

# IN-STENT RESTENOSIS KIALAKULÁSÁBAN SZEREPET JÁTSZÓ GENETIKAI TÉNYEZŐK VIZSGÁLATA PERKUTÁN KORONÁRIA INTERVENCIÓT KÖVETŐEN

Doktori értekezés

**Dr. Bagyura Zsolt István**

Semmelweis Egyetem

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



- Témavezető: Dr. Merkely Béla, D.Sc., egyetemi tanár
- Hivatalos bírálók: Dr. Vorobcsuk András, Ph.D., egyetemi adjunktus  
Dr. Cervenák László, Ph.D., tudományos főmunkatárs
- Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Darvas Katalin, Ph.D., professor emerita
- Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Kóhidai László, Ph.D., egyetemi docens  
Dr. Szűk Tibor, Ph.D., egyetem adjunktus

Budapest

2017

## Tartalomjegyzék

Rövidítések .....	3
1. Bevezetés .....	5
1.1. Az arterioszklerózis kialakulása .....	6
1.2. A perkután koronária intervenció (PCI).....	7
1.3. Stent implantáció .....	8
1.4. Koronária stentek.....	9
1.5. Gyógyszerkibocsátó stentek (DES) .....	10
1.6. Az in-stent restenosis .....	11
1.6.1. Az in-stent restenosis klasszifikációja .....	12
1.6.2. Az in-stent restenosis befolyásoló tényezők .....	13
1.6.3. Az in-stent restenosis kialakulásnak mechanizmusa .....	14
1.7. Génpolimorfizmusok szerepe a restenosis kialakulásában .....	16
1.7.1. eNOS (endoteliális nitrogén-monoxid szintáz) .....	16
1.7.2. MMP (mátrix metalloproteináz).....	17
1.7.3. ACE (Angiotenzin I-konvertáló enzim).....	17
1.7.4. $\alpha$ -ER ( $\alpha$ -ösztrogén receptor).....	18
1.7.5. HO (Hemoxigenáz-1).....	18
1.7.6. IL-1RA (IL-1 receptor-antagonista) .....	19
1.7.7. CD14.....	19
1.7.8. CD18.....	20
1.7.9. TLR-2 (toll-like receptor-2) .....	20
1.7.10. 5-lipoxigenáz aktiváló protein.....	21
1.7.11. További gének .....	21
1.8. MBL (mannóz-kötő lektin) .....	23
1.8.1. Hatásmechanizmus .....	23
1.8.2. Termelődés genetikai háttere.....	23
1.9. VEGF (vascular endothelial growth factor, ér-endotél növekedési faktor) 24	
1.9.1. Termelődés .....	26
1.9.2. Hatásmechanizmus .....	26
1.9.3. Termelődésének genetikai háttere .....	27

2. Célkitűzések.....	29
3. Módszerek.....	30
3.1. Betegek.....	30
3.2. Klinikai meghatározások.....	30
3.2. Mintavétel, tárolás, DNS izolálás.....	31
3.2.1. Genotipizálás.....	32
3.2.2. Statisztika.....	34
4. Eredmények.....	35
4.1. Betegek klinikai jellemzői.....	35
4.2. Az MBL2 polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában	39
4.2.1. Genotípus megoszlás és statisztikai analízis.....	39
4.3. A VEGF polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában..	42
4.3.1. Genotípus megoszlás és statisztikai analízis.....	42
5. Megbeszélés.....	46
5.1. Az MBL polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában..	46
5.2. A VEGF polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában..	47
5.3. „A legjobb terápia a megelőzés”.....	49
6. Következtetések.....	52
7. Összefoglalás.....	53
8. Irodalomjegyzék.....	56
9. Saját publikációk jegyzéke.....	77
9.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények.....	77
9.2. Egyéb, a disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények.....	77
10. Köszönetnyilvánítás.....	81

## Rövidítések

$\alpha$ -ER	$\alpha$ -ösztrogén receptor
ACE	angiotenzin-konvertáló enzim
ACS	acute coronary syndrome, akut koronária szindróma
BMI	body mass index, testtömegindex
BMS	bare metal stent, fémstent
CABG	coronary artery bypass graft, koronária bypass graft
CAD	coronary artery disease, koronáriabetegség
CRP	C-reaktív protein
CT	komputertomográfia
CX	circumflex artery, körbefutó artéria koronária ág
CVD	cardiovascular disease, kardiovaszkuláris betegség
DALY	disability adjusted life years, rosszabb minőségű/ elvesztett életév
DEB	durg-eluting ballon, gyógyszerkibocsátó ballon
DES	drug-eluting stent, gyógyszerkibocsátó stent
EAP	effort angina pectoris
ECM	extracelluláris mátrix
EDTA	etiléndiamin-tetraecetsav
FLAP	5-lipoxigenáz aktiváló protein
HIF	hypoxia inducible factor, hipoxia indukált faktor
HO	hemoxigenáz-1
IAP	instabil angina pectoris
IL-1	interleukin-1
IL-1RA	interleukin-1 receptor antagonist
ISR	in-stent restenosis
ISZB	iszkémiás szívbetegség
IVUS	intravaszkuláris ultrahang
LAD	left anterior descending artery
LM	left main, koronária bal főtrzs
MBL	mannóz-kötő lektin
MCP-1	monocita kemoattraktáns protein-1

MMP	mátrix-metalloproteináz
MR(I)	mágneses rezonancia vizsgálat
NO	nitrogén-monoxid
NOS	nitrogén-monoxid-szintáz
NSTEMI	nem ST-elevációs miokardiális infarktus
OM	obtuse marginal
PCI	percutaneous coronary intervention, perkután koronária intervenció
PCR	polimeráz láncreakció
PDGF	platelet derived growth factor, trombocita növekedési faktor
POBA	plain old balloon angioplasty, egyszerű ballonos angioplasztika
RCA	right coronary artery, jobb koronária
RT-PCR	real-time polimeráz láncreakció
SMC	simaizomsejt
STEMI	ST-elevációs miokardiális infarktus
TIA	transziens iszkémiás attack
TLR-2	toll-like-receptor-2, toll-szerű-receptor-2
VEGF	vaszkuláris endoteliális növekedési faktor
VEGFR	VEGF-receptor
5-LO	5-lipoxigenáz

## 1. Bevezetés

A magyarországi morbiditási és mortalitási struktúrában a keringési rendszer betegségei vezető helyet foglalnak el. A szív- és érrendszeri megbetegedések a népesség számottevő részét érintik, 2001-ben a kórházi ápolási esetek több mint 15%-ának háttérében állt kardiovaszkuláris betegség. A haláloki statisztikában az első helyen állnak, a halálesetek több mint feléért felelősek, így a várható élettartamot jelentős mértékben befolyásolják. A kardiovaszkuláris megbetegedések csaknem fele koronária betegség.

A koronária betegség (coronary artery disease, CAD) kialakulásának háttérében az érlemezésedés, arterioszklerózis áll, mely a kardiovaszkuláris eredetű halálozás 42%-áért felelős. Az iszkémiás szívbetegség (ISZB) miatt kórházban ápolat 35 éven felüli betegek száma 2001-ben 116 199 fő volt, tehát 10 ezer főre 210 eset jutott. Minden korcsoportban a férfiak megbetegedési aránya a nagyobb (1).

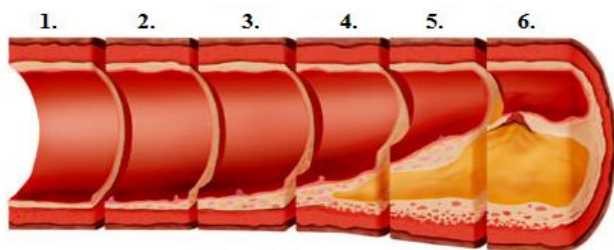
A frissebb 2012-es magyarországi adatok alapján a mortalitás 49,6%-át szív- és érrendszeri betegségek következményei tették ki, mely a megelőző évtizedhez képest 35%-os csökkenést jelentett. Ezen belül az iszkémiás szívbetegség a halálozás 25,5%-ának, ebből az akut miokardiális infarktus (AMI), más néven a heveny szívizom elhalás a 5,4%-nak volt oki tényezője hazánkban, az idült iszkémiás szívbetegség az össz-halálozás mintegy 20%-ért felelős (2).

Az európai országokban a 2016-os adatok alapján átlagosan a halálozás 45%-ának háttérében áll kardiovaszkuláris betegség, ami évente több mint 4 millió halálesetet jelent, melyből 1,8 milliót okoz CAD, illetve 1,4 millió eset 75 éve kor előtt következik be (3). Az 1970-es évektől kezdve a halálozás jelentős mértékben csökken Nyugat-Európában, azonban Közép- és Kelet-Európában ez a csökkenés csak később kezdődött, így több mint kétszeres különbség mutatható ki a régiók között (Bulgária: 62%, Franciaország: 26%). A kardiovaszkuláris betegségek a morbiditásnak is vezető okai között szerepelnek. Átlagosan évente 34 millió DALY (disability adjusted life year, rosszabb minőségű/elvesztett életév) köthető ehhez a betegség csoporthoz, mely az összes DALY 23%-át teszi ki. Az Egyesült Államokban mintegy 60 millióan szenvednek arterioszklerózisban, minden harmadik felnőtt ember valamilyen kardiovaszkuláris eredetű betegségben szenved, és a halálesetek több mint 50%-áért CAD felelős (4). Az

érelmeszesedés talaján kialakuló betegségben szenvedők száma világszerte növekvő tendenciát mutat (5).

### 1.1. Az arterioszklerózis kialakulása

A kardiovaszkuláris betegségek patomechanizmusában az arterioszklerózis kulcsszereplő. Korábban degeneratív betegségnek tartották, azonban a mai hisztopatológiai és immunológiai ismereteken alapuló szemlélet alapján leginkább elhúzódó gyulladással járó folyamatnak véljük (6, 7). Az arterioszklerózis típusosan az elasztikus artériákat érinti. Először egy ún. „fatty streak” lézió jön létre, amely T-limfocitákkal körülvett lipidben gazdag makrofágok lerakódását jelenti az érfal intima rétegében.



1. ábra: Az érelmeszesedés folyamata (8), 1. kezdeti stádium, 2. fatty streak, 3. intermediér lézió, 4. ateróma, 5. fibrózus sapkájú plakk, 6. komplex lézió / plakk ruptura

A folyamat előrehaladtával kialakul az aterómás plakk, melynek magját elsősorban koleszterinkristályok, makrofágok és nekrotikus sejttörmelék alkotja. A későbbiekben létrejön az endotéllel borított plakk sapka, mely kollagénben és fibrotikus elemekben gazdag, valamint gyulladással járó elemeket (makrofágok, T-limfociták, masztociták) tartalmaz (1. ábra). A sapkába módosult simaizomsejtek vándorolnak. A plakk széli részein, melyet plakk vállnak nevezünk, különösen sok gyulladással járó sejt halmozódik fel. Ez a plakk legsérülékenyebb része, itt található a plakk rigid anyaga az

elasztikus érfallal, ezen a helyen szokott bekövetkezni a plakk ruptura, mely folyamat klinikai manifesztációja lehet a miokardiális infarktus. Az arterioszklerózis fontos eleme az endoteliális funkciózavar, a NO-termelés csökkenése, a NO fokozott eliminációja, az antikoaguláns bevonat elvesztése.

Az arterioszklerózis szisztémás betegség, melynek a szívben jelentkező lokális manifesztációja a koronária szklerózis és a következményes iszkémiás szívbetegség. A betegség progressziójával kialakuló szűkület egyre nagyobb mértékű akadályt jelent a koszorúér véráramlásának szempontjából, mely többféle formában jelenhet meg (angina pektorisz, akut koronária szindróma).

A szűkületek felismerésének, elemzésének és a megfelelő terápia megválasztásának igen nagy jelentősége van. A koszorúér-szűkületek kezelésében a konzervatív terápia mellett korábban csak műtéti megoldás, aorto-koronáriás áthidalás (aorto-coronary bypass graft, CABG) jött szóba. A perkután koronária intervenció (percutaneous coronary intervention - PCI) bevezetése és széleskörű elterjedésre forradalmasította a koronáriabetegségek terápiáját. Az intervenció jelentősen kisebb fizikai és pszichés megterhelést, jóval rövidebb kórházi tartózkodást, kevesebb és enyhébb szövődményt jelent a betegek számára, mint a műtét. Mára rutin eljárássá vált, mind akut, mind tervezett (elektív) esetekben.

## **1.2. A perkután koronária intervenció (PCI)**

A módszert először 1979-ben Grüntzig alkalmazta és írta le, mint perkután transzluminális koronária angioplastikának (PTCA) (9). Ma már különféle eszközöket és eljárásokat alkalmaznak az angioplastika során, ezért találhatóbb és helyesebb a perkután koronária intervenció (PCI) elnevezés. Az akut miokardiális infarktus kezelésében korábban egyeduralgató trombolízist mára - néhány kivételes esettől eltekintve - teljes mértékben felváltotta a PCI. Magyarországon az ország bármely területéről 90 percen belül elérhető valamelyik PCI centrum.



Az intervenciós eljárás lényege, hogy a femorális vagy a radiális artéria felőli, módosított Seldinger technikával végzett behatolás után katéterrel felkereshető a beszűkült érszakasz, és az adott helyen a katéteren található ballont nagy nyomással felfújva a plakk szétroncsolható, és így módon a szűkület feltágítható, az áramlási akadály jó eséllyel megszüntethető (10). A szűkület hosszának megfelelő ballont hidraulikus módszerrel fújják fel, 4-8 bar nyomást kifejtve, addig, míg a ballonban lévő hígított kontrasztanyag által láthatóvá tett homokóraszerű behúzódás (melyet a plakk benyomata okoz) megszűnik. A ballonos tágítás után azonban korai restenosis (újra beszűkülés) következhet be az esetek 20-50%-ban (11).

A ballondilatáció mellett, a tágítást megelőzően a lumen szabad átjárhatóságának biztosítására különböző módszereket alkalmazhatunk; a lument szűkítő plakkot, trombast, vagy azok részeit atrektommal, rotablátorral, trombektómiával, vagy excimer lézerrel eltávolíthatjuk.

### **1.3. Stent implantáció**

Az egyszerű ballonos tágítás után igen gyakran újfent beszűkül az adott érszakasz, ezt nevezzük restenosisnak. A ballonos tágítás utáni restenosis vagy okklúzió együttes aránya a 40%-ot is elérte (12, 13).

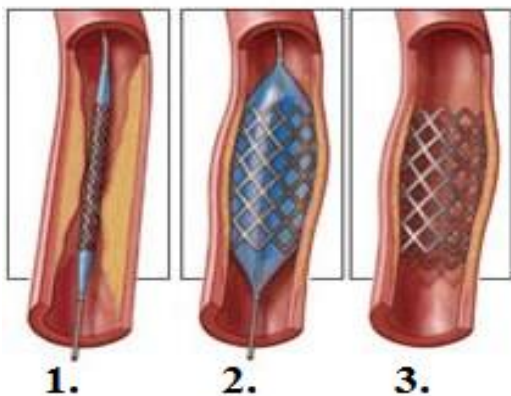
A ballondilatációt követő restenosis fő oka egyrészt az „elasztikus recoil”, az érfal rugalmas rostozatának túlnyújtás utáni visszarendeződése, másrészt az intima sérülést követő trombocita aktiváció és intima hiperplázia, melyhez a tágítás alatt az intima részleges vagy teljes szakadása, és a következményes gyulladós reakció vezet (14). A ballontágítás utáni restenosis, illetve okklúzió invazív kezelése nagy kihívást jelentett, sok esetben bypass műtétet igényelt.

A hosszú távú eredményességet két innováció javította. A restenosis mechanikai megelőzésének céljából fejlesztették ki a beültethető fém hálókat (stentek), melyek tulajdonképpen flexibilis endovaszkuláris protézisek. Megjelenésük alapján fémrugóhoz vagy tubushoz hasonlóak. A másik fontos innovációs lépést az új, hatékonyabb trombocita aggregáció gátló gyógyszerek bevezetése (15, 16) jelentette. Az első koronária stent

beültetést Sigwart és mtsai. végezték 1986-ban (17). A stent beültetés előnye a ballonos tágítással szemben korán megmutatkozott, mára a beavatkozások több mint 70%-ában sor kerül rá (10, 18, 19).

#### 1.4. Koronária stentek

A legtöbb stent alapváza rozsdamentes acélból készül, ez a legrégebben használt és legolcsóbb típusa a stenteknek. Újabban a króm kobaltból készült stent tűnik az ideálisnak, mely anyag nagyobb biokompatibilitást biztosít. A felhasznált anyagok és a stentek felületének kiképzése folyamatosan fejlődik. Közös bennük, hogy nem rendelkeznek gyógyszeres bevonattal, így hagyományos fém stenteknek (bare metal stent - BMS) nevezzük őket.



2. ábra: A stentelés folyamata (20), 1. A ballont és a stentet katéterrel juttatják a lézió helyére, 2. a megfelelő pozícióban a ballont felfújják, a stent expandál, 3. a stent a katétert eltávolítva is helyén marad.

A legtöbb stent a ballonkatéter ballonjának külső felületére van rögzítve, amit röntgenátvilágító berendezés és kontrasztanyag segítségével az ér sztenotikus részébe pozícionálnak, amelyet előzőleg gyakran ballonnal kitágítottak. A ballon felfújásakor a stent expandál, és az ér falán körkörösén rögzül a koronária endoteliális felszínéhez (2. ábra). A stentek mérete 2,5-6 mm átmérő és 8-50 mm hosszúság között változhat (21). A hagyományos fém stentek alkalmazása az egyszerű ballon dilatációhoz képest randomizált

vizsgálatok szerint közel felére csökkentette a stenten belüli koronária szegmens visszaszűkülésének, az in-stent restenosisnak (ISR) az arányát (18, 22, 23).

A hagyományos fém stentek elterjedésével a PCI az iszkémiás szívbetegség elismert kezelési lehetőségévé vált, kiváltképp az ST-elevációs miokardiális infarktus (STEMI) kezelésében (24-26) az alacsony következményes érelzáródás, azaz stent trombózis és tolerálható restenosis arány miatt. A BMS tartós fizikai erejénél fogva kivédte mind a korai „elasztikus recoil”, mind a késői artériás remodelling jelenségét.

### **1.5. Gyógyszerkibocsátó stentek (DES)**

A BMS alkalmazása az egyszerű ballon dilatációhoz képest randomizált vizsgálatok szerint közel felére, 15-20%-ra csökkentette az adott szegmens visszaszűkülésének arányát, tehát továbbra is jelentős klinikai problémát jelentett a restenosis. Ennek a problémának a megoldására jöttek létre a gyógyszerkibocsátó stentek (drug eluting stent, DES). A DES előnye, hogy jelentősen csökkenti a restenosis előfordulását, mivel olyan citosztatikumot juttat lokálisan a szövetekbe, amely gátolja a simaizomsejt-proliferációt, így nagymértékben csökkenti a neointimális hiperpláziát (27, 28).

Az első generációs DES-ek esetén az in-stent restenosis arány 10% alatt maradt. Hátrányuk – a magasabb költség mellett –, hogy késleltetik a stent endotelizációját, így sokáig jelen van egy aterogén felszín, tehát a kettős trombocita-aggregációs kezelés hosszabb ideig – akár az egész élet során – szükséges, mint egyszerű fémstent esetén. Emiatt a páciensek fokozott mértékű együttműködésére, compliance-ére van szükség.

