

# AKUT ISCHAEMIÁS STROKE ÉS SZÖVDMÉNYEI – IMMUNOLÓGIAI VIZSGÁLATOK ÉS EPIDEMIOLÓGIAI FELMÉRÉS

Doktori értekezés

**Dr. Folyovich András**

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Konzulensek: Dr. Bereczki Dániel D.Sc., egyetemi tanár,  
Dr. Toldi Gergely Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Purebl György Ph.D., egyetemi adjunktus  
Dr. Sas Katalin Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Flautner Lajos D.Sc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Nékám Kristóf, Ph.D., egyetemi tanár

Dr. Baran Brigitta, Ph.D, egyetemi docens

Dr. Sziksz Erna, Ph.D., tudományos munkatárs

Budapest  
2015

<b>Tartalomjegyzék</b>	<b>2</b>
<b>Rövidítésjegyzék</b>	<b>4</b>
<b>1. Bevezetés, irodalmi háttér</b>	<b>6</b>
<b>2. Célkit zések</b>	<b>28</b>
<b>3. Módszerek</b>	<b>30</b>
3.1. Alap kutatás: stroke-ot követ immunhiányos állapot és limfociták ködés	30
3.1.1. Betegek	30
3.1.2. Módszerek	31
3.1.2.1. A mononukleáris sejtek izolálása	31
3.1.2.2. A sejt felszíni markerek és az intracelluláris kalciumszint meghatározása	32
3.1.2.3. A sejtek gátlószeres kezelése	32
3.1.2.4. Az áramlási citométeres mérések értékelése	33
3.1.2.5. Statisztikai elemzés	35
3.2. Klinikai vizsgálat: gyulladásos marker stroke-ot követ immun-suppresszióban	35
3.2.1. Betegek	35
3.2.2. Módszerek	35
3.2.3. Statisztikai elemzés	36
3.3. Epidemiológiai vizsgálat: a stroke kimenetele és rizikó tényez ői Budapest két, alapvet ően más szocio-kulturális adottságú kerületében	37
3.3.1. A vizsgálat felépítése	37
3.3.2. Betegazonosítás	37
3.3.3. Beteg adatok feldolgozása	37
3.3.4. Statisztikai elemzés	38
3.4. Anomáliás ekvivalens potenciális hőmérséklet (EPT): légkört jellemző paraméter, mely előre jelzi az akut ischaemiás stroke-ban szenvedők magasabb halálozási kockázatát	38
3.4.1. Betegek	38
3.4.2. Az equivalent potential temperature (EPT): a vizsgált meteorológiai paraméter alkalmazása	39
3.4.3. Statisztikai elemzés	40

<b>4. Eredmények</b>	<b>41</b>
<b>5. Megbeszélés</b>	<b>56</b>
<b>6. Összefoglalás</b>	<b>66</b>
<b>7. Summary</b>	<b>67</b>
<b>8. Irodalomjegyzék</b>	<b>68</b>
<b>9. Saját közlemények</b>	<b>84</b>
<b>10. Köszönetnyilvánítás</b>	<b>87</b>

**RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK**

AIS	akut ischémiás stroke
APC	antigénprezentáló sejt
AUC	görbe alatti terület
CaM	kalmodulin
CD	cluster of differentiation
CHTX	charybdotoxin
CRAC	calcium-release activated calcium channel
DAG	diacil-glicerol
EAE	experimental autoimmune encephalomyelitis
ER	endoplazmás retikulum
FasL	Fas ligand
FITC	fluorescein isothiocyanate
IFN-	interferon gamma
IL	interleukin
IP <sub>3</sub>	inozitol-1,4,5-triszfoszfát
KIR	központi idegrendszer
LFA-1	lymphocyte function-associated antigen 1
MAP	mitogén-aktivált protein
Max	maximum érték
MGTX	margatoxin
MHC	major histocompatibility complex
NF-AT	nuclear factor of activated T cells
NF B	nuclear factor kappa B
PBMC	peripheral blood mononuclear cell
PBS	phosphate buffer saline
PE	phycoerithrin
PerCP	peridinin-chlorophyll-protein complex
PHA	fitohemagglutinin
PIP <sub>2</sub>	foszfatidilinozitol-4,5-biszfoszfát
PKC	protein kináz C

PLC	foszfolipáz C
PSORA-4	4-fenilbutoxi-pszoralén
RPMI	Rosewell Park Memorial Institute medium
SERCA	sarco (endo) plazmás retikulum $\text{Ca}^{2+}$ ATPáz
ShK	<i>Stichodactyla helianthus</i> toxin
SIIS	stroke-indukált immunszuppresszió
TCM	centrális memória T sejt
TCR	T sejt receptor
TEA	tetraetil-ammónium
TEM	effektor memória T sejt
TGF-	transforming growth factor beta
Th	T helper sejt
$t_{\max}$	a maximum elérésének ideje
TNF-	tumor nekrosis faktor alfa
TRAM	triarilmetán
Treg	regulátoros T sejt

## 1. BEVEZETÉS, IRODALMI HÁTTÉR

A stroke a harmadik leggyakoribb halálok a világban és Magyarországon egyaránt (World Health Organization, 2011). A magas halálozási arány mellett a stroke-ot túlélők kilátásai sem túl kedvezőek: korábbi életvitelét a betegek mindössze 10%-a tudja folytatni, megközelítőleg 50%-uk munkaképtelenné válik, 32-42%-uk önálló életvitelében is segítségre szorul (Saeki és mtsai, 1995; Kelly-Hayes és mtsai, 2003; Wozniak és mtsai, 1999). A stroke tehát a rokkantság vezető oka. A stroke incidenciája a különböző országokban jelentősen eltér, a magas morbiditási és mortalitási mutatók Magyarországon más országokhoz képest is rosszabbak. A stroke magyarországi prevalenciája 200 000 fő (Bereczki és Ajtay, 2011; Ajtay és mtsai, 2015). A stroke nem csak nagy gyakoriságú, de magas költségigényű betegség is. Az viszont egyértelmű, hogy hosszabb távon a drága modern vizsgálati és terápiás eljárások költsége megtérül. A cost/benefit arányát kedvezően befolyásolhatja, ha ugyanazzal a költséggel jobb eredményt érünk el vagy ha ugyanazt az eredményt kisebb költség révén valósul meg. Kisebbségi költséget eredményez a stroke-beteg szövődményeinek csökkentése és a jobb eredmény révén a társadalomba, munkaképes lakosságba nagyobb arányban visszatérő betegcsoport. Korábban a betegellátás során az orvos egyedüli szándéka a beteg számára minden elérhető diagnosztikai és terápiás lehetőség biztosítása volt függetlenül annak költségétől. Fokozatosan lett az orvosi gondolkodás része az, hogy ezt a célt a gazdasági lehetőségekhez igazítsa. Ennek a folyamatnak a része az egyes kezelési módszerek költséghatékonysági vizsgálata. A stroke-betegekre a magyar társadalombiztosítás 2008-ben 53 milliárd, 2009-ben 52 milliárd, 2010-ben pedig 46 milliárd Ft-ot költött. A kiadások megközelítőleg 31%-a a fekvő beteg-kasszát, 53 %-a a gyógyszerkasszát és 16 %-a pedig a járóbeteg-kasszát terhelte (Országos Egészségbiztosítási Pénztár Elemzési, Orvosszakértői és Szakmai Ellenőrzési Főosztály, 2011.). Egyes országokban (így Magyarországon) az ellátó hely adott ellátásért azonos finanszírozást kap függetlenül attól, hogy milyenek az intézmény jellemzői, mi a része az ellátásnak. Ennek megfelelően az anyagilag hatékonyabb ellátást a kiadási (költség)oldal csökkentésével lehet csak megoldani. Ez nem feltétlenül megy az ellátás rovására, de nincs garancia az ellenkezőjére sem. A gazdaságosabb egészségügyi-szociális ellátást segíti, ha a súlyosabb állapotú betegeket is minél nagyobb számban vonják be a rehabilitációs kezelésbe.

Gyakorló klinikusként rendszeresen szembesülök azzal a ténnyel: hiába teszünk meg mindent a beteg érdekében, állapotán a mai ellátási lehetőségekkel nem, vagy csak alig tudunk javítani. Ez óriási ösztönzőerőt jelent arra, hogy keressem a megoldást: olyan új terápiás szereket, beavatkozásokat, melyeknek a segítségével akár a korábban reménytelennek tartott esetekben is eredményeket lehet elérni.

A neurológiában is – csakúgy, mint az orvostudomány számos más területén – az utóbbi két évtized ebből a szempontból áttörő jelentőség volt. Különösen szkebb szakterületem, a stroke vonatkozásában: az új diagnosztikai modalitások mellett a hatékony és biztonságos intervenció, a primer és szekunder prevenció esetében még hatékonyabb készítmények állnak rendelkezésre. Ezek nagymértékben segítik a betegek kilátásait, a betegség prognózisát is javítják.

Több mint három évtizedes klinikai (egyetemi, majd fővárosi osztályvezetői) pályafutásom során mindvégig figyelemmel követtem a szakirodalmat és törekedtem arra, hogy lehetőség szerint a nemzetközi eredményeket minél több hazai gyakorlatba átültessük. Ennek köszönhetően országosan kiemelkedő klinikai eredményeket felmutató intézményben dolgozhatom.

A szakirodalom követésén túl azonban az utóbbi pár évben lehetőségem nyílt arra, hogy az ismeretek gyűjtésében és közlésében magam is aktívan részt vehessek. Ráadásul több szinten is: az alap kutatásban, illetve a betegellátás szintjén is olyan közlemények megjelenésében vettem részt meghatározó szerzőként, melyek – reményeink szerint – alapot adhatnak a további vizsgálatok számára.

Értekezésemben igyekeztem szakmai pályafutásom, azon belül a meghatározó stroke-kutatás legfontosabb állomásai során nyert tudományos eredményeket sorba fűzni. PhD dolgozatom azt a négy munkát mutatja be, melyeket a stroke-kutatás területén végeztem. Alap kutatásként a stroke-ot követő immunodeficiens állapot élettani hátterével; alkalmazott klinikai kutatás során ennek az állapotnak a laboratóriumi diagnosztikai markereivel foglalkoztam. Ezen túl Magyarországon az első között végeztünk el egy olyan epidemiológiai felmérést, amely a stroke gyakoriságát, a hajlamosító tényezők prevalenciáját írta le. Humánmeteorológiai vizsgálatunk során sikerült a nyilvánosság számára is hozzáférhető meteorológiai adatok és egy kórházi stroke centrumban akut ischaemiás cerebrovascularis esemény miatt elhunyt betegek adatainak elemzése révén definiálni egy meteorológiai paramétert, az anomáliás

ekvivalens potenciális hőmérsékletet, mely eddig humánmeteorológiában nem volt használatos, munkánkban alkalmaztuk elsőként. Más célokra ugyanakkor ez már régebb óta használt, így viszonylag jól ismert és megfelelő pontossággal előre jelezhető. A paraméter bizonyos mintázatú időbeli viselkedése komoly befolyással van az ischaemiás stroke esetek bekövetkezésére és lefolyására. Igazolódott, hogy a stroke-eredet halálozás háromszor gyakrabban fordult elő téli időszakban anomáliás EPT esetén, ezért ez a légköri folyamat – magas vertikális EPT szint anomáliás viselkedése – klinikai jelentőségű lehet.

Az akut stroke-betegek modern vizsgálati és kezelési stratégiája jelentősen javította a betegség kimenetelét, de kevésbé befolyásolta a kórházi szakban a szövődmények kialakulásának gyakoriságát, súlyosságát. A 30 napon belüli halálozás nem csak újabb cerebrovasculáris eseménnyel, mélyvénás thrombózissal, tüdőembóliával hozható kapcsolatba, hanem a gyulladásos szövődeményekkel. A tüdőgyulladás, húgyúti fertőzés szinte mindennapos. Ezt tetézi a modern kórházi ellátás paradoxonja: a fertőzések leküzdésére rendelkezésre állnak korszerű antibiotikumok, melyek széleskörű használata azonban a rezisztens eseteket növeli. Az utóbbi évek még nagyobb problémára mutattak rá éppen a gyakori antibiotikus kezelés kapcsán: a clostridium difficile járványok magas morbiditásúak és mortalitásúak. Ez érzékelhető az akut stroke-ellátást végző osztályokon, stroke centrumokban, neurointenzív részlegeken.

A gyakorló klinikusnak feltűnik, hogy az akut stroke-betegek körében nem mindig lehet kapcsolatot találni a neurológiai jellemzők és a gyulladásos szövődmények kialakulása között. Sok esetben még a beteg belgyógyászati statusa sem korrelál ezzel: jó általános állapotú betegeknél lép fel váratlanul gyulladásos betegség, máskor a rosszabb állapotú beteg sem kap szövődményt. Ez a gyakorlati felismerés óhatatlanul adta a gondolatot, hogy a stroke-manifeszt klinikai tüneteitől függetlenül valami más ok magyarázhatja egyes betegek fokozott esélyességét, mások relatíve jó védettségét.

AIS-betegek esetében egyre szélesebben vizsgált kérdés a központi idegrendszer és az immunrendszer közötti kétirányú kapcsolat. Az AIS nem csupán egy agyi esemény, hanem szisztémás sokszervi betegség. Az akut stroke-ot mind több beteg éli túl és az életminőségük is jobb, mint évtizedekkel ezelőtt volt, azonban a történetet követő – főként kórházban eltöltött – időszak során számos szövődmény alakulhat ki, melyek



közül a leggyakoribbak a fertőzéses eredetű kórképek, így a stroke-ot túlélők esetében ez a vezető morbiditási és mortalitási ok (Davenport és mtsai, 1996).

Állatkísérletes adatok egyértelműen alátámasztják azt a feltevést, hogy az akut stroke hatással van a perifériás immunrendszerre. Ez a hatás pedig kétfázisú. A korai fázisra a helyi majd generalizált gyulladásos válasz jellemző, amelyet a gyulladásos faktorok nagyarányú termelődése és a perifériás limfociták agyba történő extravazációja kísér. Ezt a korai gyulladásos fázist a fokális károsodást követően pár napon belül kialakuló szisztémás immunszuppresszió követi, amelyet stroke-indukált immunszuppresszióknak (SIIS) neveznek (Offner és mtsai, 2009). A T-sejt alcsoportok előfordulási gyakorisága közötti különbségeket korábban leírták, de mindmáig alig ismert a T limfociták funkcionális eltérése, az, hogy hogyan változik a T limfociták aktivációs kinetikája az idegrendszeri károsodást követően akut ischaemias stroke-ban.

A T limfociták gyors aktivációjának mértéke központi szerepet játszik a gyulladásos reakció fenntartásában, amely az akut stroke-ot követő szövetkárosodás fő oka. A citoplazma szabad kalcium koncentrációjának ( $[Ca^{2+}]_{cyt}$ ) emelkedése kulcsfontosságú a limfocita aktiváció folyamatában. A feszültségfüggő Kv1.3 kálium csatornák és a kalcium-függő IKCa1 kálium csatornák kiemelkedő szerepet játszanak a limfocita-aktiváció szabályozásában. Az antigén prezentációt követően fenntartják azt az elektrokémiai hajtóerőt, amely folyamatos kalcium beáramlást eredményez és ezen keresztül szabályozzák a citokintermelést és biztosítják a megfelelő immunválasz további komponenseit (Panyi, 2005).

Korábbi vizsgálatok felvetették, hogy a limfociták kálium csatornáinak gátlása, különösen a Kv1.3 kálium csatorna gátlószerei alkalmasak lehetnek specifikus immunszuppresszióra a kifejezett immunológiai eltérésekkel jellemezhető autoimmun kórképek esetén (Wulff és mtsai, 2003; Beeton és mtsai, 2001; Beeton és mtsai, 2006). Mivel a T limfociták felszínén elhelyezkedő kálium csatornák specifikus gátlásának hatására az egyes limfocita altípusok aktivációja különböző mértékben csökken, ezért ezek a csatornák ígéretes terápiás célpontja lehet a szelektív immunmoduláló terápiának, az akut stroke kezelésének is.

Az akut stroke-betegek limfocita aktivációját jellemző kalciumválasz elemzésére speciális áramlási cytometriás eljárást használtunk. Munkánk előzménye az volt, hogy sclerosis multiplex (SM) betegeknél vizsgáltuk az immunrendszer válaszreakcióját

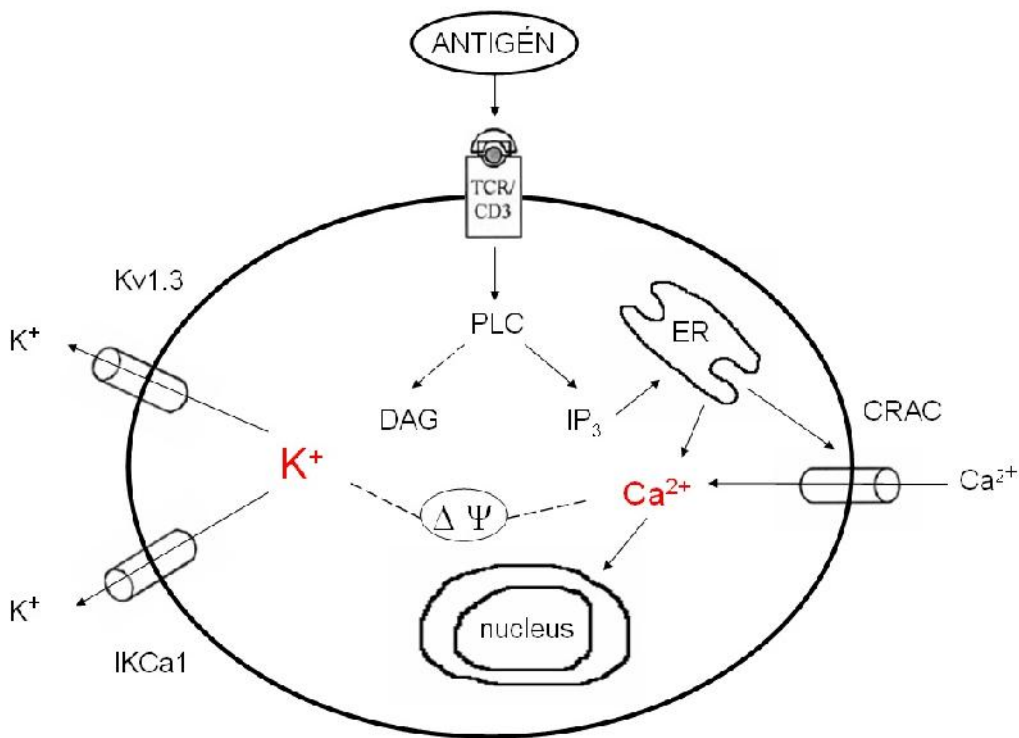
(Toldi és mtsai, 2011). Elemeztük egészséges kontroll személyek, immunmoduláns gyógyszerrel kezelt és nem kezelt betegek vérmintáját ezzel a módszerrel. Vizsgálatainkban jelentős eltéréseket mutattunk ki a  $\text{Ca}^{2+}$  beáramlás kinetikájában és a limfociták  $\text{K}^+$  csatornáinak funkciójában IFN-bétával nem kezelt SM-es betegeket hasonlítva egészséges önkéntesekhez. Elérhető volt (a CD8 effektor lymphocyták révén) szelektív immunmoduláció a Kv1.3 csatornák gátlásával az IFN-bétával nem kezelt SM-es betegeknél. Ez a kutatás vetette fel, hogy a lymphocyták Kv1.3 csatornáinak szelektív inhibitora ígéretes szer lehet kombinációs terápia részeként a jelenleg is alkalmazott IFN-béta kezelés mellett, ugyanis az IFN-béta kezelés elsősorban a Th1 sejttípusban okoz kompenzatorikus változásokat a  $\text{Ca}^{2+}$  beáramlás kinetikájában és a lymphocyták  $\text{K}^+$  csatornáinak funkciójában. Ez el segítheti az autoimmun folyamat hatékonyabb csökkentését ebben a körképben.

A hatékony immunválasz létrejöttéhez a limfociták klonális expansiója szükséges, mely egy adott antigént felismerésén alapul. Az antigéneket antigénprezentáló sejtek (APC) mutatják be a T sejteknek. Mind az antigén prezentációt, mind a felismerés folyamatát sejtmembránhoz kötött fehérjék közvetítik. Az APC-k feldolgozott antigénnel rendelkeznek ún. major histocompatibility complex (MHC) fehérjéi a T sejteken található T sejt receptor – CD3 (TCR/CD3) komplexhez kötődnek. A bemutatott antigén és a TCR/CD3 komplex közötti specifikus kölcsönhatás számos sejtmembránon keresztüli jelátviteli útvonalat aktivál. A folyamatba lépő foszforilációs kaszkádok többféle kináz enzimet aktiválnak. Bizonyos protein kináz útvonalak, így például a Ras/MAP útvonal, direkt módon járulnak hozzá a T sejt proliferációhoz szükséges géntranszkripció irányításához.

Egy másik enzim, a tirozin kináz aktivációja más következménnyel jár, nevezetesen a foszfolipáz C- (PLC-) aktiválódásával. Ez az enzim egy membránban elhelyezkedő foszfolipidet, a foszfatidilinozitol-4,5-biszfoszfátot ( $\text{PIP}_2$ ) hasítja, melyből diacilglicerol (DAG) és inozitol-1,4,5-triszfoszfát ( $\text{IP}_3$ ) keletkezik. Ezen a ponton kettévál a jelátviteli útvonal. A DAG aktiválja a protein kináz C-t (PKC), ami több lépésen keresztül az NF- $\kappa$ B transzkripciós faktor aktivációjához vezet – ez elengedhetetlen számos gén transzkripciójához.

Ezzel egy időben az  $\text{IP}_3$  az intracelluláris tér szabad  $\text{Ca}^{2+}$ -ion koncentrációjának kétfázisú növekedéséhez járul hozzá (**1. ábra**). A kalcium-jel egy másik transzkripciós

faktor, az NF-AT (nuclear factor of activated T cells) aktivációjához vezet. Ezt a folyamatot a  $\text{Ca}^{2+}$ -kaldmodulin komplex 1 függ foszfatáz, a calcineurin katalizálja. A calcineurin defoszforilálja az NF-AT-t, amely ennek következtében felhalmozódik a sejtmagban, ahol az IL-2 gén promoter régiójához köti. Az IL-2 gén aktiválódását követően a T sejtek akár antigén jelenléte nélkül is képesek proliferálni. Az említett kétfázisú kalciumszint növekedés az  $\text{IP}_3$  keletkezéséhez kapcsolódik, az  $\text{IP}_3$  ugyanis az endoplazmás retikulumon található receptorához kötve kalciumot szabadít fel a kompartment kalcium-raktáraiból. Az  $\text{IP}_3$  receptor tulajdonképpen intracelluláris ligand-vezérelt ioncsatornaként is felfogható.



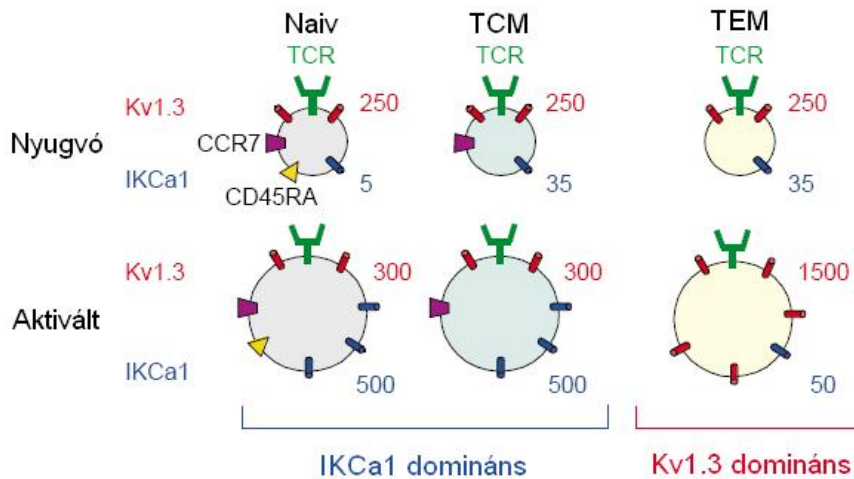
**1. ábra:** A  $\text{Ca}^{2+}$ - és  $\text{K}^+$ -ionok jelentősége a limfocita-aktiváció mechanizmusában. A magyarázatot ld. a szövegben. ER = endoplazmás retikulum

A kalciumszint emelkedés második, fenntartott fázisa az extracelluláris térből belépő  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok következtében jön létre. Ez az ún. „calcium-release activated” kalciumcsatornán (CRAC) keresztül történik. A CRAC-et a sejtben belüli kalcium-raktárak kiürülése nyitja, így az ún. „store-operated” csatornák közé tartozik. A jelentős tudományos érdeklődés ellenére a működési mechanizmusa egyelőre nem ismert.

Legfontosabb biofizikai jellemzője, amely a többi kalcium-csatornától elkülöníti, hogy extrém mértékben szelektív  $\text{Ca}^{2+}$ -ionokra nézve (Zweifach és Lewis, 1993). A CRAC csatornák másik jellegzetessége, hogy aktiváció után az ionáramot elsősorban a kalciumra vonatkozó elektrokémiai hajtóerő határozza meg, a csatorna kapuzása tehát feszültségtől független, de az ionáram nagysága a sejtek membránpotenciáljára érzékeny lesz. Ez a befelé rektifikációval együtt, nagyobb kalcium-áramhoz vezet, ha negatívabb a membránpotenciál. A depolarizáló hatású befelé irányuló kalcium-áramot ezért kationok kiáramlásával szükséges ellensúlyozni ahhoz, hogy fenntartható legyen az elektrokémiai hajtóerő a  $\text{Ca}^{2+}$ -ionok további beáramlásához és így a transzkripció folyamatok hatékony működéséhez szükséges kalcium-jel fennmaradásához.

A kationok kiáramlását a  $\text{K}^+$ -ion effluxa biztosítja. Ez a limfociták esetében kétfajta káliumcsatornán keresztül történik: a feszültségfüggő Kv1.3 jelzés (Matteson és Deutsch, 1984) és a  $\text{Ca}^{2+}$ -dependens IKCa1 jelzés (Grissmer és mtsai, 1993) csatornákon keresztül. A CRAC csatornákon keresztüli ionáram és a kálium csatornák működése közötti kapcsolat ezért érzékennyé teszi a limfociták proliferációját a kálium csatornák működésének farmakológiai befolyásolására, és specifikus immunmoduláció lehet segítségét veti fel.

A T sejtek membránpotenciálját a Kv1.3 és IKCa1 csatornák a limfocita-altípustól és a sejt aktiváltságától függően eltérő mértékben határozzák meg. A nyugvó T sejtek kálium kiáramlása dominánsan a feszültségfüggő Kv1.3 csatornán keresztül történik (Panyi és mtsai, 2004). A Kv1.3 csatornák száma ezen sejtek esetében 200-300 körüli sejtenként, míg IKCa1 típusú csatornából 40-nél is kevesebbet expresszálnak (**2. ábra**). Több kísérlet igazolta, hogy a Kv1.3 csatorna iránt nagyobb szelektivitást mutató ioncsatorna-gátlók, mint a margatoxin vagy a noxiustoxin, a nyugvó T sejteket depolarizálják, a kalcium beáramlását, és így a sejtproliferációt is gátolják (Leonard és mtsai, 1992).



**2. ábra:** Az egyes limfocita-altípusok sejtfelszínén expresszált Kv1.3 és IKCa1 csatornák mennyisége (közelít érték, db).

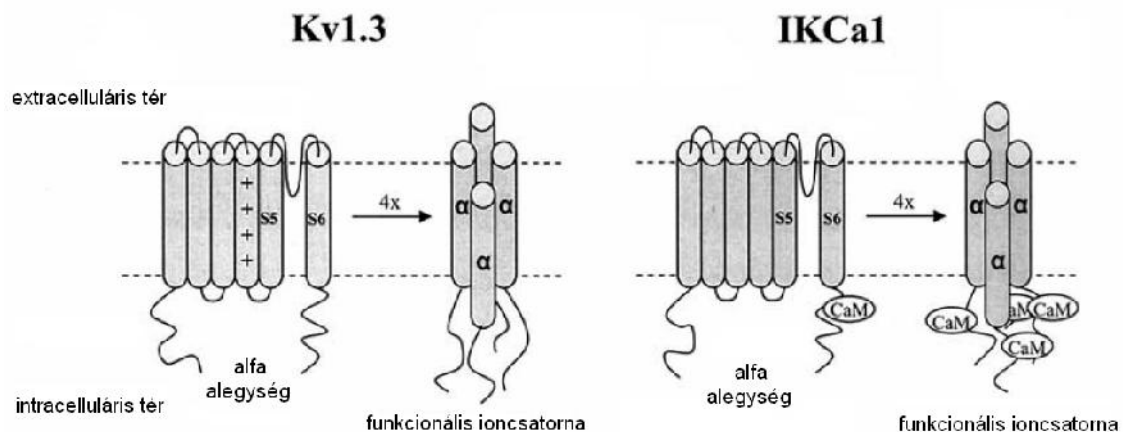
Amikor a T sejtek aktiválódnak, bizonyos altípusok transzkripció szinten jelentősen megnövelik az IKCa1 expresszióját (500 csatorna/sejt körüli értékre), míg a Kv1.3 csatornák expressziója szerényebb mértékben nő (Ghanshani és mtsai, 2000). Így tehát ezen preaktivált állapotban levő T sejtek proliferációja érzékenyebbé válik az IKCa1 csatornák gátlására (Fanger és mtsai, 2001). Az egyes limfocita-alpopulációk között azonban jelentős eltéréseket találunk az aktiváció hatására létrejövő  $K^+$ -csatorna fenotípusban.

