

## OPPONENSI VÉLEMÉNY

### **Dr. Bagoly Zsuzsa: „Hemosztázis vizsgálatok cerebrovaszkuláris kórképekben: Új biokémiai és klinikai vonatkozások” című MTA Doktori értekezéséről**

Dr. Bagoly Zsuzsa „*Hemosztázis vizsgálatok cerebrovaszkuláris kórképekben: Új biokémiai és klinikai vonatkozások*” címmel adta be MTA Doktori értekezését. Az értekezés teljes terjedelme az irodalomjegyzékkel, illetve az MTMT adatlappal együtt 201 oldalt tesz ki, és 20 közleményen alapul, melyek közül a pályázó 10 közleményben utolsó, 7-ben pedig első szerző. Az értekezés részét képezi 66 ábra és 27 táblázat. Az irodalomjegyzék 346 hivatkozást tartalmaz. Az értekezés a hagyományos fejezetekre tagolódik: előszó, tartalomjegyzék, rövidítések jegyzéke, amit a szokásos tartalmi részek követnek (bevezetés, célkitűzések, betegek és módszerek, eredmények, megbeszélés). Ezt követően a jelölt 13 pontban fogalmazza meg új megállapításait. A jelölt precizitását tükrözi, hogy a teljes értekezésben mindössze 3 gépelési hibát találtam.

Az értekezés fő témaköre a véralvadás és a fibrinolízis egyes tényezőinek vizsgálata, egyrészt agyi vérkeringési zavarokban, másrészt pitvarfibrillációban. A bemutatott tudományos eredmények jelentős része a Debreceni Egyetem Neurológiai illetve Kardiológiai Klinikájával együttműködésben készült, közvetlenül kapcsolódva a két klinika fő profiljához. Ezen kapcsolódás miatt is, Dr. Bagoly Zsuzsa vérbeli klinikusnak tartható: bár a rutin munkáját és a kutatásokat a klinikai laboratóriumban végzi, kutatási területe egyértelműen kapcsolódik a betegellátáshoz. Egy jó klinikus alapvető jellemzője az alázat, és ez az alázat nyilvánul meg Dr. Bagoly Zsuzsa témaválasztásaiban, és az eredmények interpretálásában is. A klinikai orvostudományban egy adat többféleképpen értelmezhető. Egyik oldalon örülhetünk annak, hogy a stroke másodlagos prevenciója során a thrombocytá gátlókkal történő kezelés kivédi az ismétlődő stroke-ok 20%-át, de a másik oldalról tekintve a kérdést, miért nem védi ki az ismétlődő stroke-ok maradék 80%-át? Hasonlóképpen, örülhetünk annak, hogy akut ischaemiás stroke-ban a vérrögoldó kezelés az esetek 32%-ában állapotjavulással jár, de mi az oka annak, hogy az esetek 62%-ában nincs számottevő javulás, sőt 6%-ban korai rosszabbodás következik be? Bagoly Zsuzsa vizsgálatai ezen utóbbi kérdésekre irányulnak, azt a törekvést tükrözik, hogy nem elégszik meg egy-egy kezelési eljárás 20-30%-os eredményességével, hanem próbálja megfejteni az eredménytelen esetek hátterében álló okokat, azzal a távlati céllal, hogy az ilyen állapotok kezelése a jövőben nagyobb hatékonysággal történhessen.

Az értekezést alátámasztó közlemények 3 témakör kutatását foglalják össze: 1.) Hemosztázis vizsgálatok akut ischaemiás stroke betegekben az intravénás thrombolysis kimenetelével összefüggésben; 2.) Hemosztázis vizsgálatok a vérlemezke gátló terápia hatásosságának felismerésére; 3.) Hemosztázis vizsgálatok pitvarfibrilláló betegekben a thromboemboliás szövődmények, például a stroke rizikó jobb megértése érdekében. A vizsgálatok egyrészt az adott kórképekben szenvedő betegekből származó mintákra irányulnak, másrészt in-vitro kutatásokat foglalnak össze.

A vizsgálatok koherensek, a klinikai laboratóriumi medicina véralvadással kapcsolatos területére fókuszálnak. Az eredményeknek a jövő szempontjából fontos jelentősége van; különösen azért, mert a vizsgálatok egy része a jelölt és munkacsoportja által kifejlesztett új vizsgálati módszereken alapul.

