

# **PhD Tézis**

## **Új biomarkerek a modern stroke ellátásban**



**Dr. Spántler Dóra**

**Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola**

**Témavezetők:**

**Prof. Dr. Molnár Tihamér**

**Dr. Csécsi Péter**

**Programvezető: Dr. Jancsó Gábor**

**Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Bogár Lajos**

**Pécsi Tudományegyetem**

**Pécs, 2023**

## I. Bevezetés

A WHO definíciója szerint a stroke az agyműködés fokális (vagy globális) zavarával jellemezhető, gyorsan kialakuló klinikai tünetegyüttes, amely több mint 24 órán keresztül fennáll vagy halált okoz, és amelynek nincs más nyilvánvaló oka, mint az érrendszerben kialakult elváltozás. Az összes stroke 85%-a ischaemiás (IS), 10%-a intracerebrális vérzés és 5%-a subarachnoideális vérzés (SAV). Évente nagyjából 15 millió embert érint, közülük 5 millióan elhaláloznak, további 5 millióan pedig tartósan mozgáskorlátozottá válnak. A stroke kétségkívül súlyos gazdasági és társadalmi következményekkel jár. Közegészségügyi terhei a következő évtizedekben valószínűleg tovább növekednek, ezért nagy szükség lenne a szövődményeket előrejelző és a döntéshozatalat támogató megbízható markerekre.

A National Institute of Health 2001-ben megfogalmazott definíciója szerint a biomarker „egy olyan tulajdonság, melyet objektíven lehet mérni, és amely indikátora lehet normális biológiai folyamatoknak, patológiás folyamatoknak vagy egy terápiára adott farmakológiai válasznak”. A biomarkerek fontos szerepet játszanak a betegek szűrésében, a diagnózis felállításában, a gyógyszerkutatásban és –fejlesztésben, illetve alkalmasak a betegség lefolyása és a lehetséges kimenetel előrejelzésére. Az elmúlt évtizedben számos vérből kimutatható biomarker pathofiziológiai szerepét tárták fel IS és SAV kialakulásában, illetve diagnosztikus és prognosztikus markereket is azonosítottak.

Periostin egy 93 kDa szekretált N-glikoprotein, amely az extracelluláris mátrixban sejt-mátrix kölcsönhatásokat és sejtfunkciókat közvetít. Számos patológiás kórképben pl.: szív- és érrendszeri betegségekben, gastrointestinális kórképekben, tumorokban és légúti gyulladással járó folyamatokban azonosították. Humán szövetekben fiziológiai körülmények között alacsony szinten expresszálódik, de különböző pathofiziológiai jelek hatására gyorsan felszabályozódhat. Az exogén periostin neuroprotektív és neurogén hatását mind in vitro, mind in vivo IS modelleken is kimutatták. Más kutatások szerint, az IS-t követő megnövekedett szérumban a periostin szint magasabb NIHSS score-ral és kiterjedtebb stroke volume-mal hozható összefüggésbe nagy artériák ateroszklerotikus elzáródása esetén. Számos tanulmány bizonyította, hogy az ASPECT score egyszerű és hatékony eszköz a kollaterális hálózat becslésére, mivel segít a core:penumbra arány, ezáltal a kollaterális hálózat kiterjedésének meghatározásában. Egy nagy stroke regiszter adatbázisának elemzése alapján tudjuk, hogy a jobb kollaterálisok alacsonyabb mag térfogattal („core volume”) és magasabb

ASPECT score-al, de nem nagyobb penumbra térfogattal társul. Ez arra utal, hogy a kollaterálisok jelentős szerepet játszanak a korai szövetvesztésben.

Aneurizma ruptura talaján létrejövő subarachnoideális vérzést (aSAV) követően olyan szövődmények léphetnek fel, mint újravérzés, hidrocephalus, agyi vazospazmus, megnövekedett intracraniális nyomás, görcsrohamok és a késői agyi ischaemia (delayed cerebral ischemia, DCI). Definíció szerint a DCI tünetekkel járó vazospazmus és/vagy vazospazmusnak tulajdonítható infarktus. Az aSAV betegek prognózisát nagymértékben befolyásolja a DCI kialakulása. Klinikai diagnózisának felállítása és kezelése különösen nehéz. Megoldást jelenthetnének olyan laboratóriumi biomarkerek, melyek lehetővé tennék a DCI időben történő, specifikus és érzékeny diagnosztizálását. Más betegségekkel ellentétben, ahol a szérumbiomarkereket rutinszerűen használják, a klinikai gyakorlatban még mindig nincsenek hatékony szérumbiomarkerek a DCI előrejelzésére vagy a terápiás hatékonyság nyomon követésére. Egy átfogó biomarker profil elemzése azonban sokat segíthet abban, hogy szélesebb képet kapjunk a lehetséges pathofiziológiai folyamatokról.

## **II. Célkitűzések**

A dolgozat általános célja, az akut IS-sel és aSAV-val potenciálisan összefüggésbe hozható biomarkerek klinikai hasznosságának felderítése volt.

### ***2.1. Ischaemiás stroke***

A felvételtkor szérumbiomarkert mérését tűztük ki célul akut IS miatt kezelt betegeknél. Kíváncsiak voltunk, hogy van-e terápiás döntést befolyásoló illetve a kimenetelt prediktáló értéke a nagyon korai IS-ben azáltal, hogy segít a core volume becslésében.

- (i) A szérumbiomarkert szint hogyan korrelál a 90-napos kimenetellel?
- (ii) Hogyan korrelál az ASPECT score és az NIHSS score a szérumbiomarkert koncentrációjával?
- (iii) Hogyan viszonyul a szérumbiomarkert szintje a felvételtkor készült CT vizsgálaton számított ASPECT score < 6-hoz?

## **2.2. Subarachnoideális vérzés**

Szerettünk volna szélesebb képet kapni a lehetséges pathofiziológiai folyamatokról, és megvizsgálni néhány biomarker és a DCI, valamint a funkcionális kimenetel kapcsolatát, illetve ezek egymáshoz való viszonyát.

- (i) Az MCP-3 és a CX3CL1 szintje összefügg a DCI kialakulásával?
- (ii) Az IP-10, MCP-3 és MIP-1b szintek korrelálnak a 30. napi kedvezőtlen kimenetellel?
- (iii) Szignifikánsan magasabb az Il-4 szérumszintje a TCD-pozitív betegeknél, mint a TCD-negatív betegeknél?

## **III. Vizsgálati alanyok és módszer**

### **3.1. Ischaemiás stroke**

A prospektív vizsgálatot a pécsi harmadlagos stroke ellátó központban végeztük 2019 júliusa és 2021 áprilisa közötti időszakban 122 beteg bevonásával. A diagnózis felállítása a WHO kritériumai szerint történt. Felvételkor az alábbi kritériumokat alkalmaztuk: (i) első ischaemiás stroke, (ii) ictust követő 6 órán belül megtörtént a felvétel. Kizárásra kerültek azok a betegek, akik (i) 18 évnél fiatalabbak voltak, (ii) volt korábban ischaemiás vagy vérzéses stroke-juk, (iii) premorbid mRS score > 1, (iv) malignus, autoimmun betegségben szenvedtek, (v) immunszuppresszív kezelés alatt álltak, (vi) akut vagy krónikus fertőzésük volt, (vii) súlyos máj- vagy veseelégtelenségben szenvedtek vagy (viii) terhesek voltak. A stroke súlyosságát a GCS és NIHSS score segítségével, míg a korai ischaemiás elváltozásokat a felvételkor számított ASPECT score-ral értékeltük. A kedvezőtlen kimenetelt IS után 90 nappal mRS-pontszám > 2-ben állapítottuk meg. Kontrollként tizenöt, korban és nemből illeszkedő egészséges önkéntes szolgált. A vénás vérmintákat a stroke osztályra való felvételkor vettük, közvetlenül a nem kontrasztos CT vizsgálat, de legkésőbb 6 órával a tünetek megjelenése után. 15 percig 3500 r/min fordulatszámra centrifugáltuk, majd a minták felülúszóját az elemzésig -80 °C-on tároltuk. A biomarker koncentrációkat ELISA-alapú kitek segítségével mértük. A betegek standard stroke ellátásban részesültek: (i) 4,5 órán belül, kontraindikáció hiányában IvrPA-t kaptak; ha nagy érelzáródás lehetősége merült fel (NIHSS > 8), CT angiográfiát végeztünk; amennyiben bebizonyosodott a nagy érelzáródás (MCA-M1, ICA

vagy artéria basilaris), trombektómiát is végeztünk szisztémás trombolízissel (ii-EVT + IVrtPA) vagy anélkül (iii-EVT önmagában). Azokat a betegeket, akiknek ASPECT score-ja a felvételkor < 6 volt, rossz kollaterális hálózattal rendelkezőnek tekintettük.

