

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

AZ ATHEROSCLEROSIS SÚLYOSSÁGÁNAK ÉS KLINIKOPATOLÓGIAI JELLEGZETESSÉGEINEK VIZSGÁLATA STROKE BETEGEKEN

Dr. Molnár Sándor



Témavezető:

Dr. Csiba László

Debreceni Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2010

Impresszum

Az atherosclerosis súlyosságának és klinikopatológiai jellegzetességeinek vizsgálata stroke betegeken

Debreceni Egyetem, Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Prof. Dr. Csiba László, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora

Tagok: Dr. Soltész Pál, PhD.

Prof. Dr. Entz László, PhD.

Az értekezés bírálói:

Dr. Páll Dénes, Ph.D.

Dr. Kovács Judit Ph.D.

A bírálóbizottság:

Elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora

Tagok: Dr. Páll Dénes, Ph.D.

Dr. Kovács Judit Ph.D.

Dr. Soltész Pál, PhD.

Prof. Dr. Entz László, PhD.

Az értekezés védésének időpontja: 2010. június 28. 13 óra, I. sz. Belgyógyászati Klinika tanterme

1. BEVEZETÉS

Az agyi érbetegség a fejlett országokban a halálhoz és tartós rokkantsághoz vezető leggyakoribb betegségek egyike. A coronariabetegekkel ellentétben - akiknek 70-80%-a képes a korábbi munkáját végezni - a stroke-ot túlélők 10-20%-a élete végéig teljes ellátásra, 30-40%-uk mindennapi életvitelében segítségre szorul. A kialakult stroke specifikus kezelése az egyre szaporodó lehetőségeink ellenére csak a betegek egy részénél lehetséges és csak a kezelték egy részénél eredményes. A primer és szekunder vascularis prevenció célja a stroke, a szívinfarktus, valamint az egyéb területi érszűkület miatti események és halálozás megelőzése a rizikófaktorok felismerése és megfelelő kezelése révén. A rizikóbecslésre ezért egyre fontosabb szerep hárul a stroke és egyéb vascularis prevencióban.

A stroke legfontosabb befolyásolható rizikófaktorai a hypertonia, hyperlipidaemia, diabetes mellitus, az arteria carotisok stenosisa és a dohányzás, melyek az atherosclerosis folyamatán keresztül vezetnek az agyi érkatasztrófához. Az atherosclerosis folyamata generalizált, megjelenési formája, érrendszeren belüli eloszlása egyénenként változik. Az ischaemiás események prognózisa rosszabb azon betegekben, akiknek több érterületében is szignifikáns atheroscleroticus elváltozások találhatók. Az egyes érterületekben mutatkozó atheroscleroticus folyamatok közötti szoros összefüggéseket számos vizsgálat eredményei bizonyítják. Az újabb kutatások az atherosclerosis folyamatában a gyulladás jelentőségét hangsúlyozzák. A fertőző ágensek között szeroepidemiológiai vizsgálatok alapján a *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori* és a Cytomegalovirust hozták összefüggésbe az atherosclerosis-sal, melyek közül *Chlamydia pneumoniae* kiemelt fontosságú.

1.1. Az intima-media vastagság (IMT) jelentősége, vizsgálata

Az arteria carotisok testfelszínhez közeli elhelyezkedésük miatt jól vizsgálhatók ultrahanggal. A módszer non-invazív, bármikor ismételhető, nincs ionizáló sugárterhelés, a szűkületek és egyéb patológiás érelváltozások gyakorlott vizsgálóval nagy pontossággal, kvantitatíve is meghatározhatók. Modern, nagy felbontású készülékek B-mode képein az érfal tunica intima és tunica media rétegei kettős vonalként ábrázolhatók. Az intima-media vastagságot (IMT) definíció szerint az ultrahang transducertől távolabbi érfalon a lumen és az első echogén vonal (lumen- intima határ) valamint a második echogén réteg (adventitia felső rétege) között mérjük. Az arteria carotis communisban mért IMT-t az atherosclerosis korai markerének tekintik, mely cardiovascularis rizikófaktorokkal, illetve a cardiovascularis és cerebrovascularis események valószínűségével is korrelál. Prospektív vizsgálatok szerint az

emelkedett IMT már fiatal korban is független jelzője a vascularis eseményeknek. A magasabb IMT értékek és a recurrens stroke rizikója között is összefüggést találtak. A mérési technika standardizálásával az ismételt mérések alkalmasak a korai atheroscleroticus folyamatok és az azt befolyásoló tényezők, gyógyszerek hatásának követésére is.