A feszültségfüggő kálium csatornák jelenlétét humán T sejteken először több, mint két évtizede igazolták elektrofiziológiai módszerekkel (Matteson és Deutsch, 1984). Az akkor leírt csatornát n-típusú (normal) kálium csatornaként osztályozták. A csatorna génjének klónozása (Cai és mtsai, 1992) lehetővé tette, hogy a csatornát a feszültségfüggő csatornák *Shaker* családjába sorolják (Kv1), és Kv1.3 jelzéssel kezdtek rá hivatkozni (Chandy, 1991).

Ezt a csatornát négy azonos, pórusképző alfa alegység alkotja (**3. ábra**). Minden alegység hat transzmembrán-hélixből áll, melyeket intra- és extracelluláris hurkok kötik össze. Minden alegységben az ötödik és hatodik (S5 és S6) transzmembrán szakasz közötti extracelluláris hurok, valamint az S6 alegység alkotják a pórust, amelyen keresztül a  $K^+$ -ionok átjutnak a sejtmembránon. A pórus fő strukturális elemei közül a legfontosabb a szelektivitásért felelős filter, ami a permeáció irányát figyelembe

vége legkívül helyezkedik el. A filter kritikus helyein található aminosavak karbonil oxigénjei a vízmolekulát helyettesítve segítik el a  $K^+$ -ion átjutását a csatorna legszűkebb pontján (Doyle és Mtsai, 1998). Kv1.3 csatornák esetében az alábbi ionszelektivitási sorrenddel számolhatunk:  $K^+ > Rb^+ \gg NH_4^+ \gg Cs^+ \gg Na^+$ . Összességében a Kv1.3 csatorna kb. ezerszer szelektívebb  $K^+$ -ionokra nézve, mint a  $Na^+$ -ra.

Egy másik fontos strukturális elem az S4 hélix, ami pozitív töltésű aminosav-oldallánccal tartalmaz és feszültség-szenzorként működik. A Kv1.3 csatornák aktivációs tartománya -50 és -60 mV között van és a nyitási valószínűség meredeken nő a depolarizációval arányosan. A Kv1.3 biofizikai tulajdonságai tehát olyan membránpotenciál-tartományt határoznak meg, ahol a csatorna steady-state állapotban nyitva lehet (Pahapill és Schlichter, 1992). Ez a tartomány átfedésben van a T sejtek nyugalmi membránpotenciáljával, ami -50 és -70 mV közé esik. Ez a tény is kiemeli a Kv1.3 csatornák fontosságát a T sejtek membránpotenciáljának fenntartásában. Depolarizáció hatására a Kv1.3 csatornák gyorsan kinyílnak.



**3. ábra:** A Kv1.3 és IKCa1 csatornák szerkezete.

A  $K^+$ -csatornák *Shaker* családjának tagjai két különböző mechanizmussal képesek inaktiválódni: az N-típusú gyors és az ún. „lassú” inaktivációval. Az előbbi mechanizmus nevét arról kapta, hogy a pórust egy N-terminálison elhelyezkedő citoplazmatikus „golyó” zárja el, míg az utóbbi annak a következménye, hogy a pórus extracelluláris oldalának közelében a filter összeszűkül vagy kollabál. A Kv1.3 csatornák esetében azonban az N-típusú inaktiváció hiányzik, és csak a „lassú” típusú működik, melynek időkonstansza kb. 200 ms (Panyi és Mtsai, 1995). Több tényező is

bebizonyosodott, hogy befolyásolja a Kv1.3 inaktivációs kinetikáját, így a h mérsékletre l (Lee és Deutsch, 1990), a tirozin-kinázok általi foszforilációról (Bowlby és mtsai, 1997), a gátlószerekkel való kölcsönhatásokról (Varga és mtsai, 2001), és az extracelluláris tér ionos összetételéről (Grissmer és Cahalan, 1989), valamint az extracelluláris pH-ról (Deutsch és Lee, 1989).

A humán T sejteken fellelhető IKCa1 csatornát a hKCa4 gén kódolja (Logsdon és mtsai, 1997). A csatorna felépítése hasonló a feszültségfüggő káliumcsatornáéhoz (**3. ábra**): négy, nem kovalensen kötött alegységből áll, és minden alegység hat transzmembrán régióval rendelkezik. A pórus szerkezete is hasonló a Kv1.3 csatorna pórusához. Az ionok szelektivitási sorrendje a következő:  $K^+ > Rb^+ > NH_4^+ > Cs^+$  (Grissmer és mtsai, 1993). Bár az ionáram befelé rektifikáló, a csatorna aktivációja nem feszültségfüggő. Az utóbbi tulajdonság összhangban áll azzal a ténnyel, hogy a feszültség-szenzorként működő S4 hélixnek megfelelő helyen kevesebb pozitív töltés aminosav található (Logsdon és mtsai, 1997).

Az IKCa1 csatornát az intracelluláris szabad kalcium koncentráció 100 nM érték fele emelkedése aktiválja (Grissmer és mtsai, 1993). Ez azt jelenti, hogy ezek a csatornák nem működnek a sejtek nyugalmi állapotában, az intracelluláris szabad kalcium koncentráció változására azonban aktiválódnak. 1  $\mu$ M-os intracelluláris szabad kalcium koncentráció már teljesen aktiválja a csatornákat. Több bizonyíték szól amellett, hogy az IKCa1 csatorna  $Ca^{2+}$ -szenzora a kalmodulin (CaM). Érdekes módon a csatorna és a CaM közötti kölcsönhatáshoz nem szükséges kalcium, ami arra utal, hogy a CaM permanensen a csatornához kötött. Minden alegységhez egy CaM molekula kötődik az S6 helikális szakaszon. Mivel ez a szakasz a pórus alkotásában is részt vesz, a CaM/IKCa1 csatorna komplexben a kalcium kötése által létrehozott konformációváltozás direkt módon járulhat hozzá a csatorna nyílásához (Fanger és mtsai, 1999).

Az IKCa1 biofizikai tulajdonságai alátámasztják a feltételezést, mely szerint a T sejtekben ezek a csatornák egy fontos pozitív feedback mechanizmus elengedhetetlen részei, melyet a kalcium jel irányít. A CRAC csatornán keresztüli kalcium beáramlás aktiválja az IKCa1 csatornát, és a megnövekedett  $K^+$ -kiáramlás további  $Ca^{2+}$ -ionok belépését segíti elő az extracelluláris térben. Az IKCa1-en keresztüli kálium áram csak

azokban a sejtekben válik jelentős tényezővé, melyek T sejt receptor függő vagy mitogén indukálta aktiváció során megnövelik az IKCa1 expresszióját.

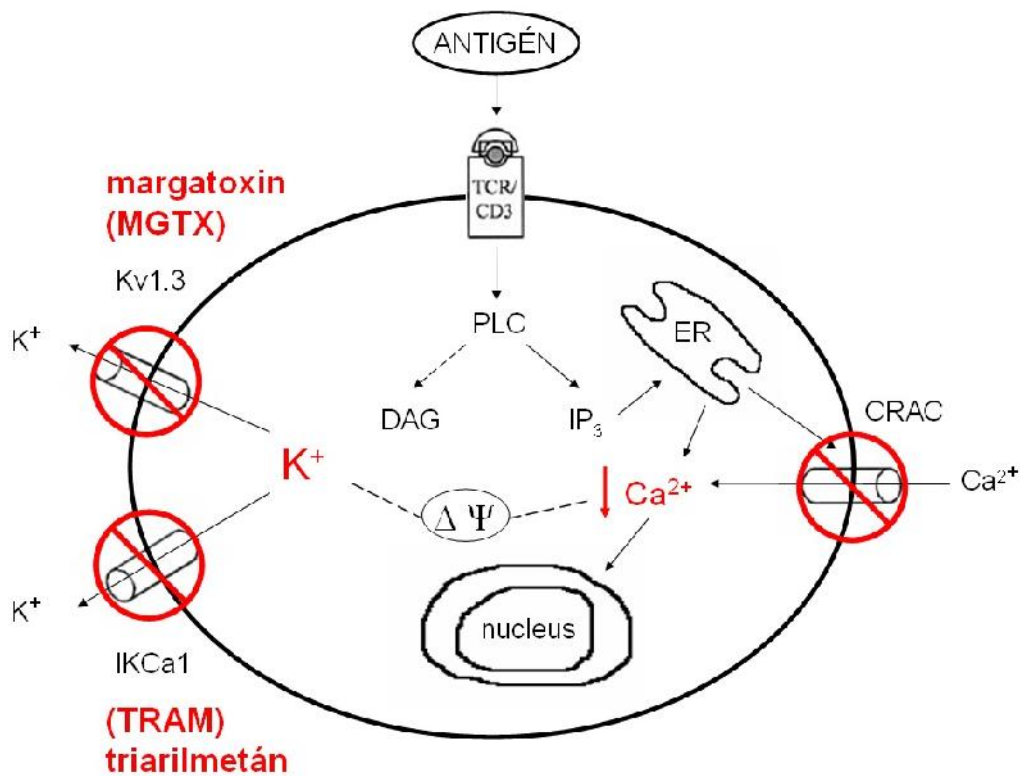
Kémiai szerkezetük alapján a Kv1.3 és IKCa1 csatornákat gátló molekulák három osztályba sorolhatók: szervetlen ionok, kismolekulájú inhibitorok és peptid szerkezet gátlószerkezetek (Giangiacomo és mtsai, 2004). A Kv1.3 csatorna leghatásosabb természetes eredetű gátlószerkezetek közé tartozik a charybdotoxin (CHTX, Kd: 0,5-1 nM), a noxiustoxin (NTX, Kd: 1 nM), a margatoxin (MGTX, Kd: 50 pM), a kaliotoxin (KTX, Kd: 650 pM), a *Pandinus imperator* toxinjai (Pi1, Kd: 11nM; Pi2, 44 Kd: pM; Pi3, 795 Kd: pM), a hongotoxin (HGTX, 86 Kd: pM) és a nemrég leírt anurotoxin (730 pM).

A peptid szerkezetű gátlószerkezetek körében a felsoroltak közül több az IKCa1 csatornát is képes gátlani. Természetesen egy-egy gátlószerkezet esetében a kétfajta kálium csatorna iránti affinitás jelentősen eltérhet. A CHTX azonban megegyező affinitással blokkolja a Kv1.3 és IKCa1 csatornákat.

A peptid szerkezetű gátlószerkezetek általánosan rossz orális biohasznosulása miatt a nagy affinitású és szelektivitású, kis molekulájú, nem peptid inhibitorok is a kutatás középpontjában állnak. Számos eltérő kémiai szerkezetű ilyen gátlószerkezet azonosítottak. Ezek a molekulák általában kisebb felszínen és kevésbé specifikus módon lépnek kapcsolatba a csatornákkal, mint a peptid szerkezetű gátlószerkezetek, minek következtében általánosságban véve azokénál kisebb az affinitásuk és szelektivitásuk. A kalciumcsatorna gátlók közül a nifedipin, a diltiazem és a verapamil a limfociták kálium csatornáit is blokkolják kis affinitással és szelektivitással.

A csatornablokkolók a káliumcsatornák T sejt aktivációban betöltött élettani szerepének feltárását nagyban segítették. A csatornák gátlásának sejtaktivációra kifejtett hatásait a **4. ábra** mutatja be.





**4. ábra:** Gátlószeres kezelés hatására (MGTX, TRAM-34) a K<sup>+</sup>-ionok nem tudják elhagyni a sejtet, intracelluláris koncentrációjuk magasabb lesz. Így nem alakul ki az az elektrokémiai potenciálkülönbség, amely ahhoz szükséges, hogy az extracelluláris térben a Ca<sup>2+</sup>-ionok sejtbe való beáramlása a CRAC csatornán keresztül fenntartott legyen. Így csökkenni fog a kalcium intracelluláris szintje, ami a sejtben zajló transzkripciós folyamatok csökkentését fogja eredményezni.

Mivel kétfajta káliumcsatorna található a T sejtek plazmamembránján, egyéni szerepük elkülönítéséhez olyan gátlószerekre volt szükség, amelyek specifikusan gátolják a feszültségfüggő, illetve a Ca<sup>2+</sup>-dependens csatornát. A természetes eredetű toxinok egyik nagy hátránya, hogy – bár igen nagy mértékben szelektívek vagy a feszültségfüggő vagy a Ca<sup>2+</sup>-dependens csatornákra, – nem kizárólagosan specifikusak a Kv1.3 vagy az IKCa1 típusokra. Más, szintén a Kv1 családba tartozó, illetve az IKCa1-től eltérő Ca<sup>2+</sup>-függő káliumcsatornát is képesek gátolni különböző mértékben. A pórusok szerkezetét alapul véve a közelmúltban szintetikus úton elállították e két csatornatípus abszolút specifikus inhibitorait. Az IKCa1 csatorna esetében ilyen módon jutottak a TRAM-34 nevű molekulához. A Kv1.3 esetében az ShK toxin szerkezetét módosították: egy lizin (Lys22) molekulát cseréltek le egy rövidebb, pozitív töltésű, nem természetes eredetű aminosavval, a diamino-

propionsavval (ShK-Dap22), s ez óriási mértékben megnövelte a ligand specificitását a Kv1 család más tagjaival és az IKCa1 csatornával szemben.

Szükségessé vált a Kv1.3 csatorna inhibitorok szelektivitásának és affinitásának növelése, mert a T sejtek egyik alpopulációjának, a CCR7- CD45RA- effektor memória T sejteknek (TEM) a proliferációja els sorban a Kv1.3 csatorna aktivitásától függ, illetve, hogy ez a limfocita-alpopuláció fontos szerepet játszik az autoimmun kórképek patogenezisében. A CCR7+ CD45RA+ naiv (tehát antigénnel még nem találkozott) és a CCR7+ CD45RA- centrális memória (TCM, a differenciáció közben szakaszában lév , az effektor állapot elérése el tti) T sejtekkel szemben az effektor memória T sejtek nem vándorolnak a lymphoid szervekbe, hogy ott APC-k aktiválják ket (homing jelenség), hanem azonnali effektor funkciót fejtenek ki a perifériás szervekben, nagy mennyiség citokint (IFN- , TNF- ) termelnek, és azonnali citotoxicitást mutatnak. Kiderült, hogy specifikus antigénnel történ aktiváció hatására az effektor memória sejtek megnövelik a Kv1.3 csatornák expresszióját (sejtenként 250-r l 1500 csatornára), míg az IKCa1 csatornák expressziója nem változik számottev en. Így az effektor memória sejtek Kv1.3<sup>high</sup> IKCa1<sup>low</sup> csatorna fenotípusúak lesznek (Wulff és mtsai, 2003). Ezzel szemben a naiv és centrális memória sejtek az antigénstimulációra az IKCa1 csatornák expressziójának fokozásával válaszolnak (sejtenként 30-ról 500 csatornára), míg a Kv1.3 csatornák expressziója csak szerény mértékben n . Ez az IKCa1 csatorna upreguláció legnagyobb valószínűség szerint transzkripciós szinten következik be és gyorsan, akár a TCR ingerlését követ három órán belül lejátszódik. Ilyen módon e sejtek csatorna fenotípusa Kv1.3<sup>low</sup> IKCa1<sup>high</sup> lesz (**2. ábra**).

A Kv1.3 és IKCa1 csatornák arányában észlelhető különbség feltehetőleg hozzájárul a limfocitákban kialakuló kalcium jel amplitúdójának és alakjának variabilitásához (Verheugen és Vijverberg, 1995). A kalcium szint megnövekedhet átmenetileg rövid időre, oszcillálhat és tartósan is emelkedett lehet. Azokban a limfocitákban, ahol az IKCa1 csatorna domináns, az ingerlés hatására létrejövő kalcium áram inkább oszcilláló jellegű. A kalcium jelek mintázatában látható különbségek, melyek az egyik vagy másik fajta kálium csatorna nagyobb arányából adódnak, fontos funkcionális következményekkel járhatnak, hiszen az antigén stimulációra adott választ erősen befolyásolja a kalcium jel természete (Dolmetsch és mtsai, 1998).

Sclerosis multiplexben szenvedő betegek mintáiból izolált myelin-reaktív TEM sejtek a Kv1.3 expressziójának növelésével Kv1.3<sup>high</sup> IKCa1<sup>low</sup> fenotípust vesznek fel myelin antigénnel történő akut *in vitro* stimuláció hatására (Wulff és mtsai, 2003). Sclerosis multiplexben a myelinre specifikus T sejtek funkcionális szempontból terminálisan differenciált effektor memória sejtek. Ismert a TEM sejtek kóroki szerepe és ioncsatorna expressziója közötti kapcsolat. Sclerosis multiplexes betegek T sejtjeit irreleváns antigénnel (pl. insulinnal, ovalbuminnal) stimulálva nem tapasztalták a Kv1.3<sup>high</sup> IKCa1<sup>low</sup> fenotípus megjelenését. Rövid ideig tartó myelin antigénnel történő aktiválás (háromszori stimuláció) sclerosis multiplexes betegek T sejtjei esetében szignifikánsan nagyobb Kv1.3 csatornaszám-növekedéshez vezetett, mint ugyanilyen módon aktivált egészséges kontroll személyek T sejtjeinél. Kontroll sejtek ismételt stimulációja (7-10 alkalommal) azonban már a Kv1.3<sup>high</sup> IKCa1<sup>low</sup> effektor memória fenotípus megjelenéséhez vezetett. Hasonló fenotípusú T sejt altípus figyelhető meg kísérleti autoimmun encephalomyelitisben (EAE), a sclerosis multiplex rágcső modelljében, melynek kialakulását krónikusan aktivált myelinre specifikus T sejtek okozzák (Beeton és mtsai, 2006). A Kv1.3-ra specifikus gátlószerek terápiás potenciálja tehát azért jelentős, mert szelektív módon a TEM sejtek proliferációját képesek gátolni, míg a naiv és TCM sejtek az IKCa1 expressziójának növelésével kivédik a Kv1.3 gátlása okozta proliferációs akadályozást. A fent leírt peptid inhibitorokon kívül (pl. ShK) a Kv1.3 csatorna szelektív kismolekulájú gátlószerei (melyek közül leghatásosabb a PSORA-4) is ugyanilyen hatást fejtenek ki. A Kv1.3<sup>high</sup> IKCa1<sup>low</sup> fenotípus mind a CD4+, mind a CD8+ TEM sejtekre jellemző.

Az IKCa1 csatorna gátlása a naiv és TCM sejtek esetében lehet hatásos. Ezek a sejtek részt vesznek a transzplantált szervek ellen induló akut immunreakcióban és a graft-versus-host disease patomechanizmusában is. Az IKCa1 inhibitorok, pl. a TRAM-34 tehát a klinikumban egyebek mellett ezen a területen kerülhetnének alkalmazásra. Bebizonyosodott, hogy a széles körben használt immunszuppresszáns, a cyclosporin A a T sejtek proliferációjának gátlásában szinergista módon viselkedik a TRAM-34-el (Wulff és mtsai, 2000). Így e szerek kombinálásával csökkenteni lehetne a cyclosporin A terápiában jelentkező mellékhatások súlyosságát. A TRAM-34 mellett más kis molekulájú IKCa1 csatorna-gátlók is Fázis II. klinikai vizsgálatok részét képezik a sárgásbőrű anémia terápiajában (Kohler és mtsai, 2003).

Ebből a szempontból ezek a szerek teljesítik az ideális immunszuppresszív szerekkel szemben támasztott követelményt, hiszen szelektív módon csupán azoknak a sejteknek a proliferációját gátolják, melyek az autoimmun reakciót közvetítik, míg a többi, normális immunválaszhoz szükséges T sejt működését nem befolyásolják. Ezeket az *in vitro* eredményeket extenzív *in vivo* patkánykísérletek is igazolják. Beeton és mtsai kimutatták, hogy az EAE tünetei szignifikánsan javultak szelektív Kv1.3 gátlók hatására, továbbá az EAE adaptív átvitele egészséges állatokra megakadályozható volt az aktivált T sejtek *in vitro* Kv1.3 inhibitoros kezelésével (Beeton és mtsai, 2006).

Beeton és mtsai kimutatták továbbá, hogy rheumatoid arthritisben szenvedő betegek mintáiból izolált autoreaktív T sejtek elsősorban CCR7- CD45RA- effektor memória T sejtek (TEM sejtek), amelyek magasabb arányban expresszálják a Kv1.3 kálium csatornákat. Következésképpen a Kv1.3 csatorna specifikus gátlásának hatására jelentősen csökken az autoantigén-specifikus TEM sejtek a  $Ca^{2+}$  jelátvitele, a citokin termelése és proliferációja, egyéb T sejt alcsoportok alacsony érintettsége mellett. Megvizsgálták a Kv1.3 gátlószerek terápiás hatását pristán-indukált krónikus arthritis rágcsáló modelljén. A Kv1.3 csatorna specifikus gátlószerével kezelt állatok szignifikánsan alacsonyabb ízületi érintettséget és jelentősen javult radiológiai és hisztopatológiai értékeket mutattak. Ezek az eredmények, valamint az a tény, hogy a szelektív Kv1.3 csatorna-gátlóknak elenyésző a toxicitása (Beeton és mtsai, 2006), nagy reményt adnak klinikailag is alkalmazható szelektív immunszuppresszánsként való felhasználásra.

Mindazonáltal a kálium csatornák gátlószereinek humán T sejt mediált rendellenességek terápiájában való alkalmazásának gátat szab az a tény, hogy nem rendelkezünk megfelelő ismeretekkel a kálium csatornák limfocita-aktivációban betöltött szerepére vonatkozóan az egyes főbb limfocita altípusok (így a CD4, CD8, Th1 és Th2 sejtek) szintjén egészséges egyéneknél és különböző kórképekben szenvedőknél.

Az akut stroke-ot követő immunológiai folyamatok befolyásolása akkor lehet eredményes, ha rendelkezünk olyan markerrel, mely megbízhatóan jelzi a folyamatot. A CD sejtek központi idegrendszeri elmozdulása növekszik akut ischaemias stroke-ot követően. Ezt a korai aktivációs fázist követő stroke-indukált immunszuppresszióra (SIIS) a fokális stroke-ot követően napokon belül kialakuló T sejt szuppresszió valamint

a T és B limfociták nagymérvű pusztulása jellemző. A csökkent cellularitás és általános immunszuppresszió úgy történik, hogy a CD4<sup>+</sup> CD25<sup>high</sup> regulátoros T (Treg) sejtek felszaporodásával hozható összefüggésbe. A Treg sejtek a T limfocita aktivitás és egyéb immunsejtek apoptózis iránti elköteleződésének fontos szabályozói (Offner és mtsai, 2009).

A T limfociták rövid távú aktivációjának mértéke központi szerepet játszik a gyulladásos reakció fenntartásában, amely az akut stroke-ot követő szövetkárosodás fő oka. A citoplazma szabad kalcium koncentrációjának ( $[Ca^{2+}]_{cyt}$ ) emelkedése kulcsfontosságú lépés a limfocita aktiváció folyamatában. Az antigén prezentáció hatására kapcsolódó TCR/CD3 komplex jelátviteli folyamatot indít meg a T limfocitában, amely kalciumfelszabaduláshoz vezet az intracelluláris raktárból. Ezt a folyamatot további kalciumbelépés követi az extracelluláris térből a kalcium felszabadulás által szabályozott kalcium csatornán (CRAC) keresztül. A kalcium beáramlás fenntartásához elengedhetetlen az elektrokémiai potenciálkülönbségek fenntartása, melyben központi szabályozó szerepe van limfocita felszínén található káliumcsatornáknak, amelyeken keresztül kálium hagyja el a sejtet, ezzel ellensúlyozva a kalciumbeáramlás következményeként kialakult pozitív töltéstöbbletet.

A csökkent szisztémás immunfunkció poszt-stroke infekciók kialakulásában betöltött szerepét már leírták (Chamorro és mtsai, 2007). Az akut ischaemias stroke-ot követő első napokban a betegek 25-65%-ánál alakul ki infekció (Vargas és mtsai, 2006). Az infekciós szövetmennyek közül a tüdőgyulladás és a húgyúti fertőzések a leggyakoribbak (Weimar és mtsai, 2002), amelyek jelentősen megnövelik a kórházban töltött idő hosszát. Számos vizsgálat során leírták pozitív összefüggést a stroke-asszociált fertőzések és a rosszabb funkcionális kimenetel között akut stroke-ot követően (Salat és mtsai, 2011; Vermeij és mtsai, 2009).

A stroke összefügg a klasszikus gyulladásos markerek emelkedésével, többek között a C-reaktív protein (CRP) szintjének (Muir és mtsai, 1999; Vila és mtsai, 1999), az eritrocita szedimentációs ráta (ESR) (Vila és mtsai, 1999; Chamorro, 1995), a perifériás összefehérsejtszám (WBC) (Pozzilli, 1985), a perifériás neutrofilszám (Vila és mtsai, 1999) valamint a testhőmérséklet megemelkedésével (Boysen és Christensen, 2001). Vizsgálatok azonban bizonyították, hogy a fenti markerek megemelkedett szintje független az infekció jelenlététől (Emsley és mtsai, 2003). Az utóbbi időben megjelent

új gyulladási markerek egyre szélesebb körben elérhetők a klinikai gyakorlatban. A szolubilis plazminogén aktivátor receptor (suPAR) a szisztémás gyulladási megbetegedések monitorozásában egyre gyakrabban alkalmazott biomarker. A suPAR membránhoz kötött fehérje, az urokináz-típusú plazminogén aktivátor receptor (uPAR) hasítása és felszabadulása során keletkezik. Az uPAR számos sejttípus felszínén, többek között trophoblastok, endothelialis sejtek, simaizomsejtek, bizonyos tumorsejtek és mindenekelőtt immunológiailag aktív sejtek, monociták, aktivált T sejtek és makrofágok felszínén is megtalálható (Behrendt és Stephens, 1998). Az uPAR három doménből áll, amelyeket glikozil-foszfatidil-inozitol (GPI) rögzít a sejtmembránhoz. A CD177, amely NB1 néven is ismert 55-kDa nagyságú receptor és az uPAR család egyik tagja. Bizonyos neutrofil és monocita alcsoportokon expresszált és az extravazáció markereként tartják számon (Göhring és mtsai, 2004). Az immunsejtek szövetekbe történő vándorlása a sérülést követő gyulladási és szöveti remodellizációs válasz elemi lépése. Ez a migrációs folyamat szorosan kapcsolódik az adhézióhoz és kemotaxisához, mivel a kemoattraktáns receptorok bocsátják ki az irányított migrációs szignálokat és az adhéziós receptorok felelősek a migráló sejtek és a szövetek interakcióinak modulálásáért. Az uPAR rendszer kiemelkedő szerepet tölt be mindezen folyamatokban (Blasi, 1997; Danø és mtsai, 1994). Azokban a knockout egerekben, amelyekben hiányzik az uPAR gén, csökkent a pulmonális neutrofil recruitment és jelentősen megnövekedett a mortalitás *S. Pneumoniae* fertőzés során a vad típushoz képest (Rijneveld és mtsai, 2002).

A suPAR egészséges egyének plazmájában is detektálható alacsony, de konstans koncentrációban (Stephens és mtsai, 1997). Az immunrendszer aktivációja és a gyulladási válasz kialakulása a plazma suPAR koncentráció megemelkedéséhez vezet. A plazma suPAR koncentrációja emelkedett fertőzésekben (Ostergaard és mtsai, 2004; Ostrowski és mtsai, 2005), autoimmun (Toldi és mtsai, 2012) és daganatos (Sier és mtsai, 1998) megbetegedésekben. Érdekes módon valamennyi kór állapotban a plazma suPAR koncentráció egyenes arányosságot mutatott a betegség prognózisával. Nemrég lezárult vizsgálatok a suPAR használatának számos elnyert hangsúlyozzák a CRP és ESR használatával szemben. A klasszikus gyulladási markerekkel szemben a plazma suPAR szint egészséges egyének esetében nem mutat napi ingadozást, többek között függetlenül attól, hogy a vizsgálati alany éhez-e vagy sem (Sier és mtsai, 1999).