### **3.2. Subarachnoideális vérzés**

A prospektív megfigyeléses vizsgálatot a pécsi harmadlagos stroke ellátó központban végeztük 2018 novembere és 2021 decembere között. Vizsgálatunkban való részvételt minden  $\geq 18$  éves, újonnan diagnosztizált aSAV-val rendelkező betegnek felajánlottuk. Kizáró kritériumok közé tartoztak: (i) traumás SAV, (ii) terhesség, (iii) ha a kórházi felvétel az ictust követő 24 órán belül nem történt meg, (iv) aneurizma ellátásának hiánya, (v) aláírt beleegyező nyilatkozat hiánya, (vi) alapbetegségként fennálló SARS-CoV-2 fertőzés és (vii) szisztémás betegségek pl: krónikus neurológiai betegség, daganatok, máj- és/vagy veseelégtelenség, krónikus tüdőbetegség. A vizsgálatba bevont betegnél a kórházi felvétel előtt CT- vagy MR-angiográfiát, a felvétel után pedig hagyományos agyi angiográfiát végeztünk, majd a klinikai guideline-nak megfelelő ellátásban részesültek. Az aSAV súlyosságát WFNS és mFisher-skála segítségével értékeltük. A vérminták levételére 24 órával az ictus után (1. nap) illetve 5-7 nappal az ictus után került sor. A mintákat 13 percig 3000 r/min fordulatszámon centrifugáltuk, majd a felülúszót  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk mérésig. CCL11, FGF-2, FLT-3L, CX3CL1, IL-1b, IL-4, IP-10, MCP-3 és MIP-1b szérumkoncentrációjának meghatározását multiplex assay segítségével végeztük, a gyártó protokolljának megfelelően. A betegek minden esetben legalább 12-14 napot töltöttek a neurointenzív osztályon, hogy a várható szövődmények pl. DCI időben felismerésre kerüljenek. A DCI széles körben elterjedt, konszenzusos definícióját használtuk. A DCI-t TCD segítségével a kórházi ellátás minden napján a felvételtől kezdve néztük. TCD-pozitivitást (TCD+) úgy definiáltuk, hogy a csúcserték az előző eredményhez képest  $> 50\text{ cm/s}$ -al nőtt 24 óra alatt, vagy az egyik fő ellátó ágban  $>120\text{ cm/s}$ -os átlagértéket mértünk. Ha DCI gyanúja merült fel, MRI-t és katéteres angiográfiát végeztünk a makrovaszkuláris vazospasmus és a DCI megerősítésére. Amennyiben a vazospasmus beigazolódott, intraarteriális nimodipint adtunk. A kimenetelt mRS pontszámban adtuk meg, ahol a kedvező 0-2, a kevezőtlen 3-6.

## IV. Eredmények

### 4.1. Ischaemiás stroke

#### 4.1.1. Klinikai jellemzők

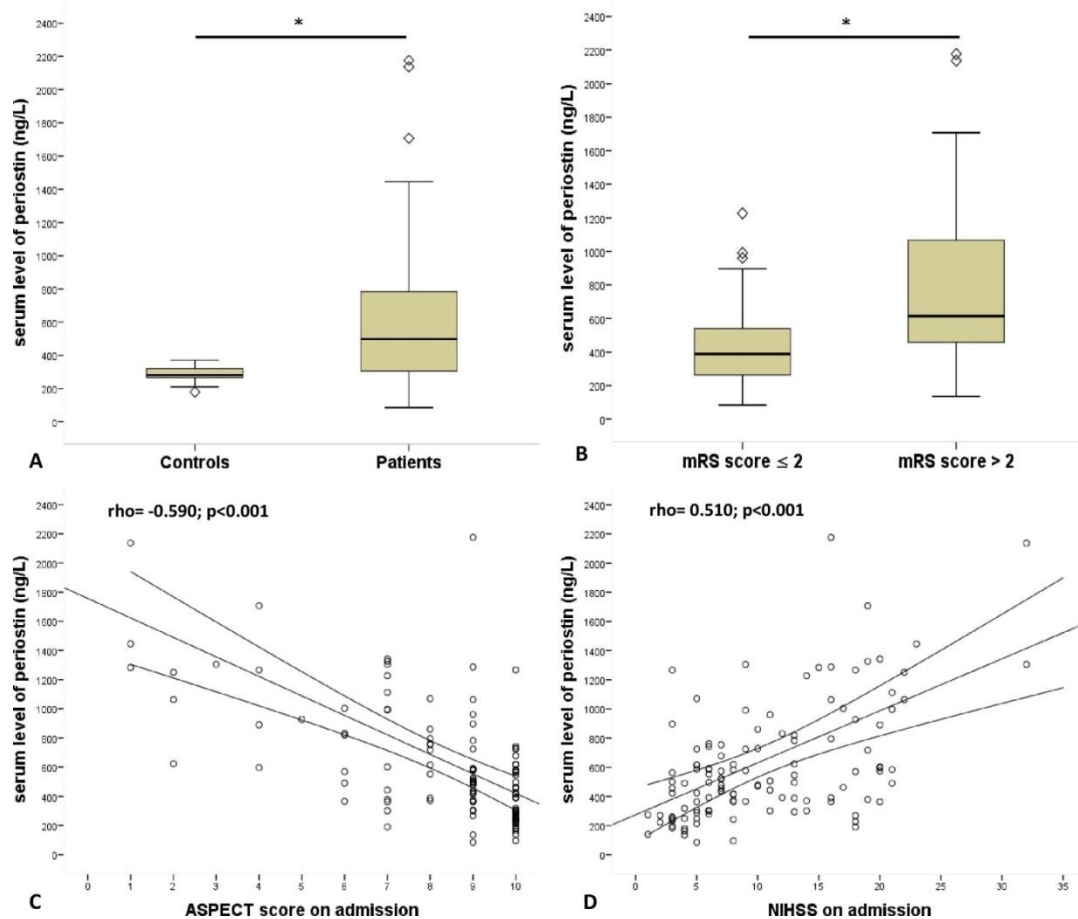
Tanulmányunkba 122 akut IS-ben szenvedő beteget vontunk be, akik életük első stroke-ján estek át. Az **1. táblázat** a betegcsoportok klinikai profilját mutatja be. Csoportosításuk a 3 hónapos legjobb mRS-pontszámuk, mint elsődleges kimeneteli mérőszám alapján történt. A betegek medián életkora 71 év volt (IQR: 63-79, min-max. values: 30-91), és 39.3%-uk volt nő. Tizenöt egészséges önkéntes szolgált korban illeszkedő normál kontrollként. A kontrollok medián életkora 66 év volt (IQR: 55-73, tartomány 46-82), és 46.7%-uk volt nő. A betegek és a kontrollok közötti életkori és nemi különbségek nem voltak szignifikánsak. A társbetegségek tekintetében 100 beteg (82%) magas vérnyomásban, 35 beteg (29%) cukorbetegségben, 34 beteg (27.9%) pedig pitvarfibrillációban szenvedett. A felvételi NIHSS score mediánja 8 volt (IQR: 5-16, min-max: 1-32), a felvételi szisztolés és diasztolés vérnyomás mediánja pedig 150 mmHg (IQR: 130-170, tartomány: 90-240) és 84 mmHg (IQR: 80-93.5, tartomány: 48-118) volt. Az ASPECT score mediánja 9 volt (IQR: 7-10, min-max: 1-10). Összesen 29 betegnél (24%) végeztek EVT-t, 51 betegnél (42%) IVrtPA-t, és 17 betegnél (14%) kombinált EVT + IVrtPA kezelést. Összesen 25 beteg (20.5%) nem volt alkalmas sem EVT-re, sem IVrtPA-ra, ezért ők konzervatív kezelésben részesültek. A periosztin szérumszintjének mediánja 498.4 ng/L (IQR, 305-783) volt az IS-ben szenvedő betegeknél, és 280.4 ng/L (IQR, 259-332) az egészséges kontrolloknál ( $p < 0.001$ , **1A ábra**).