Megjegyzéseim és kérdéseim a következők:

1.) A 26-27. oldalon mutatja be a fibrinolízis laboratóriumi vizsgálatát. Itt nem tesz említést a korábban alkalmazott fibrindegradációs produktumok (FDP) és a D-dimer vizsgálatokról. Kérdezem, hogy ezek a vizsgálati módszerek kiszorultak már a gyakorlatból, vagy más oka van annak, hogy nem említi őket?

2.) A 32. oldalon az akut stroke-gyanús beteg ellátásának lépéseinél említi a CT angiographiát (CTA), de kihagyja az MR angiographiát (MRA). Bár a magyarországi stroke centrumok döntő többségében a CT és a CT angiographia a sürgősséggel hozzáférhető képalkotó eljárás, érdemes megemlíteni, hogy ahol lehetőség van rá, az akut ellátás során az MRI és az MRA vizsgálat alkalmazásának vannak előnyei.

3.) A 34. oldalon szerepel, hogy jelenleg az akut ischaemiás stroke intravénás thrombolysisére az egyetlen törzskönyvezett szer az alteplase (rekombináns szöveti plazminogén aktivátor). Érdemes lenne megemlíteni a tenecteplase (metalyse) hatóanyagot is, melynek alkalmazását az európai és magyar stroke irányelvek is tartalmazzák, és az Európai Gyógyszerügynökség alkalmazási előiratában is szerepel ez az indikáció ([https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/metalyse-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/metalyse-epar-product-information_en.pdf)). A közeljövőben ugyanis várható, hogy a könnyebb alkalmazhatóság és a hasonló hatékonyság miatt a tenecteplase átveszi az actilyse szerepét.

4.) A 42. oldalon zárójelben szereplő „agyi történés” hogyan értelmezendő? (Egy szép emlék felidézése is „agyi történés”).

5.) A 42. oldalon a 3. táblázatban szerepel az aszpirin hatás laboratóriumi vizsgálata. A COX-1 gátlásra nem specifikus módszereket nem ajánlja terápiák monitorozására; ide tartozik az ADP-, a kollagén- és az adrenalin indukálta thrombocytá aggregáció. A hazánkban korábban kiterjedten alkalmazott Carat-Cl aggregometriás módszer alkalmazását (pl. Orv Hetil. 1996;137:455-459.) ezek szerint napjainkban már nem tartja alkalmasnak a terápia monitorozására?

6.) A 47. oldalon vetődik fel a hemosztázis paraméterek vizsgálata perifériás (vena femoralis), és bal pitvari vérminták összehasonlításával. Ha a bal pitvari térfogatot 50 mL-nek (normál határok: 22-58 mL) és a perctérfogatot 3500 mL-nek tekintjük, akkor a bal pitvar tartalma percenként 70-szer kicserélődik. Véleményem szerint ezért a bal pitvari vérminta döntő mértékben nem a bal pitvar, hanem a tüdő állapotáról ad információt. Mi erről a jelölt véleménye? Várható-e a jelölt szerint, hogy ilyen mértékű vérátáramlás mellett bármilyen mérhető különbség legyen a vena femoralis és a bal pitvari vér hemosztázis paraméterei között azon túl, ami a tüdőben zajló folyamatoknak, vagy az invazív beavatkozással járó lokális pitvari szövetsérülésnek tulajdonítható?

7.) Az 51. oldalon az ablációs kezelés mellékhatásaként kialakuló cerebrális embolizációt említi, ami a diffúzió súlyozott MRI képalkotással kis kiterjedésű fehérállományi lézióként jelenik meg. A cardioemboliás mechanizmussal kialakuló stroke-ok egyik jellegzetessége, hogy a cortexet is érintik, ennek megfelelően ék-alakú elváltozás látható az MRI felvételen. Kérdezem, hogy miért hangsúlyozza a fehérállományi léziót a corticalis lézióval szemben?

8.) A 63. oldalon a 4.2.1. fejezet címében a vérrögök súlyáról, máshol a vérrögök tömegéről tesz említést. Kérdezem, hogy ugyanabban az értelemben használja-e a súly és a tömeg fogalmát?