Ismételt fagyasztási eljárások sem befolyásolják a plazma minták suPAR koncentrációját (Riisbro és mtsai, 2001).

Nyugalomban lév neutrofilok esetében az Fc gamma receptor I (FcγRI, CD64) csak nagyon alacsony szinten expresszálódik, míg neutrofil aktiváció során erősen fokozódik az expressziója bizonyos proinflammatorikus citokinek, többek között az IFN-gamma valamint a granulocita kolónia stimuláló faktor (G-CSF) hatására, amelyek fertőzések illetve endotoxin expozíció során nagy mennyiségben termelődnek (Van der Meer és mtsai, 2007). A CD64 monociták felszínén is megtalálható és aktiváció során itt is a receptor upregulációja figyelhető meg. A CD64 upregulációjának longitudinális mintázata neutrofilok és monociták esetében meglepően hasonló, mindazonáltal a CD64 expresszióban bekövetkező változás sokkal kifejezettebb neutrofilok esetében (Barth és mtsai, 2001). A neutrofilok és monociták CD64 expressziója áramlási citométer segítségével nyomon követhető és alkalmas diagnosztikus marker különböző infekciók és szepszis monitorozására. Mivel a neutrofil CD64 expresszió igen szenzitív (több, mint 90%) és specifikus (90-100%) marker, ezért előnyösebb indikátor szisztémás infekciók és szepszis esetében, mint a CRP-szint és a hematológiai változások. A CD64 expresszió alkalmas az autoimmun betegségek fellángolása, illetve a fertőzések által kiváltott gyulladási válasz elkülönítésére. Korlátozott mértékben, de alkalmazható bakteriális és virális fertőzések megkülönböztetésére (Hoffmann, 2009). Ha sikerül meghatározni azt a gyulladási markert, mely korán és megbízhatóan jelzi az immunrendszer változását, akkor azt be lehet vonni a kórházi laboratóriumok sürgősségi vizsgálataiba.

Miközben minden, az akut ischaemiás stroke ellátásában elért eredmény javítja a betegek kilátásait, a szövődmények megelőzése pedig gyorsabbá és jobbá teszi a kórlefolyást, az igazi sikert az eredményes prevenció jelenti. Gyakran hangoztatjuk, hogy ez sokkal olcsóbb, mint a kialakult betegség megelőzése. Az igaz, de a prevenció is jelentős költségeket igényel. Számolatlanul erre sem áll rendelkezésre anyagi forrás, a lakossági szűrőprogramokat is költséghatékonyan kell szervezni. Ennek egyik eszköze, hogy a legveszélyeztetettebb lakossági körhöz kell eljutni. Ebből pedig kézenfekvően adódik az igény: meghatározni a legmagasabb stroke-rizikójú populációt. A cerebrovasculáris kórképek modern diagnosztikája és terápiája miatt az stroke miatti

halálozás az utóbbi id ben világszerte csökkent (Mirzaei és mtsai, 2012), de jelenleg is vezet kóroki és halálozási tényez . A stroke epidemiológiában egyértelm szakadék van kelet és nyugat között: a közép-kelet európai országok vezetik a mortalitási statisztikát (Roger és mtsai, 2012). Sposato és Saposnik azt találták, hogy a rosszabb életszínvonalra utaló alacsonyabb GDP kapcsolatban áll a magasabb stroke incidenciával, a magasabb case-fatalityvel (halálozással), a vérzéses stroke magasabb arányával és a stroke felléptekori alacsonyabb életkorral (Sposato és Saposnik, 2012).

Felismerték a hátrányos életkörülmények és a kedvez tlen stroke epidemiológiai adatok közti azon összefüggést, hogy a stroke incidenciája és mortalitása ezekben az esetekben magasabb, s t a stroke súlyosabb és kedvez tlenebb kimenet is alacsonyabb szint szocio-kulturális, ill. gazdasági körülmények között (Cox és mtsai, 2006). Hasonló összefüggéseket mutattak nagy, mértékadó tanulmányok. Nemzetközi összehasonlításban Mackenbach és mtsai (2000), azonos országon belüli nagyobb régiók esetén Lavados és mtsai (2011), Kapral és mtsai (2012) bizonyították ezt, míg egy városon belül Grimaud és mtsai (2011) mutatták ki a kapcsolatot. Még azokban az esetekben is, amikor kis területeket mértek fel, az adatokat nagyobb területre vetítették ki (Smits és mtsai,2002). 2012-es tanulmány azt állapította meg, hogy az országos szint , nagyobb populációra érvényes jövedelmi egyenl tlenségek jól jelzik a kapcsolatot az alacsonyabb jövedelem és a rosszabb egészségi állapot között, bár ezt az összefüggést nehéz megállapítani 820 ezernél kisebb lakosság esetén (Kondo és mtsai, 2012).

Magyar elemzés is rendelkezésre állt a kérdés tekintetében: Sz cs és mtsai legmagasabb – hármas – ellátási szint stroke-centrumhoz tartozó 3 eltér felvételi körzet 135 betegének adatait vetette össze (Sz cs és mtsai, 2012). Mind a kórházi, mind az egy éves case-fatality index magasabb volt a kevésbé gazdag környékr l érkezetteknel. A megvalósíthatósági tanulmányból kiderült, hogy a telefonos és postai kérd íves módszerrel csak a betegek 84 %-a volt elérhet egy évvel a stroke után, ezért egy eredményesebb után követési módszer szükséges. Módosított adatgy jtési stratégiától a a stroke szempontjából kiemelten veszélyeztetett populáció kisz rése várható.

A stroke kialakulásában szerepet játszó szociokulturális tényez k felderítése a vascularis prevenció hatékonyságát növelheti. Minden igyekezetünk ellenére azonban



az agyi érkatasztrófák felléptével továbbra is számolni kell. A modern vizsgálati és kezelési lehet ségek költségigényesek, m ködtetésükhöz jól felkészült szakemberekre, magas technikai színvonalú, drága eszközökre van szükség. A jelenleg egyedülként elfogadott bizonyíték alapú kezelés, a thrombolysis pedig sz k id ablaka révén összehangolt, gyors munkát igényel az egészségügyi személyzet részér l. A folyamat valamennyi része tehát olajozottan m köd , el re tervezett és begyakorolt logisztikát igényel. A rendszer pedig akkor lehet hatékony, ha többé-kevésbé kiszámítható a rá nehezed ellátási igény. A stroke esetében ez igen nehéz. Ha azonban sikerül néhány tényez t felderíteni, mely el re jelezheti a várható betegszámot, az ellátó rendszer m ködése hatékonyabb és gyorsabb lehet, melyb l alapvet en a beteg profitál. El re jelezhet kritikus id szakot okozhatnak a meteorológiai tényez k. Ezért fordult figyelmünk e terület felé a VIII/XII. kerületi epidemiológiai vizsgálattal párhuzamosan. A stroke a modern diagnosztikai és terápiás lehet ségek birtokában is jelent s számban halállal végz dik, a hátramaradó fogyatékoság gyakori (Feigin és mtsai, 2014). Ez mortalitás a stroke fellépte utáni els hónapban a legmagasabb: 8–25 % (Rudd és mtsai, 2001) és ez lényegében egyezik a magyarországi 13–20 %-os gyakorisággal (Bereczki és mtsai, 2009). A stroke mortalitás Közép-Kelet Európában jóval magasabb, mint a nyugat-európai országok többségében (European Health for All database, 2014); ezért minden, akár csak kis javulás óriási népegészségügyi jelent séggel bír. A cerebrovasculáris betegek anamnesise általában egy vagy több stroke-rizikóként számbajöv társbetegséget tartalmaz, mint pl. a hypertoniát, diabetest, pitvarfibrillációt. Nem csak a stroke el fordulása, de kedvez tlen kimenetele is kapcsolatba hozható a rizikófaktorokkal. A jelent s vérnyomásváltozás, a szív m ködés zavara és a paraszimpatikus rendszer aktivációja kritikus az akut stroke kimenetét illet en (den Hertog és mtsai, 2011; Zhang és mtsai, 2011; Sandset és mtsai, 2012; Ntaios és mtsai, 2013; Milionis és mtsai, 2013; Chen és mtsai, 2012). Szoros megfigyelés szükséges bizonyos esetekben a hirtelen változások felismeréséhez, a felkészüléshez az id beli életment beavatkozásokra. Minden olyan tényez , mely el re jelezheti a küls tényez k kedvez tlen változását, jelent séggel bír a stroke-betegek ellátásában. A meteorológiai tényez k, így a h mérséklet változása szignifikáns kapcsolatba hozható az akut stroke miatti felvételek számával (Wang és mtsai, 2009; Giua és mtsai, 2010), kiterjedt elemzés igazolta az ischaemiás stroke és a légnyomás változás kapcsolatát (Lee

és mtsai, 2008; Sueda és mtsai, 2015). Néhány kísér betegség – mint például a vérnyomás és szívritmus – klimatikus tényezők hatása alatt áll (Abdulla és Taka, 1988; Gluszkés mtsai, 2008). A meteorológiai események természetesen nem egyedül okozzák az agyi érkatasztrófát (Ishigami és mtsai, 2008; Myint és mtsai, 2009), de befolyásolhatják a kórlefolyást. Mind az alacsony, mind a magas hőmérséklet kapcsolatba hozható a stroke miatti halálozás emelkedésével (Chen és mtsai, 2013; Mostofsky és mtsai, 2014). A meteorológiai tényezőknek az akut cerebrovasculáris betegség kimenetelére gyakorolt hatása nagyrészt még nem ismert. Feltehető, hogy az egyén egészségügyi állapotának is jelentősége van ebben a kölcsönhatásban (Ohno, 1969a,b; Magalhães és mtsai, 2011; Morabito és mtsai, 2011).

Amennyiben meghatározhatók azok a meteorológiai jellemzők, melyek kedvezőtlen hatásúak a stroke kimenetelére vonatkozóan, úgy az igen magas kockázatú betegek szorosabb megfigyelés alá vonhatók ezekben a kritikus időszakokban. E tényező hatásának a vizsgálata ugyanakkor számtalan nehézséggel bír. Ennek oka, hogy akárcsak az emberi szervezet, a légköri folyamatok is rendkívül összetett rendszert képeznek.

Korábbi kutatások valószínűsítették, hogy a különböző eredetű légtömegek érkezése és távozása összefüggésben állhat bizonyos stroke-os betegek élettani folyamataival is. A Kárpát-medence időjárását a különböző típusú légtömegekben zajló események alakítják, melyek elkülönítése igen bonyolult feladat. A hazánk légkörét aktuálisan kitöltő légtömegek kategorizálása és meghatározása alkalmas erre. Az operatíván is mérhető paraméterek közül olyanok jöhetnek szóba, amelyek megbízhatóan előre jelezhetők, ugyanakkor nem érzékenyek a földfelszín hatása miatt túl kis időskálán és intenzíven változó napi ciklusra. Erre a légkör magasabb rétegét leíró paraméterek alkalmasak.

Az ún. „equivalent potential temperature” (EPT) vagy magyarul „ekvivalens potenciális hőmérséklet” a meteorológiai gyakorlatban a légkörben kialakuló konvektív folyamatok előre jelezésében használatos, a különböző térségekből érkező légtömegek elkülönítésére történő használata azonban újszerű. Az EPT értéke magas, ha meleg, nedves levegő jellemző és alacsony, ha száraz, hideg levegőre vonatkozik. Előre jelezheti a heves esőzssel járó zivatarokat.

Az equivalent potential temperature (EPT) jól definiált a dinamikus meteorológiában (Bolton, 1980, Holton, 2004):

$$EPT = T_e \left( \frac{p_0}{p} \right)^{\frac{R_d}{c_{pd}}}$$

A formula az EPT légköri prognosztikai modellekbe illeszthető alakja (Stull, 1988), ahol  $T_e$  (°C) az ekvivalens hőmérséklet,  $p_0$  (Pa) a felszíni légnyomás,  $p$  a légnyomás,  $R_d$  (J/kgK) a száraz levegő univerzális gázállandója,  $c_{pd}$  (J/kgK) pedig a levegő állandó nyomáson vett fajhője.

Az EPT értékek elérhetők az interneten (University of Wyoming Department of Atmospheric Sciences), melyek a mérési adatokat 1973-tól tartalmazzák. Ez lehetővé teszi 30 éves klimatikus átlagok feldolgozását (University of Wyoming, 2014).

Az ún. anomáliás EPT időszakokkal azokat a légköri változások követhetik, melyekben az aktuális időjárást adó közeg termodinamikai tulajdonságai szignifikánsan eltérnek a térségünkben uralkodó, Atlanti-térségbe érkező légtömegekéétől. Abban az esetben, ha az anomáliás időszak pozitív, a légtömeget mediterrán eredetűnek, ha negatív, kontinentális vagy sarki eredetűnek tekintjük.

Az anomáliás periódusok alkalmazhatók a légnyomás változások jellemzésére, amikor a hőmérséklet és páratartalom 850-hPa nyomás mellett szignifikánsan eltér a domináns Atlanti-óceáni légtömeg paramétereitől. Ha az anomália pozitív illetve negatív, akkor az aktuális légtömeget mediterrán illetve sarki/kontinentális eredetűnek tekinthetjük. Miután az EPT több meteorológiai tényező hatását egyesíti, továbbá jelentős részben független a földfelszíni zavaró hatásoktól, joggal tekinthetjük fel, hogy alkalmas akut ischaemias stroke, annak egyes társbetegségei elrejelzésére, az agyi érkatasztrófa kimenetének becslésére.

## 2. CÉLKIT ZÉSEK

Az akut stroke utáni halálozás sok esetben gyulladással szövődmény. Sok esetben azonban nem lehet kapcsolatot találni a neurológiai jellemzők, a belgyógyászati status és a gyulladással szövődmények kialakulása között. Célunk volt olyan összefüggést, esetleg terápiás lehetőséget feltárni, mely magyarázhatja egyes betegek fokozott esélyességét, mások relatív jó védettségét fertőzésekkel szemben. Miután pedig állatkísérletes adatok egyértelműen alátámasztják, hogy az akut stroke hatással van a perifériás immunrendszerre, kézenfekvő volt ennek vizsgálata. A fokális agyi károsodást követően pár napon belül kialakuló szisztémás immunszuppresszióban a T sejtek játszanak alapvető szerepet, azonban az al csoportok előfordulási gyakorisága között különbségeket találtak. Célunk volt tehát az, hogy vizsgáljuk a T limfociták funkcionális eltérését: hogyan változik a T limfociták aktivációs kinetikája az idegrendszeri károsodást követően akut ischaemias stroke-ban.

A citoplazma szabad kalcium koncentrációjának ( $[Ca^{2+}]_{cyt}$ ) emelkedése kulcsfontosságú a limfocita aktiváció folyamatában. A feszültségfüggő Kv1.3 kálium csatornák és a kalcium-függő IKCa1 kálium csatornák pedig kiemelkedő szerepet játszanak ebben. Feltételeztük, hogy a limfociták kálium csatornáinak gátlása, különösen a Kv1.3 kálium csatorna gátlószerei alkalmasak lehetnek specifikus immunszuppresszióra AIS-ban is. Célkitzésünk volt tehát az, hogy megítéljük a T limfociták felszínén elhelyezkedő kálium csatornák specifikus gátlásának hatását akut stroke-ban. Célunk volt arra vonatkozó kérdés megválaszolására is, hogy az egyes kálium csatorna gátlószerek terápiás célpontjai lehetnek-e szelektív immunmoduláló terápiaként az akut stroke kezelésének is. Igyekeztünk választ találni arra, hogy az IKCa1 inhibitorok, pl. a TRAM-34 a klinikumban ezen a területen kerülhetnek-e alkalmazásra.

További vizsgálatunkban azt a célt tűztük ki, hogy találjunk olyan gyulladással markert, amely alkalmas a korai, központi idegrendszeri károsodás okozta és a későbbi, fertőzés miatt kialakuló gyulladással válasz elkülönítésére. Ma már több marker is elérhető célra, de költségigényességük révén csak az válhat a közvetlen betegellátás részévé, mely megbízható, kellően érzékeny és specifikus. Ki akartuk választani az(oka)t a marker(ek)e(t), mely(ek) a kívánalomnak megfelel(nek). Ki akartuk választani azt a paramétert, mely nem csupán a gyulladással választ jelzi, hanem amely az idegrendszeri

betegség közvetlen kiváltó szerepét mutatja. Ezt a célt szolgálta a C-reaktív protein (CRP), az összfehérvérsejtszám (WBC), a neutrofilszám, a szolubilis plazminogén aktivátor receptor (suPAR), a CD4+ CD25high regulációs T sejtek valamint a CD64+ és CD177+ neutrofilok és monocyták prevalenciájának vizsgálata időbeli kinetika szerint. Feltételeztük, hogy a klinikumba csak gyorsan és relatíve olcsón elérhető diagnosztikai módszer kerülhet, célunk ilyen vizsgálati technika meghatározása volt.

A stroke epidemiológiai vizsgálatban célul tűztük ki a szocio-kulturális tényezők szerepének vizsgálatát a betegség kialakulásában és lefolyásában. Bizonyítani akartuk, hogy a visszatérő stroke betegek szociális helyzete a rizikófaktor profilban. Kíváncsiak voltunk, hogy a stroke kockázati tényezőként ismert leggyakoribb betegségek (hipertónia, diabetesz, pitvarfibrilláció, stb.) vagy inkább az életviteli tényezők (alkoholizmus, dohányzás) emelik meg az AIS első fordulását, rontják a kimenetelét. Jellemző adatnak ítéltük a betegség felléptekori életkort, ez volt vizsgálatunk kiemelt célpontja. Tekintettel arra, hogy más a stroke két fő (ischaemiás és vérzéses) formájának lefolyása, prognózisa, így a kedvezőtlen epidemiológiai adottságok jellemzője is. Ezért célunk volt még az eredmények kerületek közötti összehasonlítása. Kiindulva abból, hogy a férfiaknak a családfenntartó szerepe más és ebben a társadalmi tradícióknak is szerepük van, elemezni akartuk nemek szerint az eredményeket. Feltételezve, hogy a súlyosabb betegeknél gyakoribb a fatális kimenetel, célkitűzésünk volt a halálos kimenetelű betegek adatainak külön elemzése. Végül a túlélők esetében látni akartuk, hogy az alacsonyabb szocio-kulturális környezetnek van-e szerepe az elszenvedett stroke után elért kezelésre vonatkozó terápiás segítségben. Legfőbb célkitűzésünk fentiekből következően tehát az volt, hogy meghatározzuk azt a populációt, amelynek körében a rendelkezésre álló anyagi források a leginkább költséghatékony módon tevékeny lehetnének a prevenció munkájában.

Humánmeteorológiai vizsgálatunk célkitűzése az volt, hogy meghatározzunk olyan paramétert, mely megbízhatóan előre jelzi az AIS első fordulását, a kedvezőtlen kimenetelt. A meteorológiai paraméter kiválasztásakor cél volt az is, hogy a meteorológusok körében jól ismert, régóta alkalmazott és megbízható legyen.

### 3. MÓDSZEREK

#### 3.1. Alapkutatás: stroke-ot követ immunhiányos állapot és limfociták ködés

##### 3.1.1. Betegek

Az akut ischaemiás stroke szövdményeinek immunológiai vizsgálata során 12 AIS beteg 1 vettünk a kórkép fellépte után 6 órán belül (Stroke 1) és 1 héttel később (Stroke 2) vérmintát. Az AIS-t WHO meghatározás szerint definiáltuk (Aho et al., 1980). Subarachnoidális vérzés, epiduralis vagy subduralis vérzés, tranziens ischaemias attack (TIA), trauma vagy daganat miatti neurológiai deficit kizáró ok volt a részvételben. A stroke után bizonyítottan fertőzésben szenvedő betegek is kizárásra kerültek. A stroke súlyosságát felvételkor a módosított Rankin pontozó skála alapján határoztuk meg (Bonita és Beaglehole, 1988). Kontrollként 14 olyan, korban illesztett egészséges személyt vontunk be, akinél a cardiometabolicus rizikófaktor-profil hasonló volt; tőlük egy alkalommal vettünk vért. A kontroll személyek anamnézisében stroke vagy egyéb neurológiai betegségek nem szerepeltek. Az *1. táblázat* a betegek és a kontrollok demográfiai adatait és a fennálló kockázati tényezőket foglalja össze. A résztvevők mindegyike a vizsgálatban való részvételhez tájékozott beleegyezését adta. A vizsgálatot független etikai bizottság hagyta jóvá. A laboratóriumi vizsgálatok kódolt mintákon történtek, melyeken személyi vagy diagnosztikus azonosítók nem szerepeltek. A vizsgálatot a Helsink-i deklaráció legutóbbi kiadásának szellemében végeztük.

**1 táblázat:** A kontroll személyek és az akut ischémias stroke-os betegek demográfiai adatai és kockázati tényezői (az adatok medián (interkvartilis tartomány), ill. %-os formában kerültek feltüntetésre)

	Kontroll (n=14)	Stroke (n=12)
Életkor (év)	62,5 [52-71]	67,5 [60-76]
Férfiak / nők	7/7	4/8
Magas vérnyomás	7 (50%)	9 (75%)
Dohányzás	3 (21%)	4 (33%)
Napi 10 mg-ot meghaladó alkoholfogyasztás	4 (29%)	4 (33%)
Obezitás	4 (29%)	4 (33%)
Korábbi kardiovaszkuláris betegség	4 (29%)	5 (42%)
Hypercholesterinemia	2 (14%)	2 (17%)
Diabetes	2 (14%)	4 (33%)
Pitvarfibrillatio	2 (14%)	4 (33%)
Módosított Rankin pontérték	0 (0-0)	4 (1-5)

### 3.1.2. Módszerek

#### 3.1.2.1. A mononukleáris sejtek izolálása

A vérminták az akut ischaemias stroke-beteg felvételét követően 24 órával, majd 1 héttel később tervezetten kerültek átszállításra a Semmelweis Egyetem I. Gyermekgyógyászati Klinikájára, ill. Laboratóriumi Medicina Tanszék laboratóriumába. A mononukleáris sejtek standard sűrűség gradiens centrifugálással (Ficoll Paque, Amersham Biosciences AB, Uppsala, Sweden, 27 perc, 400 g, 22 °C) kerültek elválasztásra 9 ml frissen, lithium heparinos csőbe (BD Vacutainer, BD Biosciences) vett perifériás vénás vérből, illetve köldökzsinórvérből. Ezt a sejtuszpenziót kétszer mosták PBS-ben (phosphate buffer saline). A sejteket a továbbiakban a fluoreszcens markerekkel való jelölés, a gátlószerekkel való elkezelés és az áramlási citométeres mérés teljes ideje alatt módosított RPMI médiumban (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) tárolták. A módosított RPMI  $Ca^{2+}$ -koncentrációját kristályos  $CaCl_2$  hozzáadásával 2 mM-osra állították be.

### 3.1.2.2. A sejtfelszíni markerek és az intracelluláris kalciumszint meghatározása

A lymphocyták sejtpopulációját a Forward Scatter és a Side Scatter karakterisztika alapján különítették el a mononukleáris sejtek közül az áramlási cytometeres mérések során. A sejtfelszíni markerek festéséhez  $4 \times 10^6$  mononukleáris sejtet 500  $\mu$ l módosított RPMI-ben szuszpendálták. A sejteket 30 percig, sötétben, szobah mérsékleten inkubálták a következő konjugált anti-humán monoklonális antitestek kombinációjával a gyártó javaslatainak megfelelően: anti-CD4 PE-Cy7, anti-CD8 allophycocyanin-Cy7, anti-CXCR3 allophycocyanin (a Th1 alpopuláció elkülönítésére), anti-CCR4 PE (a Th2 alpopuláció elkülönítésére) (az összes PharMingen, San Diego, CA, USA), valamint külön mérés során anti-Kv1.3 channel FITC (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). A sejteket ezután mosták.

Az intracelluláris kalciumszint monitorozásához Fluo-3 és Fura-Red festékeket tartalmazó keveréket adtak a sejtszuspenzióhoz. A keveréket a gyártó (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) ajánlása szerint készítették: a festékeket 1:2 arányban Pluronic F-127-ben oldották. A sejteket 20 percig, sötétben, 30 °C-on inkubálták a keverékkel, majd mosást végeztek. A sejteket ezután a mérésig szobah n, sötétben tárolták. Az intracelluláris kalciumszintet a Fluo-3 és Fura-Red fluoreszcenciájának fix hányadosa alapján számították.

### 3.1.2.3. A sejtek gátlószeres kezelése

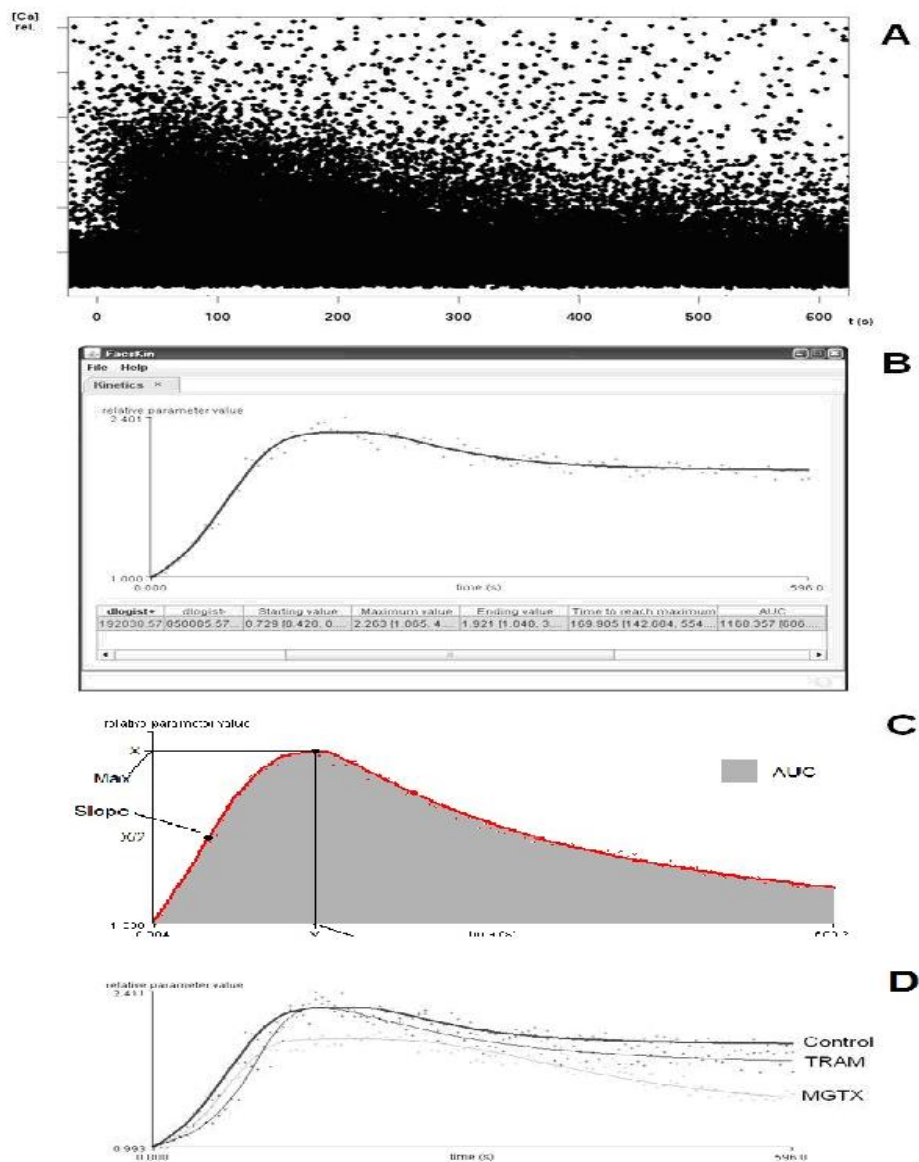
Az egy-egy személyt 1 származó mononukleáris sejt szuszpenziókat három, megegyező sejtszámú mérési mintára osztották. Egy mintát gátlószeres kezelés nélkül (kontrollként), két mintát pedig MGTX, és TRAM-34 gátlószerekkel kezelve mértek. A gátlószereket 60 nM-os, telít koncentrációban alkalmaztuk. MGTX esetében legalább 15, TRAM-34 esetében legalább 10 percig hatott a gátlószer a mérések megkezdése előtt. Minden mintához 20 ng PHA-t adtak közvetlenül a mérés megkezdése előtt aktiválás céljából. Az intracelluláris kalciumkötő festékek basalis fluoreszcenciáját (melyet a Fluo-3 és Fura-Red hányadosát alapul véve számították) minden mérés legelején (nulla másodpercnél) állapították meg. Az áramlási cytometeres analíziseket BD FACSAria áramlási cytometeren (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) végezték. A méréseket kinetikus jelleggel folyamatosan végezték, 10 percen keresztül.