**1. táblázat.** A vizsgált populáció demográfiai és klinikai jellemzői

	<b>Total (n=122)</b>	<b>Kedvező* kimenetel (n=59)</b>	<b>Kedvezőtlen* kimenetel (n=63)</b>	<b>p érték</b>
Kor (év), median (IQR)	71 (63-79)	71 (62-77)	73 (64-79)	0.127
Férfi, n (%)	74 (60.7%)	35 (59.3%)	39 (61.9%)	0.770
Magas vérnyomás, n (%)	100 (82%)	48 (81.4%)	52 (82.5%)	0.865
Diabetes, n (%)	35 (28.7%)	17 (28.8%)	18 (28.6%)	0.976
Dohányzás, n (%)	52 (38%)	19 (32.2%)	33 (52.4%)	0.024*
Pitvarfibrilláció, n (%)	34 (27.9%)	7 (11.9%)	27 (42.9%)	<0.001*
GCS, median (IQR)	15 (12-15)	15 (15)	14 (11-15)	<0.001*
NIHSS , median (IQR)	8 (5-16)	6 (4-8)	13 (8-19)	<0.001*
SBP, median (IQR), Hgmm	150 (130-170)	148 (130-170)	160 (138-180)	0.237
DBP, median (IQR), Hgmm	84 (80-94)	82 (80-90)	86 (80-100)	0.463
ASPECTS, median (IQR)	9 (7-10)	10 (9-10)	8 (6-9)	<0.001*
WBC, median (IQR), G/L	8.4 (6.9-10.7)	7.7 (9-10)	8.8 (7-11)	0.264
NLR, median (IQR)	2.9 (2-5.6)	2.5 (1.7)	3.6 (2.5-7.3)	0.002*
trombocita, median (IQR), G/L	242 (188-306)	245 (196-300)	238 (185-305)	0.625
kreatinin, median (IQR), μmol/L	86 (73-102)	83 (70-97)	87 (74-104)	0.411
glükóz, median (IQR), mmol/L	7.2 (6.2-8.9)	6.8 (5.9-8.1)	7.8 (6.8-9)	0.004*
CRP, median (IQR), mg/L	3.7 (1.4-9.5)	2.6 (1.4-5.4)	5.1 (1.7-16)	0.042*
Trombectómia, n (%)	29 (23.8)	14 (23.7)	15 (23.8)	0.856
Intravénás tPA, n (%)	51 (41.8)	28 (47.5)	23 (36.5)	0.190
Trombectómia plus intravénás tPA, n (%)	17 (13.9)	6 (10.2)	11 (17.5)	0.260
Konzervatív, n (%)	25 (20.5)	11 (18.6)	14 (22.2)	0.658
szérum periostin szint, median (IQR), ng/L	462 (297-735)	390 (260-563)	615 (443-1070)	<0.001*

*Rövidítések:* GCS, Glasgow Coma Skála; NIHSS, National Institutes of Health Stroke Scale; SBP, szisztolés vérnyomás; DBP, diasztolés vérnyomás; ASPECTS, Alberta stroke programme early CT score; WBC, fehérvérsejtek; NLR, neutrofil-limfocita ráta; CRP, C-reaktív protein; tPA, szöveti plazminogén aktivátor; \* a 90 napos follow-up alkalmával. *Megjegyzés:* A folyamatos változókat mediánban (interkvartilis tartományokban) fejeztük ki. A kategorikus értékek gyakoriságként (százalékban) vannak megadva.

**1. ábra.** A szérumban lévő periostin szint összehasonlítása (A) a stroke-os betegek és a kontrollok között, (B) a kedvező kimenetelű (mRS $\leq$ 2) és a kedvezőtlen kimenetelű (mRS $>$ 2) betegek között a 90. napon. A felvételi szérumban lévő periostin szint korrelációja (C) a felvételnél mért ASPECT score-ral és (D) a felvételnél rögzített NIHSS score-ral.



*Rövidítések:* ASPECT, Alberta stroke programme early CT score; mRS, módosított Rankin score; NIHSS, National Institutes of Health Stroke Scale. *Megjegyzés:* A szérumban lévő periostin szintet a stroke kezdetét követő 24 órában mértük. \*p-érték < 0.001. A statisztikai elemzést Mann-Whitney U-tesztel (A,B) és Spearman rangkorrelációval (C,D) végeztük.



#### 4.1.2. Felvételi periostin szint, comorbiditások és kimenetel

A felvételi mért szérumban a periostin koncentráció szignifikánsan magasabb volt azoknál a betegeknél, akiknél a 90 napos kimenetel kedvezőtlen volt, mint a kedvező kimenetelű társaiknál (**1B ábra** és **1. táblázat**). Továbbá a szérumban a periostin felvételi koncentrációja fordított korrelációt mutatott az ASPECT score-ral (**1C ábra**), míg pozitív korrelációt a felvételi NIHSS score-ral (**1D ábra**). A többváltozós elemzés során pozitív összefüggést találtunk a periostin felvételi szintje és a pitvarfibrilláció, a felvételi fehérvérsejtszám (WBC), a neutrofil-limfocita ráta (NLR), a kreatinin, a C-reaktív protein (CRP) és a glükózsztint között (**2. táblázat**). Ezzel szemben a szérumban a periostin szint negatívan viszonyul a felvételi GCS-hez és az ASPECT score-hoz.

**2. táblázat** Spearman korreláció a felvételi klinikai paraméterek és a felvételt követő 24 órában mért szérumban a periostin szint között.

	Spearman correlation coefficient (r)	p érték
Pitvarfibrilláció	0.335	<0.001
Szisztolés vérnyomás	0.068	0.459
Diasztolés vérnyomás	0.119	0.193
Glasgow Coma Skála	-0.308	<0.001
ASPECT score	-0.590	<0.001
Fehérvérsejt szám, G/L	0.239	0.01
Neutrophil-lymphocytaráta	0.328	<0.001
Kreatinin, µmol/L	0.277	0.003
C-reactive protein, mg/L	0.285	0.002
Glükóz, mmol/L	0.257	0.007
Trombocita, G/L	-0.059	0.534
Karbamid, mmol/L	0.245	0.01

*Rövidítések:* ASPECT, Alberta stroke programme early CT score. *Megjegyzés:* Az együttható (r) > 0 értékek pozitív összefüggést, az < 0 értékek negatív összefüggést jelez. A statisztikailag szignifikáns értékek félkövérrel vannak szedve.

#### 4.1.3. Változók és a rossz kollaterális kapcsolata

Egyváltozós elemzés során az ASPECT score < 6, amely a felvételtől kezdődően rossz kollaterális ellátottságot jelenti, pozitív korrelációt mutatott a felvételi GCS-sel. Ezzel ellentétben a cukorbetegség, a pitvarfibrilláció, a felvételi NIHSS, a periostin szint, az NLR, a CRP, valamint a kreatinin szint fordítottan korrelál az ASPECT score < 6-os értékkel. Az életkor és a nem esetében nem találtunk összefüggést az ASPECT < 6 értékkel. A GCS, a NIHSS, a pitvarfibrilláció, a CRP, a cukorbetegség, a kreatinin és az NLR, mint cofunderek modellbe illesztése után a szérumban mért periostin szint továbbra is szignifikáns prediktora maradt a felvételtől kezdődően rossz kollaterális státuszhoz (OR, 5.911; CI, 0.990-0.999;  $p = 0.015$ , **3. táblázat**). Ezután egy másik bináris logisztikus regressziós elemzést végeztünk a kimenetel független előrejelzőinek feltárására: Azt találtuk, hogy felvételtől kezdődően rossz kollaterális státuszhoz és a pitvarfibrilláció független a kedvező 90 napos kimeneteltől (mRS0-2). A ROC-elemzés alapján mind a NIHSS score (AUC, 0.817; 95% CI, 0.743-0.892, cutoff: 8.5, szenzitivitás: 75%, specificitás: 78%,  $p < 0.001$ ), mind a periostin felvételi szérumban mért koncentrációja (AUC, 0.757; 95%CI, 0.672-0.841, cutoff: 466.7 ng/L, érzékenység: 75%, specificitás: 65%,  $p < 0.001$ ) hasonló érzékenységet és specificitást mutatott a kedvezőtlen 3 hónapos kimenetel előrejelzésében. Ezzel szemben ennek a két változónak a kombinációja szignifikánsan nagyobb prediktív erővel rendelkezett (AUC, 0.842; 95% CI, 0.773-0.911,  $p < 0.001$ ) (**2. ábra**). A periostin szérumban mért koncentrációja  $\geq 594.5$ -es határértékkel 84.2%-os szenzitivitással és 72%-os specificitással önállóan jósolta meg a felvételtől kezdődően rossz kollaterális státuszt tükrözte.