1.2. A *Chlamydia pneumoniae* szerepe az atherosclerosisban

Újabb ismereteink szerint a klasszikus rizikófaktorok mellett a gyulladás is igen fontos szerepet játszik az atherosclerosis folyamatában, különösen a kezdeti intima sérülés, majd intima hyperplasia létrejöttében, később a plakk-destabilizációban. Az endotheliumot vagy az atheroscleroticus plakkokat infiltráló macrophagokat megfertőzni képes kórokozóról feltételezik, hogy az artériák intima és media rétegeiben beindítják és fokozzák a gyulladásos folyamatokat. A *Chlamydia pneumoniae* egy intracellularis baktérium, mely a légutakon át bejutva a keringő macrophagokkal terjed a szervezetben és az endotheliumot, sőt az atheroscleroticus plakkok közelében lévő simaizom-sejteket is képes megfertőzni. A kórokozót az atheroscleroticus plakkokból is kimutatták immunhisztokémiai és polimeráz láncreakció (PCR) módszerrel. Carotis endarterectomiából származó mintákból és boncolás során eltávolított erekből 15-55%-os sikerrel mutatták ki.

1.3. Érfali kalcifikáció

Az atherosclerosis folyamata évtizedek óta intenzív kutatás tárgya. A kalcifikáció a folyamat egyik legfontosabb tényezője, mely kalcium foszfát lerakódásával jár. Az atherosclerosis és a mészlerakódás is progredial az életkorral. A carotisokban az atheroscleroticus plakkok által okozott szűkület súlyossága jól korrelál a stroke rizikóval, ennek ellenére a carotisok kalcifikációja és a stroke rizikó között ellentmondó összefüggéseket találtak. A meszes plakkok lényegesen stabilabb szerkezetűek és kevésbé hajlamosak embolizáció vagy plakk ruptura útján ischaemiás stroke-ot okozni, mint a nem kalcifikált lágy vagy fibrosus plakkok. A meszesedés mértékét korábbi vizsgálatokban az atheroscleroticus plakkokban mérték, míg az atherosclerosis korai stádiumában zajló mészlerakódásról kevés adat áll rendelkezésre. A depozitumok érfalon belüli lokalizációja értípusonként változhat. A kalcium tartalom meghatározása *in vivo* electronsugár CT, valamint MR technikákkal lehetséges. Szövettani mintákban a kalcium koncentráció és lokalizáció meghatározására többféle módszer ismert: Raman spektroszkópia, „inductively coupled plasma atomic emission spectrometry”, valamint a „particle induced X-ray emission”, vagy PIXE módszer. Az utóbbi jól alkalmazható

biológiai mintákban a makro- és nyomelemek meghatározására és a precíz kvantitatív mérések mellett a lokalizációt is nagy pontossággal meghatározza.

1.4. A különböző érterületek atherosclerosisának kapcsolata

Az atherosclerosis generalizált folyamat. A kezdeti diffúz endothelialis dysfunctionhoz később atheroscleroticus elváltozások, majd tünetes vagy néma thrombotikus, thromboemboliás szövődmények társulhatnak. A folyamat regionális eloszlása a szervezeten belül nagy egyéni variációt mutat. Több érterület együttes érintettsége figyelmet érdemlő állapot, mivel az ilyen betegekben a cardiovascularis események valószínűsége jóval nagyobb, mint az egy, izolált érterület betegségében szenvedőkben. Non-invazív vizsgáló módszerekkel könnyen hozzáférhető indikátor ereket sok klinikai vizsgálatban alkalmaznak. Az arteria carotis communis (ACC) atheroscleroticus elváltozásait alkalmasnak tartják a teljes érrendszer atheroscleroticus terheltségének jellemzésére. Az utóbbi években igen népszerű módszer az arteria carotis communis IMT mérése. Ennek bevezetése előtt az arteria carotisok atherosclerosisának mértékét az erekben mért szűkület súlyosságával jellemezték (angiográfiás, MR-angiográfiás és ultrahang vizsgálatokkal). Az artériák szűkületének mértéke azonban csak az érbetegség késői stádiumáról informál. A mért IMT értékek anatómiai, hisztológiai, patológiai értelmezése, validálása számos problémát vetett fel. Az arteria carotis communis IMT-t a coronaria és a femoralis artériák stenosisának súlyosságával és a cardiovascularis események kimenetelével hozták összefüggésbe. A korábbi vizsgálatok eredményei ellentmondásosak. Két vizsgálatban csak gyenge korrelációt találtak az arteria carotis vagy femoralis IMT és a coronaria betegség súlyossága között, míg mások szerint az arteria femoralisban mért IMT biztosabban jelzi a coronaria betegséget, mint akár az arteria carotis communisban, akár a carotis bulbisban mért IMT. Egy vizsgálatban szignifikáns korrelációt találtak a carotis bulbis- IMT és a coronaria betegség között, azonban sem az arteria carotis communis- IMT, sem a femoralis- IMT nem korrelált a vizsgált coronaria szakaszok stenosisával. Különböző, coronaria betegekben végzett vizsgálatokban az arteria femoralisok atheroscleroticus elváltozásai szorosabban korreláltak a coronaria betegséggel, mint a carotisokban talált elváltozások. A több esetben ellentmondó irodalmi adatok értelmezését tovább nehezíti, hogy az IMT és az artériákban található plakkok, azok száma, vagy összterülete alapján számított értékek az atherosclerosis egymástól különböző típusú markerei. Míg az IMT a korai érfali elváltozásokat jellemzi és definíciója szerint plakkmentes

