

Zárójelentés – részletes szakmai beszámoló a 2005-2007. kutatásairól az OTKA kutatási program célkitűzéseinek megfelelően csoportosítva:

1. A koponyasérülés súlyosságát, a kezelés hatékonyságát és a kimenetelt előre jelezni képes, ún. surrogate- vagy valódi biomarkerek azonosítását célzó vizsgálataink csak rész-sikereket eredményeztek.

A vizsgálatok során *kudarcként* kell értékelni, hogy noha Zemlan Professzorral megállapodásunk volt biomarkerek vizsgálatához szükséges metodika rendelkezésünkre bocsátásáról (C-TAU kimutatásához szükséges ELISA) ígérete ellenére e támogatást nem kaptuk meg.

Az **S100-b** fehérje vizsgálatával megerősítettük, hogy az elsődleges kórházi ellátás alatt túlélte illetve meghalt súlyos traumát szenvedett betegek S100b fehérjemennyiségének értékei és időbeli lefutása nagymértékben különbözik. Míg a túlélte betegek értékei trauma után néhány nappal 2500pg/ml alá csökkent, addig a meghalt betegek esetében a vizsgált fehérje mennyisége soha sem csökkent 15000 pg/ml alá. Ennél a csoportnál egy másodlagos S100b fehérje koncentrációnövekedést is megfigyeltünk. A részletes irodalomelemzés, az S100b-vel szerzett gyakorlati tapasztalatok alapján ugyanakkor egyértelművé vált, hogy e marker nem teljesíti a biomarkerekkel szemben támasztott legtöbb követelményt: az ELISA vizsgálat rendkívül drága, eredményei pedig főként a mortalitásra adhatnak felvilágosítást. Elsősorban fenti okokkal magyarázható, hogy peer reviewed közleményt nem-, csak poster presentatiót, kongresszusi absztraktot készítettünk e markerre vonatkozó megfigyeléseinkből. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy a kutatási program végén beszereztünk egy S100b kimutatásra szolgáló készüléket, mellyel a „Pécsi Súlyos Koponyatrauma Adatbázisból” származó szérum és liquor mintákat ismételtén átvizsgáljuk.

*Eredményként* értékelhető ugyanakkor a spectrin lebontási termékek liquorban történő felhalmozódására vonatkozó vizgálatsorozat:

Elsőként igazoltuk, hogy a súlyos kopnyasérültek liquorában a traumától eltelt idővel összefüggésben intakt spectrin és lebontási termékei szaporodnak fel, illetve ezek megjelenése a koponya sérülésre specifikus jelenségnek tekinthető, ráadásul e lebontási termékek koncentrációja valószínűsíthetően összefüggést mutat a koponyasérülés súlyosságával és a kimenetellel is. E vizsgálatok jelentőségét nemcsak az irodalomjegyzékben szereplő publikációk, hanem az a tény is jelzi, hogy a biomarkerek koponyatraumában játszott szerepéről a rotterdami 8th International Symposium on Neurotrauma (neurotrauma világkongresszus) keretében felkért előadást tartott munkacsoportunk, továbbá a témában egy

Department of Defense (US) támogatású multicentrikus klinikai tanulmány előkészítésében és kivitelezésében vettünk részt, majd e tanulmány megvalósításához 7 hónap alatt immáron 14 súlyos koponyasérült és több, mint 10 kontroll beteg adataival járultunk hozzá.

E tanulmány eredményeként Magyarországon először alkalmazhatunk intraparenchymalis oxygen-, és hőmérséklet-monitorokat (Licox) súlyos koponyasérültek ellátásában.

Ugyanakkor az állatkísérletes minták feldolgozása, biomarkerek vizsgálata terén metodikai nehézséget jelent, hogy a kutatási program keretében beállított, különböző súlyosságú centralis folyadék percussió modellel, illetve a különböző súlyosságú impact acceleratio koponya trauma modellel esetében is rendkívül körülményes a posttraumás liquor-mintavétel: a traumás subarachnoidealis vérzés alig teszi lehetővé liquor minták nyelését.

A rutin klinikai alkalmazás számára legígéretesebb spectrin vizsgálatát magunk Western blot módszerrel végeztük, de ennek klinikai relevanciája kisebb, mint a Department of Defense grant segítségével floridai kollaborációs partnerünkönél kidolgozott ELISA illetve proteomika-módszertané. Minden esetre, az OTKA támogatásával végzett vizsgálatok e kutatás élvonalában tartották laboratóriumunkat, reális esélyt biztosítva arra, hogy a serum és liquor on-line analysisére kifejlesztendő Egyesül államokbeli készülék tesztelésébe is bekapcsolódhassunk.

