

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A CEREBRÁLIS HEMODINAMIKA VIZSGÁLATA
FIZIOLÓGIÁS KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT,
STROKE RIZIKÓFAKTOROKBAN ÉS STROKE-BAN

Dr. Oláh László



Debreceni Egyetem
Klinikai Központ
Neurológiai Klinika

Debrecen, 2017

1. BEVEZETÉS

1.1. AZ AGYI VÉRKERINGÉS VIZSGÁLATA

A stroke a világ fejlett országaiban a morbiditási és mortalitási statisztikák egyik legfontosabb tényezője, emellett a hosszútávú rokkantság leggyakoribb oka. Jelenleg Magyarországon évente kb. 50 000 beteg kerül kórházba stroke miatt. Az akut stroke mortalitása az első hónapban 12-28%, az első évben 25-30%. A stroke elsősorban az idősek betegsége, ezért idősödő társadalmunkban a betegség incidenciájának és prevalenciájának növekedésével kell számolnunk. Mivel a stroke döntő többségét kitevő ischaemiás stroke hátterében az agy vérrellátási zavara áll, a stroke eredményes kezeléséhez elengedhetetlen, hogy minél jobban megértsük az agyi keringés élettanát és kórélettanát, valamint a stroke korai fázisában zajló patofiziológiai folyamatokat.

Mint minden szerv vérrellátásának, az agyi keringésnek is megvannak a maga sajátosságai. Jól ismert, hogy az agy a testtömegünk csupán 2%-a, mégis a perctérfogat közel 20%-ában részesül, melynek hátterében a működő agyszövet magas oxigén és energiaigénye áll. Ennek biztosításához, mivel az agy érdemi energiaraktározásra nem képes, folyamatos, mégis az aktuális metabolikus igényekhez igazodó vérrellátásra van szüksége. Ezért az agyi véráramlásnak a mindenkori vérnyomástól függetlenül relatíve állandónak kell lennie, ugyanakkor a regionális agyi vérátáramlásnak az egyes agyi régiók aktivációjakor gyorsan kell alkalmazkodnia az agyszövet fokozott metabolikus szükségletéhez. A változó vérnyomásértékek mellett az agyi vérrellátás állandóságát biztosító mechanizmust autoregulációnak, míg a neuronális aktiváció kiváltotta lokális vérátáramlás növekedéséért felelős folyamatot neurovaszkuláris kapcsolatnak nevezzük. Mind az autoreguláció, mind a neurovaszkuláris kapcsolat hátterében a cerebrális rezisztenciaerek (mikroerek) vazokonstriktív és vazodilatációs képessége áll.

1.1.1. Az agyi erek átmérőjét és az agyi vérátáramlást befolyásoló mechanizmusok

A cerebrális erek tónusát és ezen keresztül a regionális agyi vérrellátást három alapvető mechanizmus szabályozza:

- az érfali simaizomsejtek saját, intrinzik tulajdonságai (miogén szabályozás),
- az erek közelében lévő neuronok és asztrociták anyagcsere viszonyai, valamint egyéb humorális tényezők (metabolikus szabályozás),
- a perivaszkuláris idegek befolyása az agyi erekre (neurogén szabályozás).

1.1.1.1. Miogén szabályozás

A simaizomréteggel rendelkező prekapilláris rezisztenciaerek az intraluminalis nyomás növekedésére érfali konstriktóval, az intraluminalis nyomás

csökkenésére pedig dilatációval válaszolnak. Ez a mechanizmus az alapja az agyi autoregulációnak, mely magas agyi perfúziós nyomásértékeknél a rezisztenciaerek vazokonstrikciója, míg alacsony nyomás esetén a kiserek vazodilatációja révén képes az agyi perfúziós nyomás széles határai között az agyi véráramlást közel állandó értéken tartani. Az autoreguláció tehát alacsony perfúziós nyomás esetén a vasodilatáció révén védi az agyszövetet a hipoxiától, magas perfúziós nyomás esetén pedig az erek vazokonstrikcióján keresztül gátolja a cerebrális ödéma kialakulását. Az autoregulációban fő szerepet játszó érfalon belüli, intrinzik miogén tényezők mellett a rezisztenciaerek átmérőjét metabolikus változások, perivaszkuláris neurogén tényezők és egyéb humorális hatások egyaránt jelentősen módosíthatják.

1.1.1.2. Metabolikus és humorális szabályozás

A metabolikus szabályozási elképzelés szerint az agy valamely területének az aktivációja az adott területben lévő neuronok és astrocyták anyagcseréjének fokozódását eredményezi. A fokozott metabolizmus következtében nő a vazodilatátor hatású anyagcseretermékek koncentrációja, mely a lokális vazodilatáció következtében a regionális véráramlás növekedését okozza.

Élettani körülmények között a glükóz az agy legjelentősebb energiaforrása. Egy adott agyi terület aktivációja során az aktivált agyszövetben nő a glükóz felhasználás, a neuronokból és asztrocitákból vazoaktív mediátorok szabadulnak fel. A glükóz anyagcsere során felszabaduló szén-dioxid, a depolarizáció következtében az intracelluláris térből az extracelluláris térbe kerülő kalium, az ATP katabolizmusa során képződő adenzin, az anaerob glükolízis kapcsán keletkező tejsav, csakúgy mint az agy egyik legfontosabb excitatorikus neurotranszmittere, a glutámát, mind-mind vazodilatációt váltanak ki. A mikroerek vazodilatációja következtében nő a lokális agyi véráramlás, mely a fokozott oxigén és glükóz szükséglet kielégítésén túl a keletkezett anyagcseretermékek elszállítását is biztosítja.

Az anyagcsere metabolitokon túl egyéb kémiai anyagok is jelentős szerepet játszanak az agyi rezisztenciaerek átmérőjének és így az agyi keringésnek a szabályozásában. A legfőbb vazodilatátor molekulák a nitrogén-monoxid (NO), a vazodilatátor hatású prosztanoidok, az endotelsejtekből képződő endotel-eredetű hiperpolarizáló faktor, s az endogén szén-monoxid (CO). Az eddig ismert legerősebb endotel eredetű vazokonstriktor az endotelin-1, de vazokonstrikciót okoz az endotel eredetű konstriktor faktor, valamint számos vazokonstriktor hatású prosztanoid is.

1.1.1.3. Neurogén szabályozás

Ismert, hogy az agyi erek falához szinaptikus vezikulákban gazdag perivaszkuláris idegek futnak. Az agyi erekhez futó perifériás eredetű idegrostok szimpatikus, paraszimpatikus, valamint trigeminális eredetű szenzoros rostok lehetnek. Emellett a központi idegrendszer több területéről, mint a locus coeruleusból,

a nucleus fastigiából, a dorsalis raphe magvakból, s a medulla oblongata területéről is futnak centrális rostok az agyi erekhez. A neurotranszmitterek azonosítása a perivaszkuláris idegvégződésekben azt eredményezte, hogy az idegrostok korábbi centrális és perifériás, szimpatikus és paraszimpatikus, vazokonstriktor és vazodilatátor felosztása mellett egyre inkább a neurotranszmitter tartalom alapján történik a klasszifikáció. Mi több, az újabb és újabb neurotranszmitterek és neuromodulátor molekulák felfedezésével a már jól ismert adrenerg, kolinerg, szerotoninerg, dopaminerg rostok mellett NO-t tartalmazó nitrit-oxidérg és különböző peptidérg idegvégződéseket is leírtak. A peptidérg rostokról kimutatták, hogy hatásuk nem egyszerűsíthető le a két alapvető érválaszra, vagyis a vazokonstriktóra és a vazodilatációra, mivel moduláló hatásuk révén képesek befolyásolni az egyéb neurotranszmitterek hatását. A neuropeptidek általában más neurotranszmitterekkel és/vagy más neuropeptidekkel együtt vannak jelen. A szimpatikus idegekben a vazokonstriktor természetű noradrenalin mellett a szintén konstriktor hatású szerotonin és neuropeptid Y, míg a paraszimpatikus idegekben a vazodilatátor hatású acetyl-kolin mellett az ugyancsak dilatátor vazóaktív intesztinalis polipeptid és az NO található. A szenzoros idegekben szintén vazodilatációt előidéző peptideket mutattak ki, ezek a substance P, neurokinin A, calcitonin gene related peptid és cholecystokinin.

1.1.2. A neurovaszkuláris kapcsolat és annak szabályozása

A neurovaszkuláris kapcsolat a neuronális aktivációra bekövetkező regionális agyi vérátáramlás fokozódását, azaz a funkcionális hiperémiát jelenti. A neuronális aktiváció hatására felszabaduló különböző neurotranszmitterek és vazóaktív ágensek (pl. glutamát, kálium ion, szén-dioxid, adenzin, tejsav, NO) szabadulnak fel, mely folyamatok hatására a rezisztenciaerek lokális vazodilatációja jön létre. Ennek következtében az aktivált szövetet ellátó artériában nő a vérátáramlás, s ezáltal a véráramlási sebesség is.

1.1.2.1. A neurovaszkuláris kapcsolat szabályozásának új szempontjai

Meg kell említeni, hogy a fenti metabolikus szabályozás teória egyedüli szerepét a neurovaszkuláris kapcsolat hátterében egyre kevésbé fogadják el, mivel az agyszövet aktivitását kísérő véráramlás növekedés sokkal nagyobb, mint ami az anyagcsere fokozódása és az O_2 -felhasználás alapján várható lenne, továbbá az áramlássváltozás sokkal gyorsabban következik be, mint ahogy a vazodilatációért felelős metabolikus végtermékek koncentrációja emelkedik.

A centrális neuronok másodperc tört része alatt bekövetkező gyors aktivációját az agyi véráramlás változása 1-2 másodperc alatt követi. Ez a gyors aktiváció gyors energiatermelést kíván, mely feltehetően az oxidatív foszforilációnál sokkal kevésbé gazdaságos, de jóval gyorsabb glükolízisen keresztül valósul meg. Ezt

a feltevést támogatja az a tény is, hogy a fokozott agyi aktivitás kiváltotta anyagcsereváltozás és a regionális agyi véráramlás fokozódás meglehetősen kismértékű O_2 fogyasztással párosul, ugyanakkor jól korrelál a szöveti glükóz-felhasználással. Ez persze nem jelenti azt, hogy a neurovaszkuláris kapcsolat során a metabolikus faktorok ne játszanának fontos szerepet a véráramlás megfelelő szintjének a fenntartásában, de mindenképpen azt sugallja, hogy a kezdeti gyors metabolikus és áramlási változások hátterében egy, mind az anyagcserére, mind a keringésre igen gyorsan ható tényező, mégpedig az agyi rezisztenciaerekhez futó idegrostokon keresztül megvalósuló neurális szabályozás áll.

1.1.2.2. A neurovaszkuláris kapcsolat humán vizsgálatának lehetőségei

A neurovaszkuláris kapcsolat emberben történő tanulmányozása során az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer a vizuális stimuláció hatására az arteria cerebri posterior (PCA) területében bekövetkező vérátáramlás növekedésének a vizsgálata. A vizuális stimuláció hatására a látókéreg aktivációja révén az aktivált területet ellátó rezisztenciaerek dilatálnak, mely az adott területben a regionális vérátáramlás emelkedéséhez és így az aktivált szövetet ellátó artériában az áramlási sebesség növekedéséhez vezet. Érdekes, hogy nemcsak látókban, vizuális stimulus hatására, hanem vakokban, Braille írás olvasásakor is ki tudták mutatni a látókéreg aktivációját és az aktivált területben a következményes regionális vérátáramlás növekedést.

A neurovaszkuláris kapcsolat az emberi szervezetben fMRI (funkcionális mágneses rezonanciás képalkotás), PET pozitron emissziós tomographia), SPECT (single photon emissziós computer tomographia), near-infrared spektroszkópia (NIRS) és transzkraniális Doppler vizsgálat (TCD) segítségével tanulmányozható.

Vizsgálatainkhoz a transzkraniális Dopplert (TCD) használtuk, mellyel az agyi véráramlási sebesség kiválóan követhető a különböző intrakraniális nagyartériákban. A módszer nem invazív, olcsó, egyszerűen kivitelezhető, kiváló időbeli felbontással rendelkezik és tetszőlegesen ismételhető. Legfőbb hátránya, hogy a térbeli felbontása meglehetősen rossz, s a koponyacsont vastagsága néhány személyben, elsősorban idősebb nőkben, határt szab az alkalmazásának.

A TCD vizsgálatok eredményeinek az értékeléséhez tudni kell, hogy míg TCD vizsgálat során az áramlási sebességet az intrakraniális artériák főtörzsében mérjük, addig a neuronális aktiváció, a különböző endogén, vagy exogén kémiai ágensek, illetve a vérnyomásváltozás hatására jelentkező érátmérő változások a rezisztenciaerekben (mikroerekben), s nem a nagyartériákban történnek. A mikroerekben kialakuló vazodilatáció a vaszkuláris rezisztencia csökkenése által az áramlás és így a konstans átmérőjű artériás főtörzsben az áramlási sebesség növekedését eredményezi, míg a vazokonstrikció a vaszkuláris rezisztencia

növekedésén keresztül az áramlás és az artériás főtörzsben az áramlási sebesség csökkenését okozza.

Azért, hogy a különböző személyekben bekövetkező áramlási sebességváltozásokat egymással összehasonlíthassuk, relatív sebességeket számolunk. Ennek során az adott stimulust követően mért áramlási sebességeket és a stimulusra bekövetkező áramlási sebességváltozást a nyugalmi, stimulus előtti sebességérték százalékában fejezzük ki, mely így már lehetőséget ad a különböző egyénekben bekövetkező változások összehasonlítására.

Az agyi vérátáramlásra gyakorolt eltérő stimulusok hatására az agyi nagyerekben létrejött véráramlási sebességváltozás monitorozását **funkcionális transzkranialis Doppler (fTCD)** módszernek nevezzük. A módszer többek között alkalmas az acetazolamid provokáció, a CO₂ inhaláció, az apnoe teszt és a hiperventiláció hatására létrejövő sebességváltozás monitorozására (vazoreaktivitás). Emellett a fTCD kiválóan használható a vérnyomásváltozás során az agyi nagyerekben mérhető áramlási sebesség követésére (agyai autoreguláció), valamint a vizuális és kognitív stimuláció révén létrejövő véráramlási sebesség változásoknak a vizsgálatára (neurovaszkuláris kapcsolat) is.

Tanulmányainkban a vizuális, illetve vakokban a taktilis aktiváció hatására a PCA-ban, valamint az ortosztatikus reakció kiváltotta vérnyomásváltozás következtében az arteria cerebri mediában (MCA) létrejövő áramlási sebességváltozásokat vizsgáltuk. Ez utóbbi vizsgálathoz dönthető asztalt használtunk, melyet 60-80 fokos szögben felállítva tanulmányozni lehet a szisztémás és agyi hemodinamikai válaszokat. Egészséges személyben rövid ideig tartó, átmeneti vérnyomásesés után a vérnyomás stabilizálódik, eléri a felállítás előtti értéket, vagy még emelkedik is. Ennek hátterében a fiziológiás baroreceptor reflex hatására megjelenő kompenzatorikus tachycardia és a perifériás rezisztenciaerek konstriktója következtében kompenzatorikusan megnőtt perifériás vaszkuláris rezisztencia áll. Az ortosztatikus reakciót számos, a vegetatív idegrendszer érintő betegség (polyneuropathia, diabetes mellitus), illetve exogén ágens (alkohol, vazodilatációt kiváltó gyógyszerek, szívfrekvencia fokozódást gátló szerek) károsíthatja.

1.2. A CEREBRÁLIS ISCHAEMIA PATOFIZIOLÓGIÁJA

1.2.1. A cerebrális ischaemia fogalma. A penumbra koncepció

A cerebrális ischaemia az agyi vérátáramlás csökkenését jelenti, melynek hátterében az agyat ellátó erek szűkülete, vagy elzáródása áll. Fokális cerebrális ischaemiás modellben azt találták, hogy az EEG és a kiváltott válasz jelek, mint a funkcionális aktivitás jelzői, már enyhébb fokális vérátáramlás csökkenés esetén is károsodnak, míg a strukturális károsodásra utaló, a sejtmembrán két oldala között fennálló iongradiens megszűnése csak súlyosabb ischaemia során alakul ki. Ez a

jelenség, mely szerint különböző mértékű hipoxia/ischaemia következtében alakul ki a funkcionális és a strukturális károsodás, vezetett az úgynevezett penumbra koncepcióhoz. Eszerint enyhe-közepes fokális agyi véráramlás-csökkenés úgy vezet funkcionális károsodáshoz, hogy a szöveti struktúra még ép marad, míg súlyos véráramlás-csökkenés már strukturális károsodást is okoz, vagyis nekrotizációhoz vezet. Más szóval, az elhalt, nekrotikus szövet és az egészséges agyszövet között egy funkcionálisan károsodott, de strukturálisan még ép agyszövet helyezkedik el, melyet penumbrának neveztek el. A fokális cerebralis ischaemia penumbra koncepciója a stroke patofiziológiája szempontjából alapvető, ugyanis ez alapján magyarázható az ischaemiás károsodás időbeni progressziója és érthető meg a reperfüzió hatására visszafejlődő stroke tünetek. A penumbra méretének vizsgálata során a kutatók különböző paraméterek alapján definiálták a penumbrát, de az összes meghatározás alapját az képezte, hogy a penumbra egy csökkent vérrellátású, de még életképes terület. Mivel az agyszövet életképessége az energiaigényes metabolikus folyamatok fenntartását, vagyis az ATP termelést feltételezi, a penumbrát a csökkent vérrellátású, de megtartott energiametabolizmussal bíró agyszövetként definiálták.

1.2.2. A különböző súlyosságú ischaemia mellett kialakuló sejtszintű változások

A vaszkuláris okklúzió első óráiban az agyi vérátáramlás-csökkenés mértékétől függően különböző sejtfunkciók károsodnak. A legérzékenyebb paraméter, mely már mérsékelt vérátáramlás-csökkenés mellett is károsodik, a protein szintézis. A vérátáramlás további csökkenése esetén a glükóz felhasználás nő, ezzel párhuzamosan a laktát szint emelkedik és enyhe acidózis alakul ki. Az ischaemia súlyosbodásával a szöveti acidózis kifejezetté válik, s további véráramlás csökkenés esetén az ATP szint meredeken csökken. Az anoxiás depolarizációt, vagyis a sejtmembrán károsodását még súlyosabb ischaemia esetén írták le.

A fokális cerebralis ischaemia kiváltotta metabolikus változások következtében nő a sejt ozmolalitása, ennek megfelelően víz áramlik az extracelluláris térből az intracelluláris térbe, mely az intracelluláris térfogat növekedését és az extracelluláris tér csökkenését eredményezi. Megjegyzendő, hogy ez a változás jól vizsgálható a diffúzió-súlyozott MR technikával, mely az intra- és extracelluláris térfogat változásaira érzékeny.

