

**CAROTIS MŰTÉTEKET KÖVETŐ KORAI RESZTENÓZIS:
A NÖVEKEDÉSI FAKTOROK ÉS
A MANNAN BINDING LECTIN GENOTÍPUS SZEREPE**

Doktori értekezés tézisei

Dr. Szabó Attila

Semmelweis Egyetem

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Entz László egyetemi docens, az orvostudományok kandidátusa

Hivatalos bírálók: Dr. Menyhei Gábor, PhD, egyetemi docens
Dr. Vásárhelyi Barna, PhD, tudományos főmunkatárs

Szigorlati Bizottság elnöke: Prof. Dr. Ondrejka Pál, PhD, egyetemi tanár
Szigorlati Bizottság tagjai: Dr. Jámber Gyula, PhD, főorvos
Dr. Zsáry András, PhD, egyetemi adjunktus

Budapest, 2007

Bevezetés

A hazánkban évente regisztrált 35-36 ezer stroke eset 80-85 %-a iszkémiás eredetű. A stroke prevenciójának bizonyítottan fontos módszere a szupraaortikus artériák sebészete vagy intervenciós radiológiai műtéte mind tünetmentes, mind tünetes betegeknél. 1989-ben történt bevezetése óta az everziós carotis endarteriektómia lett a carotis interna betegségének kezelésében az elsődleges terápia, a műtétek száma azóta folyamatos emelkedést mutat. A közép és hosszú távon jó eredményeket befolyásolja a resztenózis kialakulása, mely lehet miointimális hiperplázia, vagy az ateroszklerózis progressziója az operált érterületen. Az everziós endarteriektómiát követően fellépő resztenózis gyakoriságát az irodalom 2-34% között adja meg.

A carotis endarteriektómia során létrejövő érfalsérülés és a kirekesztés miatti iszkémia-reperfúziós károsodás az érfal gyulladással indítja be. A növekedési faktorok termelődése fokozódik és a miointimális hiperplázia következtében korai resztenózis alakulhat ki. Kísérletes és klinikai adatok utalnak arra, hogy a mannan binding lectin (MBL) és a komplement rendszer lektin útja indíthatja el a gyulladással való reakciót. A Rugonfalvi Kiss és munkatársai által végzett prospektív tanulmány igazolta, hogy a carotis everziós endarteriektómiát követően kialakuló resztenózis részben genetikailag determinált és hogy ennek patofiziológiájában az MBL genetikai polimorfizmusa fontos szereppel bír (1. táblázat). Nem találtunk az irodalomban olyan közlést, mely összefüggést írna le a carotis resztenózis gyakorisága és különböző keringő növekedési faktorok preoperatív szérumszintje vagy posztoperatív szérumszint változása között.

| 1. táblázat | resztenózisos betegek n=17 (%) | nincs resztenózis n=29 (%) | P, χ^2 próba | |
|--|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------|-------|
| Normál és variáns MBL2 allélt hordozó 17 illetve 29 beteg megoszlása, akiknél kialakult illetve nem alakult ki legalább 50 %-os resztenózis carotis everziós endarteriektómiát követően. | MBL2 genotípus | | | |
| | A/A hordozók | 10 (59) | 7 (24) | 0,007 |
| | A/O hordozók | 7 (41) | 16 (55) | |
| | O/O hordozók | 0 (0) | 6 (21) | |
| A/A vs A/O + O/O, χ^2 , P=0,024 | | | | |

Célkitűzések

Két tanulmányukban a következő vizsgálati célokat határoztuk meg:

- *A Semmelweis Egyetem Ér- és Szívsebészeti Klinikáján az elmúlt 15 évben közel kilencezer carotis everziós endarteriektómiát végeztünk. Első tanulmányunkban intézetünkben kívántuk meghatározni az everziós endarteriektómiát követően kialakuló resztenózis gyakoriságát egy prospektív vizsgálat keretén belül. Feltételeztük, hogy amennyiben a talált érték nem tér el az irodalomban ismert adatoktól, akkor ugyanezen a műtéti típuson átesett hasonló összetételű beteganyagban végzett további vizsgálatok alkalmasak nemzetközileg is elfogadható következtetések levonására.*
- *Bizonyított a különböző növekedési faktorok fokozott jelenléte mind az ateroszklerotikus plakkokban, mind az artéria sérülésének helyén. Számos megfigyelés támasztja alá a PDGF által kiváltott celluláris válasz patogenetikus szerepét a kardiovaszkuláris betegségekben. Második tanulmányunkban vizsgáltuk, van-e összefüggés a carotis everziós endarteriektómiát követő korai resztenózis kialakulása és a vérlemezke eredetű növekedési faktor (PDGF) preoperatív szérumszintje és korai posztoperatív szérumszint változása között.*
- *A VEGF-nek fontos szerepe van az angiogenezis minden lépésében - mind a fiziológiás, mind a patológiás angiogenezis során megjelenik. Második tanulmányunkban arra kerestünk választ, van-e összefüggés a carotis everziós endarteriektómiát követő korai resztenózis kialakulása és az ér-endoteliális növekedési faktor (VEGF) preoperatív szérumszintje és korai posztoperatív szérumszint változása között.*

- Az aterogenezisben szerepet játszó sejtek számos EGF-rokon proteint termelnek, az EFG receptorokat jelenlétét immunhisztokémiailag igazolták az emberi ateroszklerotikus plakk intimális simaizom sejtjeiben. *Második tanulmányunkban megvizsgáltuk azt is, van-e összefüggés a carotis everziós endarteriektómiát követő korai resztenózis kialakulása és az epidermális növekedési faktor (EGF) preoperatív szérumszintje és korai posztoperatív szérumszint változása között.*
- Munkacsoportunk egy korábbi vizsgálat során bizonyította, hogy a carotis everziós endarteriektómiát követően kialakuló resztenózis részben genetikailag determinált és hogy ennek patofiziológiájában az MBL genetikai polimorfizmusa fontos szereppel bír. *Második tanulmányukban választ kerestünk arra, van-e kapcsolat az egyes növekedési faktorok (VEGF, EGF, PDGF) szérumszint változásai és a mannan binding lectin (MBL) genotípus között a resztenózis kialakulásának vonatkozásában.*

Tekintettel arra, hogy a disszertációban két, egymást követő, eltérő jellegű tanulmányról van szó - melyből az első eredményei alapján vált lehetővé a további kutatás elvégzése - azokat külön fejezetben tárgyaljuk és vonjuk le következtetéseinket.