Az új DES generációk fejlesztése során ezen kedvezőtlen tényező kiküszöbölését tűzték ki célul. Felszínükre új fejlesztésű, lipidoldékonyabb, szelektíven csak az abluminális felszínre felvitt gyógyszereket kísérleteztek ki (biolimus A9 és az everolimus), és teljesen felszívódó polimereket továbbá polimer nélküli gyógyszerkötési lehetőségeket hoztak létre. Emellett olyan antitestekkel bevont stentekkel is kísérleteznek, melyek felületére olyan antitesteket kötnek, melyek elősegítik az endothel progenitor sejtek megkötődését, így a gyógyszerleadás mellett teljes endotelizációt garantálnának igen rövid időn belül.

További fejlesztési irány a felszívódó stent platform, melyet sikerült gyógyszerbevonattal ellátni.

Az új generációs DES-ek esetén már nem szükséges az egész életen át tartó kettős trombotika aggregáció gátló kezelés alkalmazása, ám az első 6 hónapban továbbra is szükség van erre a stent trombólis és a következményes miokardiális infarktusz és kardiális halálozás megelőzéséhez. A jövőben az újabb DES generációk mellett ez az időtartam várhatóan rövidíthető lesz.

A hagyományos fém stentek továbbra is, illetve a jövőben is fontos részét fogják képezni a rutin ellátásnak. Alacsonyabb árak mellett előnyök, alkalmazhatóak minden olyan esetben, amikor a DES-ek használata valamilyen oknál fogva nem célszerű, például a DES-sel együtt járó kettős trombotika aggregáció kezelés miatt (pl. tervezett műtét előtt a vérzéses szövődmények lehetősége miatt). Továbbá, egy nemrég publikált nagy esetszámú tanulmányban eredménye szerint a BMS és a DES használata esetén nem mutatkozott szignifikáns különbség az össz-mortalitást és a miokardiális infarktust magába foglaló kompozit végpont tekintetében (29).

## **1.6. Az in-stent restenosis**

A PCI késői szövődményeként a kezelt érszakasz újbóli beszűkülése a korábban említetteknek megfelelően tehát a stent beültetés után továbbra is bekövetkezhet (30). ISR esetén az eredeti koronária betegséghez hasonló klinikai tünetek fordulnak elő. Jelentkezhet akut koronária szindróma (acute coronary syndrome, ACS) formájában, okozhat effort anginás panaszokat, de jelen lehet panaszmentes betegben is. A legtöbb definíció szerint akkor tekinthetjük szignifikánsnak a restenosiszt, ha a lumen átmérőjének szűkülete több mint 50 %-os. Az in-stent restenosis kialakulási mechanizmusának vizsgálatára, valamint a terápiás döntés könnyítése érdekében IVUS (intravaszkuláris ultrahang) alkalmazható (31). Ballonos tágítást követően 30-50%-ban fordul elő a tágított érszakasz visszaszűkülése, ez a szám a stentek használatával 10-30%-ra csökkent (32). Gyógyszerkibocsátó stent (DES) esetén ISR 3-5%-ban alakul ki. Az in-stent restenosis átlagosan a stent beültetés után 3-12 hónappal következik be (33).

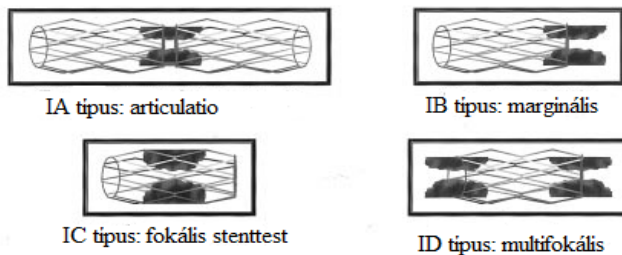
### 1.6.1. Az in-stent restenosis klasszifikációja

Az in-stent restenosisnak több formája ismert. Míg a fokális megjelenésűek (<10mm hosszú) relatív jó gyógyhajlamot mutatnak nagy nyomású ballonos dilatációra, addig a diffúz formák a rendelkezésre álló intervenciós módszerekkel kevésbé eredményesen kezelhetőek.

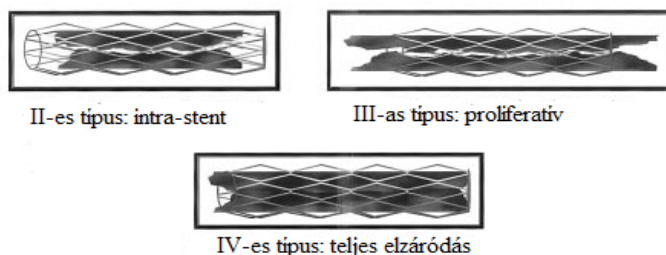
A korábbi osztályozás mellett, mely szerint lokális (<10 mm) és diffúz (>10 mm) formát különböztünk el, Mehran és mtsai (34) 4 csoportba osztják az ISRS megjelenési formáit:

- Az I-es típusba tartozik a korábbi osztályozás szerinti fokális restenosis, mely 10 mm-nél rövidebb szakaszt érint a stenten belül, a stent proximális vagy disztális szélénél, vagy ezen lokalizációk kombinációja (multifokális ISR).
- A II-es típusú 10 mm-nél hosszabb restenosis (diffúz intrastent ISR), mely csak a stenten belüli részt érinti.
- A III-as típusba tartozik a 10 mm-nél hosszabb és a stent szélein túlérő ISR (diffúz proliferatív).
- A IV-es típus a teljes okklúzió: Ennek az osztályozásnak prognosztikai jelentősége van, hiszen független prediktív tényező az újabb revaszkularizáció szükségessége szempontjából.

### Fokális ISR: I-es típus



### Diffúz ISR: II-es, III-as, IV-es típus



3. ábra: Az ISR osztályozása Mehran szerint (34)

#### 1.6.2. Az in-stent restenosis befolyásoló tényezők

Nagy betegszámú, multicentrikus vizsgálatok számos restenosisra hajlamosító rizikófaktort igazoltak. Ezeket két fő csoportra oszthatjuk.

A betegtől függő (szisztémás) tényezők, melyek jellemzően a Mehran II-IV típusú ISR-ekkel hozhatók kapcsolatba, hasonlóak az arterioszklerózis klasszikus rizikófaktoraihoz, néhány tekintetben azonban eltérnek. A Framingham tanulmány óta ismert, hogy a magasvérnyomás-betegség, a cukorbetegség, a dohányzás, a hiperkoleszterinémia mind növelik az érlemezés kockázatát (35). A diabétesz mellitusz, a magasvérnyomás betegség, a hiperlipoproteinémia, valamint a dohányzás a restenosis kialakulásának is jelentős, független kockázati tényezői. A restenosisra hajlamosító további klinikai tényező még a dialízist igénylő veseelégtelenség.

Az arterioszklerózis nem hagyományos rizikófaktorai közül a C-reaktív protein (CRP) restenosisban betöltött szerepére vonatkozó vizsgálatok eredményei ellentmondásosak,

ám egy 2010-es átfogó tanulmányban megállapították, hogy az intervenciós eljárás előtt mért emelkedett CRP-szint nagyobb ISR gyakorisággal jár (36).

Az arterioszklerózisnál a férfi nem jelenti a fokozott rizikót, az eddigi vizsgálatok alapján azonban ISR-ra inkább a női nem hajlamosít (37). Ezen túlmenően egyéb genetikai faktorok is szerepet játszanak (11), például különböző genetikai polimorfizmusok, így az angiotenzin I receptor 1 fehérjét kódoló gén (38), a CD18 (39), interleukin-1 receptor antagonist (40), és a glikoprotein receptor IIIa fehérjét kódoló gén (41) esetén.

A másik csoportot a lokális, az adott érszakaszt, illetve a beavatkozást jellemző tényezők jelentik. Ezek elsősorban a fokális (Mehran I) ISR kialakulásával hozhatók kapcsolatba. Ilyenek például a plakkok morfológiája, a szűkület hossza (42), illetve gyakoribb a restenosis teljes okklúzió megnyitása után (43). Az angiográfiás kép alapján nagyobb a restenosis kockázata: hosszú lézió, több éren, kis átmérőjű éren végzett beavatkozás után, v. saphena graft kezelése esetében, kiterjedt kollateralizációban, eredési szűkületben, reziduális stenosis esetén. Ezekon felül bizonyos, az eljárásból adódó tényezők is szerepet játszanak a restenosis kialakulásában. Ilyenek például a stent megtöretése, a nem megfelelően expandált stent, a nem megfelelő stent pozíció. (43).

### **1.6.3. Az in-stent restenosis kialakulásnak mechanizmusa**

Az in-stent restenosis patofiziológiája rendkívül komplex és nem teljesen tisztázott. Az ezzel kapcsolatos kutatási eredmények azt sugallják, hogy a restenosis a koszorúerek traumára adott maladaptív válasza, melyet az intervenció idéz elő, és amely a következő elemekből tevődik össze: elasztikus recoil, trombózis, gyulladás, sejtproliferáció, extracelluláris mátrix (ECM) termelődés. Ezek együttesen vezetnek az eljárás után átlagosan 6 hónappal bekövetkező lumenvesztéshez (lumen loss) (44).

A ballonos tágítást követően kialakuló lumenvesztésben alapvetően három fő folyamat játszik szerepet.

**Elastic recoil:** A beavatkozás után közvetlenül megfigyelhető az úgynevezett elastic recoil, mely a lumen átmérőjének azonnali csökkenését eredményezi. Egy Caixeta és mtsai által végzett tanulmány szerint a ballon felfújása után 15 percen belül 34%-os lumen loss figyelhető meg (45). Az elastic recoil önmagában akutan a lumen akár 50%-nyi veszteségéért is felelős lehet. A megfelelően expandált stent deponálása ezt a folyamatot igen jelentő mértékben csökkenti (46).

**Az artériás remodelling:** A PCI utáni vaszkuláris remodelling összefüggésbe hozható az adventícia megvastagodásával és a heg kontrakciójával, melyet az extracelluláris mátrix hialuronsavjának kollagénnel való felcserélődése okoz. A stent beültetés a recoil és a vaszkuláris remodellinget is kivédi.

**Neointima képződés:** A BMS beültetést követő ISR mechanizmusában döntően a neointimális hiperplázia vesz részt (47). A restenotikus szakaszra vonatkozó szövettani vizsgálatok neointimális hiperpláziát, az ér simaizomsejtjeinek (VSMC) fokozott proliferációját mutatják (48).

A PCI során bekövetkező mechanikus nyújtásnak, a lamina elastica interna repedésének, és a média disszekciónak köszönhetően lecsupaszodott endotél részletek keletkeznek, melynek hatására különböző mitogének és citokinek szabadulnak fel az endotél sejtekből, trombocitákból, gyulladásozó sejtekből (49). Ilyenek például a tromboxán A<sub>2</sub>, a szerotonin, és a trombocita növekedési faktor, melyek együttesen elősegítik a simaizomsejtek proliferációját és migrációját. Ezzel egyidejűleg a simaizomsejtekben a mitogén hatású proto-onkogének szintje nő, mely által kontraktilisról szintetizálóra való fenotípus váltás következik be, illetve bizonyos sejtsztódásért felelős gének (pl. c-myc) expressziója fokozódik, mely sejtproliferációhoz vezet. Mindemellett a simaizomsejtek olyan fehérjéket termelnek, melyek elősegítik a többi sejt migrációját (50), így többek között a mátrix metalloproteinázok termelődése is fokozódik, mely hozzájárul az ECM remodellációjához. Ezen változások hatására aktivált simaizomsejtek vándorolnak az intimába (33, 44). Ezen kaskád végeredménye a VSMC-k kontrollálatlan proliferációja és az ECM elemeinek lerakódása az ér-intima körül, így neointima képződik. A neointima körülbelül a beavatkozás utáni harmadik hónapig vastagszik, a harmadiktól a hatodik



hónapig már csak kevés változás mutatkozik, 6 hónaptól egy évig pedig fokozatosan csökken (51).

## **1.7. Génpolimorfizmusok szerepe a restenosis kialakulásában**

A genetikai állományunkban minden 100-300. bázisra esik egy egyedi nukleotid polimorfizmus (single nucleotid polymorphism, SNP), ami az adott DNS szekvencia egyfajta variációját jelenti, és a populáció legalább 1%-ban megtalálható. A különböző SNP-k nem tehetőek közvetlenül felelőssé egy-egy kórállapot kialakulásáért, viszont bizonyos allélok hordozása megváltoztathatja a szervezet patofiziológiai folyamatokra adott reakcióját, ezáltal fogékonyabbá tehet, hajlamosíthat egyes betegségekre, vagy éppen védőfaktort jelenthet. Ezen genetikai variációk magyarázatot adhatnak a hasonló külső hatásoknak kitett egyének különböző mértékű, akár minőségileg is más, egyedi reakciójára (52).

Különböző munkacsoportok által eddig végzett kísérleti eredmények alapján több génről valószínűsíthető, hogy polimorfizmusaik összefüggésbe hozhatók az in-stent restenosis kialakulására való hajlammal.

### **1.7.1. eNOS (endoteliális nitrogén-monoxid szintáz)**

A nitrogén monoxid (NO) argininből szintetizálódik a nitrogén-monoxid szintáz (NOS) enzim hatására. Ezen enzimesalád tagja az eNOS, mely az endotélben konstitutív módon expresszálódik. A keletkező NO vazodilatátor hatású, gátolja a simaizomsejtek proliferációját, szerepe van továbbá a trombocita aggregáció és a fehérvérsejtek adhéziójának gátlásában. Janssens és mtsai. (53) eredményei alapján az adenovírus vektorral történő eNOS géntranszfer csökkenti a restenosis mértékét patkány karotiszon végzett ballonos tágítást követően. Az eNOS gén Glu298Asp és -786T>C egyedi nukleotid polimorfizmusa befolyásolja a NO képződését. A 298 Asp genotípussal rendelkezőkben olyan protein termelődik, amely kevésbé áll ellen a proteolitikus

hatásoknak, ezáltal alacsonyabb eNOS-szintet eredményez (54, 55). Gomma és mtsai kimutatták, hogy a 298Asp és a -786C allél hordozása rizikófaktor az ISR kialakulásában, melynek hátterében a csökkent NO-képződés miatti fokozott simaizomsejt-proliferáció állhat, mely neointimális hiperpláziához, és így restenosisához vezet (56).

### **1.7.2. MMP (mátrix metalloproteináz)**

Az MMP enzimes család több mint 20 tagból áll. Fő szerepük az extracelluláris mátrix fehérjéinek lebontása, emellett kapcsolatban állnak különböző kemotaktikus és növekedési faktorokkal, citokinekkal (57). Az MMP-k termelődése elsősorban transzkripció szinten meghatározott, de egyéb tényezőktől is függ (szöveti inhibitorok, zimogénaktiváció). Az MMP-k vaszkuláris expressziójában bekövetkező változások szerepet játszhatnak a kardiovaszkuláris betegségek patogenezisében, így az arterioszklerózis folyamatában, illetve a restenosis kialakulásában is (58, 59). Az MMP-3, vagy más néven stromelysin-1 a család tagjaként, az extracelluláris mátrix (ECM) makromolekuláinak degradációjában vesz részt. A 11-es kromoszómán található MMP-3 5A/6A polimorfizmusa és a restenosis kialakulása közötti összefüggést vizsgálva több kutatócsoport is arra az eredményre jutott, hogy a 6A/6A genotípussal rendelkezőkben magasabb volt a restenosis incidenciája egyszerű PTCA után (60, 61), például a stabil anginában szenvedő betegek közül a 6A/6A genotípust hordozókban Chiou és mtsai magasabbnak találták az in-stent restenosis-arányt (62).

### **1.7.3. ACE (Angiotenzin I-konvertáló enzim)**

Az ACE az endotél sejtek által termelt enzim, mely a renin-angiotenzin rendszer (RAS) részeként az angiotenzin I - angiotenzin II átalakulást katalizálja. Az ACE fontos szerepet játszhat a vaszkuláris simaizomsejtek proliferációjának szabályozásában, mivel az általa katalizált reakció végterméke, az angiotenzin II sejtproliferációt indukál. Emellett az ACE felelős a bradikinin degradációjáért, ezáltal csökkenti annak növekedést serkentő hatását. Az ACE plazmaszintje részben genetikai faktorok által meghatározott. Az ACE

gén inzerció/deléción (I/D) polimorfizmusa befolyásolja az enzim szérumszintjét (63, 64). Az elmúlt évtizedekben több munkacsoport foglalkozott a kérdéssel, a különböző esetszámú vizsgálatok eredményei azonban ellentmondóak. A 90-es évek végén végzett nagyjából 200-as esetszámú vizsgálatokban a DD allél hordozása és az ISR fokozott gyakorisága közötti kapcsolat bizonyítottan látszott (65, 66). Azonban már ekkor is jelentek meg ezzel ellentétes adatok (67). 2004-ben pedig egy majdnem 1000 főt magába foglaló vizsgálat alapján arra a következtetésre jutottak, hogy ugyan az ACE emelkedett szérumszintje növeli az ISR kockázatát, ám ez független a genotípustól (68).

#### **1.7.4. $\alpha$ -ER ( $\alpha$ -ösztrogén receptor)**

A menopauza előtt lévő nőkben a kardiovaszkuláris betegségek aránya jóval kisebb, melynek háttérében az ösztrogén atero-protéktív hatása feltételezhető. Ösztrogén receptorok találhatóak az endotél és a vaszkuláris simaizomsejteken. A receptornak szerepe van mind a rövid-, mind a hosszútávú vazoreaktív hatásokban. Az  $\alpha$ -ER gén a 6-os kromoszómán található. A gén PvuII és XbaI polimorfizmusai befolyásolják a receptor expresszióját. Nőkben a PvuII TT és az XbaI GG genotípus hordozása gyakoribb ISR-sal jár, mint férfiakban. Nőkben a TT homozigóta állapot hajlamosító tényező ISR kialakulására (69).

#### **1.7.5. HO (Hemoxigenáz-1)**

A hemoxigenáz-1 részt vesz az oxidatív stresszre adott vaszkuláris válaszreakcióban, mely a további sejtkárosodás megelőzésére irányul. A HO enzim a hemdegradáció első lépését katalizálja, a reakció végeredményeként biliverdin, CO és szabad vas képződik. A biliverdin további átalakulása során bilirubin keletkezik, amely önmagában is erős antioxidáns hatású. A HO-1 izoforma, melynek expressziója indukálható, jelen van az arterioszklerotikus léziókban. A lipidperoxidációs termékek felszaporodása indukálja a HO-1 termelődését, ezáltal nő az antioxidánsok koncentrációja és mérséklődik a

gyulladásos folyamat. Ezen túlmenően a keletkezett CO gátolja a simaizomsejtek proliferációját.

A HO-1 dinukleotid (GT) ismétlődéses polimorfizmusa befolyásolja az enzimindukció mértékét. A hosszú ismétlődéssel rendelkezőkben a külső stimulusra bekövetkező enzimindukció alacsonyabb fokú. Az eddigi vizsgálatok alapján a polimorfizmus hordozása független rizikófaktora a restenosisnak (70-72).

#### **1.7.6. IL-1RA (IL-1 receptor-antagonista)**

Az interleukin-1 receptor antagonista a gyulladásos folyamatokban részt vevő interleukin-1 citokin család tagja. Az IL-1 receptorhoz kötődve nem vált ki intracelluláris választ, így módon kompetitíve gátolja az IL-1 proinflammatorikus hatásait (73). Az IL-1-nek a gyulladásos folyamatokon kívül szerepe van továbbá a simaizomsejtek proliferációjának szabályozásában, valamint az extracelluláris mátrix metabolizmusában. Az IL-1RA génjének (IL-1RN), mely a 2-es kromoszómán található, több polimorfizmusa ismert, melyek befolyásolják az IL-1RA plazmaszintjét (74). A PCI során bekövetkező érfalsérülésre adott gyulladásos válaszban az IL-1-nek is fontos szerepe lehet, mivel kimutatták akkumulációját az érintett artériafalban. Kastrati és mtsai 2000-ben publikált eredménye alapján az IL-1RA gén 2-es alléljának hordozása kisebb ISR gyakorisággal társul, így védőfaktornak tekinthető (40).

