

Az atherosclerosis új rizikófaktorai

Dr. Heltai Krisztina

PhD dolgozat

2008.

Tartalomjegyzék:

1. Bevezetés
 - 1.1. Gyulladás
 - 1.2. Autoimmun folyamatok
 - 1.3. CRP
 - 1.4. Infekció
 - 1.4.1. Vírusok és az atherosclerosis
 - 1.4.2. Baktériumok és az atherosclerosis
 - 1.4.2.1. Chlamydia pneumoniae
 - 1.4.3. Az összesített „pathogen terhelés” elmélete
2. Célkitűzések
3. Vizsgálatok
 - 3.1. 1. vizsgálat
 - 3.1.1. Célkitűzés
 - 3.1.2. Beteganyag és módszer
 - 3.1.3. Eredmények
 - 3.2. 2. vizsgálat
 - 3.2.1. Célkitűzés
 - 3.2.2. Beteganyag és módszer
 - 3.2.3. Eredmények
 - 3.3. 3. vizsgálat
 - 3.3.1. Célkitűzés
 - 3.3.2. Beteganyag és módszer
 - 3.3.3. Eredmények
 - 3.4. 4. vizsgálat
 - 3.4.1. Célkitűzés
 - 3.4.2. Beteganyag és módszer
 - 3.4.3. Eredmények
4. Megbeszélés
5. Összefoglalás
6. Következtetések és új megállapítások
7. Irodalomjegyzék

1. Bevezetés

Az atherosclerosis és atherothrombosis a fejlett világ népbetegsége, vezető helyet foglal el a halálozási statisztikában.

Férfiaknál 45 év felett, nőknél 65 év felett a vezető halálok a cardiovascularis megbetegedés, ez Magyarországon évente 100 000 lakosra 720 keringési betegségből adódó halált jelent. Figyelembe véve a korai halálozást és a munkaképesség csökkenést az atherosclerotikus érbetegségek jelentős népegészségügyi tényezőt jelentenek.

A myocardiális infartus, a stroke és a perifériás érbetegség ugyanannak a kórfolyamatnak, az érrendszer különböző helyein való megnyilvánulását jelentik.

Az atherosclerosis multifaktoriális betegség, a hagyományos rizikótényezőkkel - dohányzás, hypertonia, kor, nem, magas koleszterin és TG értékek, az obesitás, diabetes - csak 50%-ban magyarázhatjuk a betegség kialakulását. Ezért fordult az utóbbi évtizedekben az érdeklődés az atherosclerosis egyéb rizikótényezőinek kutatása felé.

1.1. Gyulladás

Az atherosclerosis az elmúlt évtizedekben gyulladásos betegségnek tartjuk (58), bár a gondolat, hogy az infekció hozzájárulhat az atherosclerosishoz már az 1800-as évek végétől él. Figyelemre méltó Frothingham gondolata 1911-ben, hogy: „Az öregkor sclerosisa a fertőző és metabolikus toxinok következtében kialakult léziók összessége.”

Az egészséges érrendszer fenntartásában és a fiziológias működés biztosításában a legfontosabb szerepe az endotheliumnak van. Az egészséges endothelium három fő szabályozó rendszeren keresztül tartja meg integritását. (55)

1. Az endothelium által termelt NO, mely vazodilatátor, antiatherogen és thrombocytá aggregáció gátló. A NO gátolja az adheziós molekulák (ICAM-1, VCAM-1, P-szelektin, MCP-1) termelődését és expresszióját.

2. Az endothelium által termelt endonukleotidáz révén gátolja az ATP, és főleg az ADP lebontása révén a thrombocytá aktivációt.

3. Prostacyclin szintézis révén, mely thrombocytá gátló, proliferációgátló, vasodilatátor.

A betegség kialakulásában az endothelium megváltozott működése a legfontosabb tényező.

Az atherosclerosis pathogenézisének alapjaként 1976-ban Ross fogalmazta meg a „response to injury” elméletet, mely szerint a folyamat kezdete az endothel dysfunkciója, sérülése, ez után alakul ki a gyulladós folyamat. (60)

Az oxidációs hypothézis alapján a dyslipidaemia miatt modifikált oxLDL –t a macrofágokká aktiválódott monocyták felveszik, és így habossejteké alakulnak, mely az atherosclerotikus folyamat kialakulásának első lépcsője (56, 61). In vivo és in vitro vizsgálatok szerint endothel dysfunkció esetén az érfalban a T lymphocyták felhalmozódása is megkezdődik (60).

Az oxLDL, a macrofágok és T lymphocyták ezek után cytokinek (tumor necrosis factor /TNFá/, interleukin 1 /IL1/ IL-6, IL-8,) és adheziós molekulák (intercelluláris adheziós molekula /ICAM/ , vasculáris adheziós molekula /VCAM/, P-szelektin) termelődését váltják ki, melyek az endothel károsodását tovább fokozzák direkt módon, valamint a NO szintézis gátlása révén. Állatkísérletek szerint egyes antioxidánsokkal ezt a folyamatot lassítani, illetve visszafordítani lehet.(38)

Egyre több adat szól amellett is, hogy az acut coronaria syndroma kialakulásában is a lokális és systémás gyulladós folyamatoknak van döntő szerepe.(47) Az inflammációs faktorok (cytokinek, adheziós molekulák) hatására a plakk vulnerábilissá válik, a cytokinek hatására locális vasoconstriktív folyamatok is aktiválódnak. Ezek együttesen vezetnek a plakk rupturájához, majd a thrombocytá aggregációhoz és thrombozishoz, mely az acut coronaria syndroma kialakulásának mehanizmusa. Acut coronaria syndroma miatt meghalt emberek coronaria arteria plakkjainak histologiai feldolgozása során azt találták, hogy ezen plakkok domináns sejtjei a macrofágok és T lymphocyták, tehát az aktivált gyulladós sejtek, ami gyulladós folyamatok szerepére utal a plakk rupturában (36). A plakkok anyagában stabil anginában 2,2%, instabil anginában 7,8%, myocardialis infarctusban 18,5% volt az aktivált T lymphocytá. Ezen túlmenően coronaria beteg emberek atherectómiás anyagában azt találták, hogy a plakkban található interleukin 2 receptor pozitív T lymphocyták aránya összefüggést mutat a coronaria betegség súlyosságával, stabil anginában 52%-ban, instabil anginában 78%-ban, acut myocardialis infarctusban a 90%-ban találták meg ezeket a sejteket.(47)

1.2. Autoimmun folyamatok:

A gyulladásszerű és immunológiai folyamatok közül legtöbb bizonyíték az oxidált low density lipoprotein (oxLDL) és a heat shock proteinek (HSP) szerepéről áll rendelkezésre (33, 61).

A heat shock proteinek az élővilágban a baktériumoktól az emberig előforduló fehérjék melyek a sejtek integritását hivatottak biztosítani. Szerkezetük a különböző speciosekben nagy hasonlóságot mutat, a prokaryotáktól az emberig.

Direkt károsító hatásként a *Chlamydia pneumoniae* HSP 60 képes indukálni a monocytákban az LDL oxidációt, a simaizom proliferációt, a habossejt képződést és a leukocita migrációt (35). A *Chlamydia pneumoniae* HSP 60 fokozza a macrophagok TNF alfa képződését és a mátrix metalloproteináz termelést, melyek cytotoxikus hatásúak és az atherogenesis fokozzák (28, 10, 66). A bakteriális eredetű heat shock proteinek ellen a szervezetekben erős ellenanyag-képződés indul meg, és ezek az ellenanyagok szintén kifejezetten cytotoxikus hatásúak. Közvetett hatásként a *Chlamydia pneumoniae* HSP 60 és 65 –je nagy hasonlóságot mutat az emberi HSP 60-65-tel, ezért lehetőség van a „molekuláris mimikri” mehanizmus alapján arra, hogy a *Chlamydia* HSP 60-65 a humán HSP 60-65 ellenanyag képződését indukálja, ennek endothel károsító, cytotoxikus hatásával együtt (42, 67).

Az eddig végzett vizsgálatok a HSP 60-65 szint, az anti HSP 60-65 ellenanyag szint és az atherosclerosis súlyosságának kapcsolatát bizonyították (66).

- Összefüggés van az emelkedett HSP 60-65 ellenanyagszint és a coronaria betegség progressziója, valamint a későbbi mortalitás között (6).
- Laboratóriumi körülmények között bizonyították, hogy a vérben mérhető emelkedett mycobacterialis HSP 65 (mely gyakorlatilag azonos a humán HSP 60-nal) szint a carotis ereken az atherosclerosis progresszióját okozta függetlenül az egyéb, ismert rizikótényezőktől (41).
- Az emelkedett HSP 65 ellenanyag szint szoros kapcsolatban van az atherosclerotikus betegségek 5 éves mortalitásával (35).
- Az emelkedett *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, CMV ellenes ellenanyagok és a bakteriális HSP 65 szintek mellett a carotis és femorális arterián az atherosclerosis progresszióját volt megfigyelhető, melyet ultrahang vizsgálat paramétereivel bizonyítottak.

- Emelkedett mycobacterialis HSP 65 szintet találtak atherosclerotikus carotis betegség, coronaria betegség és hypertonia esetén.
- Emelkedett humán HSP 60 szintet találtak perifériás vasculáris atherosclerotikus betegség esetén.
- Hypertonia illetve atherosclerosis esetén az arteriákban a „shear stress” HSP 60 képződést indukál, az erre adott immunválaszként megjelenő HSP 60 ellenes ellenanyag azután tovább rontja az ér állapotát.
- Prognostikai értékűnek találták a. carotis betegsége esetén a HSP 60, 65 szintet az 5 éves mortalitás vonatkozásában (52, 67).

Mivel az atherosclerosis kialakulásában a krónikus infekciónak és az autóimmun folyamatoknak a szerepe egyre kevésbé vitatható, számos vizsgálatot terveztek annak eldöntésére, hogy a két folyamatnak együttesen milyen hatása van a tüneteket okozó, kezelendő, manifest coronaria betegség kialakulására. Ezen vizsgálatokban azt találták, hogy a Chlamydia pneumoniae ellenanyag és a HSP 60-65 ellenanyag szint együttesen emelkedet szintje a coronaria, illetve a perifériás arteriákban kialakuló atherosclerosis rizikóját jelentősen emeli (28,10) A mycobacterialis és humán HSP és HSP ellenes ellenanyagok közötti kapcsolat tisztázásra vár(27).

1.3. CRP

A CRP szint és a kardiovasculáris betegségek közötti kapcsolat vizsgálata évek óta foglalkoztatja a kutatókat.

A CRP-t hagyományosan aspecifikus gyulladási markerként tartjuk számon. Amellett, hogy a gyulladási állapot jelzője és így a gyulladási eltérésnek tartott atherosclerotikus folyamat jellemző paramétere, önmagában a megindult atherosclerotikus folyamat további progresszióját okozhatja.

Ezt mutatja, hogy humán köldökvénából vett endothel sejteken a CRP képes aktiválni az endothel sejteket és ICAM-1 termelést indukálni, hasonlóan az IL-1-hez. Ehhez hasonlóan humán endothel sejteken végzett vizsgálat szerint a CRP képes aktiválni a monocyták kemotaktikus protein 1 képzését, mely szintén az atherosclerosis progresszióját segíti elő.(55, 64)

A fokozott mértékben termelődő cytokinek és adhéziós molekulák visszahatva fokozzák a májban a CRP (mint acut fázis fehérje) termelődését, majd „circulus vitiosus”-ként a

CRP maga is képes az activált endothel sejtek ICAM, VCAM, IL 6, E-selectin képzését fokozni, ami a betegség progresszióját okozhatja (17, 55, 64).

A CRP koncentráció meghatározás metodikájának továbbfejlesztésével lehetővé vált a pontos mérés alacsony koncentrációjú tartományban is. Ez tette lehetővé annak a felismerését, hogy emelkedett CRP szint esetén általában az atherosclerotikus érbetegség és a coronaria betegség súlyossága fokozódik, ezért ma már a CRP szintet a kardiovasculáris betegségek rizikófaktorának tartjuk, bár ennek a mechanizmusa nem tisztázott (64).

A CRP szint és az atherosclerotikus betegségek közötti kapcsolat vizsgálata két nagy csoportban zajlik. Az egyikben stabil coronaria vagy perifériás értegek nyugalmi vérmintáit elemezve, alacsony koncentrációjú CRP szintek és ezek kis eltérései esetén találtak összefüggést a magasabb nyugalmi CRP szint és a későbbi kardiovasculáris mortalitás, illetve morbiditás között.

A vizsgált csoportokban az átlagos CRP szint közötti különbség csak 1mg/l volt, tehát pl. 2,8 mg/l és 3,8 mg/l a két vizsgált csoportban. Az alacsony illetve magas CRP közötti különbséget a legtöbb vizsgáló 3mg/l-nél határozta meg. A CRP emelkedésének ez a mértéke semmiképpen nem hasonlítható az acut infekciós kórképek (pneumonia, cholecystitis, pyelonephritis) százas nagyságrendű CRP emelkedéséhez, tehát a folyamat pathofiziológiája feltehetően nem azonos az acut infekciók során kialakult változásokkal (16).

Fontos megállapítani, hogy ezekben a vizsgálatokban mindig a kiindulási CRP-t elemzünk, hiszen a CRP, mint acut fázis fehérje acut coronaria syndroma, illetve myocardiális infarctus következtében, valamint a mai általános ellátás (invazív beavatkozások) következtében jelentősen megemelkedik.(50)

- Összefüggést talált szinte minden vizsgáló a CRP szint és az acut coronaria syndroma kialakulása, illetve prognózisa (későbbi major kardiális esemény kialakulása, kardiális eredetű halálozás) között, ezért a CRP szintet a rizikó felmérés egyik elemének tartjuk férfiakban és nőkben egyaránt. (47,64).
- 2005-ben megjelent adat szerint egy vizsgálatban a CRP szint a korai és késői halálozással is összefüggést mutatott, de nem jelezte a későbbi infarctus kialakulását (3, 16).

A vizsgálatok másik nagy csoportjában az acut coronaria syndroma különböző formáiban (instabil angina, STEMI, NSTEMI) vizsgálták a kiindulási CRP szint és a kardiovasculáris prognózis kapcsolatát. Acut coronaria syndromában a CRP szint (mint acut fázis fehérje) változása a myocardialis necrosisra adott direct válasza a szervezetnek, az értékek emelkedése az infarctus kialakulása után 6 órával kezdődik és az emelkedés kb. 50 óráig tart. A troponin érték specifikus és érzékeny markere a myocardialis necrosis mértékének.

- Nem ST elevációs acut coronaria syndroma esetén kapcsolat van a CRP szint és a myocardialis infarctus halálozása között. Ugyanakkor nincs összefüggés az emelkedett CRP és a troponin szint között, ami arra utal, hogy a myocardialis necrosis és hosszú távú prognózis szempontjából a magas rizikót jelentő két paraméter egymástól független tényező. Az aspirin kezelés mindkét paraméter csökkenését okozta. (31)
- A TIMI 11A alvizsgálatában, ha a $CRP \geq 15,5$ mg/l és a troponin szint negatív volt, akkor a 14 napos halálozás 5,8% volt, szemben a troponin negatív és $CRP < 15,5$ mg/l csoport 0,4%-os 14 napos mortalitásával (ebben a vizsgálatban a troponin negativitást 0,2 mikrogramm/l alatti értéknél modták ki a helyi laborvizsgálat alapján, tudomásul véve, hogy ha a határértéket 0,1 mikrogramm/l állapítják meg akkor sokkal több troponin pozitív eset lett volna)(31).
- Több vizsgálat anyagát feldolgozva megállapították, hogy a cardiovascularis betegségek rizikóját a magasabb CRP szint 1,5-2,5 szörösére emeli. A FRISC (Fragmin during instability in coronary artery disease) vizsgálatban pl. a 10 mg/l feletti CRP szint 2,3x-osára, míg az életkor 1,6x-osára, a diabetes megléte 2,3x-osára, az anamnezisben lévő szívelégtelenség 1,8x-osára, a 0,06 és 0,59 mikrogramm/l közötti troponin T érték 6,4x-esére, míg a 0,6 mikrogramm/l feletti troponin T érték 10,8x-osára növelte a coronaria történéis rizikóját. Ezek szerint a CRP szint a magas troponin értékkel és a diabattessel azonos erejű rizikótényező.(39)
- A GUSTO IV vizsgálat (Global Utilization of Strategies to Open occluded arteries) 7108 beteg bevonásával készült, és azt találták, hogy magasabb CRP mellett az átlagos troponin szint is magasabb volt. A vizsgálat összesített eredménye azt mutatta, hogy a troponin és CRP szint együttes emelkedése

esetén növekszik a 30 napos mortalitás (OR:1,63). A CRP és troponin egymástól statisztikailag független rizikótényezőknek bizonyultak. Az újabb infarctus kialakulásának kockázatát csak a troponin szint befolyásolta, a CRP szint emelkedése nem növelte az MI kockázatát, „csak” a mortalitást.(50)

- Predictiv szerepe van a CRP szintnek a stroke, a perifériás érbetegségek alakulása szempontjából is. (64)

Mindezek alapján az irodalom egységes abban, hogy az emelkedett CRP és HDL koleszterin szint együttesen ma az atherosclerotikus érbetegség egyik legerősebb rizikó tényezőjének számít (17).

