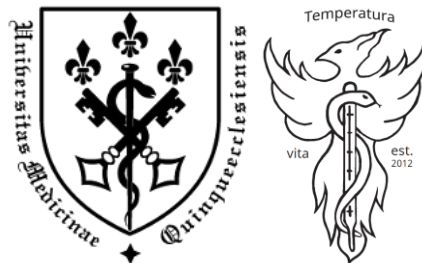
Doktori iskola vezető: Prof. dr. Pintér Erika

Programvezető: Prof. dr. Hegyi Péter

Témavezető: dr. Garami András

PTE ÁOK Transzlációs Medicina Intézet

Termofiziológia Tanszék



Pécs, 2022

BEVEZETÉS

1. Hipotermia

A hőszabályozással a vegetatív idegrendszerünk olyan dinamikus, homeosztatisz funkciókat lát el, amely a hideg- és hőstresszre reagálva lehetővé teszi a stabil, fiziológias hőmérséklet fenntartását. A termoregulációs folyamatok révén a szervezet az egészséges tartományon belül (37°C-tól egy-két fok eltéréssel) próbálja a test maghőmérsékletét (T_b) fenntartani. A hipotermiát általában 35°C-os vagy annál alacsonyabb maghőmérsékletként határozzák meg, ami létrejöhet szándékos (azaz terápiás) vagy véletlenszerű módon. A hipotermia mélységének vagy stádiumainak megkülönböztetésére vonatkozó iránymutatásokat a szerzők eltérően határozzák meg, ennek köszönhetően a szakirodalomban különböző definíciókkal találkozhatunk. Az American Heart Association társaság önkényesen elfogadta Polderman és munkatársai (2009) meghatározását, amely szerint 34°C-ig enyhe, 34-30°C-ig mérsékelt, valamint 30°C alatt súlyos mértékűnek definiálta a hipotermiát (Polderman & Herold, 2009). Balesetknél azonban gyakran egyetlen maghőmérséklet-mérést vesznek alapul a hipotermia enyhe, közepes vagy súlyos besorolásához. A baleseti betegek kezelése a súlyossági besorolástól függ, ezért hogy a kezelés megfelelően célzott legyen, és a hipotermia patofiziológiai mechanizmusait jobban megérthessük, elengedhetetlen, hogy általános konszenzus alakuljon ki a fokozatokról.

A hipotermia terápiás alkalmazása az elmúlt évtizedekben ismét előtérbe került a különböző kóros állapotok során fellépő neurológiai károsodások megelőzése, enyhítése érdekében. A hipotermia alkalmazása nemcsak ideg- vagy szívműtétknél, hanem különböző (pl. traumás) agysérülést vagy károsodást okozó állapotokban is sikeres terápiás beavatkozásnak tűnik. Az agy hűtése során az anyagcsereigény olyan mértékben csökken, hogy a véráramlás teljesen megszakítható. Az utóbbi években egyre nagyobb érdeklődés övezi a terápiás hipotermia jótékony hatásait különböző kóros állapotokban, például ischaemiás stroke és traumás agysérülés (TBI) esetén (Basto & Lyden, 2018). Az előbbi esetében a hipotermia védőmechanizmusai több párhuzamos útvonalon keresztül

befolyásolják az ischaemiás kaszkádot, ebben az állapotban a hűtés növelheti a pozitív kimeneteleket.

2. Terápiás hipotermia alkalmazása súlyos traumás agysérülések esetén

A TBI-t a halálozás és a megbetegedések jelentős okaként ismerik el, elsősorban a fiatal lakosság körében (Yokobori & Yokota, 2016). Becslések szerint évente 10 millió embert érint világszerte, és napjainkban a halálozás, illetve a rokkantság egyik fő oka, amely globális egészségügyi és pénzügyi terhet ró a társadalomra (Hyder *et al.*, 2007). A TBI vezető okai közé tartoznak a gépjárműbalesetek mind a fejlettebb, mind a kevésbé fejlett országokban, amelyek leggyakrabban fiatal férfiakat érintenek (Hyder *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2015). Az enyhe fejsérülést szenvedők általában speciális kezelések nélkül is felépülhetnek, míg a súlyos sérülést szenvedők számára a sérülés gyakran végzetes, vagy maradandó agykárosodással párosul (Finfer & Cohen, 2001). A kedvezőtlen kimenetelek miatt a súlyos TBI világszerte jelentős egészségügyi és társadalmi-gazdasági problémát jelent (Maas *et al.*, 2008). Ezért minden olyan potenciálisan előnyös beavatkozást figyelembe kell venni a TBI sérültek esetén, melyek a betegség kimenetelét javítják, illetve az egészségügyi ellátásra nehezedő terheket mérséklik. Az utóbbi években azonban egyre több olyan eredmény is napvilágot látott, amelyek szerint a terápiás hipotermia klinikai alkalmazása kedvezőtlen hosszú távú következményeket okoz (Crossley *et al.*, 2014; Honeybul, 2016). Ezt a korábbi tanulmányok metaanalízise (Shaefi *et al.*, 2016), illetve egy nagyszabású klinikai vizsgálat (Andrews *et al.*, 2015) is alátámasztotta, amit a tervezett időtartam előtt befejeztek, mivel a klinikai kimenetel nem javult a vizsgálat hipotermiás ágában a normotermiás ághoz képest. A TBI-hez társuló patológiai mechanizmusok közül sok hőmérséklet-érzékeny (Stocchetti *et al.*, 2017), ami arra utal, hogy alacsonyabb Tb mellett a káros folyamatok lassíthatók és neuroprotektív hatások érhetők el. Ennek következtében a terápiás hipotermiát széles körben vizsgálták, mint lehetséges neuroprotektív stratégiát a súlyos TBI káros hatásainak mérséklésére.

A TBI állatmodellekben többször kimutatták a terápiás hipotermia jótékony hatását (Bramlett & Dietrich, 2012; Feng és mtsi., 2010; Sahuquillo & Vilalta, 2007; Zhao és mtsi.,

2017), azonban a klinikai vizsgálatok továbbra is ellentmondásos eredményeket szolgáltatottak. A vizsgálatok közötti jelentős eltérések, amik a humán tanulmányok ellentmondásos eredményeit okozhatták a statisztikai és klinikai tervezésnél (pl. randomizáció) a betegek bevonási kritériumai, valamint az alkalmazott hűtési protokollok közötti nagyfokú heterogenitás rovására írhatók. Korábbi metaanalízisek is a vizsgálatok közötti nagyfokú heterogenitásról számoltak be (Crompton *et al.*, 2017; Harris *et al.*, 2002; Henderson *et al.*, 2003; Li & Yang, 2014; McIntyre *et al.*, 2003; Peterson *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2016).

A különböző álláspontok objektív összevetéséhez az eredmények szisztematikus áttekintésére, kategorizálására és elemzésére volt szükség, amelyet a dolgozatom első felében ismertetek. Ahhoz, hogy eldönthessük a terápiás hipotermia előnyös-e vagy sem, fontos volt szemügyre venni a hűtés módszerét is, hiszen a klinikai gyakorlatban különböző fizikai eszközök és protokollok léteznek a teljes vagy részleges testhűtés céljára.

A klinikai gyakorlatban a hipotermia indukciója többféleképpen is megközelíthető, aszerint, hogy felszíni vagy belső, illetve teljes testfelületre kiterjedő vagy lokalizált hűtési módszerről beszélünk (Basto & Lyden, 2018). Az egész test hűtése endovaszkuláris vagy felszíni módszerekkel érhető el, míg a lokalizált hűtés hideg sóoldat endovaszkuláris infúziójával vagy intrakraniálisan beültetett eszközzel történik fokális hűtéssel. A hipotermiát kiváltó módszerek között meg kell említeni a farmakológiai stratégiákat is, de megjegyzendő, hogy a mai napig a Tb-érték célzott és kontrollált csökkenésének kiváltását szolgáló termofarmakológiai módszerek igen korlátozottak. Főként azért, mert még nem áll rendelkezésre biztonságos és emberben használható anyag erre a célra. Mindegyik módszernek vannak előnyei és hátrányai, melyek különböző helyzetekben alkalmazhatóak (Basto & Lyden, 2018). A termofarmakológiai anyagok fizikai hűtéssel kombinált alkalmazása hatékony beavatkozás lehet a terápiás hipotermia kivitelezésére, de ehhez szükséges a hipotermia indukció molekuláris alapjainak tisztázása.

A termoszenzorok, amelyek közül néhányan a hőmérséklet-aktivált tranziens receptor potenciál (TRP)-csatornák csoportjába tartoznak, kulcsszerepet játszanak a Tb szabályozásában. A termo-TRP csatornák közül jelen munka szempontjából a TRP ankyrin-1

(A1) ioncsatornát kell kiemelni, amelyet a hideg ingerek mellett számos anyag, köztük a H₂S is képes aktiválni. A TRPA1 csatornának döntő jelentősége lehet a H₂S termikus hatásában, ugyanis szulfid donorok és poliszulfidok TRPA1 csatorna által közvetített hatásait különböző kísérleti modellekben korábban azonosították. A H₂S TRPA1-mediált hatásait leíró tanulmányok átfogó listáját Pozsgai és munkatársai (2019) gyűjtötték össze a közelmúltban, de a hőszabályozó hatásokat a szerzők nem részletezték.