#### **1.7.7. CD14**

A CD14 egy felszíni antigén, amely többnyire monocitákon és makrofágokon van jelen. A veleszületett immunitás részeként elsősorban a bakteriális lipopoliszacharidokra (LPS) adott válaszreakcióban van szerepe. A LPS-ek megjelenése tehát CD14-en keresztül aktiválja a monocitákat és makrofágokat. Az aktivált gyulladásos elemek szerepet játszanak az ISR kialakulásában. Megfigyelték a PCI után a monociták akkumulációját a stentelt érszakaszon (75, 76). A CD14 génje az 5-ös kromoszómán található. A szolúbilis CD14 (sCD14)-LPS komplex stimulálja az endotél- és simaizomsejteket. A gén promóter

régiójában lévő C260T polimorfizmusa kapcsolatba hozható az ISR kialakulásával: Shimada és mtsai vizsgálata alapján a T/T genotípus és a magasabb sCD14-szint független rizikófaktora az ISR-nak. Ennek hátterében feltehetően a fent említett sejtek megváltozott aktivációja áll (77).

### **1.7.8. CD18**

A CD18, vagy más néven integrin béta-2 fehérje különböző integrineknek a béta alegységét alkotja. Az integrinek alapvető szerepe a sejt-ECM kapcsolat kialakításában van, valamint részei különböző jelátviteli útvonalaknak. CD18-alegységet tartalmaz például a Mac-1 (makrofág-1 antigén), mely komplement receptorként funkcionál, így részt vesz a gyulladásos folyamatokban. A CD18 génje (ITGB2) a 21-es kromozómán található. Az ITGB2 1323C/T polimorfizmusa kapcsolatba hozható az in-stent restenosisra való hajlammal. A 1323T allélt hordozókban alacsonyabb az ISR gyakorisága (39).

### **1.7.9. TLR-2 (toll-like receptor-2)**

A toll-szerű receptor család a *Drosophila* toll-receptoráról kapta nevét, tagjai a veleszületett immunrendszer részei, I-es típusú transzmembrán receptorok. A szervezet számos sejtjén megtalálhatók, így az endotél sejteken is. Bizonyos molekuláris mintázatokat ismernek fel, így fontos szerepük van a patogének elleni küzdelemben. Ligandja lehet többek között fehérje, lipid, lipoprotein, lipopoliszacharid. A ligand felismerés beindít egy jelátviteli mechanizmust, melynek végeredményeként bizonyos gének indukálódnak, így fokozódik egyes citokinek (pl. IL-1, IL-6) termelődése, mely elősegíti a lokális immunválasz létrejöttét. A TLR-2 fehérjét a 4-es kromoszóma hosszú karján található TLR2 gén kódolja. A gén egy gyakori SNP-je (TLR-2 Arg753Gln SNP) olyan receptor termelődéséhez vezet, mely elvesztette funkcióját (78-80). Felmerült a TLR-2 szerepe az arterioszklerózis, valamint a restenosis kialakulásában. Egy 2005-ben, Németországban végzett vizsgálatban azt találták, hogy a restenosisist elszenvedő

betegekben magasabb a variáns genotípus aránya. Ennek alapján arra a megállapításra jutottak, hogy a normál genotípusú TLR-2 hordozása protektív faktor a restenosis kialakulásával szemben. A háttérben a TLR-2 lipid metabolizmusra gyakorolt hatása és a gyulladási folyamatokban való részvétele állhat (81).

#### **1.7.10. 5-lipoxigenáz aktiváló protein**

Az 5-lipoxigenáz aktiváló protein (FLAP) a leukotriének szintézisében résztvevő fehérje. Működése során az 5-lipoxigenázt (5-LO) aktiválja, amely enzim az arachidonsavat bontja, melyből több lépcsős úton leukotriének képződnek. A leukotriének az immunválaszban fontos szerepet játszanak, számos betegséggel kapcsolatba hozhatók (82). A FLAP-ot kódoló gén, az ALOX5AP a 13-as kromoszómán található. A gén két SNP-je is kapcsolatba hozható az ISR-re való fokozott hajlammal. Úgy tűnik, hogy a HapB haplotípussal rendelkezők között nagyobb arányban fordul elő restenosis, mint a más haplotípust hordozókban. Tehát az ALOX5AP gén, amely kapcsolatba hozható az arterioszklerózis kialakulásával, az in-stent restenosis létrejöttében is szerepet játszik (83).

#### **1.7.11. További gének**

A fontosabb ISR-ben szerepet játszó polimorfizmusokkal kapcsolatos vizsgálatok eredményeit, illetve esetszámaikat a 1. táblázat foglalja össze.

A fent említetteken kívül további gének polimorfizmusainak szerepe is felmerült, melyek kapcsolatba hozhatók az ISR kialakulásával. Ezek az ún. „jelölt” gének általában az arterioszklerózis patomechanizmusában is részt vevő proteinek kódolnak, és természetesen nem minden esetben volt igazolható a polimorfizmusok szerepe az IRS kialakulásában. Például az apolipoprotein E génje (APOE) –219G/T, 113G/C, 334T/C, és 472C/T egyedi nukleotid polimorfizmusainak szerepe felmerült a stentelést követően kialakuló miokardiális infarkttal, halálozással és restenosisal kapcsolatban. Egy

csaknem 2000-es esetszámu vizsgalatban azt talaltak, hogy egyik fent említett SNP esetében sincs összefüggés az ISR gyakorisága és az adott allélok hordozása között (84).

1. táblázat: A fontosabb ISR-ben szerepet játszó génpolimorfizmusok és az azokat leíró vizsgálatok, eNOS - endoteliális nitrogén-monoxid szintáz, MMP - mátrix metalloproteináz, ACE - angiotenzin I-konvertáló enzim,  $\alpha$ -ER -  $\alpha$ -ösztrogén receptor, HO - Hemoxigenáz-1, IL-1RA - IL-1 receptor-antagonista, TLR-2 - toll-like receptor-2, HapB 5-lipoxigenáz aktiváló protein B haplotípusa, EAP – effort angina pectoris

Gén	polimorfizmus	allél, genotípus	Esetszám	Megjegyzés	Hivatkozás
eNOS	G298A	A	205, 85		(56)
	T786C	C			
MMP-3	5A/6A	6A/6A	334	EAP betegekben	(62)
ACE	I/D	DD	177, 158	elsősorban diffúz restenosis	(65, 66)
HO-1	dinukleotid (GT) repeat long(L) / short(S)	L	199, 323, 192		(70-72)
$\alpha$ -ER	PvuII C/T	TT	858	nőkben	(69)
IL-1RA	exon 2	tandem repeat	1850		(40)
CD14	C260T	T/T	129		(77)
CD18	C1323T	T	1207		(39)
TLR-2	A753G	A	206+182		(81)
ALOX- 5AP	SG13S25 SG13S114	HapB	46+46		(83)

## **1.8. MBL (mannóz-kötő lektin)**

A mannóz-kötő lektin (MBL) egy máj által termelt akut fázis fehérje, amely a veleszületett immunrendszer egyik eleme. A szérumban szerin-proteázokkal alkotott komplex formájában található. Fontos szerepe van az exogén patogének felszínén lévő szénhidrát-mintázatok felismerésében, segíti azok fagociták általi felismerését és elpusztítását, tehát direkt opsonizáló hatása van (85).

### **1.8.1. Hatásmechanizmus**

Ha létrejön a ligand kötődés, ez aktiválja az MBL-kapcsolt szerin-proteáz 2-n keresztül a komplement kaskád lektin-útvonalát, elsősorban a C4 és C2 aktivációja által. A komplementrendszer lektin-úton történő aktiválódása antitest-független folyamat (86, 87). Az aktiváció gátlásában a C1 inhibitornak van fontos szerepe, mely az MBL-kapcsolt szerin-proteázok inaktiválásán keresztül fejt ki hatását.

Bármelyik úton is indul el a kaskád, a folyamat során a C3 aktiválódása következik be, mely a rendszer központi eleme. A komplement rendszernek szerepe van az opsonizációban, a gyulladásos reakcióban, a sejt lízisben és az immunkomplexek keringésből történő eltávolításában (88, 89).

### **1.8.2. Termelődés genetikai háttere**

Az MBL2 gén promoter régióját érintő polimorfizmusai befolyásolják az MBL biológiai hozzáférhetőségét, mivel alacsonyabb funkcionális fehérje szérumban koncentrációt hoznak létre. A csökkent MBL funkcióért 3 SNP tehető felelőssé domináns módon, mind a 10-es kromoszómán lévő MBL gén 1-es exonját érintik: R52C, rs5030737; G54D, rs1800450; G57E, rs1800451 (89). A polimorfizmusok hordozása 5 és 10 nagyságrend közötti szérumszint aktivitás csökkentést okozhat. A variáns allélt a 3 polimorfizmus esetén összefoglaló néven O-nak, míg a vad allélt A-nak szokták jelölni (90).



Az eddigi vizsgálatok eredményei alapján az alacsony MBL-szint kapcsolatba hozható az arterioszklerózis gyorsabb progressziójával (91-93). A működő allélok hiánya kapcsolatban áll a súlyos koronáriabetegséggel és/vagy a fokozott karotisz plakkképződéssel, valamint a bypass műtét utáni graft elzáródással. Ezek hátterében feltehetően az elégtelen MBL funkció által okozott elhúzódó gyulladásos folyamat áll (94-96). A restenosis kialakulása és az MBL funkciója közötti összefüggés mögötti mechanizmus eltér az ateroszklerotikus folyamatokétól. Az MBL2 gén variánsa és a karotisz endarterektómia utáni korai restenosis kapcsolatát vizsgálva Széplaki és mtsai arra a megállapításra jutottak, hogy a restenosis kialakulásának gyakorisága összefügg a magas C3-szinttel, illetve az MBL2 vad alléljának hordozásával. Megállapították továbbá, hogy az alacsony szérum C1-inhibitor szint összefüggést mutat a karotisz endarterektómia utáni korai restenosis megjelenésével az MBL2 homozigóta mutáns genotípussal rendelkezők körében (97-99).

### **1.9. VEGF (vascular endothelial growth factor, ér-endotél növekedési faktor)**

A VEGF egy szoros rokonságot mutató növekedési faktorokat magába foglaló fehérjecsald (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D és placenta növekedési faktor (PIGF)), fontos jel átvivő növekedési faktor.

A VEGF-B-nek az embrionális angiogenezisben van szerepe, a VEGF-C a limfangiogenezist szabályozza, a VEGF-D a tüdő bronchiolusait körülvevő nyirokerek kifejlődésében, a placenta növekedési faktor pedig főleg az iszkémia, gyulladás provokálta angiogenezisben játszik szerepet.

A VEGF-A-nak elsősorban az angiogenezisben és az endotél proliferáció szabályozásában van szerepe. Fokozza az endotél sejtek migrációját, osztódását, szükséges az érlumen és a fenestrációk megfelelő kialakulásához. Mindemellett kemotaktikus faktor a makrofágok és a granulociták számára, továbbá direkt

vazodilatátor hatású. Fokozza a permeabilitást, ezáltal megváltoztatja az ECM összetételét, oly módon, hogy az az angiogenezist elősegíti (100).

Szerepe van továbbá az iszkémia hatására létrejövő neovaszkularizációban, mely elsősorban a VEGF gén transzkripciójának hypoxia inducible factor (HIF-1) általi fokozódásán keresztül valósul meg. Különböző iszkémiás szövetekben mehet végbe ez a folyamat, így kiemelten fontos szerepe van miokardium iszkémiájában, a retina betegségeiben, valamint a tumor növekedésben (101, 102).

A korábbi, többnyire állatkísérletes vizsgálatok alapján felmerült a lehetősége, hogy érsérülést követően, a VEGF által szabályozott re-endothelizáció csökkenti a restenosis kialakulását. Azt feltételezték, hogy mivel a normál endothélium gátló hatást fejt ki a simaizomsejtek proliferációjára, a re-endothelizáció fokozása kivédi a restenosis kialakulását. Azonban a későbbi, erre irányuló tanulmányok nem igazolták a VEGF jótékony hatását. Ellenben azt találták, hogy a VEGF – más faktorok mellett - felelőssé tehet a fokozott neointima képződésért, és így hozzájárul a restenosis kialakulásához (103).

A VEGF-nek tehát kitüntetett szerepe van a PCI utáni endothelizáció folyamatában, mely a sebgyógyulási folyamathoz hasonlóan megy végbe, valamint közvetett hatása van a gyulladáshoz, továbbá a simaizomsejt-proliferációra. Így érthetővé válik, hogy a VEGF szerepe kettős, az endothél-stimuláló hatása szükséges az érfal integritásának visszaállításához, ugyanakkor felelőssé tehető a túlburjánzásért, végső soron hozzájárulva a neointima-hiperpláziához, mely restenosishoz vezet.

A VEGF-et kódoló gének polimorfizmusai az irodalmi adatok alapján kapcsolatba hozhatók a koronária arterioszklerózis kialakulásával (104), a plakkok neovaszkularizációjával (105) és a kollaterális hálózatok kialakulásával (106). Az előbbieken túl összefüggést mutattak ki az intima megvastagodással (107) és a trombus kialakulással, illetve a magasabb VEGF-szint kapcsolatba hozható a DES implantációt követő restenosis kialakulásával (108).

Tekintettel a fentiekre, a VEGF lehetséges terápiás célpont az ISR tekintetében. A humanizált VEGF-ellenes monoklonális antitest, a bevacizumab (Avastin) antagonizálja a VEGF angiogenezisre gyakorolt hatásait (109, 110). Ezt a mechanizmust használják ki a tumorelles terápiaiban. Az Avastint elterjedten alkalmazzák a kolorektális tumorok, bizonyos típusú metasztatizáló emlődaganatok, kissejtes tüdőrák kezelésében, az esetenként súlyos mellékhatásai ellenére folyamatosan bővül az indikációs köre (111, 112). Az Avastin gyógyszerkibocsátó stentben való alkalmazására sikeres próbálkozások történtek. Stefanadis és mtsai először állatkísérletes modellen igazolták a beültetés biztonságosságát és hatásosságát, majd klinikai kipróbálását végezték (113, 114).

### **1.9.1. Termelődés**

A VEGF szérumszintjét befolyásoló tényező a hipoxia, mely hatására egy elsősorban a HIF-1 $\alpha$  és HIF-2 $\alpha$  transzkripciós faktorok által mediált válasz jön létre. Ezen kívül bizonyos növekedési faktorok, citokinek és génpolimorfizmusok is hatással vannak a VEGF-szintre, (az interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), az interleukin-6 (IL-6), az epidermális növekedési faktor (EGF), a bázikus fibroblaszt növekedési faktor (bFGF), a transzformáló növekedési faktor  $\alpha$  és  $\beta$  (TGF $\alpha$ , TGF $\beta$ ), az inzulin-szerű növekedési faktor I (IGF-I), valamint a PDGF).

### **1.9.2. Hatásmechanizmus**

Az előbbieken részletezett ingerek hatására termelődött VEGF molekula a plazmában keringve éri el az endotél sejtek felszínén található receptorát. A VEGF-A-nak két tirozinkináz receptora van: VEGFR1 (Flt-1) és VEGFR2 (Flk-1/KDR), mindkettő 7 extracellulárisan elhelyezkedő immunglobulin-szerű (Ig) doménnel rendelkező transzmembrán protein. A VEGF-A a VEGFR1 receptorhoz nagyobb affinitással kötődik (115).

A receptor-ligand kötődés különböző intracelluláris jelátviteli mechanizmusokat indít be, melyek végeredményeként fokozódik az endotél sejtek proliferációja, migrációja, nő az

élettartamuk. A VEGF közvetve a simaizomsejtek proliferációját is fokozza (116), indirekt mechanizmussal. Érfalsérülés hatására lokális gyulladásos válasz jön létre, VEGF termelődik, melynek hatására az MCP-1 (monocita kemoattraktáns protein-1) expresszió fokozódik a média simaizomsejtjeiben, mindeközben az adventiciális angiogenezis is fokozódik. Az MCP-1 mitogenetikus stimulusa, a VEGF és más növekedési faktorok hatása együttesen tehát a simaizomsejtek fenotípus váltásához, migrációjához és ezáltal neointima képződéshez vezet (117). Mindezen hatások hozzájárulnak Bhardwaj és mtsai. eredményei alapján a karotisz stent beültetés utáni neointimális hiperplázia kialakulásához (107).

### **1.9.3. Termelődésének genetikai háttere**

A VEGF termelődés genetikailag több szinten szabályozott: transzkripció, mRNS és transzláció szinten. Az ezek hátterében álló pontos molekuláris mechanizmus még nem teljes mértékben ismert. Összefüggést találtak bizonyos génpolimorfizmusok jelenléte és a protein produkció, így szérumszint között.

A 6-os kromoszómán található VEGF-A gén G405C (rs2010963) és a C2578A (rs699947) egyedi nukleotid polimorfizmusai ismertén befolyásolják a VEGF produkcióját. Watson és mtsai (118) kimutatták, hogy a rs2010963 polimorfizmus, mely a gén promoter régióját érinti, és a VEGF fehérje szérumszintje között összefüggés van. A legintenzívebb VEGF termelődést a GG (homozigóta normál) genotípussal rendelkezők körében figyelték meg, a GC genotípussal rendelkezők, azaz a heterozigóták körében a VEGF produkció közepes mértékű volt, a CC (homozigóta variáns) genotípusúaknál pedig a legalacsonyabb. Ezek alapján tehát a variáns G allél dózisfüggő hatása valószínűsíthető. Az rs2010963 polimorfizmus többféle kórképpel hozható kapcsolatba, mint például a diabéteszes retinopátia (104) és nefropátia (119), a metabolikus szindróma (120), miokardiális infarktus (121) és rossz prognózisú krónikus szívelégtelenség (122).

A másik vizsgált polimorfizmus, az rs699947 esetében Shahbazi és mtsai (123) a veseátültetés után bekövetkező allograft rejeckcióban játszott szerepét vizsgálták. Arra a megállapításra jutottak, hogy a polimorfizmus hordozása befolyásolja a VEGF expresszióját. A polimorfizmus hordozása és a VEGF szérumszintje között más kutatócsoportok is összefüggést mutattak ki (124), illetve kapcsolatba hozható többek között a kolorektális karcinóma kialakulására való fokozott rizikóval (125).

## 2. Célkitűzések

Az MBL fehérjének szerepe van az ateroszklerotikus folyamatokban, így a plakk képződésben. Az irodalmi adatok alapján a MBL2 gén promoter régióját érintő polimorfizmusoknak hordozása összefüggést mutat a MBL szérumszintjével.

A VEGF szérumszintje és az ISR kialakulása között a korábbi irodalmi adatok alapján összefüggés van, továbbá ismert, hogy a VEGF gén egyes polimorfizmusainak szerepük van a VEGF termelődésének szabályozásában

Munkám során az MBL2 gén promoter régióját érintő polimorfizmusainak és a VEGF gén két polimorfizmusának az in-stent restenosis kialakulásban játszott szerepét kívántam megvizsgálni a Semmelweis Egyetem Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinikáján kezelt betegek körében. Ennek során:

- 1) Vizsgáltam az MBL2 gén 1-es exonját érintő polimorfizmusainak (R52C - rs5030737; G54D - rs1800450; G57E - rs1800451) gyakoriságát, illetve azok összefüggését az in-stent restenosis kialakulásával.
  