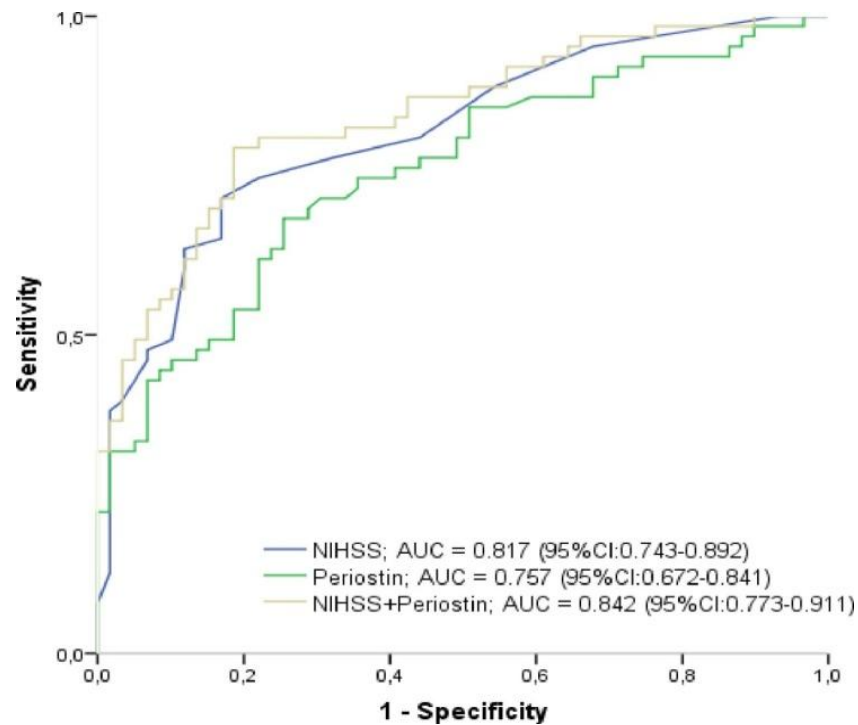
### 3. táblázat ASPECT score <6-os felvételi pontszámot előrejelző tényezők bináris logisztikus regressziós elemzése akut IS-ben

	Odds ratio	95% CI	$p$ érték
periostin	15.532	0.995-0.998	<0.001
Model 1	6.339	0.995-0.999	0.012
Model 2	5.917	0.993-0.999	0.015
Model 3	5.911	0.990-0.999	0.015

Rövidítések: CI, konfidenciaintervallum

Megjegyzés: Az 1. modell tartalmazta a Glasgow Coma Skálát és a National Institute of Health Stroke Scale skálát. A 2. modell az 1. modellben szereplő változókat, valamint a pitvarfibrillációt és a C-reaktív protein felvételi szintjét tartalmazta. A 3. modell a 2. modellben szereplő változókat, valamint a cukorbetegséget, a felvételi szérumban mért kreatinin szintet és a felvételi neutrofil-limfocita rátát tartalmazta.

**2. ábra** A felvételtkorNIHSS score és periostin szérumszint, valamint a kettő kombinációjának ROC analízissel felvett görbéje a 3. hónapi kedvezőtlen kimenetel előrejelzésére.



*Rövidítések:* AUC, görbe alatti terület; CI, konfidenciaintervallum; NIHSS, National Institute of Health Stroke Scale

## **4.2. Subarachnoideális vérzés**

### *4.2.1. Klinikai jellemzők*

Vizsgálatunk 112 aSAV-as beteg bevonásával történt (**4. táblázat**) 2018 novembere és 2021 decembere között. Az összes (100%) aneurizmát coilínggel láttuk el. A betegek átlagéletkora 57 év (SD13) volt, és 62%-uk nő volt. Közülük 38 beteg aSAV-val (34%) jelentkezett a sürgősségi osztályon WFNS Grade I-gyel. A betegek majdnem felénél (43,8%) artériás hipertónia, 11%-uknál pedig dohányzás szerepelt a kórtörténetükben. Közel egyharmadánál a kórházi tartózkodás alatt DCI (29.1%) alakult ki. Az aSAV-vas betegek adatait a **4. táblázat** tartalmazza.

#### 4. táblázat aSAV betegadatok

aSAV betegszám n=112		
Kor	(years, mean±SD)	57±13
Nő	(N,%)	69 (61.6%)
Magas vérnyomás	(N,%)	49 (43.8%)
Diabetes	(N,%)	11 (9.8%)
Dohányzás	(N,%)	12 (10.7%)
Aneurizma elhelyezkedése		
– artéria carotis interna	(N,%)	16 (14.3%)
– artéria cerebri média	(N,%)	22 (19.6%)
– artéria communicans anterior	(N,%)	31 (27.7%)
– artéria communicans posterior	(N,%)	13 (11.6%)
– artéria cerebri anterior	(N,%)	14 (12.5%)
– artéria vertebrobasilar	(N,%)	16 (14.3%)
WFNS		
– 1	(N,%)	38 (33.9%)
– 2	(N,%)	24 (21.4%)
– 3	(N,%)	8 (7.1%)
– 4	(N,%)	14 (12.5%)
– 5	(N,%)	28 (25%)
modified Fischer grade		
– 1	(N,%)	1 (0.9%)
– 2	(N,%)	18 (16.1%)
– 3	(N,%)	57 (50.9%)
– 4	(N,%)	36 (32.1%)
Glasgow Coma Skála, felvételtkor	median, IQR	13 (6-15)
Neutrophile-lymphocyte ráta, felvételtkor	median, IQR	5.9 (4-10)
C-reactive protein, felvételtkor, mg/L	median, IQR	13 (4-61)
Kreatinin, felvételtkor, µmol/L	median, IQR	61 (50-72)
Külső kamradrain	(N,%)	53 (47.3%)
Infekció, CSF	(N,%)	7 (6.3%)
Infekció, szisztémás	(N,%)	18 (16.1%)
Infekció, CSF+szisztémás	(N,%)	5 (4.5%)
Mechanikai lélegeztetés	(N,%)	50 (44.6%)
Decompressive craniotomia	(N,%)	14 (12.5%)
Lumbal drain	(N,%)	14 (12.5%)
Késői agyi ischaemia	(N,%)	32 (29.1%)
Angiográfiás vazospasmus	(N,%)	28 (28.3%)
Transcranial Doppler pozitivitás	(N,%)	41 (41.8%)
Ischaemiás lézió MR-en	(N,%)	16 (15.8%)
30 napos kedvező kimenetel (mRS=0-2)	(N,%)	58 (51.8%)
Kórházi halálozás	(N,%)	15 (13.4%)

*Rövidítések:* aSAV, aneurizmás subarachnoideális vérzés; WFNS, World Federation of Neurological Societies Score; CSF, agy- gerincvelői folyadék; MR, mágneses rezonancia. *Megjegyzés:* A kategorikus változókat gyakoriságként (%), a folytonos változókat pedig átlag ± standard eltérés (SD) vagy medián interkvartilis tartománnyal (IQR) tüntettük fel.

