

Új genetikai rizikótényezők és terápiás lehetőségek carotis-intervenciók után fellépő resztenózisban

Doktori tézisek

Dr. Hirschberg Kristóf

Semmelweis Egyetem
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola
Szív- és Érendszeri Betegségek Élettana és Klinikuma
Programvezető: Prof. Dr. Merkely Béla az MTA doktora



Témavezetők: Prof. Dr. Entz László, Ph.D.
Prof. Dr. Szabó Gábor, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Sótonyi Péter, Ph.D.
Dr. Farkas Katalin, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Karádi István, az MTA doktora
Szigorlati bizottság tagjai: Prof. Dr. Bérczi Viktor, az MTA doktora
Dr. Meskó Éva, Ph.D.

Budapest
2009

1. BEVEZETÉS

Az ateroszklerotikus eredetű érbetegségek sebészi és intervenciók kezelésének hosszútávú sikerességét elsősorban a resztenózis korlátozza, amely e beavatkozások - jelenleg még nem teljesen megoldott - szövődménye. Előfordulási gyakorisága érterülettől, kezelési formától, nemtől, társbetegségektől és egyéb tényezőktől függően széles határok között változik. Hagyományos ballon-angioplastika esetén 30-50%-os, fémsztentek (bare metal stent) használata esetén 10-30%-os, gyógyszerkibocsátó (drug-eluting) sztenteknél ennél kisebb resztenózisarányral számolhatunk. Közös tényező azonban a resztenózis patomechanizmusa és egyes rizikótényezői.

Az intraarteriális beavatkozások során fellépő érfalsérülés és iszkémia-reperfúziós károsodás (utóbbi elsősorban a kirekesztéssel járó műtéti megoldásoknál) indítja el a resztenózishoz vezető, egymást átfedéssel követő patológiai folyamatokat: (1) trombocitaaktiváció, trombocitaaggregáció, (2) gyulladáshoz vezető kaszkád aktivációja, (3) ér-simaizomsejtek migrációja és proliferációja, valamint (4) extracelluláris mátrix termelés. Az érlumen ismételt beszűkülését - az utóbbi két folyamat által - neointimális hiperplázia okozza. Ballon-angioplastika esetén, kezdeti lépésként, az elasztikus recoil is szerepet játszik, amely a dilatációt követő órákban fellépő passzív folyamat. Egyes immunszuppresszív és antiproliferatív szerekkel bevont (pl. sirolimus-, paclitaxel-kibocsátó) sztentek multicentrikus vizsgálata szerint azok hatékonyan gátolták a koronária insztent-resztenózist. A fent részletezett patomechanizmus a korai resztenózissal vonatkozik, amely a beavatkozást követő 1-2 éven belül lép fel. A késői resztenózist ezzel szemben inkább az ateroszklerózis progressziója jellemzi.

Resztenózis-rizikót szisztémás és lokális tényezők egyaránt jelenthetnek. Előbbire példa a cukorbetegség, utóbbira az elsődleges sztenózist okozó plakkok típusa vagy hossza. Nőkben általában magasabb resztenózis-gyakoriságról számolnak be. Ezenkívül egyre több irodalmi adat van arra nézve, hogy genetikai tényezők is hajlamosíthatnak (pl. glikoprotein-receptor, angiotenzin konvertáló enzim gátló, illetve mannózkötő lektin gének polimorfizmusai) a resztenózissal.

Az artéria carotis interna szignifikáns sztenózisa az iszkémiás stroke-ok jelentős hányadéért felelős. A stroke rizikó hatékonyan csökkenthető carotis-endarterektómiával (CEA), mind tünetes, mind tünetmentes carotissztenózisos betegekben. Az utóbbi évtizedben egyre

jelentősebb szerepet kapott a sebészeti megoldás alternatívájaként a carotisarteria angioplasztikája és sztentelése (CAS). A sebészi és endovaszkuláris carotis-intervenciók egyenértékűsége azonban vitatott, a két eljárás nem kompetitív, inkább egymás kiegészítői. Magas műtéti rizikójú betegekben, vagy sebészileg nehezen megoldható esetekben az endovaszkuláris módszer ajánlott. Mindkét beavatkozás után jelentős számban fordulhat elő resztenózis, amely jelen dolgozat alaptémáját képezi. Vizsgálataink során a resztenózis kialakulásában szerepet játszó intracelluláris jelátviteli utak közül a nitrogén-monoxid (NO) - ciklikus guanozinmonofoszfát (cGMP) - protein kináz G (PKG) szignálúttal, illetve az alfa-ösztrogénreceptor szerepével foglalkoztunk.