- 2) Vizsgáltam a VEGF gén G405C– rs2010963 polimorfizmusának gyakoriságát, illetve annak összefüggését az in-stent restenosis kialakulásával.
  
- 3) Vizsgáltam a VEGF gén C2578A – rs699947 polimorfizmusának gyakoriságát, illetve annak összefüggését az in-stent restenosis kialakulásával.

### **3. Módszerek**

#### **3.1. Betegek**

Vizsgálatunkba a Semmelweis Egyetem Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinikáján 2011 és 2013 között PCI-val kezelt és BMS implantáción átesett betegeket vontuk be. Gyógyszerkibocsátó stenttel (DES) kezelt betegeket nem választottuk be a vizsgálatunkba, mivel ez a fajta stent a neointima hiperplázia kivédésére került kifejlesztésre, így nem alkalmasak az ISR kialakulásában szerepet játszó genetikai faktorok vizsgálatára. A vizsgálatba csak a natív koronáriákba ültetett stentekben kialakult ISR-t elemeztük, a korábban bypass graft beültetésen (CABG műtét) átesett betegek graftjaiban kialakult ISR-t nem vettük figyelembe.

A perkután koronária intervenciók (PCI-k) a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően történtek a klinikai rutin betegellátás során. A beavatkozások során a radiális artéria volt a preferált behatolási kapu. Minden beteg legalább 100 mg aszpirint és 300 mg clopidogrelt kapott a beavatkozás előtt, vagy a beavatkozás alatt, amennyiben nem voltak fenntartó kezelés alatt. A beavatkozás során testtömeg kilogrammonként 100 egység heparint kaptak a betegek. A glikoprotein IIb/IIIa gátlók alkalmazása az invazív kardiológus döntése alapján történt. Az intervenciót követően napi 100 mg aszpirin szedése folyamatosan és napi 75 mg clopidogrel szedése legalább egy évig volt javasolt. Vizsgálatunkban a különböző gyártmányú stentek között nem tettünk különbséget.

#### **3.2. Klinikai meghatározások**

Az in-stent restenosis akkor tekintettük szignifikánsnak, ha koronarográfiával igazoltan több mint 50%-ban beszűkült az adott érszakasz átmérője. Az in-stent restenosis kategorizálását a bevezetőben ismertetett Mehran kritériumok alapján végeztük (fokális – Mehran I, diffúz Mehran II-IV).

A dohányzással kapcsolatos anamnézist akkor tekintettük pozitívnak, amennyiben a vizsgálat időpontjában aktív dohányos, vagy kevesebb, mint 1 éve szokott le.

Diabétesz mellitusz diagnózist azon betegek kaptak, akiknél vagy korábban diagnosztizált és gyógyszeresen, inzulinnal vagy diétával kezelt diabétesz állt fent, vagy a vizsgálatunk időpontjában vércukor-értékei alapján újonnan felfedezett diabétesz mellitusz lehetősége merült fel.

A hipertónia diagnózist akkor fogadtuk el, ha korábban felállított hipertónia diagnózis alapján gyógyszeres kezelést kapott.

Hiperlipidémiásnak akkor tekintettük a beteget, ha lipidszint-csökkentő gyógyszert szed, vagy ha az aktuális laborleletében hiperlipidémia igazolódott.

A BMI-t a szokásos módon a testtömegből és testmagasságból számítottuk, túlsúlyosnak tekintettük a beteget, ha 25-nél nagyobb értéket kaptunk.

### **3.2. Mintavétel, tárolás, DNS izolálás**

A páciensektől vérmintát vettünk laboratóriumi vizsgálatok és genotipizálás céljából vagy még a kórházi bennfekvés ideje alatt, vagy a kontroll ambuláns vizsgálat során. Az EDTA-s csövekben lévő vérmintákat -80 Celsius fokon fagyasztva tároltuk.

A DNS-t a Qiagen FlexiGen DNS kittel (Qiagen, Hilden, Németország) izoláltuk teljes perifériás vérből proteáz emésztéses módszerrel. A fagyasztott vérmintákat 37 fokos vízfürdőben felmelegítettük, majd az izoláláshoz használandó csövekbe mértük. Hozzáadva a Qiagen lízis puffert, a sejtmagok és mitokondriumok az oldat centrifugálásával kicsapódnak. A csapadékot újra feloldva és a Qiagen proteázzal inkubálva végbemegy a denaturálódás, ezáltal eltávolíthatóak a szennyeződések, fehérjék. Ezt izopropanolos, majd 70%-os alkoholos mosás és szárítás követte. Egy újabb pufferrel visszaoldva hozzájutottunk a tiszta DNS-hez.

A mintákban lévő DNS-koncentrációt a NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, Wilmington, USA) készülékkel mértük meg 1 µl minta felhasználásával. UV/VIS spektrofotometriás módszer használatával a DNS (A260) és a fehérje (A280)



koncentrációt határoztuk meg. A mérések során a minták DNS koncentrációja 40-200 ng/μl között változott. Ez egyben minőségellenőrzést is jelentett a készülék által végzett A260/A280 arány értékelése alapján.

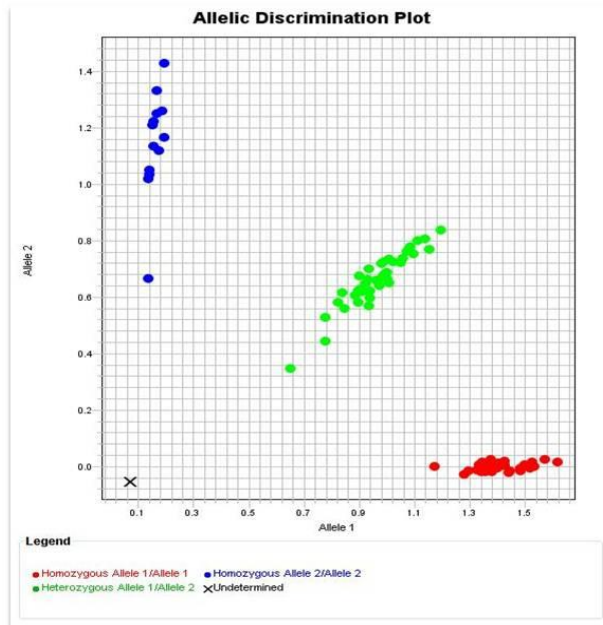
### **3.2.1. Genotipizálás**

A polimeráz láncreakció lehetővé teszi a DNS egy részletének amplifikálását. Az adott részletet, mely lehet egy gén vagy génrészlet, a primerek jelölik ki a szakasz elejéhez és végéhez csatlakozva. A primerek mesterséges DNS-szálak, melyek bázissorrendje komplementer a kötődési helyükével.

A reakció három lépésben zajlik: denaturálás, kapcsolódás, meghosszabbítás. A hevítés során a DNS-szálak szétválnak, ez lehetővé teszi a következő lépésben a primerek kapcsolódását, majd a polimeráz hatására szintetizálódik az új szál. A folyamat különböző lépései eltérő hőmérsékleten mennek végbe.

A méréseket 96 lyukú plate-eken végeztük, minden esetben alkalmaztunk pozitív kontrollt (olyan minta, amely tudottan homozigóta valamelyik allélra, vagy heterozigóta), és negatív kontrollt (olyan minta, amely DNS-t nem tartalmaz).

A genotipizálást a fenotípus információk ismerete nélkül végeztük az adott készülékhez biztosított szoftverrel. A genotipizálás során háromféle genotípust kaphatunk eredményként: 1-es allélra homozigóta, tehát amely csak 1-es alléllal rendelkezik, 2-es allélra homozigóta, valamint heterozigóta, mely tehát mindkét allélt tartalmazza. A genotípus-eloszlást az allél diszkriminációs plot demonstrálja (4. ábra).



4. ábra: A PCR eredményeképpen létrejött allél diszkriminációs plot diagram. Piros: 1-es allélra homozigóta, zöld: heterozigóta, kék: 2-es allélra homozigóta, X: nem meghatározható. Forrás: a szerző saját eredménye

Az MBL polimorfizmusai esetén az MBL2 gén alábbi kodonokon levő polimorfizmusait határoztuk meg: R52C, rs5030737; G54D, rs1800450; G57E, rs1800451, LightCycler (Roche GmbH, Penzberg, Németország) real-time PCR-rel (RT-PCR). A felhasznált primerek rendre (forward, reverse): 5'-GCA-AAG-ATG-GGC-GTG-ATGA-3', 3'-GGG-CTG-GCA-AGA-CAA-CTA-TTA-5'; 5'-AGT-CGA-CCC-AGA-TTG-TAG-GAC-AGAG-3', 3'-ACC-TGG-TTC-CCC-CTT-TTC-TT-5', 5'-AGT-CGA-CCC-AGA-TTG-TAG-GAC-AGAG-3', 3'-CTC-CCT-TGG-TGC-CAT-CACA-5' voltak.

A PCR mix 1  $\mu$ L DNS, 5  $\mu$ M primert és próbát, 1  $\mu$ L LightCycler FastStart DNA Master HybProbe kit-et (Roche GmbH, Penzberg, Németország), és 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>-ot tartalmazott. A folyamat során az alábbi protokollt követtük: 10 perc denaturáció 95 °C-on, majd 35 ciklust futtatunk az alábbiak szerint: 95 °C - 10 másodperc, 52–56–60 °C - 15 másodperc, 72 °C - 10 másodperc. Az MBL polimorfizmusok tekintetében a variáns allélt mindhárom polimorfizmus esetén összefoglaló néven O-nak, míg a vad allélt A-nak jelöltük.

A VEGF gén C2578A (rs699947) polimorfizmusának meghatározásához a genotipizálást a Step One Plus (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornia, USA) RT-PCR végeztük. A mérésekhez az Applied Biosystems (kit azonosító: c\_\_8311602\_10) primereit használtuk (primerek: 5'-GGA-TGG-GGC-TGA-CTA-GGT-AAG-C-3' és 5'-AGC-CCC-CTT-TTC-CTC-CAA-C-3'). A gyártó által meghatározott protokollt követtük: 40 ciklust futtattunk: 10 perc 95°C-on, denaturálás: 15 másodperc 92°C-on, 60 másodperc 60°C-on.

A VEGF másik G405C (rs2010963) polimorfizmusának meghatározásához a genotipizálást a LightCycler (Roche GmbH, Penzberg, Németország) RT-PCR-rel végeztük. A felhasznált primerek: 5'-CCAGAAACCTGAAATGAAGG-3' és 5'-GGGCTCGGTGATTAGC-3' voltak. A protokoll megegyezett a rs699947 polimorfizmusnál írottakkal.

### **3.2.2. Statisztika**

Az adatok gyűjtéséhez Microsoft Excel 2003 (Microsoft, Redmond, Washington, USA) programot, a statisztikai számításokhoz a PASW Statistics 18 (SPSS, Chicago, Illinois, USA) programot használtuk. A folytonos változókat átlag  $\pm$  szórás (SD) formában adtuk meg. A kategorikus változókat abszolút szám és százalék szerint tüntettük fel. Mivel relative magas volt az elemzéseink során vizsgált elemszám, így a centrális határeloszlás tétele alapján a folyamatos változókat parametrikus teszttel (t-teszt) hasonlítottuk össze. A diszkrét változók esetén Khi-négyzet tesztet végeztük.

Az in-stent restenosis kialakulásában szerepet játszó faktorok egymástól való függetlenségének vizsgálatára multivariáns logisztikus regressziót végeztünk, mely úgy mutatja meg két változó kapcsolatát, hogy egyben az egyik változó (függő változó) a másik változótól (független változó) való függésének mértékét is kifejezi. A regresszióban használt modellt a Hosmer Lemeshow teszt használatával értékeltük. A különböző genotípusok eltérését a Hardy–Weinberg egyensúlytól khi-négyzet próbával vizsgáltuk. A különbséget akkor tekintettük szignifikánsnak, ha p értéke kisebb volt mint 0,05.

## 4. Eredmények

### 4.1. Betegek klinikai jellemzői

Mindösszesen 225, korábban már PCI-n és BMS stent beültetésen átesett beteg került beválasztásra vizsgálatunkba 2011 és 2013 között a Semmelweis Egyetem Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinikáján. Az angiográfiás eredmények alapján diffúz in-stent restenosis (továbbiakban ISR csoport) és kontroll csoportba soroltuk őket. Az ISR csoportba 117 beteg került, akiknek a rekoronarográfián szignifikáns, diffúz ISR ábrázolódt, tehát a léziók Mehran II-IV csoportba voltak sorolhatók. A kontroll csoportba 108 fő került, akiknek a kontroll angiográfián nem vagy csak fokális (Mehran I) restenosis ábrázolódt a korábban beültetett BMS-ben.

Az átlagos utánkövetési idő  $2,7 (\pm 2,5)$  év volt a kontroll csoportban, míg az ISR csoportban ez  $1,0 (\pm 1,4)$  év volt ( $p < 0,0001$ ). A két csoport közötti szignifikáns különbség abból adódik, hogy a restenosis csoportban a visszaszűkülés hamarabb bekövetkezett, és így hamarabb okozott klinikai panaszokat. Ezzel szemben a kontroll csoportban hosszabb panaszmentes időszakot követően végeztek csak rekoronarográfiát (de novo szűkület kialakulása vagy egyéb panasz miatt). A kontroll csoportban tehát hosszabb az utánkövetési idő, mely igazolta, hogy még ennyi idővel a stent beültetés után sem alakult ki szignifikáns, diffúz restenosis az adott stentben.

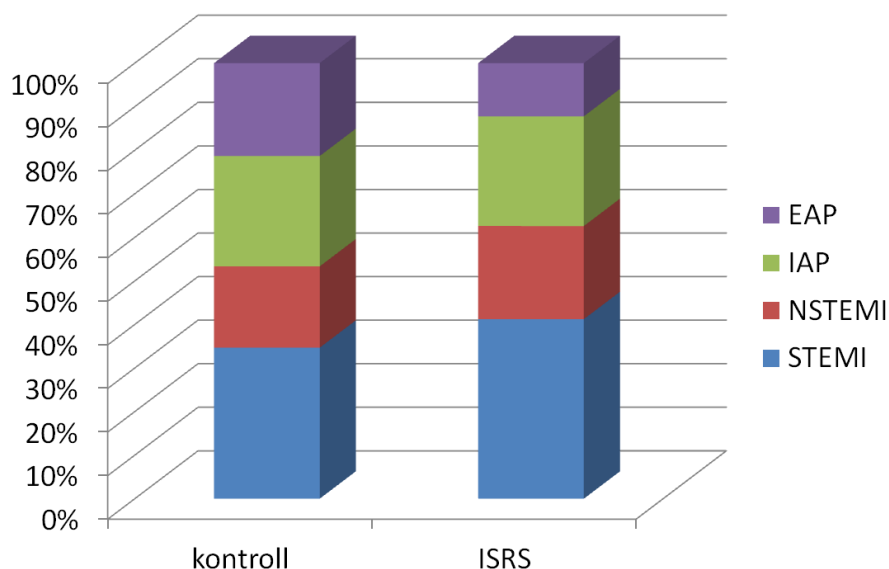
A két csoportban betegeink átlagos életkora (kontroll:  $66,4 \pm 10,8$  vs. ISR:  $65,7 \pm 9,9$ ;  $p=0,632$ ), és nemek szerinti megoszlása (kontroll: 76,9% férfi vs. ISR: 70,9% férfi,  $p=0,314$ ) sem különbözött szignifikánsan.

A vizsgált hajlamosító tényezők és kardiovaszkuláris rizikó tényezők, úgymint hipertónia, hiperlipidémia, diabétesz mellitusz, túlsúly, több stentelt ág, stent hossz megoszlásának tekintetében a kontroll és a restenosis csoport nem különbözött jelentősen (2. táblázat).

Betegeink körülbelül harmada (78 beteg, 34,7%) szenved diabétesz mellituszban, zömében kettes típusúban. A betegek csupán 6%-a nem volt hipertóniás vagy nem

kezelték antihipertenzív szerekkel és mintegy 9%-ukat nem kezelték lipid csökkentő szerekkel és rendelkeztek normális tartományban levő lipid paraméterekkel. A betegek 74%-ában mértünk 25-nél magasabb BMI-t, az obez betegek aránya mindkét csoportban közel 70%-os volt. A dohányzásra vonatkozó adatok alapján a dohányzók aránya nem különbözött a két csoportban.

A vizsgálat populációjában multiplex érbetegség összesen 49 esetben (24,1%) fordult elő, ebből 32 (11,3%) esetben stroke vagy TIA, 34 (15,2%) esetben perifériás érbetegség szerepelt a koronáriabetegség mellett az anamnézisben, a két csoport nem különbözött szignifikánsan.

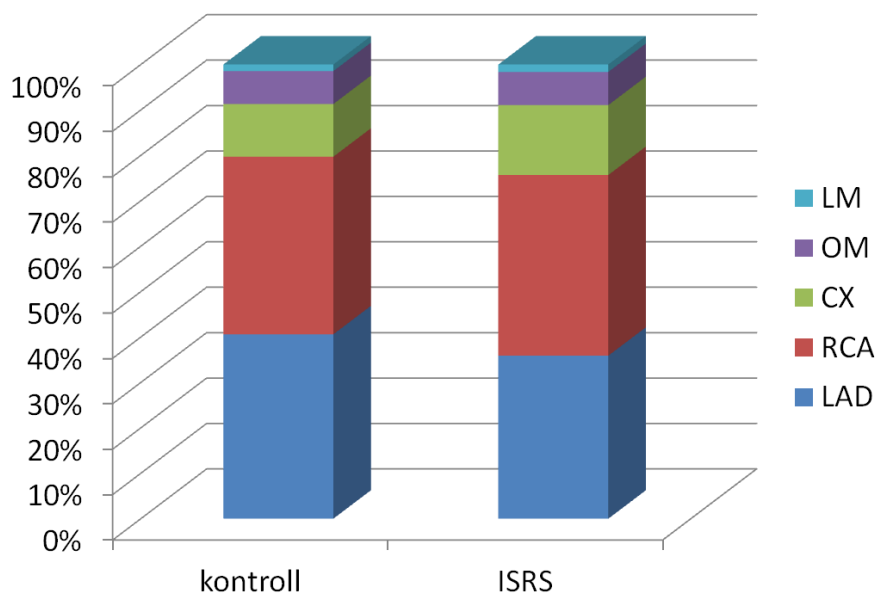


5. ábra. PCI indikációk megoszlása a kontroll és a restenosis csoportban. EAP – Effort angina pectoris, IAP- Instabil angina pectoris, NSTEMI – nem ST elevációs miokardiális infarktus, STEMI – ST elevációs miokardiális infarktus

A PCI-t indokló klinikai diagnózis szintén nem különbözött szignifikánsan: akut koronária betegség (STEMI vagy NSTEM) volt az indikáció a kontroll csoport 57%-ban, míg ugyanez 57,3% volt az ISR csoportban (5. ábra).

Veseelégtelenség csupán 11 betegnél fordult elő, mindössze 6 betegnél állt fenn kardiogén sokk a PCI során.

A beültetett stentek összesített száma szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll csoportban (1,37 ( $\pm 0,54$ ) vs. 1,69 ( $\pm 1,04$ ) ( $p=0,005$ ). Összesen 29 betegen (13%) végeztek több ágat érintő beavatkozást az első intervenció alkalmával, 10 (9,4%) a kontroll csoportban és 19 (16,2%) az ISR csoportban ( $p=0,131$ ). A kontroll csoportban a stentelt ág szerinti eloszlás a következő volt: 11,6% CX, 40,6% LAD, 39,1% RCA, 1,45% LM, 7,25% OM. Az ISR csoportban: 15,4% CX, 35,8% LAD, 39,8% RCA, 1,63% LM, 7,3% OM. A két csoport nem különbözött szignifikánsan egymástól (6. ábra).