Az atherosclerotikus coronaria betegség kezelésében ma már kötelezően használt statinok a lipid paraméterek változtatása mellett antiinflammatorikus és antiploriferatív hatással is rendelkeznek, a cytokinek és adheziós molekulák termelésének csökkentésével, a NO szint javításával, a CRP, és a serum amyloid szint csökkentésével. Az előbb felsorolt hatások a rosuvastatin és az atorvastatin esetén kifejezettebben érvényesülnek, mint a simvastatinnál. Ezek a hatások bizonyítottan függetlenek az átlánosságban használt acetylsalicylsav gyulladáscsökkentő hatásától. Így a statinok, főleg ezek egyes fajtái a kardiovasculáris morbiditást és mortalitást kedvezően befolyásolják a lipidparaméterek változtatásán túl a gyulladással kapcsolatos paraméterek, a CRP kedvező irányú változtatásával is(7,14, 16).

1.4. Infekció

Számos adat szól amellett, hogy a krónikus infekció és az atherosclerosis progressziója között összefüggés áll fenn.

Az elmúlt években a kutatások célja a krónikus infekció és az atherosclerotikus érbetegségek közötti ok-okozati kapcsolat kimutatása volt. Ezen vizsgálatok 5 csoportba oszthatóak (61):

1. Seroepidemiológiai vizsgálatok,
2. Állatkísérletes és humán patológiai vizsgálatok, melynek során atherosclerotikus leziókból megpróbálják kimutatni vagy magát a kórokozót (elektronmikroskóppal, vagy tenyésztéssel) vagy annak jellegzetes sejtkomponenseit (immunhistokémia, PCR)
3. A kórokozók által elindított lehetséges mechanizmusok, elsősorban molekuláris változások vizsgálata in vitro körülmények között fertőzött sejtekben.

4. Állatkísérletes vizsgálatok, melyek annak felderítésére irányulnak, hogy a kórokozók elindíthatják-e, illetve fokozhatják-e az atherosclerotikus folyamatot, valamint, hogy a fertőzött állatok antibiotikum kezelésével ezen változások megelőzhetőek vagy megállíthatóak e?

5. Klinikai vizsgálatok érbeteg, illetve coronaria beteg embereken, melyek során az antibiotikum kezelés hatását vizsgálják az érbetegség progressziójára, a következő coronaria történések kialakulására (61).

Az atherosclerosis pathogenésisében „gyanúba kerülő” kórokozók a vírusok és a baktériumok köréből kerültek ki.

1.4.1. Vírusok és az atherosclerosis:

1970-ben Fabricant és munkatársai találtak először kapcsolatot állatkísérletekben a cytomegalovírus (CMV) infekció és az atherosclerosis között. Kimutatták, hogy normocholesterinaemiás csirkében a szárnyas herpes vírus (Marek-disease herpesvírus, amelyet Marek József magyar állatorvosról neveztek el) infekció elindíthatja az atherosclerotikus eltéréseket és növeli a koleszterin-észter akkumulációját az aorta simaizom sejtjeiben (37).

A humán seroepidemiológiai vizsgálatok kevésbé meggyőző eredményekkel zárultak a CMV infekció és a natív ér atherosclerosis közötti kapcsolat vonatkozásában és negatív eredményűek voltak a restenosis, illetve a transplantációs atherosclerosis tekintetében.

Megjegyzendő, hogy a CMV nagyarányú átvészeltése (50-100% a vizsgált populáció életkorától és szociális helyzetétől függően) nehézzé teszi az atherosclerotikus betegek és a kontroll egyének serologiai összehasonlítását.

Egyéb vírusok (herpes simplex, coxsackie, hepatitis A, influenza-vírusok) kóroki szerepe még bizonytalanabb(58).

1.4.2. A baktériumok és az atherosclerosis:

A baktériumok közül az érbetegség lehetséges kórokozói jelen tudásunk szerint a Chlamydia pneumoniae, a Helicobacter pylori, és az odontopathogének, így a Porphyromonas gingivalis és a Streptococcus sanguis. Ezek közül a legfontosabb szerepet a Chlamydia pneumoniae tulajdonítjuk (37).

Helicobacter pylori

A *H. pylori* kóroki szerepét kisebb humán seroepidemiológiai vizsgálatok vetették fel. Jelenleg nincsenek sem experimentális vizsgálatok, sem állatkísérletes modellek melyek a *H. pylori* proatherogen szerepét bizonyítják, és nagyobb humán seroepidemiológiai vizsgálatok sem támasztották alá kóroki szerepét. Meggyőzőnek tűnő érv a *H. pylori* kóroki szerepe ellen, hogy a humán atherosclerotikus szövetek szövettani vizsgálata negatív eredménnyel zárult (41).

Odontopathogének- *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus sanguis*

Néhány vizsgálat azt mutatta, hogy a periodontitis, vagy a fogak elvesztése felnőtt korban fokozza a coronariabetegség, illetve a stroke rizikóját, de számos kérdés nyitva maradt. A pathogének direkt kimutatása a humán atherosclerotikus szövetből nem sikerült. Kisebb vizsgálatokban periodontitis esetében emelkedett fibrinogen és VIII factor szintet találtak. Kezelés hatására vonatkozó vizsgálat nem történt (2).

1.4.2.1. Chlamydia pneumoniae

A *C. pneumoniae*et először 1965-ben izolálták konjunktiva váladékból, majd 1983-ban egy pharyngitises beteg torokmosófolyadékából, de ekkor még nem tartották új speciesnek az izolátumokat. Azt, hogy új speciesről van szó 1989-ben ismerték fel, ekkor sorolták a Chlamydiaceae családba (a legújabb taxonomiai átsorolás kapcsán *Chlamydophila pneumoniae*-nak nevezték), amelybe a *C. trachomatis* és a *C. psittaci* is tartoznak (8, 21).

A *C. pneumoniae* kicsi, Gram negatív, intracelluláris, „parazita” baktérium, mely a gazdasejtben növekszik, és ott hosszan túlél. Egyedülálló életciklusa van. Az extracelluláris elemetáris test nem szaporodik, de fertőzőképes, az intracelluláris reticuláris test a szaporodó forma, ez metabolikusan aktív, nem fertőzőképes. Legújabb ismereteink szerint létezik a kórokozó intracelluláris perzisztáló alakja is, mely a többi formánál nagyobb mennyiségben expresszálja a bakteriális heat shock proteineket (HSP) és ez a forma elveszti antibiotikum érzékenységét. A gazdasejtek sokfélék lehetnek, köztük a macrophagok is, melyek valószínűleg szerepet játszanak a baktériumok disszeminációjában (22, 44, 65).

A lakosság átfertőződése igen magas arányú. 5 évnél fiatalabb gyermekben is találtak IgG pozitivitást, a 20 éves korosztály IgG pozitivitása pedig már 50%. A seropozitivitás

aránya a korról tovább növekszik, maximumát 65 év körül éri el, férfiaknál 80, nőknél 70%-kal.

Seroepidemiológiai adatok:

Több retrospektív seroepidemiológiai vizsgálat (13, 18, 37) eredményeinek összesítése kezdetben egybehangozóan azt mutatta, hogy a *C. pneumoniae* seropozitivitás legalább kétszeresére növeli a coronariabetegség rizikóját a seronegatív kontrollokhoz képest. Ezen korai eredmények után terveztek prospektív vizsgálatokat, melyekben az eredményeket megkísérelték a lehető legtöbb változó figyelembevételével értékelni. Danesh és munkatársai 2002-ben 25 vizsgálat adatait foglalták össze. Ezekben nem tudtak kimutatni szignifikáns összefüggést a *C. pneumoniae* ellenanyag titer pozitívítás és a cardiovasculáris betegségek között. IgG-t mértek 15 vizsgálatban, 3169 esetben (összesített OR: 1,15, 95% CI 0,97-1,36), míg IgA-t határoztak meg tíz vizsgálatban, 2283 esetben, (összesített OR: 1,25 CI: 1,03-1,53) (32,37,54).

Ma már általános vélemény, hogy a seroepidemiológiai vizsgálatok értékelésénél több tényezőt és módszertani hiányosságot kell figyelembe vennünk. A seroepidemiológiai vizsgálati módszer mai tudásunk szerint nem alkalmas az infekció etiológiájának bizonyítására, de alapvető jelentőségűnek kell tekinteni ezt a megközelítést, mert felhívta a figyelmet az összefüggés lehetőségére és klinikai konzekvenciáira.

A teljes lakosság magas seropozitivitása jelentősen megnehezíti a beteg és kontroll csoport seropozitivitási arányainak összehasonlítását. A cardiovasculáris betegségek is éppen abban az életkorban a leggyakoribbak, amelyben a *C. pneumoniae* seropozitivitás is kb. 80%. Másodsor, a *C. pneumoniae* ellenes ellenanyag kimutatására használt ELISA és microimmunfluorescens módszer különböző laboratóriumok közötti reprodukálhatósága problematikus, eltérően értékelik a seropozitivitást. A vizsgálatokban általában chlamydia immunkomplexet, illetve lipopolysacharidot használtak az infekció kimutatására, melyek keresztreakciót mutathatnak más antigénekkal, például a cardiolipinnel, ami szintén kapcsolatba hozható a cardiovasculáris betegségekkel. A retrospektív vizsgálatokban az eredmények értékelésénél több vizsgálatban nem vették figyelembe a dohányzást, ami ismert fontos rizikófaktora a cardiovasculáris betegségeknek és a *C. pneumoniae* által okozott légúti infekcióknak egyaránt. A *C. pneumoniae* ellenes ellenanyag szint nem stabilan

állandó, hanem fluktuál egy embert vizsgálva különböző életkorban, aminek a lehetőségét az infekció időpontjának megállapításánál mérlegelni kell(9).

Szövetteni vizsgálatok (bakterium partikulák, antigének, nucleinsav kimutatása:

C. pneumoniae több módszerrel lehet kimutatni az atherosclerotikus szövetmintákból. Megfigyelhetik a baktérium partikulákat elektronmikroszkópos vizsgálattal, meghatározhatják a kórokozó antigénjeit immunhistokémiai módszerekkel, és kimutathatják a baktérium DNS-t in-situ hybridizációval, vagy PCR módszerrel az atheromából. A 2002 októbere előtt közölt 43 vizsgálat adatait együttesen értékelve összesen 1852 atheromatosus szövetmintából 46%-ban mutatták ki ezen módszerekkel a C. pneumoniae, míg összesen 239 egészséges artériákból csak kevesebb, mint 1%-ban. A C. pneumoniae kimutatásának valószínűsége nagyobb, ha a PCR és immunhistokémiai módszereket kombinálnak. A baktérium kimutatása az atheromából kevésbé korrelált az ellenanyag kimutatással elért eredményekkel, mivel az emelkedett IgG titer nem megbízható jelzője az intravasculáris jelenlétnek (29, 37, 63).

A Chlamydia pneumoniae által előidézett molekuláris változások:

A Chlamydia pneumoniae képes az atherosclerosis szempontjából releváns sejtek (monocyta, macrophag, endotheliális sejt, érfa simaizomsejt) megfertőzésére és elősegíti azokat a változásokat, melyek az atherotrombosis progresszióját okozzák, úgy, mint a plakk ruptura, valamint a thrombosis, ezen belül a prokoagulációs effektusok, a „habos sejt” kialakulása, a gyulladásos cytokinek és az adheziós molekulák felszaporodása, a metalloproteinázok szintjének növekedése, a simaizomsejtek migrációja és progressziója (38,60).

A Chlamydia pneumoniae direct és indirect hatásokkal károsítja az érfa falát.

Direkt hatás:

Az infekció direkt hatásának tulajdonítható az artériák falában a simaizom proliferáció, valamint az endothel sérülése, mely endotoxin felszabadulással, hypercoagulabilitással jár (13).

Indirekt hatások:

- A C. pneumoniae lipopolysacharid komponense, ami egy erős, rövid, hydrophil sav összekapcsolódik a szérumban lévő HDL és LDL molekulákkal, ezáltal

megváltoztatva azok relatív koncentrációját. A *C. pneumoniae* lipopolysacharidja az LDL-hez kapcsolódva modifikálja a molekulát, ezáltal immun és endotheliális sejtekre toxikus hatást fejt ki. A modifikált LDL-t a macrophágok felveszik és „habos sejtek”-ké alakulnak, mely az atherosclerotikus plakk kialakulásának első fázisát jelentik. Meg kell jegyezni azonban, hogy a *C. trachomatis* is fokozza a LDL felvételt és a macrophágok „habos sejtek”-ké történő átalakulását. Kérdés tehát, hogy miért csak a *C. pneumoniae* hozható kapcsolatba az atherosclerosis kialakulásával (1, 41).

- A *C. pneumoniae* fertőzés következtében a proinflammatorikus cytokinek termelődése mellett, illetve ennek következtében a normál, protektív HDL molekula proinflammatorikus és proatherogenetikus HDL molekulává alakulhat át (20).
- A *C. pneumoniae* lipopolysacharidja indukálja a TNF-alfa és az IL 2 képződést, melyek gátolják a lipoprotein lipáz aktivitását, így emelik a triglycerid szintet. A TNF-alfa másrészt cytokineket aktivál, ami a simaizomsejtek proliferációjával és migrációjával jár. Ennek következtében az LDL megkötéséhez szükséges proteoglycan mátrix secretióját megváltoztatják, így az LDL szint növekedését okozzák.
- A TNF-alfának jelentős szerepe van a nitrogén oxid (NO) szint csökkentésében. A NO meghatározó az endothel sejt alapállapotának fenntartásában és az erek bazális tónusának kialakításában, csökkenti a thrombocytá aggregációt és a leukocytá adheziót valamint a simaizomsejt proliferációt. A TNF-alfa csökkenti a NO szintet az szintjét, csökkentve ezzel a NO szintet.
- A *C. pneumoniae* képes fokozni a mátrix degradációs metalloproteinase szintjét, mely képes gyengíteni a plakk szerkezetét, így szerepe lehet a plakk rupturájában.
- A *C. pneumoniae* lipopolysacharid fokozza a vascularis permeabilitást, a leukocyták kemotaxisát így az alvadási mechanizmusokat, ezen belül is növeli a fibrinogén szintet, mely a thrombocytá aggregáció co-faktora.
- A *C. pneumoniae* infekció indukálja a leukocytá adheziós molekulák (E selectin, intercellularis adheziós molekula 1./ICAM 1/, vascularis sejt adheziós molekula 1 /VCAM 1/) és a gyulladásos cytokinek (IL1., IL6 , TNF alfa) expresszióját az

atheromával kapcsolatos sejtekben, például az endothel sejtekben. Ennek következménye a leukocyták fokozott adheziója, migrációja és az intima sejteinek gyulladása, mely atherogen tényező (13, 15, 56, 68).

- A *C. pneumoniae* infekció humán sejtek esetében in vitro stimulálni tudja a gyulladással transsendotheliális migrációját, amely beindíthatja a gyulladással mediátorok szekrécióját.
- A legújabb vizsgálatok azt mutatták (10, 37), hogy a bakteriális endotoxinok és a bakteriális HSP kapcsolatba tudnak lépni az úgynevezett „Toll-like” receptorokkal, amelyeken keresztül aktiválják a proinflammatorikus géneket és az immunválaszt. (A „Toll-like” receptorok a patogének és más idegen anyagok molekuláris mintázatát felismerő receptorok egy családját alkotják, melyek főleg antigén prezentáló sejteken, így macrophágokon és dendritikus sejteken fejeződnek ki.)
- Emberi és tengerimalac erek vizsgálatával az is bizonyítást nyert, hogy a Toll-like receptorok megtalálhatók az atheromatosis szövet macrophágban gazdag területein, az oxidált LDL növeli a Toll-like receptorok expresszióját. Tehát a Toll-like receptorokon keresztül is kapcsolódhatnak egymáshoz a lipideltérések és az infekció atherogén hatásai (37).
- A *C. pneumoniae* HSP 60 antigénje ellen termelődő ellenanyagok endothel károsító cytotoxikus anyagok, melyeknek érfalkárosító hatása messze az infekció helyétől is érvényesülni tud. Ennek magyarázata lehet, hogy a *C. pneumoniae* HSP 60 komponense nagyban hasonló szerkezetű a humán HSP 60-nal, így a „molekuláris mimikri” elméletének megfelelően a humán sejtekkel homológ antigént hordó infektív ágens a szervezetben autoantigének elleni autoimmunválaszt provokál és az így termelődött ellenanyagok cytotoxikus hatásúak (1, 37, 48, 55).