A különböző homeosztatisz folyamatokban létrejövő H₂S által kiváltott TRPA1-aktiváció arra utalhat, hogy a hőszabályozásban is szerepet játszhat. A H₂S által kiváltott hipotermia hatásmechanizmusainak vizsgálata képezte disszertációm második részének alapját.

CÉLKITŰZÉSEK

A jelen munka átfogó célja az volt, hogy értékeljük a terápiás hipotermia klinikai jelentőségét humán TBI-s betegeknél, illetve, hogy állatkísérletekben azonosítsunk egy lehetséges farmakológiai célpontot a hipotermia kiváltására. A dolgozatomban tárgyalt főbb témák a következők:

1. A terápiás hipotermiát többször vizsgálták a súlyos TBI kimenetelének javítására, de a korábbi klinikai vizsgálatok és metaanalízisek ellentmondásos eredményeket találtak. Célul tűztük ki, hogy az egész testre kiterjedő terápiás hűtés hatékonyságát egy újszerű metaanalízissel értékeljük a súlyos TBI-ben szenvedő felnőtt betegek halálozási eredményeire összpontosítva.
2. A TBI-betegek hűtési protokolljai nagymértékben különböztek a tanulmányok között, ezért célunk volt egy újszerű mérőszám kidolgozása a hűtés mértékére. A hűtési paraméterekből kiszámítottuk a terápiás hipotermia integrált mértékét, és azt hűtési indexként (COIN) vezettük be, majd megvizsgáltuk a TBI halálozással való összefüggéseit.

3. Korábbi vizsgálatokban kimutatták, hogy a H₂S egerekben hipotermiát és hipometabolizmust okoz, azonban az a molekuláris célpont, amelyen keresztül a H₂S kiváltja a mély Tb-re gyakorolt hatását, egyelőre ismeretlen. Megvizsgáltuk a gyors (Na₂S) és lassú (GYY4137) H₂S donorokra adott hipotermiás válasz hatásmechanizmusait C57BL/6 egerekben, majd tanulmányoztuk, hogy hatásuk függ-e a TRPA1 csatornától *Trpa1* génkiütött (*Trpa1*^{-/-}), illetve vad típusú (*Trpa1*^{+/+}) egerekben.
4. Vizsgáltuk továbbá a *Trpa1* expresszióját a hőszabályozással kapcsolatos agyi magokban, hogy feltárjuk a H₂S hipotermikus hatásának lehetséges támadáspontját.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1. Humán adatok elemzése

1.1. Adatgyűjtés

Metaanalízisünkben (Olah *et al.*, 2018) 2017 februárjáig a PubMed, EMBASE és Cochrane Library adatbázisokban végeztünk keresést. A humán tanulmányokat statisztikai, klinikai és módszertani adatok figyelembe vételével értékeltük a tanulmányok közötti homogenitás elősegítése érdekében. Kiemeltük a keresés során a TBI súlyosságára, a testhőmérsékletre, a halálzásra és a hűtési paraméterekre vonatkozó adatokat. Metaanalízisünket a Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis Protocols (Moher *et al.*, 2015) iránymutatásai szerint végeztük; a Participants, Intervention, Comparison, Outcome (PICO) modellt alapul véve; amit a PROSPERO-ban regisztráltunk (CRD42017056535).

1.2. Adatok értékelése

Az összegyűjtött adatokat statisztikai valamint orvosbiológiai megközelítés alapján értékeltük. Statisztikai vonatkozásban az összegyűjtött tanulmányok randomizációját a szerzők nyilatkozatai, a Jadad-elemzés és a tanulmányokban leírt randomizációs protokoll

részletes leírása alapján értékeltük. Az orvosbiológiai értékelés során a szóba jöhető tanulmányok listáját leszűkítettük azokra, amelyek a terápiás, egész testre kiterjedő hipotermia hatásaival foglalkoztak a hőmérséklet-változás nélküli kezeléshez képest, ezért kizártuk azokat a cikkeket, amelyekben szelektív agyhűtést, lázcsillapító gyógyszereket alkalmaztak, vagy amikor spontán (véletlen) hipotermiás betegek szerepeltek a vizsgálatban. A statisztikai és az orvosbiológiai szűkítés után fennmaradó tanulmányokat metaanalízisünkben a véletlen hatásmodellel hasonlítottuk össze az esélyhányados (OR) mint hatásméret tekintetében. Annak felmérése érdekében, hogy a hűtési módszerek mely paraméterei voltak legnagyobb hatással a súlyos TBI kimenetelére, a tanulmányokat a hűtési célhőmérséklet, a hűtés időtartama és az újramelegítés sebessége alapján alcsoportokra osztottuk.

1.3. A hűtési index kiszámítása

A három alkalmazott hűtési paraméter kombinációinak együttes hatását is vizsgáltuk a súlyos TBI kimenetelének tekintetében. Ha mindhárom paramétert, azaz a hűtési célhőmérsékletet, a hűtés időtartamot és az újramelegítés sebességét publikálták az adott vizsgálatban, akkor ki lehetett számolni a hűtés integrált mértékét, amit hűtési indexnek (COIN) neveztünk el. A COIN a hűtött betegek Tb-görbéje és a 36,5 °C-os normál Tb-nek megfelelő hipotetikus vízszintes vonal közötti területet jelentette. A következő képletet használtuk: $COIN = \Delta T \times t + (\Delta T \times \Delta T / R) / 2$, ahol " ΔT " a normál Tb (36,5°C) és a hűtés végén elért hőmérséklet közötti különbség (°C-ban); " t " a hipotermia időtartama (órákban); és " R " az újramelegítés sebessége (°C/h-ban). A metaanalízisünkbe vont tanulmányokat (N = 4) alacsony (<160 °C × h), mérsékelt (160-200 °C × h) és magas (>200 °C × h) COIN alcsoportokba soroltuk. Minden tanulmányból kivontuk a célzott hűtési paramétereket (azaz a hűtési hőmérsékletet, a hűtés időtartamát és az újramelegítés sebességét), figyelembe vettük az ezektől való eltéréseket vagy kiigazításokat, és kiszámítottuk a COIN-értékeket.

Miután 2018-ban bevezettük a COIN-t (Olah *et al.*, 2018), nem sokkal később közzétették egy nagy, multicentrikus, randomizált klinikai vizsgálat (POLAR) eredményeit is, ami ellentmondást mutatott a terápiás hipotermia hatásosságával súlyos TBI esetén (Cooper *et al.*,

2018). Ezért, figyelembe véve az említett vizsgálat eredményeit is, egy újabb metaanalízist végeztünk, amibe a POLAR adatait is bevontuk (Olah, Poto, *et al.*, 2021).

1.4. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzést a metaanalízis standard módszereinek megfelelően végeztük. A publikációs torzítást a Duval és Tweedie trim and fill módszerrel és az Egger-teszttel készült tölcsérdiagramok segítségével értékeltük. A tanulmányok közötti heterogenitást Q homogenitási teszttel és I^2 statisztikai teszttel vizsgáltuk. Minden elemzést a Comprehensive Meta-Analysis szoftverrel végeztünk.

2. Kísérletek állatmodellekben

2.1. Kísérleti állatok

Állatkísérleteinkhez (Olah, Rumbus, *et al.*, 2021) hím *Trpa1*^{-/-} és *Trpa1*^{+/+} (n = 18, illetve 14), valamint C57BL/6 egereket (n = 77) használtunk, amelyeket a Pécsi Tudományegyetem Központi Állatházából szereztünk be, ahol standard kórokozómentes körülmények között tenyésztették és tartották őket. Minden eljárást a Pécsi Tudományegyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága által jóváhagyott protokollok alapján végeztünk (regisztrációs szám: BA02/2000-6/2018, jóváhagyva 2018. február 27-én), melyek a Nemzeti Állatkutatói Etikai Tanács és az Európai Közösségek Tanácsának (86/609/EGK) irányelveivel is összhangban voltak.

2.2. Műtéti beavatkozások

Az egereket ketamin-xilazin keverék intraperitoneális (i.p.) beadásával altattuk, és intramuszkuláris antibiotikus védelmet kaptak.

Az intracerebroventrikuláris (i.c.v.) anyagbeadáshoz egy 22 G acél vezetőkanült ültettünk be a jobb oldalsó agykamrába sztereotaxiás műszer segítségével. A kanült a koponyába fűrt kis lyukon keresztül helyeztük be, a Bregmától 0,5 mm-re posterior és a

középvonaltól 1,0 mm-re laterális irányba. A kanül hegyét a jobb oldalsó kamrába fogászati cementtel rögzítettük mikrocsonkok segítségével, és egy műanyagkanüllel zártuk le.

Az anyagok i.p. beadásához egy pirogénmentes sóoldattal töltött polietilén (PE)-50 katétert ültettünk be a peritoneális üregbe. A katéter külső végét a tarkónál kiveztük és lezártuk. A műtéti sebet rétegesen összevarrtuk. A kanült a műtétet követő napon és azt követő minden második napon 0,1 ml sóoldattal öblítettük át.