6. ábra Stentelésben érintett koronária ágak megoszlása a kontroll és a restenosis (ISRS) csoportban. LM – Bal főtrzs, OM – obtuse marginalis, CX – circumflex, RCA – jobb koronária, LAD – left anterior artery

Az átlagos stent hossz 30,7 mm ( $\pm 20,7$ ) volt a kontroll csoportban és 38,9 mm ( $\pm 25,5$ ) volt az ISR csoportban ( $p=0,119$ ), a stentek hossza 8 és 64 mm között változott.

2. táblázat Az ISR kialakulására hajlamosító tényezők megoszlása a kontroll és az ISR csoportban. Az adatok átlag (SD) és n (%) formában vannak feltüntetve.

	<b>Kontrol csoport (n=108)</b>	<b>ISR csoport (n=117)</b>	<b>p</b>
<b>Kor (SD)</b>	66,4 (±10,8)	65,7 (±9,9)	0,632
<b>Nem, férfi (%)</b>	83 (76,9%)	83 (70,9%)	0,314
<b>Anti-hipertenzív terápia (%)</b>	104 (96,3%)	108 (92,2%)	0,200
<b>Lipid-csökkentő terápia (%)</b>	98 (90,7%)	107 (91,5%)	0,851
<b>Perifériás érbetegség</b>	14 (13%)	20 (17,1%)	0,396
<b>Diabétesz mellitusz (%)</b>	39 (36,1%)	39 (33,3%)	0,662
<b>Túlsúly - BMI &gt; 25 (%)</b>	76 (70,4%)	91 (78,4%)	0,165
<b>Dohányzás (%)</b>	32 (47,1%)	36 (52,9%)	0,927
<b>Krónikus veseelégtelenség (%)</b>	8 (7,0%)	3 (2,9%)	0,123
<b>Több ér betegség (%)</b>	10 (9,4%)	19 (16,2%)	0,131
<b>Akut koronária betegség (%)</b>	61 (57%)	67 (57,3%)	0,969
<b>Stent átmérő, mm (SD)</b>	3,1 (±0,4)	3,2 (±2,6)	0,614
<b>Össz stent hossz, mm (SD)</b>	30,7 (±20,7)	38,9 (±25,5)	0,119
<b>Össz stent szám (SD)</b>	1,37 (±0,54)	1,69 (±1,0)	0,005
<b>Ejekciós frakció % (SD)</b>	52,5 (±11,2)	52,8 (±10,0)	0,864
<b>Utánkövetési idő (SD)</b>	2,7 (±2,5)	1,0 (±1,4)	<0,001

Az ISR csoportban a rekonarográfia vonatkozó adatok: 50 esetben (42,7%) alkalmaztak POBA-t (egyszerű ballonos tágítás), 12 esetben (10,2%) újabb BMS beültetés történt, 47 (40,2%) esetben DES, 3 betegnél (2,5%) DEB, 5 esetben (4,3%) CABG műtét volt szükséges.

## 4.2. Az MBL2 polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában

### 4.2.1. Genotípus megoszlás és statisztikai analízis

Az allél frekvencia hasonló volt a két nem között a vizsgált polimorfizmus esetében (67,7/31,1/1,2 a férfiakban és 67,2/35,6/1,7 a nőkben,  $p=0,778$ ). A genotípus nem tért el szignifikánsan a Hardy–Weinberg ekvilibrumtól ( $p = 0,08$ ). Az MBL variáns genotípus aránya (A/O + O/O) 26,8% volt (29 vs. 79 homozigóta normál) a kontroll csoportban és 39,3% (46 vs. 71 homozigóta normál az ISR csoportban (OR: 1,784,  $p=0,04$ ) (3. táblázat).

3. táblázat. MBL genotípus megoszlása a kontroll és a restenosis csoportban, Khi négyzet. Az adatok n (%) formában vannak feltüntetve. MBL – Mannóz-kötő lektin, ISR – in-stent restenosis

<b>MBL Genotípus</b>	<b>Kontroll csoport n=108 (%)</b>	<b>ISR csoport n=117 (%)</b>	<b>p</b>
<b>Homozigóta normál (A/A hordozók)</b>	79 (73,1%)	71 (60,6%)	0,04
<b>Variáns genotípus (A/O + O/O hordozók)</b>	29 (26,8%)	46 (39,3%)	

Egyváltozós elemzés alapján az MBL variáns genotípus A/O + O/O) (OR: 1,784,  $p=0,04$ ) és az össz stent szám (OR: 0,519,  $p=0,005$ ) illetve az utánkövetési idő különbözött szignifikánsan a kontroll és az in-stent restenosis csoportokban A diffúz in-stent restenosisban szerepet játszó tényezők szerepének tisztázására többváltozós elemzést



végeztünk olyan modell szerint, melybe az irodalmi adatok alapján ismert rizikótényezőket alkalmaztuk, függetlenül attól, hogy vizsgáltunk során egyváltozós elemzés során szignifikáns különbséget találtunk-e a két csoport között. Ennek megfelelően a logisztikus regressziót az alábbi faktorokkal végeztük: kor, nem, BMI, hipertónia vagy antihipertenzív kezelés, diszlipidémia vagy lipid csökkentő terápia, diabétesz mellitusz, dohányzás, akut koronária betegség, össz stent szám és MBL genotípus. A regressziós analízis eredményeképpen az MBL variáns genotípus (OR: 1,95; p=0,03), a BMI (OR: 1,08; p=0,03) és az össz stent szám (OR: 1,64; p=0,01) bizonyult független rizikófaktorok a diffúz in-stent restenosis kialakulásában (4. táblázat).

4. táblázat – Multivariáns logisztikus regresszió eredménye az irodalomból ismert rizikófaktorok és az MBL variáns genotípus (A/O + O/O) tekintetében. Hosmer Lemeshow teszt  $p=0,477$ . OR – odds-ratio (esélyhányados), C.I. – confidence interval, BMI – body mass index, MBL – mannóz-kötő lektin

Faktor	OR	C.I.		p
		Alsó	Felső	
Nem (férfi)	1,235	0,632	2,413	0,54
Kor	0,997	0,969	1,027	0,86
Hipertónia vagy anti-hipertenzív kezelés	0,388	0,092	1,640	0,20
Diszlipidémia vagy lipid csökkentő terápia	0,906	0,304	2,697	0,86
BMI	1,085	1,007	1,170	0,03
Dohányzás	1,207	0,528	2,763	0,65
Diabétesz mellitusz	0,798	0,431	1,478	0,47
MBL variáns genotípus	1,956	1,055	3,626	0,03
Össz stent szám	1,648	1,126	2,413	0,01
Akut koronária betegség	1,185	0,653	2,149	0,58

### **4.3. A VEGF polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában**

A genotipizálás során az MBL polimorfizmus esetén 225 személy esetén végeztünk sikeres méréseket, míg az VEGF polimorfizmusainak (rs2010963 és rs699947) vizsgálata során a genotipizálást 205 személy esetén végeztük el sikeresen.

#### **4.3.1. Genotípus megoszlás és statisztikai analízis**

Az allél frekvencia hasonló volt a két nem között mindkét polimorfizmus esetében (rs2010963: 50,1/41,7/9,3 férfiakban és 40,7/50/9,3 nőkben, (G/G, G/C, C/C)  $p=0,454$ ; rs699947: 25,5/48,3/ 26,2 férfiakban és 15,4/48,1/36,5 nőkben, (A/A, A/C, C/C)  $p=0,09$ ). A genotípus egyik polimorfizmus esetén sem tért el szignifikánsan a Hardy–Weinberg ekvilibrumtól ( $p = 0,45$  és  $p = 0,65$ ).

Megvizsgáltuk a genotípusok eloszlását a restenosis nélküli, a csak fokális restenosisal rendelkező és a diffúz in-stent restenosisal rendelkező betegek körében (5. táblázat).

5. táblázat. Az rs2010963 és a rs699947 polimorfizmus genotípus eloszlása a restenosis nélküli, a csak fokális restenosisal rendelkező és a diffúz in-stent restenosisal rendelkező betegek között, Khi-négyzet. Az adatok n (%) formában vannak feltüntetve.

<b>Polimorfizmus</b>	<b>Genotípus</b>	<b>Nincs ISR n (%)</b>	<b>Csak fokális ISR n (%)</b>	<b>Diffúz ISR n (%)</b>	<b>p</b>
<b>rs2010963</b>	<b>Homozigóta normál (G/G hordozó)</b>	28 (40,0%)	13 (43,3%)	58 (55,2%)	0,119
	<b>Variáns genotípus (G/C + C/C hordozó)</b>	42 (60,0%)	17 (56,7%)	47 (44,8%)	
<b>rs699947</b>	<b>Homozigóta normál (A/A hordozó)</b>	13 (18,6%)	8 (26,7%)	28 (26,7%)	0,436
	<b>Variáns genotípus (A/C + C/C hordozó)</b>	57 (81,4%)	22 (73,3%)	77 (73,3%)	

A 3 csoport között nem volt kimutatható, statisztikailag jelentős különbség. A további elemzések céljából a bevezetőben írottak szerint az MBL polimorfizmus vizsgálatához hasonlóan összevontuk a fokális restenosisal (Mehran I) és a restenosisal nem rendelkező csoportokat és az így kialakult kontroll csoport értékeit hasonlítottuk össze a diffúz restenosisal rendelkező csoportéval (ISR csoport). A két csoportban vizsgálva a genotípusok eloszlását az rs2010963 polimorfizmus esetén diffúz ISR szignifikánsan ritkábban fordult elő a G/C + C/C (variáns) genotípus esetén, mint homozigóta normál (G/G) genotípus esetén. (OR 0,56; p=0,04). A genotípusok között nem volt szignifikáns különbség a vizsgált csoportokban az rs699947 polimorfizmus esetén (6. táblázat)

6. táblázat – Az rs2010963 és a rs699947 polimorfizmus genotípus eloszlása a kontroll (restenosis nélküli + fokális ISR) és (diffúz) ISR csoportok között, Khi-négyzet. Az adatok (%) formában vannak feltüntetve.

<b>Polimorfizmus</b>	<b>Genotípus</b>	<b>Kontroll csoport n (%)</b>	<b>ISR csoport n (%)</b>	<b>p</b>
<b>rs2010963</b>	Homozigóta normál (G/G)	41 (41,0%)	58 (55,2%)	0,041
	Variáns genotípus (G/C + C/C)	59 (59,0%)	47 (44,8%)	
<b>rs699947</b>	Homozigóta normál (A/A)	21 (21,0%)	28 (26,7%)	0,342
	Variáns genotípus (A/C + C/C)	79 (79,0%)	77 (73,7%)	

A diffúz in-stent restenosisban szerepet játszó tényezők függetlenségének vizsgálatához többváltozós elemzést végeztünk azokkal a faktorokkal, melyek estén az egyváltozós elemzések során a két csoport közötti különbség p értéke 0,3 vagy annál kisebb volt (2. táblázat). A modellbe az alábbi faktorok kerültek be: obezitás, hipertónia vagy antihipertenzív kezelés, dohányzás, krónikus veseelégtelenség, utánkövetési idő, több ág stentelés, össz stent szám, össz stent hossz. A multivariáns logisztikus regresszió eredménye szerint a rs2010963 homozigóta normál genotípusa független rizikófaktor a diffúz ISR kialakulásának tekintetében (126) (7. táblázat). A VEGF gén rs699947 polimorfizmusa nem mutatott összefüggést a diffúz ISR kialakulásával.

7. táblázat – Multivariáns logisztikus regresszió eredménye rizikófaktorok és a VEGF rs2010963 polimorfizmus esetében. Hosmer Lemeshow teszt  $p=0,139$ . OR – odds-ratio (esélyhányados), C.I. – confidence interval, BMI – body mass index, VEGF – vascular endothelial growth factor

Faktor	OR	C.I.		p
		Alsó	Felső	
Hipertónia vagy antihipertenzív kezelés	0,450	0,043	4,692	0,503
Obezitás (BMI<25)	1,050	0,906	1,235	0,478
Dohányzás	0,493	0,088	2,757	0,420
Krónikus veseelégtelenség	0,754	0,034	16,807	0,859
Több ág stentelés	0,982	0,217	14,368	0,596
Össz stent szám	1,441	0,421	4,939	0,561
Utánkövetési idő	0,226	0,756	0,413	0,004
Össz stent hossz	1,002	0,958	1,049	0,992
VEGF rs2010963 polimorfizmus	0,754	0,034	0,535	0,003

## 5. Megbeszélés

### 5.1. Az MBL polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában

Nem randomizált vizsgálatunk eredményei alapján az MBL variáns genotípus (A/O + O/O) független, önálló rizikófaktor a diffúz in-stent restenosis kialakulásának tekintetében (127). A polimorfizmust hordozó betegekben koronária PCI és BMS implantációját követően nagyobb eséllyel alakul ki diffúz in-stent restenosis, mint azokban a személyekben, akik nem hordozzák a polimorfizmust (A/A genotípus).

A klinikai tapasztalat azt mutatja, hogy az alacsonyabb funkcionáló MBL-szint fogékonyra teszi az egyént különböző, elsősorban légúti fertőzésekre, illetve szerepet játszhat egyes autoimmun folyamatokban (128, 129). A csökkent MBL-szint, az MBL-deficiencia szerepét számos más, nem fertőzőes eredetű kórképben is feltételezik. Ilyenek például a szisztémás lupusz eritematózus (130), a 2-es típusú diabétesz mellitusz (131), a cisztás fibrózis (132), a korai kezdetű reumatoid artritisz (133), a Crohn betegség (134), az afro-amerikai populációban a vastagbélrák (135). A magasabb plazmaszint is káros lehet, összefüggésbe hozták többek között a szklerózis multiplexszel (136).

Rendelkezésre állnak irodalmi adatok, melyek szerint az MBL csökkent szérumszintje kapcsolatban van az érlemezésedés (93) és a koronária plakkok kialakulásával, mely kapcsolat többféleképpen magyarázható. Több kutatás bizonyította a krónikus Chlamydia pneumoniae fertőzés és a koronáriákat érintő érlemezésedés kapcsolatát (91, 92, 137). Ezen eredmények alapján feltételezhetjük, hogy az MBL csökkent szérumszintje összefüggést mutat a Chlamydia fertőzésre adott immunválasz minőségével, intenzitásával.

Az MBL és a diffúz restenosis gyakorisága közötti összefüggés több módon magyarázható. Egyrészt az érfalsérülés után létrejövő endotél gyógyulási folyamat során a gyulladásos reakciót befolyásolhatja, másrészt pedig az arterioszklerózis

progressziójára gyakorolt hatása révén - a neointima hiperpláziától függetlenül - hozzájárulhat a lumen újra beszűküléséhez.

Széplaki és mtsai. műtéti karotisz endarterektómiát követő restenosis kialakulásának gyakoriságának és komplement rendszer különböző elemeinek kapcsolatát vizsgálták (97-99). Vizsgálataik során az MBL2 variáns alléja hordozása védőfaktornak mutatkozott, a homozigóta normál genotípust találták összefüggésben a nagyobb karotisz restenosis gyakorisággal. Vizsgálatuk alapján a restenosis kialakulása a MBL2 homozigóta normál genotípussal rendelkező személyek magasabb C3 szintjével áll kapcsolatban. Ezzel szemben más vizsgálatok a variáns allél hordozásának összefüggését bizonyították az ateroszklerotikus folyamatokkal (93, 95), illetve a mi eredményeink szerint is a variáns allél hordozása jelent fokozott rizikót az in-stent restenosis kialakulásának tekintetében. A koronária in-stent restenosis és a karotisz endarterektómiát követő restenosis kialakulásában a polimorfizmus tehát eltérő szerepet játszhat, ennek oka az érfalsérülés eltérő jellegéből (perkután stent beültetés vs. műtéti endarterektómia), az eltérő patofiziológiai háttérből fakadhat. Ezen eredmények alapján az MBL, illetve a gén polimorfizmusai elősegíthetik vagy gátolhatják a különböző patológias reakciók kialakulását az érfalban. Ez az érzékeny szabályozó rendszer, illetve annak apró változásai előnyt, illetve hátrányt jelenthetnek a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásában és lefolyásában.

## **5.2. A VEGF polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában**

Vizsgálataink alapján a VEGF rs2010963 polimorfizmusának hordozása összefügg a BMS beültetését követő diffúz koronária in-stent restenosis kialakulásával, mely összefüggés az egyéb klinikai rizikófaktoroktól függetlenül is fennáll (126). A vizsgálatunkban szereplő másik VEGF polimorfizmus (rs699947) esetén ilyen összefüggés nem volt kimutatható.



A koronáriákban a PCI-t követő folyamatok hasonlóak az egyéb sebgyógyulási folyamatokhoz. A VEGF-nek fontos szerepe van az endotelizációban és indirekt módon a gyulladással kapcsolatos kaszkádra, illetve a VSMC proliferációra és migrációra is hatással van (138). A VEGF-nek így alapvető szerepe van az érfal integritásának helyreállításában, de szerepe lehet a restenosis kialakulásában is a neointima hiperplázián keresztül (139). A VEGF termelődését vagy hatását befolyásoló genetikai polimorfizmusoknak jelentős következménye lehet. A VEGF promoter régiót érintő polimorfizmusai és a szérumszint változása között több irodalmi adat alapján összefüggés áll fenn (118, 124). Jelen dolgozatban vizsgált mindkét polimorfizmus, a rs699947 és a rs2010963 egyaránt a gén promoter régiójában (5'UTR) található, így hatással vannak a transzkripcióra és ezen keresztül a fehérje szérumszintjére. Az rs2010963 (+405C>G) esetén ismert, hogy GG (homozigóta normál) genotípusú személyek esetén magasabb szérumszintű VEGF mérhető, mint az egyéb genotípusú személyekben (118).

Az általunk vizsgált rs201096 polimorfizmus esetében a normál homozigóta genotípus nagyobb restenosis gyakorisággal jár. Ennek feltételezhetően az állhat a háttérben, hogy a polimorfizmus hordozása alacsonyabb szérumszintet eredményez, így a VEGF hatásai a neointima képződésre kevésbé érvényesülhetnek.

Az rs699947 polimorfizmus kapcsolata a koronária arterioszklerózissal az irodalomból ismert (140), ám Osadnik és mtsai. megvizsgálták a polimorfizmus szerepét a szignifikáns ISR kialakulásában (141). Vizsgálataik alapján nem volt kimutatható összefüggés az ISR és a polimorfizmus között. A mi vizsgálatunkban különbséget tettünk a diffúz és fokális in stent restenosis között, mivel a két restenosis csoport háttérben a bevezetőben írottak értelmében eltérő mechanizmus feltételezhető. Az eltérő csoportosítás ellenére mi sem találtunk összefüggést a diffúz ISR kialakulása és a polimorfizmus hordozása között.

Az rs2010963 SNP egyes vizsgálatokban összefüggést mutat a koronária arterioszklerózis kialakulásával (142), míg más eredmények szerint nem igazolható ez a kapcsolat (140). Érdekes módon – hasonlóan a mi eredményeinknél tapasztaltakhoz - míg Nagy és mtsai. eredménye alapján (143) a rs2010963 polimorfizmus összefüggésben

hozható a HELPP szindróma (Hemolysis Elevated Liver enzymes Low Platelet) kialakulásával, addig a rs699947 polimorfizmus esetén ilyen kapcsolat nem igazolódott. Egy másik vizsgálatban Merlo és mtsai. (144) szignifikáns összefüggést mutattak ki a VEGF szérumszintje és a rs2010963 között, de a karotisz intima-média vastagsággal nem volt igazolható kapcsolatban a polimorfizmus.