#### 4.2.2. DCI-vel és a funkcionális kimenetellel összefüggésbe hozható citokinek

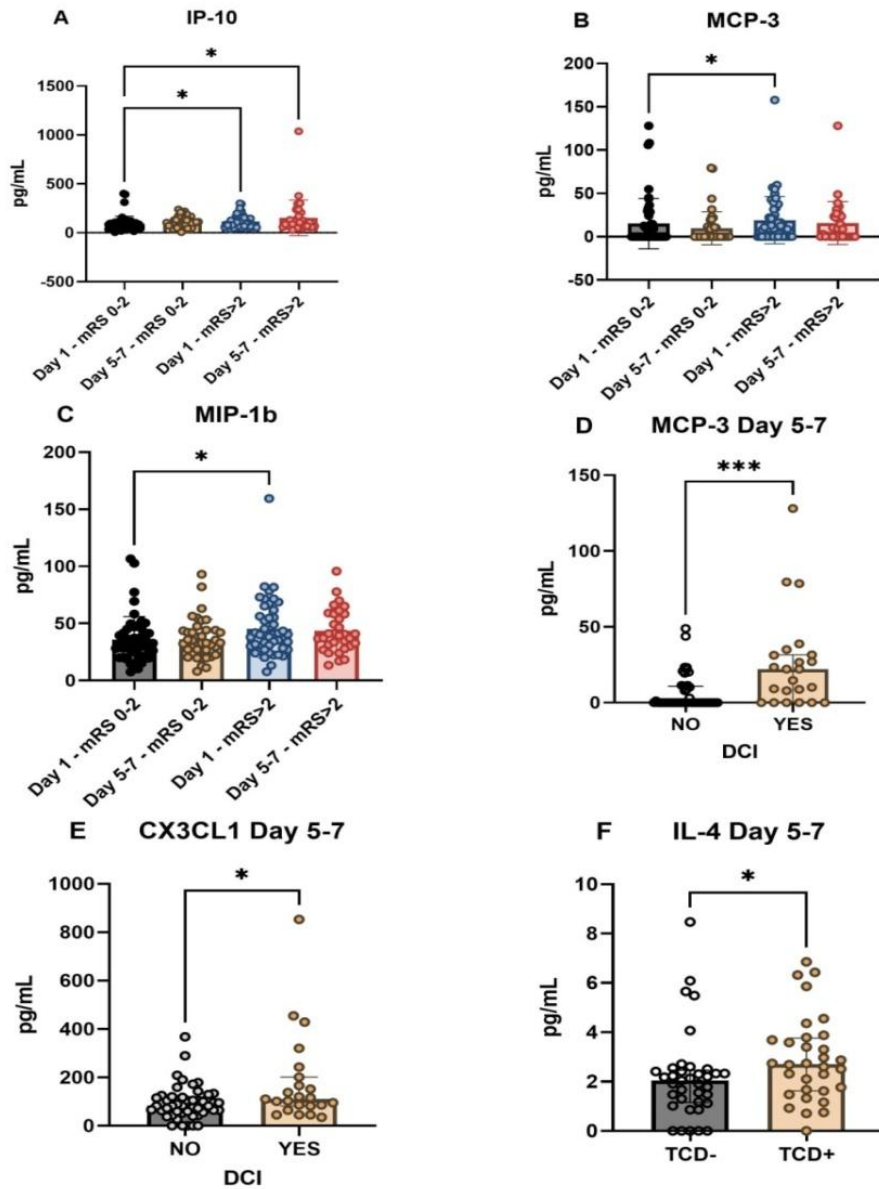
Az 1. napon vizsgált citokinek egyike sem mutatott összefüggést a DCI-vel, míg a funkcionális kimenetellel az IP-10, MCP-3 és MIP-1b is korreláltak (**5. táblázat**). Az 5-7. napon mért CX3CL1 és MCP-3 szintek szignifikánsan magasabbak voltak a DCI-s betegeknél, mint a DCI nélküli betegeknél (CX3CL1: 5-7. nap, DCI nélkül: 82.6 pg/ml, IQR: 58-119 vs. 5-7. nap, DCI-vel: 110.5 (82-201),  $p = 0.036$  és MCP-3: 5-7. nap, DCI nélkül: 0 (0-11) vs. 5-7. nap DCI-vel: 22 (0-32),  $p < 0.001$ , **3. ábra**). A szérumban IP-10 szint a rossz kimenetelű betegeknél mindkét időpontban szignifikánsan magasabb volt, mint a kedvező kimenetelűeknél (1. nap, kedvező kimenetel: 74.7 pg/ml, IQR: 43-97 vs. 1. nap, kedvezőtlen kimenetel: 100, 68-146,  $p = 0.005$  és 1. nap, kedvező kimenetel: 74.7 pg/ml, IQR: 43-97 vs. 5-7. nap, kedvezőtlen kimenetel: 98.8, 65-157,  $p = 0.004$ ). Az MCP-3 és MIP-1b esetében az 1. napon mért szérumban koncentráció szignifikánsan magasabb volt a kedvezőtlen kimenetelű betegeknél, mint a 30. napos kedvező kimenetelű csoportban (MCP-3: 1. nap, kedvező: 0 pg/ml, IQR: 0-15 vs. 1. nap, kedvezőtlen: 11.8, 0-25,  $p = 0.045$  és MIP-1b: 1. nap, kedvező: 31.8 pg/mL, 23-42 vs. 1. nap, kedvezőtlen: 40, 28-56,  $p = 0.025$ , **3. ábra**).

**5. táblázat** A kórházi kezelés alatt kialakuló DCI és a 30. napi funkcionális kimenetel kapcsolata a citokinekkel.

Cytokines	DCI kórházi bentfekvés alatt		mRS score 30. napon	
	DCI - (n=78 [71%]) vs. DCI + (n=32 [29%])		Kedvezőtlen kimenetel (mRS $\geq$ 3, n=54 [48.2%]) vs. Kedvező kimenetel (mRS $\leq$ 2, n=58 [51.8%])	
	Day 1	Day 5-7	Day 1	Day 5-7
Eotaxin	-	-	-	-
FGF-2	-	-	-	-
FLT-3L	-	-	-	-
CX3CL1	-	H*	-	-
IL-1b	-	-	-	-
IL-4	-	-	-	-
IP-10	-	-	H*	-
MCP-3	-	H**	H*	-
MIP-1b	-	-	H*	-
Total	0	2	3	0

*Rövidítések:* DCI, késői agyi ischaemia; mRS, módosított Rankin-skála; FGF-2, fibroblast növekedési faktor-2; FLT-3L, Fms-related tyrosine kinase 3 ligand; CX3CL1, kemokin ligand 1, más néven fraktalkin; IL-1b, interleukin-1b; IL-4, interleukin-4; IP-10, interferon gamma-indukált protein 10, más néven C-X-C motívumos kemokin ligand 10 (CXCL10); MCP-3, monocita kemotaktikus protein-3; MIP-1b, makrofág gyulladáscsökkentő protein 1-béta; H, magas szint; \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.001$ .

**3. ábra** Szérum biomarker szintek jellemzői különböző klinikai alcsoportokban aSAV-on áteső betegeknél. A funkcionális kimenetel és a vizsgált biomarkerek korrelációja az IP-10 (A), MCP-3 (B) és MIP-1b (C) esetében. A T2-ben mért MCP-3 (D) és CX3CL1 (E) korrelációja a DCI-vel. Az IL-4 (F) és a TCD-pozitivitás összefüggése.



*Rövidítések:* DCI, késői agyi ischaemia; aSAH, aneurizmás subarachnoideális vérzés; TCD, transzkraniális Doppler ultrahang; CX3CL1, kemokin ligand 1, ami fraktalkin néven is ismert; IL-4, interleukin-4; IP-10, interferon-gamma-indukált 10-es fehérje, más néven C-X-C motívumos kemokin ligand 10 (CXCL10); MCP-3, monocita kemotaktikus protein-3; MIP-1b, makrofág gyulladásozó fehérje 1-béta. *Megjegyzés:* A funkcionális kimenetelt a felvétel után 30 nappal vizsgáltuk, és módosított Rankin skála (mRS) alapján jellemeztük. Biomarker mintavételi ideje: 1. nap, 24 órával az aSAV után, illetve 5-7. nappal az aSAV után. \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

Annak tisztázása érdekében, hogy az MCP-3 és a CX3CL1 DCI-ben észlelt növekedése hogyan függ össze a DCI időpontjával, további elemzést végeztünk. Kohorszunkban a DCI kezdetének átlagos ideje  $6 \pm 3.2$  nap volt (átlag  $\pm$  SD). A DCI-s eseteket a mintavétel időpontja alapján csoportosítottuk: a T2 (vérvétel 5-7. napja) előtti esetek az A csoportba, míg a T2 utáni esetek a B csoportba kerültek (**6. táblázat**).

**6. táblázat** A T2-ben mért MCP-3 és CX3CL1 szintek és a DCI kimutatásának időpontja közötti összefüggés.

	Nincs DCI (N=78)	Csoport A: DCI T2 előtt (N=7)	Csoport B: DCI T2 után (N=25)	p-érték (A és- B között)
MCP-3 T2, pg/mL, median (IQR)	0 (0-11)	22 (8-27)	18 (0-32)	0.857
CX3CL1 T2, pg/mL, median (IQR)	83 (58-119)	116 (103-138)	106 (65-243)	0.691

*Rövidítések:* DCI, késői agyi ischaemia; MCP-3, monocita kemotaktikus protein-3; CX3CL1, kemokin ligand 1, más néven fraktalkin. *Megjegyzés:* T1, szérumminta az aSAV-ot követő 1. napon; T2, szérumminta az aSAV-ot követő 5-7. napon.