érfal szakaszon mérjük, addig a plakkok száma, kiterjedése és az okozott szűkület mértéke már az atherosclerosis egy jóval előrehaladottabb stádiumát írja le.

A fentiekben felsorolt ellentmondásos, nehezen egységesíthető adatok vezették arra munkacsoportunkat, hogy tanulmányozzuk az atherosclerosis súlyosságát a coronaria, a carotis és a femoralis artériákban, klinikai szempontból fontos összefüggéseket keresve. A vizsgálat tervezésekor arra törekedtünk, hogy patológiai módszert válasszunk, mely kiküszöböli az *in vivo* módszerek hátrányait (pl. hangárnyék az ultrahang vizsgálatnál, 2 dimenziós ábrázolás az angiográfiánál) és az atherosclerosis minden stádiumát kvantitatív módon írja le, valamint az az egyes érterületek különböző méretű artériáin talált elváltozások egymással összehasonlíthatók.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Később fatális kimenetelű stroke miatt kezelt idős betegekben *in vivo* a cardiovascularis rizikófaktorokat, a carotis communis intima media vastagságát (IMT) és a *Chlamydia pneumoniae* szerológiát vizsgáltuk. Haláluk után az eltávolított carotisok plakkjaiban polimeráz láncreakcióval (PCR) kerestük a *Chlamydia pneumoniae* DNS jelenlétét és az arteria carotisok falvastagságát határoztuk meg.
 - a. A carotis communis IMT (mint atherosclerosis marker) és az atherosclerosis rizikófaktorai - elsősorban a *Chlamydia pneumoniae* infekció szerológiai markerei - közötti összefüggéseket vizsgáltuk. Van-e szerepe a *Chlamydia pneumoniae* infekciónak az atherosclerosis folyamatában?
 - b. Az arteria carotis communisban *in vivo* mért IMT és az arteria carotis ágakban *post mortem* észlelt atheroscleroticus elváltozások közötti összefüggéseket vizsgálva arra kerestük a választ, mennyire jellemzi az IMT a carotisok atherosclerosisának súlyosságát.
 - c. Az eltávolított arteria carotis internák plakkjaiban a *Chlamydia pneumoniae* DNS jelenlétét kerestük, melyet az *in vivo* nyert serológiai adatokkal, az a. carotis communis IMT-vel, továbbá a *post mortem* mért átlagos falvastagsággal korreláltatva a *Chlamydia pneumoniae* atherosclerosisban betöltött szerepét vizsgáltuk.

2. Az arteria carotis communisban *in vivo* mértük az IMT-t, majd összevetettük a *post mortem* ugyanazon érszakaszokból készített keresztmetszeti szeletekben a részecske indukált röntgenemisszió (PIXE) módszerrel mért érfali kalcium tartalommal. Arra kerestük a választ, hogy a non invazív vizsgálattal mért IMT mennyire jelzi atherosclerosis korai stádiumában kialakuló érfali kalcifikációt. A PIXE módszerrel készült képeken az érfalon belüli kalcifikáció lokalizációját vizsgáltuk, melyik érfali rétegben jelentkezik legintenzívebben a kalcium lerakódás.
3. Az arteria carotisokban, coronariákban és femoralisokban észlelhető atheroscleroticus elváltozások súlyosságát és eloszlását hasonlítottuk össze *post mortem*, kvantitatív patológiai módszerekkel stroke-ban elhunyt betegekben. Vizsgáltuk, hogy az egyes érterületek atherosclerosisának súlyossága mennyire jellemzi a többi terület elváltozásait, a generalizált atherosclerosis jól vizsgálható, megbízható marker artériáját keresve a klinikum számára.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Vizsgált betegcsoportok, vizsgálati minták

Az értekezés tárgyát képező mindhárom vizsgálatunkba a Debreceni Neurológiai Klinikán súlyos, várhatóan fatális kimenetelű ischaemiás stroke miatt kezelt betegeket válogattuk be. Az életkor alsó határa 50 év volt. A vérzéses és a feltételezhetően ritka okra (pl. thrombophilia) visszavezethető stroke-ban szenvedő betegeket kizártuk a tanulmányból. Mivel a gyulladásos paraméterek és a Chlamydia pneumoniae infekció vizsgálata is a tanulmány részét képezte, ezért a felvételnél, illetve 48 órán belül pneumóniában és egyéb súlyos infekcióban (sepsis) szenvedőket is kizártuk. A vizsgálatokat a DEOEC Klinikai Etikai Bizottsága engedélyezte.