#### 3.1.2.4. Az áramlási citométeres mérések értékelése

A mérések során kapott kinetikus adatokat a laboratóriumban fejlesztett számítógépes program segítségével értékelték (**5. ábra**). Ennek lényege, hogy a mérés során ún. dot-plotban ábrázolódó adathalmazból (ahol minden pont egy-egy sejtnek felel meg), mely önmagában nehezen értékelhető, a program olyan görbét számít, melynek paraméterei a többi görbével számszerűen is összevethetők. Így lehetőség nyílik az adatok kvantitatív vizsgálatára is. Ehhez a módszerrel a kulcslépés az adott mérést legpontosabban jellemző függvény típusának kiválasztása és kiszámítása minden egyes méréshez egy továbbfejlesztett algoritmus alapján (Kaposi és Mtsai, 2008).

A mérés ún. „dlogist+” függvénnyel jellemezhető, amely kettős logisztikus függvény, és olyan mérések jellemzésére használható, melyeknél az intenzitás az idővel először növekszik, majd csökken. A program az egyes függvényeket leíró paramétereket is kiszámítja. Ilyen a Maximum érték (Max), amely a kalcium beáramlás csúcserőssége, a maximum elérésének ideje (Time to reach maximum,  $t_{max}$ ), ami korrelál az aktiváció sebességével és a görbe alatti terület (Area Under the Curve, AUC), amely megadja az aktiváció időtartama alatt belépett kalcium össz mennyiségét és korrelál az aktiváció mértékével. Az AUC érték egy egysége (U) egyenlő az egy másodpercre eső egy relatív intenzitás értékkel. A relatív intenzitás érték megegyezik az aktuális intenzitás érték és a nulla másodpercben mért intenzitás érték hányadosával. Az AUC értékek arányosak az intracelluláris szabad kalciumszintjével, melyek a lymphocyta-aktivációval arányosak (Panyi, 2005).



**5. ábra:** A kinetikus áramlási citométeres mérések értékeléséhez használt, a laboratóriumban kifejlesztett számítógépes program. A – a kinetikus mérések során kapott ún. „dot-plot”. [Ca] rel – a Fluo-3 és Fura-Red festékek hányadosa, t (s) – az eltelt idő másodpercben. B – A számítógépes program ablaka a számított „dlogist+” függvénnyel és a hozzá tartozó paraméter értékekkel, többek között a Maximum értékkel (Max), a maximum elérésének idejével (Time to reach maximum,  $t_{max}$ ), és a görbe alatti területtel (Area Under the Curve, AUC). A „relative parameter value” megjelölés a kalcium-kötő festékek (a Fluo-3 és Fura-Red hányadosa) relatív fluoreszcenciájára utal. C - A kiértékelésnél kapott függvény egyes paramétereit. AUC = Area Under the Curve (görbe alatti terület), Max = a kalcium beáramlás maximumának értéke (X), a Max érték felénél (X/2),  $t_{max}$  = a Maximum érték elérési ideje (Y). D – A kontroll, valamint a triarilmetánnal (TRAM) és margatoxinnal (MGTX) kezelt minták  $Ca^{2+}$ -beáramlási kinetikájának kiszámított „dlogist+” függvényei. A gátlószerek hatását jelzi a Max és AUC értékek csökkenése.

### 3.1.2.5. Statisztikai elemzés

A kinetikus adatok medián [tartomány] formátumban kerülnek megadásra. Az adatok összehasonlítása Mann-Whitney teszttel történt, mivel az elztes Kolmogorov-Smirnoff teszt az adatok nem normál eloszlását tárta fel. A 0,05-nél kisebb  $p$  értékeket vettük szignifikánsnak. A statisztikai számítások a GraphPad InStat programmal készültek (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

## 3.2. Klinikai vizsgálat: gyulladáshos marker stroke-ot követ immunosuppresszióban

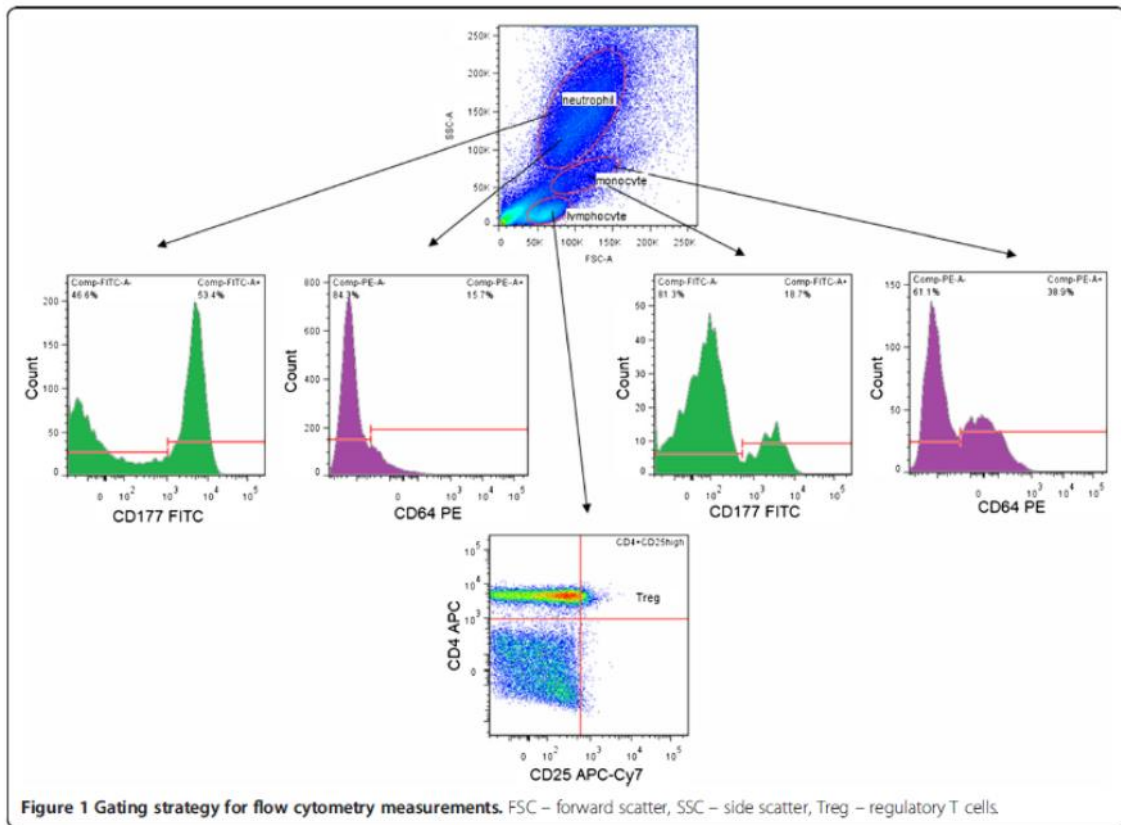
### 3.2.1. Betegek

A vizsgálatban részt vevő betegek és kontroll személyek megegyeztek az alapkutatásban részt vevő és a 3.1.1. pontban ismertetett személyekkel.

### 3.2.2. Módszerek

A heparinnal antikoagulált vérmintákból első lépésben izolálták a plazmát, amelyet  $-80^{\circ}\text{C}$ -on tárolták a mérésig. A plazma suPAR koncentrációját suPARnostic Flex ELISA assay (ViroGates A/S, Birkerød, Denmark) segítségével állapították meg. A CRP szinteket Roche Hitachi 912 m szer segítségével Roche Tina-quant CRP immunoturbidimetriás assay (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) alkalmazásával határozták meg. A vérkép értékeket Beckman Coulter UniCel DxH800 sejtszámláló m szer (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) segítségével értékelték.

300  $\mu\text{l}$  heparinnal antikoagulált teljes vért inkubálták az alábbi konjugált anti-humán antitestekkel: CD4 APC (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany), CD11b PE-Cy7 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), CD25 APC-Cy7 (BioLegend, San Diego, CA, USA), CD177 FITC (BioLegend), CD64 PE (BD Biosciences). 30 perc  $4^{\circ}\text{C}$ -on történő inkubálást követően FACS Lysing oldatot (BD Biosciences) adtak valamennyi mintához és 20 percig sötétben, szobah mérsékleten inkubálták a sejteket. Mosást követően 500,000 sejtet mértek le valamennyi mintából BD FACSAria (BD Biosciences) áramlási cytometer segítségével, megfelelő kapuzási technikával (**6. ábra**).



**6. ábra:** A CD177+, CD64+, illetve regulátoros T-sejtek azonosítására használt kapuzási stratégia

Az áramlási citometriás eljárással nyert adatokat a FlowJo szoftver (7.6.3 verzió, Tree Star, Ashland, OR, USA) segítségével értékeltük.

### 3.2.3. Statisztikai elemzés

A gyulladási markerek vizsgálata során kapott adatokat medián [kvartilis] formában adtuk meg. A mérési határ (1 mg/L) alatti CRP értékeket 1 mg/L-ként értékeltük.

Az egészséges egyének és akut ischaemias stroke-on átesett betegek közötti összehasonlítást Mann-Whitney teszt segítségével végeztük. A betegektől különböző időpontokban vett minták közötti összehasonlításhoz Wilcoxon tesztet használtunk. A korrelációs analíziseket Spearman teszt segítségével végeztük. A statisztikai számításokhoz SPSS szoftvert (20,0 verzió, SPSS, Inc. Chicago, IL, USA) használtunk.

### **3.3. Epidemiológiai vizsgálat: a stroke kimenetele és rizikótényezői Budapest két, alapvetően más szocio-kulturális adottságú kerületében**

#### **3.3.1. A vizsgálat felépítése**

Budapest Magyarország f város, egyúttal legnagyobb városa. 1,8 millió lakosa van, 525 km<sup>2</sup> területen, a Duna két partján terül el. A város lakossága relatíve homogén: a 2011-es népszámlálás adatai szerint mindössze 2,2 % vallotta magát nem magyar etnikumúnak. A f város 23 kerületből áll. A XII. kerület a második, a VIII. kerület az utolsó a kerületek rangsorában az egy főre eső jövedelem alapján. „A Budapest 8-12 project” egy hároméves után követéses vizsgálat volt, melyben a VIII. és XII. kerület 2007-ben stroke miatt hospitalizált lakosai szerepeltek. Az egy főre jutó jövedelmet a Központi Statisztikai Hivatal (KSH) adatai alapján adtuk meg.

#### **3.3.2. Betegazonosítás**

A betegek kórtörténetét a kórházi zárójelentések felhasználásával vettük fel. A betegek kiválasztása a két vizsgált kerület szerinti lakcím alapján történt függetlenül attól, hogy Magyarországon melyik kórházban kezelték őket stroke miatt 2007-ben.

A betegeket Magyarországon egyetlen egészségbiztosítója, az OEP adatbázisából válogattuk ki. Az OEP a teljes magyarországi sürgősségi kórházi felvételek adatával rendelkezik. A betegek bejelentett lakóhelye postai irányítószám alapján lett válogatva, a stroke diagnózisok a BNO-10 kódok, I60, I61, I63 és I64 alapján kerültek kiválasztásra. Magyarországon a magánkórházak részvétele a sürgősségi ellátásban elenyésző, akut stroke miatt oda kórházi felvétel nem történik. Stroke miatt Magyarországon a kórházi fekvő beteg ellátás a rutin eljárás. Az OEP-től kapott adatok anonim feldolgozása történt és a háziorvosoktól az információkat a beteg OEP nyilvántartási száma (Társadalombiztosítás Azonosító Jel – (TAJ szám) alapján szereztük.

#### **3.3.3. Betegadatok feldolgozása**

A Semmelweis Egyetem Neurológiai Klinika és a Szent János Kórház Neurológiai Osztály – Stroke Centrum két, párhuzamosan dolgozó munkacsoportot alkotott. Amint azt a megvalósíthatósági tanulmányból (Szucs és mtsai, 2012) láttuk, a telefonos és

postai kérdőíves módszerrel csak a betegek 84 %-a volt elérhető egy évvel a stroke után, ezért egy eredményesebb utánkövetési módszert alkalmaztunk ezúttal. A magyar egészségbiztosítási rendszer (Országos Egészségbiztosítási Pénztár – OEP) 2007-es adatbázisából emeltük ki a két kerület stroke miatt kórházban ápolott betegeinek adatait (a BNO-10 és a postai irányítószámok alapján). Az utánkövetés három éves időszakot ölelt fel a stroke után. A betegadatok összegyűjtése a betegek háziorvosánál tett személyes látogatás keretében történt. Ennek során áttekintettük a beteg 2007-ben elszenvedett stroke-ja kapcsán kiállított zárójelentését. Amennyiben a beteg felvételére nem akut stroke miatt került sor, akkor a beteget kizártuk a további feldolgozásból. A háziorvos anonim kérdőívet töltött ki betegéről. Ez tartalmazta a beteg anamnézisének, rizikófaktorait, a kórházi tartózkodás eseményeit, az akut stroke miatti ellátás alatti és az azt követő időszak gyógyszerelését, a beteg állapotát a módosított Rankin-skála szerint. A háziorvosokat kértük, hogy betegeiket az általuk becsült társadalomgazdasági státusz alapján négy kategóriába sorolják (hátrányos – átlagos – átlagfeletti – ismeretlen). A kérdőíveket ezután kódolt formában dolgoztuk fel. A hároméves utánkövetési időszak adatait az OEP adatbázisából nyertük. Sem a betegekkel, sem hozzátartozóikkal a kutatócsoport tagjai személyesen nem találkoztak.

### **3.3.4. Statisztikai elemzés**

A betegek adatainak feldolgozásakor Shapiro-Wilk tesztet használtunk a normális eloszlású folyamos változók esetén. ANOVA és a gyakoriságok vizsgálatára  $\chi^2$  tesztet alkalmaztunk. A szignifikancia-szintet  $p < 0,05$ -nél állapítottuk meg.

## **3.4. Anomáliás ekvivalens potenciális hőmérséklet (EPT): légköri jellemző paraméter, mely elrejelzi az akut ischaemiás stroke-ban szenvedők magasabb halálozási kockázatát**

### **3.4.1. Betegek**

Valamennyi, a Szent János Kórház Neurológiai Osztály – Stroke Centrumba ischaemiás stroke miatt 2009. januárban, februárban és decemberben felvett beteg adatait elemeztük. Mindegyikükönél készült koponya CT vizsgálat. 2009. évben 81 beteg halt meg emiatt, közülük 35 ebben a 3 hónapban. A betegadatokat retrospektíven dolgoztuk

fel és anonim módon kezeltük. A human-meteorológiai szakért csak a beteg életkoráról, nemér 1, a halálozás pontos id pontjáról (hónap, nap, óra, perc) tudott. Ezeket az adatokat vetettük össze a kiválasztott meteorológiai paraméterekkel.

### **3.4.2. Equivalent potential temperature (EPT): a vizsgált meteorológiai paraméter alkalmazása**

Az ischaemias stroke, ill. a következményes halálozás id pontjában fennálló EPT értéket Budapest térségére (1500 m, 850 hPa nyomási szintre) kiszámolt 30 éves átlaghoz viszonyítottuk.

A Meteo Klinika (Budapest) humán-meteorológus szakemberei által megalkotott „szignifikáns anomáliás periódusok” kerültek id beli egyeztetésre.

Az EPT alkalmazásának kritériumai a következők voltak:

- Legalább 6 egymást követ 12 órás mérés (2,5 nap). Kevesebb mérés tartósan mozdulatlan légtömeg hatását jelenthetné szignifikánsan más EPT eredményt adva.
- Legalább  $\pm 5$  °C-os eltérés az átlagtól. Az EPT téli fluktuációja 40 és 50, az éves 50 és 70 °C között van, így ésszer volt 5 °C (durván 10 %) határérték választása.
- Az id szak kezdeti és végpontjában fenn kell állnia az 5 fokos eltérésnek, de hosszabb id szakok során releváns bizonyos mérték ingadozást megengedni: minimálisan az id szak 90%-ában teljesülnie kell a feltételnek.
- Legalább 10 mérésből álló id szak esetében legalább a mérések 90%-a kell, hogy teljesítse a fenti második kritériumot. Ezzel a kisebb légköri zajok, esetleges alkalmi adathibák sz rhetnek ki, melyek nem köt dhetnek légtömeg cseréhez.
- A halálozás id beli kapcsolatban kell, hogy legyen a meteorológiai eseménnyel (24 órán belül be kellett következzen az anomáliás id szak után, figyelembe véve, hogy az emberi szervezet id beli késéssel követheti a változásokat.

### **3.4.3. Statisztikai elemzés**

Tekintettel arra, hogy tanulmányunk elzetes jelleg volt és kis esetszámot dolgozott fel, az adatoknak leíró jellegük van. A fatális kimenetel esetekben az anomáliás és nem anomáliás napok elfordulását vetettük össze, melyhez khi-négyzet tesztet használtunk. Statistica for Windows v12 (StatSoft, Tulsa, OK) került alkalmazásra.



#### 4. EREDMÉNYEK

A stroke-ot követő immunhiányos állapot és limfociták ködés vizsgálatával kapcsolatos eredményeket a **2. táblázat** mutatja be.

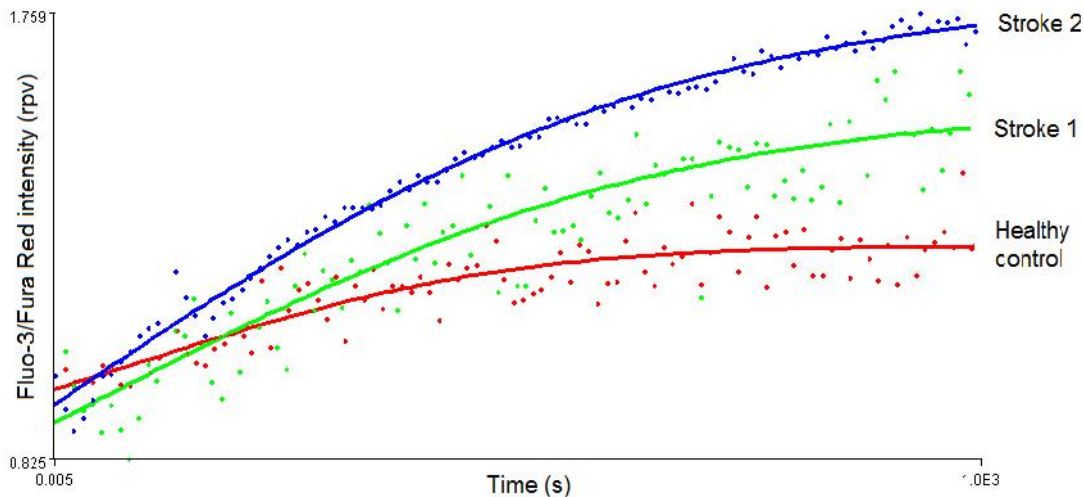
**2. táblázat:** A margatoxin (MGTX) és triarilmetán (TRAM) adás hatása a vizsgált kalciumflux parameter értékekre (AUC – görbe alatti terület, unit (U), Max – Maximum érték, relatív egység (rpv),  $t_{max}$  – max érték eléréséhez szükséges idő (másodperc). Stroke 1: akut stroke után 6 órával; stroke 2: a stroke után 1 héttel vett mintában mért eredmények

		Nincs gátló			MGTX (4 $\mu$ M)			TRAM (240 $\mu$ M)		
Subset		Kontroll	Stroke 1	Stroke 2	Kontroll	Stroke 1	Stroke 2	Kontroll	Stroke 1	Stroke 2
CD4+	AUC (U)	1969 (1825-2447)	2198 (1855-2450)	2485 (1794-2665)	1968 (1833-2119)	2235 (2008-2751)	1973 (1861-2085)	2051 (1852-2313)	2056 (1736-2747)	1952 (1665-2149)
	Max (rpv)	1.141 (1.012-1.457)	1.187 (1.117-1.597)	1.363 (1.039-1.583)	1.082 (1.041-1.323)	1.152 (1.077-1.443)	1.045 (0.982-1.166)	1.083 (1.004-1.298)	1.190 (1.039-1.445)	1.202 (1.035-1.641)
	$t_{max}$	296 (161-544)	686 (375-837)	272 (47-794)	457 (190-840)	528 (393-984)	433 (341-767)	80 (21-436)	817 (357-983)	329 (164-648)
CD4+ CXCR3+	AUC (U)	1975	1901	2048	2041	2070	1954	2057	1896	1912
	Max (rpv)	1.046 (0.990-1.275)	1.114 (1.001-1.194)	1.086 (1.021-1.321)	1.072 (1.038-1.141)	1.108 (1.011-1.251)	1.040 (0.987-1.053)	1.079 (1.019-1.290)	1.103 (0.995-1.140)	1.038 (1.029-1.106)
	$t_{max}$	353 (101-608)	266 (69-898)	261 (71-898)	407 (219-587)	482 (61-959)	414 (204-548)	690 (263-777)	484 (394-902)	461 (85-758)

## A 2. táblázat folytatása

		Nincs gátló			MGTX (4 µM)			TRAM (240 µM)		
Subset		Kontroll	Stroke 1	Stroke 2	Kontroll	Stroke 1	Stroke 2	Kontroll	Stroke 1	Stroke 2
CD4+ CCR4+	<b>AUC (U)</b>	2112 (1980-2465)	2514 (2242-4321)	2745 (2187-3683)	2192 (1858-2234)	2189 (1847-2615)	2072 (1900-2590)	2078 (1885-2282)	2077 (1740-2339)	2237 (2060-2468)
	<b>Max (rpv)</b>	1.183 (1.011-1.615)	1.256 (1.035-1.590)	1.502 (1.169-2.040)	1.137 (1.024-1.371)	1.090 (1.033-1.140)	1.095 (0.993-1.354)	1.048 (1.000-1.163)	1.103 (1.000-1.260)	1.179 (1.039-1.800)
	<b>t<sub>max</sub></b>	647 (269-920)	890 (540-1583)	603 (292-992)	78 (9-353)	931 (370-1032)	814 (198-944)	409 (48-1074)	897 (333-1009)	1022 (575-1482)
CD8+	<b>AUC (U)</b>	2205 (1961-2731)	2525 (2053-2858)	2059 (1780-2170)	2164 (2055-2354)	2071 (1771-2265)	2063 (1822-2258)	2308 (1871-2733)	2354 (2075-2858)	2181 (1978-2497)
	<b>Max (rpv)</b>	1.216 (1.066-1.531)	1.414 (1.149-1.645)	1.179 (1.028-1.610)	1.202 (1.087-1.251)	1.118 (1.000-1.151)	1.130 (1.075-1.199)	1.347 (1.031-1.505)	1.234 (1.146-1.715)	1.345 (1.071-1.478)
	<b>t<sub>max</sub></b>	825 (408-922)	634 (376-741)	324 (251-385)	480 (360-1138)	618 (500-903)	387 (327-520)	597 (409-979)	668 (353-1010)	536 (382-987)

Az AUC értéke a Th2 sejtek esetében nagyobb volt a Stroke 1 és a Stroke 2 csoportokban a kontrollhoz képest (**7. ábra**). A CD8 sejtek AUC és a  $t_{max}$  értékei a Stroke 2 csoportban kisebbek voltak a Stroke 1 és a kontroll csoportban mért értékeknél.



**7. ábra:** Kalcium influx kinetika a Fluo-3 és Fura Red festékekkel mért fluoreszcens jelarány alapján (relatív parameter érték (rpv) formában) kontroll (Healthy control), illetve akut stroke-os betegek Th2 sejtjeiben. A stroke-os betegektől az ictust követően 6 órában, illetve egy héttel később történt vérvétel (Stroke 1, ill. Stroke 2 csoport). A kép 1-1- reprezentatív mérést mutat be. A kinetikus áramlási citométeres mérések alapján a kiváltott kalcium influx válasz a Stroke 1 és Stroke 2 csoportokban nagyobb, mint az egészséges kontrollonál.

A MGTX a CD4 és a Th2 sejtekben az AUC és Max értékeket csökkentette a Stroke 2 csoportban, illetve CD8 sejtekben az AUC és Max értékeket csökkentette a Stroke 1 csoportban.  $At_{max}$  értékét a kontroll személyek Th2 sejtjeiben, illetve a Stroke 2 csoportban a CD8 sejtekben csökkentette a MGTX (2. táblázat). A TRAM a Th2 AUC értékeket mindkét időpontban csökkentette a stroke-os betegeknél, illetve a Stroke 2 csoportban emelte a CD8 sejteknél mért  $t_{max}$  értékeket.

Az anti-Kv1.3 antitest median fluoreszcens értéke nagyobb volt a kontrollnál a Stroke 1 és Stroke 2 csoport Th2 sejtjeiben, illetve a Stroke 2 csoport CD8 sejtjeiben (**3. táblázat**).

**3. táblázat:** A anti-Kv1.3 antitest median fluoreszcens értékek egészséges kontroll személyektől, illetve akut ischemias stroke-os betegektől az ictust követő 6. órában (Stroke 1), illetve 1 héttel később (Stroke 2) vett vérmintából izolált limfocitákban. Az adatokat median [interkvartilis tartomány] formájában mutatjuk be. CD4+ CXCR3+ – Th1 alcsoport, CD4+ CCR4+ – Th2 alcsoport. \* vs. egészséges kontroll,  $p < 0,05$ , † vs. Stroke 1,  $p < 0,05$

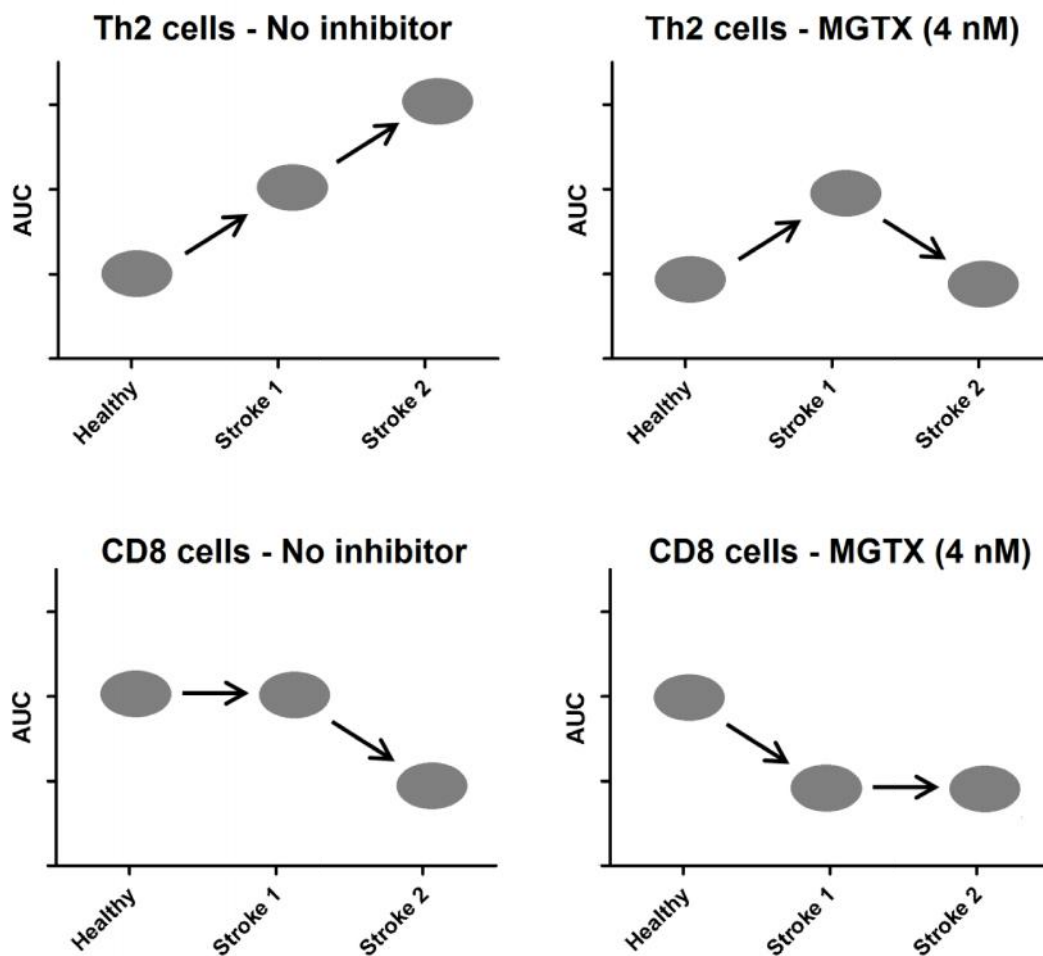
	Kontroll n = 12	Stroke 1 n = 12	Stroke 2 n = 12
CD4+	233 [75-869]	423 [146-1058]	261 [144-480]
CD4+ CXCR3+	124 [67-488]	140 [90-766]	227 [170-594]
CD4+ CCR4+	258 [93-2094]	2129* [484-6669]	2960* [427-10555]
CD8+	155 [81-385]	150 [124-464]	394*† [295-1251]

Az alkalmazott kalciumkötő festékek segítségével mért bazális fluoreszcens jel az egyes csoportokban az egyes vizsgált sejtek esetében nem tért el (**4. táblázat**).