9.) A thrombocyta gátló terápiák hatásosságának és hatástalanságának eldöntése nehéz kérdés, az értekezésben közölt mérések in-vitro reakciók alapján mért laboratóriumi hatástalanságot jelentenek. Kérdezem, hogy mi az álláspontja a biokémiai hatástalanság (a laboratóriumi módszerekkel mért eltérések) és a klinikai hatástalanság (stroke ismétlődésének kockázata) összefüggéséről?

10.) A 70. oldalon a 4.3.2. fejezetben a laboratóriumi hatástalanságok vizsgálatánál jelentős különbség van a clopidogrel és az aszpirin csoport között: míg a clopidogrellel kezelt csoportnak kb. a felében nem lehetett clopidogrel hatást igazolni, addig az aszpirinnel kezelt betegek több mint 90%-ában ki lehetett mutatni laboratóriumi hatást. Kérdezem, hogy ennek hátterében állhat az, hogy a clopidogrel csoportba tartozó betegek fele, míg az aszpirin csoportba tartozóknak mindössze 5%-a nem szedte a megfelelő készítményt? Ha ez így van, mi lehet az adherenciában talált ilyen jelentős mértékű különbség oka? Ugyanezen az oldalon további kérdésem, hogy hogyan sikerült 140 egészségest toborozni ehhez a vizsgálatához?

11.) A 82. oldalon a plazminogén aktivátor inhibitor 1 (PAI-1) aktivitását, illetve antigén szintjét hasonlították össze thrombolysis során, és az aktivitás és antigénszintek közötti legjobb korreláció is 0,75 volt. Kérdezem, hogy miért nem 1 a korreláció az aktivitás- és antigén érték között? Ugyanez a kérdésem az  $\alpha 2$ -plazmin inhibitorra vonatkozóan is: nem tartható-e túl kicsinek a felvételtkori mintákban az  $\alpha 2$ -PI antigénszint és aktivitás közötti 0,56-os korreláció?

12.) A 84. és 85. oldalon (5.1.3. fejezet) a 9. illetve a 10. táblázatban nem azonos esetszámok szerepelnek, a 9. táblázatban 128 eset, míg a 10. táblázatban 93 eset adatai szerepelnek, mi ennek a különbségnek az oka?

13./ A 99. oldalon a 36. ábrán „sikertelen reperfüzió” szerepel. Ezt a fogalmat 2 értelemben is használják: radiológiailag, ha ez ér nem nyílt meg; és klinikailag, ha a beteg állapota nem javult, függetlenül attól, hogy megnyílt vagy nem nyílt meg az ér a kezelést követően. Kérdésem, hogy az értekezésben a kifejezés a radiológiai vagy a klinikai értelemben szerepel?

14./ A 120. oldalon a 21. táblázat utolsó előtti sorában az szerepel, hogy haemorrhagiás transzformáció esetében a plazminogén aktivitás szignifikánsan kisebb. Kérdésem, hogy nem az ellenkezőjét várnánk?

15./ A 120. oldalon az alvadék lízis teszt (CLA) terápia-asszociált intracraniális vérzés előrejelzésére vonatkozó alkalmazhatóság tekintetében a ROC analízis az 50%CLT-re 0,56,

illetve DNS és hiszton jelenlétében 0,66 értéket adott. Kérdésem, hogy nem túl kis értékek ezek a rutinba történő bevezetéshez?

16.) A 127. oldalon az endogén thrombin potenciál (ETP) alsó kvartilisbe tartozó értéke 17-szeresére növelte a tünetekkel járó intracranialis vérzés kockázatát. A 95%-os megbízhatóság tartomány alapján azonban a kockázat valahol a másfélszeres és a kétszázötvenkétszeres között van. Kérdésem, hogy ilyen színes konfidencia intervallumok mellett alkalmazhatónak tartja-e a vizsgálatot a mindennapi rutinban?

17.) A 131. oldalon a clopidogrelre nem megfelelően reagálók (laboratóriumi non-responderek) határértékek alapján megadott aránya módszertől függően 12-54% között változott. Egy ilyen széles tartomány nem teszi kérdésessé az egyes módszerek alkalmazhatóságát a rutinban?

#### Formai megjegyzések:

1.) A 66. oldalon az oldal felső harmadában „jelenlétében is hiányában is” helyett „jelenlétében és hiányában is”.

2.) 130. oldal 51. ábra: a betegek értékei a leírás szerint feketével szerepelnek, de az ábrán csak kék görbék látszanak.