3.1.1. Az IMT, a Chlamydia infekció és a carotis atherosclerosis kapcsolatának vizsgálata

Összesen 67 stroke beteget vizsgáltunk (átlagéletkor: 77,2 év; férfi/nő: 27/40). 57 esetben mind az *in vivo* IMT mérést, mind a Chlamydia antitest titerek meghatározását elvégeztük, 5 esetben csak az IMT mérés, 2 esetben csak az antitesttiter mérés történt meg, további 3 beteg esetében csak a *post mortem* vizsgálatokat sikerült elvégezni. A betegek klinikai felvételekor

részletes anamnézis felvétel történt, különös tekintettel a vascularis rizikófaktorokra, majd 48 órán belül részletes laboratóriumi vizsgálatokra vért vettünk, melynek része volt a C-reaktív protein (CRP) mérése. A *Chlamydia pneumoniae* ellenes IgA és IgG antitesttiter meghatározáshoz serum mintákat fagyasztottunk. 62 betegnél elvégeztük a részletes carotis duplex ultrahang vizsgálatot a kétoldali intima-media vastagság (IMT) méréssel az arteria carotis communisokban.

A vizsgált betegek közül 40 elhunyt a stroke és szövődményei következtében, a halálok 25 esetben pneumónia volt. Az eltávolított arteria carotisok oszláshoz közeli régiójában található jellegzetes atheroscleroticus plakkokban polimeráz láncreakcióval (PCR) *Chlamydia pneumoniae* specifikus DNS jelenlétét kerestük.

3.1.2. Az érfali kalcium tartalom vizsgálata

Három beteg esetében (átlagéletkor: 85,6 év; férfi/nő: 1/2) a kétoldali arteria carotisokon *in vivo* elvégzett és videószalagra rögzített részletes carotis duplex ultrahang vizsgálat és arteria carotis communis IMT mérés után *post mortem* meghatároztuk az érfalak kalcium tartalmát és annak lokalizációját PIXE módszerrel.

3.1.3. A különböző érterületek atherosclerosisának patológiai összehasonlítása

Hatvanhét ischaemiás stroke-os betegből elhunyt 40 beteg (átlagéletkor: 75,3 év; férfi/nő: 21/19) carotis, coronaria és femoralis artériáit vizsgáltuk. A kórházi felvételnél a részletes anamnézis felvétel és a vérminták laboratóriumi vizsgálata történt a cardiovascularis rizikófaktorok és társbetegségek feltérképezése céljából. A halált követő boncolás során mindkét oldali arteria carotis communis (ACC) az arteria carotis externa (ACE) és arteria carotis interna (ACI) oszláshoz közeli 2-3 cm-es szakaszával együtt *in toto* eltávolítottuk. A kétoldali arteria femoralist is eltávolítottuk hasonló módon, egy darabban. A ligamentum inguinalétól az arteria profunda femoris (APF) leágazásáig terjedő szakaszt arteria femoralis főtörzsnek (AFF), ennek oszlás alatti folytatását az angol nyelvű elnevezés analógiájára arteria femoralis superficialisnak (AFS) neveztük az egyes szakaszok pontos megkülönböztethetősége céljából. A vizsgált coronaria szakaszok a ramus interventricularis anterior arteriae coronariae sinistrae (RIA) és az arteria coronaria dextra (ACD) főtörzs voltak.

3.2. Módszerek

3.2.1. Intima-media vastagság (IMT) mérése

Az arteria carotisok részletes neurosonológiai vizsgálatát és az IMT mérést a betegek klinikai felvételét követő 48 órán belül SONOS 4500 készülékkel, 3-11 MHz-es lineáris transducerrel végeztük el. Standard körülmények között mindkét oldali arteria carotis communisban az meghatároztuk intima-media vastagságot. A méréseket az arteria carotis communisok oszlástól 10 mm-re caudalisan lévő, plakkmentes szakaszán, a transducertől távolabb eső érfalon, end-diastoleban végeztük. Az IMT-t a definíció szerint a lumen – intima határfelület első echogen vonala és a második echogen vonal (az adventitia belső rétege) között mértük. Minden ér esetében 3-3 mérés történt a transducer egymással kb. 90 fokos szöget bezáró anterior és lateralis pozíciójában. Erenként 6, betegenként 12 IMT értéket kaptunk. Az ultrahang vizsgálatokat videoszalagra rögzítettük.