Állatkísérletek:

A Koch postulatumok szerint a kórokozó és a betegség közötti kapcsolat bizonyításához 3 feltételnek kell teljesülnie. A kórokozót ki kell tudni mutatni betegség esetén, majd izolálva a kórokozót és egészséges szervezetbe oltva újra ki kell tudni váltani ugyanazt

a betegséget. Végül az így megbetegített szervezetből ugyanazt az organizmust kell tudni kimutatni melyet kezdetben kórokozónak véltünk.

Számos experimentális vizsgálat történt, mely a Koch féle posztulátumok alapján bizonyítani tudta, a *C. pneumoniae*-nak mint patogénnek a szerepét az atherosclerosisban.

A vizsgálatok metodikai alapja a természetes infekció modellezése volt. Az állatot respiratorikus úton fertőzték, majd vizsgálták az érszövetekben az atherosclerosis kialakulását, illetve az atheromákban a kórokozó jelenlétét (37).

- Újzélandi fehér nyulakon nem alakul ki natív atherosclerosis normál diéta mellett csak hyperlipidémiás diéta alkalmazásakor, ezért ezeket az állatokat gyakran használják azokban a kísérletekben, melyekben különböző ágensek atherogén hatását vizsgálják. Fong és munkatársai 3 vizsgálati csoportot képeztek a nyulakból. Intranasálisan fertőzték az állatokat *C. pneumoniae*-val, és az első csoportot nem kezelték, a második csoportot a fertőzés után 5 nappal, a harmadikat 2 héttel később kezdték kezelni clarithromycinnel. A fertőzés után mindhárom csoportban elkezdődött az atherosclerotikus folyamat, de a kezelt csoportban a leziók kiterjedése szignifikánsan kisebb volt, és a korán kezdett kezelés hatékonyabbnak bizonyult (19).
- C57BL/6J (apo E hiányos) egereken *C. pneumoniae* többszöri intranasális bejuttatásával krónikus fertőzést hoztak létre, ehhez társították az egerek egy csoportján a zsírdús diétát. Az infektált és zsírdús diétán élő egerekben 18 és 24 hét múlva szignifikánsan nagyobb atherosclerotikus eltérések voltak az aortán, mint a kontroll egér csoportban (11).
- Másik vizsgálócsoport apo E hiányos egereket *C. pneumoniae*-val intranasálisan fertőzte egyszer, majd újabb 3 alkalommal, mindeközben az állatok egy része zsírszegény, másik része zsírdús diétát kapott. Egyszeri infekció után, 10 hét múlva nem volt különbség az atherosclerotikus plakkok kiterjedésében a fertőzött és a kontroll állatok között függetlenül a diétától. A további fertőzések után, 18 hét múlva a magas zsírtartalmú diétán tartott állatok atherosclerotikus elváltozásainak kiterjedése szignifikánsan nagyobb volt, mint az alacsony zsírtartalmú diéta esetén, illetve a kontroll csoportban.

Ezen vizsgálatok együttes eredményeképpen megállapítható, hogy a *C. pneumoniae* fertőzés a kísérleti állatokban kimutatható atherosclerotikus éreltéréseket okozott és ez a folyamat hyperlipémiás állatokon felgyorsult (46).

A kísérletek következő csoportjában azt vizsgálták, hogy chlamydia ellen ható antibiotikum kezeléssel befolyásolható-e a *C. pneumoniae* által előidézett atherogenesis?

Az összesített eredmények szerint az antibiotikum kezelés akkor hatásos az atherosclerotikus folyamat megállításában, illetve a megelőzésében, ha korán, a fertőzést követően 1 héten belül elkezdik.

Klinikai vizsgálatok antibiotikum kezeléssel:

A bizonyítékok, hogy a *C. pneumoniae* fertőzés képes fokozni az atherogenesisist klinikai vizsgálatok sorát indította el, melyben antibiotikum kezelést alkalmaztak coronaria beteg embereken és vizsgálták a coronaria történések változását, valamint a secunder prevenció lehetőségét. Néhány ezek közül:

- Egy 1999-ben közölt Angliában elvégzett retrospectív felmérésben, 3315, 75 éves kora előtt infarctuson átesett beteg és 13139 infarctus nélküli beteg adatait hasonlították össze kort és nemet figyelembe véve. Azt vizsgálták, hogy az infarctus követő 3 évben bármilyen indokkal adott antibiotikum kezelésnek van-e hatása a későbbi kardiális történésekre. A használt antibiotikumok a következők voltak: tetracyclin, kinolonok, penicillin, macrolid, sulfonamid, vagy cephalosporin. A tetracyclin és kinolon kezelés az infarctust követő 3 éven belül szignifikánsan csökkentette az infarctus kialakulásának esélyét (OR: 0,7 CI: 0,55-0,9 és OR: 0,45 CI: 0,21-0,95), ha az adatokat a testtömeg indexhez és a dohányzás adataihoz is igazították. Nem volt hatással az infarctus kialakulásának esélyére a penicillin (OR: 0,94), a macrolid (OR: 0,93), a cephalosporin (OR: 0,90) és a sulfonamid (OR: 1,01) kezelés.(4)
- Gupta és munkatársai 60 olyan acut myocardialis infarctus után lévő beteget vontak be egy vizsgálatba, akiknél magas (1: 64, vagy magasabb hígításban pozitív) *C. pneumoniae* IgG titert találtak. A betegeknek 3-6 napig 500 mg/nap azithromycin vagy placebo kezelést adtak. 6 és 18 hónapos követés után azokban a betegekben, akiknél az ellenanyag titer négyszeres, vagy annál

nagyobb volt, az azithromycin kezelés szignifikánsan csökkentette a következő coronaria történések számát (28% vs. 8% $p=0,03$), valamint az összes gyulladáshoz marker arányát is(44).

- Gurfinkel és munkatársai 202 instabil anginás vagy non Q infarctuson átesett beteget randomizáltak és adtak naponta kétszer 150 mg roxithromycint vagy placebót. Az antibiotikummal kezelt csoportban szignifikánsan kevesebb volt az angina, a myocardiális infarctus és a mortalitás a kezelés után 1 hónappal (2% vs. 9%, $P=0,03$), de ez a különbség 6 hónap múlva eltűnt (8, 7% vs. 14, 6%, $P=0,26\%$)(24).
- Az Azithromycin in Coronary Artery Disease: Elimination of Myocardial Infection with Chlamydia (ACADEMIC) vizsgálatban összesen 302 beteget randomizáltak myocardiális infarctus, ACBG műtét, vagy PTCA és stent beültetés után. 150 beteg kapott 3 napig napi 500 mg azithromycint, majd 3 hónapig heti 500 mg azithromycint, míg 152 beteg kapott placebót. Vizsgálták 3 és 6 hónap múlva a gyulladáshoz markerek (CRP, IL 1 és IL 6, TNF) szintjét, valamint 6, 12 és 18 hónap múlva a kardiális események alakulását. Három hónap múlva nem volt kimutatható változás, de 6 hónap múlva szignifikánsan csökkent a gyulladáshoz markerek szintje a kezelt csoportban a placebohoz képest. A kardiális események (myocardiális infarctus, instabil angina, hospitalizáció angina miatt, stroke) arányát nem befolyásolta szignifikánsan az antibiotikum kezelés sem 12, sem 18 hónap múlva (2, 44).
- A „The Weekly Intervention with Zithromax for Atherosclerosis and its Related Disorders” vizsgálat során, 7722 C. pneumoniae seropozitív beteget választottak be infarctus átvészelése után és 12 hétig kezelték őket antibiotikummal vagy placebóval. 14 hónapos követéssel nem találtak különbséget mortalitásban és major kardiális eseményekben a két csoport között.(49)
- 2005-ben a JAMA-ban jelent meg egy közlemény, mely a randomizált, kontrollált vizsgálatok metaanalízisének eredményét ismertette. 1996 és 2005 között 110 vizsgálatot végeztek, ebből 11 felelt meg a kontrollált, randomizált vizsgálat kritériumainak. A 11 vizsgálatban összesen 19 217 beteg került bevonásra. Hét tanulmány acut coronaria syndromás, 4 stabil coronaria betegeket vizsgált, a kezeléshez használt antibiotikumok: roxithromycin,

azithromycin, és clarithromycin voltak. A kezelt és nem kezelt csoportban sem a mortalitásban (4,6% vs. 4,7%), sem a myocardialis infarctusban (5,0% vs. 5,4%), sem a kombinált végpontnak meghatározott instabil angina és myocardialis infarctusban (9,2% vs. 9,6%) nem volt különbség.

Mai tudásunk szerint ennek megfelelően az antibiotikum kezelés nem indokolt a coronaria betegség egyik formájában sem a coronaria betegség kezelésére (5).

1.4.3. Összesített „pathogén terhelés” elmélete

Zhu és munkatársainak legújabb elképzelése szerint az atherotrombosis pathogenésisében az addig a beteget ért fertőzések összességének van szerepe, nem egy kórokozó által előidézett változásnak. Ez az „összesített pathogén terhelés” elmélete. Az elmélet alapja egy prospektív vizsgálat, melyben azt találták, hogy a coronaria történések rizikója annak megfelelően növekszik, hogy a vizsgált betegnél IgG titer pozitivitás alapján hány kórokozó korábbi infekcióját tudják kimutatni. Ha egy kórokozó esetén a rizikót 1szeresnek vették, akkor 4 kórokozóra vonatkozó IgG pozitivitás esetén a rizikó már 4,5 szerez, 5 vagy 6 kórokozó pozitivitása esetén pedig már több mint 6 szoros volt. A vizsgált kórokozók a cytomegalovírus, herpes simplex vírus 1, herpes simplex vírus 2., hepatitis A vírus, Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori voltak(71).

Kiechl és munkatársai vizsgálata szerint az anamnézisben található többszörös infekciós betegség (légzőszervi, húgyúti, fogászati) az ismert rizikófaktoroktól függetlenül fokozza a carotis atherosclerosis rizikóját. Feltételezésük szerint a kórokozókkal történő többszörös találkozás következtében fokozódik a szervezet gyulladáshoz való válasza, növekszik a keringő gyulladáshoz kapcsolódó markerek szintje (endotoxinok, solubilis adhéziós molekulák, humán HSP, bakteriális HSP) melyeknek az atherotrombosis kialakulásában szerepet tulajdonítunk.

Az „összesített pathogén terhelés” elmélete szerint tehát a kórokozók által előidézett krónikus infekciók összessége növeli a gyulladáshoz kapcsolódó válasz fokozódásán keresztül az atherotrombosis kialakulásának rizikóját (70).

2. CÉIKITÚZÉS

Az 1997. és 2004. között folytatott vizsgálataimban az atherosclerosis kialakulása és az infekciók valamint az autoimmun folyamatok összefüggéseit kerestem, vizsgálva ezzel az atherosclerosis esetleges új rizikófaktoraikat és ezek egymáshoz való viszonyát.

A 7 éves periódus alatt – igen gyors tempóban – a problémafelvetés egyre szélesebb körű lett, új és új szempontok kerültek előtérbe, amit igyekeztem követni, ennek megfelelően vizsgálataim meglehetősen sokszínűek, és az atherosclerosis pathogenesis különböző aspektusainak tisztázásához kívántak hozzájárulni.

- A 90-es évek első felében még a seroepidemiológiai vizsgálatok adták a metodikai alapot az infekciós pathogenesis felderítéséhez. Első vizsgálatomban így arra kerestem a választ, hogy milyen az összefüggés Magyarországon a szívbeteg populációban a *C. pneumoniae* ellenes ellenanyag szint és a coronaria betegség előfordulása között.
- A különböző tudományos műhelyekben végzett vizsgálatok eredményeként a kórokozók direkt és indirekt károsító hatásának lehetősége mellett ezután előtérbe került az infekciós ágensek által provokált autoimmun folyamatok patogenetikai szerepe. Második vizsgálatomban arra próbáltam választ kapni, hogy a krónikus gyulladós folyamatoknak és az autoantigéneknek külön-külön és együttes jelenlétük esetén milyen rizikófaktor szerepük lehet a myocardialis infarctus és a stabil, effort angina pectoris kialakulásában.
- A kórokozók direkt kimutatását célzó vizsgálatokból kiderült, hogy az atheromás plakkokban magas százalékban lehet találni mikrobákat, elsősorban *C. pneumoniae*-t, míg az egészséges érfalban ezek a részecskék szinte soha nem találhatók meg. Ennek alapján felmerült a kérdés, hogy a coronaria plakkját ért „durva” mechanikus behatás, -a percután coronaria intervenció – előidézi-e a kórokozók reaktivációját, és ennek van-e hatása a későbbi restenosisra? Harmadik vizsgálatom célkitűzése az volt, hogy adatokat kapjak arra vonatkozóan, hogy a PCI-n átesett betegeknél a beavatkozást követően nagyobb számban lehet-e kimutatni mikrobát, vagy annak részeit a vérmintából, mint a beavatkozás előtt, hogy ez kapcsolatban van-e a gyulladós paraméterek

változásával, és ezek a változások összefüggésbe hozhatók-e a recoronarográfián talált restenosissal.

- A CRP-ről bebizonyosodott, hogy nemcsak a gyulladási folyamatok aspecifikus markere, hanem résztvevője az atherosclerosis pathogenésisének, így a coronaria betegség mediátorának és rizikófaktorának is tekinthető. Negyedik vizsgálatomban azt kívántam tisztázni, hogy az ST elevációs infarctus miatt felvett betegeknek van-e összefüggés a kiindulási CRP szint és a coronarográfia kapcsán talált coronaria státus között, mely a coronaria betegség kiterjedtségét mutatja.

A továbbiakban vizsgálataim egymástól jelentősen különböző aspektusa és metodikája miatt a vizsgálati módszereket és eredményeket, a szokásostól eltérően, a jobb áttekinthetőség kedvéért együtt kívánom tárgyalni.

3. Vizsgálatok

3.1. Az 1.vizsgálat

3.1.1. Célkitűzés

Az első vizsgálat célkitűzése az volt, hogy megvizsgáljuk, milyen az összefüggés Magyarországon a szívbeteg populációban a Chlamydia pneumoniae ellenes ellenanyag szint és a coronaria betegség előfordulása között.

3.1.2. Beteganyag és módszer

A vizsgálatot prospektív, összehasonlító vizsgálatnak terveztük. A vizsgálatba kardiológiai osztályunkon fekvő 60 évesnél fiatalabb betegeket választottunk be 1997 és 1998 évben. Coronária betegséget diagnosztizáltunk korábban lezajlott, dokumentált myocardialis infarctus, illetve típusos mellkasi fájdalom melletti pozitív ergometria, vagy pozitív stressz ECHO, pozitív terheléses izotóp vizsgálat esetén, egyes esetekben coronarografiás lelet is állt rendelkezésünkre. A vizsgálati csoportba 56 coronaria beteg került. A kontroll csoportot 59 egyéb szívbetegségben (tehát nem ISZB-ben) szenvedő beteg alkotta (pl.: nem ischaemiás dilatativ cardyomyopathia, billentyű betegség, ritmuszavar, hypertonia).

Regisztráltuk és összehasonlítottuk a klasszikus ISZB rizikófaktorok (testsúly, dohányzás, RR, szérum koleszterin szint, vércukor) alakulását és a társbetegségek gyakoriságát is.

Chlamydia pneumoniae specifikus IgA és IgG antitesttiter meghatározását 1/16-től 1/4096-ig tartó hígításban, immunofluoreszcenciás módszerrel végeztük. A vizsgálatok a Johan Béla Országos Epidemiológiai Központban történtek, FITC konjugált nyúl antisérum (Code No. F 0202, DAKO Ltd, Danmark) felhasználásával.

3.1.4. Eredmények

A coronaria beteg és nem coronaria beteg csoportok között átlag szisztolés és diasztolés vérnyomásban, átlagos vércukor szintben, dohányzási szokásokban, a testtömeget jellemző BMI index megoszlásában nem találtunk különbséget. Az átlag szérum koleszterin érték a coronariabeteg csoportban 6,14 mmol/l-nek, míg a nem coronariabeteg csoportban 5,72 mmol/l-nak bizonyult. Az 56 coronaria betegből csak 20-nak volt 5,2 mmol/l alatti koleszterin értéke, míg az 59 nem coronaria beteg közül 28-nak. Ez a különbség annak ellenére áll fenn, hogy a vérvizsgálatkor a coronaria betegek közül 25-nek már ismert és kezelt hypercholesterinaemiája volt, míg a nem coronaria betegek közül csak 8 szedett koleszterint csökkentő gyógyszert.