A módszeres szérumból és liquorgyűjtés eredményeként fontos megfigyeléseket tettünk a posttraumás hypophysis elégtelenség kialakulásáról, melynek relevanciáját multimodális követési vizsgálatokkal elemeztük (cognitív illetve motoros tesztek).

Megállapítottuk, hogy –bár a magyar populációban a koponyasérülés mortalitása elsősorban ellátás-szervezési okok miatt jóval magasabb, mint az európai átlag- a posttraumás hypophysis elégtelenség kialakulása ugyan olyan százalékban fordul elő és a betegek szubsztitúciós igénye is hasonló. Ugyanakkor a vizsgálatba bevont, több, mint 50 beteg (ebből az első 32 eset közölve) esetében nem találtunk a trauma után későn, másodlagosan jelentkező hypophysis malfunctiót illetve a hypopituitarizmus és a cognitív deficit kialakulása között sem találtunk olyan összefüggést, melyet más vizsgálatok felvetettek.

Szérum-és liquor adatbankunk illetve a klinikai adatok alapján a serum arginine és dimethylarginine meghatározására alkalmas, a subarachnoidealis vérzés kiváltotta liquor illetve serum szint-ingadozásokat kimutató metodika kidolgozásához járulhattunk hozzá.

A kutatás ezen célkitűzés-csoportjának megvalósítását illusztrálja a mellékelt közlemény listában található, vonatkozó 8 tétel, 6 feletti össz-impakt faktorra (cikkek IF-a).

A patkány kísérletes traumás modellben végzett experimentális therápiás vizsgálatok során a diffúz axon károsodás gátlását igazoltuk posttraumás pituitary adenylate cyclase activating peptide adásával (impakt acelerációs modell)(ld. mellékelt publikációs lista). Ugyanezt a vizsgálatot a különböző súlyosságú centralis folyadék percussió modellel is elvégeztük. Mivel ezen vizsgálatok eredményei a Neurotoxicity Research-ben közlésre várnak, röviden összefoglaljuk azokat.

A tesztek és az eredmények alapján megállapítottuk, hogy az impact accelerációs koponyatrauma modell okozta súlyos sérülés nagyban károsítja a motoros funkciókat, míg a kognitív tesztben (T-maze) szignifikáns teljesítmény csökkenés nem volt tapasztalható. A korábbi immunhisztokémiai tesztekben hatásosnak bizonyult 100 µg dózisban beadott PACAP hatásosnak bizonyult mind a négy funkcionális tesztben, bár a kis létszám miatt egyes paraméterek esetében inkább csak a tendencia figyelhető meg.

A beam-balance tesztben -amelyet a trauma utáni vesztibulo-motoros funkciók vizsgálatára alkalmaztunk- megállapítottuk a vizsgált dózisban a PACAP már a trauma utáni harmadik naptól szignifikánsan javította az állatok teljesítményét a kontrol csoporthoz viszonyítva. Ez megerősíti a korábbi immunhisztokémiai vizsgálatok eredményeit. A T-mazban a trauma nem változtatta meg jelentősen az állatok emlékező képességét a korábban már elsajátított feladatra nézve. Mindkét csoport esetében az állatok kis létszámát tekintve csak tendencia volt megfigyelhető a teljesítmény romlás (kontrol) ill. javulás (PACAP) esetében.

Az open-field tesztben a spontán lokomotoros aktivitást, a felderítő tevékenységet és részben az állatok szorongási szintjének változását vizsgáltuk. Az eredmények azt mutatják, hogy a kontroll csoport esetében szignifikánsan kisebb a lokomotoros aktivitás és az explorációs tevékenység, amely a crossingok és az ágaskodások kevesebb számában mutatkozik meg. Ez az eredmény azzal a tényekkel van összefüggésben, mely szerint trauma után gyakran lép fel depresszió vagy más egyéb szorongásos állapot. A PACAP kezelésnek ebben a tesztben nem volt szignifikáns teljesítmény javító ill. szorongás csökkentő hatása egyik vizsgált paraméter esetében sem, leszámítva az ágaskodások számát.