I. tanulmány

Az arteria carotis interna everziós endarteriektómiáját követően kialakuló resztenózis rátájának meghatározása hosszú távú utánkövetéssel

A deBakey által 1953-ban elvégzett első carotis endarteriektómia óta világszerte több százezer betegnél végeztek arteria carotis interna rekonstrukciót. A Kasprzak és Raithel által leírt everziós carotis endarteriektómiát Klinikánkon 1991-ben vezettük be a mindennapi gyakorlatban. Az elmúlt 15 év alatt csaknem kilencezer ilyen műtétet végeztünk. Tanulmányunk célja az arteria carotis interna everziós endarteriektómiáját követően kialakuló resztenózis rátájának meghatározása volt hosszú távú utánkövetéssel.

A vizsgálatba bevont betegek adatai, módszerek

A vizsgálatba a Semmelweis Egyetem Ér- és Szívsebészeti Klinikáján 1991 és 1993 között 151 betegen összesen 171 everziós carotis endarteriektómia került. A férfi-nő arány 2:1, a betegek átlagéletkora 63,4 (42-84) év volt. A műtéteket egy gyakorlott sebész team végezte. Az adott időszakban operált minden beteg folyamatosan került beválogatásra a tanulmányba. A tanulmány protokollját jóváhagyta a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottság, a résztvevők részletes tájékoztatást kaptak és aláírták a beleegyező nyilatkozatot.

Az adatok összegyűjtése folyamatosan történt, majd a végső utánvizsgálatokat 1998-ban, a vizsgált utolsó műtétet követően 5 évvel végeztük. A betegeket rendszeresen kontrolláltuk minden 6 hónapban carotis duplex scan-nel. Az áramlási sebesség értékekből számított resztenózis százalékos értékét rögzítettük, szignifikánsnak a NASCET kritériumok alapján számolt 70 % feletti szűkület számított. Az átlagos utánkövetési idő 56 (41-72) hónap volt. Az adatokat life-table módszerrel dolgoztuk fel, a túlélési adatokat a hasonló korú és nemű magyar populáció adataival hasonlítottuk össze. A nyitvamaradási adatokat a nemzetközi irodalomban közölt everziós és hagyományos carotis műtéten átesett betegek adataival vetettük össze. Beavatkozást igénylő mértékű resztenózis esetén foltplasztika, PTFE graft interpozíció vagy carotis angioplasztika volt az alkalmazott műtéti beavatkozás.

Eredmények

A kombinált perioperatív stroke morbiditási és mortalitási ráta 0,8 % volt, az ötéves túlélés a vizsgálat beteganyag esetében 85 %-os. Az endarteriektómián átesett betegcsoport ötéves túlélési adatai közel egyezők voltak a hasonló korú és nemű magyar populáció adataival (85 % illetve 82 % 5 év után).

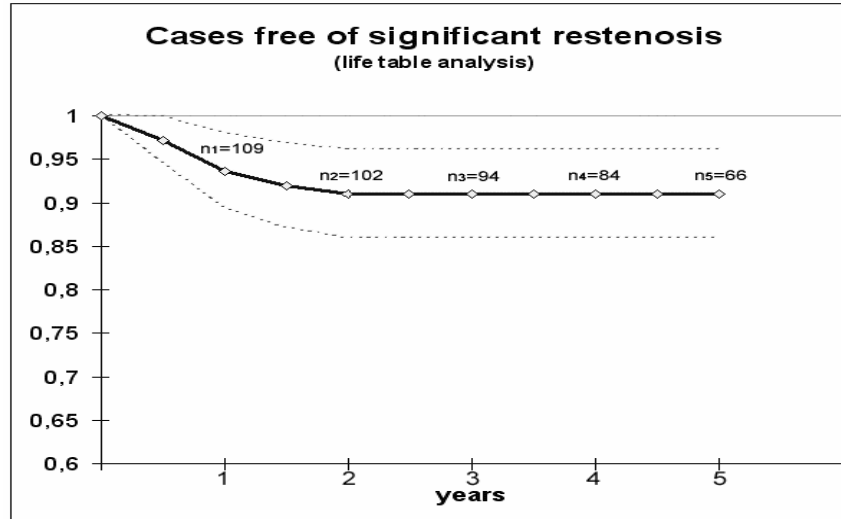
A carotis resztenóziát nem mutató betegcsoport 5 éves túlélése 91 %-os volt (1. ábra). Bár 11 betegnél (9 %) szignifikáns resztenózis alakult ki, csak két esetben került sor ismételt műtéti rekonstrukcióra. Egy betegnél mindkét oldalon végeztünk beavatkozást. resztenózis összesen 4 betegnél alakult ki a hatodik posztoperatív hónapban, további négy, kettő és egy betegnél 12, 18 és 24 hónappal az endarteriektómia után észleltünk szignifikáns szűkületet. A redo műtét indikációja egyik betegünkönél ipszilaterális tranzienis iszkémiás attack (TIA), másik esetben kétoldali nagyfokú (90 %-ot meghaladó) sztenózis. Az ultrahang vizsgálatok 50 %-ot meghaladó resztenóziát az összes vizsgált eset 12 %-ában találtak (13 resztenózis 109 esetből). Az ultrahangos plakk morfológia egy eset kivételével minden alkalommal szignifikáns kalcifikációt nem mutató, miointimális hiperpláziára jellemző intima megvastagodást mutatott. A hisztológiai vizsgálat a reoperáción átesett betegek esetében miointimális hiperpláziát talált.