**4. táblázat:** Az alkalmazott kalciumkötő festékek segítségével mért bazális fluoreszcens jel egészséges kontroll személyektől, illetve akut ischemias stroke-os betegektől az ictust követő 6. órában (Stroke 1), illetve 1 héttel később (Stroke 2) vett vérmintából izolált limfocitákban. Az adatokat median [interkvartilis tartomány] formájában mutatjuk be. CD4+ CXCR3+ – Th1 subset, CD4+ CCR4+ – Th2 subset

	Egészséges kontroll n = 12	Stroke 1 n = 12	Stroke 2 n = 12
CD4+	33657 [22322-48274]	62364 [28008-77734]	26437 [18011-95164]
CD4+ CXCR3+	23068 [17578-33405]	28227 [20710-58084]	25532 [17012-33680]
CD4+ CCR4+	102464 [47265- 196486]	91377 [31442-178002]	77816 [9975-168658]
CD8+	31887 [23728-38614]	63679 [26761-83038]	32719 [17287-79607]

Miközben a Th1 sejtek aktivációját nem befolyásolja a Kv1.3 vagy az IKCa1 csatorna gátlása, a Th2 sejtek esetében az AIS-ot követő 6. órában vett vérmintában a TRAM kezelés, illetve az egy héttel későbbi mintában a MGTX és TRAM kezelés csökkentette a Th2 Ca<sup>2+</sup> influxot. Ezzel szemben CD8 sejteknél az aktivációt kizárólag a Kv1.3 csatornák gátlása csökkentette és ez is csak az eseményt követő 6. órában volt kimutatható; a Kv1.3 vagy IKCa1 gátlók adása az inzultus utáni egy hétben ennél a sejtpopulációnál nem befolyásolták az aktiváció kinetikáját. Ebben az időpontban MGTX vagy TRAM adás esetén csak a válasz megnyúlása volt kimutatható (8. ábra).



**8. ábra:** A calcium influx relatív változása (görbe alatti terület (AUC) alapján) egészséges személyek (healthy) és akut ischémiás stroke-ot elszenvedett betegek perifériás vérmintáiban vizsgált Th2 és CD8 sejteiben. A stroke-os betegektől az ictus utáni 6. órában, illetve egy héttel később (Stroke 1, ill. Stroke 2 csoport) is történt vérvétel. A kalcium influxot Kv1.3 káliumcsatorna gátló margatoxin (MGTX) jelenlétében, ill. anélkül is meghatároztuk.

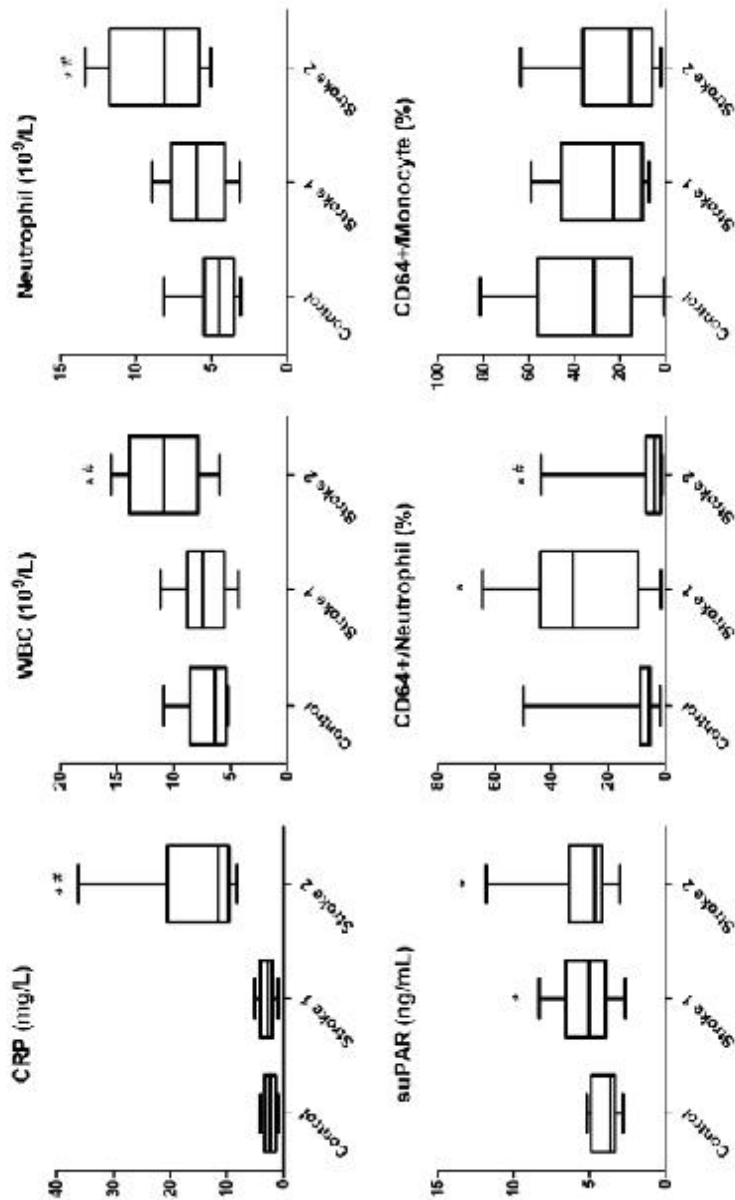
*A stroke-ot követ immunszuppresszióban a gyulladáshoz kapcsolódó markerek viselkedését a 9. ábra és az 5. táblázat összegzi.*

A CRP, WBC és neutrofil százalékos értékek a Stroke 1 és a kontrollok között nem különböztek, míg a Stroke 2 csoportban emelkedtek. A monociták és a limfociták száma, vagy a CD11b+ monociták prevalenciája nem tért el a vizsgált csoportokban. A CD4+ sejtek száma a Stroke 1 csoportban a kontrollokhoz képest csökkent, majd a Stroke 2 csoportban emelkedett. A CD4+CD25high regulátoros T sejtek prevalenciája az egyes csoportokban hasonló volt, bár a Stroke 2 csoportban emelkedett Treg sejtszámok iránti tendencia volt megfigyelhető. A suPAR szintek a stroke-os betegeknél mind a két időpontban meghaladták a kontroll betegeknél mért értéket.

A CD64+ neutrophil sejtek száma a Stroke 1 csoportban meghaladta a kontroll értéket. Prevalenciájuk azonban a Stroke 2 csoportban markánsan csökkent. A CD177+ neutrophil sejtek prevalenciája a kontroll értéket a stroke-os betegeknél mindkét időpontban meghaladta. A neutrophil sejteken a CD64 és CD177 MFI értéke az egyes csoportokban hasonló volt. A CD64+ CD177+ neutrophil sejtek prevalenciája a Stroke 2 csoportban volt a legalacsonyabb; ezzel szemben a Stroke 1 csoportban a kontrollokétól nem tért el, sőt, inkább emelkedett is.

A CD64+ monociták prevalenciája a vizsgált csoportokban hasonló volt. Ezzel szemben a CD177+ monociták száma mindkét stroke-os csoportban a kontrollokét meghaladta. A CD64 MFI értéke a monocitákon Stroke 2-ben a Stroke 1 csoporthoz képest alacsonyabb volt, míg a CD177 MFI értéke az összes csoportban megegyezett. A CD64+ CD177+ monociták prevalenciája minden vizsgálati csoportban hasonló volt.

A plazma suPAR szintek és a neutrophil vagy monocita CD177 expresszió között nem volt kapcsolat.

**9. ábra:**

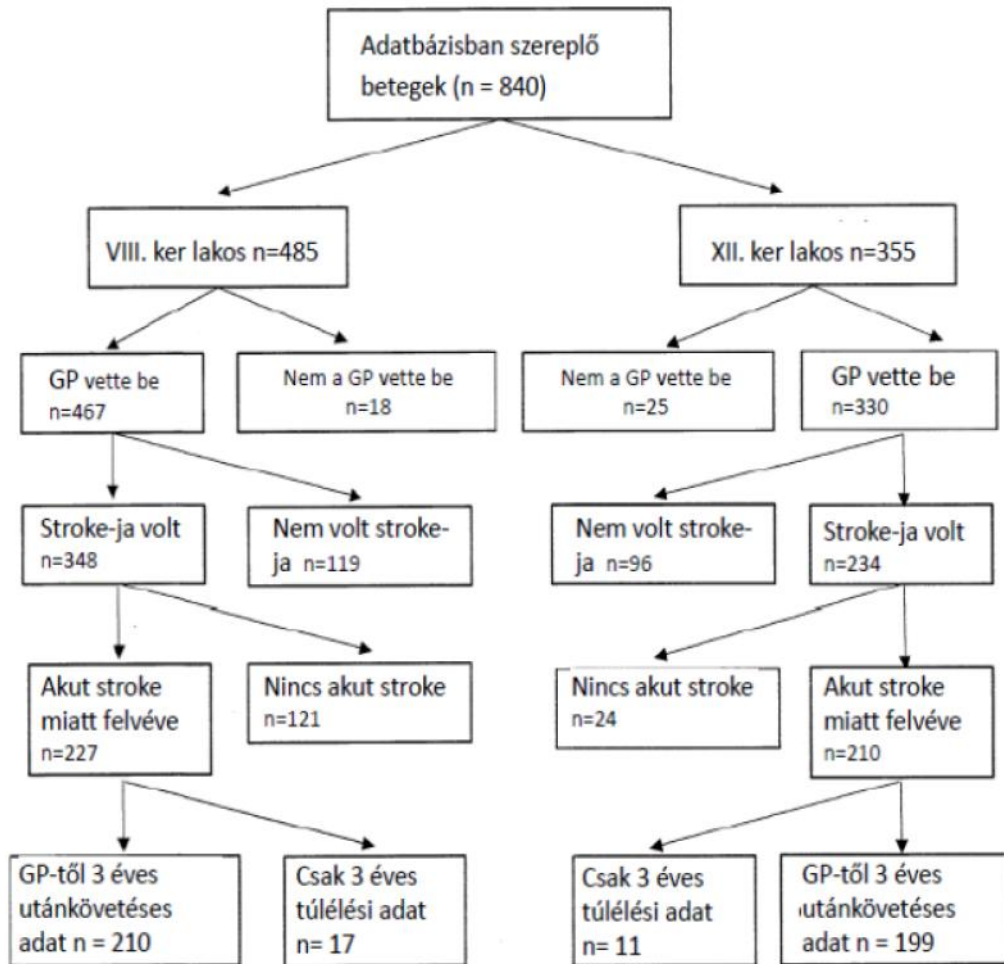
Vizsgált gyulladási paraméterek kontrollonál és akut ischiémás stroke-os betegeknél (utóbbiaknál az AIS-ot követő 6 órán belül, illetve 1 hét múlva; Stroke 1 és Stroke 2). A CD64+ neutrofil sejtek prevalenciájának a változása alapján az immunválasz bifázisos módon változik a korábban fertőzésben nem szenvedő betegeknél (azaz gyulladás, ezt követően immunszuppresszió lép fel). Vízszintes vonal: medián; boks: interkvartilis tartomány; \* $p < 0,05$  vs. kontroll; #  $p < 0,05$  vs. Stroke 1.; suPAR – soluble urokinase plasminogen activator receptor, WBC – fehérvérsejtszám

**5. táblázat:** Gyulladásos paraméterek kontroll személyeknél és akut ischemiás stroke-os betegeknek (utóbbi csoportban az akut stroke-ot követő 6 órán belül (Stroke 1), illetve egy héttel később (Stroke 2) le mérve. Adatok median [Interkvartilis tartomány] formájában szerepelnek. \*  $p < 0,05$  vs. Kontroll, #  $p < 0,05$  vs. Stroke 1. au – arbitrary unit, MFI – mean fluorescence intensity, suPAR – soluble urokinase plasminogen activator receptor

	Kontroll	Stroke 1	Stroke 2
suPAR (ng/mL)	3,62 [3,30-4,91]	5,04 [3,93-6,58] *	4,64 [4,15-6,35] *
C-reaktív protein (mg/L)	2,37 [1,40-3,36]	2,83 [1,98-4,15]	11,48 [9,73-20,52] *#
Fehérvérsejtszám ( $10^9/L$ )	6,38 [5,35-8,58]	7,42 [5,50-8,81]	10,87 [7,85-13,90] *#
Neutrophil ( $10^9/L$ )	4,50 [3,54-5,49]	5,97 [4,11-7,68]	8,10 [5,82-11,75] *#
CD64+/Neutrophil (%)	5,95 [5,41-8,75]	32,38 [9,21-43,9] *	4,06 [1,73-6,77] *#
CD64 MFI/Neutrophil (au)	262 [145-505]	331 [205-528]	258 [93-838]
CD177+/Neutrophil (%)	53,24 [44,10-65,58]	76,95 [47,18-89,7]*	73,46 [44,5-84,3] *
CD177 MFI/Neutrophil (au)	3780 [2112-4859]	5887 [4429-9455]	6208 [3143-6899]
CD64+ D177+/Neutrophil (%)	2,78 [1,71-3,79]	21,30 [0,98-31,58]	0,99 [0,80-1,79] *#
Monocita ( $10^9/L$ )	0,40 [0,38-0,53]	0,45 [0,33-0,68]	0,50 [0,40-0,68]
CD11b+/Monocita (%)	83,50 [68,30-89,03]	84,55 [73,60-91,22]	89,90 [76,08-94,03]
CD64+/ Monocita (%)	31,32 [14,65-56,20]	22,51 [10,00-45,65]	15,29 [5,80-36,34]
CD64 MFI/ Monocita (au)	280 [69-610]	955 [223-1658]	142 [42-365] #
CD177+/ Monocita (%)	26,09 [11,81-40,53]	36,15 [23,8-61,2] *	43,47 [30,5-68,0] *
CD177 MFI/ Monocita (au)	2293 [1378-3625]	4705 [1774-6483]	2492 [1479-3503]
CD64+ CD177+/ Monocita (%)	1,43 [0,65-2,36]	2,50 [0,69-4,21]	1,15 [0,77-1,94]
Limfocita ( $10^9/L$ )	1,49 [0,96-2,25]	1,24 [0,70-1,50]	1,34 [0,53-1,84]
CD4+/ Limfocita (%)	35,41 [27,51-44,17]	9,08 [3,85-23,96] *	22,13 [18,41-41,86] #
CD4+CD25high/CD4+(%)	9,38 [7,52-13,95]	10,46 [9,40-13,13]	14,59 [8,97-18,25]



A stroke epidemiológiai vizsgálatban a 840 kórházi kiíró diagnózis alapján cerebrovasculáris betegként azonosított személy közül 437-nek volt ténylegesen akut stroke-ja (227 VIII. kerületi, 210 XII. kerületi lakos). (10. ábra)



10. ábra: Betegek megoszlása

A két kerület demográfiai jellemzőit az 6. táblázat tartalmazza. A kevésbé gazdag kerület (VIII. kerület) népsűrűsége ötször nagyobb, a jövedelme 43 %-kal kevesebb, mint a gazdagabb XII. kerületben. Az alapellátás hozzáférhetősége – az egy háziiorvosra jutó lakosok száma alapján – hasonló a két kerületben.

Amikor a háziiorvosokat kérdeztük, betegeiket az általuk becsült társadalomgazdasági státusz alapján négy kategóriába kellett sorolniuk (hátrányos – átlagos – átlagfeletti – ismeretlen). A háziiorvosok 406 betegükre tudtak nyilatkozni (hátrányos: n=60; átlagos:

n=155; átlag feletti n= 191). A betegek stroke felléptekori életkora jól egyezett ezzel a becsléssel (61±14, 70±13, 75±11 év a hátrányos, átlagos és átlag feletti szociogazdasági körülményekkel összevetve, p<0,01). Bár ez a becslés szubjektív és a házi orvos benyomásán alapult, így nem lehet megbízható személyes adatként alkalmazni, ezek az adatok mégis támogatják a feltételezésünket, mely szerint az alacsonyabb szociogazdasági státusz szerepet játszhat a stroke fiatalkori felléptében. A VIII. kerületben a stroke fellépte ugyanis 7 évvel koraibb, mint a XII. kerületben.

**6. táblázat:** A VIII-XII. kerületek lakosságának demográfiai jellemzői

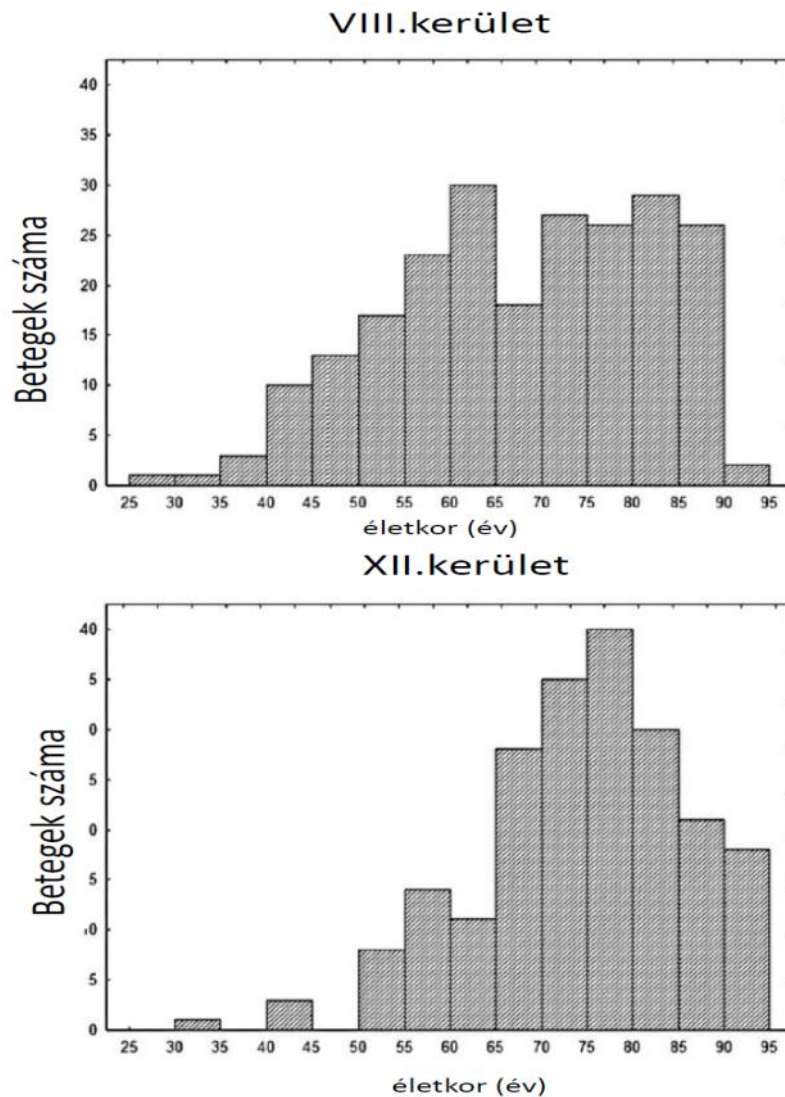
paraméter	VIII. kerület	XII. kerület
lakosság száma	71257	59229
népsűrűség (f /km <sup>2</sup> )	12,003	2120
Havi jövedelem lakosonként (Ft)	85976	153796
A 23 budapesti kerületben a jövedelem alapján a hányadik	23	2
akut stroke esetek 2007-ben	227	210
3 éves case fatality (%)	36.6	31.5
Stroke fellépésének az id pontja (év, átlag ±szórás)	67,2±14,8	74,0±11,4*
Kerületben dolgozó házi orvosok száma (n)	58	54
Egy házi orvosra jutó ellátottak száma	1228	1096

A stroke felléptének id pontja a két kerületben eltér : amíg a gazdagabb XII. kerületben a leggyakoribb 70-85 év között, addig a VIII. kerületben egy további csúcs észlelhető az 55-65 éves lakosok között (**11. ábra**).

A hároméves utánkövetés alapján a case fatality 36.6 % volt a VIII. kerületben és 31.5 % a XII. kerületben (p=0.24). A stroke-ot túlélők életkora jóval alacsonyabb volt a VIII. kerületben, mint a XII.-ben mindkét nem vonatkozásában (férfiak esetén 62.0 ± 14.0 vs 69.9 ± 11.9 év; p < 0.001, nőknél 66.1 ± 15.5 vs 71.1 ± 10.2 év; p = 0.017); amíg nincs különbség a XII. kerületben a férfiak és nők életkora tekintetében (p = 0.5), addig a VIII. kerületben a férfiak életkora alacsonyabb, mint a nőké (p = 0.10).

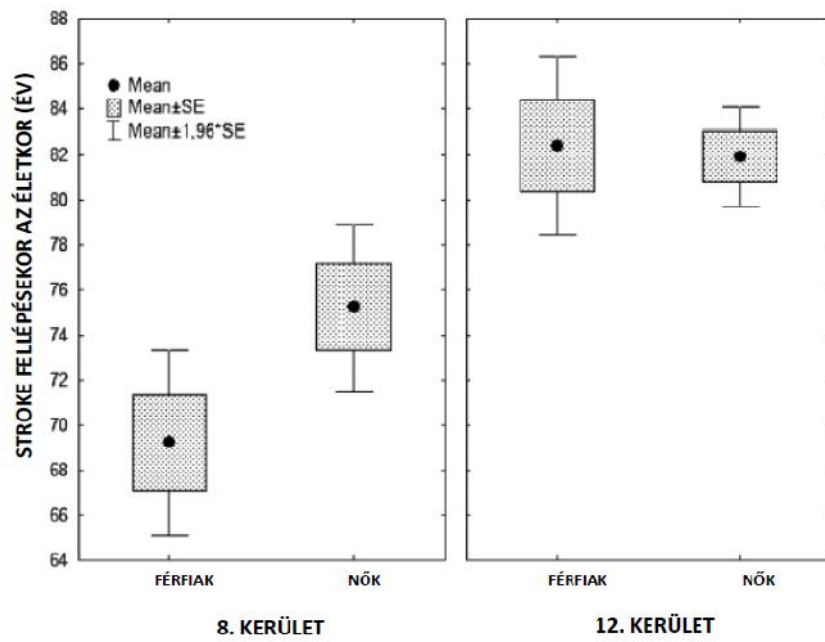
A stroke miatt meghaltak körében mindkét kerületben alacsonyabb volt az életkor a betegség kialakulásakor, mint túlélők esetében. Fatális kimenetel esetén ugyanakkor az életkori megoszlás hasonló volt a túlélőkéhez, vagyis nem volt különbség a nemek között a gazdagabb kerületben (férfiak: 82.4 ± 9.2, nők: 81.9 ± 7.3 év, p = 0.8), miközben a férfiak fiatalabbak voltak, mint a nők a VIII. kerületi stroke-betegek

körében ( $69.2 \pm 13.3$  vs  $75.2 \pm 12.4$  év,  $p = 0.036$ ). Meglepően nagy, több mint 12 év különbség mutatkozott a két kerület között a férfiak körében halálos kimenetel esetén (VIII. kerület:  $69.2 \pm 13.3$ ; XII. kerület:  $82.4 \pm 9.2$  év;  $p < 0.001$ ). (12. ábra).



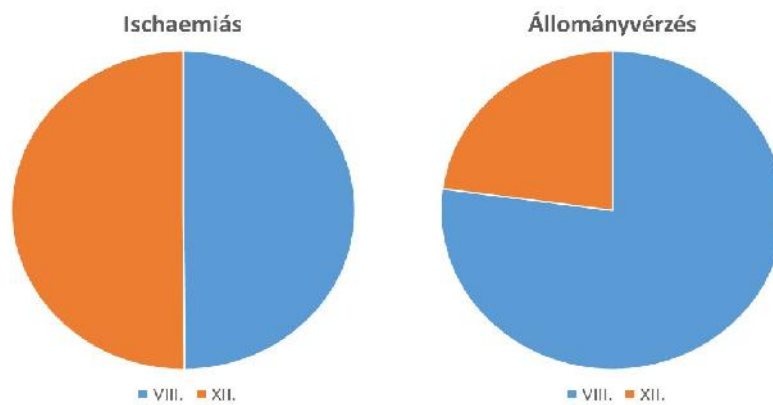
**11. ábra:** A két vizsgált kerületben a stroke-os betegek életkori megoszlása

A stroke miatt meghaltak körében mindkét kerületben alacsonyabb volt az életkor a betegség kialakulásakor, mint túlélők esetében. Fatális kimenetel esetén ugyanakkor az életkori megoszlás hasonló volt a túlélőkéhez, vagyis nem volt különbség a nemek között a gazdagabb kerületben, miközben a férfiak fiatalabbak voltak, mint a nők a VIII. kerületi stroke-betegek körében. Meglepően nagy, több mint 12 év különbség mutatkozott a két kerület között a férfiak körében halálos kimenetel esetén.



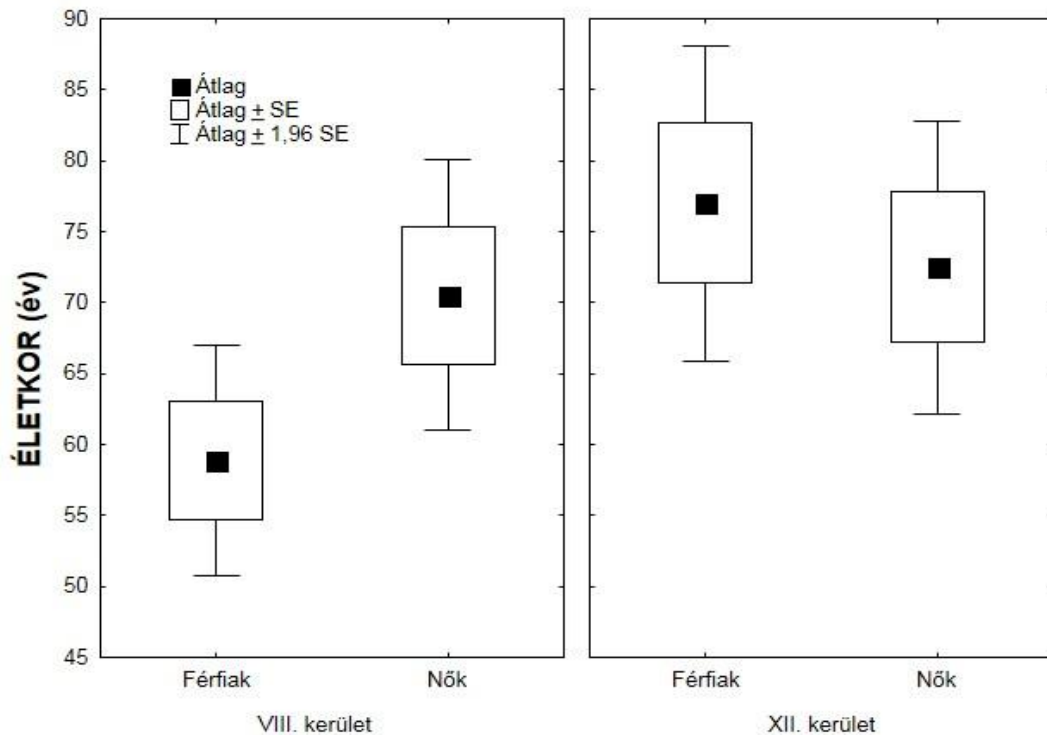
**12. ábra:** Stroke miatt meghaltak életkori megoszlása

27 intracranialis vérzés fordult el a VIII. kerületben és csak 8 a XII. kerületben ( $\chi^2$  teszt,  $p < 0,01$ ) (13. ábra).



**13. ábra:** Az ischaemiás és vérzéses cerebrovascularis kórképek megoszlása a VIII. és XII. kerületben

A VIII. kerületi agyvérzésen átesett betegek 10 évvel fiatalabbak voltak, mint a XII. kerületiek ( $64,5 \pm 17,2$  és  $74,8 \pm 10,4$ ,  $p=0,13$ ) és ez a különbség ismét a szegényebb kerület férfi betegeinek életkori különbségéből adódik (**14. ábra**).