Az ösztrogén fontos vazoprotektív hormon, amelynek számos - az érfalsérülést követő válaszreakcióban fellépő - kedvező hatását írták le *in vitro* és *in vivo* kísérletekben. Ezzel kapcsolatban az alfa-ösztrogénreceptoron keresztül létrejövő hatásoknak tulajdonítanak szerepet. Irodalmi adatok utalnak arra is, hogy az alfa-ösztrogénreceptor génjének mutációi által okozott polimorfizmusok szerepet játszhatnak egyes egyének fokozott resztenózis hajlamában. A nitrogén-monoxid szintén érprotektív, amelynek a resztenózis prevencióban betöltött kedvező hatását számos kísérletes modellben igazolták.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen munkánk célja a sebészi, illetve endovaszkuláris carotis-beavatkozások szövődményeként kialakuló resztenózis újabb rizikótényezőinek, valamint a terápiás lehetőségek vizsgálata volt. Ennek megfelelően, a tanulmány egymást kiegészítő klinikai és kísérletes részekből áll.

1. Érfalsérülés, illetve az iszkémia-reperfúziós károsodás segíti elő a resztenózishoz vezető neointimális hiperplázia kialakulását. Egy korábbi munkánk eredménye szerint azonnali komplementaktiváció követi a carotis-endarterektómiát, és ez arányban áll a műtét alatti kirekesztési (iszkémiás) idővel, ugyanakkor sztentelés után nem volt számottevő komplementaktiváció. Irodalmi adatok alapján a kirekesztési idő arányos a resztenózis gyakoriságával.

Célul tűztük ki, hogy nagy számú beteganyagon hasonlítjuk össze a carotisműtét, illetve carotissztentelés után fellépő resztenózis gyakoriságát.

E célból retrospektív vizsgálatot terveztünk, amelybe az Ér- és Szívsebészeti Klinikán egy év alatt kezelt carotissztenózisos betegeket vontuk be.

2. A bevezetésben említettek szerint, egyes génpolimorfizmusok rizikófaktorként szerepelhetnek a reszstenózis kialakulásában, további általános és lokális kockázati faktorok mellett. Ismert az ösztrogének alfa-ösztrogénreceptoron keresztül megvalósuló protektív szerepe a vaszkuláris sérülésre adott válaszbán, valamint az említett receptor pontmutációinak lehetséges patogenetikai szerepe koronária insztent-reszstenózisban.

Célul tűztük ki az alfa-ösztrogénreceptor két jelentős polimorfizmusa (XbaI és PvuII) szerepének vizsgálatát carotis-endarterektómiát és carotissztentelést követő rekurrens sztenózisban. E célból nem randomizált, prospektív tanulmányt terveztünk: a revaszkularizáló műtéten, illetve sztentelésen átesett carotissztenózisos betegeket 1 éven át ultrahangvizsgálattal követtük.

3. A vaszkuláris media simaizomsejtjeinek migrációja és proliferációja lényeges a neointimális hiperplázia kialakulásában. Irodalmi adatok arra hívják fel a figyelmet, hogy a csökkent cGMP-jelátvitel hozzájárulhat a neointima megvastagodásához, és a folyamat a NO-cGMP-PKG szignál aktiválásával lassítható.

Kísérletes munkánkban a foszfodiészteráz-5 gátló kezelés hatásait vizsgáltuk - amely a cGMP lebontás gátlásán keresztül annak jelátvitelét fokozza - carotis-endarterektómia modellen patkányokban.

3. MÓDSZEREK

3.1. Klinikai tanulmányok

Beteganyag

A Semmelweis Egyetem Ér- és Szívsebészeti Klinikáján 2004-ben carotissztenózis miatt kezelt 685 beteget vontunk be a retrospektív vizsgálatunkba a carotisműtét és carotissztentelés után fellépő reszstenózis gyakoriságának felmérésére. Prospektív tanulmányunkba a Klinikán 2005-2007 között beválogatott 172 beteg került be, akiknél az alfa-

ösztrogénreceptor gén két polimorfizmusát határoztuk meg, valamint nyaki ultrahangvizsgálatot végeztünk.

Preoperatív kivizsgálás

A betegek a carotis-revaszkularizációt megelőzően nyaki ultrahangvizsgálaton estek át. Az áramlási sebességértékeket az artéria carotis communis (ACC) disztális részében illetve az artéria carotis internában (ACI) és externában mértük. Az ACI sztenózis meghatározása - a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően - a csúcs szisztolés sebesség (Peak Systolic Velocity – PSV), a végdiasztolés sebesség (End Diastolic Velocity – EDV), valamint az ACI/ACC átmérőarány meghatározása alapján történt. A szentes betegeknél az ultrahangvizsgálat után diagnosztikus angiográfiát végeztünk, amellyel - lehetőség szerint - egyidőben történt a sztentbehelyezés. A CEA-betegknél az ultrahangvizsgálat után CTA (computer tomográfias angiográfia), MRA (mágneses rezonanciás angiográfia) vagy DSA vizsgálat (digitális szubtrakciós angiográfia) történt.