Megbeszélés

Stoney és String voltak az elsők, akik a rekurráló carotis léziók két típusát különböztették meg: a carotis endarteriektómiát követően 2 éven belül kialakult elváltozást intimális hiperpláziának, a két éven túl kialakultat pedig rekurrens ateroszklerózisnak nevezték. A carotis endarteriektómiát követően kialakuló korai resztenózis vagy miointimális hiperplázia eredetű, vagy pedig reziduális sztenózisról van szó.

Korai resztenózis esetében klinikai tünetek a betegek csak mintegy 1-2 százalékánál jelentkeznek, mert az újonnan képződött intima megvastagodás felszíne sima, nem trombogén vagy embogén. Neointimális hiperplázia miatt kialakult resztenózis esetében a klinikai tünetekért leginkább a megfelelő kollaterális keringés hiánya vagy

1. ábra: Carotis interna everziós endarteriektómián átesett betegek túlélési görbéje, akiknél nem alakult ki szignifikáns resztenózis (az esetek száma az első 5 posztoperatív évben sorrendben 109, 102, 94, 84 és 66, a pontozott vonal a 95%-os konfidencia intervallumot jelzi).



hemodinamikai változások felelősek. Az irodalmi adatok alapján a nagy multicentrikus klinikai tanulmányok nem találtak különbséget az operatív morbiditás és mortalitás tekintetében a különböző műtéti technikák között, és nem találtak összefüggést a carotis rekonstrukciós műtetet követően kialakuló resztenózis és az arteriotómia helyreállításának műtéti módszere között.

Egy korábbi cikkünkben közöltük az első 80 carotis endarteriektómián átesett betegünk adatait, mely 27 hónapos utánkövetéssel 3,9 %-os resztenózis rátát talált. Multi-centrikus klinikai tanulmányok adatai szerint a resztenózis ráta 15-23 hónapos utánkövetéssel 0,3-3,6 % volt.

A tanulmányunkban talált 9 %-os 5 éves resztenózis ráta elfogadható mértékű, ha figyelembe vesszük azt is, hogy a módszer bevezetésének kezdetétől a tanuló időszak (learning curve) adatait is tartalmazza. Eredményeink közlésének időpontjáig nem találtunk az irodalomban olyan vizsgálatot, mely hosszabb időszakra vonatkozó utánvizsgálatról számolna be, mint a mi tanulmányunk (átlagosan 56 hónap).

A carotis sztenózis everziós endarteriektómiával történő műtéti megoldása az utóbbi 10 évben csaknem kizárólagos módszerré vált, ezért más műtéti módszerrel

összehasonlítani nem tudtuk. Reoperációs rátánk (2,7 %) hasonló mértékű volt, mint más centrumokban (1,2-3,6 %).

Az arteria carotis interna területén kialakult szignifikáns resztenózis nem feltétlenül igényel műtéti megoldást, mert ritkán jár klinikai tünetekkel. Klinikánk gyakorlatában ismételt beavatkozást csak tünetek jelentkezése esetén végzünk, vagy ha a resztenózis eléri, vagy meghaladja a 90 %-os mértéket. Korábbi eredményeink redo beavatkozások esetében magasabb szövődmény arányt mutattak, mint primer műtétek esetében. Mivel az utóbbi években az endovaszkuláris úton végzett tágítás és sztentelés (CAS) vált elsődlegesen alkalmazott módszerré a redo beavatkozások esetében, a reoperációk száma jelentősen lecsökkent.

Áttekintés, következtetések

A Klinikánk anyagában talált perioperatív morbiditási adatok és késői eredmények hasonlóak a multicentrikus vizsgálatok eredményeihez. 5 éves resztenózis rátánk 9 %-os volt, ami elfogadható és biztató a jövőre nézve. Az ultrahangos és a hisztológiai vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy az ateroszklerózis nem játszik meghatározó szerepet az everziós endarteriektómiát követő resztenózis kialakulásában, miointimális hiperplázia kialakulásáról van szó. Prospektív klinikai tanulmányok eredményeivel egyezően a mi adataink is azt támasztják alá, hogy az arteria carotis interna everziós endarteriektómiája biztonságos, hatékony és hosszú távon jó eredményeket biztosító módszer, mely alkalmas arra, hogy standard módszere legyen a szignifikáns arteria carotis interna szűkület műtéti megoldásának.

Eredményeink a carotis everziós endarteriektómiája tekintetében hosszú távú utánkövetés után sem térnek el az irodalomban ismert adatoktól, ezért a Klinikánkon azonos műtéti típuson átesett, hasonló összetételű beteganyagon végzett további vizsgálatok alkalmasnak tűnnek nemzetközileg is elfogadható következtetések levonására.

II. tanulmány

A VEGF és PDGF szérumszint változása és a carotis everziós endarteriektómiát követő korai resztenózis kialakulásának összefüggése normál MBL genotípusú betegek esetében

A korai resztenózis kialakulásában a növekedési faktoroknak közvetlen patofiziológiai szerepe lehet. A vérlemezke eredetű növekedési faktor (PDGF) bizonyítottan az ér simaizomsejtek proliferációjáért felelős legfontosabb anyag. Az ér-endoteliális növekedési faktor (VEGF), stimulálja az artériából vagy vénából származó endotél sejtek növekedését és in vivo modellekben angiogenikus hatású. Az epidermális növekedési faktor (EGF) hatékony stimulátora a különböző epiteliális sejtek proliferációjának és kisebb mértékben a simaizomsejtek proliferációjának.

A Rugonfalvi Kiss és munkatársai által súlyos carotis szűkületben szenvedő betegeken korábban elvégzett prospektív vizsgálat szerint a carotis duplex scan-nel mért korai resztenózis mértéke szignifikánsan magasabbnak bizonyult abban a betegcsoportban, ahol a vizsgáltak mannan binding lectin (MBL) normál genotípusú homozigóták voltak, szemben a variáns MBL2 allélt hordozókkal. A férfiak és a nők resztenózis rátájában Rugonfalvi Kiss és társai vizsgálata alapján szignifikáns különbség csak A/A genotípus esetén volt kimutatható.