**14. ábra:** Az agyvérzéses betegek életkori megoszlása a VIII. és XII. kerületben

A rizikófaktorok megoszlását a **7. táblázat** mutatja. Hasonlóan a régióra vonatkozó epidemiológiai kutatások eredményéhez, a magas vérnyomás el fordulása egyaránt magas mindkét kerületben és mindkét nemben. A rizikóbetegségek közül egyedül a diabetes különbözik szignifikáns mértékben a két kerületben: a rosszabb anyagi körülmények között él VIII. kerületben el fordulása gyakoribb. Az életmóddal kapcsolatos rizikófaktorok azonban szignifikánsan gyakrabban fordulnak el a stroke-ot elszenvedett VIII. kerületi betegek körében. Miközben a hipertonia el fordulása és a családorvosi ellátottság mértéke hasonló a két kerületben, addig a nem vagy nem rendszeresen kezelt hipertóniások aránya szignifikánsan magasabb a VIII. kerületben. A hipertonia gondozás eredményessége legalább annyira az egészségtudatos életmód, magasabb képzettség mutatója, mint az egészségügyi ellátás színvonaláé.

**7. táblázat:** Hajlamosító betegségek és kockázati faktorok százalékos gyakorisága VIII. és XII. kerületi stroke betegeknél

Kockázati tényez	VIII.ker férfiak	VIII.ker n k	VIII.ker betegek	XII. ker férfiak	XII.ker n k	XII.ker betegek	p VIII.ker vs. XII.ker
Hipertónia	86	82	84	80	87	84	NS
pitvarfibrilláció	15	15	15	18	18	18	NS
egyéb szívbetegség	33	32	32	34	38	36	NS
perifériás ver érbetegség	20	13	16	15	9	11	NS
cukorbetegség	32	19	25	21	14	17	0,04
korábbi stroke/TIA	21	30	26	20	24	22	NS
dohányzás	58	29	43	22	13	17	<0,001
er s dohányzás	26	9	17	6	2	3	<0,001
alkoholizmus	34	6	19	9	2	5	<0,01
nem kontrollált hipertónia	32	18	24	3	7	6	<0,001

*Humánmeteorológiai vizsgálatunk* során a kiválasztott 3 hónapos periódusban 184 beteg került felvételre akut ischaemiás stroke miatt. A betegség fellépte egyenl en oszlott meg az anomáliás és nem anomáliás napok között ( $p = 0,76$ ). A teljes évben az akut agyi infarktus miatt bekövetkezett 81 haláleset közül 35 esett a 3 téli hónapra (január, február és december), mindössze 46 az év további 9 hónapjára: 20 tavasszal, 11 nyáron, 15 sszel következett be. A halottak átlagéletkora  $82 \pm 11$  év volt. Közülük 20 n (átlag életkor  $83 \pm 9$  év) és 15 férfi (átlagéletkor  $80 \pm 14$  év). A halálos kimenetel szignifikánsan gyakoribb volt az anomáliás periódusban ( $p = 0,017$ ): a 35, téli hónapokban bekövetkezett haláleset közül 27 fordult el anomáliás id szakban (**8. táblázat**), míg 8 nem anomáliás id szakban. Bár ok-okozati összefüggés nem bizonyítható, feltételezzük, hogy az anomáliás EPT-nek figyelemre méltó hatása van a stroke halálos kimenetelére: a vizsgált id szakban háromszor magasabb volt a halálozás az anomáliás napokon összehasonlítva a nem anomáliás id szakkal.

**8. táblázat:** Anomáliás napok és akut stroke miatti halálozás 2009 téli hónapjaiban

<b>Jellemz</b>	<b>Érték</b>
Anomáliás periódusok napjainak száma	48,5
A vizsgált id szak napjainak száma	27
Valamennyi haláleset száma a vizsgált id szakban	35
Átlagos halálozási szám az anomáliás napokon	0,56
Átlagos halálozási szám a nem anomáliás napokon	0,19

## 5. MEGBESZÉLÉS

Korábbi vizsgálatok szerint a stroke-ot követő immunszuppresszióban a T limfociták funkciói markánsan megváltoznak. *Elsőként mutattuk ki*, hogy ennek hátterében részben a limfocita-aktivációt kísérő kalciumbeáramlás kinetikájának, illetve a káliumcsatorna működésének az eltérései állhatnak. Eredményeink alapján a perifériás Th2 sejtekre aktivációja AIS betegeknél jellemző; ez a jelenség az akut stroke eseményt követően egy héttel is kimutatható. Ez az eltérés – mivel a gyulladásgátló citokinek fokozott termelésével járhat, illetve a gyulladást egyensúlyt Th2 irányba tolja el – fontos tényező lehet a SIIS kialakulásában.

Li és mtsai (2013) nemrégiben arról számoltak be, hogy az AIS betegek 1. a történetét követően 6 órán belül izolált CD8 sejtek citotoxikus funkciója a kontrollhoz képest csökkent. Feltételezésük szerint ez közrejátszhat a SIIS kialakulásában. Ezen túl a mononukleáris sejtek stimulált és a nem stimulált IFN- és TNF- termelése már 6 órával az eseményt követően csökkent a cerebrális infarktust elszenvedett betegeknél (miközben a CD8 limfociták proliferációs képessége nem csökkent). Ezek az eredmények csak részben egyeznek össze CD8 sejtekre vonatkozó megfigyeléseinkkel. Adataink szerint a Ca<sup>2+</sup> influx csökkenése és az aktivációs készség mérséklődése csupán 1 héttel az akut történet után észlelhető. Feltételezésünk szerint ez a jelenség fontos szerepet játszhat a SIIS kialakulásában. Ezzel egyidejűleg eredményeink azt is felvetik, hogy a CD8 sejtek hamarabb reagálnak az aktivációs stimulusokra, aminek a hátterében talán az ischemias inzultust követően az aktiváló antigénnel szembeni tartósabb expozíció áll.

A Th2 alcsoport esetében az AIS betegeknél észlelt csökkent mértékű Ca<sup>2+</sup> influx oka valószínűleg a Kv1.3 csatorna-expresszió emelkedése lehet, legalábbis erre utal a használt ellenanyag fokozott kötődése alapján észlelt fokozott sejtfelszíni fluoreszcencia-érték. Bár a Kv1.3 csatornák expressziója a CD8 sejteken a Stroke 2 csoportban a Stroke 1 csoporthoz és a kontrollhoz képest emelkedett, a Kv1.3 csatornagátló MGTX erre a limfocita-alcsoportra nem gyakorolt hatást. A csatornaszerkezet megváltozása vagy a Kv1.3 csatornák funkciójának a zavara, esetleg egyéb, a csatornák működését befolyásoló tényezők jelenléte játszhat szerepet ebben a jelenségben.



Eredményeink arra utalnak, hogy a  $Ca^{2+}$  influx kinetika Th2 és CD8 sejtekben való megváltozása fontos szerepet játszhat az AIS-ot követő SIIS kialakulásában. Az akut fázisban (azaz az akut történés utáni néhány órában) a Kv1.3 csatornát szelektíven gátló MGTX adása kedvező terápiás hatást fejthet ki és talán megelőzheti a szöveti sérülés kialakulását – ebben ugyanis a citotoxikus CD8 sejtek Kv1.3-mediált aktivációja központi szerepet játszhat. Az MGTX adása mellett az egyéb T-limfocita alcsoportok funkcióját (pl. a gyulladásgátló Th2 sejtét) a kezelés elméletileg nem befolyásolná. Az akut stroke-t követően egy héttel ezzel szemben az MGTX a Th2 sejtek aktivációját mérsékelné nagy mértékben – ez a SIIS-ben jelenlévő immunuszupprimált állapot megszüntetését idézné elő.

Összességében tehát *kimutattuk, hogy a Kv1.3 limfocita  $K^+$  csatorna gátlás kedvezően modulálhatja a T sejtek aktivációját akut ischémiás stroke-os betegeknél.*

Napjainkban egyre inkább nyilvánvaló, hogy az AIS többszervi érintettséggel jár, amiben az egyik fő mediator az immunrendszer. Míg az AIS betegek többsége a kezdeti központi idegrendszeri károsodást túléli, idővel szövdmények jelentkeznek. A szövdmények közül a leggyakoribbak közé a SIIS tartozik; ennek kialakulása a fertőzések fokozott kockázatával, egyszersmind a hospitalizáció időtartamának a megnövekedésével jár (Davenport és mtsai, 1996). A SIIS a központi idegrendszer regenerációját is lassítja, ezáltal rontja a betegség prognózisát. Ezért vizsgálatunk során arra kerestük a választ, létezik-e olyan gyulladási marker, amely segíthet a SIIS okozta fertőzés kiváltotta gyulladást az AIS okozta akut gyulladási választól elkülöníteni. Ehhez először az AIS után bekövetkező immunválaszt kell jellemezni.

Korábbi vizsgálataink során Emsley és mtsai (2003) arról számoltak be, hogy a CRP szint szignifikánsan nagyobb az AIS betegeknél már a kórházi felvétel időpontjában; illetve, hogy ez az érték magasabb az AIS-t követően 3 hónap során. A CRP szint maximumát az eseményt követően 5 – 7. napon éri el. Hasonlóképp, az össz fehérvérsejt- és neutrofilszám az akut eseményt követően 3 hónapon át emelkedett volt. A laboratóriumi értékek a 12. hónapra normalizálódtak. Hasonló kinetikát észleltek azoknál a betegeknél, akiknél egyértelműen kizárták a fertőzést – habár az eltérések kevésbé voltak kifejezettek (Emsley és mtsai, 2003). A szerzők szerint a stroke-ot követően az

ezen markerek esetében bekövetkez korai szintemelkedés háttérében két lehetséges magyarázat áll. Az első, hogy a stroke nagyon korán gyulladáshoz vezet, ami hosszú időn át fennáll. A második feltételezés szerint az érintetteknek már a stroke-ot megelőzően fennáll olyan gyulladáshoz vezető állapot, ami szerepet játszik a stroke kialakulásában. A korábban fennálló gyulladáshoz vezető állapot koncepcióját támasztja alá az a megfigyelés, hogy az alacsony szintű gyulladáshoz vezető állapot (amit a CRP szint enyhe emelkedése jelez) kockázati tényező a stroke tekintetében (Rost és mtsai, 2001). Ezt azonban vizsgálatunk eredményei nem támasztják alá: mi nem találtunk eltérést a Stroke 1 csoportban, illetve a kontroll csoportban mért CRP-szintek között. Emsley és mtsai beszámolója szerint a felvételi CRP-szint a kontrollhoz képest valamelyest emelkedett (bár a szignifikáns különbség eltűnt, amikor 4 órán túl vettek mintát) (Emsley és mtsai, 2003). Ezért a mi és Emsley vizsgálatának eredményei közötti eltérés háttérében szerepet játszhat az eltérő vérvételi időpont.

Nemrégiben kiderült: az agyi ischémia nemcsak az agyszövet lokális gyulladásával és generalizált gyulladáshoz vezető válaszreakcióval, de a perifériás T-sejtszám drámai csökkenésével és ezt követő fertőzésekkel is jár. Ezért az immunrendszer általános aktivációja mellett stroke-ot követő immunszuppresszióra utaló jelek is megfigyelhetők. Vogelgesang és mtsai vizsgálatának eredményei arra utalnak, hogy a stroke drámai és azonnali csökkenést idéz elő a T limfociták számában, ami a legkifejezettebben a stroke fellépését követő 12 órán belül jelentkezik. A későbbi fertőzésekben szenvedőknél a CD4+ T limfocita számok normalizálódása késik. Feltételezésük szerint ez a jelenség a SIIS kialakulásában szerepet játszik. A fentiek alapján felmerült, hogy a stroke napján meghatározott CD4+ T-sejtszám előre jelezheti a stroke-ot követő fertőzéseket (Vogelgesang és mtsai, 2008). Megfigyeléseinket eredményeink is alátámasztják, mi is az AIS-t követő 6 órában csökkent, illetve infekciómentes betegeinknél egy hét múlva normalizálódott CD4+ T-sejtszámot mértünk.

Yan és mtsai felvetették, hogy a SIIS kialakulásában az immunregulátoros sejtek, elsősorban a regulátoros T-sejtek fokozott aktivitása is szerepet játszik. Kimutatták, hogy a FoxP3+ regulátoros T-sejtek százalékos aránya szignifikánsan nő az akut stroke utáni 7. naptól az AIS-os betegeknél (Yan és mtsai, 2009). Bár a CD4+ CD25high Treg-sejtek prevalenciája az általunk vizsgált csoportokban szignifikánsan nem különbözött, megfigyeltünk egy olyan tendenciát, hogy a második időpontban mintha magasabbak

lennének a Treg sejt prevalencia értékek. A mi, illetve Yan és mtsai eredményei közötti eltérés magyarázata az lehet, hogy a Treg sejtek kimutatására eltér markereket használtunk (mi a Treg sejteket CD4+ CD25high sejtekként definiáltuk, a FoxP3 markert nem vizsgáltuk), illetve, hogy a stroke súlyossága is eltér volt a két vizsgálatban. Amíg Yan és mtsai vizsgálatában viszonylag enyhe volt a stroke (a NIHSS átlagos pontérték 3,6 volt, ami minor stroke-nak felel meg), addig a mi vizsgálatunkban a betegek többségénél súlyos állapot alakult ki már 6 órán belül (a módosított Rankin pontérték átlagosan 4 volt).

A suPAR esetében ismert, hogy a stroke-os betegek szérumban szintje magasabb (Garcia-Monco és mtsai, 2002). Eredményeink alapján mi is magas suPAR szintet mértünk az AIS utáni első hat órában. A suPAR szint emelkedése a CRP, a fehérvérsejt és a neutrofil sejtszámok emelkedését is meghaladta. Ezért a suPAR a központi idegrendszeri inzultussal kapcsolatos gyulladásos választ a többi markerhez képest korábban jelzi. Az uPAR-t expresszáló CD177+ neutrophil és monocita sejtek prevalenciájának az emelkedése is arra utal, hogy ezek a sejtek hajlamosabbak az extravazációra és a lézióba való infiltrációra az akut eseményt követően 6 órán belül, illetve egy héttel később. A CD177 MFI értékek nem változtak, ami azt jelzi, hogy sejtenként a receptorok mennyiség konstans lehet. Érdekes módon nem észleltünk kapcsolatot a szérumban suPAR szintek és a neutrofil vagy monocita CD177 expresszió között egyik vizsgált csoportban sem. Furlan és mtsai úgy vélik, hogy a suPAR gátolja az uPAR-dependens adhéziót, mivel verseng a sejtfelszínen levő uPAR-ral az integrin és a vitronectin molekulákhoz való kötődésért (Furlan és mtsai, 2004). Ez a versengés szabályozhatja az uPAR expressziót, illetve a fehérje membránkötött formájának a lehasadását.

A neutrofil granulociták FcγRI (CD64) antigént csak aktivált állapotban expresszálják. Expressziója ezért bakteriális fertőzésben nem; szepszis diagnosztikus markereként is egyre gyakrabban használják (Choo és mtsai, 2012). A CD64+ neutrophil és monocitaszám diagnosztikus célú meghatározására áramlási citometriás kitételeket is kidolgoztak (Gerrits és mtsai, 2012). Eredményeink alapján a CD64+ neutrophil sejtek prevalenciája az AIS-t követően 6 órán belül emelkedik, majd 1 hét múlva a kontroll érték alá csökken. Ez egyértelműen jelzi az AIS-ra jellemző bifázisos (gyulladást követően immunszuppresszió) immunválaszt. Fertőzés esetén a CD64+ neutrophil sejtek

prevalenciája valószínűleg ismét emelkedik. A CD64+ neutrofil sejtek száma ebből a szempontból a többi vizsgált paramétertől eltérően változik. A neutrofil sejtekkel szemben hasonló változást a CD64+ monociták esetében nem észleltünk (habár a CD64 MFI értéke a stroke-ot követő egy hét múlva csökkent).

Vizsgálatunkban tehát kimutattuk, hogy a CD64+ neutrofil sejtek száma tükrözi AIS betegeknél az immunológiai változásokat. Mivel fertőzésben nem szenvedő betegeknél a stroke-ot követő egy hétben a kontroll érték alá csökken a CD64+ neutrofil sejtek száma, valószínűleg – mivel fertőzésben számuk emelkedik – ez a parameter alkalmas lehet a fertőző eredetű gyulladásos állapotok korai azonosítására AIS betegeknél.

A jelentősen eltérő szocio-kulturális körülmények között élő VIII. és XII. kerületi stroke-betegekkel kapcsolatban végzett epidemiológiai vizsgálatunkban több fontos megfigyelést tettünk. Leírtuk, hogy a stroke-események 7 évvel korábban következnek be a rosszabb gazdasági körülményekkel rendelkező kerületben; a különbség 10 év férfiaknál és több, mint 12 év férfiak esetén halálos kimenetelű stroke-ban. Mind a túlélők, mind az elhalálozottak alacsonyabb életkora a VIII. kerületben mind két nemre vonatkozott. A férfiak fiatalabbak voltak a szegényebb kerületben túlélőkben, az elhalálozottak körében is. Ezzel ellentétben a gazdagabb kerületben nem volt életkori differencia a nemek között sem a túlélők, sem az elhunytak körében. Az állományvérzés nemcsak gyakoribb volt a VIII. kerületben, hanem ezek a betegek 10 évvel fiatalabbak is és ez itt is a férfiakra jellemző. A stroke-rizikót jelentő társbetegségek előfordulása mindkét kerületben hasonló, de az életmóddal kapcsolatos kockázati tényezők gyakoribbak a rosszabb gazdasági körülményeket biztosító kerületben. Végül, szemben a korábbi hipotézissel, mely szerint nagyobb populáció vizsgálata szükséges az életszínvonal és az egészségi állapot összevetésére (Kondo és Mitsui, 2012), megállapítottuk: a stroke-kal kapcsolatos különbségek vizsgálatára elegendő egy adott városban belül relatív kis lélekszám vizsgálata is.

Az életszínvonal és a stroke jellemzők közötti összefüggést számtalan tényező határozza meg: az iskolai végzettség, a személyes és az egy háztartásra jutó jövedelem, a munkanélküliség aránya, a foglalkozás, a szociális ellátás színvonala, stb. Ezeknek a tényezőknek az értékeléséhez a betegek és a családok bevonása szükséges interjú

céljából. Ezeknek az adatoknak a megszerzése azonban nem lehetséges, ha anonim kórházi zárójelentések alapján valósul meg az epidemiológiai vizsgálat. Régiós összevetésre az ottani átlagos jövedelem alkalmazása általános. Ezért használtuk a két kerület jövedelmi adatait vizsgálatunkban. Bár az adott terület alapú háztartási jövedelem kevéssé korrelál az önbevallással közölttel, mindkét érték megbízhatónak bizonyult kardiológiai betegségek vizsgálata esetén (Southern és mtsai, 2005). Területek közötti jelentős jövedelemkülönbség alapján végzett vizsgálatot Hanley és Morgan (2008) ugyanúgy, mint azt mi saját vizsgálatunkban tettük. A házi orvosok által becsült társadalomgazdasági státusz és a betegek stroke felléptekori életkora jól egyezett ezzel a becsléssel. Annak ellenére, hogy a becslés szubjektív volt és a házi orvos benyomásán alapult, ezek az adatok mégis támogatják azt, hogy az alacsonyabb szociogazdasági státusz szerepet játszhat a stroke fiatalkori felléptében.

Más országok stroke-adatbázisából származó adatok már jelezték az életszínvonal hatását a kórképre: alacsonyabb szociogazdasági adottságú országokban a stroke alacsonyabb életkorban jelentkezik. Így például a nigériai stroke-adatbázis szerint az átlagéletkor 57 év (Gbiri és Akinpelu, 2012), 68 év Magyarországon (Bereczki és mtsai, 2010), 70 év a norvégiai Bergenben (Sand és mtsai, 2012), 71.4 év Finnországban (Meretoja és mtsai, 2010) és 73 év Kanadában (Grimaud és mtsai, 2011). Ezek a stroke felléptekori életkori értékek tükrözik a társadalom általános egészségi állapotát, az adott ország születés kori várható élettartamát: Nigéria: 54; Egyiptom, Jordánia: 71; Magyarország: 74; Norvégia: 81; Finnország: 80; Kanada: 81 év (WHO, 2012). A magasabb jövedelemmel párhuzamos jobb egészségi állapot általános tendenciája megfigyelhető kisebb lakóközösségek esetében is, mint amit saját vizsgálatunk megerősített: egy városon belüli elemzés esetén.

Az állományvérzések gyakrabban és fiatalabb életkorban jelentkeznek Sposato és Saposnik alacsonyan fejlett országokra vonatkozó összefoglaló tanulmánya szerint (Sposato és Saposnik, 2012). A tanulmány következtetése nemzetközi szinten is ugyanaz, mint saját vizsgálatunk kisebb régióra vonatkozó eredményei.

A hátrányos társadalmi-gazdasági státusznak nagyobb a kedvezőtlen egészségügyi hatása férfiakban, mint nőkben. Steenland és mtsai (2004) négy különböző szintű társadalmi-gazdasági státuszba sorolt személyeket vettek össze, és a legkedvezőbb helyzetben levő nők között képest 1,53-szoros, míg a férfiakhoz 2,25-szoros stroke

mortalitását találták a legalacsonyabb életszínvonalúaknál. Saját vizsgálatunkban néhány rizikófaktornak a gyakoribb el fordulása lehet felel s a férfiak nagyobb megbetegedési hajlamáért. A magyar kultúrkörben a férfiak feladata a család anyagi háttérének megteremtése. A károsodásból következ inszufficiencia-érzés frusztrációt okoz a férfiakban és depresszióhoz, széls séges alkoholfogyasztáshoz, nagy mérték dohányzáshoz vezet, mely így a stroke kockázatot növeli a fiatal férfi populációban.

Érdekes módon a két kerület eltér stroke jellemz i ellenére nem találtunk különbséget a case fatality indexben. Egy olasz vizsgálat (Cesaroni és mtsai, 2009) szintén nem talált erre a mutatóra vonatkozó hatást a társadalmi-gazdasági helyzet alapján. Olaszországhoz hasonlóan Magyarországon szintén általános egészségügyi ellátórendszer m ködik, mely a társadalom egésze számára biztosít egészségbiztosítást. Ez azt jelenti, hogy Budapest mindkét kerületében egyenl formában elérhet az egészségügyi ellátás, melyet az egy háziiorvosra jutó ellátandó lakosság szám is mutat. Bár a lehet ség adott, az egészségügyi ellátás igénybevétele eltér a két vizsgált kerületben: szignifikánsan magasabb a nem kezelt hipertóniások aránya a szegényebb nyolcadik kerületben. A kedvez tlen társadalmi-gazdasági környezet eredményezi a hátrányosabb helyzet kerületben a stroke felléptének korábbra kerülését.

A szegényebb nyolcadik kerület kedvez tlenebb adatai részben vagy egészben magyarázhatók az életformával kapcsolatos rizikófaktorok jelent sen gyakoribb el fordulásával azok között, akik hátrányos társadalmi-gazdasági körülmények között élnek. A stroke rizikófaktorok közül mindössze a diabétesz volt gyakoribb a szegény kerületben – ez hasonlít egy londoni vizsgálat eredményéhez (Stringhini és mtsai, 2012). Amennyiben az egy háziiorvosra jutó lakosság szám valós indikátora az alapellátás színvonalának, akkor ez nem lehet felel s a különbségekért, miután ez a mutató nem tér el egymástól a nyolcadik és a tizenkettedik kerületben. Magyarországon az egészségügyi ellátórendszer egységes, mely azt jelenti az ország teljes lakossága egyaránt biztosított az OEP-nél. Ez tükröz dik a vizsgálatunkban a tekintetben, hogy szignifikánsan nagyobb a nem megfelelő en kezelt hipertóniások aránya a szegényebb kerületben. Számos közlemény a szokványos vaszkuláris rizikófaktorok multivariációs analízise során azt találta, hogy a szegénység er s és független rizikófaktor, mely körülbelül egyharmadát magyarázzák azoknak a különbségeknek, melyek a szegényebb

és gazdagabb országok eltér társadalmi-gazdasági adottságaiból adódnak (Johnston és mtsai, 2009, Liao és mtsai, 2009, Lavados és mtsai, 2011).

Kutatásunknak több tényező szabott határt. Az első, hogy a betegek adatait kórházi zárójelentésük alapján rögzítettük, így elveszítettük a kórházba nem került stroke betegeket. Bár a háziorvosi vizitek során feltettük azt a kérdést, hogy ismernek-e az OEP adatbázisában nem szereplő stroke betegeket, néhány beteg biztosan nem került bele az anyagunkba. Miután Magyarországon a stroke-ellátás szokott gyakorlata a kórházi kezelés, és az egységes ellátás miatt finanszírozási korlátja sincs ennek, nem gondoljuk, hogy a nem kórházban kezelt stroke-betegek alapvetően torzítják eredményeinket, következtetéseinket.

Vizsgálatunk epidemiológiai felmérés volt beteggel és családjával való közvetlen kapcsolatfelvétel nélkül, alapvetően információk – például a rizikófaktorokra vonatkozóan – elveszhettek. Emiatt választottuk a kapcsolat létrehozását a háziorvosokkal, és ez a betegek dokumentációján alapult, melynek révén egyéni adatokat tudtunk nyerni az anonimitás fenntartása mellett. Ezek az adatok viszont a háziorvosok becslésére támaszkodtak és ezeket nem lehetett párhuzamosan ellenőrizni a vizsgálati modellben. A háziorvosok becslésének megbízhatóságát ugyanakkor támogatta az a tény, hogy betegek társadalmi-gazdasági státusz alapján történő besorolása – a két kerület valamennyi betegének összegzett értékelése után – hasonló következtetés levonását tette lehetővé a stroke felléptekori életkor és a szegénység mértéke között.

*Vizsgálatunk eredménye az, hogy lakossági felmérésen alapul.* Fontos az is, hogy az általános epidemiológiai vizsgálatokhoz képest *kiegészítésként személyesen kapcsolatfelvétel történt a két kerület háziorvosaival*, és ellenőrizni tudtuk a zárójelentésekben foglalt diagnózist és az akut stroke miatti valószínű kezelést. Ez a módszer *lehetővé tette a jelentős számú téves stroke diagnózisú zárójelentések kiszűrését és a vizsgálatból való kizárását* (Stegmayr és Asplund, 1992).

A szegényebb kerületben tehát a stroke események több évvel korábban jelentkeznek és ez a hatás nagyobb férfiakban halálos kimenetel esetén; az állományvérzés gyakoribb és a fiatalabb életkorban alakul ki; a vaszkuláris rizikófaktorok aránya hasonló, miközben jelentős a különbség az életmódra visszavezethető kockázati tényezők között. Bár az egészségügyi ellátórendszer egységesen elérhető, az elsődleges prevenció, különösen a vérnyomás ellenőrzése kevésbé eredményes a szegényebb környezetben.

Arra a következtetésre jutottunk, hogy *az életkörülménynek erős hatása van a stroke kialakulására, annak jellemzőire, és ezek a különbségek nemcsak nemzetközi összehasonlításban, hanem kisebb régiók szintjén is megjelennek. A nemzeti stroke prevenció programoknak ezért különös hangsúlyt kell kapniuk a szegényebb lakóköznyezetben él férfiak esetében.* Ezeknek az akcióknak három céljuk kell legyen: csökkenteni a súlyos dohányzást, az alkoholfüggőséget és biztosítani kell a magas vérnyomás rendszeres ellenőrzését, kezelését.

*Humánmeteorológiai kutatásunkban a nyilvánosság számára is hozzáférhető meteorológiai adatok és egy kórházi stroke centrumban akut ischaemiás cerebrovascularis esemény miatt elhunyt betegek adatainak elemzése révén definiáltunk és munkánkban bemutattunk egy meteorológiai paramétert, az anomáliás ekvivalens potenciális hőmérsékletet, vagyis az EPT-t, mely változást, illetve az átlagtól való eltérést jelez, nem abszolút értéket mutat. Más célokra már régebb óta használják a meteorológiában, így viszonylag jól ismert és megfelelő pontossággal előre jelezhető. A kutatás kimutatta, hogy a paraméter bizonyos mintázatú időbeli viselkedése komoly befolyással van az ischaemiás stroke esetek bekövetkezésére és lefolyására. Azt találtuk, hogy a stroke-eredet halálozás háromszor gyakrabban fordult elő téli időszakban anomáliás EPT esetén, ezért ez a légköri folyamat – magas vertikális EPT szint anomáliás viselkedése – klinikai jelentőségű lehet.*

A stroke komplex és multifaktoriális betegségnek tartható különböző geográfiai jellemzővel. A több mint 300 lehetséges rizikófaktor között a meteorológiai tényezők (pl. a levegő hőmérséklete, a légnyomás és a légszennyezettség) szerepét is feltételezik, bár ezek nem minden vizsgált és bizonyított kórokok. A meteorológiai tényező változékonysága legalább annyira fontos, mint az abszolút értékük (McArthur és mtsai, 2010). A légnyomás változása a vérnyomás változásához vezet, és elsősorban a vérzéses kórképekkel mutat kapcsolatot, míg ischaemiás stroke esetében negatív korrelációt mutat (Jiminez-Conde és mtsai, 2008). A légszennyezettség (CO - szénmonoxid, O<sub>3</sub> - ózon, NO<sub>2</sub> - nitrogén-dioxid, SO<sub>2</sub> - kén-dioxid, PM<sub>2,5</sub> és PM<sub>10</sub>) mutat ugyan statisztikai szignifikanciát a cardiovascularis és cerebrovascularis eseményekkel, azonban ez nem olyan mértékű, melyre egy ellátó rendszer kapacitását tervezni lehetne



(Hong és mtsai, 2002; Kettunen és mtsai,2007; Samet és mtsai, 2000, Katsouyanni és mtsai, 2001, Folyovich és mtsai, 2013a, b).