2.3. Kísérleti elrendezések

A termoregulációs kísérleteket az egereken termoelem termometria, illetve respirometriás termometria segítségével végeztük szubneutrális körülmények között.

2.3.1. Termoelem termometria

Termoelem termometriai kísérletünkben az egereket egy szűkítőketrecbe helyezve réz-konstantán termoelemekkel szereltük fel a vastagbél hőmérsékletének mérésére. A termoelemet a colonba helyeztük 3 cm mélyre az analis sphinctertől, majd a termoelemet egy ragasztószalaggal a farokhoz rögzítettük és egy számítógéppel összekötött adatgyűjtő készülékhez csatlakoztattuk. A szűkítőketrecbe helyezett állatokat egy kb. 30°C-os állandó környezeti hőmérsékletet biztosító hőkamrában helyeztük el, amely hőmérséklet az egerek termoneutrális zónájának alsó küszöbét jelenti. Az előzetesen beültetett i.c.v. vezetőkanülbe egy injektor tűt helyeztünk, amelyet egy előzetesen Na₂S vagy GYY4137 oldattal vagy sóoldattal feltöltött PE-50 kanülhöz csatlakoztattuk. A tű vége 1,0 mm-rel túlnyúlt a vezető kanül csúcsán. Az anyagadás egy 10 µl-es fecskendő segítségével történt, amely egy vezetőkanül segítségével az icv kanülhöz rögzítettünk. I.p. katéter esetén, azt egy PE-50-es toldalékhoz csatlakoztattuk, amelyet előre feltöltöttünk a kívánt anyaggal, és egy infúziós pumpába helyezett fecskendőhöz vezettünk.

2.3.2. Respirometriás termometria

A respirometriás készülék elrendezését úgy terveztük meg, hogy jellemezze a hőhatások dóziszfüggését és az anyagcsere gátlásának hatását a Na₂S és GYY4137 által

kiváltott hőszabályozási válaszban C57BL/6 egerekben. Az egereket termoelemekkel és PE-50 kanüllel láttuk el, ugyanúgy, mint a termoelem termometriás elrendezésben végzett kísérleteknél. Az egereket a ketreccel együtt a négykamrás, nyílt körös kaloriméteres integrált rendszer egyik plexikamrájába helyeztük el. A kamrákat lezártuk, szabályozható hőmérsékletű vízfürdőbe merítettük, és folyamatosan átáramoltattuk szobai levegővel (200 ml/perc). A kamrába belépő és a kamrából kilépő levegőben mértük az oxigén frakcionált koncentrációját, és a gyártó utasításai szerint az Oxymax Windows szoftver segítségével kiszámítottuk az oxigénfogyasztás (VO_2) mértékét.

2.3.3. *Anyagok és adagolásuk*

A Na_2S nonahidrátot ($Na_2S \cdot 9H_2O$) a Sigma-Aldrichtól vásároltuk. Az i.p. beadáshoz a Na_2S (vagy sóoldat) törzsoldatát (1,5 mg/ml) 4 perc alatt (3,3 ml/kg) infundáltuk 5 mg/kg Na_2S -t beadásához. A Na_2S (0,5 és 1 mg/kg dózisu) i.c.v. beadásához a Na_2S (vagy sóoldat) törzsoldatait (5 és 10 mg/ml) 3 percen keresztül infundáltuk (1 μ l/perc).

A lassan felszabaduló H_2S -donort, a GYY4137-et az Exeteri Egyetem Orvostudományi Karán dolgozó munkatársaink szintetizálták. A GYY4137 3 mg/kg végső dózisát adtuk be i.c.v. A kontroll egereknek sóoldatot infundáltunk.

2.4. *A Trpa1 mRNS expressziójának mérése*

2.4.1. *RNAscope in situ hybridizáció*

Az RNAscope vizsgálatokhoz 3 hónapos hím C57BL/6 egereket ($n = 4$) a fent leírtak szerint elaltattunk, majd perfundáltunk 30 ml PBS, majd 100 ml 4%-os paraformaldehid Millionig-foszfátpufferben. Az agyakat 24 órán át szobahőmérsékleten posztfixáltuk, PBS-ben öblítettük, dehidratáltuk és a standard eljárások szerint paraffinba ágyasztuk. Az 5 μ m-es metszeteket mikrotómmal metszettük. Az RNAscope Multiplex Fluorescent Reagent Kit v2-t a gyártó protokollja szerint használtuk. Paxinos és Franklin (2001) atlaszának megfelelően a medialis preopticus területről, a dorsomedialis hipotalamusz területről, valamint a laterális parabrachialis magról és a rostralis raphe pallidusról fluoreszcens képeket készítettünk

Olympus Fluoview FV-1000 konfokális mikroszkóp és Fluoview FV-1000S-IX81 képgyűjtő szoftverrendszer segítségével.

2.5. Adatfeldolgozás és elemzés

A Tb, VO₂ és a véráramlás intenzitására vonatkozó adatokat kétutas ANOVA alkalmazásával elemeztük, amelyet a Fisher-féle LSD *post hoc* teszt követett. A statisztikai elemzésekhez a Sigmaplot 11.0 szoftvert használtuk.

EREDMÉNYEK

1. A terápiás hipotermia értékelése súlyos traumás agysérülésben szenvedő humán betegeknél

Az első metaanalízisünkben (Olah *et al.*, 2018) az irodalomkutatás során összesen 709 tanulmányt találtunk a PubMed, EMBASE és Cochrane adatbázisok alapján. Ezeket angol nyelvű human vizsgálatok, és a tanulmánytípusok beállításával tovább szűkítettük, így 321 tanulmány maradt. Ezen cikkeket cím és absztrakt alapján átvizsgáltuk a beválogatási kritériumok szempontjából. 273 cikket kizártunk, mert nem volt elegendő adat, vagy mert gyermekek vizsgálatáról szóltak. A kvalitatív szintézisbe 48 tanulmányt vontunk be. További 21 cikket a halálozási adatok hiánya miatt kellett kizárni. A kvantitatív szintézisbe 27 tanulmányt vontunk be. Metaanalízisünkben mind a 27 azonosított tanulmány bevonásakor a terápiás hipotermia és a hűtés nélküli eljárások hatásait összehasonlítva, nem találtunk szignifikáns különbséget a csoportok közötti halálozási OR-értékben. Fontos megjegyezni azonban, hogy a bevont tanulmányok módszertanilag meglehetősen heterogének voltak mind a statisztikai, mind a klinikai tervezés tekintetében.

A heterogenitás csökkentésére szolgáló statisztikai megközelítésként külön elemeztük azokat a tanulmányokat, amelyek randomizált klinikai vizsgálatok (RCT)-k voltak, és a tanulmányokat klinikai és módszertani elvek alapján is kiértékeljük. Az irodalomkutatás során azonosított tanulmányok kombinált (statisztikai és fiziológiai) értékelésének eredményeként

14 teljes szövegű publikációt (1786 felnőtt, súlyos TBI-ben szenvedő beteg bevonásával; 896 a terápiás hipotermia csoportban és 890 a hűtés nélküli csoportban) vontunk be elemzésünk következő lépéseibe. Ezek mindegyike RCT volt, amelyekben az egész test pontos hűtési módszereit (célhőmérséklet, hűtés időtartama és az újramelegítés sebessége) közölték, és a terápiás hipotermia mortalitásra gyakorolt hatását hasonlították össze a súlyos TBI-ben a hőmérséklet-kezelés nélküli betegekkel. A vizsgálatok homogenitását az Egger-teszt, a Q- és az I²-statisztika segítségével ellenőriztük, amelyek nem mutattak szignifikáns különbséget a vizsgálatok közötti eltérésekben. E tanulmányok metaanalízise azt mutatta, hogy a terápiás hipotermia jelentősen javította a súlyos TBI kimenetelét (OR = 0,675; p = 0,004).

Következő megközelítésünkben a hűtési paraméterek integrált hatását vizsgáltuk a betegség kimenetelére. A közepes és jó randomizációs szintű vizsgálatokban közölt hűtési paraméterekből a COIN-t úgy értékeltük, hogy a képletben mindhárom változót, azaz a célhőmérsékletet, a hűtés időtartamát és az újramelegítés sebességét figyelembe vettük. A COIN kiszámításával össze tudtuk hasonlítani a hipotermia általános mértékének hatását azon tanulmányok között, amelyek különböző hűtési paramétereket alkalmaztak a protokolljukban. Az OR-t meghatároztuk az alacsony (<160°C × h), mérsékelt (160-200°C × h) és magas (>200°C × h) COIN alcsoportokban. Fontos, hogy az egyetlen szignifikáns hatás az 1-nél kisebb OR esetében, azaz amikor a hűtés előnyös volt a hűtés nélküli eljáráshoz képest, a magas COIN-t alkalmazó tanulmányok alcsoportjában volt megfigyelhető (OR = 0,470; p = 0,035). Ezek az eredmények arra utaltak, hogy az egyes hűtési paraméterek eltérő, független hozzájárulása mellett a terápiás hipotermia nagyságának és időtartamának integrált mérése (ahogyan azt a COIN jelzi) döntő szerepet játszhat annak meghatározásában, hogy az alkalmazott hűtési protokoll csökkenti-e a halálozás kockázatát súlyos TBI-ben szenvedő betegeknél.