Carotis-intervenciók

A tanulmány időszakában carotissztenózis esetén az everziós carotis-endarterektómia volt a választandó sebészi eljárás, amelyet általános anesztéziában végeztünk. A műtét során a carotis internát ferdén levágjuk eredésénél a carotis communisról. Az ateromatózus plakk körül réteget képezünk, az eret kifordítjuk és a plakkot elválasztjuk az értől. Ezt követően a carotis communis és externa felrakódásait is eltávolítjuk, majd a carotis internát visszaültetjük a communisba. A kezelés indikációi nemzetközi ajánlásokon alapultak (AHA, American Heart Association).

Az artéria carotis interna sztentelése helyi érzéstelenítésben történt. Amennyiben lehetséges volt, a combartérián keresztül vezetett katéterrel jutottunk a kezelendő érszakaszhoz. A betegek acetilszalicilsav (100 mg) és clopidogrel (75 mg) előkezelésben részesültek a beavatkozás előtti három napon keresztül. A CAS kezdetén a betegek iv. heparint (10000 egység) és atropint (0,5 mg) kaptak. FilterWire EX (Boston Scientific) embóliavédő eszközt használtunk minden esetben. Az esetek 90%-ában Wallstentet, illetve 5-5%-ban Precise és Xact sztentet használtunk. A betegeket a beavatkozás után egy vagy két nappal bocsátottuk haza, ezután a clopidogrelt 6 hétig, az aspirint folyamatosan szedték. A carotissztentelés

indikációját a nemzetközi ajánlásoknak (AHA, American Heart Association és ASA, American Stroke Association) megfelelően állítottuk fel.

Utánkövetés

A 685 esetből 512 carotis-beavatkozás után (368 carotis-endarterektómia 347 betegen és 144 carotis interna sztentelés 140 betegen) végeztünk kontroll nyaki ultrahangvizsgálatot. Az átlagos utánkövetési idő 18,4 hónap volt (6-38 hónapig terjedő intervallumban). A prospektív vizsgálatba beválogatott 172 beteget (90 CAS, 82 CEA) átlag 12 hónapos utánkövetési idővel kontrolláltuk nyaki ultrahangvizsgálattal.

Carotis-endarterektómia után a következő kritériumokat alkalmaztuk a resztenózis mértékének megállapításához: 50-69%-os ACI-resztenóziát állapítottunk meg 125-230 cm/s-os PSV, 40-100 cm/s-os EDV és 2,00-4,00 közötti ACI/ACC PSV arány esetén. 70%-nál nagyobb ACI-resztenóziát 230 cm/s feletti PSV, 100 cm/s feletti EDV és 4,00 feletti ACI/ACC PSV arány esetén detektáltunk. Carotis interna sztentelés esetén a következőképpen módosultak ezek a kritériumok: 50-69%-os ACI insztenz-resztenóziát állapítottunk meg 225-350 cm/s-os PSV, 75-125 cm/s-os EDV és 2,50-4,75 közötti ACI/ACC PSV arány esetén. 70%-nál nagyobb ACI insztenz-resztenóziát 350 cm/s feletti PSV, 125 cm/s feletti EDV és 4,75 feletti ACI/ACC PSV arány esetén detektáltunk.

Laboratóriumi vizsgálatok és genotipizálás

A prospektív tanulmányban részt vevő 172 betegnél a teljes genomiális DNS izolálását Miller módszere alapján végeztük manuálisan. Az alfa-ösztrogénreceptor génnek 1300 bázispár nagyságú szakaszát amplifikáltuk polimeráz láncreakcióval (PCR, polymerase chain reaction). A PCR termékeket PvuII és XbaI restrikciós enzimekkel (Fermentas International Inc., Burlington, Ontario, Kanada) 37 °C-on egy éjszakán át emésztettük, majd 2%-os agaróz gélen futattuk és etídium-bromiddal tettük láthatóvá. Az alléleket az emésztett DNS-szakaszok hossza szerint azonosítottuk: PvuII polimorfizmusnál az 1300 bázispár nagyságú szakasz a C-allélt, a 850+450 bázispár nagyságú szakaszok a T-allélt, XbaI polimorfizmusnál az 1300 bázispár a G-allélt, a 900+400 bázispár az A-allélt jelentik.