A nyári h hullámok megemelik a teljes, így a keringési zavar okozta halálozást (Huynenés mtsai, 2001, Robine és mtsai,2005). Összeurópai nagy epidemiológiai vizsgálatban er s összefüggést találtak a valamennyi betegségre vonatkozó mortalitás és a megemelked küls h mérséklet között, különösen az id sebbek körében (Diaz és mtsai, 2002). A meteorológiai frontok szerepe is meggy z , de nem betegellátást befolyásoló mérték (Folyovich és mtsai, 2014). A hideg téli évszakok szignifikánsan ugyan megemelik a halálozást, ez azonban nem 1-1 kiemelt napra vonatkozik (Azevedo és mtsai,1995). Saját korábbi vizsgálataink is azt támasztották alá, hogy *az eddig vizsgált meteorológiai paraméterek nem alkalmasak jelent s hatással bíró kritikus id szakok meghatározására* (Folyovich és mtsai, 2013a,b). *A most felkutatott paraméter ezért bír nagy jelent séggel. Az er s korreláció minden korábbinál hasznosabb eszköz lehet a betegellátási kapacitás akár több napos tervezésében.*

Vizsgálatunknak ugyanakkor több korlátja van: a betegek száma alacsony, ezért csak el zetes eredményként értékelhet . Nagyobb betegszám és prospektív megfigyelés szükséges valós hasznának igazolásához. A vizsgált id szak rövid és csak téli hónapokat ölel fel. Tekintettel arra, hogy más hónapokban igen alacsony volt a halálozás, ezért más id szak elemzése nem volt lehetséges. Az anomáliás id szak fogalmának meghatározása önkényes volt, validálása nem történt meg más körülmények között. Vizsgálatunk azt sugallja, hogy *az ekvivalens potenciális h mérséklet kapcsolatban lehet az akut ischaemiás stroke-ot szenvedettek halálozásával.* Amennyiben ezt a feltételezést nagyobb vizsgálatok alátámasztják, akkor *hasznos eszközt nyerhetünk az akut stroke-betegek ellátásnak rövid távú megszervezéséhez.*

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az akut ischaemias stroke nem csak a központi idegrendszer betegsége. Szövdménye különböző gyulladás lehet, mely növelheti a betegség idejét, rontja a kimenetelt. A perifériás immunrendszerre kétfázisos hatást gyakorol. A korai fázist a helyi és generalizált gyulladásos reakció jellemzi, melyet szisztémás immunszuppresszió követ; ez a stroke-indukálta immunszuppresszió. Az akut stroke-ban bekövetkező sejtkárosodásban a T limfociták aktivációja szerepet játszik. Elindítója, hogy a sejtbe kalcium áramlik. Az ionegyensúly fennmaradása érdekében a sejt káliumot távolít el. A káliumcsatornák gátlásával a kalciumbeáramlás, ezen keresztül pedig a T limfociták aktivációja csökkenthető. Munkánkban bizonyítottuk, hogy SIIS esetében megváltozott a Th2 és CD8 limfocita csoportok kalciumbeáramlási kinetikája, amit a K-csatorna blokkolásával normalizálni lehet, így a Kv1.3 csatornák gátlása terápiás célpont lehet. Kerestünk olyan gyulladásos laboratóriumi markert, amely alkalmas a korai, központi idegrendszeri károsodás okozta és a későbbi, fertőzés miatt kialakuló gyulladásos válasz elkülönítésére. A CD64+ neutrofilok prevalenciája tényleg erre a legalkalmasabbnak. A stroke-betegek körülményeit és a betegség 3 éves kimenetelét vizsgáló munkánkban bizonyítottuk, hogy a stroke-események 7 évvel korábban következtek be a rosszabb szociális helyzetben élőkénél; ebben a körben a különbség férfiaknál 10 év, halálos kimenetelnél 12 év. Az ok az életmóddal kapcsolatos kockázati tényezők gyakorisága. Humánmeteorológiai vizsgálatunk során AIS-ra, annak kimenetelére hatással levő meteorológiai paramétert definiáltunk. Igazoltuk, hogy a stroke-eredetű halálozás háromszor gyakrabban fordult elő téli időszakban anomáliás ekvivalens potenciális hőmérsékletet (EPT) esetén, ezért ez a légköri folyamat klinikai jelentőségű lehet.

## 7. SUMMARY

Data from the literature support that acute stroke has an impact on peripheral immune status. Early phase is characterized by a local then generalized inflammatory response accompanied by the extensive production of inflammatory agents and cerebral extravasation of peripheral lymphocytes. The early inflammatory phase is followed by systemic immune suppression developing within a few days after focal damage; this is termed as stroke-induced immune suppression (SIIS). Our goals were to characterize the potassium channels of lymphocytes in acute stroke patients and identification of an inflammatory marker that is suitable for the differentiation between inflammation induced by the early nervous system damage and that caused by infection in the later phase. Different lymphocyte subsets are activated in a different manner, when measured at two different time points following AIS. The selective inhibition of Kv1.3 potassium channels may normalize the abnormal lymphocyte activation following stroke. The measurement of CD64+ neutrophil granulocyte prevalence may support the differentiation of inflammation caused by the ischemic attack and that induced by later infection. Our stroke epidemiological study proves that living conditions have a major effect on stroke risk and characteristics. The adverse effect of poor socioeconomic status is also detected when different districts within the same city are investigated. Stroke events occur earlier in the poorer district; this effect is pronounced in men with fatal outcome. The prevalence of lifestyle risk factor differs significantly, particularly blood pressure control is less effective in poorer populations. In our human meteorological study we defined the anomalous equivalent potential temperature (EPT). Stroke-related mortality is three times higher during winter days with anomalous EPT.

**8. IRODALOMJEGYZÉK**

Abdulla, K., & Taka, M. (1988): Climatic effects on blood pressure in normotensive and hypertensive subjects. *Postgraduate Medical Journal* 64(747), 23–26.

A cerebrovaszkuláris betegségek diagnosztikája és kezelése, Finanszírozási protokoll háttéranyaga Országos Egészségbiztosítási Pénztár Elemzési, Orvosszakértői és Szakmai Ellenőrzési Főosztály, Budapest, 2011. április 30,

Aho, K., Harmsen, P., Hatano, S., Marquardsen, J., Smirnov, V.E., Strasser, T.: Cerebrovascular disease in the community (1980): results of a who collaborative study. *Bulletin of the World Health Organization* 58:113–130

Ajtay, A., Oberfrank, F., Bereczki, D. (2015): A kórházi adatlapok jelentéseinek alkalmazhatósága epidemiológiai elemzésekre az ischaemiás cerebrovaszkuláris betegségek példája alapján. *Orvosi Hetilap* 156:1540-1546.

Azevedo, E., Ribeiro, J.A., Lopes, F., Martins, R., Barros, H. (1995): Cold: a risk factor for stroke? *Journal of Neurology* 242:217–221.

Barth, E., Fischer, G., Schneider, E.M., Wollmeyer, J., Georgieff, M., Weiss, M. (2001): Differences in the expression of CD64 and mCD14 on polymorphonuclear cells and on monocytes in patients with septic shock. *Cytokine* 14:299-302.

Beeton, C., Wulff, H., Barbaria, J., Clot-Faybesse, O., Pennington, M., Bernard, D., Chalan, M.D., Chandy, K.G., Béraud, E. (2001): Selective blockade of T lymphocyte K(+) channels ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis, a model for multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 13942-13947.

Beeton, C., Wulff, H., Standifer, N.E., Azam, P., Mullen, K.M., Pennington, M.W., Kolski-Andreaco, A., Wei, E., Grino, A., Counts, D.R., Wang, P.H., LeeHealey, C.J., S.Andrews, B., Sankaranarayanan, A., Homerick, D., Roeck, W.W., Tehranzadeh, J., Stanhope, K.L., Zimin, P., Havel, P.J., Griffey, S., Knaus, H.G., Nepom, G.T., Gutman, G.A., Calabresi, P.A., Chandy, K.G. (2006): Kv1.3 channels are a therapeutic target for T cell-mediated autoimmune diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:17414-17419.

- Behrendt, N., Stephens, R.W. (1998): The urokinase receptor. *Fibrinolysis and proteolysis* 12:191–204.
- Bereczki, D., Mihálka, L., Fekete, I., Valikovics, A., Csépany, T., Fülesdi, B., Bajkó, Z., Szekeres, C., Fekete, K., Csiba, L. (2009): The Debrecen Stroke Database: demographic characteristics, risk factors, stroke severity and outcome in 8088 consecutive hospitalized patients with acute cerebrovascular disease. *International Journal of Stroke* 4:335–339.
- Bereczki, D., Ajtay, A. (2011): Neurológia 2009: helyzetfelmérés a magyarországi neurológiai kapacitásokról, azok kihasználtságáról és a szakorvosokról a 2009-es intézményi jelentések alapján. *Clinical Neuroscience/Ideggyógyászati Szemle* 64:173-185.
- Bereczki, D., Ajtay, A. (2014): A feasibility study to establish a national registry of neurological diseases in Hungary based on reimbursement databases—stroke as an example. *European Journal of Neurology* 21(Suppl 1):532
- Blasi, F. (1997): uPA, uPAR, PAI-1: key intersection of proteolytic, adhesive and chemotactic highways? *Immunology Today* 18, 415-417.
- Bolton, D. (1980): The computation of equivalent potential temperature. *Monthly Weather Review* 108:1046–1053.
- Bonita, R., Beaglehole, R. (1988): Modification of Rankin scale: recovery of motor function after stroke. *Stroke* 19:1497–1500,
- Bowlby, M.R., Fadool, D.A., Holmes, T.C., Levitan, I.B. (1997): Modulation of the Kv1.3 potassium channel by receptor tyrosine kinases. *The Journal of General Physiology* 110:601-610
- Boysen, G., Christensen, H. (2001): Stroke severity determines body temperature in acute stroke. *Stroke* 32:413–417.
- Cabral, N.L., Longo, A, Moro, C., Ferst, P., Oliveira F.B., Vieira, C.V. (2011): Education level explains differences in stroke incidence among city districts in Joinville, Brazil: a three-year population-based study. *Neuroepidemiology* 36:258–264
- Cai, Y.C., Osborne, P.B., North, R.A., Dooley, D.C., Douglass, J. (1992): Characterization and functional expression of genomic DNA encoding the human lymphocyte type n potassium channel. *DNA and Cell Biology* 11:163-172.

- Chandy, K.G. (1991): Simplified gene nomenclature [letter]. *Nature*. 352:26.
- Cesaroni, G., Agabiti, N., Forastiere, F., Perucci, C.A. (2009): Socioeconomic differences in stroke incidence and prognosis under a universal healthcare system. *Stroke* 40:2812–2819
- Chamorro, A., Vila, N., Ascaso, C., Saiz, A., Montalvo, J., Alonso, P., Tolosa, E. (1995): Early prediction of stroke severity: role of the erythrocyte sedimentation rate. *Stroke* 26:573-576.
- Chamorro, A., Urra, X., Plana, A.M. (2007): Infection after acute ischemic stroke. A manifestation of brain-induced immunodepression. *Stroke* 38:1097–1103.
- Chen, P.L., Kuo, T.B., Yang, C.C. (2012): Parasympathetic activity correlates with early outcome in patients with large artery atherosclerotic stroke. *Journal of the Neurological Sciences* 314(1-2), 57–61.
- Chen, R., Wang, C., Meng, X., Chen, H., Thach, T.Q., Wong, C.M., Kan, H. (2013): Both low and high temperature may increase the risk of stroke mortality. *Neurology* 81(12), 1064–1070,
- CID Cég-Info Direkt Marketing Kft (2011): Income and consumption index for 2010, <http://www.cid.hu>. Accessed 3 Jan 2013
- Cox, A.M., McKeivitt, C., Rudd, A.G., Wolfe, C.D. (2006): Socioeconomic status and stroke. *Lancet Neurology* 5:181–188
- Daniel, K., Wolfe, C.D., Busch, M.A., McKeivitt, C. (2009): What are the social consequences of stroke for working-aged adults? A systematic review. *Stroke* 40:e431.
- Davenport, R.J., Dennis, M.S., Wellwood, I., Warlow, C.P. (1996): Complications after acute stroke. *Stroke* 27: 415-420,
- Davì, G., Tuttolomondo, A., Santilli, F., Basili, S., Ferrante, E., Di Raimondo, D., Pinto, A., Licata, G. (2009): CD40 ligand and MCP-1 as predictors of cardiovascular events in diabetic patients with stroke. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 16:707–713.
- den Hertog, H.M., van derWorp, H.B., van Gemert, H. M., Algra, A., Kappelle, L.J., van Gijn, J., Koudstaal, P.J., Dippel, D.W. (2011): An early rise in body temperature is related to unfavorable outcome after stroke: data from the PAIS study. *Journal of Neurology* 258(2), 302–307.

- Danø, K., Behrendt, N., Brünner, N., Ellis, V., Ploug, M., Pyke, C. (1994): The urokinase receptor. Protein structure and role in plasminogen activation and cancer invasion. *Fibrinolysis* 8:189–203.
- Deutsch, C., Lee, S.C. (1989): Modulation of K<sup>+</sup> currents in human lymphocytes by pH. *Journal of Physiology Physiol (London)* 413:399-413.
- Diaz, J., Jordan, J., Garcia, R., Lopez, C., Alberdi, J.C., Hernandez, E., Otero, A. (2002): Heat waves in Madrid 1986-1997: effects on the health of the elderly. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 75:163–170
- Dolmetsch, R.E, Xu, K, Lewis, R.S. (1998): Calcium oscillations increase the efficiency and specificity of gene expression. *Nature Neuroscience* 392:933-936.
- Donnan, G.A., Fisher, M., Macleod, M., Davis, S.M. (2008): Stroke. *The Lancet* 371:1612–1623.
- Doyle, D.A., Morais, C.J., Pfuetzner, R.A., Kuo, A., Gulbis, J.M., Cohen, S.L., Chait, B.T., MacKinnon, R. (1998): The structure of the potassium channel: molecular basis of K<sup>+</sup> conduction and selectivity *Science* 280:69-77.
- Emsley, H.C., Smith, C.J., Gavin, C.M., Georgiou, R.F., Vail, A., Barberan, E.M., Hallenbeck, J.M., del Zoppo, G.J., Rothwell, N.J., Tyrrell, P.J., Hopkins, S.J. (2003): An early and sustained peripheral inflammatory response in acute ischaemic stroke: relationships with infection and atherosclerosis. *Journal of Neuroimmunology* 139:93–101.
- European Health for All database (HFA-DB). URL: <http://www.euro.who.int/en/data-and-evidence/databases/european-health-for-all-database-hfa-db>. Accessed 7 December 2014
- Fanger, C.M., Ghanshani, S., Logsdon, N.J., Rauer, H., Kalman, K., Zhou, J., Beckingham, K., Chandy, K.G., Cahalan, M.D., Aiyar, J. (1999): Calmodulin mediates calciumdependent activation of the intermediate conductance K<sub>Ca</sub> channel, IK<sub>Ca</sub>1. *Journal of Biological Chemistry* 274:5746-5754.
- Fanger, C.M., Rauer, H., Neben, A.L., Miller, M.J., Wulff, H., Rosa, J.C., Ganellin, C.R., Chandy, K.G., Cahalan, M.D. (2001): Calcium-activated potassium channels sustain calcium signaling in T lymphocytes. Selective blockers and manipulated channel expression levels. *Journal of Biological Chemistry* 276:12249-12256.

Feigin, V.L., Forouzanfar, M.H., Krishnamurthi, R., Mensah, G.A., Connor, M., Bennet, D.A., Moran, A.E., Sacco, R.L., Anderson, L., Truelsen, T., O'Donnell, M., Venketasubramanian, S., Barker-Collo, S., Lawes, C.M.M., Wang, W., Shinohara, Y., Witt, E., Ezzati, M., Naghavi, M., Murray, C. (2014): Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 383, 245–255.

Folyovich, A., Biczó, D., Fülöp, A., Németh, Á., Breuer, H., Béres-Molnár, K.A., Varga, V., Toldi, G., Bartholy, J. (2013): Effect of short-term changes of air pollution on the development of acute ischemic stroke. *Journal of the Neurological Sciences*. doi:10.1016/j.jns.2013.07.788.

Folyovich, A., Biczó, D., Fülöp, A., Németh, Á., Breuer, H., Béres-Molnár, K.A., Varga, V., Vadasdi, K., Kaszás, N., Bartholy, J. (2013): Role of extreme outdoor temperature in the development of acute ischaemic stroke. *Journal of Neurology* 260(Suppl 1), S82.

Folyovich, A., Biczó, D., Fülöp, A., Németh, Á., Breuer, H., Béres-Molnár, K.A., Varga, V., Vadasdi, K., Toldi, G. (2014): The role of meteorological fronts in the outcome of acute ischemic stroke. *Cerebrovascular Diseases* 37(Suppl 1), 595.

Folyovich, A., Béres-Molnár K.A., Varga, V., Zboznovits, D., Vastagh, I., Szabó, J., Ajtay, A., Bereczki, D. (2014): Stroke-morbidity, mortality and living standards. Risk of stroke in relation to house-hold consumption. *Cerebrovascular Diseases* 37(Suppl 1):566

Furlan, F., Orlando, S., Laudanna, C., Resnati, M., Basso, V., Blasi, F., Mondino, A. (2004): The soluble D2D3 (88–274) fragment of the urokinase receptor inhibits monocyte chemotaxis and integrin-dependent cell adhesion. *Journal Cell Science* 117:2909–2916.

Garcia-Monco, J.C., Coleman, J.L., Benach, J.L. (2002): Soluble urokinase receptor (uPAR, CD 87) is present in serum and cerebrospinal fluid in patients with neurologic diseases. *Journal of Neuroimmunology* 129:216–223.

Gbiri, C.A., Akinpelu, A.O. (2012): Quality of life of Nigerian stroke survivors during first 12 months post stroke. *Hong Kong Physiotherapy Journal* 30:18–24



- Ghanshani, S., Wulff, H., Miller, M.J., Rohm, H., Neben, A., Gutman, G.A., Cahalan, M.D., Chandy, K.G. (2000): Upregulation of the IKCa1 potassium channel during Tcell activation. Molecular mechanism and functional consequences. *Journal of Biological Chemistry* 275:37137-37149.
- Giangiaco, K.M., Ceralde, Y., Mullmann, T.J. (2004): Molecular basis of alpha-KTx specificity. *Toxicon* 43:877-886.
- Giua, A., Abbas, M.A., Murgia, N., Corea, F. (2010): Climate and stroke: a controversial association. *International Journal of Biometeorology* 54(1), 1–3.
- Grissmer, S., Cahalan, M.D. (1989): Divalent ion trapping inside potassium channels of human T lymphocytes. *Journal of General Physiology* 93:609-630,
- Gluszek, A., Koco, S., Zuk, K., Aljabali, P., Gluza, A., Siwek, K. (2008): Episodes of atrial fibrillation and meteorological conditions. *Kardiologia Polska (Polish Heart Journal)* 66(9), 958–963.
- Göhring, K., Wolff, J., Doppl, W., Schmidt, K.L., Fenchel, K., Pralle, H., Sibelius, U., Bux, J. (2004): Neutrophil CD177 (NB1 gp, HNA-2a) expression is increased in severe bacterial infections and polycythaemia vera. *British Journal of Haematology* 126:252–254.
- Grimaud, O., Dufouil, C., Alperovitch, A., Pico, F., Ritchie, K., Helmer, C., Tzourio, C., Chauvin, P. (2011): Incidence of ischaemic stroke according to income level among older people: the 3C study. *Age Ageing* 40:116–121
- Gyakum, J.R., Roebber, P.J. (2001): The 1998 ice storm-analysis of a planetary-scale event. *Monthly Weather Review* 129:2983–2997.
- Hanley, G.E., Morgan, S. (2008): On the validity of area-based income measures to proxy household income. *BMC Health Services Research* 8:79
- Hoffmann, J.J. (2009): Neutrophil CD64: a diagnostic marker for infection and sepsis. *Clinical Chemistry Laboratory Medicine* 47:903–916.
- Holton, J. R. (2004): An introduction to dynamical meteorology. A new risk factor in ischemic stroke mortality. Seattle: Academic Press
- Hong, Y.C., Lee, J.T., Kim, H., Kwon, H.J. (2002): Air pollution *Stroke* 33, 2165–2169.

Hungarian Central Statistical Office Population census 2001—National and county data—Budapest. 4.1.11. Population by national/ethnic groups.

[http://www.nepszamlalas2001.hu/eng/volumes/06/01/tabeng/4/load01\\_11\\_0.html](http://www.nepszamlalas2001.hu/eng/volumes/06/01/tabeng/4/load01_11_0.html).

[Accessed 3 Jan 2013](#)

Hungarian Central Statistical Office Population census 2011. [http://www.ksh.hu/docs/hun/xftp/idoszaki/nepsz2011/nepsz\\_03\\_01\\_2011.pdf](http://www.ksh.hu/docs/hun/xftp/idoszaki/nepsz2011/nepsz_03_01_2011.pdf). Accessed 5 Mar 2015

Huynen, M.M.T.E., Martens, P., Schram, D., Weijenberg, M.P., Kunst, A.E. (2001): The impact of heat waves and cold spells on mortality rates in the Dutch population. *Environmental Health Perspectives* 109:463–470,

Ishigami, A., Hajat, S., Kovats, R. S., Bisanti, L., Rognoni, M., Russo, A., Paldy, A. (2008): An ecological time-series study of heat-related mortality in three European cities. *Environmental Health* 7:5-12.

Jiminez-Conde, J., Ois, A., Gomis, M., Rodriguez-Campello, A., Cuadrado-Godia, E., Subirana, I., Roquer, J. (2008): Weather as a trigger of stroke. Daily meteorological factors and incidence of stroke subtypes. *Cerebrovascular Diseases* 26, 348–354.

Johnston, S.C., Mendis, S., Mathers, C.D. (2009): Global variation in stroke burden and mortality: estimates from monitoring, surveillance, and modelling. *Lancet Neurology* 8:345–354

Kapral, M.K., Fang, J., Chan, C., Alter, D.A., Bronskill, S.E., Hill, M.D., Manuel D.G., Tu, J.V., Anderson, G.M. (2012): Neighborhood income and stroke care and outcomes. *Neurology* 79:1200–1207

Kaposi, A.S., Veress, G., Vásárhelyi, B., Macardle, P., Bailey, S., Tulassay, T., Treszl, A. (2008): Cytometry-acquired calcium-flux data analysis in activated lymphocytes. *Cytometry* 73: 246-253.

Katsouyanni, K., Touloumi, G., Samoli, E., Gryparis, A., Le Tertre, A.L., Monopolis, Y., Rossi, G., Zmirou, D., Ballester, F., Boumghar, A., Anderson, H.R., Wojtyniak, B., Paldy, A., Braunstein, R., Pekkanen, J., Schindler, C., Schwartz, J. (2001): Confounding and effect modification in the short-term effects of ambient particles on total mortality: results from 29 European cities within the APHEA2 project. *Epidemiology* 12, 521–531.

- Kelly-Hayes, M., Beiser, A., Kase, C.S., Scaramucci, A., D'Agostino, R.B., Wolf, P.A. (2003): The influence of gender and age on disability following ischemic stroke: the Framingham study. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Disease* 12:119-126
- Kettunen, J., Lanki, T., Tiittanen, P., Aalto, P. P., Koskentalo, T., Kulmala, M., Salomaa, V., Pekkanen, J. (2007): Associations of fine and ultrafine particulate air pollutions with stroke mortality in an area of low air pollution levels. *Stroke* 38, 918–922.
- Kohler, R., Wulff, H., Eichler, I., Kneifel, M., Neumann, D., Knorr, A., Grgic, I., Kampfe, D., Si, H., Wibawa, J. (2003): Blockade of the intermediate-conductance calcium-activated potassium channel as a new therapeutic strategy for restenosis. *Circulation* 108:1119–1125
- Kondo, N., van Dam, R.M., Sembajwe, G., Subramanian, S.V., Kawachi, I., Yamagata, Z. (2012): Income inequality and health: the role of population size, inequality threshold, period effects and lag effects. *Journal of Epidemiology and Community Health* 66:e11
- Lavados, P.M., Díaz, V., Jadue, L., Olavarria, V.V., Cárcamo, D.A., Delgado, I. (2012): Socioeconomic and cardiovascular variables explaining regional variations in stroke mortality in Chile: an ecological study. *Neuroepidemiology* 37:45–51
- Lee, S.C., Deutsch, C. (1990): Temperature dependence of K<sup>+</sup>-channel properties in human T lymphocytes. *Biophysical Journal* 57:49-62.
- Lee, H.C., Hu, C.J., Chen, C.S., Lin, H.C. (2008): Seasonal variation in ischemic stroke incidence and association with climate: a six-year population-based study. *Chronobiology International* 25(6):938–949.
- Leonard, R.J., Garcia, M.L., Slaughter, R.S., Reuben, J.P. (1992): Selective blockers of voltage-gated K<sup>+</sup> channels depolarize human T lymphocytes: mechanism of the antiproliferative effect of charybdotoxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 89:10094-10098.
- Li, G., Wang, X., Huang, L.H., Wang, Y., Hao, J.J., Ge, Xu, X.Y. (2013): Cytotoxic function of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes isolated from patients with acute severe cerebral infarction: an assessment of stroke-induced immunosuppression. *British Medical Journal of Medicine Immunology* 14: 1.

