

Dr. Janszky József
egyetemi tanár Úr részére

Tisztelt Professzor Úr!

Hálásan köszönöm, hogy MTA doktori értekezésem bírálatát elvállalta. Kérdéseire adott válaszaim a következők:

1. **Kérdés:** az első kérdés arra irányult, hogy az angiotensin hatása, melyet krónikus állatmodelleken vizsgáltunk, hogyan használható a stroke terápiájában. Kérdésként merült fel, hogy az angiotensin receptor blokkolása elsősorban az akut stroke-ban, vagy a stroke prevenciójában javasolt, illetve a prevencióban hogyan befolyásolhatja a kezelési protokollt hypertoniás és normotoniás egyéneknél?

Válasz: mint munkánkban is említettük, nem várható, hogy a már kialakult vaszkuláris hipertrófia és a károsodott autoreguláció az angiotensin-1 (AT1) receptor blokádjával az akut ischémiás stroke időszakában helyreállítható lenne. Emiatt elsősorban preventív hatás várható az AT1 receptor blokkolók tartós adásától a stroke primer, ill. szekunder prevenciójában. Ugyanakkor, mivel a neuronokban is megtalálható az AT1 receptor, vascularis hatások által nem befolyásolt in vitro kísérletben is vizsgáltuk az AT1 receptor hiányának a hatását. Ezek a kísérletek azt igazolták, hogy az AT1 receptor mediálta kedvezőtlen angiotensin hatás nem írható csak a vazokonstrikció és a simaizom sejtek proliferációjának, vagyis a kedvezőtlen vascularis hatás rovására. Mindez azt jelenti, hogy az ischémiával szembeni fokozott rezisztencia révén az AT1 receptor blokkolók akut alkalmazása is előnyös lehet, de ezt csak klinikai vizsgálatokkal lehet igazolni.

Az irodalmi adatok az AT1 receptor blokkolók tartós alkalmazása során a stroke rizikó csökkenését igazolták (LIFE, SCOPE, ONTARGET tanulmány). Mivel az angiotensin képződéséhez az angiotensin konvertáz enzim (ACE) szükséges, nem meglepő, hogy a stroke prevenció terén az ACE gátlók kedvező hatása is igazolódott (HOPE, PROGRESS, ONTARGET tanulmány). Ez alapján a hypertonia kezelési protokolljában véleményem szerint nem szükséges változtatás: kezdhünk az ACE gátlókkal és diuretikumokkal, ha a beteg az ACE gátlót nem tolerálja, akkor az ACE gátló helyett áttérhetünk az AT1 receptor gátlókra, s szükség esetén a fenti gyógyszerek kalcium-csatorna blokkolókkal egészíthetők ki. ACE gátlók helyett kezdhünk AT1 receptor gátlókkal (ARB) is.

Több vizsgálat igazolta, hogy az ACE gátlóknak és az AT1 receptor blokkolóknak a mikro- és makrovaszkuláris szövődményekre mind hypertoniás, mind normotoniás egyéneknél jótékony hatása van. Több ACE gátló, vagy ARB gátló hatását vizsgáló primer stroke prevenció tanulmányban (Heart Outcomes Prevention Evaluation – ramipril – HOPE, Losartan Intervention for Endpoint Reduction to Hypertension - LIFE, Study on Cognition and Prognosis in the Elderly and Australian National Blood Pressure Study – candesartan – SCOPE) azt találták, hogy a vérnyomáscsökkentő szerek a kiindulási vérnyomásértékektől függetlenül csökkentik a stroke rizikóját nagy kardiovaszkuláris rizikójú illetve diabeteses betegekben. A szekunder stroke prevenció tanulmányok közül a PROGRESS tanulmány (Perindopril Protection against Recurrent Stroke Study – perindopril+indapamid) világított rá, hogy az antihipertenzív szerek használata vérnyomástól függetlenül csökkentette a visszatérő stroke rizikóját. Az ACCESS (Acute Candesartan Cilexetil Evaluation in Stroke Survivors trial) vizsgálat akut stroke betegekben, a gyógyszert közel 30 órával a felvétel után adva is igazolta az AT1 receptor blokkoló candesartan jótékony hatását az újabb kardiovaszkuláris betegségek kialakulására és a mortalitásra.

Donnan GA, Davis SM, Thrift A. The role of blood pressure lowering before and after stroke. *Curr Opin Neurol.* 2003;16:81-6.