(1.,2.,3. táblázat)

Hypertonia a coronaria beteg csoportban 30, a nem coronaria beteg csoportban 26 esetben volt. Több volt a diabetes mellitus a coronaria beteg csoportban (7 versus 3) ami nyilvánvalóan a diabetes rizikófaktor szerepével van kapcsolatban. Ehhez hasonlóan a lényegesen magasabb arányban (25 versus 8) meglévő kezelt hypercholesterinaemia a coronaria beteg csoportban a magas szérum koleszterin rizikófaktor szerepével magyarázható. A többi kísérőbetegség az alacsony esetszám miatt nem összehasonlíthatóak statisztikailag. A coronaria beteg csoportban 64 %-ban találtunk nagy hígításban is (1/512 vagy magasabb) C. pneumoniae IgG pozitivitást a kontroll csoport 42 %-os értékével szemben (p:0,05). (1. ábra)

Az egyéb rizikófaktorok közül a szérum koleszterin szint és az IgG pozitívitás között találtunk összefüggést

Összkoleszterin szint szerint a betegeket 3 csoportba osztottuk: 5.2 mmol/l alatt, 5.2-7.0 mmol/l között és 7.0 mmol/l felett érték. A C. pneumoniae IgG negatív vagy csak kis

hígításban pozitív betegek esetében 5,2 mmol/l alatti cholesterint találtunk 42 %-ban, 5,2 – 7,0 mmol/l közötti cholesterint 54 %-ban és 7,0 mmol/l feletti cholesterint 4 %-ban. Nagy hígításban is (1/512 vagy magasabb) *C. pneumoniae* IgG pozitív betegeknél 5,2 mmol/l alatti cholesterin volt 33%-ban, 5,2 és 7 mmol/l közötti 59%-ban és 7 mmol/l feletti cholesterin 8%-ban, tehát az IgG pozitív egyének esetében magasabb cholesterin szintet találtunk. (2. ábra)

1. táblázat

A rizikófaktorok alakulása a vizsgált betegekben

	<i>Coronaria beteg</i>		<i>Nem coronaria beteg</i>		P
	Átlag	Szórás	Átlag	Szórás	
Systolés vérnyomás	143,2	24,8	134,6	24,4	0,2
Diasztolés vérnyomás	84,5	10,9	83,6	11,8	0,12
Szerum cholesterin mmol/l	6,14	1,64	5,72	1,26	0,08
Vércukor mmol/l	5,49	0,87	5,88	1,04	0,04

2. táblázat

A rizikófaktorok alakulása a vizsgált betegekben 2

		<i>Coronaria beteg</i>	<i>Nem coronaria beteg</i>
<i>dohányzás</i>	Nem	39	45
	1-10 db/nap	13	9
	10 db/nap felett	4	5
<i>testtömeg (BMI)</i>	25 alatt	29	29
	25-27	21	19
	27 felett	6	11
<i>Se. cholesterin (mmol/l)</i>	5,2 alatt	20	28
	5,2-7	31	30
	7 felett	5	1

3. táblázatA kísérőbetegségek megoszlása

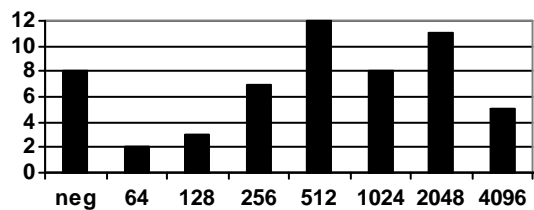
	<i>Coronaria beteg (n:56)</i>	<i>Nem coronaria beteg (n:59)</i>
Hypertonia	30	26
Diabetes mellitus	7	3
hypercholesterinaemia (kezelt)	25	8
Dilatativ cardiomyopathia	2	5
Vitium	2	2
Pitvarfibrillacio	1	4
WPW	1	2
Anaemia	0	1
Köszvény	2	1
Carditis	0	1
Gastritis	1	1
art. scler. oblit.	5	1
ASD	0	1
aorta aneurysma	0	1

1. ábra

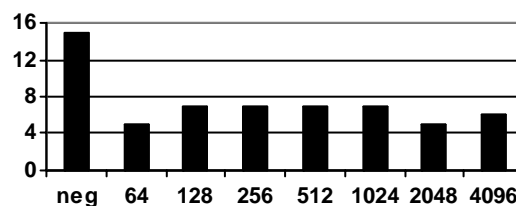
Az IgG szintek alakulása különböző hígításban coronaria és nem coronaria betegekben

*Coronaria beteg (n:56)**Nem coronária beteg (n:59)*

Betegek száma



Betegek száma

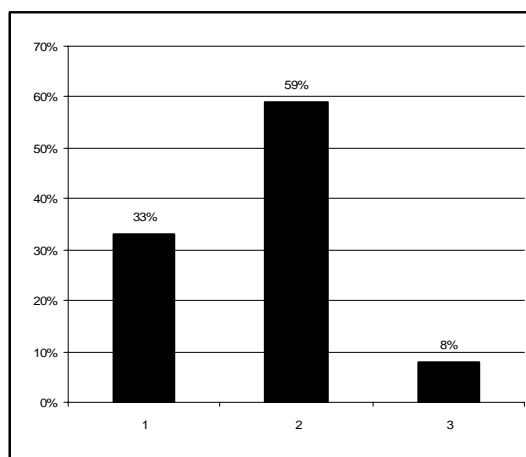
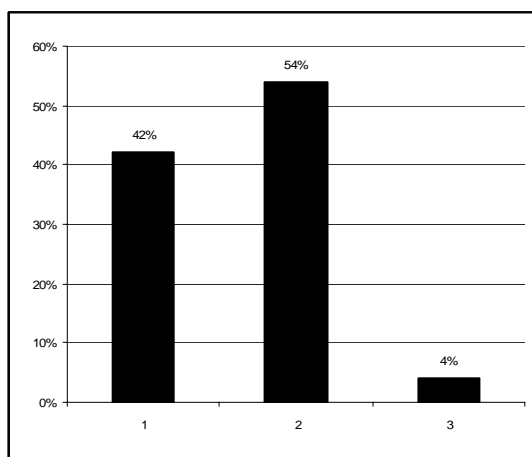


2. ábra

A különböző koleszterin szintek megoszlása Chlamydia pozitív illetve Chlamydia negatív vagy kis hígításban pozitív esetekben

Chlam. p. IgG neg. vagy
1/512nél kisebb hígításban poz.

Chlam. p. IgG 1/512-nél
nagyobb hígításban poz.



Cholesterin:

<5,2 5,2-7 >7

Cholesterin:

<5,2 5,2-7 >7

Összefoglalva megállapítottuk, hogy a coronaria betegekben talált magasabb Chlamydia pneumoniae ellenes ellenanyagszint arra utal, hogy az ellenanyag jelenléte a coronaria betegség rizikófaktora.

A coronaria beteg csoportban az egyéb szívbetegségben szenvedőkhöz képest magasabb koleszterin szintet találtunk annak ellenére, hogy a coronaria betegek között jóval nagyobb arányban használtak koleszterin csökkentő gyógyszert. A coronaria betegség felfedezésekor (a koleszterin csökkentő gyógyszer szedése előtt) a betegek átlagos koleszterin szintje számíthatóan még magasabb volt, mint az általunk mért átlagos koleszterin érték, és ennek a magas koleszterin értéknek nyilvánvalóan szerepe volt a manifest coronaria betegség kialakulásában.

Azt, hogy magas C. pneumoniae ellenes IgG titer esetén magasabb koleszterin értékeket találtunk, annak következményének tartjuk, hogy mindkét paraméter a coronária

betegség rizikófaktora. Értelemszerűen coronaria betegség esetén mindkét paraméter magasabb értékeit találjuk, ennek következtében az egész vizsgált populációt nézve több coronaria beteget találunk a magas koleszterin és ellenanyag szinttel rendelkező csoportban, mint ezen értékek alacsony volta esetén. Ezen kívül a *C. pneumoniae* ellenes ellenanyag által előidézett molekuláris változások önmagukban kedvezőtlenül befolyásolják a lipid profilt. Így a két folyamat külön külön is, de egymással összekapcsolódva is, a coronaria betegség kialakulásának esélyét növeli.

3.2. A 2. vizsgálat

3.2.1. Célkitűzés

A korábbi fertőzés következtében meglevő magas ellenanyag titer, és az immunfolyamatokra jellemző emelkedett HSP 60-65 ellenes ellenanyag titer magasabb volta a coronaria betegség rizikófaktora. A bakteriális HSP a szervezetben olyan nagy hasonlóságot mutat az emberi HSP-vel, hogy a „molekuláris mimikri” elve alapján a bakteriális HSP humán HSP ellenes ellenanyag képződését tud indukálni ezzel autoimmun folyamatot elindítva. Ezen a szálon a krónikus fertőzés által kiváltott gyulladásos folyamatok és az autoimmun folyamatok összekapcsolódnak, egymás káros hatását erősítő folyamatokként.

Ebben a vizsgálatban arra kerestük a választ, hogy ezen két folyamat együttesen milyen arányban van jelen stabil és akut coronaria betegségben, mind két faktor magas szintje hogyan befolyásolja a myocardialis infarctus és a stabil angina pectoris rizikóját.

3.2.2. Beteganyag és módszer

A vizsgálatba 129 beteget vontunk be a MÁV Kh. Kardiológiai Osztályának betegei közül 2001- és 2002-ben. Az 1. csoportban 40 akut myocardialis infarctus miatt kezelt beteg került, a diagnosist a klinikum, a típusos EKG, ECHO és labor paraméterek alapján állítottuk fel. A vizsgálatához szükséges vérvétel az infarctus kialakulása után 3-48 órán belül történt. A 2. csoportba 43 effort angina (SEA) miatt kezelt beteg került, a diagnosis alapja a típusos effort angina és pozitív terhelés volt.

A kontroll csoport 46 betegből állt, akiknek kardiológiai betegsége nem volt, és nemben, korban, dohányzási szokásokban, koleszterin., HDL-LDL koleszterin. , TG szintben, diabetes és hypertonia előfordulásban hasonlóak voltak az 1. és 2. csoporttal.

Módszer:

Chlamydia pneumoniae ellenanyag meghatározás:

A Chlamydia pneumoniae ellenes speciális ellenanyag szint meghatározásához a savókat 1:32-től 1:512-ig terjedő hígításokban vizsgáltuk microimmunfluorescens(MIF) (Servibio, France) módszerrel a gyártó előírásai szerint. A különböző hígításokban pozitívnak vagy negatívnak jeleztük a savókat.

CMV és HSV-1 ellenanyag meghatározás:

A CMV és HSV ellenanyagot saját intézetünkben (Johan Béla Országos Epidemiológiai Központ Virus Laborban) kifejlesztett ELISA módszerrel vizsgáltuk.

A kimutatható antigén előállításához ultracentrifugált és NP40-nel kezelt közvetítő kultúrát adtunk MRC-5 sejtréteghez (American type culture collection, ATCC), melyet azután CMV-vel (strain Towne) fertőztünk.

A kimutatható HSV antigén előállításához HSV-1 (strain KOS) lizátummal infektáltunk Vero sejtréteget (ATCC). A mintákat 4x-es hígítási sorban vizsgáltuk 1:200-tól 1:409600-ig CMV ellenanyag kimutatásakor és 1:3200-tól 1:409600-ig HSV ellenanyag kimutatásakor. A titert a serum hígítás reciprokaként állapítottuk meg.

hHSP 60 és mHSP65 ellenanyag meghatározás:

Az IgG-t tartalmazó szérumot reagáltattuk recombináns hHSP60-nal (SPP-740, StressGen) valamint mHSP65-tel (Lionex, Braunschweig, Germany) és 1:500-as hígításban ELISA szerint meghatároztuk az ellenanyag szintet. A kontrollhoz hígítási sorban standard anti-hHSP60 (StressGen SPA-480) és anti-mHSP65 nyúl szérumot használtunk. hHSP60 ellenanyag nem volt meghatározható 2 AMI, 3 SEA, 1 kontroll betegnél és mHSP65 nem volt meghatározható 1 AMI és 1 kontroll betegnél.

Klinikai laboratóriumi adatok:

A se koleszterin, HDL-LDL koleszterin, TG meghatározása a kórházi (MÁV Kh.) központi laboratóriumban történt, standard laboratóriumi módszerekkel.

Statisztikai számítások:

Minden statisztikai számítást az SPSS Windows 9.0 programmal végeztünk.

Használtuk a Mann-Whitney-U, a Kruskal- Wallis, az X² és a Fischer testet. AZ OR és 95%CI-t számítottuk. Minden számítást kétszer végeztünk el.

Az esélyhányados számításakor az alacsony Chlamydia pneumoniae és hHSP60 vagy alacsony Chlamydia pneumoniae és mHSP65 ellenanyag szintű betegek adatait használtuk referenciának a másik három kombináció rizikójának meghatározásához.

Statisztikailag szignifikánsnak vettük a különbségeket, ha $P < 0,05$.

3.2.3. Eredmények

A kontroll és a SEA csoport betegei úgy válogattuk, hogy a hagyományos rizikófaktorok tekintetében hasonló csoportot alkossanak az AMI csoport betegeivel.

Ennek megfelelően nem volt szignifikáns különbség az AMI csoport betegeiben a kontroll illetve a SEA csoport betegeihez képest korban, nemben, dohányzási szokásokban, sem összcholesterin szintben, HDL-cholesterin szintben, LDL cholesterin szintben, triglycerid szintben, diabetes előfordulásában, és a hypertonia előfordulásában. Ezen adatokban az AMI és SEA csoport betegeit összehasonlítva sem volt szignifikáns különbség.

Szignifikáns különbség volt (4.táblázat) az AMI és kontroll csoport betegei között hHSP60 ellenanyag szintben ($p=0,012$ OR:4,7), és minden paraméterhez való statisztikai igazítás esetén is.

Szignifikáns magasabb az AMI csoportban a kontrollhoz képest a Chlamydia pneumoniae ellenes ellenanyag titer ($p=0,03$ OR:2,8). Logistikus regresszióval igazítva az összes paraméterhez, beleértve a hHSP60 ellenanyag és mHSP65 ellenanyag szintet szintén szignifikáns volt a különbség ($p=0,041$ OR:2,9).

Szignifikáns különbség volt a SEA és kontroll csoport között mHSP65 ellenanyag szintben ($p=0,036$ OR:3,1) és statisztikai igazítással is megmaradt a szignifikancia ($p=0,041$ OR:3,2).

A CMV és HSV-1 ellenanyag szint hasonló volt AMI, SEA, és a kontroll csoport esetén.

Nem volt szignifikáns különbség az AMI és kontroll csoport betegei között mHSP65 ellenanyag szintben.

Nem volt szignifikáns különbség a SEA és kontroll csoport adatai között hHSP 60 ellenanyag és Chlamydia pneumoniae ellenanyag szint között.

A HSP ellenes ellenanyagszintek és a Chlamydia pneumoniae ellenes ellenanyagszintek változása nem volt kapcsolatban egymással sem az AMI, sem a SEA csoportban. Ez arra utal, hogy a Chlamydia pneumoniae. ellenanyag és a hHSP60 ellenanyag AMI-ban, és a Chlamydia pneumoniae. ellenanyag és a mHSP65 ellenanyag SEA-ban egymástól független rizikótényezők.

Az AMI és kontroll csoport adatait összehasonlítva azt találtuk, hogy mind a Chlamydia pneumoniae. ellenes ellenanyag, mind a hHSP60 ellenes ellenanyag szint magas értéke külön-külön is szignifikánsan megnöveli az infarctus kialakulásának rizikóját. (OR:2,7-5,2) (6. táblázat).

Abban az alcsoportban, ahol együttesen jelent meg a magas Chlamydia pneumoniae. ellenes ellenanyag szint a magas hHSP60 ellenes ellenanyag szinttel az infarctus kialakulásának rizikója 15,5-szeresre növekedett (OR:15,5), a szignifikancia szintje $p=0,016$.

A SEA és kontroll csoport adatait összehasonlítva, ha azt az alcsoportot vizsgáljuk, ahol magas Chlamydia pneumoniae. ellenes ellenanyag szinthez magas hHSP60 ellenes ellenanyag szint csatlakozott, akkor a stabil coronaria betegség kialakulásának valószínűsége 10,3-szorosára növekedett, $p=0,037$. (6. táblázat)

A magas Chlamydia pneumoniae. ellenes ellenanyag szint és mHSP65 ellenanyag szint együttes előfordulása az AMI kialakulásának rizikóját 6,5-szörösére növelte, a szignifikancia szintje 0,039. (7. táblázat)

A SEA csoport adatait a kontroll csoporttal összehasonlítva a SEA kialakulásának rizikója magas Chlamydia pneumoniae. ellenes ellenanyag szint és magas mHSP65 ellenes ellenanyag szint együttes előfordulása esetén 7,8-szeresére növekszik, a szignifikancia szintje 0,014. (7.táblázat).