1.2.3. A penumbra vizualizálása

A fentiekből érthető, hogy az ischaemiás stroke kezelése során a már irreverzibilisen károsodott agyszövet megmentésére nincs remény, ezért a terápiás próbálkozások a még életképes penumbra funkciójának a visszaállítását célozzák. Ez a tény a penumbra méretének meghatározására irányuló kutatásokat ösztönözte. Experimentális körülmények között a már irreverzibilisen károsodott ischaemiás magot a gátolt energiametabolizmussal jellemezhető, ATP-t nem tartalmazó

agyszövetként, míg a penumbrát a még ATP-t tartalmazó, megtartott energia-metabolizmussal bíró, tehát életképes, de már a csökkent vérellátásra utaló metabolikus eltéréseket mutató szövetként definiálják. Mint a fent leírtakból kiderül, az energiametabolizmust még nem károsító, de már az agyszövet funkcionális károsodását előidéző áramlási értékeken a protein szintézis károsodik, s laktát-acidosis alakul ki. A fentiek alapján állatkísérletekben a penumbrát a csökkent áramláshoz társuló csökkent protein szintézisű vagy csökkent pH-jú terület és az ATP hiányos terület különbségeként definiáljuk.

1.2.4. Reperfúzió, reperfúziós károsodás

Fokális agyi ischaemiában a károsodás súlyosságát és kiterjedését alapvetően meghatározza, hogy sikerül-e visszaállítani az ischaemiás agyszövet vérellátását, és ha igen, mikor. A vérellátás helyreállításakor, mely történhet spontán, vagy kezelés hatására, jó esély van a funkcióképtelen, de még életképes penumbra megmentésére, s funkciójának visszaállítására. Sajnos, az idő előrehaladtával egyre kisebb lesz a még megmenthető penumbra, s egyre nagyobb a már elhalt ischaemiás mag, ezért mindent meg kell tenni azért, hogy mihamarabbi recirkulációt tudjunk elérni. Ugyanakkor a reperfúzió veszélyeket is rejthet magában, melyek közül a másodlagos szöveti károsodás, a cerebrális ödéma és az intracerebrális vérzés a legrettegettebb.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során állatkísérletekben az experimentális fokális ischaemia patomechanizmusát, humán tanulmányokban pedig az agyi keringés élettanát és kórélettanát tanulmányoztuk.

2.1. Állatkísérletes vizsgálataink motivációi és célkitűzései

Az ischaemiás stroke legfontosabb rizikófaktora a hipertónia. A hipertónia kezelésben legelterjedtebb angiotenzin konvertáló enzim (ACE) inhibitorok és az angiotenzin 1-es típusú receptorának (AT1) blokkolása ischaemiás stroke-ban javítja a neurológiai kimenetelt és csökkenti az infarctus térfogatát kísérletes fokális ischaemiában. Munkánkban transzgén egerekben tanulmányoztuk az angiotenzin és az angiotenzin 1-es típusú receptorának az ischaemiás károsodásra gyakorolt hatását 1 és 24 órás permanens ischaemia során.

Ismert, hogy rövid ideig tartó fokális ischaemiát követően a reperfúzió során az agyszövet energiametabolizmusa helyreáll, az ATP szint rendeződik, miközben a fehérjeszintézis gátolt marad. Különböző reperfúziós időkkal végzett kísérletek azonban rámutattak, hogy az energiametabolizmus rendeződése a korai reperfúzió fázisában csak átmeneti, mert ezt a reperfúzió 2.-6. órájától az energiametabolizmus másodlagos károsodása, vagyis ATP deplécio kíséri. Az MR vizsgálatok és a

különböző MR szekvenciák megjelenése forradalmasította az állatkísérleteket, hisz a perfúzió-súlyozott MR vizsgálat (PWI) az agyi vérátáramlásról, a T2 súlyozott felvétel az agyszövet víztartalmáról, a diffúzió-súlyozott felvétel (DWI) az intra- és extracelluláris vizek változásáról ad információt. A nem-invazív MR vizsgálatok térhódítása a kísérletes stroke kutatásban lehetővé tette, hogy ugyanabban a kísérleti állatban folyamatosan lehessen monitorozni a perfúziós viszonyokat, a vízmolekulák diffúziós sajátosságait, valamint az agyszövet víztartalmát a fokális ischaemia indukciója előtt, az ischaemia alatt és a reperfúzió különböző fázisaiban. Multiparametriás, MR és hisztokémiai vizsgálatok összehasonlítása révén felvetették, hogy a DWI felvételekből származtatott ADC érték jól korrelál az energiametabolizmussal ischaemia alatt, de a reperfúziós időszakban ilyen irányú összefüggés nem volt ismert.

Állatkísérletes vizsgálatainkkal a következő kérdésekre kerestünk választ.

1) Különböző időtartamú (1 óra és 24 óra) permanens MCAO során angiotenzinogent fokozottan expresszáló transzgén egerekben és angiotenzin-1A receptorhiányos egerekben hogyan alakul a protein szintézis és az energia-metabolizmus, s az ezen paraméterekből meghatározható agyi infarktus és penumbra mérete a kontroll állatokhoz képest? Amennyiben szignifikáns eltérés jelentkezik in vivo, in vitro kísérletben, a vaszkuláris hatás kikapcsolása után is fennmarad-e a különbség a transzgén és a kontroll állatokból származó, oxigén-glükóz deprivációnak kitett sejt kultúrákban?

2) Egyórás fokális cerebrális ischaemiát követő reperfúzió során hogyan alakulnak az MR paraméterek a reperfúzió 10 órája alatt? Kimutatható-e az ADC értékek normalizálódása a reperfúzió korai fázisában, s megjelenik-e az energiametabolizmus másodlagos károsodásához hasonlóan az ADC másodlagos csökkenése a reperfúzió későbbi szakaszában? Kimutatható-e kapcsolat az energiametabolizmust jelző ADC változás és a szöveti víztartalomra utaló T2 relaxációs idő változása között?

3) Egyórás fokális cerebrális ischaemia után és az azt követő 1 órás és 10 órás reperfúziós időszak végén milyen kapcsolat mutatható ki az ADC érték valamint a szöveti ATP tartalom és a szöveti pH között? Meghatározható-e egy, az energiametabolizmus károsodását (ATP deléciót) illetve a szöveti acidózist jelző ADC küszöbérték az 1 órás MCAO végén és az átmeneti fokális agyi ischaemia különböző reperfúziós időszakaiban?

4) Milyen összefüggés van a NAD szint és az energiametabolizmusban bekövetkező változás között fokális cerebrális ischaemiát követő reperfúzió során? Támogatják-e ezek az adatok a PARP (poli(ADP-ribóz) polimeráz) hipotézist,

miszerint az ATP deplécio oka a túlzott PARP aktiváció következtében kialakuló NAD hiány lenne?

2.2. Humán vizsgálataink motivációi és célkitűzései

Az agyi keringés szabályozásában mind az agyi vérátáramlás állandóságát biztosító autoreguláció, mind a neuronális aktiváció hatására kialakuló lokális vérátáramlás fokozódását magába foglaló neurovaszkuláris kapcsolat kulcsszerepet játszik. Munkánk során az agyi keringés élettanának és kórélettanának mélyebb megismerését, az agyi vérátáramlás különböző hatásokra bekövetkező változásainak tanulmányozását tűztük ki célul.

Ennek során azt vizsgáltuk, hogy egészséges személyekben egyes stroke rizikófaktorok, valamint az agyi erekre ható vazóaktív stimulusok befolyásolják-e az agyi erek reaktivitását. Két nagy kérdést szerettünk volna ezen belül megválaszolni:

1) Hogyan befolyásolják az agyi rezisztenciaerek működését egyébként egészséges fiatalokban olyan stroke rizikófaktoroként számon tartott tényezők, melyek a populáció jelentős részét érintik. A kérdést specifikálva: stroke rizikófaktorok, mint az alkoholfogyasztás, illetve a dohányzás gátolják-e az ortosztatikus stressz okozta csökkent agyi perfúziós nyomás kompenzálásához, illetve a neurovaszkuláris kapcsolat működéséhez szükséges cerebrális vazodilatációt?

A kérdés megválaszolásához megvizsgáltuk, hogy

- az akut alkoholfogyasztás befolyásolja-e az ortosztatikus reakció (head-up tilt teszt) kiváltotta alacsonyabb agyi perfúziós nyomás hatására jelentkező kompenzatorikus vazodilatációt?
- a krónikus dohányzás gátolja-e a vizuális stimuláció hatására kialakuló áramlási választ a látókérget ellátó arteria cerebri posteriorban (PCA), vagyis befolyásolja-e a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulását? Ha igen, a dohányzás elhagyása után fél-másfél évvel visszatér-e a neurovaszkuláris kapcsolat működése az egészséges, nem dohányosokban mért szintre?

2) Másik fő kérdésünk az volt, hogy egészséges személyekben a neuronális aktiváció hatására kialakuló lokális vazodilatációt, vagyis a neurovaszkuláris kapcsolatot befolyásolják-e az agyi rezisztenciaerek konstriktóját, illetve dilatációját okozó tényezők? Más szóval, a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulása független-e az agyi rezisztenciaerek átmérőjét befolyásoló egyéb tényezőktől?

Hogy a felvetett kérdésekre választ adjunk, megvizsgáltuk, hogy

- a potens vazodilatátor hatással bíró acetazolamid gátolja-e a neurovaszkuláris kapcsolat vaszkuláris válasza során normálisan bekövetkező vazodilatációt, más szóval acetazolamid adása után csökken-e a vizuális stimulus kiváltotta áramlási válasz a PCA-ban?

- a vazokonstrikciót okozó hipokapnia hatására csökken-e a vizuális inger indukálta áramlásváltozás mértéke a látókérget ellátó artériában?
- az ugyancsak vazokonstrikciót kiváltó indometacin, illetve az indometacinhoz hasonlóan nem szelektív, széles körben használt COX enzimet gátló naproxen károsítja-e a vizuális stimuláció indukálta áramlási választ a PCA-ban?
- Ehhez a kérdéscsoporthoz soroltuk azt a tanulmányunkat is, mely arra kereste a választ, hogy a korai vakok occipitalis kérge szerepet játszik-e az olvasásban, és milyen mértékű és dinamikájú áramlásváltozás jelentkezik Braille olvasás során ebben a régióban korai vakokban. Vizsgáltuk azt is, hogy látókban a vizuális stimuláció hatására a PCA-ban kialakuló áramlásnövekedéshez milyen mértékben járul hozzá az olvasáshoz elengedhetetlen fénystimulus és milyen mértékben maga az olvasás lényegét képező betű- és szófelismerés.

3. MÓDSZEREK

3.1. ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATAINKHOZ HASZNÁLT KÍSÉRLETI ÁLLATOK ÉS MÓDSZEREK

Az állatkísérleteket minden esetben a National Institutes of Health állatvédelmi ajánlásainak megfelelően a helyi állatvédelmi hivatalok jóváhagyásával végeztük.

3.1.1. Az angiotenzin hatásának vizsgálata permanens agyi ischaemiában

A vizsgálat célja az angiotenzin (AII) és az angiotenzin 1-es típusú receptor (AT1 receptor) szerepének a meghatározása volt cerebrális ischaemiában. Ezért az irreverzibilis ischaemiás károsodás és a penumbra méretét 1 és 24 órás permanens MCAO végén vizsgáltuk vad típusú egerekben, patkány angiotenzinogént fokozottan expresszáló és AT1 receptorhiányos transzgén egerekben. A hemodinamikai paraméterek különbségéből eredő hatások kiküszöbölése céljából in vitro tanulmányt is végeztünk, melyben vad típusú és AT1 receptorhiányos egerek embrióiból származó primer neuronális sejt kultúrát oxigén-glükóz deprivációnak tettünk ki.

Állatok, állatkísérlet

A kísérletben felnőtt nőstény egereket használtunk. A fokális cerebrális ischaemiát a bal MCA elzárásával hoztuk létre. Az állatok egy részében 1 órás, míg a másik részében 24 órás permanens MCAO-t idéztünk elő intraluminális filament módszert használva. A kísérlet befejezése előtt 45 perccel tríciummal jelölt L-[4,5-³H]-leucint, s a kísérlet vége előtt 2 perccel 14-es tömegszámú szénizotóppal jelölt

4-iodo-N-methyl-[14C]-antipyrinet adtunk intraperitoneálisan az agyi protein szintézis és agyi vérátáramlás meghatározása céljából. Az egerek agyát és szívét -20°C-os hidegkamrában távolítottuk el, s ugyanezen a hőmérsékleten az egerek agyát 20 µm vastag metszetekre vágtuk kriosztát mikrotóm segítségével.

ATP szint, agyi protein szintézis, agyi vérátáramlás regionális meghatározása

Az ATP szintet ATP specifikus biolumineszcenciás módszerrel, a protein szintézist és az agyi vérátáramlást [14C]-[3H] dupla-nyomjelző izotóp-technikával vizsgáltuk. A biolumineszcenciás és autoradiográfiás képeket CCD kamerával digitalizáltuk. Az ATP térképeken a károsodott energiametabolizmus területét a kontralaterális félteke ATP koncentráció átlagának 30%-ánál kisebb értéke alapján, míg a fehérjeszintézis károsodását jelző küszöbértéket az ellenoldali, ischaemiát nem szenvedett félteke legalacsonyabb fehérjeszintézis értéke alapján definiáltuk. Az ATP hiányos és gátolt fehérjeszintézist mutató területeket a caudatum-putamen szintjében mértük és az ellenoldali féltekében mért átlagérték százalékában fejeztük ki.

Az energiametabolizmus és a fehérjeszintézis károsodását előidéző véráramlási küszöböt úgy határoztuk meg, hogy az ATP biolumineszcenciás térképet, a fehérjeszintézis és véráramlás autoradiográfiás képeket egymásra helyeztük, s az ipsilaterális féltekében minden 10 mL/100 g/min értékhatárban meghatároztuk az ATP és proteinszintézis felvételeken a pixelek számát. Ezen pixelek közül a metabolikus károsodást mutató pixelek arányát meghatároztuk, s azt minden áramlási értékhatáron belül százalékos értékben fejeztük ki. A perfúziós küszöböt annál az interpolált véráramlási értéknél definiáltuk, melynél a pixelek 50%-a jelzett metabolikus károsodást.

Neuronális sejt kultúra, oxigén-glükóz depriváció és sejthalál analízis

A primer cerebrális cortex neuronális sejt kultúrát vad típusú és AT1 receptorhiányos egerek embrióiból kaptuk. A sejteket oxigén és glükóz deprivációnak tettük ki 120 percre úgy, hogy a sejteket glükóz hiányos sóoldatba helyeztük s a pO_2 -t 2 Hgmm alatt tartottuk. Az AT1 receptorok farmakológiai gátlásához a vad típusú egerek sejt kultúráját vízben oldott losartannal 1 órával az oxigén-glükóz deprivációt megelőzően előkezeltük. A losartan koncentrációja a mediumban 1 illetve 10 µM volt. Az oxigén-glükóz depriváció után 24 órával a neuronális károsodás kvantitatív meghatározásához a medium laktát-dehidrogenáz (LDH) koncentrációját mértük.

3.1.2. Az ADC követése valamint az MR és metabolikus paraméterek kapcsolatának vizsgálata átmeneti agyi fokális ischaemiában

MR vizsgálatainkkal arra kerestünk választ, hogy 1 órás átmeneti agyi fokális ischaemia reperfüziós szakában az ADC értékek az ATP-hez hasonlóan javulnak-e a reperfüzió korai, s rosszabbodnak-e a reperfüzió későbbi fázisában, más szóval a

diffúzió súlyozott MR vizsgálattal kimutatható-e az ADC másodlagos csökkenése (**ADC másodlagos csökkenését vizsgáló kísérlet**). Egy másik tanulmányunkban (**ATP hiány és ADC csökkenés közötti korrelációt vizsgáló kísérlet**) azt vizsgáltuk, hogy az ischaemiás időszakhoz hasonlóan ki lehet-e mutatni a reperfúzió idején is az energiametabolizmus és az ADC érték közötti kapcsolatot, s meghatározható-e egy, az energiametabolizmus károsodását (ATP deléciót) illetve a szöveti acidózist jelző ADC érték az 1 órás MCAO végén és az azt követő reperfúziós fázisban.

Állatok, állatkísérlet

A kísérletekben 300-350 g Wistar patkányokat operáltunk. A megoperált állatokat stereotaxiás tartóba tettük, majd 4.7 Teslárs állat MR-be helyeztük. A jobb MCA elzárása az MR-ben történt, egy úgynevezett távolról mozgatható 4-0 nylon fonál (4-0 Prolene, Ethicon, Norderstedt, Németország) segítségével, melynek a disztális végét szilikonnal 0.28-0.30 mm átmérőjűre vastagítottunk.

Mágneses rezonancia képalkotás

A mágneses rezonancia méréseket Bruker Biospec típusú (Bruker Medical, Ettlingen, Németország) 4.7 T, 30 cm belső átmérőjű készülékkel végeztük. A vizsgálat során 6-szeletes, különböző grádiens erősséggel készült diffúzió súlyozott (DWI) felvételeket rögzítettünk, melyekből az ADC (apparent diffusion coefficient) értékeket pixelenként kiszámítottuk. A DWI felvételek mellett egyszeres perfüzió-súlyozott (PWI) felvételt készítettünk az MCA ellátási területének a központjában (a caudatum-putamen szintjében), melyhez artériás spin-jelölés technikát használtunk. A fentieken túl az **ADC másodlagos csökkenését vizsgáló kísérletünkben** 6-szeletes T2-súlyozott felvételek is történtek azokban a síkokban, ahol a DWI képek készültek.

Mérési protokoll

Az **ADC másodlagos csökkenését vizsgáló kísérletünkben** 5 Wistar patkányt vizsgáltunk. A vizsgálatban 1 órás MCAO-t követően 10 órás reperfúziós időszakot tanulmányoztunk. A kísérlet során 6-szeletes DWI vizsgálat, 6-szeletes T2-súlyozott felvétel és egyszeres PWI felvétel történt az MCAO előtt, az 1 órás MCAO végén, a reperfúzió első 30 percében, majd a reperfúzió minden órájának a végén.

Az **ATP hiány és ADC csökkenés közötti korrelációt vizsgáló kísérlethez** 14 Wistar patkányt használtunk. Az állatokban az MCA-t 1 órára elzártuk, majd a reperfúzió tervezett idejétől függően az állatokat 3 csoportra osztottuk. Négy állatban (I. csoport) nem történt reperfúzió, míg 5-5 patkányban 1 órás (II. csoport) és 10 órás reperfúzió (III. csoport) után fejeztük be a kísérletet. A kísérlet során 6-szeletes DWI vizsgálat, és egyszeres PWI felvétel történt a kísérleti fázisok (MCAO előtt, MCAO,

reperfúzió) minden órájában. Az állatokat a kísérlet végén, rögtön az utolsó MR mérés után folyékony nitrogénben lefagyasztottuk.

Képanalízis

A kvantitatív ADC és T2 térképeket, valamint a normalizált perfúzió súlyozott képeket Macintosh Power PC 7200/66 (Apple, Cupertino, CA, U.S.A.) számítógép segítségével dolgoztuk fel. A képanalízishez az IMAGE képanalizáló szoftvert (NIH, Bethesda, MD, U.S.A.) használtuk. Az **ADC másodlagos csökkenését vizsgáló kísérletünkben** az adatok értékeléséhez relatív ADC, relatív perfúziós szignál intenzitás és relatív T2 térképet készítettünk úgy, hogy az identikus pixelekből az ischaemia és a reperfúzió során mért értékeket az ischaemia előtti kontroll időszakban mért érték százalékában fejeztük ki. Az ischaemiás károsodást szenvedett területet a MCAO alatt és a károsodott területet a reperfúzió során a kontroll érték 80%-ánál kisebb relatív ADC értéket mutató pixelek összességéként határoztuk meg (ezt tekintettük a lézió jelzőjének). Azért a 80% relatív ADC értéket választottuk a károsodás/lézió jelzőjének, mert ez korrelált az ATP hiánnyal a permanens ischaemia akut fázisában. Az ischaemiát szenvedett féltekében a félteki lézió térfogatát (HLV) az ipszilaterális félteki térfogatának százalékában fejeztük ki.