Nem találtunk az irodalomban olyan közlést, mely összefüggést írna le a carotis resztenózis gyakorisága és különböző keringő növekedési faktorok preoperatív szintje vagy posztoperatív változása között. Mivel ezek az anyagok fontos szerepet játszanak a miointimális hiperplázia és így a korai resztenózis kialakulásában, azt vizsgáltuk, található-e szignifikáns kapcsolat a VEGF, PDGF és EGF műtét előtti szérumszintje és korai posztoperatív szintjének változása, és a 14 hónapos utánkövetési periódusban klinikailag szignifikáns (50 %-ot meghaladó) resztenózis kialakulása között? A Rugonfalvi Kiss és munkatársai által végzett vizsgálatok során talált összefüggések alapján megvizsgáltuk még azt is, befolyásolja-e az MBL2 genotípus a vizsgált növekedési faktorok korai szintjének változása és a resztenózis mértéke közötti kapcsolatot?

A vizsgálatba bevont betegek adatai, módszerek

Ebben a prospektív tanulmányban összesen 82 beteg (55 férfi, 27 nő, $66,2 \pm 8,9$ év (átlag \pm SD)) vizsgálatára és utánkövetésére került sor, akik 2000 októbere és 2003 márciusa között estek át elektív everziós carotis endarteriektómián súlyos ($83,1 \pm 9$ %) arteria carotis interna sztenózis miatt. A tanulmány protokollját jóváhagyta a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottság, a résztvevők részletes tájékoztatást kaptak és aláírták a beleegyező nyilatkozatot.

A teljes beteganyag klinikai adatait összehasonlítottuk, illetve a 14. hónapban mért CDS értékek alapján megvizsgáltuk, van-e különbség a resztenotikus és nem resztenotikus betegek csoportja között a különböző rizikófaktorok. Szignifikáns különbséget egyik esetben sem találtunk.

A carotis műtét indikációját az American Heart Association útmutatásának megfelelően állítottuk fel. A 82 betegből 26 (31,7 %) tünetmentes volt, 43 (52,4 %) anamnézisében TIA szerepelt, 11 (13,4 %) beteg minor, míg 2 (2,4 %) major stroke-ot szenvedett el korábban. A műtét és a klinikai utánkövetés egy korábbi vizsgálat során ismertetett protokollnak megfelelően zajlott. Minden betegnél egy preoperatív és három posztoperatív carotis duplex scan vizsgálat történt a műtétet követő 5,7. (4,6-8,0) héten (következőkben: 6. héten), 6,8 (6,2-7,9) hónapban (7. hónapban) és a 13,8. (12,3-19,0) hónapban (14. hónapban). Két beteget veszítettünk el az utánkövetés időszakában, egyet a 7. havi, egy másikat pedig a 14. havi kontrollt megelőzően. Az összes carotis duplex scan vizsgálatot képzett radiológus szakorvos kollégák végezték. Mindkét oldali carotis communis, carotis interna és carotis externa artériák standard módon kerültek vizsgálatra. Rögzítettük a csúcs szisztolés sebességet (Peak Systolic Velocity – PSV) és a végdiasztolés sebességet (End Diastolic Velocity – EDV) az arteria carotis communisban (ACC), az arteria carotis internában (ACI) és az arteria carotis externában (ACE). A carotis interna szűkület és resztenózis mértékének meghatározása a csúcs szisztolés sebesség, a végdiasztolés sebesség és az arteria carotis interna/carotis communis átmérő-arány meghatározása alapján történt. A carotis internában mért sebességértékek alapján a betegeket később enyhe (≤ 50 %), közepes (50-69 %) és súlyos (≥ 70 %) resztenózis jelenléte alapján soroltuk csoportokba.

A natív vérminták levétele a műtét előtt, majd a 4. (3-5. (medián (interkvartilis range)) posztoperatív napon történt. A szérumot szeparáltuk, azonnal lehűtöttük és -80 °C-on tároltuk. A műtét előtt EDTA-val alvadásgátolt vérminták levétele is történt DNS vizsgálat céljára, illetve esetleges későbbi, előre nem tervezett vizsgálatokhoz.

Teljes szérum koleszterin és triglicerid szint vizsgálat (Roche/Hitachi), HDL-koleszterin és LDL-koleszterin szint (Human, Wiesbaden, Germany) meghatározás történt egy Cobas Mira Plus klinikai kémiai analizátorban. A VEGF, EGF és PDGF-AB szint meghatározása a szokványos ELISA módszerrel Quantikine emberi VEGF, EGF és PDGF-AB kit segítségével (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) készült.

A minták fehérvérsejtjeiből Miller módszerével a teljes genom DNS szeparálása történt. Az MBL2 gén alléljainak és a regulátor promoter variánsok meghatározását PCR segítségével, szekvencia specifikus priminggal (PCR-SSP) végeztük.

A statisztikai analíziseket a GraphiPad Prism V3.0 for Windows szofvercsomag (GraphPad Software, San Diego, California, USA) segítségével készítettük el. Nonparaméteres tesztek alkalmaztunk a csoportok összehasonlításánál. A kategorikus változók összehasonlítása Fisher féle exact teszttel, a többszörös regresszió számítása az SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) segítségével történt. Az értékeket mediánként (25-75 percentilis) adtuk meg, hacsak másként nem jelöltük.

Eredmények

A növekedési faktorok perioperatív szintje és a carotis szűkület mértéke közötti összefüggés

Minden műtét után 6 héttel kontroll duplex scan vizsgálatot végeztünk, mely reziduális carotis sztenózist nem talált. A 7. hónapban kifejezett (definíciónk szerint 50 %-ot meghaladó) resztenózist 9 betegnél, míg a 14. hónapban 12 betegnél mértünk. Klinikailag szignifikáns (>70 %) resztenózist ugyanannál a négy betegnél (4/82=4,9 %) figyeltünk meg mind 7, mind 14 hónap után. Nem találtunk összefüggést a növekedési faktorok műtét előtti vagy utáni szintje és a duplex scannel mért carotis szűkület mértéke között sem az operált, sem az ellenoldalon mérve.