4. táblázat

hHSP60 és mHSP65 ellenes ellenanyag szint AMI, SEA esetén és a kontroll csoportban

Ellenanyag	AMI (n=40)	SEA (n=43)	Kontroll (n=46)	P (AMI vs kontroll)	OR (95%CI)	P (SEA vs kontroll)	OR (95%CI)
Anti hHSP60(a)	31,6	22,5	8,9	0,012	4,7 (1,3-16,2)	0,13	
				0,029 (b)	4,7 (1,1-19,2)		
				0,037 (c)	5,1 (1,1-23,5)		
Anti mHSP65(d)	25,6	32,6	13,3	0,174		0,36	3,1 (1,1- 9,1)
						0,041(e)	3,2 (1,0- 9,9)
Chlamydia pneumoniae titer(f)	60,0	53,5	34,8	0,030	2,8 (1,1-6,7)	0,090	
				0,041(g)	2,9 (1,0-8,3)		
CMV titer(h)	77,5	65,1	63,0	0,165		1,0	
HSV-1 titer(h)	65,0	76,7	69,6	0,818		0,482	
Chlamydia pneumoniae és CMV és HSV1 titer	84,6	88,2	56,3	0,13		0,057	

- a. azon betegek %-a, akiknél az ellenanyag szint érték a teljes populáció értékeinek felső 25%-ában vannak (a felső 25% határértékei: 43,00-200,33U/ml).
- b. logistikus regressziós analízissel a hHSP 60 szint igazítva van a mHSP65, Chlamydia pneumoniae ellenanyag szinthez, a korhoz, nemhez, koleszterin és TG szinthez, dohányzás százalékához, hipertóniához és diabeteshez.
- c. logistikus regressziós analízissel a hHSP60 szint a mHSP65 szinthez igazítva.
- d. azon betegek %-a akiknél az ellenanyag szint értékei a teljes populáció értékeinek felső 25%-ban vannak (a felső 25% határértékei:4,93-39,47 U/ml)

- e. logistikus regressziós analizissel a mHSP 65 szint igazítva van a korhoz, nemhez, koleszterin és TG szinthez, dohányzás százalékához, hipertóniához és diabeteshez.
- f. az 1:128-nál nagyobb vagy ekkora hígításban pozitív betegek százaléka
- g. logistikus regressziós analizissel az 1:128 vagy annál nagyobb hígításban pozitív Chlamydia pneumoniae ellenanyag szint igazítva van a hHSP60, mHSP65 ellenanyagszinthez, a korhoz, nemhez, koleszterin és TG szinthez, dohányzás százalékához, hipertóniához és diabeteshez
- h. azon betegek %-a kiknek a HSV titere magasabb a teljes populáció átlagánál.

5. táblázat

Összefüggés a hHSP60 és mHSP65 szint és az alacsony vagy magas Chlamydia pneumoniae IgG szint között

	Alacsony Chlamydia pneumoniae titer	Magas Chlamydia pneumoniae titer	P
Kontroll csoport			
Anti-hHSP60	15,2 (0,9-74,4)	21,3 (1,2-44,2)	0,83
Anti-mHSP65	1,3 (0,0-34,2)	1,1 (0,7-11,4)	0,79
SEA			
Anti-hHSP60	13,3 (2,7-120)	28,0 (3,2-130)	0,087
Anti-mHSP65	1,4 (0,0-12,1)	3,6 (0,0-23,4)	0,197
AMI			
Anti-hHSP60	30,8 (1,8-126)	29,8 (6,5-200,3)	0,976
Anti-mHSP65	3,3 (0,1-20,0)	3,4 (0,0-39,4)	0,954

Alacsony pozitív Chlamydia pneumoniae titer: ha 1: 128-as-nál kisebb hígításban pozitív

Magas pozitív Chlamydia pneumoniae titer: ha 1: 128 vagy annál nagyobb hígításban is pozitív

6. táblázatA Chlamydia pneumoniae és hHSP60 esélyhányadosa a vizsgált csoportokban

	Beteg/kontroll esetszám	P	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)
		P érték igazítás nélkül		P érték igazítással	
AMI vs kontroll					
Alacsony Chlamydia pneumoniae és alacsony hHSP60 szint	10/26	-	1	-	1
Alacsony Chlamydia pneumoniae és magas hHSP60 szint	6/3	0,039	5,2 (1,1-24,8)	0,078	
Magas Chlamydia pneumoniae és alacsony hHSP60 szint	16/15	0,048	2,7 (1,0-7,6)	0,069	
Magas Chlamydia pneumoniae és magas hHSP60 szint	6/1	0,016	15,5 (1,6-146,2)	0,010	21,1 (2,0-215,2)
SEA vs. kontroll					
Alacsony Chlamydia pneumoniae és alacsony hHSP 60szint	15/26	-	1	-	1
Magas Chlamydia pneumoniae és alacsony hHSP60szint	3/3	0,531			
Alacsony Chlamydia pneumoniae és magas hHSP60 szint	16/15	0,204			
Magas Chlamydia pneumoniae és magas hHSP60 szint	6/1	0,037	10,3 (1,1-94,7)	0,023	14,7 (1,4-151,9)

A „p” érték igazítva korhoz, nemhez, dohányzáshoz, diabeteshez és hypertóniához

7. táblázat

A Chlamydia pneumoniae és mHSP65 esélyhányadosa a vizsgált csoportokban

	Beteg/kontroll esetszám	P	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)
		P érték igazítás nélkül		P érték igazítással	
AMI vs kontroll					
Alacsony Chlamydia pneumoniae és alacsony mHSP65 szint	12/25	-	1	-	1
Alacsony Chlamydia pneumoniae és magas mHSP65 szint	4/4	0,352			
Magas Chlamydia pneumoniae és alacsony mHSP65 szint	17/14	0,065			
Magas Chlamydia pneumoniae és magas mHSP65 szint	6/2	0,039	6,5 (1,1-35,6)	0,033	7,0 (1,1-42,3)
SEA vs. kontroll					
Alacsony Chlamydia pneumoniae és alacsony mHSP 65szint	16/25	-	1	-	1
Magas Chlamydia pneumoniae és alacsony mHSP65szint	4/4	0,565			
Alacsony Chlamydia pneumoniae és magas mHSP65 szint	13/14	0,457			
Magas Chlamydia pneumoniae és magas mHSP65 szint	10/2	0,014	7,8 (1,5-40,3)	0,008	10,2 (1,8-57,8)

A „p” érték igazítva korhoz, nemhez, dohányzáshoz, diabeteshez és hypertóniához.

A vizsgálat eredményeit összefoglalva megállapítottuk, hogy a vizsgált kórokozók közül csak a *Chlamydia pneumoniae* ellen termelt ellenanyag szintje bizonyult rizikótényezőnek mind a stabil coronaria betegség (SEA), mind az instabil coronária betegség (AMI) szempontjából. Az autoimmun folyamatokra (könnyen mérhető paraméterként) jellemző HSP ellenes ellenanyagok közül a vizsgált hHSP60 növelte szignifikánsan az AMI és a mHSP65 ellen termelt ellenanyag növelte szignifikánsan a SEA kialakulásának esélyét. Ha a külön-külön is rizikótényezőnek talált *Chlamydia pneumoniae* ellenes ellenanyag szint és a HSP ellenes ellenanyag szint együttesen jelent meg, az már több mint 10-szeresére növelte az infarctus (hHSP60 esetén), illetve a SEA (mHSP65) kialakulásának valószínűségét. A statisztikai számítások szerint a két ellenanyagfajta egymástól független rizikótényező. Tehát, ha az atherosclerotikus betegség progressziójában szerepet játszó krónikus fertőzés és az autoimmun folyamatok egymás mellett jelennek meg, akkor arra kell számítanunk, hogy ezek a folyamatok egymás káros hatását fokozzák, a manifest, vagy akut betegség kialakulásának valószínűségét fokozottan növelik.

3.3. A 3. vizsgálat

3.3.1. Célkitűzés

A coronariában lévő plakkokból számos vizsgáló mutatott ki baktérium részecskéket elektronmikroszkópos vizsgálattal, meghatározták a kórokozó antigénjeit immunhistokémiai módszerekkel, és kimutatták a baktérium DNS-t in-situ hybridizációval, vagy PCR módszerrel. A szóba jövő kórokozók ebben a tekintetben elsősorban a *Chlamydia pneumoniae*, valamint a Cytomegalovírus, a Herpes Simplex vírus, és az Epstein-Barr vírus.

Ebben a vizsgálatban arra kerestük a választ, hogy a coronaria arteriákban lévő atheromás plakkot érintő durva, mechanikus hatás, a percután intervenció aktiválhatja-e az atheromás plakkban vs. perzisztáló alakban lévő kórokozókat, ha igen akkor ez kapcsolatban van-e fokozott CRP, IL-6, hHSP60 termeléssel, illetve ezek a folyamatok befolyásolják-e a későbbi restenosis alakulását.

3.3.2. Beteganyag és módszer

A vizsgálatba 28 beteget választottunk be a MÁV Kh Kardiológiai Osztályának betegei közül 2003-ban. Minden betegtől vérmintát vettünk, akiknek ebben az időszakban elektív PCI-je volt, és feldolgoztuk ezekből azon betegek adatait, akiknek az elektív PCI-t követően 2 és 8 hónap múlva recoronarográfia, 50%-nál nagyobb restenosis esetén rePCI történt. A recoronarográfia minden esetben kiújuló anginás panaszok és pozitív terhelés miatt történt. Kizártuk azon betegeket, akiknek a recoronarográfia acut myocardialis infarctus, vagy acut coronaria syndroma miatt történt, akiknek intercurrentis megbetegedése, infekciója, malignus betegsége volt.

Minden beteget 8 hónapig követtünk a PCI után.

Minden beteg standard 100mg/ napos aspirin kezelést kapott (mely gyulladáscsökkentő medikációnak is számbaveendő).

Módszer:

A vizsgálati vérvétel az első, elektív PCI előtt, és utána 4 és 14 nappal történt. Azon betegek kiestek a vizsgálatból kiknek a 14 napos vérvétele hiányzott. EDTA-s csőbe vettünk vért a PCR technikával való DNS izoláláshoz és nativ csőbe az ellenanyag és a gyulladáshoz markerek ELISA módszerrel való meghatározásához.

A vérmintákat -80°C-on tároltuk és feldolgoztuk azokat a mintákat, melyeket olyan betegektől vettünk, akiknek az első PCI-t követő 2-8 hónapon belül recoronarográfiája és esetleg re-PCI –je történt.

A vizsgálat időszakban 28 beteget találtunk, akiknél mindhárom vérvétel megtörtént az első PCI kapcsán és recoronarográfiára került sor, melynek oka nem acut infarctus, vagy acut coronaria syndroma volt, és egyéb intercurrentis betegségben sem szenvedtek.

Meghatároztuk a gyulladáshoz paramétereket (CRP, IL-6), az ellenanyag szinteket (hHSP60, Chlamydia pneumoniae /Chlamydia pneumoniae/, Cytomegalovirus /CMV/, herpes Simplex Virus /HSV/, Epstein-Barr Virus /EBV/), valamint PCR technikával Chlamydia pneumoniae és CMV DNS-t kerestünk a kindulási vérmintákból. A 4. és 14. napon vett vérmintákból meghatároztuk a gyulladáshoz paramétereket (CRP, IL-6) és a patogének DNS-ét vizsgáltuk, míg 14. napon vett vérmintából meghatároztuk a kórokozó ellenes ellenanyag szinteket és anti-hHSP 60 ellenanyag szintet.

Az koleszterin és TG, valamint vércukor értékeket a kórház központi laboratóriumában, standard laboratóriumi módszerekkel határoztuk meg.

DNS meghatározás:

A DNS-eket a vérmintából Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) segítségével határoztuk meg.

A HCMV meghatározáshoz HCMV igen korai gén exon4 régiójából készült primereket használtunk, míg a Chlamydia pneumoniae meghatározáshoz Chlamydia pneumoniae ompA régióból készült primereket.

A PCR módszer szenzitivitását úgy határoztuk meg, hogy seronegativ egyének vérmintáihoz 10x-es hígítási sorban tisztított Chlamydia pneumoniae strain TW183 (ATCC) és HCMV strain Towne (ATCC) elementáris testet adtunk.

A vérmintákból kivontuk a DNS-t és a DNS anyag elosztása után a vizsgálatot 5 párhuzamos csőben végeztük minden mintából, mindkét kórokozót vizsgálva.

Pozitívnak értékeltük a mintát, ha az 5 csőből legalább 1-ben az eredmény 0,05 és 0,005 közötti hígításban pozitív volt.

Szérum ellenanyag szint:

A szérum ellenanyag szinteket ELISA módszerrel határoztuk meg:

HSV1-2 IgG (ETI-HSVK-G 1/2 , Diasorin), HCMV IgG (Enzygnost, Dade Behring), EBV IgG (Capita EBV VCA (P18), Trinity) és Chlamydia pneumoniae IgA és IgG (NovaTec Immundiagnostica) felhasználásával. A hígításoknál és számításoknál betartottuk a gyártók előírásait.

A hHSP ellenes ellenanyagot recombináns hHSP60-nal (NSP-540, SressGen Biotechnologies) és mycobacterial HSP 65-nal (mHSP65, Lionex) reagáltattuk, és 1:500-as szérum hígításnál határoztuk meg az értéket ELISA módszerrel. A kontrollnak anti-hHSP60 nyúl antiszérumot (StressGene SPA-805) és standard anti-mHSP 65-öt használtunk. Az ellenanyag szinteket U/ml-ben határoztuk meg.

Szérum CRP és IL-6 szint:

A szérum high-sensitive CRP (DRG International Inc.) és IL-6 (Biosource Internat.Inc.) szinteket ELISA módszerrel határoztuk meg.

Statisztika:

A statisztikai számításokat a Windows SPSS 13.0 verziójával végeztük.

Két csoport közötti folyamatos változók közötti különbségek vizsgálatára a Mann-Whitney U testet, ezen kívül a Fisher's exact testet használtuk.

A logisticus regressziót számítottuk, minden számítást kétszer elvégeztünk.

Szignifikánsnak tartottuk a különbséget $p < 0,05$ esetén.

3.3.3. Eredmények

A hagyományos rizikófaktorokban (kor, nem, BMI, hipertonia, diabetes mellitus, dohányzás, össz-cholesterin, TG, előző PCI) nem volt szignifikáns különbség a recoronarográfiánál restenosist mutató és restenosist nem mutató csoportban. (8. táblázat)

Kórokozó DNS és ellenanyag szint alakulása PCI előtt és után:

Chlamydia pneumoniae DNS PCI előtt 1, PCI után 3 beteg mintájából, HCMV DNS PCI előtt 1, PCI után 5 mintából volt kimutatható.

A pozitív esetek az 5 párhuzamosan vizsgált csőből minden esetben 1-ben voltak pozitívak.

Egyik esetben sem volt kimutatható mindkét patogén DNS-e egy mintából.

Ha együttesen vizsgáljuk a Chlamydia pneumoniae és HCMV DNS kimutatás eredményeit, akkor szignifikáns különbséget kapunk PCI előtt és utáni mintákból ($p=0.036$) logistikus regresszióval igazítva ($p=0,046$) (9. táblázat). Ez az eredmény arra utal, hogy a kórokozók reaktivációja és szaporodása néhány beteg esetében bekövetkezett a PCI után.

Nem volt különbség a kórokozók elleni ellenanyag szintben PCI előtt és után 2 héttel: Chlamydia pneumoniae 19,0 vs. 19,3, mHSP65 2,0 vs. 1,99, HCMV 1,0 vs. 0,98, HSV 1,3 vs. 1,15, EBV 2,2 vs. 2,1. A Chlamydia pneumoniae ellenes IgA szint az intervenció előtt és után 9,2 és 9,3, azonos volt.

Nem volt összefüggés a kórokozók közötti DNS kimutatása és a megfelelő pathogen elleni ellenanyag szint változása között.

Gyulladásos markerek változás PCI előtt és után:

A CRP és IL-6 szint magasabb volt PCI után, mint a beavatkozás előtt.

A betegek 57%-ának legalább 2 szeresére növekedett a CRP szintje. (10. táblázat)

PCI után 2 héttel szignifikánsan több betegnek volt 3 mg/l feletti CRP értéke, mint PCI előtt ($p=0,002$).

Azon betegek száma is szignifikánsan magasabb ($p=0,024$) volt a PCI után, akiknél a CRP érték a mért értékek felső harmadába (8,71-13,32mg/l) esett. (10. táblázat)

A betegek 57%-ának emelkedett az IL-6 értéke legalább a 2 szeresére az intervenció után. (10. táblázat)

PCI után 2 héttel szignifikánsan több betegnek volt az IL-6 szintje nagyobb, mint 5pg/ml ($p=0,042$). (10. táblázat)

Szignifikánsan több beteg IL-6 értéke került a mért értékek felső harmadába (7,44-11,10pg/ml) a beavatkozás után két héttel, mint kiinduláskor ($P=0,048$). (10. táblázat)

CRP és IL-6 szint és kimutatott patogén DNS közötti összefüggés:

Nem volt kapcsolat a CRP és IL-6 szint valamint a kimutatott pathogén DNS-ek között PCI előtt és után. (11. táblázat)

Nem volt összefüggés a CRP és IL-6 szint változása és a patogének elleni ellenanyag szint változása között sem a kórokozókat külön, sem együttesen nézve. (12. táblázat)

A 28 betegből a követés 8 hónapja alatt 9-nél találtunk restenosiszt a recoronarográfia során. A restenosiszt mutató illetve restenosiszt nem mutató betegek alcsoportjában nem volt különbség a CRP és IL-6 emelkedésben PCI előtt és után vett vérben.

A betegek alacsony száma miatt prognostikai következtetéseket a restenosis alakulásából nem vonhatunk le.