- Liao Y, Greenlund KJ, Croft J.B, Keenan N.L, Giles W.H. (2009): Factors explaining excess stroke prevalence in the US Stroke Belt *Stroke* 40:3336–3341.
- Licata, G., Tuttolomondo, A., Corrao, S., Di Raimondo, D., Fernandez, P., Caruso, C., Avellone, G., Pinto, A. (2006): Immunoinflammatory activation during the acute phase of lacunar and non-lacunar ischemic stroke: association with time of onset and diabetic state. *International Journal Immunopathology Pharmacology* 19:639–646.
- Logsdon, N.J., Kang, J., Togo, J.A., Christian, E.P., Aiyar, J. (1997): A novel gene, hKCa4, encodes the calcium-activated potassium channel in human T lymphocytes. *Journal Biological Chemistry* 272:32723-32726.
- Mackenbach, J.P., Cavelaars, A.E., Kunst, A.E., Groenhouf, F. (2000): Socioeconomic inequalities in cardiovascular disease mortality; an international study. *European Heart Journal* 21:1141–1151
- Magalhães, R., Silva, M.C., Correia, M., Bailey, T. (2011): Are stroke occurrence and outcome related to weather parameters? Results from a population-based study in Northern Portugal. *Cerebrovascular Diseases* 32(6), 542–551.
- Matteson, D.R, Deutsch, C. (1984): K channels in T lymphocytes: a patch clamp study using monoclonal antibody adhesion. *Nature*. 307:468-471.
- McArthur, K., Dawson, J., Walters, M. (2010): What is it with the weather and stroke? *Expert Review of Neurotherapeutics* 10(2), 243–249.
- Meretoja, A., Roine, R.O., Kaste, M., Linna, M., Juntunen, M., Erilä, T., Hillborn, M., Marttila, R., Rissanen, A., Sivenius, J., Häkkinen, U. (2010): Stroke monitoring on a national level: PERFECT stroke, a comprehensive, registrylinkage stroke database in Finland. *Stroke* 41:2239–2246
- Milionis, H., Faouzi, M., Cordier, M., D’Ambrogio-Remillard, S., Eskandari, A., Michel, P. (2013): Characteristics and early and long-term outcome in patients with acute ischemic stroke and low ejection fraction. *International Journal of Cardiology* 168(2), 1082–1087.
- Mirzaei M, Truswell AS, Arnett K, Page A, Taylor R, Leeder SR. (2012): Cerebrovascular disease in 48 countries: secular trends in mortality 1950–2005. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 83:138–145

- Morabito, M., Crisci, A., Vallorani, R., Modesti, P.A., Gensini, G.F., Orlandini, S. (2011): Innovative approaches helpful to enhance knowledge on weather-related stroke events over a wide geographical area and a large population. *Stroke* 42(3):593–600
- Mostofsky, E., Wilker, E.H., Schwartz, J., Zanobetti, A., Gold, D.R., Wellenius, G. A., Mittleman, M.A. (2014): Short-term changes in ambient temperature and risk of ischemic stroke. *Cerebrovascular Diseases Extra* 4(1):9–18.
- Myint, P.K., Vowler, S.L., Woodhouse, P.R., Redmayne, O., Fulcher, R.A. (2009): Winter excess in hospital admissions, in-patient mortality and length of acute hospital stay stroke a hospital database study over six seasonal years in Norfolk, UK. *Neuroepidemiology* 28:79–85.
- Muir, K.W., Weir, C.J., Alwan, W., Squire, I.B., Lees, K.R. (1999): C-reactive protein and outcome after ischemic stroke. *Stroke* 30:981–985.
- Ntaios, G., Lambrou, D., Cuendet, D., Michel, P. (2013): Early major worsening in ischemic stroke: predictors and outcome. *Neurocritical Care* 19(3):287–292.
- Offner, H., Vandenbark, A.A., Hurn, P.D. (2009): Effect of experimental stroke on peripheral immunity: CNS ischemia induces profound immunosuppression. *Neuroscience* 158:1098-1111.
- Ohno, Y. (1969): Biometrical studies on cerebrovascular diseases II. Effects by the combination of meteorologic changes on the death from cerebrovascular accident. *Japanese Circulation Journal* 33:1299–1308.
- Ohno, Y. (1969): Biometrical studies on cerebrovascular diseases III. Effects by the combination of meteorologic changes on the death from cerebrovascular accident. *Japanese Circulation Journal* 33:1309–1314.
- Ostergaard, C., Benfield, T., Lundgren, J.D., Eugen-Olsen, J. (2004): Soluble urokinase receptor is elevated in cerebrospinal fluid from patients with purulent meningitis and is associated with fatal outcome. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 36:14-19.
- Ostrowski, S.R., Ullum, H., Goka, B.Q., Høyer-Hansen, G., Obeng-Adjei, G., Pedersen, B.K., Akanmori, B.D., Kurtzhals, J.A. (2005): Plasma concentrations of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor are increased in patients with malaria and are associated with a poor clinical or a fatal outcome. *Journal of Infectious Diseases* 191:1331-1341.

- Pahapill, P.A., Schlichter, L.C. (1992): Modulation of potassium channels in intact human T lymphocytes. *Journal of Physiology (London)* 445:407-430,
- Pace, M., Lanzieri, G., Glickman, M., Grande, E., Zupani, T., Wojtyniak, B., Gissler, M., Cayotte, E., Agafitei, L. (2013): Revision of the European Standard Population. Report of Eurostat's task force. Eurostat, European Union 2013
- Panyi, G., Sheng, Z.F., Tu, L.W., Deutsch, C. (1995): C-type inactivation of a voltage-gated K<sup>+</sup> channel occurs by a cooperative mechanism. *Biophysical Journal* 69:896-904.
- Panyi, G., Varga, Z., Gaspar, R. (2004): Ion channels and lymphocyte activation. *Immunology Letters* 92:505-66.
- Panyi, G. (2005): Biophysical and pharmacological aspects of K<sup>+</sup> channels in T lymphocytes. *European Biophysics Journal* 34:515-529.
- Panyi, G., Possani, L.D., Rodríguez de la Vega, R.C., Gáspár, R., Varga, Z. (2006): K<sup>+</sup> channel blockers: novel tools to inhibit T cell activation leading to specific immunosuppression. *Current Pharmaceutical Design* 18:2199-2220,
- Pozzilli, C., Lenzi, G.L., Argentino, C., Bozzao, L., Rasura, M., Giubilei, F., Fieschi, C. (1985): Peripheral white blood cell count in cerebral ischemic infarction. *Acta Neurologica Scandinavica* 71:396-400,
- Riisbro, R., Christensen, I.J., Høgdall, C., Brønner, N., Høgdall, E. (2001): Soluble urokinase plasminogen activator receptor measurements: influence of sample handling. *International Journal of Biological Markers* 16:233-239.
- Rijneveld, A.W., Levi, M., Florquin, S., Speelman, P., Carmeliet, P., van Der Poll, T. (2002): Urokinase receptor is necessary for adequate host defense against pneumococcal pneumonia. *Journal of Immunology* 168:3507-3511
- Robine, J.M., Cheung, S.L., Le Roy, S., Van Oyen, H., Herrmann, F.R. (2015): Report on excess mortality in Europe during summer 2003. *Environmental Monitoring and Assessment* [http://ec.europa.eu/health/ph\\_projects/2005/action1/docs/action12005\\_a2\\_15\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_projects/2005/action1/docs/action12005_a2_15_en.pdf) Accessed 7 December 2014. 187:547 Page 5 of 6 547
- Roelfs, D.J, Shor, E, Davidson, K.W, Schwartz, J.E. (2011): Losing life and livelihood: a systematic review and meta-analysis of unemployment and all-cause mortality. *Social Science and Medicine* 2011;72:840-854

- Roger, V.L., Go, A.S., Lloyd-Jones, D.M. (2012): American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee et al Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 125(1):e2–e220
- Rost, N.S., Wolf, P.A., Kase, C.S., Kelly-Hayes, M., Silbershatz, H., Massaro, J.M., D'Agostino, R.B., Franzblau, C., Wilson, P.W. (2001): Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke* 32:2575–2579.
- Rudd, A.G., Irwin, P., Rutledge, Z., Lowe, D., Wade, D. T., Pearson, M. (2001): Regional variations in stroke care in England, Wales and Northern Ireland: results from the National Sentinel Audit of Stroke. Royal College of Physicians Intercollegiate Stroke Working Party. *Clinical Rehabilitation* 15:562–572.
- Saeki, S., Ogata, H., Okubo, T., Takahashi, K., Hoshuyama T. (1995): Return to work after stroke. A follow-up study. *Stroke* 26:399-401
- Salat, D., Delgado, P., Alonso, S., Ribó, M., Santamarina, E., Quintana, M., Alvarez-Sabín, J., Montaner, J. (2011): Ischemic stroke outcome and early infection: its deleterious effect seems to operate also among tissue plasminogen activator-treated patients. *European Journal of Neurology* 65:82-87.
- Samet, J.M., Dominici, F., Curriero, F.C., Coursac, I., Zeger, S.L. (2000): Fine particulate air pollution and mortality in 20 US cities, 1987-1994. *The New England Journal of Medicine* 343:1742–1749.
- Sand, K.M., Thomassen, L., Næss, H., Rødahl, E., Hoff, J.M. (2012): Diagnosis and rehabilitation of visual field defects in stroke patients: a retrospective audit. *Cerebrovascular Diseases Extra* 2:17–23
- Sandset, E.C., Murray, G., Bath, P.M., Kjeldsen, S.E., Berge, E. (2012): Scandinavian Candesartan Acute Stroke Trial (SCAST) Study Group. Relation between change in blood pressure in acute stroke and risk of early adverse events and poor outcome. *Stroke* 43(8):2108–2114.
- Sier, C.F., Stephens, R., Bizik, J., Mariani, A., Bassan, M., Pedersen, N., Frigerio, L., Ferrari, A., Danø, K., Brünner, N., Blasi, F. (1998): The level of urokinase-type

plasminogen activator receptor is increased in serum of ovarian cancer patients. *Cancer Research* 58:1843-1849

Sier, C.F., Sidenius, N., Mariani, A., Aletti, G., Agape, V., Ferrari, A., Casetta, G., Stephens, R.W., Brünner, N., Blasi, F. (1999): Presence of urokinase-type plasminogen activator receptor in urine of cancer patients and its possible clinical relevance. *Laboratory Investigation* 79:717-722.

Smits, J., Westert, G.P., van den Bos, G.A. (2002): Socioeconomic status of very small areas and stroke incidence in the Netherlands. *J Epidemiol Community Health* 56:637–640

Southern, D.A., McLaren, L., Hawe, P., Knudtson, M.L., Ghali, W.A. (2005): Investigators APPROACH Individual-level and neighborhood-level income measures: agreement and association with outcomes in a cardiac disease cohort. *Medical Care* 43:1116–1122

Sposato, L.A., Saposnik, G. (2012): Gross domestic product and health expenditure associated with incidence, 30-day fatality, and age at stroke onset: a systematic review. *Stroke* 43:170–177

Sposato, L.A., Ioli, P., Povedano, G., Esnaola y Rojas, M.M., Saposnik, G. (2012): Argentinean Neurological Society and ReNACer Investigators Unemployment: a social risk factor associated with early ischemic stroke mortality? Results from the Argentinean National Stroke Registry (ReNACer). *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 21:679–683

Steenland, K., Hu, S., Walker, J. (2004): All-cause and cause-specific mortality by socioeconomic status among employed persons in 27 US states, 1984–1997. *American Journal of Public Health* 94:1037–1042

Stegmayr, B., Asplund, K. (1992): Measuring stroke in the population: quality of routine statistics in comparison with a populationbased stroke registry. *Neuroepidemiology* 11:204–213

Stephens, R.W., Pedersen, A.N., Nielsen, H.J., Hamers, M.J., Høyer-Hansen, G., Rønne, E., Dybkjaer, E., Danø, K., Brünner, N. (1997): ELISA determination of soluble urokinase receptor in blood from healthy donors and cancer patients. *Clinical Chemistry* 43:1876–1884.



- Stringhini, S., Tabak, A.G., Akbaraly, T.N., Sabia, S., Shipley, M.J., Marmot, M.G., Brunner, E.J., Batty, G.D., Bovet, P., Kivimäki, M. (2012): Contribution of modifiable risk factors to social inequalities in type 2 diabetes: prospective Whitehall II cohort study. *British Medical Journal* 345:e5452
- Stull, R.B. (1988): *An introduction to boundary layer meteorology*. Dordrecht:Kluwer Academic Publishers. University of Wyoming Department of Atmospheric Sciences website. <http://weather.uwyo.edu/upperair/europe.html>. Accessed 11 December, 2014
- Sueda, Y., Hosomi, N., Tsunematsu, M., Takamatsu, K., Nomura, E., Torii, T. (2015): Effects of meteorological conditions on the risk of ischemic stroke events in patients treated with Alteplase-HEWS-tPA. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 24(7):1500–1505.
- Szűcs, I., Szatmári, S., Fekete, K., Orbán-Kis, K., Vastagh, I., Folyovich, A., Ajtay, A., Bereczki, D. (2012): One year follow-up after stroke. A preliminary feasibility study in Jozsefstown of Budapest in Hungarian. *Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience* 65:107–112
- Toldi, G., Folyovich, A., Simon, Z., Zsiga, K., Kaposi, A., Mészáros, G., Tulassay, T., Vásárhelyi, B. (2011): Lymphocyte calcium influx kinetics in multiple sclerosis treated without or with interferon beta. *Journal of Neuroimmunology* 237:80-86.
- Toldi, G., Szalay, B., Bek, G., Bocskai, M., Deák, M., Kovács, L., Vásárhelyi, B., Balog, A. (2012): Plasma soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels in systemic lupus erythematosus. *Biomarkers* 17:758-763.
- Tuttolomondo, A., Pinto, A., Corrao, S., Di Raimondo, D., Fernandez, P., Di Sciacca, R., Arnao, V., Licata, G. (2009): Immuno-inflammatory and thrombotic/fibrinolytic variables associated with acute ischemic stroke diagnosis. *Atherosclerosis* 203:503–508.
- Van der Meer, W., Pickkers, P., Scott, C.S., van der Hoeven, J.G., Klein Gunnewiek, J. (2007): Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression: comparative trends during experimental human endotoxemia. *Journal of Endotoxin Research* 13:94–100
- Vargas, M., Horcajada, J.P., Obach, V., Revilla, M., Cervera, A., Torres, F., Planas, AM, Mensa, J., Chamorro, A. (2006): Clinical consequences of infection in patients with acute stroke: is it prime time for further antibiotic trials? *Stroke* 37:461–465.

Varga, Z., Panyi, G., Péter, M., Pieri, C., Csécei, G., Damjanovich, S., Gáspár, R. (2001): Multiple binding sites for melatonin on Kv1.3. *Biophysical Journal* 80:1280-1297.

Verheugen, J.A., Vijverberg, H.P. (1995): Intracellular Ca<sup>2+</sup> oscillations and membrane potential fluctuations in intact human T lymphocytes: role of K<sup>+</sup> channels in Ca<sup>2+</sup> signaling. *Cell Calcium* 17:287-300

Vermeij, F.H., Scholte op Reimer, W.J., de Man, P., van Oostenbrugge, R.J., Franke, C.L., de Jong, G., de Kort, P.L., Dippel, D.W. (2009): Netherlands Stroke Survey Investigators. Stroke-associated infection is an independent risk factor for poor outcome after acute ischemic stroke: data from the Netherlands Stroke Survey. *Cerebrovascular Diseases* 27:465-471.

Vogelgesang, A., Grunwald, U., Langner, S., Jack, R., Bröker, B.M., Kessler, C., Dressel, A. (2008): Analysis of lymphocyte subsets in patients with stroke and their influence on infection after stroke. *Stroke* 39:237–241.

Vila, N., Filella, X., Deulofeu, R., Ascaso, C., Abellana, R., Chamorro, A. (1999): Cytokine-induced inflammation and long-term stroke functional outcome. *Journal of the Neurological Sciences* 162:185–188.

Vogelgesang, A., Grunwald, U., Langner, S., Jack, R., Bröker, B.M., Kessler, C. (2008): Analysis of lymphocyte subsets in patients with stroke and their influence on infection after stroke. *Stroke* 39:237-241.

Wang, X.Y., Barnett, A.G., Hu, W., Tong, S. (2009): Temperature variation and emergency hospital admissions for stroke in Brisbane, Australia, 1996–2005. *International Journal of Biometeorology* 53(6):535–541.

Weimar, C., Roth, M.P., Zillesen, G., Glahn, J., Wimmer, M.L., Busse, O., Haberl, R.L., Diener, H.C. (2002): German Stroke Date Bank Collaborators: Complications following acute ischemic stroke. *European Neurology* 48:133–140,

World Health Organization (2011) Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control

World Health Organization (2012) Global health observatory data repository. Life expectancy. <http://apps.who.int/gho/data/?vid=61200>, Accessed 26 Oct 2012

Wozniak, M.A., Kittner, S.J., Price, T.R., Hebel, J.R., Sloan, M.A., Gardner, J.F. (1999): Stroke location is not associated with return to work after first ischemic stroke. *Stroke* 30:2568-2573

Wulff, H., Calabresi, P.A., Allie, R., Yun, S., Pennington, M., Beeton, C., Chandy, K.G. (2003): The voltage-gated Kv1.3 K<sup>+</sup> channel in effector memory T cells as new target for MS. *Journal of Clinical Investigation* 111:1703-1713

Yan, J., Greer, J.M., Etherington, K., Cadigan, G.P., Cavanagh, H., Henderson, R.D., O'Sullivan, J.D., Pandian, J.D., Read, S.J., McCombe, P.A. (2009): Immune activation in the peripheral blood of patients with acute ischemic stroke. *Journal of Neuroimmunology* 206:112–117.

Zhang, J., Peng, Y., Fan, H., Chen, M., Xu, T., Zhang, Y. (2011): Blood pressure and early clinical outcome among acute ischemic stroke patients. *Canadian Journal of Neurological Sciences* 38(2):225–229.

Zweifach, A., Lewis, R.S. (1993): Mitogen-regulated Ca<sup>2+</sup> current of T lymphocytes is activated by depletion of intracellular Ca<sup>2+</sup> stores. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 90:6295-6299

## 9. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

### A disszertáció témájában megjelent közlemények

Sz cs, I., Szatmári, Sz., Fekete, K., Orbán-Kis, K., Vastagh, I., Folyovich, A., Ajtay, A., Bereczki, D. (2012): Egyéves követéses vizsgálat stroke után: megvalósíthatósági el tanulmány a Budapesti Józsefvárosban Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience 65(3-4):107-112 (IF: 0,488)

Folyovich, A., Biró, E., Orbán, C., Bajnok, A., Varga, V., Béres-Molnár, A.K., Vásárhelyi, B., Toldi, G. (2014): Relevance of novel inflammatory markers in stroke-induced immunosuppression. *BioMed Central Neurology* 2014 Mar 6;14:41.doi: 10,1186/1471-2377-14-41 (IF: 2,49)

Folyovich, A., Biró, E., Orbán, C., Bajnok, A., Vásárhelyi, B., Toldi, G. (2014): Kv1.3 Lymphocyte Potassium Channel Inhibition as a Potential Novel Therapeutic Target in Acute Ischemic Stroke *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets* 13:801-806 (IF: 2,702)

Folyovich, A., Vastagh, I., Kéri, A., Majoros, A., Kovács, K.L., Ajtay, A., Laki, Zs., Gunda, B., Erdei, K., Lenti, L., Dános, Zs., Bereczki, D. (2015): Living standard is related to microregional differences in stroke characteristics in Central Europe: the Budapest Districts 8–12 Project *International Journal of Public Health* 2015;60:487-494, DOI 10,1007/s00038-015-0674-y 2015 (IF: 1,966)

Folyovich, A., Biczó, D., Al-Muhanna, N., Béres-Molnár, A.K., Fej s, Á., Pintér, Á., Bereczki, D., Fischer, A., Vadasdi, K., Pintér, F. (2015): Anomalous equivalent potential temperature: an atmospheric feature predicting days with higher risk for fatal outcome in acute ischemic stroke. A preliminary study *Environmental Monitoring and Assessment* 2015;187:547 DOI: 10,1007/s10661-015-4722-0 (IF: 1.679)

### A disszertáció témájához közvetlenül nem kapcsolódó közlemények

Toldi, G., Folyovich, A., Simon, Z., Zsiga, K., Kaposi, A., Mészáros, G., Tulassay, T., Vásárhelyi, B. (2011): Lymphocyte calcium influx kinetics in multiple sclerosis treated without or with interferon beta. *Journal of Neuroimmunology* 237:80-86 (IF: 2.901)

Folyovich, A., Varga, V., Béres-Molnár, K.A., Vadasdi, K., Bereczki, D. (2014): Dilemma of Indication for Thrombolysis in a Patient with Acute Ischemic Stroke Treated with a Novel Oral Anticoagulant. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 2013; May 27. doi:pii: S1052-3057(13)00150-X. 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.04.29. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 23;3:580-582 (IF: 1.984)

- Folyovich, A., Bakos, M., Kántor, Z., Hertelendy, A., Horváth, E., Zsiga, K., Lakatos, H., Vadasdi, K. (2012): Stroke prevention – A population screening day in district XII of Budapest (Stroke-prevenció – Lakossági sz r nap Budapest XII. kerületében) *Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience* 65(3-4):101-105 (IF: 0,488)
- Folyovich, A., Simó, M. (1992): Tartós vérnyomásmérés a neurológiai gyakorlatban *Ideggyógyászati Szemle* 45(11-12): 366-371.
- Folyovich, A., Rózsa, Cs., Horváth, Gy., Kenéz J. (1992): Transziens ischaemiás attack tüneteivel kezd d intracerebralis cavernoma esete *Lege Artis Medicinae* 2 (12):1144-1149.
- Mogyorós, I., Folyovich, A., Horváth, S. (1993): Az agytörzsi akusztikus kiváltott potenciál vizsgálat helye a vertebrobasilaris keringészavar diagnosztikájában *Ideggyógyászati Szemle* 46 (3-4): 91-96.
- Folyovich A., Simó M., Áfra J. (1994): Új módszer a neurológiai gyakorlatban: folyamatos számítógépes pulzus-vérnyomáskövet rendszer *Orvosképzés* 69: 62-71.
- Folyovich, A., Simó, M., Áfra, J., Thomka, M. (1994): Fejfájás ischaemias cerebrovascularis megbetegedésekben *Orvosi Hetilap* 135;13: 681-685.
- Folyovich, A., Vastagh, I., Pataki, L., Csüri, M. (1995): Rehabilitation of communication by synthesized speech *European Journal of Neurology* (2) Suppl. 1. 33.
- Vastagh, I., Róna-Tas, Á., Folyovich A., Csurgay, E., Kuntz, G. (1995): Protein C és S vizsgálata fiatalkori cerebrovascularis betegeknél *Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience* 48 (9-10): 328.
- Szikora, I., Nyáry, I., Futó, J., Vajda, J., Lányi, F., Folyovich, A. (1995): Agyalapi aneurysmak kezelése elektrolitikusan leválasztható mikrospirálokkal *Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience* 48 (11-12): 409-416.
- Vastagh, I., Folyovich, A., Szirmai, I. (1996): Left median thalamic infarct with complex gaze palsy - case reports *Cerebrovascular Diseases* 6 (Suppl 2):169.
- Folyovich, A., Pataki, L., Vastagh, I., Csüri, M. (1996): Új lehetőség a neurológiai betegek beszédrehabilitációjában: számítógépes beszéd-szintézis *Beszédgyógyítás* 1-2:1-10
- Vastagh, I., Folyovich, A., Arányi, Zs., Bodrogi, L., Tártsy, M. (1996): Bal oldali thalamuslagyulás és komplex tekintési zavar *Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience* 49 (11-12): 391-396.
- Folyovich, A., Vastagh, I., Pataki, L., Csüri, M., Pataki K. (1996): Számítógépes beszédrehabilitáció a neurológiai gyakorlatban *Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience* 49(11-12): 397-400

Horváth, E., Vadasdi, K., Vastagh, I., Folyovich, A. (2010): Role of diagnosis of dyslipidemia in primary and secondary vascular prevention in a neurology department  
Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience 63(3-4):121-124

## 10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szakmai pályafutásom alapján kézenfekvő volt, hogy tudományos munkámhoz indíttatást és lehetőséget közvetlen gyógyító tevékenységem révén kaphatok. A kutatómunka igénye természetes volt több évtizedes egyetemi dolgozóként. Az oktatás hamarabb, a kutatás jóval később hozott eredményt. Mindehhez azonban el kellett indulni a neurológia útján. Dr. Csanda Endre egyetemi tanár volt mesterem, akinél medikusként külföldi konferenciához juttató TDK-munkát végeztem, rektori pályaműnyertese lettem. Csanda Professzor Úrnak tehát ezekért, de főként életem alakításáért tartozom köszönettel. És azért, mert élete meghatározó részében barátjának nevezett és akként kezelt. Dr. Szirmai Imre egyetemi tanár, második és egyben utolsó szakmai vezetőm volt, akinek a neurológiai intenzív ellátás iránti elkötelezettségért tartozom köszönettel.

Köszönettel tartozom Dr. Tulassay Tivadar Akadémikus Úrnak, hogy befogadott doktori iskolájába és a kezdetektől biztatott munkám töretlen véghezvitelére.

A tudományos munkámban a sikereket Dr. Bereczki Dániel Professzor Úr budapesti intézetvezetése idején értem el. Megmutatta, hogy a kitartó munka elismerést hoz, ha az állhatatosság a publikációs folyamatra is kiterjed. Köszönettel tartozom Neki a stroke epidemiológiai közlemény megszületéséhez nyújtott segítségéért, útmutatásáért. És a bizalomért, mely nem csak ennek a munkának, de továbbiaknak is neves impact faktoros szakmai lapokban való megjelenéshez segített és segít folyamatosan. Témavezetőként meghatározó érdeme van a dolgozat létrejöttében.

Dr. Ajtay András a stroke epidemiológiai vizsgálat során adott múlthatatlan segítséget.

Dr. Toldi Gergely a másik témavezetőm volt. És messze több ennél. A számomra először oly idegen immunológiai területre vezérelt, miközben megmaradtam a stroke gyakorlati aspektusainál. A klinikus biztosította frontvonal általa nyert tudományos eredményt, melyet rögtön publikációra alkalmassá tett. Mégis ennél sokkal nagyobb köszönettel tartozom neki. Olyan élményt adott, amiben – azt hiszem, - nagyon kevesen részesülnek. V. éves orvostanhallgatóként, majd szigorlóként taníthattam neki a neurológiát. Az oktatás, mely mindig is legnagyobb szakmai szerelmem volt, barátságot, szakmai és emberi szövetséget hozott. És azt, hogy én, mint gyakorlatvezetője, apró érdemet szereztem példátlan gyorsasággal magasra tör

pályáján. Büszke vagyok, hogy témavezet m lett. Egyetemi oktatói pályafutásom legnagyobb eredményének tartom.

Dr. Vásárhelyi Barna egyetemi tanár hivatalos min ségében programvezet m volt. Több évtizedes kapcsolatunk és barátságunk felhatalmazta arra, hogy kötelezettségemmé tegye a PhD fokozat megszerzését. És ebben elvi és gyakorlati segítséget nyújtott. Minden másodpercemet követte, a lassan megszület sorokat folyamatosan ellen rizte, - nem bírálta, hanem azonnal javította. Munkám megalkotásában oroszánrészt vállalt.

A dolgozatban bemutatott humánmeteorológiai kutatásban partnerünk a MetoKlinika munkatársai voltak, élén Pintér Ferencsel. A korrekt együttm ködését jogosan jár a köszönet, de ennél szorosabb kapcsolat alakult ki köztünk. A mindennapokban hol egyszer nek, hol misztikusnak t n jelenségeket megtanította tudományos módon értékelni, egyes részlet megérteni.

Dr. Biczó Dávid tanítványom volt. Az orvosmeteorológiai kutatásokba szakdolgozat író hallgatómként kapcsolódott be, de a közös munka módszeres tudományos vizsgálattá n tte ki magát. Bár Dávidot az élet Németországba sodorta, az internet révén megbízható munkatársammá, alapos ismeretekkel rendelkező kritikus szemlélet társammá vált. Segítségét nem nélkülöztem sohasem. Köszönet érte.

Azt mindenki tudja, a benne él k pedig közvetlenül átélik, hogy tudományos munka kórházi körülmények között csak akkor végezhet , ha a munkahely ezt támogatja és megbízható csapat áll a háttérben. Dr. Kázmér Tibor, a Szent János Kórház és Észak-budai Egyesített Kórházak f igazgatója volt, aki írásban is vállalt támogatást munkámhoz, amikor a fokozatszerz eljárásra jelentkeztem. Segítségét azzal háláltam meg, hogy a tudományos munka mellett ugyanolyan intenzitással végeztem orvosi, egyben osztályvezet i munkámat, mint korábban. Az Intézet tudományos igazgatóját, Dr. Jánosi András egyetemi tanárt szintén köszönet illeti. Nem csak „hivatalból”, hanem azért is, mert mindenkor támogatta a neurológiai osztály munkájának, azon belül személyem kutatótevékenységének megismertetését az intézmény falain belül és kívül. Támogatta megjelenésünket a nemzetközi porondon. Kiállt a neurológia és személyem mellett a legnehezebb pillanatokban.

Az igazi háttér a Neurológiai Osztály munkaközössége volt. A vizsgálati anyag gy jtése orvosi-n véri segítség nélkül nem lett volna kivihet . A konferenciák, el adások idején



az osztály, szakrendelés zavartalanul működött, mert a helyettesítés megoldott volt. Volt, akivel szintén megoszthattam minden gondomat, akitől önzetlen segítséget kaptam minden percben. Nélkülözhetetlen segítséget nyújtott Buksáné Kalacsi Zsuzsa könyvtáros és Szklenkay Erika adminisztrátor. A háttérben éreztem az Egyetem támogatását is, amikor legmagasabb szinten vezettem, a Neurológiai Klinika elismert munkatársai látogatták meg osztályunkat, fogadták el felkérésünket az intézeti tudományos ülésekre előadóként, kifejezve ezzel is az együttműködést.

Egy több évtizedes szakmai életút eredményei ugyanilyen hosszú támogatást igényelnek barátoktól, de főként a szeretet hozzátartozóktól. Munkám minden percében számíthattam valakire, aki biztatott, támogatott, reményt adott. Van, akinek elmondhatom hálás köszönetemet a Földön, van aki talán meghallja máshol. Gyermekeimnek pedig bocsánatkéréssel tartozom azért, mert kevesebbet foglalkoztam velük, mert megérdemelték volna.

A hosszú felsorolás jól mutatja, hogy milyen sokan álltak mellettem, segítettek a munka megszületésében. Szeretném, ha mindannyian többszöröseket kapnák vissza a Sorstól.