Későbbi tanulmányunkban (Olah, Poto, *et al.*, 2021) azzal bővítettük ki a COIN-en alapuló elemzésünket, hogy a POLAR tanulmányban közölt adatokat is bevontuk. A COIN értéke a POLAR tanulmányban - a célzott paraméterek teljesülése esetén - magas lett volna. A célzott hűtési paramétereket azonban a terápiás hipotermiában részesülő betegek kevesebb mint 50%-ánál érték el ténylegesen. A hipotermiás csoportban 85 beteget (33%) 48 óránál

rövidebb ideig hűtöttek; 27 beteg (10%) soha nem érte el a 35°C-os Tb értéket; és 65 beteg (27%) soha nem érte el a 33°C-ot (Cooper és mtsi., 2018). Ezért a POLAR vizsgálatban sok betegnél alacsony volt a COIN érték, ennek köszönhetően a vizsgálatban elért általános érték csak mérsékelt volt. A fentiek alapján a POLAR adatait a metaanalízisünk "mérsékelt" COIN alcsoportjába soroltuk. A POLAR adatait is figyelembe véve, összességében elmondható, hogy a terápiás hipotermia szignifikánsan csökkentette a halálozást súlyos TBI esetén. Az OR szignifikáns csökkenését (ami a terápiás hipotermia kedvező hatására utal) azonban csak a "magas" COIN alcsoportban figyeltük meg: 0,470. Az "alacsony" vagy "mérsékelt" hűtési intenzitású alcsoportok 0,718, illetve 0,846 OR értékeket mutattak.

2. A H₂S által kiváltott hipotermia mechanizmusai állatkísérletekben

2.1. A Na₂S agykamrai adagolása csökkenti a maghőmérsékletet egerekben a termogenezis gátlásán és a bőr vazodilatációjának indukcióján keresztül

A Na₂S hatására egereknél a Tb-érték csökkenése alakult ki, ami a nagyobb dózisonál kifejezettebb volt, míg a sóoldat nem okozott semmilyen hatást. A kezelés Tb-re gyakorolt hatása mind az alacsonyabb, mind a magasabb Na₂S-dózisok esetében jelentős volt a sóoldathoz képest. A Na₂S 0,5 mg/kg-os dózisánál a Tb 20, 170 és 180 percben szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a sóoldattal kezelt egereknél, míg az 1 mg/kg-os dózisonál a Tb csökkenése 20-180 perc között szignifikáns volt a sóoldathoz képest.

Ugyanezekben a kísérletekben mértük az oxigénfogyasztás (VO₂) mértékét is, amelyet a nem-didergéses hőtermelés mutatójának tekintettünk. A Na₂S mikroinjekció (3 µl, i.c.v.) szintén jelentősen befolyásolta az oxigénfogyasztást. A Na₂S által kiváltott hipotermia a VO₂ csökkenésével járt, amely a Tb-hez hasonló dinamikával változott. A Tb-hez hasonlóan a kezelés VO₂-re gyakorolt hatása mind az alacsonyabb, mind a magasabb Na₂S-dózisok esetében jelentős volt a sóoldathoz képest. Külön kísérletsorozatban azt is ellenőriztük, hogy a bőr vazodilatációja - a hővesztés növelése érdekében - hozzájárul-e a H₂S által kiváltott hipotermiához. Azt találtuk, hogy a központilag adagolt Na₂S az egerek bőrében kifejezett

vazodilatációt okozott, ami arra utal, hogy a fokozott hőleadás is részt vesz a H₂S-re adott hipotermikus válaszban.

A központilag beadott Na₂S-re adott hipotermiás és hipometabolikus válasz gyors, dóziszfüggő kialakulása arra utal, hogy a felszabaduló H₂S hatásának helye a központi idegrendszerben található. Annak vizsgálatára, hogy a Na₂S hipotermiás hatása kiváltható-e a perifériáról, a következőkben nagy dózisu (5 mg/kg) Na₂S i.p. beadására adott hőszabályozási választ vizsgáltuk. A várakozásoknak megfelelően a sóoldat i.p. infúziója nem volt hatással a Tb-re. Az i.c.v. adagolással ellentétben, amikor az egerek i.p. infúzióban kaptak Na₂S-t, a Tb-értékük a kísérlet során egyik időpontban sem különbözött szignifikánsan a sóoldattal kezelt egerektől, annak ellenére, hogy 10-szer nagyobb dózist adtunk be i.p., mint az i.c.v. beadott alacsonyabb dózis, amely hipotermiát okozott.

2.2. A GYY4137 agykamrai beadása csökkenti a mély testhőmérsékletet egerekben

Azt is meg szeretnénk volna vizsgálni, hogy a Na₂S megfigyelt hőszabályozó hatásait kiválthatja-e a GYY4137, amely egy lassú H₂S-donor. A GYY4137 (3 mg/kg) i.c.v. beadásakor a respirometriás termometria rendszerben kifejezett hipotermiát és hipometabolizmust okozott a sóoldatos kezeléshez képest. A GYY4137-kezelt és a sóoldattal kezelt egerek között a Tb szignifikánsan különbözött a 80-100 perc és a 130-180 perc között, a VO₂ különbsége pedig a 20-30 perc és a 160-180 perc között volt jelentős.

2.3. A Na₂S-ra és a GYY4137-re adott hipotermiás válasz a tranziens receptor-potenciál ankyrin-1 csatorna hiányában mérséklődik

Ezután megvizsgáltuk, hogy a TRPA1 csatorna szerepet játszik-e a különböző H₂S donorokra adott hőszabályozási válaszokban *Trpa1*^{-/-} és *Trpa1*^{+/+} egerekben. A Na₂S (1 mg/kg) i.c.v. beadása a *Trpa1*^{+/+} egerek colon hőmérsékletének és VO₂ értékének hirtelen, kifejezett csökkenését okozta. A *Trpa1*^{-/-} egerekben azonban ugyanannak a Na₂S-dózisnak a hipotermikus és hipometabolikus hatása jelentősen mérséklődött.

A GYY4137 (3 mg/kg) i.c.v. beadása a *Trpa1*^{+/+} egerek Tb-értékének jelentős csökkenését okozta; azonban az ugyanilyen dózisu GYY4137-re adott hipotermikus válasz

jelentősen csökkent a *Trpa1*^{-/-} egerekben. A *Trpa1*^{-/-} egerek colon hőmérséklete a GYY4137 adása után 20 és 80 perc között szignifikánsan magasabb maradt, mint a *Trpa1*^{+/+} egereké.

2.4. A *Trpa1* mRNS kismértékben expresszálódik az autonóm hőérzékelő pályák agyi neuronjaiban

Megvizsgáltuk a TRPA1 csatorna kifejeződését a hőszabályozással kapcsolatos agyi struktúrákban is. RT-qPCR-t használtunk a *Trpa1* mRNS felmérésére az egerek hipotalamuszában, de nem találtunk kimutatható mennyiséget. Ezután RNAscope *in situ* hibridizációt alkalmaztunk, ami egy rendkívül érzékeny módszer, képes egyetlen transzkriptumot is detektálni (Femino *et al.*, 1998). Kimutatható *Trpa1* mRNS-transzkriptumokat találtunk az összes vizsgált, hőszabályozáshoz köthető magban, azaz a medialis preopticus területen, a dorsomedialis hipotalamusz területén, a laterális parabrachialis magban és a rostralis raphe pallidusban, bár meg kell jegyezni, hogy a *Trpa1* transzkriptumok száma alacsony volt.

DISZKUSSZIÓ

Az elmúlt 20 évben számos klinikai vizsgálat készült, amelyek a mérsékelt terápiás hipotermiát és a normotermiát hasonlították össze súlyos TBI-ben szenvedő betegeknél. E vizsgálatok többségében a hipotermia alkalmazása nem javított a kimenetelen, bár voltak olyan betegcsoportok, ahol a hipotermia előnyös volt. A módszertani különbségek megakadályozták e vizsgálatok közvetlen összehasonlítását.

Jelen dolgozatban a statisztikai, klinikai és módszertani vonatkozás tekintetében homogén klinikai vizsgálatok metaanalízise során (Olah *et al.*, 2018) kimutattuk, hogy a teljes test hűtése csökkenti a halálozás kockázatát súlyos TBI-ben szenvedő betegeknél. A hűtési paraméterek forest plot-elemzésével igazoltuk, hogy a mélyebb és hosszabb hűtés és kisebb mértékben az ésszerűen gyors újramelegítés a legfontosabb a súlyos TBI kimenetelének javításához.