Statisztika

Adatgyűjtés a Microsoft Excel 2003 programmal, adatelemzés a Statistica 8.1 (StatSoft, Tulsa, USA) szoftverrel történt. Az esetek döntő részében az adatok nem normális eloszlást követtek (Shapiro-Wilks teszttel vizsgálva), ezért nonparametrikus tesztek alkalmaztunk. A kategórikus változókat khi-négyzet és Fischer egzakt teszttel, a folytonos változókat Mann-Whitney-próbával hasonlítottuk össze. Egyszeres és többszörös logisztikus regressziót végeztünk a resztenózis-rizikó meghatározására. Minden számolásnál a $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

3.2. Kísérletes tanulmányok

Carotis-endarterektómia patkánymodellje

Altatott (100 mg/kg ketamin-hidroklorid és 5 mg/kg xilazin-hidroklorid), hím Sprague-Dawley patkányokon jobboldali carotis communis endarterektómiát végeztünk. A nyaki izmok feltárása és a carotis kireparálása után az eret egy-egy proximális és disztális klippel kirekesztettük a keringésből, majd longitudinális arteriotómiát végeztünk 5-6 mm hosszán. Az endotéleltávolítást 0,1%-os szaponinoldatba mártott vattapálcával végeztük. Az eret tovafutó 9/0-ás fonállal zártuk, ügyelve az eredeti lumennagyság megtartására. Vérzéscsillapítás után zártuk az izom- és bőrrétegeket. Három héttel a műtét után az állatok érrendszerét fiziológias sóoldat és puffert formalin perfúziójával fixáltuk, majd a carotisokat eltávolítottuk szövettani feldolgozás céljából.

Kezelés

Állatkísérletünkben az NO-cGMP szignálút szerepét vizsgáltuk a resztenózishoz vezető neointimaképződésben. E célból az operált állatok egy részét ($n=9$) az ivóvízbe kevert foszfodiészteráz-5 enzimgátlóval (vardenafil) kezeltük. A kontroll operált csoportba tartozó kilenc állat placebót kapott. További 9 állat, melyeken nem történt beavatkozás, az áloperált csoportot alkotta.

Szövettan, immunhisztokémia, TUNEL, EIA

Az eltávolított carotisokból készített, hematoxillin-eozinnal festett metszeteken morфомetriai kiértékelést végeztünk. Digitalizált mikroszkópos képeken a lamina elastica externa és interna azonosítása után mértük a lumen, neointima, media és adventícia keresztmeteszi területeit, ezekből különböző paramétereket származtattunk (neointima/media területarány, sztenózis %-os értéke) TGFβ₁, alfa-simaizomaktin és cGMP elleni antitestekkel immunhisztokémiai festéseket készítettünk, amelyeket szemikvantitatív módon pontrendszer alapján értékeltünk ki. A pontrendszerrel figyelembe vettük a festődés intenzitását és a pozitívan festődött sejtek arányát a mintában. TUNEL (terminális deoxinukleotidil transzferáz mediálta-2'-deoxiuridin, 5'trifoszfát-biotin végjelzés) assay-vel a DNS-károsodás mértékét teszteltük a neointima sejteiben. -80 °C -on tárolt plazmamintákból enzím immunoassay (EIA) módszerrel mértük a cGMP plazmakoncentrációját.

Statisztika

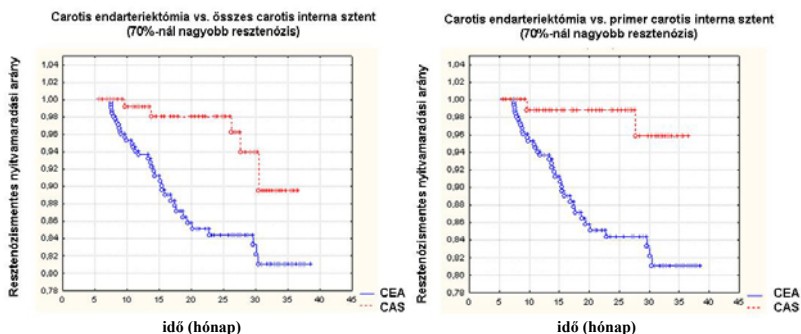
Az adatok normál eloszlást követtek, a csoportok közötti összehasonlításra kétmintás t-próbát használtunk (Origin 7) és $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Klinikai tanulmányok

Eredményeink alapján az artéria carotis interna sebészi kezelése (enderterekotómia) után szignifikánsan gyakrabban fordult elő a 70%-ot meghaladó resztenózis, mint sztentbeültetés után (10,05 % a CEA betegeknél vs. 3,47 % a CAS betegeknél, $p < 0,05$). Ugyanakkor gyakrabban észleltünk posztoperatív neurológiai komplikációkat a CAS csoportban, ami főleg tranzienis iszkémiás attack képében jelentkezett (7,60 % a CAS betegeknél vs. 2,20 % a CEA betegeknél, $p < 0,05$). Kaplan-Meyer analízissel vizsgálva a nyitvamaradási arány szignifikánsan nagyobb volt CAS, mint CEA után; $p = 0,006$ (1. ábra). Amennyiben a CAS csoportot felosztjuk primer sztenózis és műtét utáni resztenózis miatt sztentelt betegekre, még nagyobb különbség adódik a sztent javára; $p = 0,002$ (2.