Az ischaemiás időszak végén mért, 80% alatti relatív ADC értékkel jellemezhető pixeleket 3 csoportba soroltuk attól függően, hogy hogyan változott a relatív ADC érték a reperfúzió korai és a reperfúzió későbbi szakaszában. Ez alapján a következő alcsoportokat képeztük:

- „helyreállt” szövet: pixelek, melyekben a relatív ADC érték a reperfúzió első 2 órájában elérte a legalább 80% relatív ADC értéket, s mindvégig ezen érték fölött maradt a reperfúzió későbbi időszakában is
- „másodlagos rosszabbodást mutató” szövet: pixelek, melyekben a relatív ADC érték a reperfúzió első 2 órájában elérte a legalább 80% relatív ADC értéket, de a reperfúzió későbbi időszakában ismét 80% alá csökkent
- „javulást nem mutató” szövet: pixelek, melyekben a relatív ADC érték a reperfúzió során nem érte el a 80%-ot.

Az ATP hiány és ADC csökkenés közötti korrelációt vizsgáló kísérletünkben az adatok értékeléséhez relatív ADC és relatív perfúziós szignál intenzitás térképet készítettünk úgy, hogy az identikus pixelekből az ischaemia és a reperfúzió során mért értékeket az ischaemia előtti kontroll időszakban mért érték százalékában fejeztük ki. A relatív ADC térképeken a lézió területét minden szeleten több relatív ADC küszöbértéknél is meghatároztuk: a meghatározás során a relatív ADC küszöbértékeket 60-100% között 2%-onként módosítottuk. Az ischaemiát szenvedett féltekében a félteki lézió térfogatát (HLV) az ipszilaterális félteki

térfogatának százalékában fejeztük ki. A HLV-t különböző relatív ADC küszöbértékek mellett mindhárom csoportban meghatároztuk az 1 órás ischaemiás időszak végén, valamint a II. csoportban az 1 órás, a III. csoportban a 10 órás reperfúzió végén is, s egy relatív ADC (x tengely) – HLV (y tengely) grafikont rajzoltunk.

Biokémiai vizsgálatok az ATP hiány és ADC csökkenés közötti korrelációt vizsgáló kísérletünkben

A patkányok agyát -20°C -os hidegkamrában távolítottuk el, s ugyanezen a hőmérsékleten $20\ \mu\text{m}$ vastag metszeteket készítettünk kriosztát mikrotóm segítségével. Az ADC szeletekkel megegyező síkokból származó metszetekből ATP és glükóz térképet készítettünk biolumineszcenciás módszerrel, valamint szöveti pH térképet umbelliferone fluoreszcenciás technikával. A féltekei lézió térfogatát a csökkent ATP szint és a szöveti acidózis alapján is meghatároztuk, s azt az ipsilaterális félteke térfogatának százalékában fejeztük ki.

Az ATP hiány és ADC csökkenés közötti korrelációt vizsgáló kísérletünkben a csökkent energiametabolizmust (csökkent ATP szintet) és a szöveti acidózist jelző relatív ADC küszöböt oly módon határoztuk meg, hogy a megfelelő relatív ADC (x tengely) – féltekei lézió térfogat (y tengely) grafikonon bejelöltük a csökkent ATP szint, illetve a szöveti acidózis alapján meghatározott féltekei lézió térfogatot.

3.1.3. Átmeneti agyi ischaemia hatása az agyi energiametabolizmusra és NAD szintre egerekben

A rövid fokális cerebrális ischaemiát követő reperfúzió során jelentkező energiametabolizmus javulását, majd másodlagos károsodását vizsgálva felvetették, hogy a másodlagos ATP depléció hátterében a PARP enzim túlzott aktivációja miatti NAD felhasználás állna. Ennek a kérdésnek a vizsgálata céljából 1 órás MCAO és azt követő különböző reperfúziós idők végén vizsgáltuk a szöveti ATP és NAD tartalmat.

Állatok, állatkísérlet

A kísérletekhez 20-25 g C57 Black egereket ($n=15$) operáltunk. A fokális cerebrális ischaemiát a bal MCA elzárásával hoztuk létre, melyhez intraluminális filament technikát használtunk. Egyórás MCAO, illetve 1, 3, 6, és 24 órás reperfúzió után az állatokat ($n=3$ minden csoportban) folyékony nitrogénben lefagyasztottuk.

Biokémiai analízis

Az egerek agyát -20°C -on távolítottuk el, s ugyanezen a hőmérsékleten $20\ \mu\text{m}$ vastag metszetekre vágtuk kriosztát mikrotóm segítségével. A szeletekből ATP biolumineszcenciás meghatározással ATP tartalmat, míg a szövetblokk felszínéről fluoreszcenciás módszerrel NADH tartalmat vizsgáltunk. Emellett, ugyancsak -20°C -

on szövetmintát vettünk a jobb és bal MCA ellátási területéről adenilát (ATP, ADP, AMP) és NAD meghatározásra. A NAD szintet a Nisselbaum és Green által leírt enzimatiszus láncreakció segítségével, míg az agyszövet extraktum ATP, ADP és AMP koncentrációját HPLC-vel (Kontron Instruments, Neufahrn, Németország) mértük.

3.2. HUMÁN TANULMÁNYAINKBA BEVONT ÖNKÉNTESÉK ÉS AZ ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Humán vizsgálatainkat minden esetben a megfelelő etikai bizottságok (Debreceni Egyetem Klinikai Központ Regionális és Intézményi Kutatás-etiikai Bizottsága, illetve Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatás-etiikai Bizottság) engedélyével végeztük. Az önkénteseket mindig részletesen tájékoztattuk a kísérleti eljárásokról és a vizsgálat lehetséges kockázatairól, és minden önkéntes a tájékoztatást követően írásban beleegyezését adta a vizsgálat elvégzéséhez.

3.2.1. Az akut alkoholfogyasztás hatása az agyi hemodinamikai változásokra egészséges személyekben ortosztatikus stressz során

A tanulmányban azt vizsgáltuk, hogy a hemodinamikai paraméterek (vérnyomás, szívfrekvencia, agyi véráramlási sebesség az MCA-ban, cerebrovaszkuláris rezisztencia) hogyan változtak a dönthető asztallal kivitelezett 70 fokos szögben történő 10 perces állítás (head-up tilt fázis; HUT fázis) hatására alkoholfogyasztás előtt és azt követően 1 órával.

Személyek és vizsgálatok

Húsz egészséges hallgatót (11 férfi, 9 nő, átlagéletkor: 23 ± 2 év) vontunk be a vizsgálatba, melynek során nem-invazív módon folyamatosan monitoroztuk a szívfrekvenciát (HR), szisztolés vérnyomást (sBP), diasztolés vérnyomást (dBP) és az artériás középvernyomást (mBP). Az MCA-ban folyó vér áramlási paramétereit TCD segítségével (Multidop T2, DWL, Überlingen, Németország) folyamatosan rögzítettük mindkét oldalon. A fentiekben túl meghatároztuk a cerebrovaszkuláris rezisztencia indexet (CVRi), melyet az MCA szintjére számított artériás középvernyomás (mBPMCA) és az MCA-ban mért átlagos áramlási sebesség (MFVMCA) hányadosaként kaptunk: $CVRi = mBPMCA / MFVMCA$. Ahhoz, hogy a HUT fázis során az MCA szintjében mérhető artériás középvernyomást megkapjuk, a közel függőleges helyzetbe állított önkéntesekben a szív magasságában mért mBP érték korrekciójára volt szükség. A számítás során tekintetbe vettük a szív és a temporális csontablak (MCA szint) közötti távolság függőleges összetevőjét, és az MCA szintjében a hidrosztatikai nyomásból adódó csökkenés mértékét.

Kísérleti protokoll

A kísérleti protokoll egy 30 perces nyugalmi fázist (az önkéntesek hanyatt feküdtek) és egy 10 perces HUT fázist (a résztvevőket 70 fokos szögben felállítottuk) foglalt magában a kontroll periódusban (alkoholfogyasztást megelőzően) és a teszt periódusban (alkoholfogyasztást követően) egyaránt. A kontroll periódust követően az önkéntesek a kb. 1 % véralkohol-szint eléréséhez szükséges alkohol mennyiséget (vodka, 37,5% alkoholtartalom) 10 perc alatt fogyasztották el, majd 30 perc várakozás után ugyanazt a protokollt hajtottuk végre, mint alkoholfogyasztás előtt, vagyis 30 perc hanyatt fekvő helyzetet követően 10 perces HUT tesztet végeztünk.

3.2.2. A dohányzás és a dohányzás elhagyásának hatása a vizuális stimuláció kiváltotta áramlási válaszra

Tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy a dohányzás károsítja-e a vizuális stimuláció és a következményes occipitalis kérgi aktiváció kiváltotta vérátáramlás-növekedéshez, vagyis a neurovaszkuláris kapcsolathoz szükséges vazodilatációt, s ha igen, akkor ez a károsodás reverzibilis-e a dohányzás elhagyása után.

Személyek és vizsgálatok

Harminckét fiatal, 18-38 év közötti egészséges önkéntest vontunk be a vizsgálatba (16 dohányos, 16 nem dohányos; 8 férfi, 8 nő mindkét csoportban).

A dohányzás elhagyásának hatását vizsgáló tanulmányunkba 15 permanens dohányost, 15 nem dohányzó személyt, valamint 15 olyan korábbi dohányost válogattunk be, akik a vizsgálat előtt több, mint 6 és kevesebb, mint 18 hónappal abbahagyták a dohányzást.

Funkcionális transzkraniális Doppler (fTCD) vizsgálat a vizuális stimuláció (olvasás) hatásának a vizsgálatára

A látókéreg aktivációjának eredményeként az arteria cerebri posteriorban (PCA) bekövetkezett áramlási sebesség változását TCD-vel vizsgáltuk (Multidop T2, DWL, Überlingen, Németország).

A vizsgálataink során a csúcsszisztolés, az átlag- és a végdiasztolés sebességet regisztráltuk. Mivel a Doppler műtermékek a csúcsszisztolés sebességet befolyásolják a legkevésbé a vizsgálatok értékelésekor ezt a paramétert használtuk. A funkcionális Doppler vizsgálatához vizuális stimulációként egy érzelmileg semleges szöveget tartalmazó könyv hangtalan olvasására kértük az önkénteseket. A vizsgálat során az önkéntesek 20 másodpercig a szemüket csukva tartották (nyugalmi fázis), majd kinyitották és 40 másodpercig olvastak (stimulációs fázis). Ezt az egy perces ciklust 10 alkalommal megismételtük, s a sebességértékeket minden személyben átlagoltuk (Vascochecker software; DWL, Sipplingen, Germany).

Azért, hogy az egyes személyek adatait összehasonlíthassuk, az abszolút sebesség alapján meghatároztuk a relatív áramlási sebességértékeket is úgy, hogy az aktuális abszolút áramlási sebességet a szemcsukás utolsó 5 másodpercében mért nyugalmi áramlási sebességhez viszonyítottuk és annak százalékában fejeztük ki. A maximális relatív áramlási sebességnövekedés meghatározásához az olvasás (stimulációs fázis) során mért legmagasabb relatív áramlási sebességet használtuk.

A fentiekén túl vizuális kiváltott válasz (VEP) vizsgálatok is történtek a látókéreg aktivitásának becslésére.

3.2.3. Az acetazolamid (AZ) kiváltotta vazodilatáció hatása a neurovaszkuláris kapcsolatra

Az AZ neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatásának vizsgálatokor arra kerestünk választ, hogy az AZ maximális hatásának idején, amikor az agyi rezisztenciaerek jelentősen kitágulnak, a neurovaszkuláris kapcsolat során megfigyelhető-e további vazodilatáció.

Személyek és vizsgálatok

A vizsgálatba 10 egészséges, 20-45 év közötti életkorú személyt vontunk be. A vizsgálat során minden önkéntesben két alkalommal végeztünk funkcionális TCD tesztet a vizuális stimuláció (olvasás) hatásának a vizsgálatára: az egyik vizsgálatot az AZ adás előtt, a másikat utána. A módszert a dohányzás hatását vizsgáló tanulmányunk módszertani részében ismertettük.

Kísérleti protokoll

A TCD szondák rögzítését követően a nyugalmi áramlási paramétereket rögzítettük. Ezt követően elvégeztük az első fTCD tesztet, majd 15 mg/kg AZ intravénás beadása után 10 perccel a második fTCD teszt végrehajtására került sor.

3.2.4. A hiperventiláció kiváltotta hipokapnia és NSAID készítmények hatása a neurovaszkuláris kapcsolatra

A vazokonstrikció neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatását elemző tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy a hiperventiláció kiváltotta hipokapnia és egyes NSAID-ok, mint potenciális vazokonstriktor tényezők, gátolják-e a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges vazodilatációt, vagyis mérséklék-e a vizuális stimuláció kiváltotta áramlászváltozást a PCA-ban. Az NSAID neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatásának a vizsgálatokor az indometacin és egy másik nem-szelektív NSAID, az ugyancsak széles körben használt, de kevésbé vizsgált naproxen neuronális aktiváció indukálta áramlási válaszra kifejtett hatását tanulmányoztuk.

Vizsgálati személyek és alapvizsgálatok

A hipokapnia hatásának a vizsgálatához 14 (7 férfi és 7 nő), az NSAID hatás tanulmányozásához 15 (8 férfi és 7 nő) fiatal (átlagéletkor: 25 ± 4 év mindkét vizsgálatban), egészséges, önkéntest vontunk be. Vizsgálataink során funkcionális TCD (fTCD) és vizuális kiváltott válasz (VEP) tesztekét végeztünk.

A hipokapnia előtti és utáni, illetve a gyógyszermentes és NSAID kezelés utáni vizuális stimuláció (olvasás) során regisztrált PCA áramlási adatok összehasonlítása céljából meghatároztuk a relatív áramlási sebességértékeket is. Mivel mind a hipokapnia, mind az NSAID hatás vizsgálatakor több fTCD tesztet végeztünk, minden egyes fTCD teszt esetén külön meghatároztuk a nyugalmi áramlási sebességet, s a relatív áramlási sebességértékeket az egyes fTCD tesztek során a megfelelő nyugalmi abszolút áramlási sebességértékek százalékában fejeztük ki.

Vizsgálati protokollok

A hipokapnia (respirációs alkalózis) indukálta vazokonstrikció neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatásának vizsgálata során először normál légzésszám mellett (normoventiláció) határoztuk meg a vizuális stimuláció kiváltotta véráramlási sebességváltozást a PCA-ban és végeztünk VEP vizsgálatot, majd ugyanazon vizsgálati személyt percenként 35-40 légvételre kértünk öt percen át (hiperventilációs fázis), s ekkor is elvégeztük a fTCD és VEP vizsgálatot.

Az NSAID-ok (indometacin és naproxen) hatását tanulmányozó vizsgálatainkban minden önkéntesben három alkalommal végeztünk funkcionális TCD és VEP vizsgálatot. Először a kontroll fázisban, majd 2 napig tartó, napi 3-szor 25 mg indometacin bevétele után (indometacin fázis), s végül, négy héttel később, 2 napig tartó, napi kétszer 550 mg naproxen szedése után (naproxen fázis).

3.2.5. Látó és vak személyek PCA-ban mérhető áramlási válasza nyomtatott szöveg, illetve Braille írás olvasásának a hatására

Az elmúlt 3 évtizedben igazolták, hogy vakokban Braille írás olvasása során aktiválódik a látókéreg, s ennek következtében az aktivált területben nő a regionális vérátáramlás. Arra kerestünk választ, hogy TCD-vel kimutatható-e a vakokban Braille írás olvasásakor áramlási sebességváltozás a PCA-ban, és ha igen, akkor milyen ennek a változásnak a mértéke és dinamikája a látókban mért értékekhez képest.

Személyek

Tizenegy egészséges kongenitális vagy korai vak felnőttet (8 férfi, 3 nő, átlagéletkor: 23 ± 5 év) és tíz, korban és nemből egyező egészséges látó személyt (7 férfi, 3 nő, átlagéletkor: 22 ± 4 év) vontunk be a tanulmányba.

Kísérleti elrendezés

Az olvasás egy komplex stimulus: olvasáskor a betű- és szófelismerésen, vagyis a szorosan értelmezett olvasáson túl látókban fényre, vakokban pedig a kéz és ujj mozgására, s a Braille jelek tapintására is szükség van. Ahhoz, hogy önmagában az olvasás (betűfelismerés/szófelismerés) hatását is vizsgálhassuk, mind a vakok, mind a látók csoportjában két különböző kísérleti protokollt használtunk, melyekkel a fényinger illetve az ujjmozgás/tapintás, mint stimulus hatását semlegesíteni tudtuk. A következő kísérleti elrendezéseket használtuk:

Látó/Nyugalom-Olvadás; Látó/NLC-Olvadás;

Vak/Nyugalom-Olvadás; Vak/NLC-Olvadás.

A két kísérleti protokoll egyikében (Látó/Nyugalom-Olvadás protokoll) a látó alanyok 20 másodpercre bezárták a szemüket (kontroll fázis - Nyugalom), és közben nem csináltak semmit, majd 40 másodpercig egy emocionálisan semleges szöveget olvastak (stimulációs fázis - Olvadás). A másik kísérleti elrendezésben (Látó/NLC-Olvadás protokoll) a látó résztvevők a kontroll fázisban nem-lexikális karaktereket (NLC) „olvastak” (néztek). A nem lexikális karakterek pontok, vesszők, pontosvesszők, kettőspontok és kötőjelek kombinációját (pl.:...,-:,-:...,) tartalmazták. A nem lexikális karakterek nézése 20 másodpercig tartott (kontroll periódus-NLC), melyet követően a résztvevők egy emocionálisan semleges szöveget olvastak 40 másodpercig (stimulációs fázis-Olvadás). A 20 másodperces kontroll és a 40 másodperces stimulációs fázisból álló 1 perces ciklust 10 alkalommal ismételtük, s a mért eredményeket átlagoltuk.

A vak önkéntesek vizsgálatakor a vizsgálati személyek a kísérlet teljes hossza alatt zárva tartották a szemüket. A vak résztvevők a két kísérleti protokoll egyikében (Vak/Nyugalom-Olvadás protokoll) csukott szemmel ültek, s nem csináltak semmit a 20 másodperces kontroll periódus során (Nyugalom), majd a 40 másodperces stimulációs fázis alatt egy emocionálisan semleges Braille-szöveget (tartalmilag ugyanazt, mint a látó alanyok) olvastak csendben (Braille olvasás). A másik protokollban (Vak/NLC-Olvadás protokoll) a vakokat arra kértük, hogy a kontroll fázisban nem-lexikális karakterjeleket (NLC) „olvassanak” (tapintsanak), melyek pontok, vesszők, pontosvesszők, kettőspontok és kötőjelek kombinációját tartalmazták (pl.:...,-:,-:...,). A 20 másodpercig tartó NLC fázist (kontroll periódus-NLC) követően a stimulációs fázisban egy emocionálisan semleges Braille-szöveget olvastak csendben 40 másodpercig (stimulációs fázis-Braille olvasás). A 20 másodperces kontroll és a 40 másodperces stimulációs fázisból álló 1 perces ciklust a vak önkéntesekben is 10 alkalommal ismételtük, s a mért értékeket átlagoltuk.