Bornstein N, Silvestrelli G, Caso V, Parnetti L. Arterial hypertension and stroke prevention: an update. *Clin Exp Hypertens.* 2006;28:317-26.

Miyamoto N, Tanaka Y, Ueno Y, Tanaka R, Hattori N, Urabe T. Benefits of prestroke use of angiotensin type 1 receptor blockers on ischemic stroke severity. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2012;21:363-8. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2010.09.011.

Farsang C. Indications for and utilization of angiotensin receptor II blockers in patients at high cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag.* 2011;7:605-22. doi: 10.2147/VHRM.S23468.

2. **Kérdés:** a penumbra méretét az ellenoldali félteke méretére normalizáltuk, így a bíráló kérdése az volt, hogy az angiotensin hatásának vizsgálatánál a féltekék közötti esetleges volumenkülönbség befolyásolhatta-e az eredményeket?

Válasz: az arteria cerebri media elzárását a bal oldalon hoztuk létre. Az esetleges ödémából származó eltérések kiküszöbölésére a korrigált lézió méretét határoztuk meg Swanson és mtsai. (1990) leírása szerint. Ennek értelmében a lézió területének meghatározásához megmértük a kontroll félteke területét és ebből kivontuk az érintett féltekében mért ép területet, s ezt a korrigált lézió méretet fejeztük ki az ép félteke területének a százalékában. A fentiek alapján a féltekék közötti volumenkülönbség az eredményeinket nem befolyásolta. Swanson RA, Morton MT, Tsao-Wu G, Savalos RA, Davidson C, Sharp FR. A semiautomated method for measuring brain infarct volume. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1990;10:290-293. Belayev L, Alonso OF, Busto R, Zhao W, Ginsberg MD. Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture. *Neurological and pathological evaluation of an improved model. Stroke.* 1996 Sep;27(9):1616-22.

3. **Kérdés:** javasolja-e a szerző T2 térkép készítését a humán gyakorlatban? Ha igen, az akut stroke terápiájának melyik fázisában: lízis előtt/után/közben, thrombectomia előtt/után? A döntési folyamatot befolyásolhatja-e a humán T2 térkép eredménye az akut stroke kezelés során?

Válasz: a humán gyakorlatban T2 súlyozott felvételeket készítünk, de relatív T2 térkép készítése nem lehetséges, mivel ehhez pixel szintű analízis szükséges, melynek során a stroke utáni T2 értékekből előállított felvételt kellene a stroke előtti T2 értékekre normalizálni. Mivel stroke előtti T2 felvétel nem áll rendelkezésünkre, így relatív T2 térkép a mindennapi gyakorlatban nem készíthető. Meg lehetne próbálni T2 térképet készíteni az ellenoldali féltekében mért identikus pontok T2 értékeire normalizálva, azonban ez kevésbé lenne megbízható. Ha relatív T2 térképet lehetne készíteni, az a prognózis meghatározása szempontjából lehetne előnyös, de erre a thrombolysis előtt és után végzett T2 térképek együttese adhatná a legnagyobb segítséget, hisz eredményeink alapján a reperfúzió után emelkedő T2 érték mind a permanens, mind a másodlagos károsodást jelzi, vagyis a kedvezőtlen kimenetelt becsülné.

Mivel a relatív T2 értékek az ischaemia végén nem különböztek szignifikáns mértékben a „helyreállt”, a „másodlagos rosszabbodást”, illetve a „permanens károsodást” szenvedett szöveti csoportokban, adataink alapján a reperfúziós terápia előtt készített relatív T2 térképnek a döntési folyamatra valószínűleg nem lenne hatása.

4. **Kérdés:** az MR és metabolikus értékek kapcsolatánál az ADC értékeket vizsgálták. Miért nem vizsgálták a T2 értékeket, hiszen a végleges károsodás prognózisában a T2 térkép jobbnak bizonyult?

Válasz: az egyik legelfogadottabb teória szerint az ADC érték az intracelluláris oedemával, míg a T2 érték a szöveti nettó víztartalommal mutat összefüggést. Egy-két órás permanens ischaemia során a kb. 80% alatti relatív ADC érték által és az ATP hiány által meghatározott léziók között jó korrelációt találtak. A fenti gondolatmenet alapján terveztük azt vizsgálni, hogy különböző reperfúziós idők mellett is létezik-e egy stabil relatív ADC érték, mely az energia metabolizmus károsodását a reperfúziós időszakban is jelzi.