Nem volt összefüggés restenosis megléte illetve hiánya esetén a kórokozók elleni ellenanyag szintben egyenként vizsgálva azokat illetve az „összesített patogén terhelés” vizsgálata esetén sem.

8. táblázatKlinikai és laboratóriumi alap paraméterek:

	Beteg (n: 28)
Átlag életkor	58,61 (37-75)
Férfi	18
Hypertonia (a)	18
Diabetes mellitus (b)	7
Dohányzás (c)	10
Össz.cholesterin (mmol/l)	5,14 (3,5-8,5)
Triglicerid (mmol/l)	2,32 (0,9-6,7)
BMI (kg/m ²)	27,21 (24,0-30,1)
Előző PCI	12

- a. 140/90 Hgmm feletti tensio az első vizsgáltkor, vagy antihypertensív kezelés van
b. éhomi vc. érték 8mmol/l feletti, vagy antidiabetikus kezelés van
c. soha nem dohányzott vagy több mint egy éve abbahagyta

9. táblázatChlamydia pneumoniae vagy HCMV DNS jelenléte PCI előtti és utáni mintákban

DNS	PCI előtt	PCI után	P
Chlamydia pneumoniae	1	3	0,611
HCMV	1	5	0,193 0,098 (a)
Chlamydia pneumoniae + HCMV	2	8	0,078 0,046 (a)

- a. logisticus regresszióval igazítva korhoz, nemhez, BMI-hez és korábbi PCI-hoz.

10. táblázat

Gyulladásos markerek szintje (histamin, CRP, IL-6, anti-hHSP) PCI előtt és után

	PCI előtt	PCI után	P	p (a)
CRP				
Érték >3mg/l – betegszám (%)	13 (46,4)	24 (85,7)	0,004	0,002
Betegszám, ahol az érték az értékek felső harmdába esik (8,71-13,32 mg/l) (%)	6 (21,4)	14 (50)	0,05	0,024
Betegszám, ahol a növekedés legalább 2x-es (%)		16 (57)		
IL-6				
Érték >5pg/ml – betegszám (%)	4 (14,	11 (39,3)	0,068	0,042
Betegszám, ahol az érték az értékek felső harmdába esik (7,44-11,10 pg/ml) (%)	2 (7,1)	8 (28,6)	0,078	0,048
Betegszám, ahol a növekedés legalább 2 szerez (%)		16 (57)		
Anti-hHSP60				
Érték >3,387 U/l betegszám	11	18	0,172	
Betegszám, ahol az érték az értékek felső harmadába esik (4,51-6,82 U/l)	5	6	1,0	
Betegszám, ahol a növekedés legalább 2x-es (%)		0		

- a. logisztikus regresszióval igazítva korhoz, nemhez, BMI-hez és a korábbi PCI-hez.

11. táblázat

IL-6 és CRP szint és a pathogen DNS jelenlétének kapcsolata PCI előtt és után

Betegszám	DNS megléte- esetszám/ IgG esetszám PCI előtt	P	DNS megléte- esetszám/ IgG esetszám PCI után
CRP>3,0 mg/l (%)	2/13 (15,4)	0,206	7/24 (29,1)
CRP<3,0 mg/l (%)	0/15 (0)		1/4 (25)
IL-6>5pg/ml (%)	0/4 (0)	1,0	3/11 (27,3)
IL-6<5 pg/ml (%)	2/24 (8,3)		5/17 (29,4)

12. táblázatEllenanyag szintek és CRP szint kapcsolata PCI előtt és után

	CRP PCI előtt p=	CRP PCI után p=
Chlamydia pneumoniae IgG	0,717	0,613
Chlamydia pneumoniae IgA	0,705	0,102
mHSP 65	0,254	1,0
HCMV IgG	0,639	0,481
HSV IgG	0,257	1,0
EBV IgG	0,252	1,0
Összesített pathogen terhelés benne Chlamydia pneumoniae IgA	0,695	0,294
Összesített pathogen terhelés benne Chlamydia pneumoniae IgG	0,128	0,326

Összefoglalva a vizsgálatot azt állapítottuk meg, hogy a PCI után 2 héttel emelkedett gyulladásos paramétereket (CRP, IL-6) találunk, mely az eltelt idő miatt már nem magyarázható a beavatkozásra adott szervezeti akut fázis fehérje válasszal. Mivel az atherosclerotikus plakk kialakulását gyulladásos tényezők által is szabályozott folyamatnak gondoljuk, ezt a változást a plakkot ért mechanikus hatás (PCI) által előidézett, aktiválódott helyi gyulladásos folyamatnak tartjuk, mely az alapfolyamatot azután tovább rontja.

A DNS vizsgálatokkal a PCI után több mintából tudtunk kimutatni kórokozó DNS-t, mint a PCI előtt, ez arra utal, hogy a kórokozók reaktivációja és szaporodása néhány beteg esetében bekövetkezett a PCI után, tehát az intervenció nem közömbös az atherosclerotikus plakkban lévő kórokozó szempontjából.

A restenosis és az emelkedett gyulladásos paraméterek között nem volt összefüggés, ugyanígy nem ott volt restenosis, ahol a kórokozó DNS-e kimutatásra került. Ennek oka részben nyilván a restenosis mutató betegek alacsony esetszáma volt, így prognostikai következtetést nem vonhatunk le ezen adatokból.

3.4. A 4. vizsgálat

3.4.1. Célkitűzés

Ebben a vizsgálatban retrospektív adatfeldolgozást végeztünk a Bajcsy Zsilinszky Kórház Kardiológiai Osztályára 2005 és 2006 –os évben ST elevációs infarctus (STEMI) miatt felvett és sürgős coronarográfiára kerülő betegek körében.

Ma már bizonyított ténynek számít, hogy a CRP szint a coronaria betegség predictorának számít, egyre több adat szól amellet is, hogy önmagában is a betegség rizikó tényezője, a betegség progressziójának egyik lehetséges oka.

Mi azt vizsgáltuk, hogy STEMI esetén a kiindulási CRP szint milyen kapcsolatban van a coronarográfia során talált coronária státus súlyosságával.

3.4.2., Beteganyag és módszer

A Bajcsy Kórházba 2005- és 2006-ben bekerülő 506 ST elevációs infarctus miatt felvett beteg adatát dolgoztuk fel retrospektíve.

A felvételtkor sürgős vérvételek eredményei szerint csoportosítottuk a betegeket.

A vérminták az infarctus kialakulása után 2-12 órával kerültek levételre minden csoportban, minden betegnél.

243 betegnél a CRP ≤ 5 mg/l volt, ez volt az 1. csoport.

204 betegnél a CRP szint 5 és 30 mg/l közé esett, ők alkották a 2. csoportot.

59 beteg kiindulási CRP szintje > 30 mg/l volt, ezeket a vizsgálatból kihagytuk, mert feltételeztük intercurrents vagy más CRP szintet befolyásoló betegség meglétét.

Vizsgáltuk a betegek hagyományos rizikótényezőit is (kor, nem, diabetes, hypertonia, össz. Cholesterin, TG)

Módszer:

A laborvizsgálatok a kórház központi laboratóriumában történtek, standard laboratóriumi körülmények között.

A nemzetközi irodalom adatait vizsgálva acut coronaria betegek vizsgálatánál az alacsony és magas CRP szint közötti határ 3-6 mg/l között van. Mi az 5 mg/l értéket választottuk az alacsony és magas CRP szint közötti határnak.

A statisztikai adatfeldolgozáshoz Windows SPSS 13.0 verziót használtunk.

3.4.3. Eredmények

A hagyományos rizikótényezőkben nem volt különbség a két csoport eredményei között. (13. táblázat)

Az alacsony CRP szintű csoportban 1 ér-betegséget találtunk 131 főnél, ez 53,9 %, 2 ér-betegséget 74 főnél, ez 30,45 %, és 3 ér-betegséget 38 főnél, ez 15,64 %.

Magas CRP szint esetén 1 ér-betegséget találtunk 59 főnél, ez 28,9 %, 2 ér-betegséget 65 főnél, ez 31,8%, 3 ér-betegséget 80 főnél, ez 39,22 %.

Az 1 ér-betegség aránya közötti különbség alacsony és magas CRP esetén erősen szignifikáns ($p=0,000001$). Hasonlóan a 3 ér-betegség aránya közötti különbség alacsony és magas CRP esetén is erősen szignifikáns ($P=0,000001$).

Az emelkedett kiindulási CRP szint vs. nem a plakk rupturában játszott szerepet, hiszen minden beteg ST elevációval került felvételre. Mai ismereteink szerint ST elevációs infarctus esetén a betegség pathogenezisében minden esetben plakkruptura és ezt követő thrombus kialakulása játszik szerepet. Ennek megfelelően a magas, illetve az alacsony

CRP szint esetén is szerepelt plakk ruptura, ennek ellenére jelentős eltéréseket találtunk a kiindulási CRP értékekben.

13. táblázat

Hagyományos rizikótényezők alacsony és magas CRP esetén

	CRP ≤ 5 mg/l	CRP 5-30 mg/l között
Átlag CRP szint mg/l	2,7±1,2	11,6±6,1
Kor	61,8±11,4	62,3±11,7
Nem	167 férfi, 76 nő	131 férfi, 73 nő
Dohányzás	66	60
Hypertonia (a)	146	130
Diabetes mellitus (b)	48	64
Össz. Cholesterin szint	5,4±1,3	5,6±1,5
TG szint	2,1±1,6	2,1±2,5

- a. kezelt hypertonia, vagy 140/90Hgmm feletti tensio
- b. kezelt diabetes mellitus vagy 8mmol/l feletti éhomi vércukor érték

Összefoglalva a vizsgálatot arra a következtetésre jutottunk, hogy a magas CRP szint súlyosabb coronaria státust jelez. A minden betegnél, a beválasztási kritériumoknak megfelelően meglévő thrombotikus coronaria elzáródáson kívül magas CRP esetén szignifikánsan több betegnél találtunk 3 ér-betegséget, tehát kiterjedt coronaria eltéréseket, mint alacsony CRP esetén. Alacsony CRP érték esetén szignifikánsan több betegnek volt csak 1 ér-betegsége. Eredményeink összhangban vannak azzal a ma már elfogadottnak számító véleménnyel, hogy az emelkedett CRP szint a coronaria betegségek rizikófaktora és prognosztikus tényező is.

4. Megbeszélés

Már közel két évtizede fokozott érdeklődéssel folynak a vizsgálatok arra vonatkozóan, hogy az atherosclerosis pathogenesisében milyen szerepe van, a gyulladáshoz, autoimmun, infekciós folyamatoknak. Először a krónikus infekció szerepét kezdték széles körben vizsgálni. Kiterjedt vizsgálatok bizonyították az évek alatt, hogy a krónikus infekciónak szerepe van az atherosclerotikus érbetegség kialakulásában és progressziójában. A leginkább szobajövő kórokozók az odontopathogenek, a Chlamydia pneumoniae, a Herpes Simplex virus 1, a Cytomegalovirus, a Helicobacter pylori. Ezen kórokozók közül a legtöbb adat a Chlamydia kóroki szerepéről gyűlt össze. (55)

Bizonyították széles körűen állatkísérletekben, illetve humán szövettani anyagból, hogy a kórokozók az atheromás plakkból kimutathatók, seroepidemiológiai vizsgálatok történtek igen nagy számban, melyek a kórokozók ellenanyagainak vizsgálatával bizonyították az atherosclerotikus betegségekben ezen belül a coronaria betegségben, esetleg az acut coronaria betegségben is a szeropozitivitás rizikófaktor szerepét.

Sok vizsgálat foglalkozott a kórokozók, illetve az ellenük termelt specifikus ellenanyagok hatására kialakuló direct és indirect endothel károsító, monocytakra, makrofagokra gyakorolt hatással, valamint az ennek következtében megtörténő gyulladáshoz, adheziós molekulák felszaporodásával. (25, 58). Ezen folyamatok mindegyike szerepet játszik az atherosclerotikus folyamatok progressziójában.

Saját vizsgálatunkkal is kimutattuk, hogy a Chlamydia pneumoniae fertőzöttség nem általában a szív betegségével, hanem a coronaria betegséggel mutat kapcsolatot.

A Chlamydia pneumoniae fertőzés a coronaria betegség rizikófaktora a klasszikus rizikófaktorok (dohányzás, hypertonia, diabetes, magas Cholesterin szint, testsúly) mellett.

Vizsgálatunkban összefüggést találtunk az emelkedett Chlamydia pneumoniae ellenes IgG szint és szérum cholesterin szint között, melyet a Chlamydia pneumoniae molekuláris hatásaival, így a zsírsanyagcserére gyakorolt kedvezőtlen hatásával magyaráztunk. (61)

A bizonyítékok, hogy a C. pneumoniae fertőzés képes fokozni az atherosclerosis klinikai vizsgálatok sorát indította el, melyben antibiotikum kezelést alkalmaztak coronaria

beteg embereken és vizsgálták a coronaria történések változását. Ma már sok kisebb és néhány nagyobb vizsgálat, valamint metaanalízis (mely közel 15 000 beteg adatait dolgozta fel) eredményeit figyelembe véve kimondhatjuk, hogy antibiotikum kezeléssel nem tudjuk befolyásolni a krónikus infekció hatását az atherosclerosis progressziójára. Ennek valószínűleg egyik magyarázata, hogy a kórokozók ebben a folyamatban intracelluláris perzisztáló alakban vesznek részt, mely metabolikusan aktív forma, expresszálja a heat shock protein, de nem hat rá az antibiotikum (25).

A kérdés és a határozott vélemény nagy fontosságú, tekintve az atherosclerotikus betegség előfordulásának gyakoriságát a fejlett világban, ennek megfelelően egy esetleges antibiotikum kezelési ajánlás, illetve annak elvetése nagyon nagy mérvű, rezisztencia viszonyok miatt nem indifferens gyógyszerfelhasználásról dönt (5).

Az atherosclerosist ma gyulladós betegségeknek tartjuk. A gyulladós és autoimmun folyamatok közül a heat shock proteinek szerepéről áll rendelkezésre a legtöbb adat.

A heat shock proteinek az élővilágban a baktériumoktól az emberig előforduló fehérjék melyek a sejtek integritását hívatottak biztosítani. Az autoimmun folyamat alapja, hogy a bakteriális HSP olyan nagy hasonlóságot mutat a humán HSP-vel, hogy a „molekularis mimikri” elve alapján a bakteriális HSP humán ellenanyag képződését indukálja, mely azután cytotoxikusak, proinflammatorikus citokinek, adhéziós molekulák képződését indukálják (35).

Az eddig végzett vizsgálatokban vizsgálták az anti HSP 60-65 ellenanyag szint és az atherosclerosis súlyosságának kapcsolatát (66) és pozitív összefüggést találtak. Több vizsgálatban kerestek és találtak összefüggést az emelkedett HSP 60-65 ellenanyagszint és a coronaria betegség progressziója, a későbbi mortalitás között (43).

Saját vizsgálatunkban a Chlamydia pneumoniae és HSP ellenes ellenanyagszint együttes emelkedésének (tehát a krónikus infekció és az autoimmun folyamatok) hatását vizsgáltuk infarctusos és stabil effort anginával rendelkező, valamint a kontroll betegek között. A vizsgálat a beválogatott betegek száma alapján közepes méretű volt, de erőssége, hogy a biztos kardiológiai diagnózis mellett ugyanabban a populációban vizsgáltuk a napjainkban felmerülő lehetséges rizikófaktorok összességét úgy, hogy a klasszikus rizikófaktorok tekintetében a vizsgálati csoportok között nem volt különbség. Fontos, hogy a vizsgálati vérvétel az infarctus kialakulása után 3-48 órával történt, így az infarctus következtében kialakuló esetleges autoimmun válasz, vagy aktiváció még

nem játszhatott szerepet az eredmények alakulásában, hiszen a vérvételig eltelt idő ezen válaszok kialakulásához nem volt elegendő.

Eredményeink szerint a hHSP60 szint szignifikánsan magasabb volt infarctusos betegeknél, a mHSP65 szint szignifikánsan magasabb volt stabil effort anginás betegeknél, mint a kontroll csoportban, tehát a HSP ellen termelt ellenanyag a coronaria betegség kialakulásával egyértelműen kapcsolatba hozható volt. Egy korábbi vizsgálat azt mutatta, hogy emelkedett anti-mHSP65 szint esetén a követés 4,5 évében gyakrabban alakult ki myocardialis infarctus, mint alacsonyabb anti-mHSP65-nél, utalva ezzel arra, hogy az anti-mHSP65 szint predictiv értékű lehet a cardiális történésekre(70). Ezek az adatok összevágának azzal az irodalomból ismert eredménnyel mely szerint patkány kísérletekben HSP60 antitesttel szívmegállást lehetett kiváltani a kísérleti állatban.