A mi vizsgálatunkban a VEGF rs2010963 polimorfizmusa és a diffúz in-stent restenosis kialakulása között összefüggést mutattunk ki. Ez a kapcsolat független volt több klinikai faktortól, többek között a magasvérnyomás betegségtől. Ennek jelentőségét az adja, hogy az rs2010963 polimorfizmus független tényezőnek bizonyult korábbi vizsgálatokban a magasvérnyomás kialakulásában (145), illetve a magasvérnyomás is önálló faktor a restenosis kialakulásában.

Fontos megjegyezni, hogy a bár mindkét vizsgálat SNP a VEGF gén promoter régiójában található és hatással lehet a transzkripcióra, vizsgálatunkban csak a rs2010963 mutatott kapcsolatot a diffúz ISR kialakulásával. Ez azzal magyarázható, hogy a VEGF gén igen polimorf, így nem feltétlenül az egyes SNP-k hatnak a VEGF termelésére, inkább több SNP együttes hatása mutatható ki (haplotípus). Az azonos haplotípushoz tartozó SNP-k (melyek ún. linkage disequilibriumban vannak) lehetnek a valós, hatásos variánsok. Ezen rizikót jelentő haplotípus pontosítása további vizsgálatokat igényel.

### **5.3. „A legjobb terápia a megelőzés”<sup>(146)</sup>**

A megfelelő terápia megválasztásánál is égetőbb kérdés a megelőzés mikéntje. Állandó törekvés, hogy az in-stent restenosis kivédésére megfelelő stratégia álljon rendelkezésre. A DES-ek elterjedése jelentősen csökkentette ugyan a restenosis előfordulását, ám nem védi ki teljesen. Emiatt, és korábban említett hátrányai miatt (fokozott stent-trombózis veszély, hosszan tartó kettős trombocita aggregáció-gátló terápia), nem jelent minden esetben megfelelő megoldást a problémára. A gyógyszerkibocsátó ballonok (drug eluting ballon, DEB) használata esetén a gyógyszert közvetlenül a hatás helyére, a célsejtekhez juttatják. Ezzel igyekeznek elérni azt, hogy a simaizomsejtek és az ECM proliferációjának gátlása mellett az endotél gyógyulási folyamata, a stent

endotelizációjának folyamata ne húzódjon el. Az egyik legmodernebb megközelítés napjainkban a biológiailag lebontható stentek használata, melyek lényege, hogy olyan anyagból készülnek, ami a szervezetben bizonyos idő után lebomlik, feloldódik, így a lumen átjárhatóságának biztosítása, majd az érfal gyógyulási folyamatának befejeződése után intakt érszakaszt hagy maga után. Kiküszöböli ezáltal a DES azon hátrányait, miszerint a későbbiekben esetlegesen szükségessé váló sebészeti beavatkozást, valamint a képalkotó eljárásokat (CT, MR) akadályozza. Továbbá nem lesz a szervezetben hosszútávon testidegen anyag, csökken a késői stent-trombózis kockázata (147, 148).

A restenosis megelőzése nem a stent beültetés után kezdődik, hanem már az intervenció eljárás alatt, sőt még annál is korábban. Hiszen minél előbb ismerjük fel a koronária betegséget, annál kisebb a valószínűsége, hogy a beavatkozás időpontjában az angiográfiás képen olyan léziót látunk, melynek stentelése fokozott restenosis aránnyal jár (például totális okklúzió, hosszú szakaszú stenosis).

Leszámítva az eljárásból adódó tényezőket, a restenosisra hajlamosító faktorok részben megegyeznek az arterioszklerózis rizikófaktoraival. Ám mégis, a közel azonos rizikófaktorokkal rendelkező betegek között az in-stent restenosis kialakulásának gyakorisága eltér. Ez olyan differencia, amely nem magyarázható csupán az életmódbeli vagy gyógyszereszedésbeli különbségekkel. A genetikai háttér szerepe már több mint 15 évvel ezelőtt felvetődött, és ma is intenzív kutatás tárgyát képezi.

Az eddig vizsgált génpolimorfizmusok közül az eNOS (54, 55), HO-1 (70) (71),  $\alpha$ -ER, MMP3 (60, 61) és az IL-1RA (40) esetében bizonyítottan látszik az összefüggés az ISR előfordulásával, mivel ezekkel kapcsolatban nagy esetszámú és/vagy több vizsgálat is ugyanarra az eredményre jutott. A CD14 (77), TLR-2 (81) és ALOX5AP (83) SNP-inek szerepe is valószínű, vélhetően a további vizsgálatok megerősítik ezen eredményeket. Az ACE szerepére vonatkozóan ellentmondásosak az eredmények (149) (65, 67), ugyan kimutatható az összefüggés az SNP hordozása és a szérumszint változásai között (64), ám ennek hatása az ISR kialakulására, előfordulási gyakoriságára nem egyértelmű (66). Saját vizsgálatunkban arra a megállapításra jutottunk, hogy a VEGF és az MBL2 (127) vizsgált polimorfizmusai összefüggést mutatnak az ISR kialakulásának gyakoriságával.

Mind hazai, mind nemzetközi körökben nagy számú olyan publikáció jelenik meg a medicina legkülönbözőbb területeiről, melyben SNP-k vizsgálatáról számolnak be. A kardiovaszkuláris betegségeket tekintve leginkább az arterioszklerózis patomechanizmusában részt vevő faktorok, valamint az intervenciós eljárások eredményességét meghatározó tényezők genetikai háttere került az érdeklődés középpontjába. A fejlődő technikának köszönhetően az ilyesfajta genetikai vizsgálatok megvalósítása leegyszerűsödött, és rövidebb idő alatt kivitelezhetővé vált.

A polimorfizmusok vizsgálatán további előnye, hogy gyakran az egyes génpolimorfizmusok vizsgálata során kapott eredmények alapján következtetni lehet az adott kórállapot kialakulásának mechanizmusára. Számos példa van arra, hogy egy olyan gén SNP-inek vizsgálata során lesz szignifikáns eltérés a „beteg” és kontroll csoport között, amely gén termékének funkciója, pontos szerepe az adott betegség kialakulásának folyamatában korábban nem volt ismert. Az adott polimorfizmus hordozásának összefüggése a betegségre való hajlammal viszont arra enged következtetni, hogy a vizsgált gén termékének szerepe van a betegség patomechanizmusában.

A genotipizálás gyors fejlődésével hamarosan elérhetővé válik az a technológia, amely több polimorfizmus egyidejű, azonnali meghatározását teszi lehetővé, így személyre szabott rizikóbecslést végezhetünk és ez alapján lesz lehetőségünk a megfelelő terápia, illetve stent-típus (BMS, DES vagy felszívódó stent) kiválasztására.

## 6. Következtetések

A perkután koronária intervenciót követően kialakuló in-stent restenosis kialakulása napjainkban is komoly problémát jelent. Saját vizsgálatunk alapján megállapíthatjuk, hogy bizonyos génpolimorfizmusok előfordulása összefüggésbe hozható az in-stent restenosis kialakulásának gyakoriságával.

- 1) A VEGF rs699947 polimorfizmusa esetén nem volt kimutatható összefüggés a polimorfizmus hordozása és a diffúz in-stent restenosis gyakorisága között BMS beültetést követően.
- 2) A VEGF rs2010963 polimorfizmus esetében a homozigóta normál genotípus járt együtt nagyobb diffúz restenosis gyakorisággal BMS beültetést követően. Ezek alapján a polimorfizmus hordozása tehát „védőfaktor” a koronária in-stent restenosis kialakulásával szemben.
- 3) MBL2 gén rs5030737, rs1800450 és rs1800451 polimorfizmusai összefüggést mutatnak a diffúz koronária in-stent restenosis kialakulásával BMS beültetést követően. Az MBL2 gén polimorfizmusaival rendelkezőkben magasabb restenosis gyakoriságot találtunk, így ebben az esetben a variáns allél hordozása tehát rizikófaktor a koronária in-stent restenosis kialakulásának tekintetében.

Összegezve tehát a VEGF rs2010963 polimorfizmusa önálló védőfaktornak, az MBL2 polimorfizmusa pedig önálló rizikófaktornak bizonyult a diffúz ISR kialakulásának tekintetében, figyelembe véve a diffúz in-stent restenosis tekintetében szerepet játszó hajlamosító tényezőket is.

## 7. Összefoglalás

A stentek használata forradalmasította a koszorúér-betegség kezelését. A stentelt érszakasz újbóli beszűkülése egyszerű fémstent használata esetén 10-30%-ban következik be. Az endotél sebgyógyuláshoz hasonló reakciója, valamint az érfalsérülésre adott gyulladáshoz hasonló válasz, a simaizomsejtek és az ECM proliferációja a neointima-képződéshez és túlbujánzáshoz, végső soron in-stent restenosishoz vezethet. Az MBL a komplementkaskád aktiválása révén befolyásolja a gyulladáshoz vezető folyamatokat. Az alacsonyabb MBL szint elhúzó gyulladáshoz vezethet, és kapcsolatban van az arterioszklerózis kialakulásával, így szerepe lehet a restenosis kialakulásában. Az MBL2 gén bizonyos pontmutációi ismertén alacsonyabb fehérje szérumszinttel járnak. A VEGF-nek kitüntetett szerepe van a PCI utáni endotelizáció folyamatában, valamint közvetett hatása van a gyulladáshoz vezető kaskádra, továbbá a simaizomsejt-proliferációra. A VEGF-et kódoló gének polimorfizmusai az irodalmi adatok alapján kapcsolatba hozhatók a koronária arterioszklerózis kialakulásával, mivel a VEGF gén promotor régióját érintő egyedi nukleotid polimorfizmusai befolyásolják a fehérje szérumszintjét. Célkitűzésünk a fenti polimorfizmusok előfordulása és a diffúz in-stent restenosis kialakulásának gyakorisága közötti összefüggés vizsgálata volt hagyományos fém stent (BMS) beültetés követően. Vizsgálatunkba mindösszesen 117 igazoltan diffúz in-stent restenosisos és 108 kontroll beteget vontuk be. DNS izolálás után az MBL2 gén rs5030737, rs1800450 és rs1800451 illetve a VEGF-A gén rs699947 és rs2010963 polimorfizmusait real-time PCR-rel határoztuk meg. A két csoport átlagos életkora, a nemek aránya, valamint az ismert hajlamosító tényezők előfordulása nem különbözött szignifikánsan. A genotípus-eloszlás elemzésénél a variáns allélt hordozókat hasonlítottuk a homozigóta normál alléllal rendelkezőkhöz. Az MBL gén esetében a restenosis prevalenciája magasabbnak mutatkozott a variáns allélt hordozókban, tehát a homozigóta normál genotípus védőfaktor a diffúz ISR kialakulásával szemben. A statisztikai elemzés eredménye azt mutatta, hogy a VEGF rs2010963 polimorfizmus esetében a normál homozigóta genotípus magasabb ISR-aránnyal járt, tehát a polimorfizmus hordozása védőfaktoraként szerepel a diffúz ISR kialakulásával szemben. Ezek alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a vizsgált polimorfizmusok összefüggésbe hozhatók a diffúz in-stent restenosis kialakulásának gyakoriságával.

## Summary

Coronary stent deployment revolutionised the invasive treatment of acute and stable forms of coronary artery disease. However, in-stent restenosis (ISR) - the gradual narrowing of the vessel lumen – still occurs in 10-30%. After coronary stent implantation, mechanical injuries of vessel wall result in inflammatory reactions, vascular smooth muscle cell and extracellular matrix proliferation. This neointima proliferation leads to in-stent restenosis and coronary lumen loss.

The mannose-binding lectin (MBL) protein is part of the innate immune system and influence some inflammatory reactions. Lower MBL levels result in prolonged inflammations, and may be related to atherosclerosis and development of in-stent restenosis. Polymorphisms of the MBL2 gene show an association with the serum level of MBL protein. Vascular endothelial growth factor (VEGF) protein plays an important role in this process and it has indirect effect on the inflammatory cascade and the vascular smooth muscle cell proliferation. Polymorphisms of the promoter region of genes encoding VEGF are associated with coronary atherosclerosis, and may influence the serum levels of VEGF. Our aim was to identify the association between these polymorphisms and the occurrence of in-stent restenosis after BMS implantation. In our study, venous blood samples were collected after repeated coronarography from 117 patients with diffuse ISR and 108 control patients. Genotypes of MBL2 gene (rs5030737, rs1800450 and rs1800451) and VEGF gene (rs699947 and rs2010963) were determined using quantitative real-time PCR. The age, gender distribution and cardiovascular risk status was not different between study groups. During genotype distribution analysis, we compared variant allele carriers to patients with homozygote normal genotype. In case of the MBL polymorphisms, the variant allele carrier genotype was associated with the development of diffuse ISR, therefore homozygote normal genotype was protecting factor. Homozygous normal genotype of VEGF rs2010963 polymorphism was associated with higher rate of diffuse ISR, therefore the carriage of the variant allele is a protecting factor. Based on these findings, the MBL2 polymorphisms and the VEGF rs2010963 polymorphism are associated with the development of diffuse ISR. The underlying mechanism may include attenuated protein function in the presence of the mutant allelic genotype.





## 8. Irodalomjegyzék

1. Kincses G, Magyarország egészségügye és szociális rendszere. Egészségügyi Statisztikai Kutató Intézet: Budapest, 2004: 19-20.
2. Hivatal KS, Egészségügyi Statisztikai Évkönyv 2012. Központi Statisztikai Hivatal: Budapest, 2013: 83-115.
3. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. (2016) Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*, 37: 3232-3245.
4. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, Bravata DM, Dai S, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Hailpern SM, Heit JA, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Soliman EZ, Sorlie PD, Sotoodehnia N, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Woo D, Turner MB. (2012) Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 125: e2-e220.
5. Préda I, Czuriga I, Édes I, Merkely B, in *Kardiológia - Alapok és irányelvek* Medicina Könyvkiadó, 2009: 239-257.
6. Hansson GK. (2005) Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*, 352: 1685-95.
7. Libby P. (2002) Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420: 868-74.
8. Wikipedia. Wikipedia - Atherosclerosis. 2017 [cited 2017 04.19]; Atherosclerosis]. Internetcím: <https://en.wikipedia.org/wiki/Atherosclerosis>.

9. Gruntzig AR, Senning A Siegenthaler WE. (1979) Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med*, 301: 61-8.
10. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M. (1994) A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med*, 331: 496-501.
11. Ferguson JJ Willerson JT. (1992) Lipids, atherosclerosis, and restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Tex Heart Inst J*, 19: 54-61.
12. Holmes DR, Jr., Vlietstra RE, Smith HC, Vetrovec GW, Kent KM, Cowley MJ, Faxon DP, Gruentzig AR, Kelsey SF, Detre KM. (1984) Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA): a report from the PTCA Registry of the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Am J Cardiol*, 53: 77c-81c.
13. Levine S, Ewels CJ, Rosing DR, Kent KM. (1985) Coronary angioplasty: clinical and angiographic follow-up. *Am J Cardiol*, 55: 673-6.
14. Steele PM, Chesebro JH, Stanson AW, Holmes DR, Jr., Dewanjee MK, Badimon L, Fuster V. (1985) Balloon angioplasty. Natural history of the pathophysiological response to injury in a pig model. *Circ Res*, 57: 105-12.
15. (1994) Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy--I: Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. Antiplatelet Trialists' Collaboration. *Bmj*, 308: 81-106.
16. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, Malmberg K, Rupprecht H, Zhao F, Chrolavicius S, Copland I, Fox KA. (2001) Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in

patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet*, 358: 527-33.

17. Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, Joffre F, Kappenberger L. (1987) Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med*, 316: 701-6.
18. Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P. (1994) A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group. *N Engl J Med*, 331: 489-95.
19. Lowe HC, Oesterle SN, Khachigian LM. (2002) Coronary in-stent restenosis: current status and future strategies. *J Am Coll Cardiol*, 39: 183-93.
20. Healthwise I. Coronary stent. 2017 [cited 2017. 04.19.]; Internetcím: <http://www.webmd.com/heart-disease/coronary-stent>.
21. Gandhi MM, Dawkins KD. (1999) Fortnightly review: Intracoronary stents. *Bmj*, 318: 650-3.
22. Versaci F, Gaspardone A, Tomai F, Crea F, Chiariello L, Gioffre PA. (1997) A comparison of coronary-artery stenting with angioplasty for isolated stenosis of the proximal left anterior descending coronary artery. *N Engl J Med*, 336: 817-22.
23. Serruys PW, van Hout B, Bonnier H, Legrand V, Garcia E, Macaya C, Sousa E, van der Giessen W, Colombo A, Seabra-Gomes R, Kiemeneij F, Ruygrok P, Ormiston J, Emanuelsson H, Fajadet J, Haude M, Klugmann S, Morel MA. (1998) Randomised comparison of implantation of heparin-coated stents with balloon angioplasty in selected patients with coronary artery disease (Benestent II). *Lancet*, 352: 673-81.

24. Widimsky P, Budesinsky T, Vorac D, Groch L, Zelizko M, Aschermann M, Branny M, St'asek J, Formanek P. (2003) Long distance transport for primary angioplasty vs immediate thrombolysis in acute myocardial infarction. Final results of the randomized national multicentre trial--PRAGUE-2. *Eur Heart J*, 24: 94-104.
25. Andersen HR, Nielsen TT, Rasmussen K, Thuesen L, Kelbaek H, Thayssen P, Abildgaard U, Pedersen F, Madsen JK, Grande P, Villadsen AB, Krusell LR, Haghfelt T, Lomholt P, Husted SE, Vigholt E, Kjaergard HK, Mortensen LS. (2003) A comparison of coronary angioplasty with fibrinolytic therapy in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 349: 733-42.
26. Nordmann AJ, Hengstler P, Harr T, Young J, Bucher HC. (2004) Clinical outcomes of primary stenting versus balloon angioplasty in patients with myocardial infarction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med*, 116: 253-62.
27. Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C, Caputo RP, Kereiakes DJ, Williams DO, Teirstein PS, Jaeger JL, Kuntz RE. (2003) Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med*, 349: 1315-23.
28. Kastrati A, Mehilli J, von Beckerath N, Dibra A, Hausleiter J, Pache J, Schuhlen H, Schmitt C, Dirschinger J, Schomig A. (2005) Sirolimus-eluting stent or paclitaxel-eluting stent vs balloon angioplasty for prevention of recurrences in patients with coronary in-stent restenosis: a randomized controlled trial. *Jama*, 293: 165-71.
29. Bonaa KH, Mannsverk J, Wiseth R, Aaberge L, Myreng Y, Nygard O, Nilsen DW, Klow NE, Uchto M, Trovik T, Bendz B, Stavnes S, Bjornerheim R, Larsen AI, Slette M, Steigen T, Jakobsen OJ, Bleie O, Fossum E, Hanssen TA, Dahl-Eriksen O, Njolstad I, Rasmussen K, Wilsgaard T, Nordrehaug JE, Investigators

- N. (2016) Drug-Eluting or Bare-Metal Stents for Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*, 375: 1242-52.
30. Mitra AK Agrawal DK. (2006) In stent restenosis: bane of the stent era. *J Clin Pathol*, 59: 232-9.
  31. Cardiology ACo. (2001) American College of Cardiology Clinical Expert Consensus Document on Standards for Acquisition, Measurement and Reporting of Intravascular Ultrasound Studies (IVUS). A report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents developed in collaboration with the European Society of Cardiology endorsed by the Society of Cardiac Angiography and Interventions. *Eur J Echocardiogr*, 2: 299-313.
  32. Bhargava B, Karthikeyan G, Abizaid AS, Mehran R. (2003) New approaches to preventing restenosis. *Bmj*, 327: 274-9.
  33. Bennett MR. (2003) In-stent stenosis: pathology and implications for the development of drug eluting stents. *Heart*, 89: 218-24.
  34. Mehran R, Dangas G, Abizaid AS, Mintz GS, Lansky AJ, Satler LF, Pichard AD, Kent KM, Stone GW, Leon MB. (1999) Angiographic patterns of in-stent restenosis: classification and implications for long-term outcome. *Circulation*, 100: 1872-8.
  35. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. (1998) Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*, 97: 1837-47.
  36. Li JJ, Ren Y, Chen KJ, Yeung AC, Xu B, Ruan XM, Yang YJ, Chen JL, Gao RL. (2010) Impact of C-reactive protein on in-stent restenosis: a meta-analysis. *Tex Heart Inst J*, 37: 49-57.