A másik magyarázat, hogy mind az experimentális, mind a klinikai gyakorlatban az ischémiás stroke akut fázisában a diffúz súlyozott felvétel és az ADC térkép sokkal érzékenyebb, mint a T2 felvétel. Patkánykísérletekben egy órás a. cerebri media occlusio végére az ADC értékben

szignifikáns csökkenés (az ischemiát megelőző érték 55-70%-a), míg a T2 relaxációs időben csak alig észlelhető emelkedés volt.

Egyetértek a bírálóval abban, hogy a prognózis szempontjából a röviddel a reperfúziót követően detektálható, szignifikánsan emelkedett relatív T2 érték által meghatározott terület és a kísérlet végén ATP hiánnyal jellemezhető terület közötti korrelációt érdemes lett volna vizsgálni.

5. **Kérdés:** hogyan határozták meg a teljes, ill. féltekei agyi volumeneket, MRI vagy boncolási adatok alapján?

Válasz: a féltekei térfogatot az ADC térképeken az MRI adatok alapján mértük (a félteke területének összege az összes szeleten szorozva a szeletek távolságával). Az ATP és pH térképeken a féltekei térfogatot az ADC szeletekkel megegyező síkokból származó metszetek alapján határoztuk meg (a félteke területének összege az összes szeleten szorozva a szeletek távolságával). Épp az MR felvételek és a szövettani metszetek különböző rétegvastagsága miatt nem volt lehetőségünk a károsodott energia metabolizmust (csökkent ATP szintet) vagy a szöveti acidózist jelző relatív ADC küszöb pixel alapú meghatározására. Ehelyett a különböző relatív ADC értékek mellett meghatározott féltekei lézió térfogatokat egy 'relatív ADC– féltekei lézió térfogat' grafikonon ábrázoltuk, s ezen jelöltük a csökkent ATP szint, ill. a szöveti acidózis alapján mért féltekei lézió térfogatot, s így határoztuk meg a károsodott energia metabolizmust és szöveti acidózist jelző relatív ADC küszöböt.

6. **Kérdés:** volt-e különbség a dohányos és nem dohányos alanyoknál a nem részletezett vaszkuláris rizikók, pl. BMI, koleszterin szint, családi anamnesis tekintetében?

Válasz: a vaszkuláris rizikók (stroke, perifériás artériás betegség, myocardium infarktus, diabetes mellitus, hypertonia) kizáró kritériumok voltak ebben a tanulmányban. A BMI a nem dohányosok csoportjában 24.1 ± 1.9 , a dohányosok csoportjában 23.8 ± 2.2 , a korábbi dohányosok csoportjában 24.8 ± 1.9 kg/m² volt (az eltérések nem voltak szignifikánsak). A koleszterinszintet a 8. és 9. táblázatban tüntettük fel, s ebben sem volt szignifikáns eltérés a csoportok között.

7. **Kérdés:** az indometacin és naproxenre vonatkozó eredmények egyéb NSAID-okra történő kiterjesztési lehetőségére kérdezett a bíráló.

Válasz: eredményeinket nem lehet minden NSAID-ra kiterjeszteni, de a kérdés pontos megválaszolásához több nem-steroid gyulladásgátlóval történő vizsgálat elvégzése szükséges. A válaszadás azért is nehéz, mert különböző NSAID-oknál különböző, s egy NSAID-on belül sem feltétlenül egységes eredményekről számoltak be. Színezi a képet, hogy az eredményeket befolyásolta a szer adásának a módja (bólusban, infúzióban, per os), illetve az is, hogy milyen vazodilatációval járó folyamatot (vazoreaktivitás, neurovaszkuláris kapcsolat, autoreguláció) vizsgáltak (Hammerman és mtsai., 1995; Christmann és mtsai., 2002; Kondo és mtsai., 2010; Biestro és mtsai., 1995).

Bár a fentiek miatt nem lehet az indomethacinra és naproxenre vonatkozó eredményeink alapján minden NSAID-ra kiterjesztett következtetést levonni, de mivel nemcsak az indometacinnak van vazokonstriktor, illetve vazodilatációt gátló hatása, az NSAID-ok alkalmazásakor ezekkel a potenciális mellékhatásokkal számolni kell.