A „Nyugalom-Olvadás” protokoll (amikor a résztvevők a kontroll fázisban csukott szemmel ültek és nem csináltak semmit) stimulációs periódusában a látó személyek nyomtatott szöveget olvastak, miközben fénystimulus is érte őket

(fénystimulus + nyomtatott szöveg olvasása), míg a vak személyek Braille írást olvastak és szükségszerűen mozgatták a kezüket és mutatóujjukat, hogy kövessék és tapintsák a Braille-jeleket (kéz/ujjmozgás + Braille-olvasás). Ez azt jelenti, hogy a stimulációs fázisban a betűk/szavak felismerése és a jelentéstartalommal bíró szöveg megértése mellett más ingerek is érték az önkénteseket: a látó személyeket fény, a vak személyeket a kéz és a mutatóujj mozgatása. A „Nyugalom-Olvasás” protokollal ellentétben az „NLC-Olvasás” elrendezésben a látó alanyok nem-lexikális karaktereket néztek, míg a vak résztvevők nem-lexikális Braille-jeleket követtek és tapintottak a kontroll periódusban („NLC” fázis). Így az „NLC-Olvasás” kísérleti elrendezés stimulációs fázisában csak a betűfelismerés/szófelismerés és a jelentéstartalommal bíró szöveg megértése volt új inger. Ennek a két protokollnak a használata lehetővé tette számunkra, hogy külön meghatározzuk a „fénystimulus + betűfelismerés/szófelismerés” és a „kéz/ujjmozgás + betűfelismerés/szófelismerés” kombinált hatását látó és vak személyekben („Nyugalom-Olvasás” protokoll), valamint a „csak betűfelismerés/szófelismerés” hatását látó és vak önkéntesekben („NLC-Olvasás” protokoll). Fél órával az fTCD vizsgálatot követően VEP vizsgálatot végeztünk.

4. EREDMÉNYEK

4.1. ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATAINK EREDMÉNYEI

4.1.1. Az angiotenzin hatásának vizsgálata permanens agyi ischaemiában

Kísérletünkben 1 és 24 órás permanens MCAO során a protein szintézis és az energiametabolizmus alakulását vizsgáltuk angiotenzinogént fokozottan expresszáló (TGM123), valamint angiotenzin AT1 receptorhiányos transzgén egerekben és vad típusú társaikban.

Bár a TGM123 angiotenzinogént overexpresszáló állatokban szignifikánsan magasabb artériás középnyomást mértünk, az ATP hiány alapján meghatározott lézió mérete 1 órás MCAO után nem különbözött a vad típusú kontroll állatokban mért értékektől. Ugyanakkor, 1 órás MCAO után a gátolt cerebrális protein szintézis és az ATP hiányos terület különbségeként definiált penumbra mérete szignifikánsan kisebb volt a TGM123 egerekben (az ellenoldali félteke méretének $2.2 \pm 0.8\%$ -a), mint a vad típusú kontroll társaikban (az ellenoldali félteke méretének $12.5 \pm 4.6\%$ -a; $p < 0.01$). A 24 órás permanens MCAO után az ATP hiányos terület kisebb volt a vad típusú állatokban a transzgén egerekhez képest, de a penumbra mérete elhanyagolható volt mindkét csoportban (transzgén egerek: $1.2\% \pm 1.7\%$, vad típusú állatok: $0.3 \pm 0.7\%$).

Mivel az angiotenzin (AII) vazokonstriktor hatása jól ismert, megvizsgáltuk, hogy van-e hemodinamikai különbség a transzgén és a vad típusú egerek között. Az 1

órás MCAO-t követően az ischaemiás magban a vérátáramlás szignifikánsan alacsonyabb volt a TGM 123 egerekben (3.8 ± 1.7 mL/100g/min), mint a kontroll állatokban (7.6 ± 2.7 mL/100 g/min; $p < 0.05$). A penumbra régióban a vérátáramlás ugyancsak a TGM123 állatokban (23.0 ± 5.3 mL/100g/min) volt alacsonyabb a vad típusú egerekhez képest (36.2 ± 5.2 mL/100 g/min; $p < 0.01$). A regionális vérátáramlás 24 órás MCAO után a lézió területében mérve a TGM123 egerekben 2.9 ± 2.7 mL/100g/min volt, míg a vad típusú egerekben 7.2 ± 2.9 mL/100 g/min ($p < 0.02$).

Az AT1 receptor jelentősége fokális cerebrális ischaemiában

Mivel az angiotenzin a hatását, legalábbis részben, az AT1 receptoron (AT1R) fejt ki, megvizsgáltuk, hogy AT1R hiányos transzgén egerekben és vad típusú társaikban hogyan alakul az ischaemiás mag és a penumbra mérete permanens MCAO-ban. Szemben az angiotenzinogént overexpresszáló TGM123 egerekkel, az AT1R hiányos állatokban az artériás középvérnyomás alacsonyabb volt, mint a vad típusú társaikban. Az ATP hiány alapján meghatározott ischaemiás lézió térfogata 1 óra MCAO után az AT1R hiányos egerekben kisebb volt (az ellenoldali félteke $53.9 \pm 7.3\%$ -a), mint a kontroll állatokban (az ellenoldali félteke $64.9 \pm 4.6\%$ -a, $p < 0.05$), míg a gátolt cerebrális protein szintézis területe nem különbözött a két csoport között. A penumbra mérete 1 órás MCAO után szignifikánsan nagyobb volt az AT1R hiányos egerekben ($14.7 \pm 4.1\%$), mint a kontrollokban ($7.7 \pm 3.5\%$, $p < 0.05$). A 24 órás MCAO után mindkét csoportban hasonlóan kisméretű volt a penumbra (AT1R hiányos egerek: $1.7 \pm 2.9\%$, vad típus: $0.5 \pm 0.4\%$). Egyórás MCAO után az AT1R hiányos egerekben nagyobb átlagos vérátáramlást mértünk, mint a vad típusú társaikban mind az ischaemiás magban, mind a penumbrában. A lézió területében mért vérátáramlás 24 órás MCAO-t követően hasonló volt az AT1R hiányos és a kontroll egerekben.

Ischaemia indukálta metabolikus eltérések

Pixel analízist használva a kettős autoradiográfias jelöléssel készült CBF és CPS képek (CBF: agyi vérátáramlás és CPS: agyi protein szintézis) és az ATP biolumineszcenciás képek kombinálásával meghatározható az a vérátáramlási érték, mely érték alatt az energiametabolizmus és/vagy a cerebrális protein szintézis károsodik fokális cerebrális ischaemiában.

Egyórás MCAO során az ATP deplécióért, vagyis az energiametabolizmus zavaráért felelős CBF küszöbérték az angiotenzinogént overexpresszáló egerekben jelentősen magasabb volt (29 ± 1 mL/100g/min), mint a vad típusú állatokban (20 ± 6 mL/100g/min; $p < 0.05$). Ez azt jelenti, hogy az angiotenzinogént fokozottan expresszáló egerek érzékenyebbek voltak az ischaemiára, mint a vad típusú társaik, hisz esetükben már enyhébb ischaemia is elegendő volt az energiametabolizmus károsodásának a kialakulásához. Ezzel szemben, bár az AT1R hiányos egerekben az

energiametabolizmus zavarát okozó CBF küszöbérték (18 ± 2 mL/100g/min) csak tendenciájában volt alacsonyabb, mint a kontroll állatokban (23 ± 7 mL/100g/min), a protein szintézis gátlását előidéző CBF küszöb szignifikánsan kisebb volt (34 ± 6 mL/100g/min) a vad típusú egyedekhez (45 ± 4 mL/100g/min; $p < 0.05$) képest. Mindez azt jelzi, hogy az AT1R hiánya az agyszövetet rezisztensebbé teszi az ischaemiával szemben.

A neuronális AT1 receptor ischaemiás károsodásra gyakorolt hatásának in vitro vizsgálata

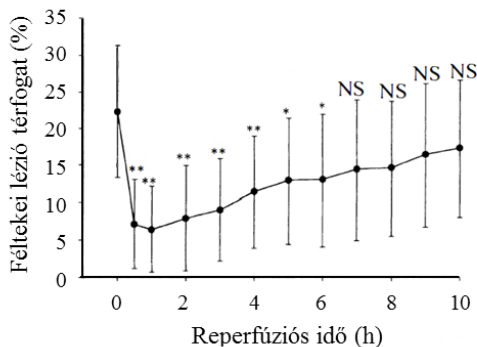
Vad típusú egerek kortikális neuronjaiból készített primer neuronális sejt kultúrában 120 perces oxigén-glükóz deprivációt követően jelentősen nőtt az LDH aktivitás, melynek mértéke a neuronális károsodás mértékét jelezte. Ezzel szemben, hasonló kísérleti körülmények között az AT1R hiányos transzgén egerekből készített sejt kultúrában, s a vad típusú állatokból származott, de 1 és 10 μ M koncentrációban alkalmazott AT1R blokkoló szerrel, nevezetesen losartannal előkezelt sejt kultúrában is az LDH emelkedés szignifikánsan kisebb volt.

4.1.2. Az ADC követése valamint az MR és metabolikus paraméterek kapcsolatának vizsgálata átmeneti agyi fokális ischaemiában

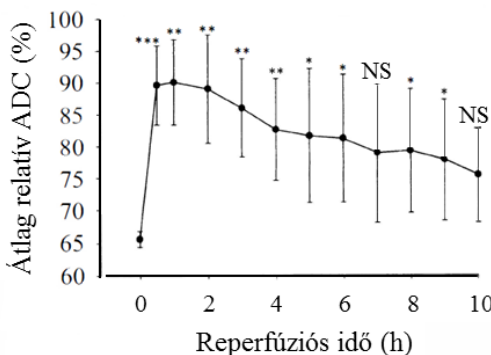
Vizsgálataink célja az volt, hogy 1 órás MCAO-t követő reperfúzió során megvizsgáljuk az MR paraméterek változását. Azt vizsgáltuk, hogy kimutatható-e az ADC értékek normalizálódása a reperfúzió korai fázisában, s megjelenik-e az energiametabolizmus másodlagos károsodásához hasonlóan az ADC másodlagos csökkenése a reperfúzió későbbi szakaszában. Egy másik kísérletben azt elemeztük, hogy egyórás MCAO után és az azt követő reperfúziós időszakban milyen kapcsolat mutatható ki az ADC érték valamint a szöveti ATP tartalom és a szöveti pH között.

Az ADC érték másodlagos károsodásának vizsgálata 1 órás átmeneti agyi fokális cerebrális ischaemia során

Az ischaemiás lézió területét az MCAO alatt és a károsodott területet a reperfúzió során a kontroll érték 80%-ánál kisebb relatív ADC értéket mutató pixelek összességéként határoztuk meg, s a féltekei lézió térfogatát (hemispheric lesion volume: HLV) az ipszilaterális félteke térfogatának százalékában fejeztük ki. Az ischaemiás időszak végén mért HLV ($22.3 \pm 9.0\%$) szignifikánsan csökkent a reperfúzió korai időszakában ($6.4 \pm 5.7\%$ 1 órával a recirkuláció után), de ezt követően ismét nőtt, s a reperfúzió 10. órájára az ischaemia végén mért lézió méretét megközelítette ($17.3 \pm 9.3\%$) (**1. ábra**). Az egyórás ischaemiás periódus végén a 80% alatti relatív ADC értékek alapján definiált ischaemiás lézió régiójában mért átlagos relatív ADC érték a reperfúzió első óráiban szignifikánsan javult, majd a recirkuláció 2. órája után ismét csökkent (**2. ábra**).



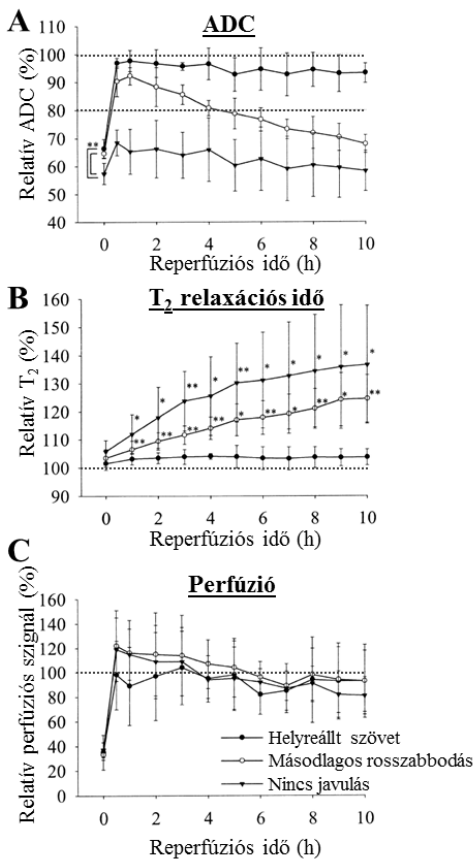
1. ábra A féltekei lézió térfogata (HLV) az ischaemiás fázis végén (0. óra) és a reperfúziós időszak különböző időpontjaiban. Míg a reperfúzió korai szakaszában szignifikánsan csökkent a HLV, 2 órával a reperfúziót követően ez ismét növekedett. Az SD vonalak fölötti jelzések az ischaemia végi értékekhez képest jelölik a szignifikáns (*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$) illetve nem szignifikáns (NS) változásokat.



2. ábra Az ischaemia végén meghatározott lézió térfogatában mért átlagos ADC időbeli változása. Az ADC az ischaemia végén (0. óra) károsodott területben a recirkuláció után szignifikánsan javult, de a reperfúzió későbbi időszakában ismét rosszabbodott. Az SD vonalak fölötti jelzések az ischaemia végi értékekhez képest jelölik a szignifikáns (*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$) illetve nem szignifikáns (NS) változásokat.

Az 1 órás ischaemiás periódus végén a 80% alatti relatív ADC értékekkel jellemezhető pixeleket 3 alcsoportba soroltuk attól függően, hogy az adott pixelben hogyan alakult a relatív ADC érték a reperfúzió első két órájában és a reperfúziós időszak végén. Ez alapján a következő alcsoportokat készítettük: „helyreállt” szövet, „másodlagos rosszabbodást mutató” szövet, „javulást nem mutató” szövet.

Az ischaemia végén mért relatív ADC érték a „javulást nem mutató” pixelektben szignifikánsan rosszabb volt (az ischaemia előtti kontroll érték $57.4 \pm 3.8\%$ -a), mint a „másodlagos rosszabbodást mutató” ($66.3 \pm 3.4\%$), vagy a „helyreállt” szövetet jelképező ($64.6 \pm 1.5\%$) pixelektben (**3. ábra**). Ugyanakkor a másodlagos rosszabbodást mutató és a „helyreállt” szövetet jelképező pixelektben az ischaemia végén mért relatív ADC érték nem különbözött szignifikánsan. Ezek az adatok azt jelzik, hogy az ischaemia végén mért alacsony relatív ADC érték az ADC normalizálódás hiányát előrejelezheti, azonban nem képes a „másodlagos rosszabbodást mutató” és a „helyreállt” szövet elkülönítésére.



3. ábra A relatív ADC, a relatív T₂ érték és a relatív perfúziós szignál intenzitás időbeli változása a „helyreállt”, a „másodlagos rosszabbodást mutató” és a „javulást nem mutató” alcsoportokban. Az ischaemia végén mért relatív ADC érték (A) szignifikánsan alacsonyabb volt a „javulást nem mutató” szöveti alcsoportban a másik két alcsoportban mért értékekhez képest (**p<0.01). Szembetűnő a relatív ADC és a relatív T₂ értékek különböző alakulása a reperfüzió korai fázisában a „másodlagos rosszabbodást mutató” pixelekből (A, B). A relatív T₂ értékeket jelző diagrammon (B): *p<0.05; **p<0.01 az ischaemia végén mért relatív T₂ értékekhez képest. A recirkuláció során egyik szöveti alcsoportban sem volt szignifikáns hipoperfúzió (C). A szaggatott vonalak az ischaemia előtti kontroll értékeket jelzik (100%). Az A diagrammon a léziót és a szöveti alcsoportokat meghatározó 80%-os relatív ADC értéket is szaggatott vonallal jelöltük.

Bár az MCAO végén meghatározott relatív T₂ érték valamivel magasabb volt a „javulást nem mutató” (105.7±4.0%) és a „másodlagos rosszabbodást mutató” csoportban, a (103.4±3.1%), mint a „helyreállt” szövetet jelképező pixelekből (101.5±2.2%), a különbség nem volt szignifikáns (**3. ábra**). Az ischaemia végén meghatározott relatív T₂ érték a reperfüzió során nemcsak a „javulást nem mutató”, hanem a „másodlagos rosszabbodást mutató” pixelekből is folyamatosan emelkedett, azonban a „helyreállt” szövetet jelző pixelekből további relatív T₂ növekedés nem volt (**3. ábra**). A relatív perfúziós szignál intenzitás vizsgálata nem jelzett szignifikáns eltérést a 3 szöveti alcsoport között.

Az MR és metabolikus paraméterek kapcsolatának vizsgálata 1 órás MCAO-t követő különböző reperfüziós idők mellett

Az ATP hiány és ADC csökkenés közötti korrelációt vizsgáló kísérlet során az MCA-t 1 órára elzártuk, majd a reperfüzió tervezett idejétől függően az állatokat 3

csoportra osztottuk. Négy állatban nem történt reperfúzió, míg 5-5 patkányban az egyórás ischaemiát követően 1 és 10 órás reperfúzió után fejeztük be a kísérletet. Az állatokat a kísérlet végén, rögtön az utolsó diffúzió-súlyozott MR mérést követően folyékony nitrogénben lefagyasztottuk biokémiai vizsgálatok céljából.

Az ADC csökkenés, az ATP hiány és a szöveti acidózis alapján meghatározott féltekei lézió térfogat (HLV)

Mindhárom csoportban az állatok folyékony nitrogénben történő fagyasztását megelőzően készült utolsó ADC felvételt használva különböző relatív ADC küszöbértékeknél meghatároztuk a féltekei lézió (HLV) térfogatát, s ezt egy relatív ADC (x tengely) – HLV (y tengely) grafikonon ábrázoltuk.

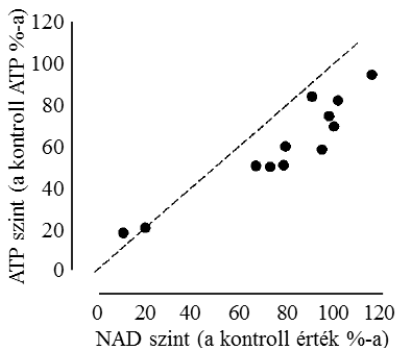
Az ATP hiány alapján meghatározott HLV az I. csoportban, ahol nem volt reperfúzió, $26.0 \pm 10.6\%$ volt, míg a II. csoportban az 1 órás reperfúzió végén ez az érték $3.3 \pm 2.4\%$, a III. csoportban a 10 órás reperfúzió végén pedig $11.2 \pm 4.7\%$ volt. Ezek az adatok, hasonlóan az ADC adatokhoz, a károsodott energiametabolizmus (ATP hiány) alapján meghatározott HLV részleges, de szignifikáns csökkenését jelezték a 1 órás reperfúziót követően ($p < 0.001$ az I. csoporthoz képest), majd a HLV növekedését mutatták 10 óra recirkuláció elteltével ($p < 0.05$ a II. csoporthoz képest). Az ATP hiányt jelző relatív ADC küszöbértéket az egyes grafikonokról leolvasva azt találtuk, hogy ez konzekvensen a kontroll érték kb. 77%-a volt a különböző csoportokban és kísérleti időszakokban. Ez azt jelenti, hogy a relatív ADC 77%-os értéke korrelál az energiametabolizmus károsodásával az 1 órás MCAO végén csakúgy, mint az 1 vagy 10 órás reperfúziót követően.