37. Trabattoni D, Fabbicchi F, Montorsi P, Calligaris G, Galli S, Ravagnani P, De Martini S, Teruzzi G, Bartorelli AL. (2005) Angiographic patterns of in-stent restenosis in men and women. *Ital Heart J*, 6: 138-42.
38. Verschuren JJW, Trompet S, Postmus I, Sampietro ML, Heijmans BT, Houwing-Duistermaat JJ, Slagboom PE, Jukema JW. (2012) Systematic Testing of Literature Reported Genetic Variation Associated with Coronary Restenosis: Results of the GENDER Study. *PLoS One*, 7.
39. Koch W, Bottiger C, Mehilli J, von Beckerath N, Neumann FJ, Schomig A, Kastrati A. (2001) Association of a CD18 gene polymorphism with a reduced risk of restenosis after coronary stenting. *Am J Cardiol*, 88: 1120-4.
40. Kastrati A, Koch W, Berger PB, Mehilli J, Stephenson K, Neumann FJ, von Beckerath N, Bottiger C, Duff GW, Schomig A. (2000) Protective role against restenosis from an interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in patients treated with coronary stenting. *J Am Coll Cardiol*, 36: 2168-73.
41. Keavney B. (2003) Outcome following percutaneous coronary intervention: not, so far, in our genes. *Heart*, 89: 247-8.
42. Hoffmann R, Mintz GS. (2000) Coronary in-stent restenosis - predictors, treatment and prevention. *Eur Heart J*, 21: 1739-49.
43. Belardi JA. (2001) Percutaneous coronary interventions in chronic total occlusions. *J Invasive Cardiol*, 13: 236-8; discussion 262-4.
44. Weintraub WS. (2007) The pathophysiology and burden of restenosis. *Am J Cardiol*, 100: 3k-9k.
45. Caixeta AM, Arie S, Sandoli de Brito F, Jr., Piva de Albuquerque C, Fukushima JT, Garcia DP, Bellotti G, Pileggi F. (1996) [Analysis of elastic retraction in the 1st 15 minutes after coronary balloon angioplasty]. *Arq Bras Cardiol*, 66: 5-9.

46. Bermejo J, Botas J, Garcia E, Elizaga J, Osende J, Soriano J, Abeytua M, Delcan JL. (1998) Mechanisms of residual lumen stenosis after high-pressure stent implantation: a quantitative coronary angiography and intravascular ultrasound study. *Circulation*, 98: 112-8.
47. Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Wong C, Hong MK, Kovach JA, Leon MB. (1996) Arterial remodeling after coronary angioplasty: a serial intravascular ultrasound study. *Circulation*, 94: 35-43.
48. Virmani R Farb A. (1999) Pathology of in-stent restenosis. *Curr Opin Lipidol*, 10: 499-506.
49. Kornowski R, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Wu H, Leon MB. (1998) In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *J Am Coll Cardiol*, 31: 224-30.
50. Costa MA Simon DI. (2005) Molecular basis of restenosis and drug-eluting stents. *Circulation*, 111: 2257-73.
51. Komatsu R, Ueda M, Naruko T, Kojima A, Becker AE. (1998) Neointimal tissue response at sites of coronary stenting in humans: macroscopic, histological, and immunohistochemical analyses. *Circulation*, 98: 224-33.
52. Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, Hinds DA, Stuve LL, Gibbs RA, Belmont JW, Boudreau A, Hardenbol P, Leal SM, Pasternak S, Wheeler DA, Willis TD, Yu F, Yang H, Zeng C, Gao Y, Hu H, Hu W, Li C, Lin W, Liu S, Pan H, Tang X, Wang J, Wang W, Yu J, Zhang B, Zhang Q, Zhao H, Zhao H, Zhou J, Gabriel SB, Barry R, Blumenstiel B, Camargo A, Defelice M, Faggart M, Goyette M, Gupta S, Moore J, Nguyen H, Onofrio RC, Parkin M, Roy J, Stahl E, Winchester E, Ziaugra L, Altshuler D, Shen Y, Yao Z, Huang W, Chu X, He Y, Jin L, Liu Y, Shen Y, Sun W, Wang H, Wang Y, Wang Y, Xiong X, Xu L, Wayne MM, Tsui SK, Xue H, Wong JT, Galver LM, Fan JB, Gunderson K, Murray SS, Oliphant

AR, Chee MS, Montpetit A, Chagnon F, Ferretti V, Leboeuf M, Olivier JF, Phillips MS, Roumy S, Sallee C, Verner A, Hudson TJ, Kwok PY, Cai D, Koboldt DC, Miller RD, Pawlikowska L, Taillon-Miller P, Xiao M, Tsui LC, Mak W, Song YQ, Tam PK, Nakamura Y, Kawaguchi T, Kitamoto T, Morizono T, Nagashima A, Ohnishi Y, Sekine A, Tanaka T, Tsunoda T, Deloukas P, Bird CP, Delgado M, Dermitzakis ET, Gwilliam R, Hunt S, Morrison J, Powell D, Stranger BE, Whittaker P, Bentley DR, Daly MJ, de Bakker PI, Barrett J, Chretien YR, Maller J, McCarroll S, Patterson N, Pe'er I, Price A, Purcell S, Richter DJ, Sabeti P, Saxena R, Schaffner SF, Sham PC, Varilly P, Altshuler D, Stein LD, Krishnan L, Smith AV, Tello-Ruiz MK, Thorisson GA, Chakravarti A, Chen PE, Cutler DJ, Kashuk CS, Lin S, Abecasis GR, Guan W, Li Y, Munro HM, Qin ZS, Thomas DJ, McVean G, Auton A, Bottolo L, Cardin N, Eyheramendy S, Freeman C, Marchini J, Myers S, Spencer C, Stephens M, Donnelly P, Cardon LR, Clarke G, Evans DM, Morris AP, Weir BS, Tsunoda T, Mullikin JC, Sherry ST, Feolo M, Skol A, Zhang H, Zeng C, Zhao H, Matsuda I, Fukushima Y, Macer DR, Suda E, Rotimi CN, Adebamowo CA, Ajayi I, Aniagwu T, Marshall PA, Nkwodimmah C, Royal CD, Leppert MF, Dixon M, Peiffer A, Qiu R, Kent A, Kato K, Niikawa N, Adewole IF, Knoppers BM, Foster MW, Clayton EW, Watkin J, Gibbs RA, Belmont JW, Muzny D, Nazareth L, Sodergren E, Weinstock GM, Wheeler DA, Yakub I, Gabriel SB, Onofrio RC, Richter DJ, Ziaugra L, Birren BW, Daly MJ, Altshuler D, Wilson RK, Fulton LL, Rogers J, Burton J, Carter NP, Clee CM, Griffiths M, Jones MC, McLay K, Plumb RW, Ross MT, Sims SK, Willey DL, Chen Z, Han H, Kang L, Godbout M, Wallenburg JC, L'Archeveque P, Bellemare G, Saeki K, Wang H, An D, Fu H, Li Q, Wang Z, Wang R, Holden AL, Brooks LD, McEwen JE, Guyer MS, Wang VO, Peterson JL, Shi M, Spiegel J, Sung LM, Zacharia LF, Collins FS, Kennedy K, Jamieson R Stewart J. (2007) A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature*, 449: 851-61.

53. Janssens S, Flaherty D, Nong Z, Varenne O, van Pelt N, Haustermans C, Zoldhelyi P, Gerard R, Collen D. (1998) Human endothelial nitric oxide synthase gene transfer inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation after balloon injury in rats. *Circulation*, 97: 1274-81.



54. Suzuki T, Okumura K, Sone T, Kosokabe T, Tsuboi H, Kondo J, Mukawa H, Kamiya H, Tomida T, Imai H, Matsui H, Hayakawa T. (2002) The Glu298Asp polymorphism in endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary in-stent restenosis. *Int J Cardiol*, 86: 71-6.
55. Gorchakova O, Koch W, von Beckerath N, Mehilli J, Schomig A, Kastrati A. (2003) Association of a genetic variant of endothelial nitric oxide synthase with the 1 year clinical outcome after coronary stent placement. *Eur Heart J*, 24: 820-7.
56. Gomma AH, Elrayess MA, Knight CJ, Hawe E, Fox KM, Humphries SE. (2002) The endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp and -786T>C) gene polymorphisms are associated with coronary in-stent restenosis. *Eur Heart J*, 23: 1955-62.
57. Van Lint P, Libert C. (2007) Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation. *J Leukoc Biol*, 82: 1375-81.
58. Ye S. (2006) Influence of matrix metalloproteinase genotype on cardiovascular disease susceptibility and outcome. *Cardiovasc Res*, 69: 636-45.
59. Watanabe N, Ikeda U. (2004) Matrix metalloproteinases and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*, 6: 112-20.
60. de Maat MP, Jukema JW, Ye S, Zwinderman AH, Moghaddam PH, Beekman M, Kastelein JJ, van Boven AJ, Bruschke AV, Humphries SE, Kluft C, Henney AM. (1999) Effect of the stromelysin-1 promoter on efficacy of pravastatin in coronary atherosclerosis and restenosis. *Am J Cardiol*, 83: 852-6.
61. Hoppmann P, Koch W, Schomig A, Kastrati A. (2004) The 5A/6A polymorphism of the stromelysin-1 gene and restenosis after percutaneous coronary interventions. *Eur Heart J*, 25: 335-41.

62. Chiou KR, Chung SL, Charng MJ. (2005) 5A/6A polymorphism of the stromelysin-1 gene and angiographic restenosis after coronary artery stenting. *J Chin Med Assoc*, 68: 506-12.
63. Itoh H, Mukoyama M, Pratt RE, Gibbons GH, Dzau VJ. (1993) Multiple autocrine growth factors modulate vascular smooth muscle cell growth response to angiotensin II. *J Clin Invest*, 91: 2268-74.
64. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F, Soubrier F. (1992) Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet*, 51: 197-205.
65. Gurlek A, Gulec S, Karabulut H, Bokesoy I, Tutar E, Pamir G, Alpman A, Toydemir R, Aras O, Oral D. (2000) Relation between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene and restenosis after coronary stenting. *J Cardiovasc Risk*, 7: 403-7.
66. Ribichini F, Steffenino G, Dellavalle A, Matullo G, Colajanni E, Camilla T, Vado A, Benetton G, Uslenghi E, Piazza A. (1998) Plasma activity and insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme: a major risk factor and a marker of risk for coronary stent restenosis. *Circulation*, 97: 147-54.
67. Koch W, Kastrati A, Mehilli J, Bottiger C, von Beckerath N, Schomig A. (2000) Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is not associated with restenosis after coronary stent placement. *Circulation*, 102: 197-202.
68. Ribichini F, Ferrero V, Matullo G, Feola M, Vado A, Camilla T, Guarrera S, Carturan S, Vassanelli C, Uslenghi E, Piazza A. (2004) Association study of the I/D polymorphism and plasma angiotensin-converting enzyme (ACE) as risk factors for stent restenosis. *Clin Sci (Lond)*, 107: 381-9.

69. Ferrero V, Ribichini F, Matullo G, Guarrera S, Carturan S, Vado A, Vassanelli C, Piazza A, Uslenghi E, Wijns W. (2003) Estrogen receptor-alpha polymorphisms and angiographic outcome after coronary artery stenting. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 23: 2223-8.
70. Gulesserian T, Wenzel C, Endler G, Sunder-Plassmann R, Marsik C, Mannhalter C, Iordanova N, Gyongyosi M, Wojta J, Mustafa S, Wagner O, Huber K. (2005) Clinical restenosis after coronary stent implantation is associated with the heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism and the heme oxygenase-1 +99G/C variant. *Clin Chem*, 51: 1661-5.
71. Chen YH, Chau LY, Lin MW, Chen LC, Yo MH, Chen JW, Lin SJ. (2004) Heme oxygenase-1 gene promoter microsatellite polymorphism is associated with angiographic restenosis after coronary stenting. *Eur Heart J*, 25: 39-47.
72. Schillinger M, Exner M, Minar E, Mlekusch W, Mullner M, Mannhalter C, Bach FH, Wagner O. (2004) Heme oxygenase-1 genotype and restenosis after balloon angioplasty: a novel vascular protective factor. *J Am Coll Cardiol*, 43: 950-7.
73. Arend WP, Gabay C. (2000) Physiologic role of interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Res*, 2: 245-8.
74. Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, Gabay C. (1998) Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu Rev Immunol*, 16: 27-55.
75. Welt FG, Tso C, Edelman ER, Kjelsberg MA, Paolini JF, Seifert P, Rogers C. (2003) Leukocyte recruitment and expression of chemokines following different forms of vascular injury. *Vasc Med*, 8: 1-7.
76. Liu Y, Imanishi T, Ikejima H, Tsujioka H, Ozaki Y, Kuroi A, Okochi K, Ishibashi K, Tanimoto T, Ino Y, Kitabata H, Akasaka T. (2010) Association between circulating monocyte subsets and in-stent restenosis after coronary stent

- implantation in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circ J*, 74: 2585-91.
77. Shimada K, Miyauchi K, Mokuno H, Watanabe Y, Iwama Y, Shigekiyo M, Matsumoto M, Okazaki S, Tanimoto K, Kurata T, Sato H, Daida H. (2004) Promoter polymorphism in the CD14 gene and concentration of soluble CD14 in patients with in-stent restenosis after elective coronary stenting. *Int J Cardiol*, 94: 87-92.
78. Wetzler LM. (2003) The role of Toll-like receptor 2 in microbial disease and immunity. *Vaccine*, 21 Suppl 2: S55-60.
79. Rock FL, Hardiman G, Timans JC, Kastelein RA, Bazan JF. (1998) A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95: 588-93.
80. Muzio M, Polentarutti N, Bosisio D, Manoj Kumar PP, Mantovani A. (2000) Toll-like receptor family and signalling pathway. *Biochem Soc Trans*, 28: 563-6.
81. Hamann L, Gomma A, Schroder NW, Stamme C, Glaeser C, Schulz S, Gross M, Anker SD, Fox K, Schumann RR. (2005) A frequent toll-like receptor (TLR)-2 polymorphism is a risk factor for coronary restenosis. *J Mol Med (Berl)*, 83: 478-85.
82. Jawien J, Korb R. (2010) The current view on the role of leukotrienes in atherogenesis. *J Physiol Pharmacol*, 61: 647-50.
83. Shah SH, Hauser ER, Crosslin D, Wang L, Haynes C, Connelly J, Nelson S, Johnson J, Gadson S, Nelson CL, Seo D, Gregory S, Kraus WE, Granger CB, Goldschmidt-Clermont P, Newby LK. (2008) ALOX5AP variants are associated with in-stent restenosis after percutaneous coronary intervention. *Atherosclerosis*, 201: 148-54.

84. Koch W, Mehilli J, Pfeufer A, Schomig A, Kastrati A. (2004) Apolipoprotein E gene polymorphisms and thrombosis and restenosis after coronary artery stenting. *J Lipid Res*, 45: 2221-6.
85. Worthley DL, Bardy PG, Mullighan CG. (2005) Mannose-binding lectin: biology and clinical implications. *Intern Med J*, 35: 548-55.
86. Suankratay C, Mold C, Zhang Y, Lint TF, Gewurz H. (1999) Mechanism of complement-dependent haemolysis via the lectin pathway: role of the complement regulatory proteins. *Clin Exp Immunol*, 117: 442-8.
87. Kuipers S, Aerts PC, van Dijk H. (2003) Differential microorganism-induced mannose-binding lectin activation. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 36: 33-9.
88. Turner MW. (1998) Mannose-binding lectin (MBL) in health and disease. *Immunobiology*, 199: 327-39.
89. Seyfarth J, Garred P, Madsen HO. (2005) The 'involution' of mannose-binding lectin. *Hum Mol Genet*, 14: 2859-69.
90. Garred P, Larsen F, Seyfarth J, Fujita R, Madsen HO. (2006) Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immun*, 7: 85-94.
91. Rugonfalvi-Kiss S, Endresz V, Madsen HO, Burian K, Duba J, Prohaszka Z, Karadi I, Romics L, Gonczol E, Fust G, Garred P. (2002) Association of *Chlamydia pneumoniae* with coronary artery disease and its progression is dependent on the modifying effect of mannose-binding lectin. *Circulation*, 106: 1071-6.
92. Rantala A, Lajunen T, Juvonen R, Bloigu A, Paldanius M, Silvennoinen-Kassinen S, Peitso A, Vainio O, Leinonen M, Saikku P. (2011) Low mannose-binding lectin levels and MBL2 gene polymorphisms associate with *Chlamydia pneumoniae* antibodies. *Innate Immun*, 17: 35-40.

93. Hegele RA, Ban MR, Anderson CM, Spence JD. (2000) Infection-susceptibility alleles of mannose-binding lectin are associated with increased carotid plaque area. *J Investig Med*, 48: 198-202.
94. Szeplaki G, Hirschberg K, Gombos T, Varga L, Prohaszka Z, Dosa E, Acsady G, Karadi I, Garred P, Entz L, Fust G. (2008) Early complement activation follows eversion carotid endarterectomy and correlates with the time of clamping of the carotid artery. *Mol Immunol*, 45: 3289-94.
95. Best LG, Davidson M, North KE, MacCluer JW, Zhang Y, Lee ET, Howard BV, DeCruo S, Ferrell RE. (2004) Prospective analysis of mannose-binding lectin genotypes and coronary artery disease in American Indians: the Strong Heart Study. *Circulation*, 109: 471-5.
96. Saevarsdottir S, Oskarsson OO, Aspelund T, Eiriksdottir G, Vikingsdottir T, Gudnason V, Valdimarsson H. (2005) Mannan binding lectin as an adjunct to risk assessment for myocardial infarction in individuals with enhanced risk. *J Exp Med*, 201: 117-25.
97. Szeplaki G, Prohaszka Z, Duba J, Rugonfalvi-Kiss S, Karadi I, Kokai M, Kramer J, Fust G, Kleiber M, Romics L, Varga L. (2004) Association of high serum concentration of the third component of complement (C3) with pre-existing severe coronary artery disease and new vascular events in women. *Atherosclerosis*, 177: 383-9.
98. Szeplaki G, Varga L, Laki J, Dosa E, Madsen HO, Prohaszka Z, Szabo A, Acsady G, Selmecci L, Garred P, Fust G, Entz L. (2006) Elevated complement C3 is associated with early restenosis after eversion carotid endarterectomy. *Thromb Haemost*, 96: 529-34.
99. Szeplaki G, Varga L, Laki J, Dosa E, Rugonfalvi-Kiss S, Madsen HO, Prohaszka Z, Kocsis A, Gal P, Szabo A, Acsady G, Karadi I, Selmecci L, Garred P, Fust G,

- Entz L. (2007) Low c1-inhibitor levels predict early restenosis after eversion carotid endarterectomy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27: 2756-62.
100. Brown LF, Detmar M, Claffey K, Nagy JA, Feng D, Dvorak AM, Dvorak HF. (1997) Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *Exs*, 79: 233-69.
101. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, Semenza GL. (1996) Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol*, 16: 4604-13.
102. Semenza GL. (2000) HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* (1985), 88: 1474-80.
103. Tang C, Wang G, Wu X, Li Z, Shen Y, Lee JC, Yu Q. (2011) The impact of vascular endothelial growth factor-transfected human endothelial cells on endothelialization and restenosis of stainless steel stents. *J Vasc Surg*, 53: 461-71.
104. Cui QT, Li Y, Duan CH, Zhang W, Guo XL. (2013) Further evidence for the contribution of the vascular endothelial growth factor gene in coronary artery disease susceptibility. *Gene*, 521: 217-21.
105. Inoue M, Itoh H, Ueda M, Naruko T, Kojima A, Komatsu R, Doi K, Ogawa Y, Tamura N, Takaya K, Igaki T, Yamashita J, Chun TH, Masatsugu K, Becker AE, Nakao K. (1998) Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions: possible pathophysiological significance of VEGF in progression of atherosclerosis. *Circulation*, 98: 2108-16.
106. Lin TH, Wang CL, Su HM, Hsu PC, Juo SH, Voon WC, Shin SJ, Lai WT, Sheu SH. (2010) Functional vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and diabetes: effect on coronary collaterals in patients with significant coronary artery disease. *Clin Chim Acta*, 411: 1688-93.