#### 4.2.3. DCI-vel és a 30 napos funkcionális kimenetellel összefüggő klinikai változók

Nem találtunk szignifikáns összefüggést a felvételi WFNS és Fischer pontszámok és a DCI kialakulása között. Hasonlóképpen nem volt összefüggés a demográfiai (nő, életkor) és klinikai kockázati tényezők (magas vérnyomás, cukorbetegség, dohányzás) és a DCI kialakulása között a kórházi tartózkodás alatt (**7. táblázat**). A felvételi GCS pontszám szignifikánsan alacsonyabb volt a DCI csoportban, mint a DCI nélküli csoportban (DCI: 9, IQR: 5-14 vs. nem DCI: 14, 10-15,  $p = 0.02$ ). A DCI csoportban gyakrabban volt szükség dekompesszív craniectomiára, de a két csoport között nem volt különbség az EVD alkalmazása tekintetében. A DCI-vel és a 30. napi funkcionális kimenetellel kapcsolatos egyéb tényezőket a **7-8. táblázat** mutatja. Függetlenül attól, hogy a betegnek a kórházi kezelés alatt volt-e fertőzése vagy sem, az MCP-3 szérumszintje szignifikánsan magasabb volt a DCI csoportban, mint a DCI nélküli csoportban. Ezzel szemben a T2-ben mért CX3CL1 koncentráció nem mutatott szignifikáns különbséget a két DCI csoport között, függetlenül a fertőzés jelenlététől (**9. táblázat**).



**7. táblázat** Klinikai jellemzők összehasonlítása DCI- vel és DCI nélküli betegek között

	DCI		<i>p</i> -érték
	DCI ( <i>n</i> = 32)	DCI nélkül ( <i>n</i> = 78)	
Kor (év, mean±SD)	54.8±11	57.9±14	0.223
Nő, N (%)	17 (53%)	50 (64%)	0.284
Magas vérnyomás, <i>n</i> (%)	11 (34.4%)	37 (47.4%)	0.210
Diabetes, <i>n</i> (%)	3 (9.4%)	8 (10.3%)	0.889
Dohányzás, <i>n</i> (%)	2 (6.3%)	10 (12.8%)	0.315
WFNS, median (IQR)	3 (1–5)	2 (1–4)	0.412
modified Fischer grade, median (IQR)	3 (2–4)	3 (2–4)	1.000
Glasgow Coma Skála, median (IQR)	9 (5–14)	14 (10–15)	0.02
Neutrophile-lymphocyte ráta, median (IQR)	7 (5–10)	5 (3–11)	0.092
C-reactive protein, median (IQR)	24 (5–75)	9.5 (3–43)	0.104
Kreatinin, median (IQR)	61 (50–72)	60 (50–72)	0.744
Külső kamradrain, <i>n</i> (%)	18 (56.3%)	33 (42.3%)	0.183
Mechanikai lélegeztetés, <i>n</i> (%)	19 (59.4%)	29 (37.2%)	0.033
Decompresszív craniotómia, <i>n</i> (%)	8 (25%)	5 (6.4%)	0.006
Angiográfiás vazospasmus, <i>n</i> (%)	27 (84.4%)	1 (1.5%)	<0.001
Transcranial Doppler pozitivitás, N (%)	30 (96.8%)	11 (16.4%)	<0.001
Ischaemiás lézió MR-en, N (%)	16 (50%)	0 (0%)	<0.001

*Rövidítések:* IQR, interkvartilis tartomány; DCI, késői agyi ischaemia; WFNS, World Federation of Neurosurgical Societies; MR, mágneses rezonancia. *Megjegyzés:* A kategorikus változókat gyakoriság és százalékként, a folytonos változókat pedig átlag ± standard eltérés vagy medián formájában mutatjuk be (25-75-ös percentilis). A csoportok közötti különbségeket szignifikanciáját Chi-négyzet teszt vagy Fisher exact teszt valamint Student t-teszt vagy Mann-Whitney U-teszt mutatta a folytonos változók esetében.

**8. táblázat** A klinikai és biokémiai jellemzők összehasonlítása a kedvezőtlen és a kedvező kimenetelű (30. nap) betegek között.

	Functional Outcome at Day 30		p-Value
	Unfavorable (n = 54)	Favorable (n = 58)	
Kor (év, mean±SD)	61.8 ± 12	52.6 ± 12	<0.001
Nő, N (%)	29 (53.7)	40 (69)	0.097
Magas vérnyomás, n (%)	28 (51.9)	21 (36.2)	0.095
Diabetes, n (%)	10 (18.5)	1 (1.7)	0.003
Dohányzás, n (%)	4 (7.4)	8 (13.8)	0.275
WFNS, median (IQR)	4 (3–5)	1 (1–2)	<0.001
modified Fischer grade, median (IQR)	4 (3–4)	2 (1–3)	<0.001
Glasgow Coma Skála, median (IQR)	6 (3–12)	14 (13–15)	<0.001
Neutrophile-lymphocyte ráta, median (IQR)	7 (4–12)	5.3 (3–8)	0.054
C-reactive protein, median (IQR)	41 (9–89)	6.8 (3–17)	<0.001
Kreatinin, median (IQR)	63 (50–76)	59 (50–67)	0.122
Külső kamradrain, n (%)	41 (75.9)	12 (20.7)	<0.001
Mechanikai lélegeztetés, n (%)	43 (79.6)	7 (12.1)	<0.001
Decompresszív craniotómia, n (%)	11 (20.4)	3 (5.2)	0.015
Angiográfiás vazospasmus, n (%)	22 (52.4)	6 (10.5)	<0.001
Transcranial Doppler pozitivitás, N (%)	23 (54.8)	18 (32.1)	0.025
Ischaemiás lézió MR-en, N (%)	16 (35.6)	0 (0)	<0.001

*Rövidítések:* IQR, interkvartilis tartomány; DCI, késői agyi ischaemia; WFNS, World Federation of Neurosurgical Societies; MR, mágneses rezonancia. *Megjegyzés:* Kedvező kimenetel = modifiert Rankin skála 0-2, kedvezőtlen = 3-6. A kategorikus változókat gyakoriság és százalékként, a folytonos változókat pedig átlag ± standard eltérés vagy medián formájában mutatjuk be (25-75-ös percentilis). A csoportok közötti különbségek szignifikanciáját Chi-négyzet teszt vagy Fisher exact teszt valamint Student t-teszt vagy Mann-Whitney U-teszt mutatta a folytonos változók esetében.

**9. táblázat** Összefüggés a fertőzés előfordulása, a DCI megjelenése és a biomarker értékek között

	Nincs infekció		p-érték	Infekció kórházi kezelés alatt		p-érték
	Nincs DCI	DCI		Nincs DCI	DCI	
MCP-3 T2, pg/mL, median (IQR)	0 (0-11)	12 (0-32)	0.025	0 (0-8)	23 (9-27)	0.004
CX3CL1 T2, pg/mL, median (IQR)	82 (53-118)	102 (46-201)	0.221	94 (60-179)	116 (95-166)	0.152

*Rövidítések:* IQR, interkvartilis tartomány; DCI, késői agyi ischaemia; MCP-3, monocita kemotaktikus protein-3; CX3CL1, kemokin ligand 1, más néven fraktalkin. *Megjegyzés:* T2, szérumminta az aSAV utáni 5-7. napon.

#### 4.2.4. Biomarkerek közötti összefüggések aSAV betegeknél

Megvizsgáltuk az összes mért szérumbiomarker korrelációját mindkét mérési időpontban. Az eredményeket hőtérkép formájában mutatjuk be a **4. ábrán**. Az IL-1b és az FGF-2, a CX3CL1 és az MCP-3, valamint az MCP-3 és az FGF-2 közötti pozitív és erős korrelációt láthatunk T1 időpontban. A T2-ben mért biomarkerek esetében csak az MCP-3 és a CX3CL1 közötti korreláció maradt erős. További korrelációkat lásd a **4. ábrán**.