4.1.3. Átmeneti agyi ischaemia hatása az agyi energiametabolizmusra és NAD szintre egerekben

A tanulmányban a NAD szintben és az energiametabolizmusban bekövetkező változások közötti összefüggést vizsgáltuk 1 órás MCAO-t követő reperfúzió során. Arra voltunk kíváncsiak, hogy a reperfúzió során megfigyelhető másodlagos energiametabolizmus károsodás időszakában megelőzi-e a NAD tartalom csökkenése az ATP depléciót, vagyis megállja-e a helyét a PARP hipotézis.

Az ischaemia során az ATP szint a kontroll érték 20%-ra csökkent, azonban 1 illetve 3 órával a reperfúzió után a kontroll érték 69%-ára, illetve 78%-ára javult. Ebben az időszakban a NAD szint az ipszilaterális MCA régióban nem különbözött szignifikánsan az ellenoldali MCA régióban mért NAD tartalomtól, ami azt jelenti, hogy az ATP későbbi, másodlagos csökkenése hátterében nem a NAD depléción állt.

Az átmeneti agyi ischaemia okozta esetleges NAD és ATP csökkenés közötti ok-okozati összefüggés kimutatására leginkább a NAD csökkenés és ATP csökkenés mértékének az összehasonlítása alkalmas (4. ábra).



4. ábra A fokális cerebrális ischaemia és reperfúzió indukálta ATP és NAD szint változások közötti összefüggés. A kísérleti állatokban 1 órás fokális ischaemiát és 1, 3, 6 és 24 órás reperfúziót indukáltunk. A NAD és ATP szint változások meghatározása ugyanazokból az MCA területéből vett mintákból történt. A szaggatott vonal azoknak a pontoknak a halmazát jelöli, melyek azonos mértékű NAD és ATP szintet jeleznének. Kettő kivételével az összes érték ez alatt a vonal alatt volt, jelezve, hogy az ATP szint alacsonyabb volt, mint a NAD szint, vagyis az ATP tartalom nagyobb mértékben csökkent, mint a NAD tartalom.

Ha feltételezzük, hogy helyes a PARP hipotézis, mely szerint a PARP stimuláció okozta túlzott NAD felhasználás és következményes NAD hiány miatt nem termelődik ATP, akkor azt várnánk, hogy a NAD depléció mértéke megegyezne, vagy meghaladná az ATP depléció mértékét. Ezzel szemben, két minta kivételével a NAD szint csökkenése kevésbé volt kifejezett, mint az ATP depléció (**4. ábra**).

4.2. HUMÁN TANULMÁNYAINK EREDMÉNYEI

4.2.1. Az akut alkoholfogyasztás hatása az agyi hemodinamikai változásokra egészséges személyekben ortosztatikus stressz során

Egészséges személyekben azt vizsgáltuk, hogy az akut alkoholbevétel (véralkohol koncentráció: $0,91 \pm 0,11\%$) hogyan befolyásolja az ortosztatikus stressz hatására a hemodinamikai paraméterekben bekövetkező változásokat.

A HUT teszt hatása a hemodinamikai paraméterekre alkoholbevétel előtt és után

Az ortosztatikus stressz szignifikáns növekedést eredményezett a szívfrekvenciában, a szisztolés, diasztolés vérnyomásban és az artériás középvérnyomásban alkoholfogyasztás előtt és után egyaránt, miközben az agyi véráramlási átlagsebesség szignifikánsan csökkent mindkét MCA-ban. A HUT teszt által indukált relatív változások elemzése azt igazolta, hogy a szívfrekvencia növekedése szignifikánsan nagyobb, ugyanakkor az artériás középvérnyomás emelkedése szignifikánsan kisebb volt az alkoholfogyasztást követően, mint az alkoholbevétel előtt. Mind alkoholfogyasztás előtt, mind azt követően, a függőleges helyzetben tapasztalt szisztémás artériás középvérnyomás (mBP) növekedése ellenére

az MCA áramlási sebességértékek (MFVMCA) szignifikánsan csökkentek mindkét MCA-ban a fekvő állapothoz képest. Az MFVMCA-nak ez a csökkenése szignifikánsan nagyobb volt mindkét MCA-ban alkoholfogyasztás után, mint az előtt.

Bár a szív magasságában mért szisztémás artériás középvérnyomás (mBP) a HUT pozícióban szignifikánsan nőtt, az MCA szintjére korrigált vérnyomásértékek (mBPMCA) szignifikánsan alacsonyabbak voltak a vertikális pozícióban, mint a vízszintes helyzetben. Az alkoholfogyasztás előtti kontroll időszakhoz képest az alkoholbevétel követően a felállítást hatására jelentkező relatív mBP növekedés kisebb (11% vs. 15%; $p < 0,05$), míg a relatív mBPMCA csökkenés kifejezettebb (-17% vs. -14%; $p < 0,05$) volt.

Az mBPMCA és MFVMCA értékek HUT teszt által kiváltott relatív változásainak összehasonlítása az alkoholbevétel előtti kontroll és az alkoholfogyasztás utáni teszt periódusban

A kontroll periódusban, az mBPMCA és MFVMCA értékek HUT teszt által kiváltott relatív változásainak összehasonlítása azt igazolta, hogy az MFVMCA relatív csökkenése (-8 és -9 Hgmm a bal és jobb MCA-ban) szignifikánsan kisebb volt, mint az mBPMCA csökkenése (-14%). Ezzel ellentétben, alkoholfogyasztás után az MFVMCA relatív csökkenése (-15 cm/s mindkét MCA-ban) és az mBPMCA relatív csökkenése (-17%) hasonló volt. A cerebrovaszkuláris rezisztencia index (CVR_i) az alkoholfogyasztás előtti kontroll szakaszban csökkent a felállítást követően, azonban hasonló változás nem volt kimutatható alkoholbevétel után.

4.2.2. A dohányzás és a dohányzás elhagyásának hatása a vizuális stimuláció kiváltotta áramlási válaszra

Az ismételt méréses variancia-analízis alapján a vizuális stimuláció indukálta relatív csúcsszisztolés áramlási sebességnövekedés a dohányosokban szignifikánsan kisebb volt a nem dohányosokhoz képest ($p < 0,001$). A dohányzás elhagyásának hatását vizsgáló tanulmányban a vizuális stimuláció kiváltotta áramlási sebességváltozás szignifikánsan kisebb volt a korábbi dohányosokban, mint a nem dohányzóknál ($p < 0,002$), ezzel szemben nem tudtunk szignifikáns csoport-főhatást kimutatni a korábbi és a permanens dohányosok között ($p = 0,0556$), noha a különbség közel volt a szignifikanciát jelző értékhez. A maximális relatív sebességváltozás azonban, bár a korábbi dohányosokban kisebb volt, mint a nem dohányzóknál ($p = 0,0037$), de már nagyobb, mint a permanens dohányosokban ($p = 0,0132$).

4.2.3. Az acetazolamid (AZ) kiváltotta vazodilatáció hatása a neurovaszkuláris kapcsolatra

Kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy a vizuális stimuláció okoz-e további cerebrális vazodilatációt és ezzel áramlási sebességnövekedést a PCA-ban akkor is,

amikor előzetes AZ adással már a rezisztenciaerekben szignifikáns dilatációt idéztünk elő. Azt találtuk, hogy az AZ adás előtti és utáni vizuális stimuláció indukálta relatív sebességértékek nem különböztek szignifikánsan (ismételt méréses variancia-analízis; csoport-főhatás: $p = 0.43$). A maximális relatív sebességnövekedésben az AZ adás előtti ($23 \pm 4\%$) és az AZ adás után ($19 \pm 4\%$) szintén nem volt szignifikáns eltérés.

A PCA-ban mért pulzatilitási index (PI) nemcsak az AZ alkalmazása előtt, hanem azt követően is szignifikánsan csökkent a vizuális stimuláció hatására, mely csökkenés mértéke az AZ adás után ($13\% \pm 4\%$) nem különbözött szignifikánsan az AZ adás előtti értékhez ($15\% \pm 7\%$) képest. Mindez azt jelzi, hogy a vizuális stimuláció a PCA ellátási területében nemcsak a kontroll fázisban okozta a cerebrovaszkuláris rezisztencia csökkenését, de a 15 mg/kg adagban adott AZ maximális hatása alatt is.

4.2.4. A hiperventiláció kiváltotta hipokapnia és NSAID készítmények hatása a neurovaszkuláris kapcsolatra

A kísérletben azt vizsgáltuk, hogy vazokonstriktiót okozó faktorok (hipokapnia, NSAID készítmények) gátolják-e a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges cerebrális vazodilatációt.

A vizuális stimuláció indukálta áramlási teszt a normoventiláció és a hiperventiláció időszakában

A hiperventiláció és következményes hipokapnia okozta vazokonstriktió eredményeként a szemcsukás során mért nyugalmi abszolút csúcshisztolés áramlási sebesség szignifikánsan csökkent ($p < 0.01$), míg a pulzatilitási index értéke szignifikánsan nőtt ($p < 0.01$) a normoventilációs értékekhez képest.

Ismételt méréses variancia-analízist használva, a stimulációs fázisban mért relatív áramlási sebességértékekben szignifikáns különbséget észleltünk a normo- és hiperventilációs fázisok között (csoport-főhatás: $p < 0.001$) a hiperventilációs fázis rovására. A 40 másodperces vizuális stimulációs fázis során mért maximális relatív véráramlási sebesség növekedés szignifikánsan alacsonyabb volt a hiperventiláció során ($12 \pm 5\%$) a normoventilációs fázishoz képest ($26 \pm 7\%$; $p < 0.001$).

A nem-steroid gyulladásgátlók (indometacin és naproxen) neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatása

A tanulmányban gyógyszermentes (kontroll) időszakban, valamint indometacin, majd naproxen hatás alatt vizsgáltuk a neurovaszkuláris kapcsolatot ugyanazokban az önkéntesekben. A nyugalmi, abszolút csúcshisztolés áramlási sebesség értékei szignifikánsan alacsonyabbak, míg a pulzatilitási index (PI) értékek szignifikánsan nagyobbak voltak ($p < 0.01$) mind a naproxen, mind az indometacin gyógyszerhatás idején a kontroll fázishoz képest, ugyanakkor a naproxen és

indometacin fázisok között nem volt különbség. A fenti adatok az indometacin és naproxen agyi rezisztenciaerekre kifejtett vazokonstriktív hatását jelzik.

Ismételt mérés variancia-analízissel a vizuális stimuláció alatt mért relatív csúcshátrahatás áramlási sebesség az indometacin (csoport-főhatás: $p < 0.01$) és a naproxen (csoport-főhatás: $p < 0.05$) fázisban is alacsonyabb volt a kontroll fázishoz képest, azonban az indometacin és a naproxen hatás alatti relatív sebességértékeiben nem találtunk szignifikáns eltérést (csoport-főhatás: $p = 0.24$). A maximális relatív véráramlási sebességnövekedés összehasonlítása a fenti megfigyeléseket megerősítette.

4.2.5. Látó és vak személyek PCA-ban mérhető áramlási válasza nyomtatott szöveg, illetve Braille írás olvasásának hatására

A kísérletünkben arra kerestünk választ, hogy vakokban milyen a Braille olvasás során kialakuló áramlási sebességváltozás a PCA-ban a látókban nyomtatott szöveg olvasása során mért változásokhoz képest. Mivel az olvasás egy komplex stimulus (látókban: betű- és szófelismerés + fényinger, vakokban: betű- és szófelismerés + kézmozgás/tapintás), ahhoz, hogy önmagában az olvasás (betűfelismerés/szófelismerés) hatását vizsgálhassuk, mind a vakok, mind a látók csoportjában két különböző kísérleti protokollt használtunk.

Relatív áramlási sebességváltozások olvasás során

Az ismételt mérés variancia-analízis szignifikáns csoport-főhatást (látó vs. vak, $p < 0.001$) igazolt a látó és a vak csoport között a „Nyugalom-Olaszás” protokoll során. Ezzel ellentétben, az „NLC-Olaszás” kísérleti elrendezésben nem volt szignifikáns különbség a két csoport között ($p = 0.449$). Adataink azt jelzik, hogy míg a fénystimulus + olvasás (betű- és szófelismerés) látókban nagyobb áramlási sebességváltozást okozott, mint a kéz/ujjmozgás + Braille olvasás a vakokban (Nyugalom-Olaszás protokoll), addig önmagában az olvasás (betű- és szófelismerés) okozta sebességváltozás mértéke (NLC-Olaszás protokoll) nem különbözött a két csoportban.

A látó csoporton belül a stimulációs fázisban mért relatív áramlási sebességértékek a két kísérleti elrendezésben szignifikánsan különböztek („Nyugalom-Olaszás” vs. „NLC-Olaszás”; csoport-főhatás: $p < 0.001$), míg vakokban a két kísérleti protokoll stimulációs fázisában kapott eredmények között nem találtunk szignifikáns különbséget („Nyugalom-Olaszás” vs. „NLC-Olaszás”; $p = 0.889$). Adataink arra utalnak, hogy míg látókban a fénystimulus jelentős hatást gyakorolt a PCA-ban mérhető áramlási sebességváltozásra, addig vakokban azt a kéz/ujjmozgás számottevően nem befolyásolta.

Maximális relatív áramlási sebességváltozások olvasás során

A relatív áramlási sebesség maximális növekedése a „Nyugalom” fázishoz viszonyítva a látó csoportban (Látó/Nyugalom-Olaszás) szignifikánsan nagyobb volt

($25.9 \pm 6.9\%$), mint amit a Látó/NLC-Olvadás protokoll során mértünk látó ($8.1 \pm 3.5\%$) vagy a Vak/Nyugalom-Olvadás protokoll során vak személyekben ($10.0 \pm 5.0\%$). Ezzel szemben vakokban a két kísérleti elrendezés során mért relatív áramlási sebességértékek maximális növekedésében nem volt szignifikáns eltérés, és az „NLC-Olvadás” protokoll alatt a vakokban ($10.5 \pm 4.5\%$) és a látókban mért maximális relatív sebességváltozás ($8.1 \pm 3.5\%$) is hasonló volt.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATAINK EREDMÉNYEINEK MEGBESZÉLÉSE

Állatkísérleteinkben az angiotenzin rendszer permanens ischaemiára gyakorolt hatása mellett az átmeneti fokális agyi ischaemia különböző fázisaiban az MR paraméterek alakulását, az MR és biokémiai paraméterek közötti összefüggést és az energiametabolizmus másodlagos károsodásának hátterét vizsgáltuk.

5.1.1. Az anigotenzin hatása permanens ischaemiás stroke-ban

Jól ismert a magas vérnyomás negatív hatása az érrendszerre, ezen belül is az agyat ellátó artériákra. A hipertenzió megváltoztatja az erek strukturáját, károsítja a vazoreguláció folyamatát és az agyi vérellátás csökkentése révén növeli az ischaemiás stroke rizikóját. Nem meglepő tehát, hogy a magas vérnyomás megfelelő kezelése jelentősen képes csökkenteni a stroke rizikót. Nincs kétség afelől, hogy az elmúlt évtizedekben a hipertónia kezelés első számú gyógyszerei a renin-angiotenzin rendszerre ható szerek voltak. Ezek közül is kiemelkednek az ACE gátlók és az angiotenzin 1-es típusú receptorát (AT1R) blokkoló gyógyszerek.

A kísérletünkben használt angiotenzinogént overexpresszáló állatokban az ischaemia súlyosabb, az ATP hiányos lézió nagyobb, s a penumbra kisebb volt, mint a vad típusú egerekben. Ezzel szemben az AT1 receptorhiányos egyedekben az ischaemia enyhébb, az ATP hiányos terület kiterjedése kisebb, s a penumbra mérete nagyobb volt, mint a kontroll állatokban. Az in vitro végzett kísérletek azt jelezték, hogy az AT1R mediálta kedvezőtlen angiotenzin hatás nem írható csak a vaszkuláris hatás, nevezetesen a vazokonstrikció és a simaizomsejtek proliferációjának a rovására. A vaszkuláris tényezőktől és hemodinamikai hatásoktól mentes primer neuronális sejt kultúrában is igazolódott ugyanis, hogy az AT1R hiánya illetve blokkolása rezisztensebbé tette a neuronokat az átmeneti oxigén és glükóz hiánnyal szemben.

Vizsgálataink tehát egyértelműen igazolták az angiotenzin káros, illetve az AT1R hiányának a jótékony hatását az ischaemiás stroke kiterjedésére és súlyosságára. Az angiotenzin ischaemiás stroke kimenetelét kedvezőtlenül befolyásoló hatása többek között az angiotenzin okozta vazokonstrikcióval, az agyi erek

szerkezetére gyakorolt hatásával és ezen keresztül a kollaterális erek megváltozott vazoreaktivitásával magyarázható. Eredményeink, melyek szerint az AT1 receptor hiánya vagy blokkolása neuroprotektív hatású az ischaemiával/hipoxiával szemben mind in vivo, mind in vitro, azt sugallják, hogy az AT1 receptor blokádjá egy ígéretes neuroprotektív stratégia lehet a klinikai gyakorlatban akut ischaemiás stroke esetén.

5.1.2. A rekanalizációs terápia fejlődése akut ischaemiás stroke-ban

Az utóbbi évtizedekben több és több vizsgálat igazolta, hogy az akut ischaemiás stroke kezelésében a legkedvezőbb hatás a megfelelő időablakon belül elkezdett mihamarabbi rekanalizációs terápiától várható. Természetesen a betegekben végzett vizsgálatokat számos állatkísérlet előzte meg, melyben az átmeneti agyi fokális ischaemia hatását tanulmányozták, s melyek eredményei a rekanalizációs terápia elterjedésével fokozott hangsúlyt kaptak.

5.1.3. Az ADC követése valamint az MR és metabolikus paraméterek kapcsolatának vizsgálata átmeneti agyi fokális ischaemiában

Állatkísérletes munkáink egy részében az átmeneti agyi ischaemia hatását reverzibilis MCAO modellben MR vizsgálatok segítségével tanulmányoztuk.

Az ischaemia végén mért relatív ADC érték, mint a szöveti kimenetel prediktora

Az egyórás MCAO-t követő 10 órás reperfúzió során azt találtuk, hogy a reperfúzió első két órájában az ADC érték jelentősen javult, majd a reperfúzió későbbi időszakában ismét csökkent, mely jelenség az ADC másodlagos rosszabbodásaként ismert. Eredményeink igazolták, hogy az ADC másodlagos csökkenését a T2 relaxációs idő növekedése a reperfúzió első óráiban megelőzte, s bizonyítottuk azt is, hogy az ADC másodlagos csökkenése háttérben nem állt szignifikáns hipoperfúzió.

A kísérlet során a reperfúzió első két órájában tapasztalt ADC javulását és annak a későbbi reperfúzió idején észlelt rosszabbodását a relatív ADC 80% os értéke alapján határoztuk meg: a kontroll érték 80% alá csökkenő relatív ADC-t rosszabbodásként, az ezt meghaladó relatív ADC-t javulásként értékeltük.