A PDGF, VEGF és EGF koncentrációk változása a korai posztoperatív szakban

A szérum PDGF, VEGF és EGF szinteket a műtét előtt és a posztoperatív 4. napon levett vérmintákban mértük. A növekedési faktor koncentráció változások iránya minden betegnél különböző volt. Felosztva a betegeket a posztoperatív 7. hónapban mért jelentős (>50 %) resztenózis jelenléte alapján, a VEGF szint növekedését szignifikánsan gyakrabban ($p=0,0044$) észleltük azoknál a betegeknél, akiknél resztenózis alakult ki, mint azoknál, akiknél resztenózist nem észleltünk. A PDGF esetében hasonló tendencia érvényesült ($p=0,0653$), míg EGF esetében ilyen eltérést nem tapasztaltunk. Neurológiai tünetek megléte vagy hiánya nem befolyásolta a korai posztoperatív VEGF ($p=0,209$) és PDGF ($p=0,248$) változásokat.

Fenti eredmények alapján további összefüggéseket kerestünk a VEGF és PDGF szint emelkedése és a resztenózis között, figyelembe véve a továbbiakban a betegek MBL2 genotípusát is.

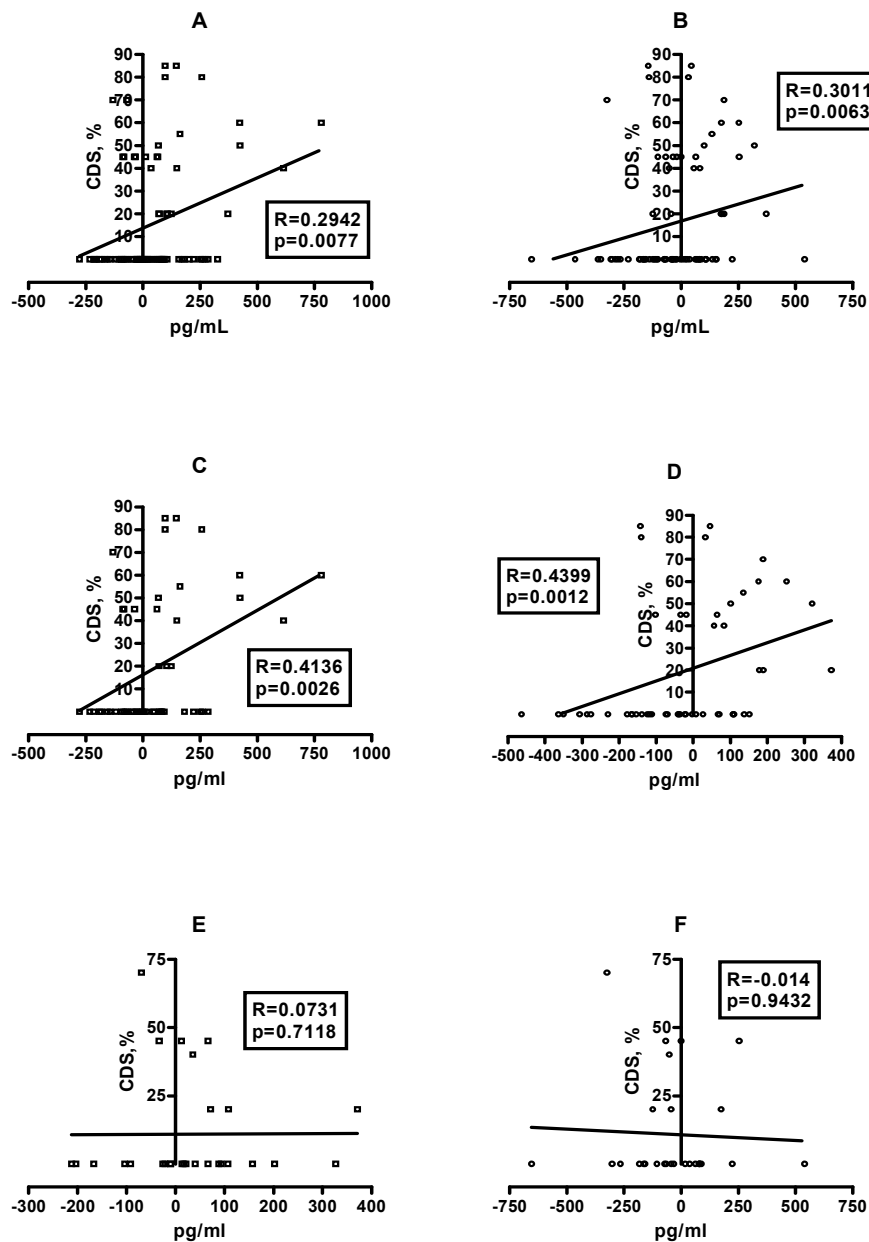
A VEGF és PDGF szint változások és a 7. illetve 14. posztoperatív hónapban mért CDS értékek összefüggése a normál MBL2 (A/A) genotípusú betegekre vonatkozóan

A VEGF és PDGF szintek korai posztoperatív szakban mért emelkedése (továbbiakban: Δ VEGF és Δ PDGF) szignifikáns összefüggést mutatott a 7. havi CDS értékekkel (2. ábra, A és B panel), míg az utánkövetési időszak végén (14. hónapban) mért CDS értékek már nem mutattak szignifikáns változást.

A betegeket MBL2 genotípusuk alapján két csoportra osztottuk. 53 beteg, akik a normál MBL2 allélra nézve homozigótáknak bizonyultak (MBL2 genotípusuk: A/A), tartozott az első csoportba, míg 29 variáns allélt hordozó homozigóta vagy heterozigóta (MBL2 genotípusuk: A/O vagy O/O) került a második csoportba. Megvizsgáltuk a korai posztoperatív szak VEGF és PDGF szintjeinek változásait és a 7. havi vagy 14. havi CDS értékeket. Ezekben a csoportokban azt találtuk, hogy a normál MBL2 allélt hordozóknál (A/A) a Spearman korrelációs koefficiens erősen szignifikáns mindkét vizsgálati időpontban (2. ábra, C és D panel). A variáns allélt

hordozó A/O vagy O/O genotípusú betegek esetében a korai VEGF és PDGF változások nem mutattak szignifikáns összefüggést a 7. vagy 14. havi CDS értékekkel (2. ábra, E és F panel).