ábra). Ezt támasztja alá, hogy 50%-nál nagyobb insztent-resztenózis 13,6%-ban fordult elő a resztenózis miatt, de csak 6%-ban a primer sztenózis miatt sztenteltekben (p =nem szignifikáns). A női nem - logisztikus regresszióval elemezve - kockázati tényezőnek bizonyult a carotis-beavatkozásokat követő resztenózisban (esélyhányados: 2,02; 95%-os konfidencia intervallum: 1,07-3,80; $p=0,028$) Csak a carotisműtéten átesett nőkre vonatkoztatva az esélyhányados 2,61 volt (konfidencia intervallum: 1,28-5,32; $p=0,006$).



1. ábra

Resztenózismentes nyitvamaradási arány CEA vs. összes CAS beavatkozás után

2. ábra

Resztenózismentes nyitvamaradási arány CEA vs. primer CAS beavatkozás után

Az összes carotissztenózisos beteg (CEA és CAS együtt) genetikai vizsgálatának eredménye alapján az alfa-ösztrogénreceptor gén XbaI polimorfizmusának tekintetében a homozigóta A allél hordozókban (AA genotípus) szignifikánsan gyakoribb volt a resztenózis az AG és GG genotípusúakkal szemben (23,4% vs. 10,5%, $p<0,05$). A PvuII polimorfizmus esetében a TT vagy TC genotípusok hordozása magasabb resztenózisaránnyal társult, mint a CC genotípusé (19,3% vs. 3,1%, $p<0,05$). Ezen összefüggések még kifejezettebbek voltak a női, illetve a carotis-endarterektómiás alcsoportokban (3. ábra). A két vizsgált polimorfizmus között szoros kapcsoltságot találtunk.

Genotípus	Összes beteg			Nők			Férfiak		
	Összes	CEA	CAS	Összes	CEA	CAS	Összes	CEA	CAS
n=	172	82	90	67	42	35	105	50	55
Resztenózis gyakoriság (resztenózisos esetek/összes eset)									
AA	23.4% (18/77)	27.6% (8/29)	20.8% (10/48)	33.3% (11/33)	45.5% (5/11)	27.3% (6/22)	15.9% (7/44)	16.7% (3/18)	15.4% (4/26)
AG/GC	10.5% (10/95)	11.3% (6/53)	9.5% (4/42)	5.9% (2/34)	4.8% (1/21)	7.7% (1/13)	13.1% (8/61)	15.6% (5/32)	10.3% (3/29)
p	0.02	0.06	0.14	0.005	0.01	0.17	0.69	0.61	0.44
TT/TC	19.3% (27/140)	22.6% (14/62)	16.7% (13/78)	25.0% (13/52)	30.0% (6/20)	21.9% (7/32)	15.9% (14/88)	19.0% (8/42)	13.0% (6/46)
CC	3.1% (1/32)	0.0% (0/20)	8.3% (1/12)	0.0% (0/15)	0.0% (0/12)	0.0% (0/3)	5.9% (1/17)	0.0% (0/8)	11.1% (1/9)
p	0.02	0.01	0.40	0.03	0.04	0.50	0.25	0.22	0.68

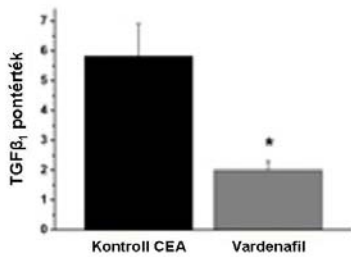
3. ábra

Resztenózis előfordulási aránya a különböző genotípusú betegcsoportokban (XbaI polimorfizmus genotípusai: AA, AG, GG; PvuII polimorfizmus genotípusai: TT, TC, CC; CEA: carotis-endarterektómia; CAS: carotisartéria sztentelés)