Az ischaemia végén mért relatív ADC értékeket a különböző pixel alcsoportokban analizálva rámutattunk, hogy a „javulást nem mutató” szöveti régióban szignifikánsan alacsonyabb volt az ischaemia végén mért ADC érték, mint azokban a területekben, ahol az ADC javult a korai reperfúzió idején, vagyis az ischaemia végén észlelt alacsony ADC érték egyértelműen rossz kimenetelt jelzett. Ugyanakkor az ischaemia végi relatív ADC érték nem segített annak a meghatározásában, hogy a reperfúzió későbbi szakában mely pixelek fognak a „másodlagos rosszabbodást mutató” illetve a „helyreállt” csoportba tartozni.

A korai reperfúziós fázisban mért kvantitatív T2 érték, mint a szöveti kimenetel prediktora

Mint említettük, az ischaemia végén mért alacsony ADC érték előrejelezheti az ADC javulás elmaradását a reperfúzió idején, azonban sem az ischaemia végén, sem a reperfúzió elején mért ADC nem volt képes differenciálni a „másodlagos rosszabbodást mutató” és a „helyreállt” szövet között. Ugyanakkor a kvantitatív T2 értékek már rövidebb idővel a recirkulációt követően hasznosnak bizonyultak ezen két szöveti kimenetel elkülönítésében, mert míg a korai reperfúzió során a T2 értékek nőttek a „másodlagos rosszabbodást mutató” pixelekben, addig nem változtak a „helyreállt” szövetet jelző alcsoporthoz. Míg a T2 érték növekedése a „másodlagos rosszabbodást mutató” pixelekben a szöveti víztartalom növekedését jelzi, addig a szimultán javuló ADC az ischaemia során kialakult citotoxikus ödéma javulására utal. Mindez azt jelenti, hogy a megnőtt víztartalom nem írható a sejtduzzadás rovására, hanem a szöveti ozmolalítás növekedésével, esetleg a reperfúzió kezdetén hirtelen növekvő transzmurális nyomásváltozással, illetve a néhány órás késéssel megjelenő vazogén ödémmel magyarázható.

Az ADC és az energiametabolizmus másodlagos rosszabbodásának lehetséges magyarázata

A másodlagos ADC csökkenésnek és a korábban már leírt másodlagos energiametabolizmus károsodásnak a háttere máig nem tisztázott. A jelenség egyik valószínű magyarázata a mitokondriális diszfunkció, de a reperfúziót követően hosszú időn át fennálló gátolt agyi protein szintézis is kulcsszerepet játszhat a másodlagos károsodás mechanizmusában. Az ischaemiát követő reperfúzió során egy esetleges hipoperfúzió is magyarázhatta volna a másodlagos szöveti károsodást, azonban kísérletünkben végig követtük a perfúziós szignál intenzitást, s abban az időben, amikor a másodlagos ADC csökkenés jelentkezett, a perfúziós szint nemhogy alacsonyabb, hanem éppen magasabb volt a kontroll, kiindulási értéknél.

Terápiás időablak a reperfúziós fázisban?

Az a megfigyelés, hogy rövid időtartamú ischaemia után az energiametabolizmus a reperfúzió korai szakaszában javul, reménykeltő lehet a sejtek túlélése szempontjából. Ugyanakkor az energiametabolizmusnak a reperfúzió későbbi szakaszában jelentkező másodlagos és egyben irreverzibilis károsodása egyértelműen kedvezőtlenül befolyásolja az átmeneti ischaemiát szenvedett szövet sorsát. Ha ez a másodlagos károsodás megelőzhető lenne, jelentősen lehetne javítani az experimentális stroke kimenetelét. Ezt felismerve, többen tettek kísérletet arra, hogy az energiatermelés másodlagos károsodását megelőzzék. Az ezt célzó kísérletek közül transziens cerebrális ischaemiában a legtöbb kedvező kimenetelű gyógyszeres

próbálkozás a recirkuláció utáni első 3 órában történt szabadgyököket gátló szerrel, vagy a mitokondrium belső membránjának permeabilitás-fokozódását megelőző ciklosporin analóg alkalmazásával. Ez azt jelenti, hogy nemcsak az ischaemiás fázisban, de a reperfüziós időszakban is lehet egy terápiás időablak, melyen belül még ésszerű a reperfüziós károsodás kezelésével próbálkozni. Adataink azt mutatták, hogy az energiametabolizmus másodlagos károsodását jelző másodlagos ADC csökkenés a reperfüzió után 2-3 órával kezdődött, tehát a reperfüzió utáni 3 órás időablak ésszerűnek tűnhet.

Az ATP szint és ADC érték párhuzamos alakulása tranziens cerebrális ischaemiában

Ismert, hogy a rövid ideig tartó cerebrális ischaemiát követő reperfüziós fázis korai szakaszában az ADC érték és az ATP tartalom részlegesen, vagy teljesen normalizálódik, azonban ezt a normalizálódást a recirkuláció későbbi fázisában másodlagos ADC csökkenés és az energiametabolizmus másodlagos károsodása követi. Annak ellenére, hogy az ADC és az ATP tartalom változása hasonló irányú és időbeli lefolyású, csak kevés tanulmány vetette fel, hogy az ADC változás az energiametabolizmus változását tükrözheti cerebrális ischaemiában. Míg az ADC és az energiametabolizmust jelző ATP szint közötti kapcsolatot permanens MCAO során igazolták, addig hasonló vizsgálat átmeneti agyi ischaemiában a vizsgálatunk előtt nem történt. Célunk annak a megválaszolása volt, hogy vajon az ADC érték javulása a reperfüzió korai fázisában, majd az ADC másodlagos csökkenése a recirkuláció későbbi szakaszában az ATP szint hasonló változását tükrözi-e patkányokban. Kísérletünkben az energiametabolizmus károsodását (ATP depléciót) jelző relatív ADC érték mind az 1 órás MCAO végén, mind a reperfüzió 1. és 10. órájában a kontroll ADC kb. 77%-a volt, mely függetlenül a kísérlet fázisától egy, az ATP hiányt jól jelző stabil ADC küszöbértékre utalt. Megfigyeléseink azt jelzik, hogy az ADC változása szorosan összefügg a sejt energiatartásának alakulásával nemcsak az ischaemia, hanem a reperfüzió időszakában is. Mindez arra utal, hogy a relatív ADC térkép jól tükrözi az energiametabolizmus időbeli változását a reverzibilis fokális agyi ischaemia akut fázisának különböző időszakaiban, vagyis az MR vizsgálattal meghatározható ADC az energiametabolizmus markereként használható.

5.1.4. Átmeneti agyi ischaemia hatása az agyi energiametabolizmusra és NAD szintre egerekben

Az energiametabolizmus másodlagos károsodásának hátterében számos mechanizmus lehetőségét felvetették. Ezen mechanizmusok között komolyan felmerült annak a lehetősége is, hogy a poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) túlzott aktivációja lenne felelős az energiametabolizmus másodlagos rosszabbodásáért. A PARP hipotézis szerint a PARP túlzott aktivációja a NAD felhasználásához vezet, mely a PARP szubsztrátja és szükséges a poli(ADP-ribóz) szintéziséhez. Ugyanakkor

az ATP termeléshez is szükség van NAD-ra, mely egy fontos koenzim az energiatermelés folyamatában, s melynek PARP általi felhasználása elvileg valóban vezethetne ATP deplációhoz és így az energiametabolizmus zavarához. Eredményeink azonban átmeneti agyi fokális ischaemiában nem erősítették meg a PARP hipotézist, mivel a NAD tartalom csökkenése nem előzte meg és mértékében sem haladta meg az ATP szint csökkenését.

5.2. HUMÁN TANULMÁNYAINK EREDMÉNYEINEK MEGBESZÉLÉSE

Mint azt a bevezetőben írtuk, a cerebrális rezisztenciaerek átmérőjét számos mechanizmus befolyásolja. A vérnyomás agyi mikroerekre kifejtett hatását autoreguláció, a neuronális aktivitás hatására kialakuló vazomotor választ neurovaszkuláris kapcsolat, míg az egyéb kémiai ágensek hatására létrejövő áramlásváltozást cerebrális vazoreaktivitás néven ismerjük. Munkánkban az akut alkoholfogyasztás hatását vizsgáltuk az agyi autoregulációra, emellett stroke rizikófaktorokban (dohányzás), vazokonstrikciót (hipokapnia, NASID szerek) és vazodilatációt (acetazolamid) kiváltó tényezők jelenlétében és vakokban tanulmányoztuk a neurovaszkuláris kapcsolatot.

5.2.1. Rizikófaktorok hatása az agyi véráramlás szabályozására

5.2.1.1. *Az akut alkoholfogyasztás hatása a cerebrális hemodinamikai változásokra egészséges személyekben ortosztatikus stressz (HUT teszt) során*

Kihasnálva, hogy a TCD a vérnyomás szimultán mérésével az autoreguláció tanulmányozására is alkalmas, azt vizsgáltuk, hogy az akut alkoholfogyasztás az ortosztatikus stressz során befolyásolja-e az agyi autoregulációt.

Eredményeink azt igazolták, hogy az alkohol hatása alatt végzett HUT teszt során kevésbé emelkedett a szisztémás artériás középnyomás és kifejezettebb volt az MCA szintjére korrigált vérnyomás (mBPMCA) és az MCA-ban mért áramlási sebesség (MFVMCA) csökkenése. A fentiekén túl, alkoholbevitel előtt a HUT teszt indukálta MFVMCA relatív csökkenése szignifikánsan kisebb volt, mint az mBPMCA relatív csökkenése, ugyanakkor ezeknek a változásoknak a mértéke hasonló volt alkoholfogyasztás után. Míg a HUT teszt alatt a számított cerebrovaszkuláris rezisztencia index a kontroll periódusban csökkent, addig alkoholfogyasztás után nőtt.

Ezek az eredmények a kontroll periódus HUT fázisában az autoreguláció működését jelezték, mely a felállás miatt kialakult alacsonyabb mBPMCA értéken a cerebrális vazodilatáció által mérsékelte az MCA áramlási sebességének a csökkenését. Ugyanakkor, alkoholfogyasztás után az mBPMCA és az MFVMCA értékek ortosztatikus stressz során megfigyelt hasonló mértékű csökkenése és a cerebrovaszkuláris rezisztencia index csökkenésének a hiánya arra utalt, hogy az alkohol a csökkent mBPMCA értéken az agyi rezisztenciaerek kompenzatorikus

vazodilatációját gátolta, vagyis károsította az agyi autoregulációt. Eredményeink azt jelzik, hogy az akut alkoholfogyasztás nemcsak a hipotenzív hatása által fokozhatja a csökkent ortosztatikus tolerancia (és így a syncope), valamint a stroke rizikóját, hanem az agyi véráramlás szabályozásának befolyásolása, károsítása révén is.

5.2.1.2. A dohányzás és a dohányzás elhagyásának hatása a vizuális stimuláció kiváltotta áramlási válaszra

Vizsgálataink bizonyították, hogy a krónikus dohányzás szignifikánsan gátolta a vizuális stimulus kiváltotta agyi vazomotor reaktivitást, melynek hátterében a dohányzás endothelsejteket károsító és a vazodilatációért felelős faktorokat inaktíváló és azok szintézisét gátló hatása állhat. TCD vizsgálatainkkal először igazoltuk, hogy fiatal, egyébként egészséges személyekben még 6-18 hónappal a dohányzás elhagyása után is kóros volt a neuronális aktiváció kiváltotta áramlási válasz, ami a neurovaszkuláris kapcsolatnak a dohányzás okozta hosszútávú károsodását jelezte. Ennek hátterében inkább egy, a dohányzás okozta morfológiai eltérés, semmint egy akut, átmeneti vaszkuláris diszfunkció meglétét valószínűsítettük. Ugyanakkor biztató trendként megfigyeltük, hogy a permanens dohányosokhoz képest egy javulási folyamat a dohányzás elhagyása után elindult, mely a vizuális stimuláció kiváltotta maximális érválasz tekintetében mutatkozott meg leginkább. Mindez arra ösztönözheti az orvosokat és a betegeket, hogy mindent tegyenek meg a dohányzásról való leszokás sikeréért.

5.2.2. Az agyi rezisztenciaerek átmérőjét befolyásoló faktorok hatása a neuronális aktiváció indukálta érválaszra

5.2.2.1. Az acetazolamid (AZ) kiváltotta vazodilatáció hatása a neurovaszkuláris kapcsolatra

Bár a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges cerebrális vazodilatáció hátterét számos tanulmányban vizsgálták, ennek részletes mechanizmusa a mai napig nem tisztázott. Az sem ismert, hogy a hiperkarbia, az AZ adás és a neurovaszkuláris kapcsolat során kialakuló dilatáció a rezisztenciaerek szintjén azonos, vagy különböző útvonalakon alakul ki. Mivel a neuronális aktiváció indukálta áramlászváltozás cerebrális vazodilatáció révén valósul meg, a célunk annak a megválaszolása volt, hogy a neuronális aktiváció okoz-e további vazodilatációt akkor, amikor a rezisztenciaerekben egy potens vazodilatátor alkalmazásával már szignifikáns dilatációt idéztünk elő.

Annak ellenére, hogy az AZ szignifikáns vazodilatációt okozott, a vizuális stimuláció további áramlási sebességfokozódáshoz és a pulzatilitási index csökkenéséhez vezetett a PCA ellátási területében a 15 mg/kg adagban alkalmazott AZ hatás maximuma idején. Ezek az eredmények azt jelezték, hogy a neuronális

aktiváció hatására a vazodilatáció révén tovább csökkent a cerebrovaszkuláris rezisztencia a PCA ellátási területében, vagyis az AZ indukálta vazodilatáció nem gátolta a mikroerek neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges dilatációját. Adatainkból az a következtetés vonható le, hogy a neurovaszkuláris kapcsolat és az AZ okozta vazodilatáció feltehetően egymástól részben független útvonalon valósult meg, vagyis a neurovaszkuláris kapcsolat során a regionális agyi véráramlás akkor is képes volt alkalmazkodni a metabolikus igényekhez, amikor egyéb vazodilatátor hatás már a rezisztenciaerek dilatációját előidézte. Kijelenthető továbbá, hogy az AZ 15 mg/kg adagban intravénásan alkalmazva nem okozott maximális cerebrális vazodilatációt, hisz a neuronális aktiváció további értágulatot eredményezett.

5.2.2.2. A hipokapnia és NSAID készítmények kiváltotta vazokonstrikció hatása a neurovaszkuláris kapcsolatra

Miután igazoltuk, hogy az AZ okozta szignifikáns cerebrális vazodilatáció nem befolyásolta lényegesen a neurovaszkuláris kapcsolatot, azt kívántuk vizsgálni, hogy a vazokonstrikció hatással van-e a neuronális aktiváció kiváltotta áramlási válaszra. Köztudott, hogy a hiperekapniával ellentétben a hipokapnia cerebrális vazokonstrikciót hoz létre, emellett az NSAID-ok közé tartozó indometacin vazokonstrikciót kiváltó hatása is jól ismert. A vazokonstrikció neurovaszkuláris kapcsolatra gyakorolt hatásának a vizsgálatához normokapnia és hipokapnia során, valamint NSAID (indometacin és naproxen) alkalmazása előtt és azt követően vizsgáltuk a vizuális stimulus indukálta áramlási sebességváltozást a PCA-ban, míg a neuronális aktivitás mértékét VEP vizsgálattal becsültük.

Azt találtuk, hogy mind az NSAID készítmények közé tartozó indometacin és naproxen, mind a hiperventiláció kiváltotta hipokapnia vazokonstrikciót váltott ki a cerebrális rezisztenciaerekben és szignifikánsan gátolta a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges vazodilatációt, miközben a neuronális aktiváció mértékét jelző kiváltott válasz paraméterekben nem volt szignifikáns eltérés a kontroll fázishoz képest. Az NSAID hatást vizsgáló eredményeink azt jelezték, hogy nemcsak az indometacin, hanem egyéb nem-steroid gyulladásgátló gyógyszer, mint pl. a naproxen is képes a neurovaszkuláris kapcsolatot gátolni. Vizsgálataink azt is bizonyították, hogy az indometacin és naproxen fent említett hatásai nemcsak kísérleti körülmények között, hanem a mindennapi klinikai gyakorlatban, a gyógyszerek szokásos, terápiás dózisban történő alkalmazása esetén is megfigyelhetők.

A hipokapnia hatását vizsgáló tanulmányunk adatai szerint, míg a vizuális stimuláció kiváltotta maximális relatív véráramlási válasz a hiperventiláció alatt ($12 \pm 5\%$) kevesebb, mint a fele volt a kontroll fázisban mért értéknek ($26 \pm 7\%$), a vizuális kiváltott potenciálok paraméterei nem változtak jelentősen. Ez a neurovaszkuláris kapcsolat áramlási válaszában gátlása mellett azt is jelezte, hogy a fiziológiás

vérátáramlás növekedés mintegy fele is elegendő ahhoz, hogy a vizuális stimuláció során a neuronális működés még ép maradjon. Mások megfigyeléseivel összhangban, eredményeink azt sugallták, hogy a neurovaszkuláris kapcsolat jelentős biztonsági tartalékokkal működik fiziológiás feltételek között, így egészséges személyekben sem a hiperventiláció, sem az NSAID gyógyszerek kiváltotta vazokonstrikció nem jelent számottevő kockázatot. Alkalmazásuk azonban a vazokonstrikciót előidéző hatásuk és a neuronális aktiváció indukálta vazodilatáció gátlása révén növelheti a kedvezőtlen klinikai kimenetel kockázatát azokban a betegekben, akikben rossz a vér oxigenizációja (pl. légzésfunkciós zavar esetén), súlyos anaemiában szenvednek, vagy az oxigén igényük megnövekedett (pl. status epilepticusban). Ezekben az esetekben ugyanis a hipokapnia és az NSAID-ok a cerebrális vazodilatáció gátlásával az oxigén ellátás és igény közötti felborult egyensúlyt tovább ronthatják, fokozva ezzel a cerebrális hipoxia veszélyét. Gondosan mérlegelni kell a naproxen és indometacin használatát és a hiperventiláció alkalmazását szignifikáns hipoperfúzió eseteiben is (pl. súlyos carotis stenosis, subarachnoideális vérzés okozta vazospasmus, vagy akut ischaemiás stroke esetén), mivel ezekben az esetekben a fenti terápiák gátolhatják a megfelelő vérellátást biztosító, vazodilatációt igénylő kompenzatorikus folyamatokat.

5.2.3. Látó és vak személyek PCA-ban mérhető áramlási válasza nyomtatott szöveg, illetve Braille írás olvasásának a hatására

Az utóbbi három évtizedben funkcionális MRI és PET vizsgálatok a látókéreg aktivációját igazolták vak személyekben Braille-olvasás során, valamint különböző tapintáson alapuló megkülönböztetési feladatok végzésekor.

Míg a vizuális inger (fénystimulus, olvasás, sakktábla stimuláció) kiváltotta, PCA-ban mérhető áramlásnövekedés mértékéről és dinamikájáról számos közlés található, addig a vak személyek Braille-olvasása során a PCA-ban mérhető áramlásváltozásról csak kevés hasonló leírás állt rendelkezésre. Tanulmányunkban, vakokban és látókban a folyamatos olvasás okozta occipitalis kérgi aktiváció hatására bekövetkező PCA áramlásváltozást vizsgáltuk TCD segítségével.