Saját munkacsoportunk korábbi vizsgálata azt mutatta, hogy az emelkedett anti-mHSP 65 szint szignifikánsan magasabb coronaria betegeken, mint a kontroll csoporton, de infarctus esetén alacsonyabb, mint stabil coronaria betegség esetén. Ez arra utal, hogy infarctus és stabil angina esetén különböző mechanizmusokkal hatnak az immunfolyamatok. (64)

Eredményeink arra utalnak, hogy az emelkedett pathogen ellenes ellenanyag szint összefüggésben van a myocardialis necrosis kialakulásával. Ez számos korábbi vizsgálat eredményével megegyezik. Későbbiekben érdekes lehet olyan vizsgálat tervezése, ahol pathogének szeropozitivitása esetén a vizsgálat primer végpontja az AMI, az ischaemiás STROKE, illetve a coronaria betegség eredetű halálozás.

Vizsgálatunkban az anti-Chlamydia pneumoniae ellenanyag és anti-hHSP60 ellenanyag AMI-ban és anti-Chlamydia pneumoniae ellenes ellenanyag és anti-mHSP65 szint SEA-ban egymástól független rizikótényezőnek bizonyultak. Ennek magyarázata lehet, hogy az infekciós tényezők az endothelium sérülésében játszanak szerepet, majd ez fokozza a HSP termelést.

Az anti-Chlamydia pneumoniae ellenanyag és anti-HSP 60 ellenanyag magas értéke szignifikánsan fokozta az AMI rizikóját, bármilyen paraméter bevonásával történt az eredmények statisztikai igazítása, az OR 12 és 21,1 között mozgott.

Az anti-Chlamydia pneumoniae ellenanyag és anti-hHSP60 ellenanyag szint együttesen magas értéke fokozta a SEA rizikóját, de eltűnt a szignifikanciái, ha az eredményeket

korhoz, nemhez és mHSP 65 szinthez igazítottuk, utalva arra, hogy Chlamydia pneumoniae és hHSP60 ellenanyag esetén a rizikó fokozódása SEA tekintetében kevésbé szignifikáns.

Anti-Chlamydia pneumoniae ellenanyag és anti-mHSP65 ellenanyag szint esetén szignifikánsan emelkedett rizikónövekedést találtunk SEA tekintetében bármely értékhez végeztük az eredmények statisztikai igazítását, OR: 6,2 és 10,2 között volt.

Az a tény, hogy az AMI rizikóját a magas anti-hHSP 60 szint szignifikánsan növeli, de nem teszi ezt az anti-mHSP65 szint és a SEA rizikóját a anti-mHSP 65 szint szignifikánsan növeli, de nincs ilyen kapcsolat az anti-hHSP 60 szinttel, arra utal, hogy az atherosclerotikus coronaria betegség e két formájának pathogenesisise eltérő lehet. Ez egybevág az irodalmi ismeretekkel.

A különböző kórokozókat tekintve ezen vizsgálatunkban a Chlamydia pneumoniae ellenes ellenanyag szint volt kapcsolatban a HSP szintekkel együtt a coronaria betegség súlyosságával, a CMV és HSV ellenes ellenanyagok nem mutattak kapcsolatot sem a SEA, sem az AMI kialakulásával.

Korábbi állatkísérletek és humán műtéti anyagon végzett vizsgálatokban az atheromás plakkokból kórokozót elektronmikroskóppal, vagy annak nukleinsav részét, illetve fehérje komponenseit immunhistokémiai, vagy polymerase láncreakció módszerével kimutatták.

Folytattak néhány vizsgálatot a kórokozók ellenanyagszintje és a PTCA és ezt követő restenosis kapcsolatának kiderítésére. Helicobacter pylori, Cytomegalovirus, és Chlamydia pneumoniae szeropozitivitás és szeronegativitás összehasonlításakor nem találtak összefüggést a későbbi restenosis kialakulásával. (12)

Az irodalom áttekintése során nem találtunk eddigi vizsgálatot, amiben ki tudták mutatni a kórokozók DNS-ének nagyobb arányát intervenció után, mint előtt, alapjául annak a feltételezésnek, hogy az intervenció aktivizálhatja a kórokozókat és így a későbbi kardiális eseményeket is befolyásolhatja.

Eddigi eredmények szerint PCI után 3 hónappal több esetben tudtak kimutatni Chlamydia pneumoniae DNS-t restenosis esetén, mint a vizsgált betegek azon csoportjában, ahol nem volt restenosis, így felmerült a lehetősége a kórokozók aktiválódásának és a restenosis kapcsolatának (36, 53).

Saját eredményeink szerint PCI után nagyobb arányban található a perifériás vérben Chlamydia pneumoniae és Cytomegalovirus DNS, mint PCI előtt, bár az 5 párhuzamos mintából minden alkalommal csak egyben volt megtalálható a DNS, utalva ezzel a kórokozó DNS mennyiségére. A preproceduális és postproceduális PCR eredmények között a különbség szignifikáns ($p=0.036$) ha a CMV-t és Chlamydia pneumoniae-t együttesen vizsgáljuk, eltűnik azonban a szignifikancia ha külön-külön.

Vizsgálatunkban 2 olyan beteg (7,1%) volt, akinek PCR technikával egyik kórokozó DNS-ét kimutattuk az intervenció előtti vérmintából, míg intervenció után PCR pozitív volt a beavatkozás után 8 beteg (28,6%), utalva ezzel arra, hogy a percután intervenció során lehetőség van a kórokozók reaktivációjára és ezután atherogén folyamatok aktivizálódására. Az intervenció után nagyobb arányban kimutatott Chlamydia pneumoniae vagy CMV DNS nem volt összefüggésben a restenosisal, de ez részben az alacsony esetszámmal is magyarázható, ezért prognosztikai eredményeket nem mondtunk ki.

Szerológiai vizsgálataink nem bizonyították a pathogenek esetleges reaktivációját PCI után, a kórokozó ellenes ellenanyag szintek és az „összesített patogen terhelés” ellenanyag szintjei sem változtak szignifikánsan intervenció előtt és után 2 héttel.

Kórokozók elleni ellenanyag szinteket vizsgálva azt találták, hogy angioplastica után jelentősen növekedett a Chlamydia pneumoniae ellenes IgA szeropozitivitás, de az IgG nem. Ez az emelkedés azután a 8 hónapos követésben a major klinikai események rizikó faktorának számított. (30, 36)

A HCMV szeropozitivitás más vizsgálóknál a restenosisal mutatott összefüggést.(30)

Ismét másik vizsgálatban az bizonyították, hogy az „összesített patogen terhelés” volt kapcsolatban a restenosis arányával. (53)

Az eltérő eredményeket a szerológiai vizsgálatok metodikájának és értékelésének különbözőségével, a szeropozitivitás laboronként eltérő módon való meghatározásával, a felső szinten (felső harmad, negyed) való pozitívítás eltérő meghatározásával magyarázhatjuk.

Saját vizsgálatunkban a PCI után feltűnő mértékben emelkedett a CRP és IL-6 szint, de ez a két paraméter más értékkel nem volt összefüggésben. Nem találtunk kapcsolatot a CRP és IL-6 szint emelkedése és az intervenció után a kórokozó DNS-ek nagyobb aránya között sem.

A CRP és IL szint emelkedése a gyulladásos tényezők szerepét mutatja a PCI utáni folyamatokban és a restenosisban is, míg a HSP változatlan szintje arra utal, hogy a percután intervenció folyamán az autoimmun folyamatok valószínűleg nem aktivizálódnak. (59).

Bár a mi vizsgálatunkban nem volt összefüggés a CRP és IL-6 szint, valamint a restenosis között, az irodalomban erre is eltérő adatokat találunk, mivel ismert olyan vizsgálat ahol magasabb CRP és IL-6 szinttel magasabb restenosis arány volt kimutatható, így a CRP szintet a restenosis predictor faktorának is tartják. (69).

Ezeket az eltérő eredményeket ismét a metodikai különbséggel, a különböző vizsgáló csoportok által különböző értékben meghatározott magas CRP szinttel magyarázzuk.

Vizsgálatunk 8 hónapos követése alatt a 28 betegből 9-nél alakult ki szignifikáns (50%) restenosis. A relatív alacsony esetszámból azonban statisztikai következtetéseket nem vontunk le. Vizsgálatunk erősségének tartjuk, hogy a PTCA előtt és után azonos betegeken vizsgáltunk többféle esetleges rizikófaktort, mint a krónikus infekcióra jellemző ellenanyag szinteket, a kórokozók DNS-eit, és az autoimmun folyamatokat jellemző HSP ellenes ellenanyag szinteket.

A CRP mint acut fázis protein és a gyulladásos folyamatoknak aspecifikus markere a klinikai gyakorlatban évek óta használt paraméter. A laboratóriumi technikák fejlődésével lehetőség nyílt a hCRP mérésre, mellyel a CRP szint alacsony értéktartományokban is pontosan meghatározható és így lehetőség van kis különbségek megállapítására. Ennek kapcsán az utóbbi években derült fény arra, hogy a CRP szint nem csupán a gyulladásos betegségek markere, hanem maga a molekula az atherosclerotikus folyamat progresszióját okozhatja, mivel cytotoxikus mediátorok termelődését elősegíti. (17, 55, 64)

Sokrétú és nagyszámú vizsgálat foglalkozott eddig a CRP szint és az atherosclerotikus betegségek különböző fajtáinak és súlyossági fokának kapcsolatával. Minden vizsgálat mutatott valami összefüggést a CRP szint és a betegség kialakulása illetve prognózisa között coronaria illetve perifériás érbetegségben is. (16, 50) Stabil coronaria betegségben vagy perifériás érbetegségben a magasabb CRP szint előjelzi a későbbi major kardiális esemény vagy mortalitás valószínűségét (16, 47, 65.). Acut coronaria betegségben (acut coronaria syndroma, infarctus myocardi) a CRP szint a mortalitás, vagy az újabb major kardiovasculáris esemény jelzője lehet (31, 50, 64).

Saját vizsgálatunkban megállapítottuk, hogy az acut coronaria syndroma leggyorsabb ellátást igénylő formájában, az ST elevációs infarctusban a kiindulási CRP szint a coronarográfia kapcsán talált coronária státussal összefüggést mutat. Magas CRP szint esetén az occludált éren kívül több éren találtunk szignifikáns coronária szűkületet, mint alacsony CRP esetén. Magas CRP szinthez a coronaria betegség szignifikánsan kiterjedtebb volta kapcsolódott. Ezt az aspektust legjobb tudomásunk szerint még nem vizsgálta más vizsgáló. Az eredmény szintén azt támasztja alá, amit az irodalmi adatok minden vizsgált vonatkozásban, hogy a CRP szintnek az atherosclerotikus érbetegségben prognosztikai szerepe van és egyben önálló rizikótényező is.(50)

Mindezeknek megfelelően az irodalom napjainkban egységes abban, hogy a CRP szint a rizikó felmérés egyik eleme férfiakban és nőkben egyaránt .(47)

Egyes kutatók a CRP szintet a magas troponin értékkel, a diabetesszel, illetve a magas HDL koleszterin szinttel azonos erejű rizikótényezőnek tartják.(17, 39)

Általános vélemény szerint a CRP prediktív tényező nemcsak coronária, hanem cerebrális és perifériás érbetegségben is. (64)

5. Összefoglalás

Napjainkban a gyulladást, és az autoimmun folyamatokat az atherosclerosis kialakulásában és progressziójában döntő fontosságúnak tartjuk, szerepüket a hagyományos rizikófaktorok súlyához hasonlíthatjuk.

Minden ma ismert molekuláris folyamatra, mely az endothel sérülését okozza, illetve az endothel sérülés mellett az atherosclerotikus folyamatot gyorsítja, hatással vannak a gyulladás és az autoimmun folyamatok által termelt citokinek(TNF alfa, IL -1, IL -6 , IL -8 ,) adheziós molekulák (ICAM, VCAM) , CRP, ellenanyagok (anti HSP 60, anti HSP 65), valamint a kórokozók ellen termelt ellenanyagok. Így ma már egyértelmű bizonyítást nyert, hogy az autoimmun folyamatok az atherosclerotikus betegség progressziójában szerepet játszanak. Az utóbbi évek vizsgálatai bizonyították, hogy a CRP szint részben mediátora az atherosclerotikus érbetegségnek, illetve a további kimenetel predictor, de tekintettel arra, hogy a CRP szint maga is változik azon

folyamatok következtében, melyek az atherosclerosis progresszióját okozzák (gyulladás, immunfolyamatok) a CRP szint önálló rizikótényezőnek is bizonyul.

Már két évtizede zajló, széles körű szeroepidemiológiai adatok, humán és állati szerveken végzett szövettani, és a betegséget előidéző állatkísérletes vizsgálatok, bizonyították, hogy a krónikus infekció, a kórokozók összességének jelenléte az atherosclerotikus folyamat progresszióját okozza. Nem nyert bizonyítást viszont az a kézenfekvőnek látszó gondolat (metaanalízisek eredménye szerint sem), hogy a kórlefolyás kedvezően befolyásolható antibiotikum kezeléssel.

Saját vizsgálatunkkal is bizonyítottuk, hogy a krónikus Chlamydia pneumoniae fertőzés következtében emelkedett anti-Chlamydia pneumoniae IgG szint pozitív összefüggésben van a coronaria betegség gyakoriságával, valamint az emelkedett koleszterin szinttel is, jelezve, hogy a krónikus infekció a coronaria betegség rizikófaktora.

Következő vizsgálatunkban a krónikus infekció és az autoimmun folyamatok együttes hatását vizsgáltuk stabil angina pectoris és myocardialis infarctus kialakulásának rizikója szempontjából. Megállapítottuk, hogy az általunk vizsgált kórokozók közül (egybevágóan az általános nemzetközi vizsgálati eredményekkel) Chlamydia pneumoniae krónikus infekciója van összefüggésben a coronaria betegséggel, míg a CMV és a HSV nem. Szignifikánsan magasabb Chlamydia pneumoniae ellenes IgG szintet találtunk az infarctusos betegek esetében a kontroll csoporthoz képest. Magas hígításban is pozitív Chlamydia pneumoniae ellenes IgG szint esetén, ha az autoimmun folyamatokra jellemző HSP ellenes ellenanyag szint is magas volt jelentősen fokozott rizikót találtunk mind a stabil, mind az acut coronaria betegség tekintetében. A legnagyobb mértékű rizikófokozódást (15,5-szörös) magas Chlamydia pneumoniae ellenes IgG és magas hHSP60 szint esetén találtuk myocardialis infarctus vonatkozásában, és majdnem 8 szoros rizikófokozódást találtunk stabil coronaria betegség kialakulásának tekintetében magas Chlamydia pneumoniae ellenes IgG és magas anti-mHSP 65 szint esetén. Ezen eredmények is azt támasztják alá, hogy a krónikus infekció és az autoimmun folyamatok együttes előfordulása fokozottan növeli az atherosclerotikus érbetegség, ezen belül is a coronaria betegség kialakulásának valószínűségét.

Az utóbbi két évtizedben az egész világon elterjedt a coronaria betegség gyógyítására a percután coronaria intervenció, mely a coronariákban lévő plakk mechanikus károsítása folytán állítja helyre az érben a lument, a véráramlás útját. Több vizsgálat folyt annak kimutatására, hogy ez a beavatkozás mennyiben befolyásolja a folyamatok későbbi progresszióját, hogy a jelenleg csak részleteiben ismert restenosiszt okozó tényezők között szerepe lehet e, a percután intervenció által esetlegesen reaktivált kórokozónak, illetve gyulladós folyamatoknak. Saját vizsgálatunk (legjobb tudásunk szerint először) azt mutatta, hogy a percután intervenció után nagyobb arányban lehet kórokozó DNS-t kimutatni a vérből, mint az intervenció előtt, és az intervenció után szignifikánsan magasabb IL6 és CRP szinteket találtunk. A DNS kimutatása és a gyulladós paraméterek növekedése között azonban nem volt összefüggés, és nem volt kapcsolat ezen értékek és a restenosis között sem. Ezen eredmények alapján azt mondhatjuk, hogy a percután intervenció aktiválhatja a plakkokban megtalálható kórokozókat és gyulladós folyamatokat, további, nagyobb esetszámú vizsgálatra van szükség ezen folyamatok kapcsolatának, illetve a restenosis viszonyának tisztázására.

A CRP szint, mint az aspecifikus gyulladós marker a klinikai gyakorlatban széles körben használatos. Napjainkban általános vélemény, hogy a CRP szint az atherosclerotikus érbetegségek prediktív tényezője, emellett önálló rizikófaktor. Rizikó fokozó szerepe azonos erősségű, mint a magas HDL koleszterin, a diabetes, illetve acut coronaria syndromában az emelkedett troponin érték szerepe. Eredményeink szerint a CRP szint ST elevációs infarctusban vizsgálva szoros összefüggést mutat a coronaria betegség kiterjedtségével, magas CRP szinthez több, nagy coronaria arterián lévő szignifikáns szűkület társult.