Bevezettük a COIN-t a hűtés összegzett hatásának értékelésére, és kimutattuk, hogy a terápiás hipotermia csak akkor előnyös súlyos TBI esetén, ha a COIN kellően magas (Olah *et al.*, 2018). A terápiás hipotermia előnyeit súlyos TBI-ben régóta vitatják. 2018-ban a POLAR tanulmány (Cooper *et al.*, 2018), egy magas színvonalú nemzetközi vizsgálat, úgy tűnt, hogy véget vet a vitának, mivel kimutatta, hogy a terápiás hipotermia nem javítja a halálozást súlyos TBI esetén. A POLAR-alapú, a terápiás hipotermia elhagyására vonatkozó ajánlást azonban különböző szerzők megkérdőjelezték. Kiszámítottuk a COIN-t a POLAR-vizsgálathoz, és új metaanalízist készítettünk (Olah, Poto *et al.*, 2021), amely a POLAR-adatokat is tartalmazta, és figyelembe vette a hűtés mértékét.

Újszerű "POLARizált" COIN-elemzésünk azt jelezte, hogy a POLAR eredményei megerősítik korábbi következtetéseinket a terápiás hipotermia kedvező hatásáról a halálozási arány tekintetében súlyos TBI esetén, ha a COIN kellően magas. Bár a POLAR egy magas színvonalú, nemzetközi vizsgálat volt, a protokolltól való eltérések a tervezettnél kisebb mértékű hűtést eredményeztek, ami elfedhette a terápiás hipotermia előnyeit a teljes vizsgálatban. Elkerülhetetlen lenne külön elemezni az eredményeket azoknál a betegeknél, akik teljes mértékben megfeleltek a célzott hűtési kritériumoknak, és azokhoz viszonyítani akik nem feleltek meg. Amíg ilyen eredmények nem állnak rendelkezésre a POLAR vagy más, magas színvonalú vizsgálat(ok) esetén, addig nem szabad elvetni a terápiás hipotermia gondolatát súlyos TBI esetén.

A terápiás hipotermia előnyeit Moore és munkatársai (2020) nemrégiben megjelent áttekintő közleménye is bemutatta. A szerzők az *umbrella review* módszertanát alkalmazták több, potenciálisan alacsony értékű klinikai gyakorlatra, és azt találták, hogy a terápiás hipotermia volt az egyetlen, amelynek bizonyított az előnye. A POLAR vizsgálat azonban nem szerepelt a Moore és munkatársai (2020) által elemzett szisztematikus áttekintések egyikében sem. Amikor a POLAR eredményeit a mi POLARizált metaanalízisünket megelőzően átültették a kezelési irányelvekbe (Chesnut *et al.*, 2020; Hawryluk *et al.*, 2019), az általános előnyös hatás hiánya azt eredményezte, hogy a terápiás hipotermia alkalmazását súlyos TBI esetén csökkenteni kell. A különböző POLAR-ban részt vevő központokban azonban előfordult néhány eltérés a hűtési protokolltól, és a hűtés általános mértékét a "magas" (célzott) helyett "mérsékelt" (összességében elért), sőt "alacsony" (sok betegnél

megfigyelt) mértékre csökkentette. A COIN-nek ez a csökkenése valószínűleg elfedte a terápiás hipotermia előnyeit a teljes kohortban. A pontos hűtési protokoll meghatározása egy meghatározott betegpopuláció számára összhangban lenne a TBI kezelésének legújabb paradigmáival, ami arra utal, hogy az eredmények javítása érdekében az egyének vagy a betegek alcsoportjainak célzott, személyre szabott kezelésére lenne szükség (Sheriff & Hinson, 2015; Stocchetti *et al.*, 2017).

Munkám második részében a H₂S által kiváltott hipotermia mechanizmusait vizsgáltuk állatkísérletekben (Olah, Rumbus, *et al.*, 2021), és arra a következtetésre jutottunk, hogy a gyorsan és lassan H₂S-t felszabadító donorok hipotermiát okoznak, amelyhez csökkent termogenezis és fokozott bőr vazodilatáció párosul. A hipotermikus és hipometabolikus hatások a központi idegrendszerből indulnak ki, és mindkettő erősen csökken a TRPA1 csatorna hiányában. A hipotalamusz neuronjain található TRPA1 csatornák a termoeffektor idegpályákon belül a H₂S által kiváltott hipotermia molekuláris célpontjainak tekinthetők.

Célunk volt, hogy megtaláljuk a H₂S-re adott hipotermikus válaszáért felelős molekuláris célpontot. A TRP csatorna szupercsalád hőmérséklet-érzékeny tagjai a hőszabályozó rendszerben termoreceptor elemként működhetnek, de egyes TRP csatornák nem termikus aktivációja is előfordulhat, és hozzájárulhat a mély Tb szabályozásához, függetlenül attól, hogy az adott csatorna termoszenzor-e vagy sem, ahogyan azt a TRPV1 esetében is felfedezték (Garami *et al.*, 2020; Romanovsky *et al.*, 2009). A H₂S és a hőérzékeny TRP-csatornák közötti kölcsönhatásra fókuszálva többen is alátámasztották a H₂S TRPA1 csatornára gyakorolt hatását különböző kísérleti modellben (Pozsgai, Bártai *et al.*, 2019), de hogy a TRPA1 közvetíti-e a H₂S hipotermikus hatását is, eddig nem volt ismert. Munkánkban (Olah, Rumbus, *et al.*, 2021) génkiütött *Trpa1*^{-/-} egerek segítségével vizsgáltuk a H₂S donorokra (Na₂S és GYY4137) adott termoregulációs választ. Kimutattuk, hogy a hipotermikus és a hipometabolikus válaszok egyaránt mérséklődnek a *Trpa1*^{-/-} egerekben a *Trpa1*^{+/+} társaikhoz képest. Eredményeink tudomásunk szerint először jelzik egyértelműen, hogy egerekben a gyors vagy lassú felszabadulású H₂S donorok által kiváltott hipotermia közvetítésében a TRPA1 csatorna játszik szerepet.

KÖVETKEZTETÉSEK

Jelen munkában új megközelítést alkalmaztunk a terápiás hipotermia hatékonyságának meghatározására TBI esetén. Metaanalízisünkben gondosan értékeltük az irodalomkutatással azonosított összes tanulmányt a statisztikai tervezés, a betegek bevonási kritériumai és az alkalmazott hűtési protokoll alapján, ezáltal azonosítottuk azokat a tanulmányokat, amelyek mindhárom szempontból homogénnek tekinthetők: statisztikailag, klinikailag és módszertanilag egyaránt. Ezután elvégeztük ezen tanulmányok metaanalízisét, hogy értékeljük a terápiás hipotermia, valamint a hűtési protokoll egyes paramétereinek hatását a súlyos TBI-ben szenvedő betegek halálozási arányára. Bevezettük a COIN-t, a terápiás hipotermia három különböző hűtési paraméterből számított integrált mérőszámát, és megvizsgáltuk annak kapcsolatát a halálozással súlyos TBI esetén. Továbbá, a POLAR-tanulmány bevonása a COIN-alapú metaanalízisünkbe azt sugallja, hogy a COIN-t újra meg kell vizsgálni a terápiás hipotermia súlyos TBI-ben történő alkalmazásával kapcsolatos vita rendezése érdekében.

Blackstone és munkatársai (2005) alapvető munkája igazolta, hogy a H_2S hőszabályozó mediátor (Mancardi és munkatársai, 2009). A disszertációm második részének eredményei alátámasztják, hogy a H_2S által kiváltott hőszabályozó hatások TRPA1-mediáltak. Továbbá, hogy a központi idegrendszerben kifejtett H_2S hatások hipotermiát indukálnak, részben a termogenezis gátlásán keresztül.

Kísérleteink során azt találtuk, hogy a H_2S -donorok, különösen a Na_2S és a GYY4137 (i) i.c.v. beadást követően dózisfüggő módon hipotermiát váltanak ki; (ii) a kiváltott hipotermia különböző dinamikát mutat; (iii) i.p. anyagadás során nem váltanak ki jelentős hőszabályozási hatást; valamint (iv) a hipotermikus választ TRPA1 csatorna közvetítésével váltják ki. Összefoglalásként, kimutattuk, hogy a lassan és gyorsan felszabaduló H_2S donorok hipotermiát indukálnak egerekben a hipometabolizmus és a bőr vazodilatációja révén, és hogy a H_2S hipotermikus hatását az agyban található TRPA1 csatornák közvetítik, feltehetően a hipotalamikus neuronokon a termoregulációs idegpályákon keresztül. Eredményeink rávilágítanak a központi TRPA1 által közvetített H_2S jelátvitel fontosságára a hőszabályozó

rendszerben. A szisztémás gyulladás súlyos formáiban (pl. szeptikus sokk), amely gyakran jár hipotermiával (Garami, Steiner *et al.*, 2018) és a H₂S fokozott termelésével (Bhatia & Gaddam, 2021; Whiteman & Winyard, 2011), a TRPA1 és a H₂S közötti kölcsönhatás döntő szerepet játszhat a válasz kialakulásában, perspektívaként terápiás célpontként szolgálhat. Továbbá, a központi TRPA1 csatornák H₂S által kiváltott aktiválása kikövezheti az utat a terápiás hipotermia kontrollált indukciójának kifejlesztéséhez, de további kutatások szükségesek a központi TRPA1-H₂S kölcsönhatás valódi termofarmakológiai potenciáljának feltárásához. Ezt a felvetést támasztja alá Kwiatkoski és munkatársai munkája is, akik arról számoltak be, hogy a megnövekedett H₂S hipoxia során kriogén hatást váltott ki (Kwiatkoski és munkatársai, 2012).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Garami Andrásnak, hogy ennyi éven át támogatott, segített és irányított egyetemi munkám során.