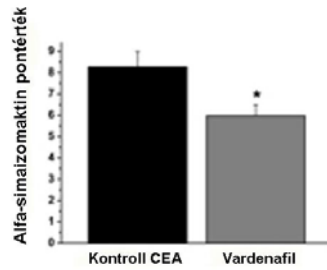
Az XbaI polimorfizmus tekintetében géndózis függést is találtunk. 23,4% volt a resztenózis aránya a mindkét A-allélt hordozókban, 12,2% a csak egy A-allélt hordozó betegekben és 4,8% az A-allélt nem hordozókban. A női alcsoportban ugyanezek az arányok rendre: 33,3%, 8% és 0%. A variáns allélek (G- és C-allél az XbaI, illetve a PvuII polimorfizmusban) hordozása ugyanakkor szignifikánsan alacsonyabb resztenóziaránytal társult. A T-A haplotípus - többszörös logisztikus regresszióval vizsgálva - nemtől, kortól és korábbi carotis-beavatkozástól független kockázati tényezőnek bizonyult az egész betegpopulációra vonatkoztatva (esélyhányados: 7,85; konfidencia intervallum: 1,01-60,98).

4.2. Kísérletes tanulmányok

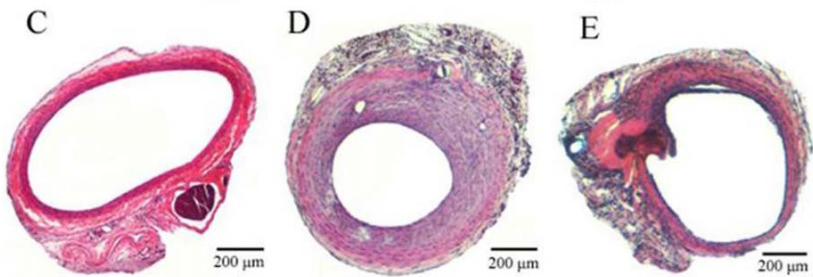
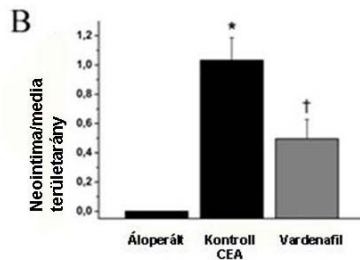
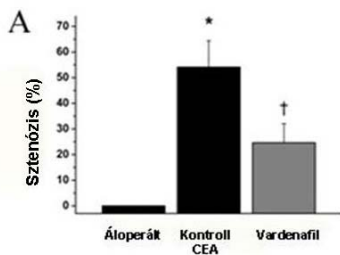
Állatkísérleteink során intenzív alfa-simaizomaktin és transzformáló növekedési faktor β_1 (TGF β_1) immunreaktivitást észleltünk a kontroll endarterektomizált carotisok neointimájában, amelyek közvetve a vaszkuláris simaizomsejtek aktív migrációjára és proliferációjára utalnak. Ezen neointima markerek expressziója a foszfodiészteráz-5-gátló kezelés hatására csökkent. Ezzel párhuzamosan a sztenózis százalékos értékében ($24,64 \pm 7,46\%$ a kezelt csoportban vs. $54,12 \pm 10,30\%$ a kontroll CEA csoportban; $p < 0,05$) és a neointima/média területarányban ($0,50 \pm 0,15$ a kezelt csoportban vs. $1,03 \pm 0,13$ a kontroll CEA csoportban, $p < 0,05$) szignifikáns javulást észleltünk (4-6. ábra).



4. ábra
TGFβ₁ immunhisztokémia
(*p<0,05 vs. kontroll CEA csoport)

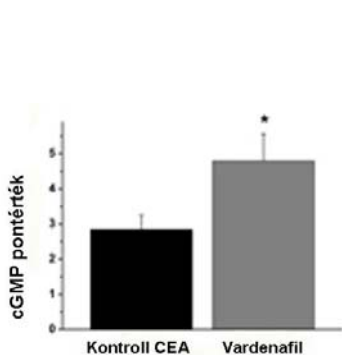


5. ábra
Alfa-simaizomaktin immunhisztokémia
(*p<0,05 vs. kontroll CEA csoport)

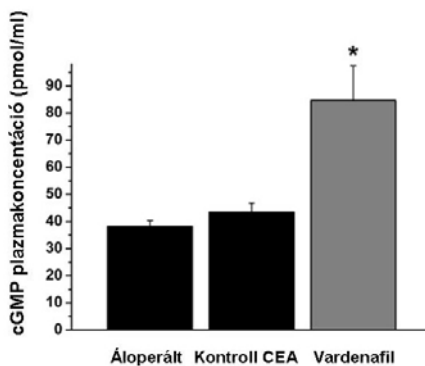


6. ábra
Morfometriai eredmények (hematoxillin-eozin festés)
A) Sztenózis mértéke %-ban (neointima terület/eredeti lumen arány) B) Neointima/media területarány C) Reprezentatív érkeresztmetszet az áloperált csoportból D) Reprezentatív érkeresztmetszet a kontroll endarterektómia csoportból E) Reprezentatív érkeresztmetszet a kezelt csoportból. (*p<0,05 vs. áloperált csoport; †p<0,05 vs. kontroll CEA csoport)