3.2.2. *Chlamydia pneumoniae* ellenes antitestek vizsgálata

A szerológiai vizsgálatok a klinikai felvételnél levett és lefagyasztott szérum mintákból az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben történtek. A *C. pneumoniae* külső membrán proteinre (OMP) specifikus IgG és IgA antitesteket ELISA módszerrel mutattuk ki.

3.2.3. *Chlamydia pneumoniae* DNS kimutatása a carotis plakkokban polimeráz láncreakcióval (PCR)

Az elhunyt betegek carotis oszlásban elhelyezkedő típusos atherosclerotikus plakkjaiból származó minták vizsgálata az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben történt. A DNS-t a mintákból extraháltuk, majd a *Chlamydia pneumoniae* külső membrán proteint (OMP) kódoló szekvenciákat nested PCR technikával sokszorozítottuk. A PCR termékeket agaróz gél elektroforézissel vizualizáltuk.

3.2.4. Az érfali kalcium tartalom vizsgálata részecske indukált röntgenemisszió (PIXE) módszerrel

Az eltávolított arteria carotis communisok IMT mérésben szereplő szakaszait közvetlenül az eltávolítás után sebészi fonállal megjelöltük az ultrahang szondák elhelyezkedésének megfelelő (anterior és lateralis) pontokon, az ultrahang képekkel történő összehasonlíthatóság céljából. A jelölés után az erek ágait lekötve szövettani beágyazó anyaggal (Cryochrome Blue; Thermo Shandon, Pittsburgh, PA, USA) töltöttük fel őket, majd -25°C-ra lefagyasztva a korábbi IMT mérésben szereplő szakaszokból 60 µm vastag szeleteket készítettünk

microtommal. Ezen szeleteket Pioloform membránok közé ágyazva készítettük elő a PIXE mérésekhez, gondosan megjelölve rajtuk az IMT mérés referencia pontjait.

A PIXE vizsgálatok a Magyar Tudományos Akadémia Atommagkutató Intézetének Ionnyaláb-Alkalmazások Laboratóriumában történtek, az 5 MV-os Van de Graaff gyorsítóhoz csatolt nukleáris mikroszondán. A mintákban lévő elemek karakterisztikus röntgenvonalainak gerjesztéséhez 2 MeV energiájú és 70-100 pA áramú protonnyalábot használtak. A nyalábot $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ területű foltra fókuszálták és a vizsgált területeket ($1,25 \times 1,25 \text{ mm}^2$) végig pásztázták. Minden vizsgált szelet két, egymástól 90° -ra elhelyezkedő részletét vizsgálták, a jelölésekkel szemben, az *in vivo* IMT méréseknek megfelelő érfal-pontokon. A PIXE spektrumokat hagyományos berillium ablakos, valamint egy ultravékony ablakos Si (Li) detektorral vették fel. Pásztázó transzmissziós ionmikroszkópiát (STIM) alkalmaztak a minták energiaelnyelésének meghatározásához, mely a mintán belüli elemek koncentrációjának kiszámításához szükséges. A valós kalcium elem térképek elkészítése és az abszolút kalcium koncentrációk számítása a PIXEKL programcsomagon alapuló True PIXE imaging programmal történt. A vizsgált szakaszokból szövettani metszeteket készítettünk, hematoxin-eozin festés után fénymikroszkóppal is áttekintettük. A szövettani metszeteket, videoszalagról az ultrahang- képeket és a PIXE módszerrel készült képeket összehasonlítva győződünk meg a mérési pontok azonosságáról 2 vizsgáló egyetértésével.

3.2.5. Az eltávolított erek atherosclerosisának post mortem vizsgálata

Az eltávolított natív ereket kipreparáltuk, majd a végeket és a kisebb ágakat lekötöttük, nyomás alatt az élőben találhatóhoz hasonló állapotban szövettani beágyazó anyaggal légmentesen feltöltöttük, majd -25°C -on lefagyasztottuk és a bifurcációtól, mint 0 ponttól mért 3mm vastag szeletekre vágtuk. Erenként átlagosan 5-8 szeletet sikerült készíteni. A fagyasztott érszeletek vágási felületeit 3040×2016 pixel felbontású, makró optikával felszerelt professzionális digitális fényképezőgéppel fotóztuk, a kalibráláshoz az erek mellé milliméterpapírt helyezve. A képeket planimetriás terület- és kerület-meghatározásnak vetettük alá egy tudományos képanalizáló szoftverrel (Image-J; Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA). A mérés során az alábbi paramétereket határoztuk meg: lumenkeresztmetszet (mm^2), érkeresztmetszet (mm^2), lumenkerület (mm), érkerület (mm), maximális falvastagság (mm), minimális falvastagság (mm), illetve további 2 helyen mért falvastagság (egyenlő távolságra a maximális és a minimális falvastagság mérések helyeitől). A méréseket az összes értékelhető érszeleten

elvégeztük. Az elzáródott ereket a mérési adatok értelmezhetetlen volta miatt kizártuk a mérésekből. Tekintettel arra, hogy a mérések natív, fagyasztott mintákon történtek és a plakkok határa szövettani festés hiányában a legtöbb esetben nem volt biztonsággal meghatározható, plakk területet nem mértünk. Az érseleteken mért primer adatokból az alábbi származtatott paramétereket számítottuk:

1. *Átlag falvastagság (mm)*: egy érátmetszeten belül a 4 falvastagság-mérés átlaga
2. *Relatív érfal terület*: (ér keresztmetszet - lumen keresztmetszet) / ér keresztmetszet
3. *Hosszanti érfal-egyenetlenség*: egy éren belüli maximális falvastagság / egy éren belüli minimális falvastagság
4. *Keresztmetszeti érfal-egyenetlenség*: $\sum_{i=1}^4 |\text{átlag falvastagság} - \text{falvastagság}_i| / 4$
5. *Számított átlag falvastagság (mm)*: ér terület / 2π - lumen terület / 2π
6. *Érfal index*: átlag falvastagság / (ér terület / 2π)
7. *Atherosclerosis index*: relatív érfal terület * keresztmetszeti érfal-egyenetlenség * hosszanti érfal-egyenetlenség

A paraméterek az atheroscleroticus elváltozások különböző jellegzetességeit jellemzik. Az 1.-6. paraméterek a lokális érfal elváltozásokat írják le egy érseleten, illetve egy-egy érszakasz hosszán belül. Az *Atherosclerosis indexet* olyan paraméterekből származtattuk, melyek mind relatív, mértékegység nélküli értékek, ezáltal kiküszöbölik a méretbeli különbségeket, így biztosítva a különböző lokalizációjú és méretű erek összehasonlíthatóságát.

3.3. Statisztikai elemzés

Az IMT-t, Chlamydia infekciót és carotis atherosclerosist összehasonlító vizsgálatban a két, kategorikus mérés közötti összefüggéseket kappa teszttel vizsgáltuk. A kategorikus változók folyamatos függő változókra gyakorolt hatását non-parametrikus Mann-Whitney teszttel vizsgáltuk. A folyamatos változók közötti összefüggésekhez Spearman korrelációs tesztet használtuk.

Az IMT és érfali kalcium tartalom vizsgálatában a folyamatos változók normalitását Saphiro-Wilk teszttel ellenőriztük. Mivel a változók nem voltak normál eloszlásúak, Spearman korrelációs és Friedman ANOVA teszteket használtunk.

A különböző érterületek atherosclerosisának patológiai összehasonlítása során a számított paraméterek a Saphiro- Wilk teszt alapján itt sem voltak normál eloszlásúak, emiatt a különböző érterületek paramétereit Spearman teszttel korreláltattuk és a különbségeiket Friedman ANOVA próbával vizsgáltuk. A kategórikus változók (betegek neme, bal kamra hypertrophia) hatását non-parametrikus Mann-Whitney U teszttel vizsgáltuk. A rizikófaktorok és egyéb klinikai adatok befolyásoló hatásának vizsgálatára többszörös lineáris regresszió analízist végeztünk.

Minden vizsgálatban a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak. A statisztikai elemzéseket Statistica for Windows 6.1 (StatSoft, Tulsa, OK, USA) programmal végeztük.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Az IMT, a *Chlamydia* infekció és a carotis atherosclerosis kapcsolatának vizsgálata

Huszonhét férfit és 40 nőt vizsgáltunk. A férfiak szignifikánsan fiatalabbak voltak, mint a nők (74 vs. 79 év, $p = 0,009$). A stroke- rizikófaktorok gyakorisága az alábbiak szerint alakult: hypertonia 79%, diabetes mellitus 42%, dohányzás 10%, coronariasclerosis 69%, symptomás arteria carotis stenosis 24%. Az arteria carotis communisban mért IMT átlagértékek a hypertóniával (0,9 vs. 0,83 mm $p = 0,024$) és az életkorral (Spearman $r = 0,25$, $p = 0,05$) mutattak összefüggést. Az IMT irregularitásának, így az érfal egyenetlenségének jellemzésére betegenként meghatároztuk az IMT standard deviációját. Ennek értéke az a. carotis communisban magasabb volt a hypertóniás, mint a normotensiós betegekben (0,13 mm vs. 0,09 mm; $p = 0,024$).