Szeretném kifejezni mély hálámat Dr. Hegyi Péternek, a Transzlációs Medicina Doktori Program vezetőjének és intézetvezetőmnek, amiért lehetőséget adott, hogy doktorandusznak jelentkezhessek, és amiért végig bátorított tanulmányaim során.

Szeretnék köszönetet mondani továbbá a Termofiziológia Tanszék minden tagjának, hogy vidám légkört biztosítottak, tanácsaikkal és szakmai segítségükkel mindvégig támogattak. Kísérleti munkáimat nem tudtam volna elvégezni az asszisztenseink segítségével, akik szakértelme felbecsülhetetlen értékű volt munkám során.

Végül nem tudok eléggé hálás lenni a családomnak, férjemnek és négy gyermekemnek, akik türelemmel, szeretettel bátorítottak és mindvégig mellettem álltak.

IRODALOMJEGYZÉK

- Andrews, P. J. D., Sinclair, H. L., Rodriguez, A., Harris, B. A., Battison, C. G., Rhodes, J. K. J., Murray, G. D., & Eurotherm Trial, C. (2015a). Hypothermia for intracranial hypertension after traumatic brain injury. *N Engl J Med*, *373*(25), 2403-2412. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1507581>
- Basto, F. M., & Lyden, P. (2018). Hypothermia in acute ischemic stroke therapy. *Handb Clin Neurol*, *157*, 823-837. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64074-1.00051-3>
- Bhatia, M., & Gaddam, R. R. (2021). Hydrogen Sulfide in Inflammation: A Novel Mediator and Therapeutic Target. *Antioxid Redox Signal*, *34*(17), 1368-1377. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8211>
- Blackstone, E., Morrison, M., & Roth, M. B. (2005). H₂S induces a suspended animation-like state in mice. *Science*, *308*(5721), 518. <https://doi.org/10.1126/science.1108581>
- Bramlett, H. M., & Dietrich, W. D. (2012). The Effects of Posttraumatic Hypothermia on Diffuse Axonal Injury Following Parasagittal Fluid Percussion Brain Injury in Rats. *Therapeutic Hypothermia and Temperature Management*, *2*(1), 14-23. <https://doi.org/10.1089/ther.2012.0002>
- Chesnut, R., Aguilera, S., Buki, A., Bulger, E., Citerio, G., Cooper, D. J., Arrastia, R. D., Diring, M., Figaji, A., Gao, G., Geocadin, R., Ghajar, J., Harris, O., Hoffer, A., Hutchinson, P., Joseph, M., Kitagawa, R., Manley, G., Mayer, S., . . . Hawryluk, G. W. J. (2020). A management algorithm for adult patients with both brain oxygen and intracranial pressure monitoring: the Seattle International Severe Traumatic Brain Injury Consensus Conference (SIBICC). *Intensive Care Med*, *46*(5), 919-929. <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05900-x>
- Clifton, G. L., Allen, S., Barrodale, P., Plenger, P., Berry, J., Koch, S., Fletcher, J., Hayes, R. L., & Choi, S. C. (1993). A phase II study of moderate hypothermia in severe brain injury. *J Neurotrauma*, *10*(3), 263-271. <https://doi.org/10.1089/neu.1993.10.263>
- Clifton, G. L., Miller, E. R., Choi, S. C., Levin, H. S., McCauley, S., Smith, K. R., Muizelaar, J. P., Wagner, F. C., Marion, D. W., Luerssen, T. G., Chesnut, R. M., & Schwartz, M. (2001). Lack of effect of induction of hypothermia after acute brain injury. *N Engl J Med*, *344*(8), 556-563. <https://doi.org/10.1056/nejm200102223440803>
- Clifton, G. L., Valadka, A., Zygun, D., Coffey, C. S., Drever, P., Fourwinds, S., Janis, L. S., Wilde, E., Taylor, P., Harshman, K., Conley, A., Puccio, A., Levin, H. S., McCauley, S. R., Bucholz, R. D., Smith, K. R., Schmidt, J. H., Scott, J. N., Yonas, H., & Okonkwo, D. O. (2011). Very early hypothermia induction in patients with severe brain injury (the National Acute Brain Injury Study: Hypothermia II): a randomised

- trial. *Lancet Neurology*, 10(2), 131-139. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(10\)70300-8](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(10)70300-8)
- Cooper, D. J., Nichol, A. D., Bailey, M., Bernard, S., Cameron, P. A., Pili-Floury, S., Forbes, A., Gantner, D., Higgins, A. M., Huet, O., Kasza, J., Murray, L., Newby, L., Presneill, J. J., Rashford, S., Rosenfeld, J. V., Stephenson, M., Vallance, S., Varma, D., . . . McArthur, C. (2018). Effect of Early Sustained Prophylactic Hypothermia on Neurologic Outcomes Among Patients With Severe Traumatic Brain Injury: The POLAR Randomized Clinical Trial. *Jama*, 320(21), 2211-2220. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.17075>
- Crompton, E. M., Lubomirova, I., Cotlarciuc, I., Han, T. S., Sharma, S. D., & Sharma, P. (2017). Meta-Analysis of Therapeutic Hypothermia for Traumatic Brain Injury in Adult and Pediatric Patients. *Crit Care Med*, 45(4), 575-583. <https://doi.org/10.1097/ccm.0000000000002205>
- Crossley, S., Reid, J., McLatchie, R., Hayton, J., Clark, C., MacDougall, M., & Andrews, P. J. D. (2014). A systematic review of therapeutic hypothermia for adult patients following traumatic brain injury. *Critical Care*, 18(2), Article R75. <https://doi.org/10.1186/cc13835>
- de Oliveira, C., Garami, A., Lehto, S. G., Pakai, E., Tekus, V., Pohoczky, K., Youngblood, B. D., Wang, W., Kort, M. E., Kym, P. R., Pinter, E., Gavva, N. R., & Romanovsky, A. A. (2014). Transient receptor potential channel ankyrin-1 is not a cold sensor for autonomic thermoregulation in rodents. *J Neurosci*, 34(13), 4445-4452. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5387-13.2014>
- Femino, A. M., Fay, F. S., Fogarty, K., & Singer, R. H. (1998). Visualization of single RNA transcripts in situ. *Science*, 280(5363), 585-590. <https://doi.org/10.1126/science.280.5363.585>
- Feng, J. F., Zhang, K. M., Jiang, J. Y., Gao, G. Y., Fu, X. A., & Liang, Y. M. (2010). Effect of Therapeutic Mild Hypothermia on the Genomics of the Hippocampus After Moderate Traumatic Brain Injury in Rats. *Neurosurgery*, 67(3), 730-742. <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000378023.81727.6e>
- Finfer, S. R., & Cohen, J. (2001). Severe traumatic brain injury. *Resuscitation*, 48(1), 77-90. [https://doi.org/10.1016/s0300-9572\(00\)00321-x](https://doi.org/10.1016/s0300-9572(00)00321-x)
- Garami, A., Shimansky, Y. P., Rumbus, Z., Vizin, R. C. L., Farkas, N., Hegyi, J., Szakacs, Z., Solymar, M., Csenkey, A., Chiche, D. A., Kapil, R., Kyle, D. J., Van Horn, W. D., Hegyi, P., & Romanovsky, A. A. (2020). Hyperthermia induced by transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) antagonists in human clinical trials: Insights from mathematical modeling and meta-analysis. *Pharmacol Ther*, 208, 107474. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107474>