Hammerman C, Glaser J, Schimmel MS, Ferber B, Kaplan M, Eidelman AI. Continuous versus multiple rapid infusions of indomethacin: effects on cerebral blood flow velocity. *Pediatrics* 1995;95:244-8.

Christmann V, Liem KD, Semmekrot BA, van de Bor M. Changes in cerebral, renal and mesenteric blood flow velocity during continuous and bolus infusion of indomethacin. *Acta Paediatr.* 2002;91:440-6.

Kondo M, Kunikata T, Okazaki K, Yasuda S, Isobe K, Itoh S. Relation between infusion rate of indomethacin and cerebral blood flow velocity. *Pediatr Int.* 2010;52:616-21.

Biestro AA, Alberti RA, Soca AE, Cancela M, Puppo CB, Borovich B. Use of indomethacin in brain-injured patients with cerebral perfusion pressure impairment: preliminary report. *J Neurosurg.* 1995;83:627-30.

8. **Kérdés:** ha egyes NSAID-ok és a dohányzás befolyásolják a neurovascularis kapcsolatot, akkor használható-e egyáltalán az fMRI dohányosokban és NSAID-ot szedőkben?

Válasz: Vizsgálataink alapján úgy gondoljuk, hogy fMRI vizsgálatokban a dohányosok és NSAID-ot szedők bevonása kerülendő, de legalábbis törekedni kell arra, hogy a különböző csoportokban az arányuk hasonló legyen. Ha ez nem lehetséges (pl. fájdalmat vizsgáló fMRI vizsgálatok során NSAID hatás értékelésekor) az eredmények interpretációjakor figyelembe veendő, hogy a nem szteroid gyulladáscsökkentők mérsékelhetik a neuronális aktiváció kiváltotta áramlási választ, s így annak mértékét a gyógyszerhatás következtében alábecsülhetjük.

9. **Kérdés:** miért nem volt az NSAID vizsgálatoknál placebo kontroll csoport? Van-e adat vagy elképzelés arra vonatkozólag, hogy a placebo befolyásolhatja a neurovascularis kapcsolatot?

Válasz: esetünkben önkontrollos vizsgálatot végeztünk, mely azt jelentette, hogy először gyógyszer nélkül vizsgáltuk a neuronális aktiváció indukálta áramlási választ, majd NSAID adást követően. Olyan tanulmányt, melyben placebo adás előtt és után is történt volna neurovaszkuláris kapcsolat vizsgálat, nem találtam.

10. **Kérdés:** a neurovaszkuláris kapcsolat zavara dohányosokban és NSAID mellett járhat-e kognitív zavarral? A károsodott hiperperfúziós készség vajon nem jár-e együtt a neuronális aktivitás zavarával?

Válasz: a kognitív funkciót nem vizsgáltuk, vizsgáltuk viszont a vizuális kiváltott válasz P100 hullám latenciáját és amplitudóját, mint a neuronális aktiváció markerét, s ebben a dohányosok, korábbi dohányosok és nem dohányosok között, valamint az NSAID adás előtt és után nem találtunk különbséget.

A kérdés második felére Fox és mtsai. (1988) és Lin és mtsai (2008, 2010) adatai adhatnak választ, akik azt találták, hogy a neuronális aktiváció okozta cerebrális vérátáramlás növekedés mértéke 2-10 szerez ahhoz képest, mint ami a megnövekedett agyi oxigén anyagcseréhez szükséges a kérgi aktiváció során. Ezek alapján azt a következtetést vonták le, hogy a neurovaszkuláris kapcsolat jelentős biztonsági tartalékokkal működik fiziológiás körülmények között.

Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C. Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. Science. 1988;241:462-4.

Lin AL, Fox PT, Yang Y, Lu H, Tan LH, Gao JH. Evaluation of MRI models in the measurement of CMRO2 and its relationship with CBF. Magn Reson Med. 2008;60:380-9.

Lin AL, Fox PT, Hardies J, Duong TQ, Gao JH. Nonlinear coupling between cerebral blood flow, oxygen consumption, and ATP production in human visual cortex. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107:8446-8451.

11. **Kérdés:** a kérdés arra irányult, hogy a vakok Braille írás olvasása és a látók olvasásának összehasonlításakor miért nem monitoroztuk az arteria cerebri mediát?