2. ábra: A korai (műtét előtti – posztoperatív 4.nap) szérumban VEGF (bal oldali panel) és PDGF (jobb oldali panel) szint változások és a posztoperatív 7. hónapban mért carotis duplex scan értékek összefüggése az összes beteg esetében (A,B), normál MBL2 gént A/A hordozók (C,D), csak variáns O/O vagy variáns és normál allélt is hordozók A/O (E,F) esetében.



A korai VEGF és PDGF szint emelkedés és a klinikailag szignifikáns (>50%) resztenózis kapcsolata az MBL genotípussal

A betegeket két alcsoportra osztottuk a posztoperatív szérumban VEGF és PDGF szintek emelkedésének mértéke szerint. Az emelkedést (Δ érték) magasnak tekintettük azoknál a betegeknél, akik a teljes betegcsoport felső tercilisébe estek (>90 pg/ml VEGF és >30 pg/ml PDGF esetében), míg a többi beteg az alacsony Δ VEGF és alacsony Δ PDGF csoportba tartozott. Annak esélyhányadosát, hogy jelentős resztenózis (>50 %) alakul ki a magas illetve alacsony Δ VEGF érték mellett (≤ 90 pg/ml illetve >90 pg/ml), vagy hogy jelentős resztenózis alakul ki a magas illetve alacsony Δ PDGF érték mellett (≤ 30 pg/ml illetve >30 pg/ml), logisztikai regressziós analízissel számoltuk ki, melyet az életkorhoz, nemhez és a műtét előtti testtömeg-indexhez (BMI) igazítottunk.

Az MBL2 A/A genotípus hordozásának esélyhányadosa magas versus alacsony korai időszakban mért Δ VEGF esetén 16,69 volt (1,86-149,61, $p=0,012$) a 7., és 20,00 (2,25-177,63, $p=0,007$) a 14. posztoperatív hónapban. Ellenkezőleg, jelentős (>50 %) resztenózis ritkán alakult ki MBL A/O vagy O/O genotípusú egyéneknél és nem találtunk szignifikáns összefüggést az alacsony és magas Δ VEGF csoportok között (2. táblázat).

Kevésbé kifejezett, de még szignifikáns volt a resztenózis kockázata azoknál a betegeknél is, akiknél jelentős (>30 pg/ml) PDGF szint emelkedést mértünk a posztoperatív 4. napon, igazított esélyhányadosuk 7,21 (1,04-49,63, $p=0,045$) és 9,23 (1,45-58,70, $p=0,019$) volt.

Megbeszélés

Vizsgálataink során azt találtuk, hogy az arteria carotis interna everziós endarteriektómiáját követően kialakuló jelentős (50 %-ot meghaladó) resztenózis nagy valószínűséggel azoknál a betegeknél alakult ki, akik a normál MBL2 A allélra nézve homozigóták voltak és a posztoperatív 4. napon mért szérumban VEGF és/vagy PDGF szintjük jelentős emelkedést mutatott (az összes érték felső tercilisében helyezkedett le). Ezzel szemben resztenózist csak ritkán találtunk azoknál a betegeknél, akik a variáns MBL2 O allélt hordozták, akár homozigóta (A/O), akár heterozigóta (O/O) formában,

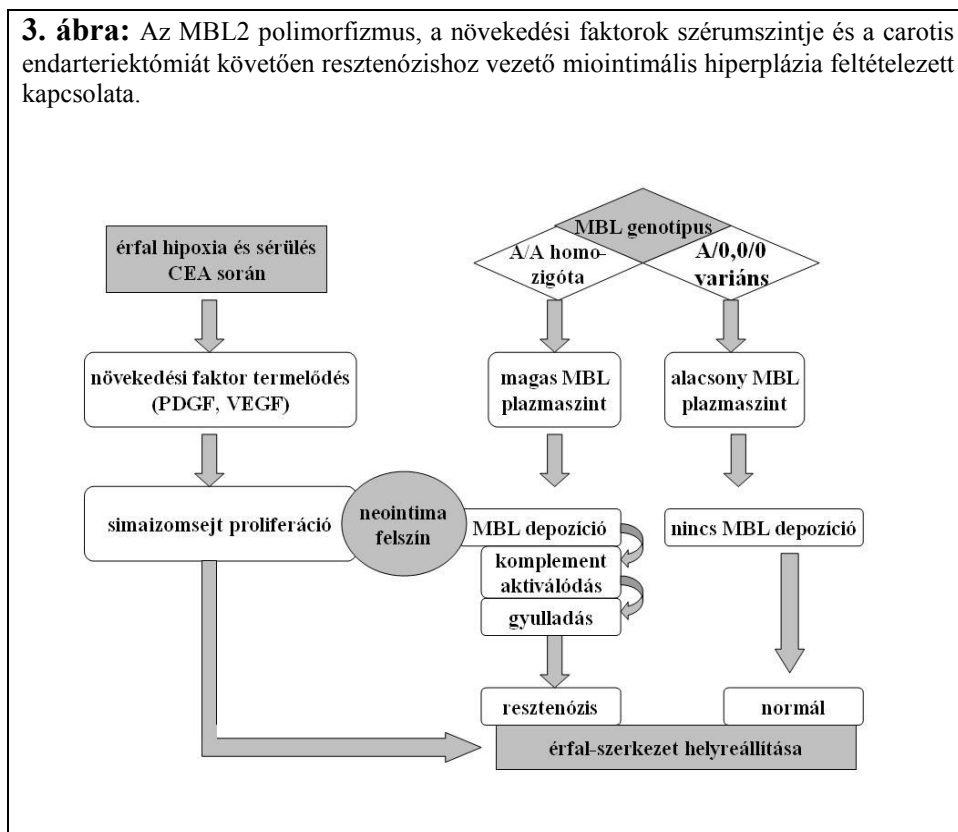
vagy akiknél csak kismértékű (alsó vagy középső tercilisbe tartozó) korai VEGF és/vagy PDGF növekedést tapasztaltunk. Egy még nem közölt vizsgálatunk szerint a 4. posztoperatív napon mért magas VEGF és PDGF értékek emelkedettek maradnak a legtöbb betegnél legalább a következő (6. heti) kontroll vizsgálatig. A VEGF és PDGF faktorokkal ellentétben nem volt kimutatható szignifikáns összefüggés a resztenózis és az EGF korai posztoperatív időszakban mért szérumszint változása között. Nem találtunk szignifikáns különbséget a 14. hónapban mért CDS értékek alapján a resztenotikus és nem resztenotikus betegek csoportja között a különböző rizikófaktorok tekintetében.