A *Chlamydia pneumoniae* infekció *in vivo* diagnózisához a nagy specificitású, *Chlamydia* külső membrán protein (OMP) ellenes IgG és IgA antitesteket használtuk. Az egyén élete során átvészelt fertőzést jelző IgG a vizsgáltak 73%-ában, 43 betegben volt pozitív. A közelmúltbeli vagy jelenleg is zajló fertőzésre utaló IgA antitesteket 29 esetben (49%) tudtunk kimutatni. Az IgA pozitív betegekben a CRP nem szignifikánsan, kissé magasabb volt, mint az IgA negatív betegekben (57,0 vs. 37,5 mg/l, $p = 0,43$). Az IgG pozitív és IgG negatív betegekben mért IMT értékek nem különböztek egymástól (0,91 vs. 0,9 mm, $p = 0,86$), ahogyan az IgA pozitív és IgA negatív egyének értékei sem mutattak szignifikáns különbséget (0,88 vs. 0,9 mm, $p = 0,53$). Hasonlóan, az IMT irregularitása sem korrelált sem az IgG, sem az IgA antitestek jelenlétével. Fentiek alapján tehát a *Chlamydia pneumoniae* infekció

szisztémás markerei nem mutattak összefüggést az a. carotis communis atherosclerosisának *in vivo* markereivel.

A carotisok atherosclerosisát és *Chlamydia pneumoniae* fertőzöttségét *post mortem*, 40 elhunyt betegben vizsgáltuk. A három arteria carotis ágban meghatározott *Átlag falvastagság* és az *in vivo* mért arteria carotis communis IMT szignifikánsan korrelált az arteria carotis communis és az arteria carotis externa esetében, míg az arteria carotis interna nem mutatott szignifikáns korrelációt (ACC: $r=0,51$ $p=0,002$; ACE: $r=0,58$ $p<0,001$; ACI: $r=0,34$ $p=0,052$). Az IMT és a falvastagság irregularitása (SD) csak az arteria carotis communis esetében korrelált (ACC: $r=0,34$ $p=0,045$; ACE: $r=0,2$ $p=0,24$; ACI: $r=0,3$ $p=0,078$).

Chlamydia pneumoniae specifikus DNS jelenlétét az oszlás közelében az arteria carotis communisban vagy az internában található jellegzetes, atheroscleroticus plakkokból a vizsgált 39 betegből 21 esetben (54%) sikerült igazolni PCR módszerrel. A DNS jelenléte csaknem szignifikáns összefüggést mutatott az IgA jelenlétével (kappa érték: 0,357, $p=0,058$). A *Chlamydia pneumoniae* specifikus DNS jelenléte nem korrelált szignifikánsan sem az IMT - vel (0,93 vs. 0,95 mm, $p=0,46$), sem a *post mortem* mért átlagos érfalvastagsággal egyik carotis ág esetében sem (ACC: 1,36 vs. 1,37 mm, $p=0,95$; ACI: 1,00 vs. 0,97 mm, $p=0,74$; ACE: 0,93 vs. 0,83 mm, $p=0,2$). Szintén nem volt szignifikáns összefüggés a DNS kimutathatósága és az érfal vastagság irregularitása között.

4.2. Az érfali kalcium tartalom vizsgálata

Ebben a vizsgálatban három, ischaemiás stroke-ban elhunyt beteg kétoldali arteria carotis communisait vizsgáltuk. *In vivo* IMT mérés történt, majd *post mortem* az érfali kalcium tartalmat mértük PIXE módszerrel. Erenként két ponton történt IMT és PIXE mérés, emiatt 12 mintát kaptunk. A 12 minta elemi kalcium tartalmának átlaga 6578 ± 3806 (átlag $\pm$ SD) ppm-nak adódott, az IMT átlaga $1,0 \pm 0,37$ mm (átlag $\pm$ SD) volt. Az egyedi minták átlagos össz- kalcium tartalmának és IMT értékének korreláció vizsgálata nem igazolt szignifikáns összefüggést (Spearman $r = 0,545$; $p= 0,066$). A PIXE módszerrel meghatározott eredeti, nagy felbontású kalcium eloszlási térképeket 16x16 pixel felbontású egyenlő részekre osztottuk. Minden pixelben meghatároztuk a területére eső kalcium tartalmat. Minden egyes minta kalcium elemtérképében a pixelek kalcium tartalmát quartilisekre osztottuk, majd meghatároztuk a *Felső Quartilis Alsó Határértékét*, és ezt használtuk a további elemzés során. A *Felső Quartilis Alsó Határértéke* szignifikáns korrelációt mutatott az IMT értékekkel (Spearman $r= 0,69$; $p= 0,01$). A 12 minta összes pixelét (12x16x16) egyesítve meghatároztuk

az egyesített quartiliseket. Az egyes mintákban a kalcium lerakódás jellemzésére meghatároztuk az *Egyesített Felső Quartilis_{a 12}*-ba eső pixelek számát, mely szintén szignifikánsan korrelált az azonos érmintákban mért IMT értékekkel (Spearman $r = 0,66$; $p = 0,02$).