**4. ábra** Szérumbiomarkerek közötti korreláció

	Eotaxin T1	FGF-2 T1	FLT-3L T1	CX3CL1 T1	IL-1b T1	IL-4 T1	IP-10 T1	MCP-3 T1	MIP-1b T1	Eotaxin T2	FGF-2 T2	FLT-3L T2	CX3CL1 T2	IL-1b T2	IL-4 T2	IP-10 T2	MCP-3 T2	MIP-1b T2
Eotaxin T1	1,000	0,233	0,237	0,060	0,233	0,153	0,095	0,116	0,185	0,654	0,278	0,118	0,144	0,233	0,220	-0,122	0,208	0,039
FGF-2 T1	0,233	1,000	0,295	0,461	0,694	0,346	-0,086	0,524	0,151	0,259	0,724	0,367	0,257	0,580	0,219	-0,337	0,247	-0,116
FLT-3L T1	0,237	0,295	1,000	0,241	0,268	0,330	0,193	0,226	0,218	0,323	0,197	0,607	0,075	0,342	0,036	0,021	0,088	0,052
CX3CL1 T1	0,060	0,461	0,241	1,000	0,356	0,516	0,239	0,778	0,242	0,069	0,174	0,013	0,857	0,226	0,352	0,226	0,424	0,145
IL-1b T1	0,233	0,694	0,268	0,356	1,000	0,276	0,039	0,438	0,239	0,224	0,530	0,214	0,206	0,833	0,200	-0,181	0,210	0,102
IL-4 T1	0,153	0,346	0,330	0,516	0,276	1,000	0,261	0,435	0,235	0,163	0,134	0,084	0,395	0,180	0,694	0,064	0,223	0,121
IP-10 T1	0,095	-0,086	0,193	0,239	0,039	0,261	1,000	0,216	0,411	-0,184	-0,243	-0,071	0,085	-0,126	0,046	0,519	-0,076	0,371
MCP-3 T1	0,116	0,524	0,226	0,778	0,438	0,435	0,216	1,000	0,210	0,054	0,298	0,044	0,615	0,260	0,348	0,002	0,687	0,128
MIP-1b T1	0,185	0,151	0,218	0,242	0,239	0,235	0,411	0,210	1,000	0,038	0,017	0,055	0,073	0,140	0,013	0,177	-0,039	0,643
Eotaxin T2	0,654	0,259	0,323	0,069	0,224	0,163	-0,184	0,054	0,038	1,000	0,194	0,242	0,095	0,037	0,196	-0,112	0,053	-0,058
FGF-2 T2	0,278	0,724	0,197	0,174	0,530	0,134	-0,243	0,298	0,017	0,194	1,000	0,182	0,415	0,486	0,247	-0,413	0,445	-0,121
FLT-3L T2	0,118	0,367	0,607	0,013	0,214	0,084	-0,071	0,044	0,055	0,242	0,182	1,000	-0,019	0,203	0,071	0,044	0,018	0,149
CX3CL1 T2	0,144	0,257	0,075	0,857	0,206	0,395	0,085	0,615	0,073	0,095	0,415	-0,019	1,000	0,237	0,443	0,133	0,637	-0,022
IL-1b T2	0,233	0,580	0,342	0,226	0,833	0,180	-0,126	0,260	0,140	0,037	0,486	0,203	0,237	1,000	0,248	-0,213	0,325	0,035
IL-4 T2	0,220	0,219	0,036	0,352	0,200	0,694	0,046	0,348	0,013	0,196	0,247	0,071	0,443	0,248	1,000	0,008	0,430	0,107
IP-10 T2	-0,122	-0,337	0,021	0,226	-0,181	0,064	0,519	0,002	0,177	-0,112	-0,413	0,044	0,133	-0,213	0,008	1,000	-0,134	0,328
MCP-3 T2	0,208	0,247	0,088	0,424	0,210	0,223	-0,076	0,687	-0,039	0,053	0,445	0,018	0,637	0,325	0,430	-0,134	1,000	-0,096
MIP-1b T2	0,039	-0,116	0,052	0,145	0,102	0,121	0,371	0,128	0,643	-0,058	-0,121	0,149	-0,022	0,035	0,107	0,328	-0,096	1,000

**Rövidítések:** FGF-2, fibroblast növekedési faktor-2; FLT-3L, Fms-related tyrosine kinase 3 ligand; CX3CL1, kemokin ligand 1, más néven fraktalkin; IL-1b, interleukin-1b; IL-4, interleukin-4; IP-10, interferon gamma-indukált protein 10, más néven C-X-C motívumos kemokin ligand 10 (CXCL10); MCP-3, monocita kemotaktikus protein-3; MIP-1b, makrofág gyulladásos protein 1-béta.

**Megjegyzés:** Piros szín jelzi két paraméter közötti pozitív korrelációt, míg kék a negatív korrelációt; minél sötétebb a szín, annál erősebb a korreláció. T1, szérumminta az aSAV utáni 1. napon; T2, szérumminta az aSAV utáni 5-7. napon. Statisztikai módszer: Spearman.

A bináris logisztikus regressziós analízis az 5-7. napi MCP-3 szérumszintet a DCI független előrejelzőjeként azonosította (**10. táblázat**). Az FGF-2 szérumszintje erős negatív korrelációt mutatott az IP-10 szérumszintjével a kedvező kimenetelű betegeknél, míg ez a korreláció eltűnt a kedvezőtlen kimenetelű csoport esetében (**5. ábra**).

**10. táblázat** Bináris logisztikus regressziós model a DCI független előrejelzésére.

	B	Wald	Sig.	Exp(B)
MCP-3 T2	0,045	5,221	0,022	1,046
GCS érkezéskori	-0,031	-0,062	0,803	0,97
Mechanikus lélegeztetés	-0,954	0,638	0,424	0,385
Nem	-0,974	2,496	0,114	0,378
Kor	-0,026	1,062	0,303	0,974
Állandó	1,593	0,922	0,337	4,917

*Rövidítések:* GCS, Glasgow Coma Skála; MCP-3, Monocita kemotaktikus protein-3; DCI, késői agyi ischaemia.

*Megjegyzés:* T2, mintavételi idő: 5-7. nap aSAV után.

**5. ábra** A szérumbiomarkerek közötti korreláció a különböző klinikai alcsoportokban (A): kedvező, n = 58; (B): kedvezőtlen, n = 58).

<b>A</b>	FGF-2 T1	CX3CL1 T1	IL-1b T1	IP-10 T1	MCP-3 T1	FGF-2 T2	CX3CL1 T2	IL-1b T2	IP-10 T2	MCP-3 T2
FGF-2 T1	1,000	0,523	0,684	-0,253	0,613	0,867	0,306	0,467	-0,420	0,320
CX3CL1 T1	0,523	1,000	0,369	0,137	0,730	0,121	0,872	0,195	0,049	0,564
IL-1b T1	0,684	0,369	1,000	-0,126	0,481	0,569	0,216	0,849	-0,345	0,211
IP-10 T1	-0,253	0,137	-0,126	1,000	0,090	-0,570	-0,034	-0,260	0,485	-0,158
MCP-3 T1	0,613	0,730	0,481	0,090	1,000	0,124	0,461	0,179	-0,165	0,729
FGF-2 T2	0,867	0,121	0,569	-0,570	0,124	1,000	0,480	0,495	-0,517	0,475
CX3CL1 T2	0,306	0,872	0,216	-0,034	0,461	0,480	1,000	0,235	0,011	0,697
IL-1b T2	0,467	0,195	0,849	-0,260	0,179	0,495	0,235	1,000	-0,366	0,295
IP-10 T2	-0,420	0,049	-0,345	0,485	-0,165	-0,517	0,011	-0,366	1,000	-0,164
MCP-3 T2	0,320	0,564	0,211	-0,158	0,729	0,475	0,697	0,295	-0,164	1,000

<b>B</b>	FGF-2 T1	CX3CL1 T1	IL-1b T1	IP-10 T1	MCP-3 T1	FGF-2 T2	CX3CL1 T2	IL-1b T2	IP-10 T2	MCP-3 T2
FGF-2 T1	1,000	0,409	0,722	0,068	0,465	0,708	0,260	0,712	-0,210	0,242
CX3CL1 T1	0,409	1,000	0,346	0,345	0,841	0,247	0,866	0,337	0,293	0,350
IL-1b T1	0,722	0,346	1,000	0,194	0,388	0,559	0,215	0,817	0,042	0,250
IP-10 T1	0,068	0,345	0,194	1,000	0,236	-0,006	0,194	-0,017	0,579	-0,115
MCP-3 T1	0,465	0,841	0,388	0,236	1,000	0,464	0,781	0,431	0,150	0,648
FGF-2 T2	0,708	0,247	0,559	-0,006	0,464	1,000	0,326	0,532	-0,300	0,374
CX3CL1 T2	0,260	0,866	0,215	0,194	0,781	0,326	1,000	0,291	0,246	0,559
IL-1b T2	0,712	0,337	0,817	-0,017	0,431	0,532	0,291	1,000	-0,050	0,396
IP-10 T2	-0,210	0,293	0,042	0,579	0,150	-0,300	0,246	-0,050	1,000	-0,108
MCP-3 T2	0,242	0,350	0,250	-0,115	0,648	0,374	0,559	0,396	-0,108	1,000

*Rövidítések:* T1, szérumminta az aSAV utáni 1. napon; T2, szérumminta az aSAV utáni 5-7. napon. FGF-2, fibroblast növekedési faktor-2; FLT-3L, Fms-related tyrosine kinase 3 ligand; CX3CL1, kemokin ligand 1, más néven fraktalkin; IL-1b, interleukin-1b; IL-4, interleukin4; IP-10, interferon gamma-indukált protein 10, más néven C-X-C motívumos kemokin ligand 10 (CXCL10); MCP-3, monocita kemotaktikus protein-3; MIP-1b, makrofág gyulladáshoz asszociált protein 1-béta.