Két kísérleti protokollt használtunk, mely lehetővé tette, hogy külön megvizsgáljuk a betű- és szófelismerés, vagyis a szorosan értelmezett olvasás (NLC-Olvasás protokoll) és a fényinger + betű- és szófelismerés (Nyugalom-Olvasás protokoll) hatását a PCA áramlási sebességváltozásra látókban, illetve külön meghatározzuk a betű- és szófelismerés (NLC-Olvasás protokoll) és a kéz/ujjmozgás + betű- és szófelismerés (Nyugalom-Olvasás protokoll) hatását vakokban. Eredményeink megerősítették, hogy a látókéreg aktivációja nemcsak látókban és nemcsak vizuális inger hatására jön létre, de vakokban taktilis stimulus (Braille olvasás) esetén is kimutatható. Amikor látókban a fényinger + betű- és szófelismerés, vakokban pedig a kéz/ujjmozgás + betű- és szófelismerés hatását vizsgáltuk

(Nyugalom-Olvásás protokoll), az olvasás a látó személyekben szignifikánsan nagyobb áramlási sebességnövekedést indukált ($25.9 \pm 6.9\%$) a PCA-ban, mint a Braille-olvasás a vak önkéntesekben ($10.0 \pm 5.0\%$). Ezzel szemben, amikor a stimulációs fázisban csak a betű- és szófelismerés volt az új inger (NLC-Olvásás protokoll), akkor a PCA-ban mérhető áramlási sebességváltozás hasonló volt a látó ($8.1 \pm 3.5\%$) és a Braille-írást olvasó vak személyekben ($10.5 \pm 4.5\%$). Adataink azt mutatták, hogy míg olvasáskor önmagában a betű- és szófelismerés mintegy 8-10%-os áramlási sebességnövekedést okozott az occipitalis kérget ellátó artériában mind a korai vak, mind a látó önkéntesekben, addig a fényinger + betű- és szófelismerés együtt kb. háromszor akkora, vagyis kb. 26% áramlásnövekedést indukált a PCA-ban a látó csoportban. Eredményeink tehát azt sugallták, hogy látókban az olvasás hatására a PCA-ban bekövetkező áramlásnövekedés 2/3 részét az olvasáshoz szükséges fénystimulus okozta, míg a betű- és szófelismerésnek, vagyis a szorosan értelmezett olvasásnak csak az áramlászváltozás 1/3-a volt köszönhető. Az a tény, hogy önmagában a betű- és szófelismerés mindkét csoportban hasonló mértékű és dinamikájú áramlászváltozást indukált a PCA-ban azt jelezte, hogy látókban a vizuális és vakokban a tapintási stimulus alapján történő betű- és szófelismerés önmagában hasonló occipitalis kérgi aktivációt eredményezett. Ez alapján hasonló mechanizmus tételezhető fel a betű- és szófelismerés hátterében vakokban Braille írás és látókban nyomtatott szöveg olvasása során.

5.2.4. Humán tanulmányaink eredményeinek az összefoglalása

Humán tanulmányaink igazolták, hogy a vaszkuláris rizikófaktorok közül az akut alkoholbevitel gátolta az agyi autoregulációt, míg a dohányzás a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulását befolyásolta kedvezőtlenül. A dohányzás elhagyása után a vizuális stimuláció okozta áramlási sebességnövekedés a PCA-ban még fél évvel a dohányzás után is alacsonyabb volt a nem dohányzókhoz viszonyítva, de egy kedvező trend már megfigyelhető volt a permanens dohányosokhoz képest.

Az agyi rezisztenciaerek átmérőjét befolyásoló tényezők közül a szignifikáns vazodilatációt okozó acetazolamid nem gátolta a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulását, míg a vazokonstriktációt okozó hipokapnia és a nem szelektív NSAID szerek a neuronális aktiváció kiváltotta áramlási választ szignifikánsan mérsékeltek. Önmagában a betű- és szófelismerés látókban hasonló mértékű és dinamikájú áramlási választ eredményezett a látókérget ellátó PCA-ban mint a vakokban, jelezve, hogy hasonló mechanizmus lehet a felelős a betű- és szófelismerésért mind a vak, mind a látó önkéntesekben. Eredményeink arra is rámutattak, hogy látókban az olvasás során a PCA-ban észlelt áramlásnövekedés 2/3-ért az olvasáshoz szükséges fénystimulus volt a felelős, míg önmagában a betű- és szófelismerés, vagyis a szorosan értelmezett olvasás csupán az áramlászváltozás 1/3-át okozta.

6. ÚJ EREDMÉNYEK, EREDMÉNYEINK GYAKORLATI HASZNOSÍTÁSA

6.1. ÚJ EREDMÉNYEK, KÖVETKEZTETÉSEK

1. Angiotenzinogén overexpressziót mutató egerekben 1 órás MCAO után az ischaemia súlyosabb, a penumbra kisebb, míg az AT1 receptorhiányos egerekben az ischaemia enyhébb, s a penumbra nagyobb volt, mint a vad típusú egerekben.
2. A metabolikus eltérések kialakulásáért felelős CBF küszöb az angiotenzinogént overexpresszáló egerekben nagyobb, míg az AT1 receptorhiányos egerekben kisebb volt, mint a kontroll állatokban, jelezve, hogy az angiotenzinogént overexpresszáló egerekben az agyszövet érzékenyebb, míg az AT1 receptorhiányos egerekben rezisztensebb volt az ischaemiával szemben.
3. Az AT1 receptor hiánya illetve gyógyszerrel történő blokkolása hemodinamikai és vaszkuláris hatásoktól mentes környezetben, in vitro is kedvezően befolyásolta a neuronok átmeneti oxigén és glükóz hiánnyal szembeni rezisztenciáját.
4. Az 1 órás MCAO-t követő 10 órás reperfúzió során MR vizsgálattal igazoltuk, hogy a víz diffúzióját jelző, ischaemia során csökkent ADC érték a reperfúzió első 2 órájában szignifikánsan javult, majd a reperfúzió későbbi fázisában rosszabbodott. Adataink szerint az ADC másodlagos csökkenése hátterében nem volt szignifikáns hipoperfúzió.
5. Az ischaemia végi relatív ADC a reperfúzió során „javulást nem mutató” szöveti régióban szignifikánsan alacsonyabb volt, mint azokban a területekben, ahol az ADC javult a korai reperfúzió idején, azt jelezve, hogy az ischaemia végén mért alacsony ADC érték a rossz kimenetel jelzője.
6. Az 1 órás MCAO-t követő reperfúzió során „másodlagos rosszabbodást mutató” és „helyreállt” szövet között sem az ischaemia végén, sem a reperfúzió elején mért relatív ADC nem volt képes differenciálni. Ezzel szemben az ADC másodlagos rosszabbodását a T2 relaxációs idő növekedése a reperfúzió elején megelőzte, vagyis a kvantitatív T2 érték már rövidebbel a recirkulációt követően hasznos a „másodlagos rosszabbodást mutató” és a „helyreállt” szövet elkülönítésében.
7. Az energiametabolizmus károsodását (ATP depléciót) jelző relatív ADC mind az 1 órás MCAO végén, mind a reperfúzió 1. és 10. órájában a kontroll ADC kb. 77%-a volt, mely függetlenül a kísérlet fázisától egy, az ATP hiányt jól jelző stabil ADC küszöbértékre utalt. Eredményeink az ADC és a sejt energiasztátusza közötti szoros kapcsolatot jelezték nemcsak az ischaemia, hanem a reperfúzió akut időszakában is. Kijelenthető tehát, hogy a relatív ADC érték jól használható az energiametabolizmus változásainak az időbeli követésére az átmeneti agyi ischaemia akut fázisának különböző időszakaiban.
8. Az agyszövet NAD (nikotinamid-adenin-dinukleotid) tartalmának a csökkenése az 1 órás ischaemiát követő recirkuláció során nem előzte meg és mértékében sem

haladta meg az ATP szint csökkenését. Ezek az adatok cáfolták az energiametabolizmus másodlagos károsodásának okaként felvetett PARP (poli(ADP-ribóz) polimeráz) hipotézist, mely szerint átmeneti agyi ischaemiában a PARP túlzott aktivációja a NAD felhasználásához, s az energiametabolizmus folyamatában fontos kofaktorként szereplő NAD hiányán keresztül ATP depléciónhoz vezetne.

9. Akut alkoholbevitelt követően az MCA-ban mért áramlási sebesség nagyobb mértékben csökkent ortosztatis stressz (HUT teszt) során, mint az alkoholfogyasztást megelőző kontroll időszakban.
10. A kontroll periódustól eltérően, az alkoholbevitel után a HUT teszt során az MCA áramlási sebesség relatív csökkenése hasonló volt, mint az MCA szintjére korrigált vérnyomás relatív csökkenése, s elmaradt a számított cerebrovaszkuláris rezisztencia index csökkenése is. Eredményeink arra utaltak, hogy az alkohol a HUT teszt alatt csökkent perfúziós nyomásnál az agyi rezisztenciaerek kompenzatorikus vazodilatációját gátolta, vagyis károsította az agyi autoregulációt.
11. Dohányosokban a PCA-ban mért vizuális stimuláció indukálta áramlási sebességnövekedés szignifikánsan kisebb volt a nem dohányzókhöz képest, vagyis a dohányzás gátolta a neurovaszkuláris kapcsolatot.
12. A dohányzás elhagyása után a vizuális stimuláció okozta, PCA-ban mérhető áramlási sebességnövekedés még fél évvel a dohányzás elhagyása után is alacsonyabb volt a nem dohányzókhöz viszonyítva, mely a dohányzás neurovaszkuláris kapcsolatot károsító tartós hatását jelezte.
13. A 15 mg/kg adagban alkalmazott acetazolamid (AZ) okozta szignifikáns vazodilatáció nem gátolta a neurovaszkuláris kapcsolathoz szükséges további dilatációt a rezisztenciaerekben, azaz nem gátolta a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulását. Adataink szerint a neurovaszkuláris kapcsolat és az AZ okozta vazodilatáció egymástól részben független útvonalon valósult meg, vagyis a lokális agyi véráramlás akkor is alkalmazkodott a metabolikus igényekhez, amikor egyéb vazodilatátor hatás már a rezisztenciaerek dilatációját előidézte.
14. Az AZ 15 mg/kg adagban nem okozott maximális vazodilatációt emberben, hisz a maximális AZ hatás idején a neuronális aktiváció további vazodilatációt eredményezett az agyi mikroerekben.
15. Az intrakraniális erekben a terápiás dózisban alkalmazott indometacin mellett a naproxen hatására is csökkent az áramlási sebesség és nőtt a pulzatilitási index, vagyis mindkét NSAID vazokonstrikciót váltott ki az agyi rezisztenciaerekben.
16. Mind a hipokapnia, mind a terápiás dózisban alkalmazott indometacin és naproxen gátolta a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges agyi vazodilatációt.
17. Míg a vizuális stimuláció kiváltotta maximális véráramlási válasz a PCA-ban a hipokapnia alatt kevesebb, mint a fele volt a kontroll fázisban mért értéknek, a

vizuális kiváltott potenciálok paraméterei nem változtak jelentősen, vagyis hipokapnia során a fizioiógias véráramlás növekedés fele is elegendő ahhoz, hogy a vizuális stimuláció során az occipitalis kérgi működés még ép maradjon.

18. A TCD vizsgálat alkalmas volt vakokban a Braille olvasás okozta occipitalis kérgi aktiváció és a következményes PCA áramlási sebességfokozódás kimutatására.
19. Két különböző kísérleti protokollt használva igazoltuk, hogy önmagában a betű- és szófelismerés a vakok és látók csoportjában hasonló mértékű és dinamikájú áramlászváltozást indukált a PCA-ban, azt jelezve, hogy látókban a vizuális és vakokban a tapintási stimulus alapján történő betű- és szófelismerés hasonló occipitalis kérgi aktivációt eredményezett.
20. Látókban az olvasás hatására a PCA-ban bekövetkező áramlász növekedés kétharmad részét az olvasáshoz szükséges fénystimulus okozta, míg a betű- és szófelismerésnek, vagyis a szorosán értelmezett olvasásnak csak az áramlász változás egyharmada volt köszönhető.

6.2. EREDMÉNYEINK GYAKORLATI HASZNOSÍTÁSA

1. Az angiotenzin AT1 receptor hiánya és blokkolása enyhébb ischaemiát, nagyobb penumbrát, s fokozott ischaemiával szembeni rezisztenciát eredményezett, így az AT1 receptor blokkolása nemcsak a hipertónia kezelésében és a stroke megelőzésében, de a stroke kimenetelének javításában is szerepet játszhat.
2. Az átmeneti agyi fokális ischaemia különböző időszakaiban megfigyelt ADC érték és energiasztatusz közötti szoros összefüggés azt igazolta, hogy a relatív ADC térkép az energiametabolizmus markereként használható a reverzibilis fokális cerebrális ischaemia akut szakának különböző fázisaiban.
3. Sikeres recirkulációs terápia akut fázisában humán tanulmányban is szükségesnek tartjuk az ismételt DWI vizsgálatok végzését az energiametabolizmus másodlagos károsodásának tanulmányozására.
4. Az ischaemia végén mért alacsony relatív ADC érték a rossz kimenetel jelzője, míg a reperfüzió korai szakaszában a T2 relaxációs idő növekedése a másodlagos károsodás előrejelzésére használható.
5. Reperfüziós terápia esetén a stroke kimenetel javítására a recirkuláció indukciója előtt alkalmazott, a másodlagos károsodás megelőzését célzó szerek gyógyszerkipróbálás keretében történő alkalmazása észszerű.
6. Adataink az energiametabolizmus másodlagos károsodásának okaként felvetett PARP (poli(ADP-ribóz) polimeráz) hipotézist cáfolták, így a PARP útvonal gátlása tranziens fokális agyi ischaemiában nagy valószínűséggel nem mérsékli a reperfüziós károsodást, kipróbálása nem célszerű.

7. Az akut alkoholbevétel az agyi autoreguláció károsításával fokozhatja a syncope és a stroke rizikóját. Alkoholfogyasztást követően fokozott óvatosság szükséges az ortosztatikus hipotenzió elkerülésére (hirtelen felállás és tartós álló helyzet kerülése, fokozott folyadékbevétel).
8. A dohányzás neurovaszkuláris kapcsolatot és agyi véráramlás szabályozását tartósan károsító hatása miatt (is) mindent meg kell tenni a dohányzás káros hatásainak a mind szélesebb körű ismertetésére. Ismeretterjesztő kampányokkal el kell érni, hogy embertársaink a dohányzásra ne szokjanak rá, vagy a már dohányosok a dohányzásról szokjanak le.
9. Az acetazolamid provokációs tesztek során fontos, hogy a vizsgálat nyugodt és standard körülmények között történjen, hisz neuronális aktivitáshoz vezető tényezők (fényinger, hanginger, gondolkodás, ujjmozgás...) módosíthatják a teszt eredményét.
10. Mivel az indometacin és naproxen, valamint a hiperventiláció kiváltotta hipokapnia vazokonstrikciót váltott ki a cerebrális rezisztenciaerekben és szignifikánsan gátolta a neurovaszkuláris kapcsolat kialakulásához szükséges vazodilatációt, fontos szem előtt tartani, hogy dinamikus cerebrális áramlási vizsgálatok során standard kísérleti feltételek, ezen belül állandó légzésszám és $p\text{CO}_2$ biztosítása szükséges.
11. A hiperventiláció és nem-steroid gyulladásgátló gyógyszerek a vazokonstrikciót előidéző hatásuk és a neuronális aktiváció indukálta vazodilatáció gátlása révén növelhetik a kedvezőtlen klinikai kimenetel kockázatát rossz vér oxigenizáció (pl. súlyos légzésfunkciós zavar), súlyos anaemia, szignifikáns cerebrális hipoperfúzió veszélye (pl. súlyos a. carotis interna stenosis, vazospasmus, ischaemiás stroke), illetve megnövekedett oxigénigény (pl. status epilepticus) esetén. Ezekben az esetekben a hipokapnia és az NSAID-ok gátolhatják a megfelelő vérellátást biztosító, vazodilatációt igénylő kompenzatorikus folyamatokat, tovább rontva ezzel az oxigén ellátás és igény közötti felborult egyensúlyt, s fokozva a cerebrális hipoxia veszélyét.
12. Korai vakokban végzett vizsgálataink eredményei alapján részleges occipitalis károsodás esetén az olvasni nem képes betegekben kognitív rehabilitáció keretében alakzatok, dombornyomott betűk felismerésének a gyakorlásával lehet a peristriatalis régiót aktiválni.
13. Az olvasás során a fénystimulusnak meghatározó szerepe van az occipitalis kérgi aktivációban, ezért olvasás során a vizuális fáradtság mértékét a megvilágítás módja (pl. saját fényforrással bíró monitorról, vagy reflektált fény mellett könyvből olvasás) befolyásolhatja.

7. KÖZLEMÉNYEK, TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK

7.1. AZ ÉRTKEZÉSHEZ FELHASZNÁLT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

1. **Oláh L**, Wecker S, Hoehn M. Secondary deterioration of apparent diffusion coefficient after 1-hour transient focal cerebral ischemia in rats. **J Cereb Blood Flow Metab.** 2000;10:1474-1482. **IF: 5.926**
2. Paschen W, **Oláh L**, Mies G. Effect of transient focal ischemia of mouse brain on energy state and NAD levels: no evidence that NAD depletion plays a major role in secondary disturbances of energy metabolism. **J Neurochem.** 2000;75:1675-80. **IF: 4.9**
3. **Oláh L**, Wecker S, Hoehn M. Relationship of ADC changes and metabolic disturbances after 1 hour focal cerebral ischemia and at different reperfusion phases in rats. **J Cereb Blood Flow Metab.** 2001;21:430-439. **IF: 5.477**
4. Walther T, **Oláh L**, Harms C, Maul B, Bader M, Hortnagl H, Schultheiss HP, Mies G. Ischemic injury in experimental stroke depends on angiotensin II. **FASEB J.** 2002;16:169-76. **IF: 7.252 (megosztott elsőszervezős közlemény)**
5. **Oláh L**, Raiter Y, Candale C, Molnár S, Rosengarten B, Bornstein NM, Csiba L. Visually evoked cerebral vasomotor response in smoking and nonsmoking young adults, investigated by functional transcranial Doppler. **Nicotine Tob Res.** 2008;10:353-8. **IF: 2.539**
6. Boms N, Yonai Y, Molnár S, Rosengarten B, Bornstein NM, Csiba L, **Oláh L**. Effect of smoking cessation on visually evoked cerebral blood flow response in healthy volunteers. **J Vasc Res.** 2010;47:214-20. **IF: 2.752**
7. Yonai Y, Boms N, Molnár S, Rosengarten B, Bornstein NM, Csiba L, **Oláh L**. Acetazolamide-induced vasodilation does not inhibit the visually evoked flow response. **J Cereb Blood Flow Metab.** 2010;30:516-21. **IF: 4.522**
8. Szabó K, Lako É, Juhasz T, Rosengarten B, Csiba L, **Oláh L**. Hypocapnia induced vasoconstriction significantly inhibits the neurovascular coupling in humans. **J Neurol Sci.** 2011;309:58-62. **IF: 2.353**
9. Szabó K, Rosengarten B, Juhász T, Lakó É, Csiba L, **Oláh L**. Effect of non-steroid anti-inflammatory drugs on neurovascular coupling in humans. **J Neurol Sci.** 2014;336:227-31. **IF: 2.262**
10. Viski S, Orgován D, Szabó K, Rosengarten B, Csiba L, **Oláh L**. Effect of reading on blood flow changes in the posterior cerebral artery in early blind and sighted people--A transcranial Doppler study. **J Neurol Sci.** 2016;363:132-9. doi:10.1016/j.jns.2016.02.050. **IF: 2.126**
11. Viski S, Orosz M, Czuriga-Kovács KR, Magyar MT, Csiba L, **Oláh L**. The acute effects of alcohol on cerebral hemodynamic changes induced by the head-up tilt test in healthy subjects. **J Neurol Sci.** 2016;368:113-20. doi:10.1016/j.jns.2016.06.060. **IF: 2.126**

Az értekezéshez felhasznált közlemények impakt faktora 42.447, az azokra adott összes citáció 315, melyből 273 független idézet.