2. táblázat: Klinikailag szignifikáns (>50%) resztenózis valószínűsége a szérum VEGF koncentráció korai (posztoperatív 4. napon mért) nagyfokú (legmagasabb tercilisben mért) emelkedése alapján normál (A) és variáns (O) MBL2 allélt hordozó betegek esetében.

| | A/A MBL2 genotípusú betegek | | A/O vagy O/O MBL2 genotípusú betegek++ | | Összes beteg | |
|----------------------------------|-----------------------------|------|--|------|---------------------------|------|
| | ≤50% | >50% | ≤50% | >50% | ≤50% | >50% |
| resztenózis | | | | | | |
| POSZTOPERATÍV 7. HÓNAP | | | | | | |
| ΔVEGF alacsony* | 31 | 1 | 21 | 1 | 52 | 2 |
| ΔVEGF magas** | 13 | 7 | 7 | 0 | 20 | 7 |
| Esélyhányados (95% CI) (P érték) | 16,69 (1,86-149,61) (0,012) | | 0,956 (0,035-26,11) (1,000) | | 9,10 (1,74-47,57) (0,009) | |
| Illesztett OR (95% CI) (P érték) | 19,09 (1,77-211,35) (0,010) | | Nem számolható | | 8,06 (1,45-44,75) (0,017) | |
| POSZTOPERATÍV 14. HÓNAP | | | | | | |
| ΔVEGF alacsony* | 30 | 1 | 19 | 3 | 49 | 4 |
| ΔVEGF magas** | 12 | 8 | 7 | 0 | 19 | 8 |
| Esélyhányados (95% CI) (P érték) | 20,00 (2,25-177,63) (0,007) | | 0,371 (0,017-8,09) (0,558) | | 5,16 (1,39-19,15) (0,014) | |
| Illesztett OR (95% CI) (P érték) | 27,73 (2,42-317,26) (0,008) | | Nem számolható | | 5,50 (1,41-22,45) (0,014) | |

*≤90 pg/ml, **>90 pg/ml, +korhoz, nemhez, BMI-hez igazítva, ++Esélyhányados (OR) nem volt számítható. OR számítása többszörös regressziós analízissel.

A előbbieken részletezett új felfedezések kiegészítik azokat az eredményeket, melyeket egy ugyanezen a betegpopuláción végzett Rugonfalvi Kiss és munkatársai által közölt korábbi vizsgálat során találtunk, miszerint a variáns MBL2 O allélt hordozók esetében az arteria carotis interna everziós endarteriektómiáját követően kialakuló resztenózis esélye lényegesen kisebb. A resztenózis kialakulásához vezető egyik lehetséges feltételezett mechanizmust a 3. ábrán mutatjuk be. Az everziós carotis endarteriektómia műtéte kapcsán létrejövő endotél-sérülés és az arteria carotis kirekesztése által létrejövő iszkémia reperfúziós károsodás együttesen PDGF és VEGF felszabadulását eredményezik. Mindkét növekedési faktor alapvetően szükséges a simaizomsejtek proliferációjához, migrációjához, mátrix képzéséhez, így az esetleges neointimális hiperplázia beindításához, mely azután korai resztenózis kialakulását eredményezheti. Kimutatták azt is, hogy az iszkémia-reperfúziós károsodás kapcsán az MBL és az endotél sejtekből származó intracelluláris komponensek kapcsolódása történik, mely a lektin úton keresztül komplement aktiválódást eredményezhet. Eredményeink azt mutatják, hogy mindkét növekedési faktor felszabadulása és a komplement aktiválódása egyaránt szükséges a resztenózis kialakulásához (3. ábra).



Áttekintés, következtetések

Vizsgálataink alapján állíthatjuk, hogy az everziós arteria carotis endarteriektómiát követően resztenózis elsősorban azoknál a betegeknél fejlődik ki, akik homozigóta vad MBL2 allélt hordoznak (A/A). Ez a genotípus magas MBL szinttel, és a korai posztoperatív periódusban a PDGF és VEGF termelés fokozódásán keresztül kifejezett komplement aktiváló kapacitással jár. Eredményeink igazolják a Rugonfalvi Kiss és munkatársai által korábban közölt prospektív vizsgálat következtetéseit, miszerint súlyos carotis szűkületben szenvedő betegek esetében a carotis duplex scan-nel mért korai resztenózis mértéke magasabbnak bizonyult abban a betegcsoportban, ahol a vizsgáltak MBL2 normál típusú homozigóták (A/A) voltak, szemben a variáns MBL2 allélt (A/O vagy (O/O) hordozókkal. Nem találtunk eddig az irodalomban olyan közlést, mely összefüggést írna le a carotis resztenózis gyakorisága és a PDGF, illetve a VEGF preoperatív szintje vagy posztoperatív változása között. A vizsgált betegcsoportokban a különböző rizikófaktorok jelenléte és a resztenózis kialakulás között vizsgálatunkban nem mutatkozott szignifikáns kapcsolat.

Az endarteriektómia során az arteria belső felszínét denudáljuk, a műtéthez szükséges kirekesztés, majd felengedés pedig iszkémia-reperfúziós károsodáshoz vezet. E hatások indítják be azt a patológiás folyamatot, mely fokozott növekedési faktor termeléssel jár, és végső soron neointimális hiperpláziához és korai resztenózis kialakulásához vezethet. A gyulladáshoz kapcsolódó folyamatokban fontos szerepet játszik a mannan binding lectin, mely az endotélhez kötődve aktiválja a komplement rendszert. Variáns MBL2 allélt (A/O vagy (O/O) hordozók esetében a szérumban lévő MBL szint lényegesen alacsonyabb, ez vizsgálataink szerint védelmet jelent a resztenózis kialakulásával szemben.