A cGMP-lebontás gátlásán keresztül ható vardenafil-terápiával összhangban - immunhisztokémiai, illetve enzim immunoassay módszerrel - emelkedett lokális (neointimális) és szisztémás cGMP-szinteket igazoltunk (7-8. ábra). Utóbbi tekintetében a cGMP-plazmaszintje duplájára emelkedett a kezelés hatására ($84,65 \pm 12,77$ pmol/ml a kezelt csoportban vs. $43,50 \pm 3,30$ pmol/ml a kontroll CEA csoportban; $p < 0,05$). Mindemellett a TUNEL-pozitív sejtmagok arányában nem találtunk különbséget a kontroll és a kezelt erek neointimájá között.



7. ábra
cGMP immunhisztokémia
(* $p < 0,05$ vs. kontroll CEA csoport)



8. ábra
cGMP plazmakoncentráció
(* $p < 0,05$ vs. áloperált és kontroll CEA csoport)

5. KÖVETKEZTETÉSEK

A dolgozat alapjául szolgáló munkánkban, klinikai tanulmányokban és állatkísérleteken vizsgáltuk a carotis revaszkularizációs beavatkozások után fellépő korai resztenózis ismert és újabb rizikótényezőit, valamint a visszatérő érszűkület megakadályozásának farmakoterápiás lehetőségeit. Szignifikáns különbséget mutattunk ki a klinikailag releváns resztenózis előfordulási gyakoriságában carotis-endarterektómia illetve carotisarteria sztentelése esetén. Az intenzívebb érfalsértéssel és kirekesztéssel (iszkémia-reperfúziós károsodás) járó carotisműtétnél gyakoribb volt a resztenózis előfordulása, mint sztentbehelyezés után. Korábbi vizsgálatunkban a komplementrendszer kifejezettebb aktivációját írtuk le carotis-endarterektómiát követően, amely magyarázhatja a műtét után észlelt magasabb resztenózisarányt. Összefüggést találtunk az alfa-ösztrogénreceptor két gyakoribb mutációja és a carotis-resztenózis között, amelyeknél a normál allélek hordozása társult a resztenózis gyakoribb előfordulásával. Az ösztrogénnek számos, az alfa-ösztrogénreceptoron ható közvetlen és közvetett hatása van az érfal sejtjeire. Az általunk leírt összefüggések háttérében a receptorexpressziótól függő módosult ösztrogénhatás állhat. Patkány carotis-endarterektómia modellben igazoltuk a szelektív foszfodiészteráz-5 gátló terápia hatásosságát a resztenózishoz vezető neointimális hiperplázia mérséklésében. A TT/TC (PvuII) és az AA (XbaI) genotípusú betegekben csökkent ösztrogénhatás és következetesen csökkent NO-cGMP jelátvitel valószínűsíthető, így a foszfodiészteráz-5-gátló terápia elsősorban ezen betegekben lehet eredményes. Jelen munkánk fontos új adatokkal szolgál a modern revaszkularizációs eljárások hosszútávú sikerét korlátozó resztenózis lokális (műtét vagy sztentelés) és szisztémás (génmutációk) rizikófaktorait illetően.

6. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSAI

1. A mérsékelt és súlyos fokú resztenózis előfordulási aránya egy-centrumos retrospektív vizsgálatunk szerint everziós carotis-endarterektómiát követően magasabb, mint carotis interna sztentelés után. Ugyanakkor a CAS magasabb periperatív rizikóval társult, mint a CEA.
2. Az alfa-ösztrogénreceptor XbaI polimorfizmusa esetén a homozigóta vad (AA) genotípus hordozás az egész beteganyagra vonatkozólag magasabb resztenózis-gyakorisággal társult, mint az AG és GG genotípusok esetén. PvuII polimorfizmus tekintetében a homozigóta (TT) és heterozigóta (TC) vad genotípusok - a CC-vel szemben - gyakoribb carotis-resztenózissal társultak. Ezen összefüggések nőkben és a carotis-endarterektómiás alcsoportban még kifejezettebbek voltak.
3. A vizsgált polimorfizmusok között erős kapcsoltság volt kimutatható. A homozigóta variáns genotípus mindkét polimorfizmus esetében alacsonyabb resztenózis-gyakorisággal társult.
4. Patkány carotis-endarterektómia modellben, az endotéltávolítás után kialakuló neointimális hiperpláziát kifejezett neointimális TGF β ₁ és alfa-simaizomaktin immunreaktivitás kísérte, amely orális foszfodiészteráz-5 gátló kezeléssel szignifikáns mértékben csökkent; ez közvetve a csökkent simaizomsejt-migrációra, -proliferációra utalhat.
5. Vardenafil-kezelés mellett a resztenózist jellemző morfometriai paraméterek (neointima/media területarány, illetve a sztenózis százalékos értéke) szignifikáns mértékben csökkentek.