- Garami, A., Steiner, A. A., & Romanovsky, A. A. (2018). Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handb Clin Neurol*, *157*, 565-597. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64074-1.00034-3>
- Harris, O. A., Colford, J. M., Good, M. C., & Matz, P. G. (2002). The role of hypothermia in the management of severe brain injury. A meta-analysis. *Archives of Neurology*, *59*(7), 1077-1083. <https://doi.org/10.1001/archneur.59.7.1077>
- Hashiguchi, N., Shiozaki, T., Ogura, H., Tanaka, H., Koh, T., Noborio, M., Fugita, K., Akimau, P., Kuwagata, Y., Shimazu, T., & Sugimoto, H. (2003). Mild hypothermia reduces expression of heat shock protein 60 in leukocytes from severely head-injured patients. *J Trauma*, *55*(6), 1054-1060. <https://doi.org/10.1097/01.ta.0000033252.43742.8b>
- Hawryluk, G. W. J., Aguilera, S., Buki, A., Bulger, E., Citerio, G., Cooper, D. J., Arrastia, R. D., Dinger, M., Figaji, A., Gao, G., Geocadin, R., Ghajar, J., Harris, O., Hoffer, A., Hutchinson, P., Joseph, M., Kitagawa, R., Manley, G., Mayer, S., . . . Chesnut, R. M. (2019). A management algorithm for patients with intracranial pressure monitoring: the Seattle International Severe Traumatic Brain Injury Consensus Conference (SIBICC). *Intensive Care Med*, *45*(12), 1783-1794. <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05805-9>
- Henderson, W. R., Dhingra, V. K., Chittock, D. R., Fenwick, J. C., & Ronco, J. J. (2003). Hypothermia in the management of traumatic brain injury. A systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*, *29*(10), 1637-1644. <https://doi.org/10.1007/s00134-003-1848-2>
- Honeybul, S. (2016). Reconsidering the role of hypothermia in management of severe traumatic brain injury. *Journal of Clinical Neuroscience*, *28*, 12-15. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2016.01.002>
- Hyder, A. A., Wunderlich, C. A., Puvanachandra, P., Gururaj, G., & Kobusingye, O. C. (2007). The impact of traumatic brain injuries: a global perspective. *NeuroRehabilitation*, *22*(5), 341-353.
- Jiang, J. Y., Xu, W., Li, W. P., Gao, G. Y., Bao, Y. H., Liang, Y. M., & Luo, Q. Z. (2006). Effect of long-term mild hypothermia or short-term mild hypothermia on outcome of patients with severe traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, *26*(6), 771-776. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600253>
- Jiang, J. Y., Yu, M. K., & Zhu, C. (2000). Effect of long-term mild hypothermia therapy in patients with severe traumatic brain injury: 1-year follow-up review of 87 cases. *J Neurosurg*, *93*(4), 546-549. <https://doi.org/10.3171/jns.2000.93.4.0546>
- Kwiatkoski, M., Soriano, R. N., Francescato, H. D., Batalhao, M. E., Coimbra, T. M., Carnio, E. C., & Branco, L. G. (2012). Hydrogen sulfide as a cryogenic mediator of hypoxia-

- induced anapyrexia. *Neuroscience*, 201, 146-156.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.030>
- Li, P. C., & Yang, C. H. (2014). Moderate hypothermia treatment in adult patients with severe traumatic brain injury: A meta-analysis. *Brain Injury*, 28(8), 1036-1041.
<https://doi.org/10.3109/02699052.2014.910609>
- Liu, Y. H., Shang, Z. D., Chen, C., Lu, N., Liu, Q. F., Liu, M., & Yan, J. (2015). 'Cool and quiet' therapy for malignant hyperthermia following severe traumatic brain injury: a preliminary clinical approach. *Exp Ther Med*, 9(2), 464-468.
<https://doi.org/10.3892/etm.2014.2130>
- Maas, A. I. R., Stocchetti, N., & Bullock, R. (2008). Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurology*, 7(8), 728-741. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(08\)70164-9](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(08)70164-9)
- Mancardi, D., Penna, C., Merlino, A., Del Soldato, P., Wink, D. A., & Pagliaro, P. (2009). Physiological and pharmacological features of the novel gasotransmitter: hydrogen sulfide. *Biochim Biophys Acta*, 1787(7), 864-872.
<https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2009.03.005>
- Marion, D., & Bullock, M. R. (2009). Current and Future Role of Therapeutic Hypothermia. *J Neurotrauma*, 26(3), 455-467. <https://doi.org/10.1089/neu.2008.0582>
- Marion, D. W., Penrod, L. E., Kelsey, S. F., Obrist, W. D., Kochanek, P. M., Palmer, A. M., Wisniewski, S. R., & DeKosky, S. T. (1997). Treatment of traumatic brain injury with moderate hypothermia. *N Engl J Med*, 336(8), 540-546.
<https://doi.org/10.1056/nejm199702203360803>
- McIntyre, L. A., Fergusson, D. A., Hebert, P. C., Moher, D., & Hutchison, J. S. (2003). Prolonged therapeutic hypothermia after traumatic brain injury in adults - A systematic review. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 289(22), 2992-2999. <https://doi.org/10.1001/jama.289.22.2992>
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., Shekelle, P., & Stewart, L. A. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev*, 4(1), 1.
<https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1>
- Moore, L., Tardif, P. A., Lauzier, F., Bérubé, M., Archambault, P., Lamontagne, F., Chassé, M., Stelfox, H. T., Gabbe, B., Lecky, F., Kortbeek, J., Lessard Bonaventure, P., Truchon, C., & Turgeon, A. F. (2020). Low-Value Clinical Practices in Adult Traumatic Brain Injury: An Umbrella Review. *J Neurotrauma*, 37(24), 2605-2615.
<https://doi.org/10.1089/neu.2020.7044>
- Olah, E., Poto, L., Hegyi, P., Szabo, I., Hartmann, P., Solymar, M., Petervari, E., Balasko, M., Habon, T., Rumbus, Z., Tenk, J., Rostas, I., Weinberg, J., Romanovsky, A. A., & Garami, A. (2018). Therapeutic Whole-Body Hypothermia Reduces Death in Severe

- Traumatic Brain Injury if the Cooling Index Is Sufficiently High: Meta-Analyses of the Effect of Single Cooling Parameters and Their Integrated Measure. *J Neurotrauma*, 35(20), 2407-2417. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.5649>
- Olah, E., Poto, L., Rumbus, Z., Pakai, E., Romanovsky, A. A., Hegyi, P., & Garami, A. (2021). POLAR Study Revisited: Therapeutic Hypothermia in Severe Brain Trauma Should Not Be Abandoned. *J Neurotrauma*, 38(19), 2772-2776. <https://doi.org/10.1089/neu.2020.7509>
- Olah, E., Rumbus, Z., Kormos, V., Tekus, V., Pakai, E., Wilson, H. V., Fekete, K., Solymar, M., Kelava, L., Keringer, P., Gaszner, B., Whiteman, M., Keeble, J., Pinter, E., & Garami, A. (2021). The Hypothermic Effect of Hydrogen Sulfide Is Mediated by the Transient Receptor Potential Ankyrin-1 Channel in Mice. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/ph14100992>
- Paxinos G, F. K. (2001). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates* (Second Edition ed.). Academic Press.
- Peterson, K., Carson, S., & Carney, N. (2008). Hypothermia treatment for traumatic brain injury: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Neurotrauma*, 25(1), 62-71. <https://doi.org/10.1089/neu.2007.0424>
- Polderman, K. H. (2009). Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Crit Care Med*, 37(7 Suppl), S186-202. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181aa5241>
- Polderman, K. H. (2015). How to Stay Cool in the Intensive Care Unit? Endovascular Versus Surface Cooling. *Circulation*, 132(3), 152-157. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.115.017350>
- Polderman, K. H., & Herold, I. (2009). Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the intensive care unit: practical considerations, side effects, and cooling methods. *Crit Care Med*, 37(3), 1101-1120. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181962ad5>
- Polderman, K. H., Joe, R. T. T., Peerdeman, S. M., Vandertop, W. P., & Girbes, A. R. J. (2002). Effects of therapeutic hypothermia on intracranial pressure and outcome in patients with severe head injury. *Intensive Care Med*, 28(11), 1563-1573. <https://doi.org/10.1007/s00134-002-1511-3>
- Povlishock, J. T., & Wei, E. P. (2009). Posthypothermic rewarming considerations following traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 26(3), 333-340. <https://doi.org/10.1089/neu.2008.0604>
- Pozsgai, G., Batai, I. Z., & Pinter, E. (2019). Effects of sulfide and polysulfides transmitted by direct or signal transduction-mediated activation of TRPA1 channels. *Br J Pharmacol*, 176(4), 628-645. <https://doi.org/10.1111/bph.14514>

- Pozsgai, G., Payrits, M., Sághy, É., Sebestyén-Bátai, R., Steen, E., Szöke, É., Sándor, Z., Solymár, M., Garami, A., Orvos, P., Tálosi, L., Helyes, Z., & Pintér, E. (2017). Analgesic effect of dimethyl trisulfide in mice is mediated by TRPA1 and sst(4) receptors. *Nitric Oxide*, 65, 10-21. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.01.012>
- Romanovsky, A. A., Almeida, M. C., Garami, A., Steiner, A. A., Norman, M. H., Morrison, S. F., Nakamura, K., Burmeister, J. J., & Nucci, T. B. (2009). The transient receptor potential vanilloid-1 channel in thermoregulation: a thermosensor it is not. *Pharmacol Rev*, 61(3), 228-261. <https://doi.org/10.1124/pr.109.001263>
- Sahuquillo, J., & Vilalta, A. (2007). Cooling the injured brain: how does moderate hypothermia influence the pathophysiology of traumatic brain injury. *Curr Pharm Des*, 13(22), 2310-2322. <https://doi.org/10.2174/138161207781368756>
- Schwab, S., Schwarz, S., Spranger, M., Keller, E., Bertram, M., & Hacke, W. (1998). Moderate hypothermia in the treatment of patients with severe middle cerebral artery infarction. *Stroke*, 29(12), 2461-2466.
- Shaefi, S., Mittel, A. M., Hyam, J. A., Boone, M. D., Chen, C. C., & Kasper, E. M. (2016). Hypothermia for severe traumatic brain injury in adults: Recent lessons from randomized controlled trials. *Surg Neurol Int*, 7, 103. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.194816>
- Sheriff, F. G., & Hinson, H. E. (2015). Pathophysiology and clinical management of moderate and severe traumatic brain injury in the ICU. *Semin Neurol*, 35(1), 42-49. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1544238>
- Shiozaki, T., Hayakata, T., Taneda, M., Nakajima, Y., Hashiguchi, N., Fujimi, S., Nakamori, Y., Tanaka, H., Shimazu, T., Sugimoto, H., & Mild Hypothermia Study Grp, J. (2001). A multicenter prospective randomized controlled trial of the efficacy of mild hypothermia for severely head injured patients with low intracranial pressure. *J Neurosurg*, 94(1), 50-54. <https://doi.org/10.3171/jns.2001.94.1.0050>
- Shiozaki, T., Sugimoto, H., Taneda, M., Yoshida, H., Iwai, A., Yoshioka, T., & Sugimoto, T. (1993). Effect of mild hypothermia on uncontrollable intracranial hypertension after severe head-injury. *J Neurosurg*, 79(3), 363-368. <https://doi.org/10.3171/jns.1993.79.3.0363>
- Smrcka, M., Vidlák, M., Máca, K., Smrcka, V., & Gál, R. (2005). The influence of mild hypothermia on ICP, CPP and outcome in patients with primary and secondary brain injury. *Acta Neurochir Suppl*, 95, 273-275. <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L43370892>
- Steiner, T., Friede, T., Aschoff, A., Schellinger, P. D., Schwab, S., & Hacke, W. (2001). Effect and feasibility of controlled rewarming after moderate hypothermia in stroke