A tanulmányban felvetett hipotézis nagyobb beteganyagon történő bizonyítására, illetve egyéb összefüggések keresése céljából további vizsgálatokat folytat munkacsoportunk.

Új eredmények

- Eredményeink közlésének időpontjáig nem találtunk sem az irodalomban olyan vizsgálatot, mely hosszabb időszakra vonatkozó utánvizsgálatról számolna be az everziós carotis endarteriectomiát követően kialakuló resztenózisra vonatkozóan, mint a mi tanulmányunk.
- Prospektív klinikai tanulmányok eredményeivel egyezően adataink azt támasztják alá, hogy az arteria carotis interna everziós endarteriektómiája biztonságos, hatékony és hosszú távon jó eredményeket biztosító módszer, mely alkalmas arra, hogy standard módszere legyen a szignifikáns arteria carotis interna szűkület műtéti megoldásának.
- Eredményeink a carotis everziós endarteriektómiája tekintetében hosszú távú utánkövetés után sem térnek el az irodalomban ismert adatoktól, ezért a Klinikánkon azonos műtéti típuson átesett, hasonló összetételű beteganyagon végzett további vizsgálatok alkalmasnak tűnnek nemzetközileg is elfogadható következtetések levonására.
- Tanulmányunk az első olyan vizsgálat, mely összefüggést ír le a carotis resztenózis gyakorisága és különböző keringő növekedési faktorok preoperatív szérum szintje vagy posztoperatív szérum szint változása között.
- Vizsgálataink során igazoltuk, hogy everziós carotis endarteriektómiát követően korai resztenózis elsősorban azoknál a betegeknél fejlődik ki, akik homozigóta normál MBL2 allélt hordoznak (A/A).
- A variáns MBL2 allélt (A/O vagy (O/O) hordozók esetében a szérum MBL szint lényegesen alacsonyabb, ez vizsgálataink szerint védelmet jelent a resztenózis kialakulásával szemben.
- Eredményeink azt mutatják, hogy a növekedési faktorok (VEGF és/vagy PDGF) felszabadulása és a komplement rendszer aktiválódása egyaránt szükséges a resztenózis kialakulásához.

A dolgozat témájában megjelent közlemények

1. **Szabo A**, Laki J, Madsen HO, Dosa E, Prohaszka Z, Rugonfalvi-Kiss S, Kokai M, Acsady G, Karadi I, Entz L, Selmei L, Romics L, Fust G, Garred P, Cservenak L. Early raise in serum vascular endothelial growth factor concentration predisposes for restenosis after eversion endarterectomy in patients homozygous for the normal mannose-binding lectin genotype. *Stroke* 2007,38:2247-2253.
2. **Szabo A**, Brazda E, Dosa E, Apor A, Szabolcs Z, Entz L. Long-term restenosis rate of eversion endarterectomy on the internal carotid artery. *Eur J VascEndovas Surg* 2004 May; 27(5):537-539.
3. Entz L, Járányi Zs, **Szabó A**, Mogán I, Apor A, Széphelyi K, Mezővári A, Brázda E, Papp S, Nemes A. Az arteria carotis interna everziós endarteriektómiájának késői eredményei. *Magyar Sebészet* 2001;54:5-9.

A tématerülethez kapcsolódó további közlemények

4. Szeplaki G, Varga L, Laki J, Dosa E, Rugonfalvi-Kiss Sz, Madsen HO, Prohaszka Z, Kocsis A, Gal P, **Szabo A**, Acsady G, Karadi I, Selmecei L, Garred P, Fust G, Entz L. Low C1-inhibitor levels predict early restenosis after eversion carotid endarterectomy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27 (in press)
IF(2006): 6,883
5. Szeplaki G, Varga L, Laki J, Dosa E, Madsen HO, Prohaszka Z, **Szabo A**, Acsady G, Selmecei L, Garred P, Fust G, Entz L. Elevated complement C3 is associated with early restenosis after eversion carotid endarterectomy. *Thromb Haemost* 2006;96(4):529-534.
IF: 2,803
6. Dosa E, **Szabo A**, Prohaszka Z, Karadi I, Rugonfalvi-Kiss S, Apor A, Jaranyi Z, Huttl K, Selmecei L, Acsady G, Fust G, Entz L. Changes in the plasma concentration of soluble thrombomodulin in patients with severe carotid artery stenosis after eversion endarterectomy. *Inflamm Res* 2005;54(7):289-294.
IF: 1,210
7. Biro A, Dosa E, Horvath A, Prohaszka Z, Rugonfalvi-Kiss S, **Szabo A**, Karadi I, Acsady G, Selmecei L, Entz L, Fust G, Romics L. Dramatic changes in the serum levels of anti-cholesterol antibodies after eversion endarterectomy in patients with severe carotid atherosclerosis. *Immunol Letters* 2005;99(1):51-56.
IF: 2,301
8. Dosa E, Rugonfalvi-Kiss S, Prohaszka Z, **Szabo A**, Karadi I, Selmecei L, Romics L, Fust G, Acsady G, Entz L. Marked decrease in the levels of two inflammatory markers, hs-c-reactive protein and fibrinogen in patients with severe carotid atherosclerosis after eversion carotid endarterectomy. *Inflamm Res* 2004;53(11):631-635.
IF: 1,450
9. Dósa E, **Szabó A**, Entz L, Selmecei L, Walentin Sz, Kleiber M, Rugonfalvi-Kiss Sz, Hosszúfalusi N, Füst Gy, Prohászka Z. Az ultraszenzitív módszerrel meghatározott C-reaktív fehérje koncentráció megoszlása az egészséges magyar populációban. *Orvosi Hetilap* 2004; 145(11):567-572.
10. Jaranyi Zs, **Szabo A**, Dzsini Cs, Nagy G, Selmecei L. Controlled hypertension during carotid surgery reduces the incidence of perioperative stroke. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2000; 14(2):213.
IF: 0,951