3.) A 141. oldalon „hogya az fibrin monomer” helyett „hogya a fibrin monomer”.

#### **Összefoglalva:**

A jelölt nemzetközi viszonylatban is jelentős esetszámmal közölt több vizsgálatot, az eredmények tudományos értéke nem vitatható. A következtetést megfelelően prezentált adatok támasztják alá, az eredmények kritikus értékelése – ide értve a limitációk tételes felsorolását is – minden témánál precízen szerepel. Külön kiemelem, hogy a jelölt több új diagnosztikai módszert fejlesztett ki, illetve a már létező módszerekhez is kellő méretű kontroll csoportokkal meghatározta az egészséges referencia tartományokat. Több alkalommal előfordult, hogy a jelölt vizsgálatai nem erősítettek meg korábbi, mások által közölt vizsgálati eredményeket, ezek okát pontosan interpretálta.

A jelölt új tudományos eredményekkel járult hozzá szakterületéhez, ezen új eredmények saját vizsgálatokon alapulnak, a közölt eredményeket a jelölt saját eredményeinek fogadom el, az új megállapítások a következők:

1.) A FVIII aktivitás, a PAI-1 aktivitás és a  $\alpha$ 2-PI aktivitás közvetlenül thrombolysis után nagymértékben, szignifikánsan csökken, majd 24 órával később szintjük újra a kiindulási értékekhez közelített.

2.) Többváltozós logisztikus regressziós modellt alkalmazva igazolták, hogy a thrombolysist követően azonnal és 24 órával később detektált emelkedett FVIII és VWF antigén szintek a rossz hosszú távú kimenetel (90 napos mRS  $\geq 3$ ) független rizikótényezői.

- 3.) Igazolták, hogy a FXIII-A p.Val34Leu polimorfizmus jelentősen befolyásolta az alvadék méretét *in vivo* és *in vitro* kísérletes körülmények között egyaránt.
- 4.) A hemorrhagiás transzformációval a vizsgált hemosztázis paraméterek közül a felvételt követően mért alacsony  $\alpha$ 2-PI, valamint a thrombolysis utáni emelkedett VWF antigén szintek álltak szignifikáns kapcsolatban.
- 5.) Akut ischaemiás stroke betegek felvételi vérmintájából elvégzett módosított alvadék lízis vizsgálat sejtmentes DNS-el és hisztonnal kiegészítve, ill. a trombin generációs teszt ígéretes kiindulási állapot jelenthetnek a jövőben a hemorrhagiás transzformáció veszélyét előrejelző point-of-care tesztek fejlesztésére.
- 6.) A trombin generációs teszteredmények az agyvérzett betegekben potenciálisan fennálló hiperkoagulabilitást igazolják, és rámutatnak a megfelelő vénás thromboemboliás profilaxis alkalmazásának fontosságára ebben a betegcsoportban.
- 7.) Kidolgoztak egy módosított, PGE1-et tartalmazó ADP-indukálta thrombocytá aggregációs módszert, mely alkalmas a clopidogrel hatás tesztelésére. A hagyományos ADP-indukálta aggregációval szemben a teszt nem érzékeny aszpirin hatásra, és javasolható kettős thrombocytá gátló terápián lévő betegek vizsgálatára is.
- 9.) A VerifyNow Aspirin teszt eredményeit nem befolyásolta a clopidogrel, így az javasolható kettős thrombocytá gátló terápián lévő betegekben aszpirin hatás vizsgálatára.
- 11.) A FVIII aktivitás és a VWF antigén szint a pitvarfibrilláló betegekben szignifikánsan emelkedett a kontrollokhoz képest mind az intrakardiális, mind a perifériás vérmintákban.
- 12.) A cryoballon abláció az alkalmazott preoperatív antikoagulálástól függetlenül jelentős endothel aktivációt okoz, amit az emelkedett FVIII aktivitás és VWF szintek jeleztek az abláció utáni vérmintákban.

### **Összefoglalva:**

Dr. Bagoly Zsuzsa munkája magas színvonalú, következetes, kritikus szemléletű, jelentős módszertani felkészültséget tükröz. Az eredmények alapján az értekezés nyilvános vitára bocsátását javaslom.

Budapest, 2024. augusztus 23.

Tisztelettel:



Bereczki Dániel  
az MTA doktora