6. Következtetések és új megállapítások

- Saját vizsgálatainkban, összhangban az irodalmi adatokkal megállapítottuk, hogy a korábbi infekciót jelző emelkedett C. pneumoniae ellenes ellenanyag szint a coronaria betegség rizikótényezője.
- Az emelkedett Chlamydia pneumoniae ellenes ellenanyag szint kapcsolatban van a lipid paraméterekkel, azokat kedvezőtlenül befolyásolja, tovább súlyosbítva ezzel a coronaria betegséget.

- Az emelkedett Chlamydia pneumoniae ellenes ellenanyag szint nemcsak általában a coronaria betegségben, hanem külön-külön stabil effort anginában, és myocardialis infarctusban is szignifikánsan magasabb volt a kontroll csoport értékeihez képest.
- Az emelkedett hHSP 60 szint a myocardialis infarctus rizikótényezője, míg az mHSP65 a stabil effort angina kialakulásának valószínűségét növeli.
- Az emelkedett Chlamydia pneumoniae ellenes IgG és a hHSP 60 szint együttesen az infarctus kialakulásának rizikóját több mint 10-szeresére növeli, míg a Chlamydia pneumoniae ellenes IgG és mHSP65 szint a SEA kialakulásának esélyét növeli több, mint 7-szeresére.
- Új eredményként megállapítottuk, hogy PTCA után a vérben több alkalommal mutatható ki a coronaria plakkokban ismert jelenlévő kórokozók DNS-e, mint az intervenció előtt, tehát adatot találtunk arra vonatkozóan, hogy a percután coronaria intervenció a kórokozók reaktivációját idézheti elő.
- További új eredményünk, hogy magasabb CRP esetén STEMI-ben súlyosabb, kiterjedtebb coronaria betegséget találunk a coronarográfias lelet alapján, mint alacsony CRP esetén.
- Figyelembe véve a krónikus infekció kezelésével kapcsolatos egyértelmű eredményeket, miszerint antibiotikum kezeléssel a krónikus infekció által romló atherosclerotikus érbetegség nem befolyásolható, eredményeink klinikai hasznát a rizikószűrésben látom.
- Véleményem szerint a gyakorlatban jelenleg használt szűrő módszereken kívül a vérvételkor bizonyos betegeknél meghatározott Chlamydia pneumoniae ellenes IgG titer és a HSP ellenes IgG titer meghatározása segítséget adhat a magas rizikójú coronaria betegek kiszűrésére, magával vonva ezután ezen betegek speciális kezelését és kivizsgálását, az invazív vizsgálatok szükség esetén való elvégzéséig.

7. Irodalomjegyzék

1. Altman R: Risk factors in coronary atherosclerosis athero-inflammation: the meeting point. *Thromb J.*2003;1 : 4-10
2. Anderson JL, Muhlestein JB: The ACADEMIC study in perspective (Azithromycin in coronary artery disease: elimination of myocardial infection with Chlamydia. *J Infect Dis* 2000 Jun;181 Suppl 3:S569-571
3. Anderson JL., Carlquist JF., King GJ., Muhlestein JB., Horne BD., Elmer SP. : Evaluation of C-reactiv protein, an inflammatory marker, and infectious serology as risk factors for coronary artery disease an myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1998;3235-41
4. Anderson JL., Muhlestein JB., Carlquist J., Allen A., Trehan S., Nielson C., Hall S., Brady J., Egger M., Horne B., Lim T.: Randomized Secondary Prevention Trial of Azithromycin in Patients With Coronary Artery Disease and Serological Evidence for Chlamydia pneumoniae Infection. - *Circulation.* 1999;99 :1540-1547
5. Andraws R, Berger JS, Brown DL: Effects of Antibiotic Therapy on Outcomes of Patients With Coronary Artery Disease. *JAMA* 2005;293:2641-2647
6. Birnie D.H., E.R. Holme, I.C. McKay, S. Hood, K.E.L. McColl, W.S. Hillis: Association between antibodies to heat shock protein 65 and coronary atherosclerosis. *European Heart Journal* (1998): 19, 387-394
7. Blake GJ, Ridker PM, : Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circulation Res.:* 2001;89:763-771
8. Boman J, Hammerschlag MR: Chlamydia Pneumoniae and Atherosclerosis: Critical Assesment of Diagnostic Methods and Relevance to Treatment Studies. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(1):1-20
9. Boman J.: Margaret Hammerschlag: Chlamydia pneumoniae and Atherosclerosis: Critical Assesment of Diagnostic Methods and Relevance to Treatment Studies. *Clinical Microbiology Reviews* :Jan.2002,p. 1-20
10. Burian K, Kis Z., Virok D., Endresz V., Prohaszka Z., Duba J., Berencsi K., Boda K., Horváth L., Romics L., Füst G., Gönczöl É. : Independent and Joint effects of Antibodies to Human Heat-Shock Protein 60 and Chlamydia

- pneumoniae Infection in the Development of Coronary Atherosclerosis. *Circulation*. 2001;103:1503-1508
11. Caligiuri G., et al.: Chlamydia pneumoniae Infection Does Not Induce or Modify Atherosclerosis in Mice *Circulation*. 2001;103:2834-2838
 12. Carlsson Joerg, Miketic S, Brom J, Ross R, Bachmann H, Tebbe U: Prior Cytomegalovirus, Chlamydia pneumoniae or Helicobacter pylori infection and risk of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *International Journal of Cardiology* 2000;73:165-171
 13. Cook and G.Y.H. Lip: Infectious agents and atherosclerotic vascular disease. - *Q.J. Med.* 1996, 89: 727-735
 14. Corti R, Farkouh ME, Badimon JJ: The vulnerable plaque and acute coronary syndromes. *Am J Med.* 2002;113:668-680
 15. Danesh John, Rory Collins, Richard Peto: Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? - *Lancet* 1997, 350:430-36
 16. De Servi S, Mariani M, Mariani G, Mazzone A.: C-Reactive Protein Increase in Unstable Coronary Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:1496-1502
 17. Edward T.H. Yeh,: CRP as a Mediator of disease. *Circulation*. 2004;109: II-11-II-14
 18. Ericson K, et al.: Relationship of Chlamydia pneumoniae Infection to Severity of Human Coronary Atherosclerosis. *Circulation* 2000;101:2568-2571
 19. Fong IW., et al.: Influence of Clarithromycin on Early Atherosclerotic Lesions after Chlamydia pneumoniae Infection in a Rabbit Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Aug, 2002 p. 2321-2326
 20. Grayston JT et al.: Chlamydia pneumoniae , strain TWAR, and atherosclerosis . *Eur Heart J.* 1993;14:66-71
 21. Grayston JT., Kuo CC., Coulson AS, Campbell LA, Lawrence RD: Chlamydia pneumoniae (TWAR) in atherosclerosis of carotid artery. *Circulation*, 92:12 1995 Dec. 15, 3397-400
 22. Grayston JT.: Chlamydia pneumoniae. *Textbook of Infectologia: Part III.* 1696-1701
 23. Gupta S., Leatham EW., Carrington M., Mendall MA., Ireson N., Tooze J., Bevan D., Camm AJ., Kaski JC. : The effect of azithromycin in postmyocardial

- infarction (MI) patients with elevated Chlamydia pneumoniae antibody titres. *J Am Coll cardiol.* 1997;29:209A Abstract
24. Gurfinkel E., G. Bozovich, E. Beck, E. Testa, B. Livellaras and B. Mautner for the ROXIS Study Group: Treatment with the antibiotic roxithromycin in patients with acute non Q wave coronary syndromes. *European Heart Journal* 1999;20: 121-127
 25. Hasan A, Sadoh D, Palmer R, Foo M, Marber M, Lehner T, : The Immune responses to human and microbial heat shock protein in periodontal disease with and without coronary heart disease. *Clin Exp Immunol* 2005;142(3):585-594
 26. Horne BD, Muhlestein JB, Strobel GG, Carlquist JF, Bair TH, Andersen JL: Greater pathogen burden but not elevated C-reactive protein increases the risk of clinical restenosis after percutaneous coronary intervention. *Am Heart J* 2002;144:491-500
 27. Huittinen T, et al.: Synergistic Effect of Persistent Chlamydia Pneumoniae Infection, Autoimmunity, and Inflammation on Coronary Risk. *Circulation.*2003;107:2566-2570
 28. Huittinen T., Leinonen M., Tenkanen L., Manttari M., Virkkunen H., Pitkanen T., Wahlstrom E., Palosuo T., Manninen V., Saikku P. : Autoimmunity to human heat shock protein 60, Chlamydia pneumoniae infection, and inflammation in predicting coronary risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002 Mar 1;22 (3) : 431-434
 29. Johnston SC, Zhang H, Messina LM, Lawton MT, Dean D: Chlamydia Pneumoniae Burden in carotid Arteries Is Associated With Upregulation of Plaque Interleukin-6 and Elevated C-Reactive Protein in Serum. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 2648-2653
 30. Kaehler J, Haar A, Schaps KP, Gaede A, Carstensen M, Schalwat I et al: A randomized trial in patients undergoing percutaneous coronary angioplasty: Roxithromycin does not reduce clinical restenosis but angioplasty increases antibody concentrations against Chlamydia pneumoniae. *Am Heart J* 2005;150:987-993

31. Kennon S, Timmis AD, Whitbourn R, Knight C: C reactive protein for risk stratification in acute coronary syndromes? Verdict: unproven. *Heart*: 2003;89(11):1288-1290
32. Kiechl S., Egger G., Mayr M., et al.: Chronic infections and the risk of carotid atherosclerosis: prospective result from a large population study. *Circulation* 2001, 103:1064-1070
33. Kleindienst R., Xu Q., Wileit J., Waldenberger FR., Wimann S., Wick G.: Immunology of atherosclerosis :demonstration of heat shock protein and T – lymphocytes bearing α/β or γ/δ receptor in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1993;142:1927-37
34. Kohchi K, Takebayashi S, Hiroki T, et al.: Significance of adventitial inflammation of the coronary artery in patients with unstable angina : result at autopsy. *Circulation* 1985; 4: 709-716
35. Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P: Chlamydial Heat Shock Protein 60 Localizes in Human Atheroma and Regulates Macrophage Tumor Necrosis Factor- α and Matrix Metalloproteinase Expression. *Circulation* 1998;98:300-307
36. Krause R, Leidencker J, Hermann G, Harder T, Ullmann U.: Chlamydia pneumoniae infection and restenosis in patients with coronary heart disease. *Infection*: 2003;31:149-151
37. Leinonen M., Saikku P.: Evidence for infectious agents in cardiovascular disease and atherosclerosis. *The Lancet Infectious Diseases* 2002 Jan. Vol.2 (No1) 11-17
38. Libby P, Ridker PM, Maseri A: Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation* 2002;105: 1135-1143
39. Lindahl B, Toss H, Seigbach A et al: Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:1139-1147
40. Mandi OS, Horne BD, Mullen K, et al.: Serum immunoglobulin G antibodies to chlamydial heat shock protein 60 but to human and bacterial homologs are associated with coronary artery disease. *Circulation* 2002;106:1659-63
41. Mayr M et al., : Infections, Immunity, and Atherosclerosis – Associations of Antibodies to Chlamydia Pneumoniae, Helicobacter Pylori and Cytomegalovirus

- With Immune Reactions to Heat-Shock Protein 60 and Carotid or Femoral Atherosclerosis. *Circulation*. 2000;102:833-839
42. Mayr M., Metzler B., Kiechl S., Willeit J., Schett G., Xu Q., Wick G.: Endothelial Cytotoxicity Mediated by Serum Antibodies to Heat Shock Proteins of *Escherichia coli* and *Chlamydia pneumoniae*. *Circulation*: 1999;99:1560-1566
 43. Merier CR: Antibiotics in the prevention and treatment of coronary heart disease. *J Infect Dis*. 2000;181:S558-562
 44. Muhlestein J.B. et al.: Increased Incidence of *Chlamydia* Species Within the Coronary Arteries of Patients With Symptomatic Atherosclerotic Versus Other Forms of Cardiovascular Disease. *JACC* Vol. 27, No. 7 June 1996: 1555-61
 45. Muhlestein JB, Anderson JL, Carlquist JF., Salunkhe K, Horne BD, Pearson RR, Bunch TJ, Allen A, Trehan S, Nielson C :Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease : primary clinical results of the ACADEMIC study. *Circulation* 2000 Oct 10, 102(15):1755-60
 46. Muhlestein JB., Anderson JL., Hammond EH., Zai L., Trehan S., Schwobe EP., Carlquist JF. : Infection with *Chlamydia pneumoniae* accelerates the development of atherosclerosis and treatment with azithromycin prevents it in a rabbit model. *Circulation*. 1998;97:633-636
 47. Mulvihill NT, Foley JB: Inflammation in acute coronary syndromes. *Heart* 2002; 87(3):201-204
 48. Murat V, Kalayoglu MD, Libby P, Byrne GI : *Chlamydia pneumoniae* as an Emerging Risk Factor in Cardiovascular Disease. *JAMA* 2002;288:2724-2731
 49. O'Connor CM, Dunne MW, Pfeffer MA, et al.: Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events: the WIZARD study, a randomized controlled trial. *JAMA*, 2003;290: 1459-1466
 50. Pepys MB, Hirschfield GM : C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003;Jun.15:111(12):1805-1812
 51. Pockley AG: Heat Shock Proteins, Inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002;105:1012-1017

52. Prohaszka Z, Duba J, lakos G, et al.: Antibodies against human HSP 60 and mycobacterial HSP65 differ in their antigen specificity and complement activating ability. *Int Immunol* 1999; 126:333-338
53. Rahel BM, Visseren FL, et al: Cytomegalovirus and Chlamydia pneumoniae as predictors for adverse events and angina pectoris after percutaneous coronary intervention. *AM Heart*. 2004;148:670-675
54. Rugonfalvi-Kiss Sz, et al: Association of Chlamydia pneumoniae With Coronary Artery Disease and Its progression Is Dependent on the Modifying Effect of Mannose-Binding Lectin. *Circulation*.2002;106:1071-1076
55. Russell Ross: Atherosclerosis – An Inflammatory Disease . *The New England Journal of Medicine* 1999;340: 115-126
56. Saikku P.: Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor in acute myocardial infarction. *European Heart Journal* (1993) 14 (Supplement) 62-65
57. Saleh N, Svane B, Jensen J, Hansson LO, Nordin M, Tornvall P: Stent implantation, but not pathogen burden, is associated with plasma C-reactive protein and interleukin-6 levels after percutaneous coronary intervention in patients with stable angina pectoris. *AM Heart J* 2005;149:876-882
58. Sorlie PD et al.: A Prospective Study of Cytomegalovirus, Herpes Simplex Virus 1, and Coronary Heart Disease. *Arch Intern Med*. 2000;160:2027-2032
59. Thom DH et al.: Association of prior infection with Chlamydia pneumoniae and angiographically demonstrated coronary heart disease. *JAMA* . 1992;268: 68-72
60. Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, Toutouzas P, Ambrose JA : Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis. *Heart* 2003;89(9): 993-997
61. Vályi-Nagy István ,Pető Mónika, Virók Dezső, Burián Katalin, Császár Albert, Heltai Krisztina, Gönczöl Éva: Kórokozók szerepe az atherosclerosis etiológiájában és patogenezisében . *Lege Artis Medicinae* 2000 :10(4): 284-290
62. Veres A, Füst G, Smieja M et al: Relationship of anti-60 kDa heat shock protein and anti-Cholesterinesterol antibodies to cardiovascular events . *Circulation* 2002;106:2775-2780

63. Virok D, Kis Z, kari L, Barzo P, Sipka R, Burian K: Chlamydia pneumoniae and human cytomegalovirus in atherosclerotic carotid plaques -combined presence and possible interactions. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2006;53:35-50
64. Wim K, et al.: C-reactive Protein as a Cardiovascular Risk Factor. *Circulation*. 1999;100:96-102
65. Wong Y.K., Gallagher P.G, Ward M.E.: Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. *Heart* 1999,81:232-238
66. Xu Q., Kiechl S., Mayr M., Metzler B., Egger G., Oberhollenzer F., Willeit J., Wick G.: Association of Serum Antibodies to Heat-Shock Protein 65 With Carotid Atherosclerosis : *Circulation* : 1999;100:1169-1174
67. Xu Q., Luef G., Weimann S., Gupta S., Wolf H., Wick G.: Staining of Endothelial Cells and Macrophages in Atherosclerotic Lesions With Human Heat-Shock Protein-Reactive Antisera. *Arterioscler Thromb*. 1993;13: 1763-1769
68. Yarnell, A. Evans: Chlamydia and coronary heart disease. *European Heart Journal* (1996) 17, 650-651
69. Zairis MN, Papadaki OA, Psarogianni PK, Thoma MA, Andrikopoulos GK, Batika PC et al.: Serologic markers of persistent Chlamydia pneumoniae infection and long –term prognosis after succesful coronary stenting. *AM Heart J* 2003;146:1082-1089
70. Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, Csako G, Waclawiw MA, Shearer GM, Epstein SE: Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. *Am J Cardiol* 2000 Jan. 15;85(2):140-146
71. Zhu J., Quyyumi AA, Norman JE, et al.,: Effect of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C reaktive protein levels. *Am J Cardiol* 2000, 85:140-146