107. Bhardwaj S, Roy H, Heikura T, Yla-Herttuala S. (2005) VEGF-A, VEGF-D and VEGF-D(DeltaNDeltaC) induced intimal hyperplasia in carotid arteries. *Eur J Clin Invest*, 35: 669-76.
108. Katsaros KM, Kastl SP, Krychtiuk KA, Hutter R, Zorn G, Maurer G, Huber K, Wojta J, Christ G, Speidl WS. (2014) An increase of VEGF plasma levels is associated with restenosis of drug-eluting stents. *EuroIntervention*, 10: 224-30.
109. Vuorio T, Jauhiainen S Yla-Herttuala S. (2012) Pro- and anti-angiogenic therapy and atherosclerosis with special emphasis on vascular endothelial growth factors. *Expert Opin Biol Ther*, 12: 79-92.
110. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, Vavuranakis M, Stefanadi E, Kipshidze N. (2008) First-in-man study with bevacizumab-eluting stent: a new approach for the inhibition of atheromatic plaque neovascularisation. *EuroIntervention*, 3: 460-4.
111. Hurwitz H Kabbinavar F. (2005) Bevacizumab combined with standard fluoropyrimidine-based chemotherapy regimens to treat colorectal cancer. *Oncology*, 69 Suppl 3: 17-24.
112. Scott LJ. (2007) Bevacizumab: in first-line treatment of metastatic breast cancer. *Drugs*, 67: 1793-9.
113. Stefanadis C, Toutouzas K, Stefanadi E, Tsiamis E, Vavuranakis M, Kipshidze N. (2008) Avastin-eluting stent: long-term angiographic and clinical follow up. *Hellenic J Cardiol*, 49: 188-90.
114. Stefanadis C, Toutouzas K, Stefanadi E, Lazaris A, Patsouris E, Kipshidze N. (2007) Inhibition of plaque neovascularization and intimal hyperplasia by specific targeting vascular endothelial growth factor with bevacizumab-eluting stent: an experimental study. *Atherosclerosis*, 195: 269-76.



115. Shibuya M. (2006) Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1/Flt-1): a dual regulator for angiogenesis. *Angiogenesis*, 9: 225-30; discussion 231.
116. Li D, Zhang C, Song F, Lubenec I, Tian Y, Song QH. (2009) VEGF regulates FGF-2 and TGF-beta1 expression in injury endothelial cells and mediates smooth muscle cells proliferation and migration. *Microvasc Res*, 77: 134-42.
117. Simons M. (2009) VEGF and restenosis: the rest of the story. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 29: 439-40.
118. Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, Brenchley PE. (2000) Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine*, 12: 1232-5.
119. Sun L, Yuan Q, Cao N, Guo W, Yao L, Feng JM, Ma JF, Wang LN. (2014) VEGF genetic polymorphisms may contribute to the risk of diabetic nephropathy in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *ScientificWorldJournal*, 2014: 624573.
120. Kim YR Hong S-H. (2015) Association between the polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene and metabolic syndrome. *Biomedical Reports*, 3: 319-326.
121. Petrovic D, Verhovec R, Globocnik Petrovic M, Osredkar J, Peterlin B. (2007) Association of vascular endothelial growth factor gene polymorphism with myocardial infarction in patients with type 2 diabetes. *Cardiology*, 107: 291-5.
122. van der Meer P, De Boer RA, White HL, van der Steege G, Hall AS, Voors AA, van Veldhuisen DJ. (2005) The VEGF +405 CC promoter polymorphism is associated with an impaired prognosis in patients with chronic heart failure: a MERIT-HF substudy. *J Card Fail*, 11: 279-84.

123. Shahbazi M, Fryer AA, Pravica V, Brogan IJ, Ramsay HM, Hutchinson IV, Harden PN. (2002) Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol*, 13: 260-4.
124. Mohammadi M, Bazrafshani MR, Day PJ, Ollier WE. (2009) Vascular endothelial growth factor production is regulated by gene polymorphisms. *Iran J Immunol*, 6: 119-29.
125. Wang L, Ji S, Cheng Z. (2015) Vascular endothelial growth factor -2578C/A polymorphism and colorectal cancer risk: A meta-analysis. *J Res Med Sci*, 20: 811-7.
126. Bagyura Z, Kiss L, Hirschberg K, Berta B, Széplaki G, Lux Á, Szelid Z, Soós P, Merkely B. (2017) Association between VEGF Gene Polymorphisms and In-Stent Restenosis after Coronary Intervention Treated with Bare Metal Stent. *Disease Markers*, 2017: 7.
127. Bagyura Z, Kiss L, Berta B, Szilágyi Á, Hirschberg K, Széplaki G, Lux Á, Szelid Z, Soós P, Merkely B. (2017) High rate of in-stent restenosis after coronary intervention in carriers of the mutant mannose-binding lectin allele. *BMC Cardiovascular Disorders*, 17: 4.
128. Super M, Thiel S, Lu J, Levinsky RJ, Turner MW. (1989) Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet*, 2: 1236-9.
129. Koch A, Melbye M, Sorensen P, Homoe P, Madsen HO, Molbak K, Hansen CH, Andersen LH, Hahn GW, Garred P. (2001) Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. *Jama*, 285: 1316-21.
130. Lee YH, Witte T, Momot T, Schmidt RE, Kaufman KM, Harley JB, Sestak AL. (2005) The mannose-binding lectin gene polymorphisms and systemic lupus

erythematosus: two case-control studies and a meta-analysis. *Arthritis Rheum*, 52: 3966-74.

131. Zhang NN, Ma AX, Cheng P, Zhuang MQ, Cao FF, Chen XD, Li SY, Lu M. (2011) [Association between mannose-binding-lectin gene and type 2 diabetic patients in Chinese population living in the northern areas of China]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 32: 930-5.
132. Garred P, Pressler T, Madsen HO, Frederiksen B, Svejgaard A, Hoiby N, Schwartz M, Koch C. (1999) Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J Clin Invest*, 104: 431-7.
133. Garred P, Madsen HO, Marquart H, Hansen TM, Sorensen SF, Petersen J, Volck B, Svejgaard A, Graudal NA, Rudd PM, Dwek RA, Sim RB, Andersen V. (2000) Two edged role of mannose binding lectin in rheumatoid arthritis: a cross sectional study. *J Rheumatol*, 27: 26-34.
134. Bak-Romaniszyn L, Szala A, Sokolowska A, Mierzwa G, Czerwionka-Szaflarska M, Swierzko AS, Zeman K, Cedzynski M. (2011) Mannan-binding lectin deficiency in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*, 46: 1275-8.
135. Zanetti KA, Haznadar M, Welsh JA, Robles AI, Ryan BM, McClary AC, Bowman ED, Goodman JE, Bernig T, Chanock SJ, Harris CC. (2012) 3'-UTR and functional secretor haplotypes in mannose-binding lectin 2 are associated with increased colon cancer risk in African Americans. *Cancer Res*, 72: 1467-77.
136. Kwok JY, Vaida F, Augst RM, Yu DY, Singh KK. (2011) Mannose binding lectin mediated complement pathway in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*, 239: 98-100.

137. Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Makela PH, Huttunen JK, Valtonen V. (1988) Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet*, 2: 983-6.
138. Grosskreutz CL, Anand-Apte B, Duplaa C, Quinn TP, Terman BI, Zetter B, D'Amore PA. (1999) Vascular endothelial growth factor-induced migration of vascular smooth muscle cells in vitro. *Microvasc Res*, 58: 128-36.
139. Brasen JH, Kivela A, Roser K, Rissanen TT, Niemi M, Luft FC, Donath K, Yla-Herttuala S. (2001) Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor-BB expression, iron deposition, and oxidation-specific epitopes in stented human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21: 1720-6.
140. Li L, Pan Y, Dai L, Liu B, Zhang D. (2016) Association of Genetic Polymorphisms on Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptor Genes with Susceptibility to Coronary Heart Disease. *Med Sci Monit*, 22: 31-40.
141. Osadnik T, Strzelczyk JK, Regula R, Bujak K, Fronczek M, Gonera M, Gawlita M, Wasilewski J, Lekston A, Kurek A, Gierlotka M, Trzeciak P, Hawranek M, Ostrowska Z, Wiczkowski A, Polonski L, Gasior M. (2016) The Relationships between Polymorphisms in Genes Encoding the Growth Factors TGF-beta1, PDGFB, EGF, bFGF and VEGF-A and the Restenosis Process in Patients with Stable Coronary Artery Disease Treated with Bare Metal Stent. *PLoS One*, 11: e0150500.
142. Moradzadegan A, Vaisi-Raygani A, Nikzamir A, Rahimi Z. (2015) Angiotensin converting enzyme insertion/deletion (I/D) (rs4646994) and Vegf polymorphism (+405G/C; rs2010963) in type II diabetic patients: Association with the risk of coronary artery disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 16: 672-80.

143. Nagy B, Savli H, Molvarec A, Varkonyi T, Rigo B, Hupuczi P, Rigo J, Jr. (2008) Vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms in HELLP syndrome patients determined by quantitative real-time PCR and melting curve analyses. *Clin Chim Acta*, 389: 126-31.
144. Merlo S, Starčević JN, Mankoč S, Šantl Letonja M, Cokan Vujkovic A, Zorc M, Petrovič D. (2016) Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphism (rs2010963) and Its Receptor, Kinase Insert Domain-Containing Receptor Gene Polymorphism (rs2071559), and Markers of Carotid Atherosclerosis in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes Research*, 2016: 1482194.
145. Iaresko M, Kolesnikova E. (2016) The role of polymorphisms - 634 G/C (rs2010963) of VEGF-A gene in the development of hypertension and obesity in premenopausal women. *Georgian Med News*: 33-7.
146. Benjamin F, Protection of Towns from Fire, in *The Pennsylvania Gazette*. 1735.
147. Depukat R, Rzeszutko L, Dudek D. (2012) Regeneration of vessel wall functionality and vascular restoration therapy with biodegradable stents -- current status. *Curr Pharm Biotechnol*, 13: 2440-8.
148. Navarese EP, Kubica J, Castriota F, Gibson CM, De Luca G, Buffon A, Bolognese L, Margheri M, Andreotti F, Di Mario C, De Servi S. (2011) Safety and efficacy of biodegradable vs. durable polymer drug-eluting stents: evidence from a meta-analysis of randomised trials. *EuroIntervention*, 7: 985-94.
149. Amant C, Bauters C, Bodart JC, Lablanche JM, Grollier G, Danchin N, Hamon M, Richard F, Helbecque N, McFadden EP, Amouyel P, Bertrand ME. (1997) D allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting. *Circulation*, 96: 56-60.

## 9. Saját publikációk jegyzéke

### 9.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. Bagyura Z, Kiss L, Hirschberg K, Berta B, Széplaki G, Lux A, Szelid Z, Soós P, Merkely B. (2017) Association between VEGF Gene Polymorphisms and In-Stent Restenosis after Coronary Intervention Treated with Bare Metal Stent. *Dis Markers*, 2017:1-7. IF 2,137
2. Bagyura Z, Kiss L, Berta B, Szilágyi A, Hirschberg K, Széplaki G, Lux A, Szelid Z, Soós P, Merkely B. (2017) High rate of in-stent restenosis after coronary intervention in carriers of the mutant mannose-binding lectin allele. *BMC Cardiovasc Disord*, 17: 1-4. IF 1,916

### 9.2. Egyéb, a disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények

1. Kiss LZ, Bagyura Z, Vadas R, Polgár L, Lux Á, Édes E, Szenczi O, Soós P, Szelid Z, Becker D, Jermendy G, Merkely B. (2017) *J Diabetes Complications*, 31: 1293-1298, IF 2,734
2. Kovács K, Szakmár E, Méder Ü, Kolossváry M, Bagyura Z, Lamboy L, Élő Z, Szabó A, Szabó M, Jermendy Á. (2017) Hypothermia treatment in asphyxiated neonates - a single center experience in Hungary. *Orv Hetil*, 158: 331-339, IF 0,291
3. Bagyura Z, Kolossvary M, Merkely B, Maurovich-Horvat P. (2017) A coronariarendszer komputertomográfiai vizsgálata - Országos Plakk Regiszter és Adatbázis (OPeRA). *Orv Hetil*, 158: 106-110. IF 0,291

4. Boros AM, Szeplaki G, Perge P, Jenei Z, Bagyura Z, Zima E, Molnar L, Apor A, Becker D, Geller L, Prohaszka Z, Merkely B. (2016) The ratio of the neutrophil leucocytes to the lymphocytes predicts the outcome after cardiac resynchronization therapy. *Europace*, 18: 747-754. IF 4,021
5. Szilveszter B, Elzomor H, Karolyi M, Kolossvary M, Raaijmakers R, Benke K, Celeng C, Bartykowszki A, Bagyura Z, Lux A, Merkely B, Maurovich-Horvat P. (2016) The effect of iterative model reconstruction on coronary artery calcium quantification. *Int J Cardiovasc Imaging*, 32: 153-160. IF 1,880
6. Bagyura Zs, Kolossváry M, Merkely B, Maurovich-Horvat P. (2015) Személyre szabott kardiovaszkuláris rizikóbecslés koronária CT-vel Strukturált leletezés és az OPeRA (Országos Plaque Regiszter és Adatbázis) Projekt. *Informatika és Management az Egészségügyben*, 14: 19-23.
7. Kelloniemi A, Szabo Z, Serpi R, Napankangas J, Ohukainen P, Tenhunen O, Kaikkonen L, Koivisto E, Bagyura Z, Kerkela R, Leosdottir M, Hedner T, Melander O, Ruskoaho H, Rysa J. (2015) The Early-Onset Myocardial Infarction Associated PHACTR1 Gene Regulates Skeletal and Cardiac Alpha-Actin Gene Expression. *PLoS One* 10: p. e0130502. IF 3,057
8. Merkely B, Gara E, Lendvai Z, Skopal J, Leja T, Zhou W, Kosztin A, Varady G, Mioulane M, Bagyura Z, Nemeth T, Harding SE, Foldes G. (2015) Signalling via PI3K/FOXO1A Pathway Modulates Formation and Survival of Human Embryonic Stem Cell-Derived Endothelial Cells. *Stem Cells Dev*, 24: 869-878. IF 3,777
9. Moilanen AM, Rysa J, Kaikkonen L, Karvonen T, Mustonen E, Serpi R, Szabo Z, Tenhunen O, Bagyura Z, Napankangas J, Ohukainen P, Tavi P, Kerkela R, Leosdottir M, Wahlstrand B, Hedner T, Melander O, Ruskoaho H. (2015) WDR12, a Member of Nucleolar PeBoW-Complex, Is Up-Regulated in Failing

Hearts and Causes Deterioration of Cardiac Function. PLoS One, 10: p. e0124907.  
IF 3,057

10. Szelid Z, Lux A, Kolossvary M, Toth A, Vago H, Lendvai Z, Kiss L, Maurovich-Horvat P, Bagyura Z, Merkely B. (2015) Right Ventricular Adaptation Is Associated with the Glu298Asp Variant of the NOS3 Gene in Elite Athletes. PLoS One, 10: e0141680. IF 3,057
11. Bagyura Z, Kiss L, Edes E, Lux A, Polgar L, Soos P, Szenczi O, Szelid Z, Vadas R, Jozan P, Bagdy G, Merkely B. (2014) Cardiovascularis szűrőprogram a közép-magyarországi régióban. Budakalász Vizsgálat. Orv Hetil, 155: 1344-1352.
12. Reed DM, Foldes G, Gatheral T, Paschalaki KE, Lendvai Z, Bagyura Z, Nemeth T, Skopal J, Merkely B, Telcian AG, Gogsadze L, Edwards MR, Gough PJ, Bertin J, Johnston SL, Harding SE, Mitchell JA. (2014) Pathogen Sensing Pathways in Human Embryonic Stem Cell Derived-Endothelial Cells: Role of NOD1 Receptors. PLoS One, 9: e91119. IF 3,234
13. Bagyura Z, Szelid Z, Soós P, Szenczi O, Maurovich-Horvát P, Édes E, Lux Á, Polgár L, András Z, Tátrai A, Józán P, Merkely B. (2012) Magyarországi primer preventációs populációs felmérés: Budakalász Epidemiológiai Vizsgálat előzetes eredmények. Orvostudományok, 87: 102-108.
14. Kalman M, Mahalek J, Adorjan A, Adorjan I, Pocsai K, Bagyura Z, Sadeghian S. (2011) Alterations of the perivascular dystrophin-dystroglycan complex following brain lesions. An immunohistochemical study in rats. Histol Histopathol, 26: 1435-1452. IF 2,480
15. Soós P, Schmack B, Istók R, Polgár L, Bagyura Zs, Veres G, Merkely B, Szabó G, Weymann A. (2011) Szövetépítés egész szíven, Cardiologia Hungarica, 41: 373-378.



16. Szelid Zs, Soós P, Bagyura Zs, Merkely B. (2011) Személyre szabott medicina a kardiológiában. Orvostudományok, 86: 111-114.
17. Bagyura Z, Pocsai K, Kalman M. (2010) Distribution of components of basal lamina and dystrophin-dystroglycan complex in the rat pineal gland: differences from the brain tissue and between the subdivisions of the gland. *Histol Histopathol*, 25: 1-14. IF 2,502
18. Pocsai K, Bagyura Z, Kalman M. (2010) Components of the basal lamina and dystrophin-dystroglycan complex in the neurointermediate lobe of rat pituitary gland: different localizations of beta-dystroglycan, dystrobrevins, alpha1-syntrophin, and aquaporin-4. *J Histochem Cytochem*, 58: 463-479. IF 2,381

## 10. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Prof. Dr. Merkely Béla tanár úrnak, hogy a Semmelweis Egyetem PhD hallgatójaként részt vehettem a Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika kutatómunkájában.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Dr. Kiss Lorettának, volt TDK hallgatónak és jelenleg kutatótársamnak, hogy áldozatos munkájával mindvégig segítette kutatásaimat.

Köszönet illeti Dr. Hirschberg Kristófot és Dr. Széplaki Gábort, akik nélkül az ebben a dolgozatban bemutatott eredmények nem jöhettek volna létre.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Soós Pálnak és Dr. Szelid Zsoltnak, akik mindig készen álltak kérdéseim megválaszolására, és nagy türelemmel kísérték végig munkámat.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani feleségemnek Dr. Bagyuráné Dr. Frank Veronikának és gyermekeimnek, hogy kitartottak mellettem támogató szeretetükkel.