- patients with malignant infarction of the middle cerebral artery. *Stroke*, 32(12), 2833-2835.
- Stocchetti, N., Carbonara, M., Citerio, G., Ercole, A., Skrifvars, M. B., Smielewski, P., Zoerle, T., & Menon, D. K. (2017). Severe traumatic brain injury: targeted management in the intensive care unit. *Lancet Neurology*, 16(6), 452-464. <Go to ISI>://WOS:000400815800012
- Tang, C. H., Bao, Y., Qi, M., Zhou, L. Z., Liu, F., Mao, J., Lei, Q. M., Qi, S. T., & Qiu, B. H. (2017). Mild induced hypothermia for patients with severe traumatic brain injury after decompressive craniectomy. *J Crit Care*, 39, 267-270. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2016.12.012>
- Taylor, C. A., Greenspan, A. I., Xu, L. K., & Kresnow, M. J. (2015). Comparability of National Estimates for Traumatic Brain Injury-Related Medical Encounters. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*, 30(3), 150-159. <https://doi.org/10.1097/htr.0000000000000105>
- Whiteman, M., & Winyard, P. G. (2011). Hydrogen sulfide and inflammation: the good, the bad, the ugly and the promising. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 4(1), 13-32. <https://doi.org/10.1586/ecp.10.134>
- Yokobori, S., & Yokota, H. (2016). Targeted temperature management in traumatic brain injury. *Journal of Intensive Care*, 4, Article 28. <https://doi.org/10.1186/s40560-016-0137-4>
- Zhao, Q. J., Zhang, X. G., & Wang, L. X. (2011). Mild hypothermia therapy reduces blood glucose and lactate and improves neurologic outcomes in patients with severe traumatic brain injury. *J Crit Care*, 26(3), 311-315. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2010.08.014>
- Zhao, W. Y., Chen, S. B., Wang, J. J., Xu, C., Zhao, M. L., Dong, H. J., Liang, H. Q., Li, X. H., Tu, Y., Zhang, S., Chen, C., & Sun, H. T. (2017). Establishment of an ideal time window model in hypothermic-targeted temperature management after traumatic brain injury in rats. *Brain Research*, 1669, 141-149. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.06.006>
- Zhi, D. S., Zhang, S., & Lin, X. (2003). Study on therapeutic mechanism and clinical effect of mild hypothermia in patients with severe head injury. *Surg Neurol*, 59(5), 381-385. [https://doi.org/10.1016/s0090-3019\(03\)00148-4](https://doi.org/10.1016/s0090-3019(03)00148-4)
- Zhu, Y., Yin, H., Zhang, R., Ye, X., & Wei, J. (2016). Therapeutic hypothermia versus normothermia in adult patients with traumatic brain injury: a meta-analysis. *Springerplus*, 5(1), 801. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2391-2>

Az értekezés témájához kapcsolódó publikációk

- Az értekezés alapjául szolgáló publikációk száma: 3
- Az értekezés témájához nem kapcsolódó publikációk száma: 17
- Könyvfejezetek száma: 3
- Összesített impakt faktor: 37,435
- A doktori értekezés témájához kapcsolódó publikációk összesített impakt faktora: 14,886
- Hivatkozások: 75
- Független hivatkozások: 57

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Olah, E; Poto, L; Hegyi, P; Szabo, I; Hartmann, P; Solymar, M; Petervari, E; Balasko, M; Habon, T; Rumbus, Z; Tenk, J; Rostas, I; Weinberg, J; Romanovsky, A A; Garami A: Therapeutic whole-body hypothermia reduces death in severe traumatic brain injury if the cooling index is sufficiently high: Meta-analyses of the effect of single cooling parameters and their integrated measure. J Neurotrauma. 2018;35(20):2407-2417. **(IF: 3,754)**

Olah, E; Rumbus, Z; Kormos, V; Tekus, V; Pakai, E; Wilson, HV; Fekete, K; Solymar, M; Kelava, L; Keringer, P; Gaszner, B; Whiteman, M; Keeble, J; Pinter, E; Garami, A: The hypothermic effect of hydrogen sulfide is mediated by the transient receptor potential ankyrin-1 channel in mice. Pharmaceuticals. 2021;14(10): 992. **(IF 5,863)**

Olah, E; Poto, L; Rumbus, Z; Pakai, E; Romanovsky, A A; Hegyi, P; Garami, A: POLAR study revisited: Therapeutic hypothermia in severe brain trauma should not be abandoned. J Neurotrauma. 2021;38(19): 2772-2776. **(IF: 5,269)**

Egyéb, az értekezés alapjául nem szolgáló közlemények

Horváth, AI; Szentés, N; Tékus, V; Payrits, M; Szőke, É; **Oláh, E;** Garami, A; Fliszár-Nyúl, E; Poór, M; Sár, C; Kálai, T; Pál, Sz; Percze, K; Nagyné Scholz, É; Mészáros, T; Tóth, B; Mátyus, P; Helyes, Zs: Proof-of-Concept for the Analgesic Effect and Thermoregulatory Safety of Orally Administered Multi-Target Compound SZV 1287 in Mice: A Novel Drug Candidate for Neuropathic Pain. Biomedicines 2021;9(7): 749, 18 p. **(IF 6,081)**

Keringer, P; Furedi, N; Gaszner, B; Miko, A; Pakai, E; Fekete, K; **Oláh, E;** Kelava, L; Romanovsky, AA; Rumbus, Z; Garami, A: The hyperthermic effect of central cholecystokinin is mediated by the

cyclooxygenase-2 pathway. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2021; Epub ahead of print. (IF 4,310)

Rumbus, Z; **Olah, E**; Lamberti, A; Lorincz, A; Fekete, K; Kelava, L; Pakai, E; Garami, A: TR(i)Ps in the realm of thermophysiology In: Rakonczay, Zoltán; Kiss, Lóránd (szerk.) Proceedings of the EFOP-3.6.2-16-2017-00006 (LIVE LONGER) project Szeged, Magyarország: University of Szeged 2020; 99: 51-51.

Ottóffy, M; Mátrai, P; Farkas, N; Hegyi, P; Czopf, L; Márta, K; Garami, A; Balaskó, M; **Pótóné-Olah, E**; Mikó, A; Rostás, I; Wobbe, B; Habon, T: Uninterrupted or Minimally Interrupted Direct Oral Anticoagulant Therapy is a Safe Alternative to Vitamin K Antagonists in Patients Undergoing Catheter Ablation for Atrial Fibrillation: An Updated Meta-Analysis. J. Clinical Medicine 2020;9(10): 3073. (IF 4,241)

Pakai, E; Tekus, V; Zsiboras, Cs; Rumbus, Z; **Olah, E**; Keringer, P; Khidhir, N; Matics, R; Deres, L; Ordog, K; Szentés, N; Pohoczky, K; Kemeny, A; Hegyi, P; Pinter, E; Garami, A: The neurokinin-1 receptor contributes to the early phase of lipopolysaccharide-induced fever via stimulation of peripheral cyclooxygenase-2 protein expression in mice. Frontiers in Immunology. 2018;9:166. (IF 4,716)

Rumbus, Z; Toth, E, Poto, L; Vincze, A; Veres, G; Czako, L; **Olah, E**; Marta, K; Miko, A; Rakonczay, Z Jr; Balla, Z; Kaszaki, J; Foldesi, I; Maleth, J; Hegyi, P; Garami, A: Bidirectional Relationship Between Reduced Blood pH and Acute Pancreatitis: A Translational Study of Their Noxious Combination. Frontiers in physiology 2018;9: 1360. (IF 3,201)