Az elevated plus-maze teszt az állatok trauma utáni szorongási szintjének felmérésére szolgált. Az ál-műtött állatok szorongási szintje megfelelt a más kutatók által tapasztalt közepes szorongási szintnek, mivel jobban előnyben részesítik a védelmet nyújtó zárt kart. Szignifikáns különbség a PACAP-kezelt és kontrol állatok között csak a "fejbetételek száma a nyitott karba" paraméter esetében volt tapasztalható. A kontrol állatok trauma után más kutatók megfigyeléseihez hasonlóan szorongást mutattak, ami abban nyilvánul meg, hogy

sokkal kevesebb időt töltenek a véfelmet nem nyújtó nyitott karban, mint az ál-műtött ill. PACAP kezelt állatok, de érdekes módon viszont egyfajta "kíváncsiság" a kevésbé biztonságos nyitott kar irányában is megfigyelhető volt náluk, ami abban mutatkozott meg, hogy szignifikáns mennyiségben többször dugták a fejüket a nyitott karok valamelyikébe, mint a PACAP-kezelt vagy az ál-műtött állatok. A PACAP kezelt állatok viszont ez a szorongás egyáltalán nem volt megfigyelhető. Sőt, az ál-műtött csoportnál valamennyivel több időt töltöttek a nyitott karban. Valószínűleg ez az oka annak, hogy ezek az állatok másik két csoporthoz viszonyítva kevesebbszer ágaskodnak a zárt karban, és a legkevesebb időt is töltik ott.

Mindezek eredmények alapján azt mondhatjuk, hogy a korábbi immunhisztokémiai vizsgálatok során már bizonyított neuroprotektív hatásának bizonyult PACAP ebben a dózisban a kis létszám miatt tendenciájában hatásosnak bizonyult a különböző funkcionális tesztekben. Az immunhisztokémiai eredményeknek megfelelően, mely szerint a diffúz axonális károsodást mennyiségét szignifikánsan csökkentette a cortikospinális pálya agytörzsi szakaszában, képes szignifikánsan javítani a trauma után létrejött károsodott motoros funkciókat, valamint trauma utáni szorongás-gátló hatása is megfigyelhető volt. Mindezen eredmények alapján szükség lenne több állaton is elvégezni a tesztek a pontosabb eredmények érdekében.

A különböző súlyosságú koponyasérülés hatására a gerincvelőben létrejövő, eddig fel nem ismert diffúz axonális károsodással kapcsolatos vizsgálatokat több fórumon publikáltuk, s végleges peer reviewed közlése heteken belül várható.

Sajnos a kongresszusi kiadványban már részben leírt megfigyelésünket, mely szerint a diffúz axonális károsodás hatására létrejövő axonális permeabilitási zavar a trauma előtt adott calpain-inhibitorral kivédhető lehet, peer reviewed közlés formájában nem sikerült megjelentetni; eredményeinket az Acta Neurochirurgicába „major revision” után a napokban küldtük el ismét, azok elfogadását remélve.

A PTE ÁOK OEC Idegsebészeti Klinikán kezelt súlyos koponyasérültek liquor és szérum mintáinak és klinikai adatainak elemzése a fenti kollaborációs tanulmányok részeként folyamatos. Magyarországon először a multimodális neuromonitorozás részeként az intracraniális nyomásmérést a már említett Licox- monitorral egészítettük ki illetve Betegeink egy részét a spreading depression kutatását végző COSBID tanulmányba is bevezetve lehetőségünk nyílt strip-elektroddal a posttraumás spreading depression- monitorizálásra is.

A klinikai adatbázis feldolgozása során a morbiditási-mortalitási esélyeket meghatározó, az intézményi ellátás auditálására is lehetőséget nyújtó, a Marshall score és a Rotterdam score validálásán, továbbfejlesztésén alapuló CT-klasszifikációs rendszert dolgoztunk ki, melyet 99 egymás utáni eset adatainak elemzése alapján írtunk le, illetve a kutatás végére több, mint 120 beteg adataival validáltunk.

A klinikai és kísérletes vizsgálatok eredményét, a kóreredetről illetve kísérletes therapiás lehetőségekről alkotott nézeteinket összegző összefoglaló tanulmányokat jelentettünk meg, melyek közül az acta Neurochirurgicában megjelent tanulmányt a ez Európai Idegsebészet glasgow-i kongresszusán mint a folyóirat 2006-2007 közti időszaka harmadik legtöbbet idézett dolgozatát említették.

A három éves kutatómunka a munkacsoport véleménye szerint a fő célkitűzéseket teljesítette; Ennek során 20 közlemény, könyvfejezet és kongresszusi kivonat született, a peer reviewed közlemények kumulatív impakt faktora 17 feletti.