Az értekezésben felhasznált közlemények

Hirschberg K, Gombos T, Dósa E, Somorjai A, Szilágyi Á, Szabó G, Füst G, Entz L.

Association between estrogen receptor alpha gene polymorphisms and early restenosis after eversion carotid endarterectomy and carotid stenting
Atherosclerosis 2009; 206: 186-92.

IF: **4,601**

Hirschberg K, Radovits T, Loganathan S, Entz L, Beller CJ, Gross ML, Sandner P, Karck M, Szabó G.

Selective phosphodiesterase-5 inhibition reduces neointimal hyperplasia in rat carotid arteries after surgical endarterectomy
J Thorac Cardiovasc Surg 2009; 137: 1508-14

IF: **3,037**

Hirschberg K, Dósa E, Hüttl K, Selmecci L, Nemes B, Szabó A, Merkely B, Acsády G, Entz L.

Early restenosis after eversion carotid endarterectomy versus carotid stenting: a single-centre retrospective study
J Cardiovasc Surg (Torino) 2009 Apr 1. [Epub ahead of print]

IF: **1,542**

Hirschberg K, Entz L, Szabó G, Merkely B.

Restenosis following endovascular interventions: clinical and experimental studies

Orv Hetil 2009; 150: 1307-1312

IF: **0,0**

További közlemények

Korkmaz S, Radovits T, Barnucz E, **Hirschberg K**, Loganathan S, Neugebauer P, Páli S, Seidel B, Zöllner S, Veres G, Karck M, Szabó G. Pharmacological activation of soluble guanylate cyclase protects the heart against ischemic injury
Circulation 2009; 120: 677-86.
IF: **14,595**

Dósa E, **Hirschberg K**, Apor A, Járányi Zs, Entz L, Acsády Gy, Hüttl K. Echolucent or predominantly echolucent femoral plaques predict early restenosis after eversion carotid endarterectomy
J Vasc Surg 2009; in press
IF: **3,77**

Hirschberg K.

Carotis Endarterektomie in der Ratte: ein Beispiel für gefäßchirurgische Grundlagenforschung
Z Herz-Thorax-Gefäßchir 2009 Jul; in press
IF: **0,0**

Széplaki G, Szegedi R, **Hirschberg K**, Gombos T, Varga L, Karádi I, Entz L, Széplaki Z, Garred P, Prohászka Z, Füst G. Strong complement activation after acute ischemic stroke is associated with unfavorable outcomes
Atherosclerosis 2009; 204: 315-20
IF: **4,601**

Korkmaz S, Radovits T, Barnucz E, Neugebauer P, Arif R, **Hirschberg K**, Loganathan S, Seidel B, Karck M, Szabó G. Dose-dependent effects of a selective phosphodiesterase-5-inhibitor on endothelial dysfunction induced by peroxynitrite in rat aorta
Eur J Pharmacol 2009; 615: 155-162
IF: **2,787**

Loganathan S, Radovits T, **Hirschberg K**, Korkmaz S, Barnucz E, Karck M, Szabó G.

Effects of selective phosphodiesterase-5-inhibition on myocardial contractility and reperfusion injury after heart transplantation

Transplantation 2008; 86: 1414-8.

IF: **3,816**

Széplaki G, **Hirschberg K**, Gombos T, Varga L, Prohászka Z, Dósa E, Acsády G, Karádi I, Garred P, Entz L, Füst G.

Early complement activation follows eversion carotid endarterectomy and correlates with the time of clamping of the carotid artery

Mol Immunol 2008; 45: 3289-94.

IF: **3,555**

Hirschberg J., Trenovszki Zs., Sultész M., **Hirschberg K**.

A xylometazolin orrcsepp orrlégzésre kifejtett hatásának mérése nazométerrel

Fül-, Orr-, Gégegyógyászat 2008; 54: 49-57

IF: **0,0**

Hegyesi H, Darvas Zs, László V, Pócs Z, Pállinger É, **Hirschberg K**, Kovács P, Falus A.

Retinoic acid enhances histamine content and H1 receptor expression in human neuroblastoma cell line Paju.

Anticancer Res 2004; 24: 1657-63.

IF: **1,395**