*Megjegyzés:* Kedvezőtlen, mRS = 3-6 a 30. napon; kedvező, mRS = 0-2 a 30. napon. A piros szín jelzi két paraméter közötti pozitív korrelációt, kék szín pedig a negatív korrelációt. Minél sötétebb a szín, annál erősebb a korreláció. Statisztikai módszer: Spearman.

## V. Konklúzió

### 5.1 *Ischaemás stroke*

Akut IS hiperakut fázisában vizsgáltuk a periostin jelenlétét embereken. A legfontosabb megállapításaink a következők:

- (i) Eredményeink azt mutatják, hogy a szérumban a periostin szintje az IS hiperakut fázisában magasabb a stroke-os betegeknél, mint a kontrollként használt egészségesekben. Továbbá az ictust követő 6 órán belül mért periostin szint szignifikánsan magasabb volt azon betegeknél, akiknél a 90 napos follow-up során kedvezőtlen kimenetelt állapítottunk meg.
- (ii) A kollaterális keringést tükröző ASPECT score negatívan, míg az IS súlyosságát jelző NIHSS pozitívan korrelált a periostin szisztémás koncentrációjával. Ezek együttesen arra utalhatnak, hogy a regenerációs folyamatok során a myogenezist/angiogenezist és az érképződést szabályozó matricelluláris fehérjék hatással lehetnek a menthető penumbrales agyszövetet meghatározó kollaterális keringésre.
- (iii) Számos study bizonyítja, hogy az ASPECT score az ischaemiás mag, és így közvetve a kollaterális hálózat érzékeny markere. Kutatásunkban, a felvételnél mért periostin szint független kapcsolatban áll a felvételnél készített CT vizsgálat alapján számított ASPECT score < 6-os értékkel, tehát a szérumban a periostin szint a felvételnél közvetve jelzi a kollaterális hálózat minőségét az IS akut fázisában. Ebből következik, hogy a stroke-ot követő 6 órán belül mért periostin szint hozzájárulhat az EVT indikációjának megállapításához.

Tanulmányunkban erős pozitív összefüggést találtunk a pitvarfibrilláció és a periostin szintje között. Továbbá a CRP, az NLR és a WBC szoros korrelációt mutatott a felvételnél mért periostin szintekkel, ami a korai immunválasz és a poszt-ischaemiás agysérülés közötti lehetséges kapcsolatra utal. A CRP emelkedett szintje a stroke-ot követően összefüggésbe hozható a rossz funkcionális kimenetellel és a mortalitással.

## 5.2. Subarachnoideális vérzés

A biomarkerek és a DCI, valamint a funkcionális kimenetel kapcsolatának és egymáshoz való viszonyának vizsgálatára biomarker profilt készítettünk. Megállapításaink a következők:

- (i) Eredményeink szerint az MCP-3 és CX3CL1 szintek aSAV után 5-7 nappal (T2) mérve összefüggnek a DCI kialakulásával. Egyrészt a magas MCP-3 szintek kifejezett gyulladási aktivitást jeleznek, ami a DCI pathogenezisének része. Másrészt a CX3CL1 emelkedett szintje az aSAV késői fázisában, amely egybeesik az M2 fenotípusú mikroglia polarizáció idejével is, hozzájárulhat a DCI pathogeneziséhez a mikroglia gyakorolt hatásán keresztül.
- (ii) Az 1. nap-on (T1) mért magas IP-10, MCP-3 és MIP-1b szintek korreláltak a 30. napi kedvezőtlen kimenetellel.
- (iii) Az 5-7. napon mért IL-4 szérumszint szignifikánsan magasabb volt a TCD-pozitív betegeknél, mint a TCD-negatívoknál, így vizsgálatunk alátámasztja azt a feltételezést, hogy a DCI-ben még nagyobb kompenzációs gyulladáscsökkentő mechanizmusok aktiválódnak, amit az IL-4 szint emelkedése tükröz. Mivel azonban a szérum IL-4 szint a TCD-pozitivitással mutatott összefüggést, és nem a DCI-vel, a TCD-vel kimutatott sebességnövekedés az artériákban a DCI kialakulásának része, de nem az egyedüli mechanizmus.

Továbbá erős pozitív korrelációt figyeltünk meg az IL-1b és az FGF-2, a CX3CL1 és az MCP-3, valamint az MCP-3 és az FGF-2 között az 1. napon. Az 5-7. napon a korreláció csak az MCP-3 és a CX3CL1 között maradt erős. Az FGF-2 szérumszintje erős negatív korrelációt mutatott az IP-10 szérumszintjével a 30 napos kedvező kimenetelű betegeknél.

A periostin hasznos markerként szolgálhat a rossz kollaterális hálózattal rendelkező betegek azonosításában. Ha nagyobb esetszámmal végzett, randomizált kontrollált vizsgálatok megerősítik eredményeinket, a periostin szérumszintjének mérését olyan point-of-care diagnosztikai tesztté lehetne fejleszteni, mely megkönnyítené a neurointervencióra alkalmas betegek prehospitális kiválasztását. Továbbá eredményeink arra hívják fel a figyelmet, hogy számos biomarker mutat asszociációt a DCI megjelenésével, azonban ezek pathofiziológiai szerepének tisztázása még várat magára. Kutatásunkban talált néhány marker ígéretes lehet a betegség előrejelzésében és potenciális terápiás targetként jelenhetnek meg a személyre szabott kezelési stratégiákban a későbbiek során.

## **VI. Saját megállapítások**

1. A szisztémás matricelluláris fehérje, a periostin korai prognosztikai marker az IS miatt kezelt betegeknél.
2. A szérum periostin szintje a felvételtől közvetve jelezheti a kollaterális hálózat minőségét az IS akut fázisában.
3. Az IP-10, MCP-3 és MIP-1b szérumkoncentrációjának korai emelkedése összefüggést mutat a 30 napos rossz kimenetellel a SAV-on áteső betegeknél.
4. Az MCP-3 és a CX3CL1 szintje SAV utáni 5-7. napon mérve előre jelzi a DCI-t.



## VII. Publikációk és prezentációk

### *Publikációk listája*

**Spantler D.**, Molnar T., Simon D., Berki T., Buki A., Schwarcz A., Csecsei P. Biomarker associations in delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage, *Int. J. of Molecular Sciences*, 2022, 23, 8789. <https://doi.org/10.3390/ijms23158789>

**IF: 6,208**

**Spantler D.**, Csecsei P., Borocz K., Berki T., Zavori L., Schwarcz A., Lenzser G., Molnar T. Serum Periostin May Help to Identify Patients with Poor Collaterals in the Hyperacute Phase of Ischemic Stroke. *Diagnostics* 2022, 12, 1942. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12081942>

**IF: 3,992**

### *Prezentációk listája*

#### **Osijek student congress (OSCON) 2022**

Előadás címe: Comparison of external ventricular drain related infections before vs during the COVID-19 Pandemic

#### **Magyar Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Társaság (MAITT) congress 2023**

Előadás címe: Periostin és a kollaterális hálózat kapcsolata ischaemiás stroke hiperakut fázisában (MAITT Szabad előadások I. díj)

#### **MedPECS congress 2023**

Előadás címe: Association between serum periostin level and poor collaterals in the hyperacute phase of ischemic stroke

## **VIII. Köszönetnyilvánítás**

Szeretném kifejezni hálámat témavezetőimnek Dr. Molnár Tihamér professzor úrnak és Dr. Csécsei Péter adjunktus úrnak, hogy lehetőséget kaptam a közös munkára, hasznos tanácsaikkal segítettek és irányították munkámat.

Köszönettel tarozom Dr. Ezer Erzsébet adjunktus asszonynak és a PTE KK Idegsebészeti Klinika Intenzív Osztály dolgozóinak.

Köszönöm az Immunológiai és Biotechnológiai Intézetnek, hogy segítségemre voltak a biomarker szintek mérésében.