7.2. EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

1. **Oláh L.** Fülesdi B, Valikovics A, Csiba L, Olvasztó S, Bánfi Cs, Kozlovsky B. Alsóvégtagi verőérszűkület miatt operált betegek carotis-Doppler vizsgálatával szerzett tapasztalataink. **Ideggy Szle.** 1993;46:322-5.
2. Pallagi E, **Oláh L.** A cluster fejfájás. **Orv Hetil.** 1994;135:1515-9.
3. Valikovics A, **Oláh L.** Fülesdi B, Munkácsy Cs, Csiba L. A vazoreaktivitás vizsgálata egészséges személyek esetében transcranialis és carotis Dopplerrel. **Ideggy Szle.** 1996;49:30-5.
4. Kappelmayer J, Berecki D, Misz M, **Oláh L.** Fekete I, Csiba L, Blaskó Gy. Monocytes express tissue factor in young patients with cerebral ischemia. **Cerebrovasc Dis.** 1998;8:235-9. **IF: 1.288**
5. **Oláh L.** Misz M, Bereczki D, Fekete I, Bordánné JE, Takács EI. Kis dózisú acetilszalicilát hatásosan gátolja a thrombocyta-aggregációt ischaemiás stroke után. **Orv Hetil.** 1996;137:455-9.
6. Misz M, **Oláh L.** Kappelmayer J, Blaskó Gy, Udvardy M, Fekete I, Csépany T, Ajzner É, Csiba L. Haemostasis eltérések ischaemiás strokeban. **Orv Hetil.** 1998;139:2503-7.
7. Fülesdi B, Valikovics A, Orosz L, **Oláh L.** Limburg M, Dink L, Káposzta Z, Csiba L. A cerebrovascularis reaktivitás vizsgálata az arteria carotisok tünetmentes és tünetet okozó atheroscleroticus laesióiban szenvedő betegekben. **Orv Hetil.** 1998;139:623-8.
8. Valikovics A, **Oláh L.** Fülesdi B, Káposzta Z, Ficzer A, Bereczki D, Csiba L. Cerebrovascular reactivity measured by transcranial Doppler in migraine. **Headache.** 1996;36:323-8. **IF: 1.566**
9. Ficzer A, **Oláh L.** Egyéves cilazapril kezelés hatása hypertóniás betegek agyi véráramlási paramétereire. **Ideggy Szle.** 1998;51:94-9.
10. Grüne M, van Dorsten FA, Schwindt W, **Oláh L.** Hoehn M. Quantitative T*(2) and T'(2) maps during reversible focal cerebral ischemia in rats: separation of blood oxygenation from nonsusceptibility-based contributions. **Magn Reson Med.** 1999;42:1027-32. **IF: 3.757**
11. Maeda K, Mies G, **Oláh L.** Hossmann KA. Quantitative measurement of local cerebral blood flow in the anesthetized mouse using intraperitoneal [¹⁴C]iodoantipyrine injection and final arterial heart blood sampling. **J Cereb Blood Flow Metab.** 2000;20:10-4. **IF: 5.926**
12. Franke C, van Dorsten FA, **Oláh L.** Schwindt W, Hoehn M. Arterial spin tagging perfusion imaging of rat brain. Dependency on magnetic field strength. **Magnetic Resonance Imaging** 2000;18:1109-13. **IF: 1.452**
13. **Oláh L.** Valikovics A, Bereczki D, Fülesdi B, Munkácsy Cs, Csiba L. Gender-related differences in acetazolamide-induced cerebral vasodilatory response: a transcranial Doppler study. **J Neuroimaging.** 2000;10:151-6. **IF: 0.942**
14. **Oláh L.** Franke C, Schwindt W, Hoehn M. CO(2) reactivity measured by perfusion MRI during transient focal cerebral ischemia in rats. **Stroke.** 2000;31:2236-44. **IF:6.008**

15. Trapp T, Oláh L, Holker I, Besselmann M, Tiesler C, Maeda K, Hossmann KA. Gtpase rhob: an early predictor of neuronal death after transient focal ischemia in mice. **Molecular and Cellular Neuroscience**. 2001;17:883-94. **IF: 5.446**
16. Oláh L, Misz M, Kappelmayer J, Ajzner É, Csépany T, Fekete I, Bereczki D, Blaskó Gy, Csiba L. Natural coagulation inhibitor proteins in young patients with cerebral ischemia. **Cerebrovasc Dis**. 2001;12:291-7. **IF: 1.665**
17. Althausen S, Mengesdorf T, Mies G, Oláh L, Nairn AC, Proud CG, Paschen W. Changes in the phosphorylation of initiation factor eIF-2alpha, elongation factor eEF-2 and p70 S6 kinase after transient focal cerebral ischaemia in mice. **J Neurochem**. 2001;78:779-87. **IF: 4.834**
18. Fülesdi B, Limburg M, Oláh L, Bereczki D, Csiba L, Kollár J. Lack of gender difference in acetazolamide-induced cerebral vasomotor reactivity in patients suffering from type-1 diabetes mellitus. **Acta Diabetol**. 2001;38:107-12. **IF: 0.817**
19. van Dorsten FA, Oláh L, Schwindt W, Grüne M, Uhlenkuken U, Pillekamp F, Hossmann KA, Hoehn M. Dynamic changes of ADC, perfusion, and NMR relaxation parameters in transient focal ischemia of rat brain. **Magn Reson Med**. 2002;47:97-104. **IF: 3.250**
20. Daoud R, Mies G, Smialowska A, Oláh L, Hossmann KA, Stamm S. Ischemia induces a translocation of the splicing factor tra2-beta 1 and changes alternative splicing patterns in the brain. **J Neurosci**. 2002;22:5889-99. **IF: 8.045**
21. Mengesdorf T, Althausen S, Mies G, Oláh L, Paschen W. Phosphorylation state, solubility, and activity of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II alpha in transient focal ischemia in mouse brain. **Neurochem Res**. 2002;27:477-84. **IF: 1.672**
22. Oláh L, Csépany T, Bereczky Z, Kerényi A, Misz M, Kappelmayer J, Csiba L. Természetes antikoaguláns fehérjék szerepe az ischaemiás stroke akut fázisában. **Ideggy Szle**. 2005;20;58:33-9.
23. Oláh L. Cerebrovaszkuláris betegségek megelőzése. **Háziorvosi Továbbképző Szemle**. 2009;14:394-8.
24. Oláh L. A transcranialis Doppler szerepe a cerebrális vasodilatációs képesség meghatározásában. **Orvostudományi Értesítő**. 2009;82:79-82.
25. **ACTIVE Investigators**., Connolly SJ, Pogue J, Hart RG, Hohnloser SH, Pfeffer M, Chrolavicius S, Yusuf S. Effect of clopidogrel added to aspirin in patients with atrial fibrillation. **N Engl J Med**. 2009;360:2066-78. **IF:47.05**
26. Kovács KR, Szekeres CC, Bajkó Z, Csapó K, Molnár S, Oláh L, Magyar MT, Bereczki D, Kardos L, Soltész P, Bojtör AB, Csiba L. Cerebro- and cardiovascular reactivity and neuropsychological performance in hypertensive patients. **J Neurol Sci**. 2010;299:120-5. **IF:2.167**
27. Csongrádi É, Nagy B Jr, Fülöp T, Varga Z, Karanyi Z, Magyar MT, Oláh L, Papp M, Facskó A, Kappelmayer J, Paragh G, Káplár M. Increased levels of platelet activation markers are positively associated with carotid wall thickness and other atherosclerotic risk factors in obese patients. **Thromb Haemost**. 2011;106:683-92. **IF:5.044**

28. Soltész P, Laczik R, Veres K, Kerekes G, Szomják E, Magyar MT, Fekete I, Molnár S, Fekete K, **Oláh L**, Csiba L. Perifériás érbetegek és stroke-ot elszenvedett betegek komplex angiológiai vizsgálata és gondozási folyamata. Az Augusztus Vascularis Program első eredményei. **Érbetegségek**. 2012;2:31-38.
29. Szabó KJ, Ádány R, Balla J, Balogh Z, Boda Z, Édes I, Fekete I, Káplár M, Mátyus J, **Oláh L**, Olvasztó S, Paragh G, Páll D, Pfliegler G, Vajda G, Zeher M, Csiba L. Újabb ismeretek a különböző vascularis kórképek megelőzésében, diagnosztikájában és terápiájában. **Orv Hetil**. 2012;153:483-98.
30. Léránt B, Christina S, Kovács KR, **Oláh L**, Kardos L, Csiba L. Morphological, hemodynamic and stiffness changes in arteries of young smokers. **Perspectives in Medicine**. 2012;1:152-155.
31. Léránt B, Christina S, **Oláh L**, Kardos L, Csiba L. Az érfalvastagság és érfalmerevség összehasonlító vizsgálata dohányzó és nemdohányzó egyetemisták körében. **Ideggy Szle**. 2012;65:121-6. **IF: 0.348**
32. Bajkó Z, Szekeres C, Kovács KR, Csapó K, Molnár S, Soltész P, Nyitrai E, Magyar MT, **Oláh L**, Bereczki D, Csiba L. Anxiety, depression and autonomic nervous system dysfunction in hypertension. **J. Neurol Sci**. 2012;317:112-6. **IF:2.243**
33. Mezei Z, **Oláh L**, Kardos L, Kovács RK, Csiba L, Csépany T. Cerebrovascular hemodynamic changes in multiple sclerosis patients during head-up tilt table test: effect of high-dose intravenous steroid treatment. **J Neurol**. 2013;260:2335-42. **IF: 3.841**
34. Kovács KR, Bajkó Z, Szekeres CC, Csapó K, **Oláh L**, Magyar MT, Molnár S, Czuriga D, Kardos L, Buraine AB, Bereczki D, Soltész P, Csiba L. Elevated LDL-C combined with hypertension worsens subclinical vascular impairment and cognitive function. **Journal of the American Society of Hypertension**. 2014;8:550-60. **IF: 2.606**
35. Káplár M, Sweni S, Kulcsár J, Cogoi B, Esze R, Somodi S, Papp M, **Oláh L**, Magyar MT, Szabó K, Czuriga-Kovács KR, Hársfalvi J, Paragh G. Mannose-binding lectin levels and carotid intima-media thickness in type 2 diabetic patients. **J Diabetes Res**. 2016;2016:8132925. doi: 10.1155/2016/8132925. **IF: 2.431**
36. Malojcic B, Giannakopoulos P, Sorond FA, Azevedo E, Diomedi M, Oblak JP, Carraro N, Boban M, **Oláh L**, Schreiber SJ, Pavlovic A, Garami Z, Bornstein NM, Rosengarten B. Ultrasound and dynamic functional imaging in vascular cognitive impairment and Alzheimer's disease. **BMC Med**. 2017;15(1):27. **IF:8.005**

7.3. FŐBB TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK:

Összes közleményre vonatkozó adatok (a sokszerzős közlemény nélkül)

Összes közlemény száma:	46
Összes hivatkozás száma:	751
Független hivatkozások száma:	652
Összesített impakt faktor:	115.7

Első és utolsó szerzőségű közleményekre vonatkozó adatok

Első és utolsó szerzőségű közlemények száma (megosztott első szerzőségű közleményt is beleszámítva):	20
Első és utolsó szerzőségű közleményekre adott összes hivatkozás száma (megosztott első szerzőségű közleményt is beleszámítva):	293
Első és utolsó szerzőségű közleményekre adott független hivatkozások száma (megosztott első szerzőségű közleményt is beleszámítva):	253
Első és utolsó szerzőségű közlemények impakt faktora (megosztott első szerzőségű közleményt is beleszámítva):	46.162

Az értekezéshez felhasznált közleményekre vonatkozó adatok

Az értekezéshez felhasznált közlemények száma:	11
Az értekezéshez felhasznált közleményekre adott összes hivatkozás száma:	315
Az értekezéshez felhasznált közleményekre adott független hivatkozások száma:	273
Az értekezéshez felhasznált közlemények impakt faktora:	42.447

A PhD értekezésben nem szereplő cikkekre vonatkozó adatok

A PhD értekezésben nem szereplő közlemények száma:	36
A PhD értekezésben nem szereplő közleményekre adott összes hivatkozás száma:	671
A PhD értekezésben nem szereplő közleményekre adott független hivatkozások száma:	583
A PhD értekezésben nem szereplő közlemények impakt faktora:	104.231

Hirsch index: 15

Oláh László tudományos és oktatási munkásságának összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztály (2017.04.26.)

Tudományos és oktatási közlemények	Száma		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Folyóiratcikk²	47	---	---	---
szakcikk, nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	31	651	752
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	0	0	0
szakcikk, magyar nyelvű	---	8	5	5
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként ³	---	1	444	573
összefoglaló közlemény	---	6	7	7
rövid közlemény	---	1	24	30
II. Könyv	1	---	---	---
a) Szakkönyv, kézikönyv	1	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	1	0	0
b) Szakkönyv, tankönyv szerkesztőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
III. Könyvrészlet	8	---	---	---
idegen nyelvű	---	2	0	0
magyar nyelvű	---	2	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	4	0	0
IV. Konferenciaközlemény⁴	0	---	0	0
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)	---	5	0	0
Tudományos közlemények összesen (I.-IV.)	---	51	1131	1367
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	56	---	1131	1367
V. További tudományos művek	0	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikket is	---	0	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	0	0	0
VI. Idézett absztraktok⁵	0	---	0	0

Idézetség száma¹	---	---	1131	1367
Hirsch index⁵	15	---	---	---
g index⁶	37	---	---	---

Speciális tudományometriai adatok	Száma	Összes hivatkozás
Első szerzős folyóiratcikkek száma ^{2*}	11	155
Utolsó szerzős folyóiratcikkek száma ^{2*}	8	44
Az utolsó tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (2002 -) teljes tudományos folyóiratcikkek	22	709
Az utolsó 10 év (2007-2017) tudományos, teljes, lektorált folyóiratcikkeinek száma	21	707
A legmagasabb idézettségű közlemény idézettsége (az összes idézettség százalékában)	573	41,92%
Idézetek száma, amelyek nem szerepelnek a WOS/Scopus rendszerben	18	
Jelentés, guideline	0	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő ⁷	0	0

*Az MTMT nem tudja szolgáltatni a megosztott első és megosztott utolsó szerzőség adatokat. Ezeket a kérelmezőnek a doktori eljárás folyamán a 3. sz. adatlapon kell feltüntetnie.

Megjegyzések:

¹ a disszertáció és egyéb típusú idéző nélküli - WOS és/vagy Scopus rendszerben nyilvántartott adatok

² lektorált, tudományos folyóiratban

³ a szerző írásban nyilatkozik, hogy érdemi szerzői hozzájárulásával készültek szerzőként jegyzett közleményei, és az érdemi hozzájárulást dokumentálni tudja

⁴ konferenciaközlemény folyóiratban, könyvben vagy egyéb konferenciakötetben

⁵ nem idézett absztrakt itt nem kerül az összesítésbe

⁶ a disszertáció és egyéb típusú idéző nélküli összes idézővel számolva

⁷ közreműködés esetén a csoportos szerzőségű közlemények idézettsége külön értékelendő, és nem számítható be az összesített idézetek közé

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Kiemelt köszönettel tartozom Dr. Csiba László Professor Úrnak, aki tudományos munkámat nemcsak intézetvezetőként és munkatársként, de barátként is támogatta. Hálásan köszönöm Dr. Fekete István Professor Úrnak, hogy az ideg- és elmegyógyászati oktatás során felkeltette az érdeklődésemet a neurológia iránt, megtanította a neurológia alapjait, s elindított a neurológusi pályán.

Köszönet illeti külföldi mentoraimat, akik Kölnben, a Max-Planck-Intézetben segítettek a munkámat. Az ottani tudományos munkám koordinálásáért Hossmann Professor Úrnak, az MR vizsgálatok során nyújtott támogatásért Hoehn Professor Úrnak, míg a biokémiai kísérletekben, állatkísérletekben nyújtott segítségért Mies és Paschen Professor Uraknak tartozom köszönettel. Köszönettel tartozom továbbá Dr. Bernhard Rosengarten Professor Úrnak, aki a funkcionális TCD vizsgálatok elindításakor volt segítségemre.

Közvetlen főnökeimen túl sokat tanultam Molnár Professor Úrtól, Hegedüs Professzornőtől, Mechler Professor Úrtól, Bereczki Professor Úrtól, Fülesdi Professor Úrtól, Diószeghy Tanár Úrtól, Csépany Tanárnőtől és Vámosi Adjunktus Úrtól. Köszönöm a vizsgálatokban velem dolgozó, Valikovics Tanár Úrnak, Molnár Sándor Főorvos Úrnak hogy munkám során mindig támogattak.

Köszönettel tartozom a Neurológiai Klinika Doppler munkacsoportjának. Külön hálával tartozom Borók Józsefnének, aki nemcsak közvetlen segítséget adott a kísérletek technikai lebonyolítása során, de komoly terhet vett le a vállunkról a mindennapi rutin vizsgálatok lelkiismeretes, precíz végzésével. Az elektrofiziológiai labor munkatársai közül Paluskáné Peterman Tündének, Kathi Lászlónénak és Oláh Katalinnak köszönöm a segítségét.

Ki kell emelnem a vizsgálatokban résztvevő önkénteseket, s külön a vak résztvevőket, akik a különféle nehézségek ellenére mindig szívesen vállalkoztak a sokszor meglehetősen hosszú és fárasztó vizsgálatokra. Köszönöm nekik az önzetlen segítségnyújtást.

Köszönöm a mindenkori kollégáimnak és a TDK munkát végző hallgatóknak hogy segítettek a mindennapi munkában és ösztönöztek a kísérletek végzésekor.

Hálával és szomorú szívvel gondolok arra a sok-sok kísérleti állatra, melyet Kölnben operáltunk. Bízom benne, hogy haláluk nem volt értelmetlen.

Vizsgálataink egy részét (Az akut alkoholfogyasztás hatása az agyi hemodinamikai változásokra; Látó és vak személyek PCA-ban mérhető áramlási válasza) a Nemzeti Agykutató Program (KTIA_NAP_13-1-2013-0001) támogatta.

Végül, de nem utolsósorban nagyon köszönöm feleségemnek, Dr. Pallagi Edinának, hogy végigkísért eddigi utamon, s kitartott mellettem akkor is, amikor heteken át több időt töltöttem a számítógéppel mint vele, s aki három gyönyörű gyermekkel ajándékozott meg. Nekik, név szerint Marcinak, Istinek és Áginak is nagyon köszönöm, hogy elviselték és tolerálták, amikor a szabadidőm őket illető részét elloptam, remélem megbocsátják ezt nekem. Nem tudok elég hálás lenni szüleimnek, akik szeretetükkel mindig segítettek és támogattak.