Válasz: bár az 'Eredmény' részben részletesen nem tüntettük fel, a 115. oldalon megjegyeztük, hogy az olvasás által kiváltott MCA áramlási sebesség változásokat is monitoroztuk. A relatív áramlási sebesség maximális növekedése a nem domináns oldali MCA-ban mind a vak, mind a látó alanyokban ($3.3\% \pm 1.4\%$ a vakokban, ill. $3.6 \pm 1.5\%$ a látókban) szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az a. cerebri posteriorban. Eredményeink azt jelzik, hogy a nem domináns MCA területben, vakokban sem emelkedett jobban az áramlási sebesség, mint az a. cerebri posterior ellátási területében, vagy mint a látókban.

12. **Kérdés:** a kérdés az volt, hogy miért a posterior keringést vizsgáltuk funkcionális TCD vizsgálattal, és miért nem az arteria cerebri media területét, mely az ischemiás stroke leggyakrabban érintett területe.

Válasz: a posterior területi keringést leginkább a vizuális stimuláció befolyásolja, s kevés egyéb stimulus hat rá. Ezzel szemben az arteria cerebri media területben bármely funkciót is vizsgáljuk, sokkal több zavaró tényező merülhet föl (hanghatás, gondolkodás, beszédértés,

belső beszéd...). Emellett az arteria cerebri posteriorban vizuális stimuláció hatására 20-30% közötti átlagos áramlási sebesség változás várható, míg az arteria cerebri media területében ez az érték olvasás/szóképzés során a domináns oldalon kb. 8%-os, míg motoros feladat során 10% körüli. Összességében a kevesebb zavaró tényező és az erősebb stimulus kiváltotta áramlási válasz miatt választottuk az arteria cerebri posteriort.

Hogy a neurovascularis kapcsolat vizsgálatok kapott eredményeink érvényesek-e az arteria cerebri media területekre is, a válaszuk, hogy feltehetően igen, hisz sejtszinten és az erek szintjén hasonló mechanizmusról van szó. Ugyanakkor az elülső és hátsó keringés szimpatikus és paraszimpatikus beidegzése különböző (Gierthmülen és mtsai., 2010; Roloff és mtsai., 2016), így a kérdésre határozott választ nem lehet adni.

Roloff EV, Tomiak-Baquero AM, Kasparov S, Paton JF. Parasympathetic innervation of vertebrobasilar arteries: is this a potential clinical target? J Physiol. 2016;594:6463-6485. doi: 10.1113/JP272450.

Gierthmühlen J, Allardt A, Sawade M, Wasner G, Baron R. Role of sympathetic nervous system in activity-induced cerebral perfusion. J Neurol. 2010;257:1798-805. doi: 10.1007/s00415-010-5613-5.

13. **Kérdés:** az állatokban kimutatott reperfúziós károsodás fogalma mennyire ültethető át a humán gyakorlatba, különösen annak fényében, hogy a mechanikus thrombectomiák indikációjának időablaka a legújabb ajánlások alapján akár 24 óra is lehet?

Válasz: bár a mechanikus thrombectomiák indikációjának időablaka a DAWN vizsgálat alapján valóban akár 24 óra is lehet, fontos megjegyezni, hogy ez csak egy szelektált betegcsoportra érvényes, akikben a klinikai tünetek súlyossága és a képalkotó eredmények által jelzett lézió között discrepantia volt, mely relatíve nagy penumbra meglétét jelezte. A penumbrában, ahol az ADC kevésbé csökkent, reperfúziós károsodást nem tartok valószínűnek, azonban az ischaemiás laesio centrumában egy tartósabb ischaemia miatt alacsonyabb ADC-t és esetleg már T2/FLAIR eltérést is várnék. Ebben a területben az irreverzibilis károsodás, esetleg a reperfúziós károsodás rizikója nagyobb lehet, s ezzel a vérzéses transzformáció veszélye is megnőhet, amit azonban a DAWN tanulmány nem igazolt. Nyilván egy ilyen hosszú idő után (6-24 óra) is meglévő relatíve nagy penumbra jó kollektarális keringést jelez, mely az ischaemiás károsodás lassúbb kialakulását magyarázza és egyben enyhébb ischaemiás károsodást feltételez.

Nogueira RG, DAWN Trial Investigators. Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct. N Engl J Med. 2018 Jan 4;378(1):11-21.

Még egyszer köszönöm, hogy Professzor Úr elkészítette az értekezésemről szóló bírálatot. Bízva benne, hogy válaszaimat megfelelőnek találja,

Tisztelettel:

Oláh László

Debrecen, 2018. március 17.