Az $1,25 \times 1,25 \text{ mm}^2$ méretű elemi kalcium eloszlási térképek széle a 12-ből 8 esetben volt megközelítően párhuzamos az intima - lumen határfelülettel. Ebben a 8 mintában a pixelekből 16 réteget képeztünk az intima irányából az adventitia felé haladva, majd meghatároztuk a rétegenkénti átlagos kalcium tartalmat. A rétegek átlag kalcium tartalmát egyenlőtlen eloszlásúnak találtuk (Friedman ANOVA, $p < 0,0001$). A 8 minta átlagos IMT értékét ($0,90 \pm 0,14 \text{ mm}$), a rétegek vastagságát ($1,25/16 = 0,078125 \text{ mm}$) és a legmagasabb kalcium tartalmat mutató 11. réteg mélységét ($0,859 \text{ mm}$) figyelembe véve megállapítottuk, hogy az artériák falán belül elsősorban a tunica mediában rakódott le a kalcium. Ennek megerősítésére a 8 mintára is meghatároztuk az *Egyesített Felső Quartilis_{a 8}*-ba eső pixelek számát. Ez alapján is megállapítottuk, hogy az érfal tunica mediájának megfelelő rétegekben legmagasabb a kalcium tartalom.

4.3. A különböző érterületek atherosclerosisának patológiai összehasonlítása

Az ischaemiás stroke-ban elhunyt 40 beteg 489 artériáját (kb. 2400 érszelet) vizsgáltuk *post mortem*. Mivel szignifikáns különbséget találtuk az Átlag falvastagság és a Számított átlag falvastagság között, így a további elemzések során külön paraméterekként kezeltük őket. Spearman páronkénti összehasonlítást végeztünk a Számított átlag falvastagság, az Érfal index és az Atherosclerosis index (5. 6. és 7. paraméterek) esetében. Szignifikáns és következetes (mindhárom paraméter tekintetében egységesen szignifikáns) korrelációt találtunk az ACC és a RIA, az ACI és ACE, az ACI és APF, valamint az ACI és AFF elváltozásainak súlyossága között. Nem volt viszont szignifikáns összefüggés az ACC és az ACI atherosclerosisának súlyossága között. A legerősebb korrelációkat a három femoralis artéria paraméterei között találtuk (AFF-APF-AFS). Az APF és a RIA is mindhárom paraméterben következetesen korrelált, a korábbi megfigyelésekkel összhangban. Az arteria carotis externa mindhárom érterületből származó erekkel következetes korrelációt mutatott, ellentétben az arteria carotis communissal.

Az anamnézis és a boncolási adatok alapján megállapított ischaemiás szívbetegségben szenvedő 25 beteg adatait külön is elemeztük, hogy kiküszöböljük a súlyos koszorúér betegség eredményeket torzító hatását. Az alcsoportelemzés során ugyanazon korrelációk

bizonyultak szignifikánsnak, mint a teljes anyagban. A vascularis rizikófaktorok (diabetes, hypercholesterinaemia, dohányzás, hypertonia) és az egyéb releváns klinikopatológiai tényezők (nem, atherosclerosis obliterans, symptomás carotis stenosis, ISZB, a stroke TOAST besorolása) befolyásoló hatásának vizsgálatára többszörös lineáris regresszió analízist végeztünk. A korrelációk a ACC-RIA és az ACI-ACE párok kivételével változatlanok maradtak. A boncolás során diagnosztizált bal kamra hypertrophia (mely a fontos rizikófaktorok jelenlétének időtartamával függ össze) megléte vagy hiánya szerint képzett betegcsoportok *Atherosclerosis indexei* között nem találtunk szignifikáns különbséget, mely szintén a többszörös lineáris regresszió eredményét támasztja alá. Az atherosclerosis súlyosságában szignifikáns különbséget találtunk az egyes érterületek között.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. Az IMT, a *Chlamydia* infekció és a carotis atherosclerosis kapcsolatának vizsgálata

A vizsgálat újdonsága az összehasonlító, kliniko- patológiai megközelítés, mely során mind az atherosclerosis, mind a *Chlamydia pneumoniae* infectio *in vivo* és *post mortem* markereit hasonlítottuk össze egymással. Az atherosclerosis markerei közül az IMT az atherosclerosis korai fázisát jellemzi. Az általunk *post mortem* mért *átlag falvastagság* a finomabb, *in vivo* az IMT-vel jellemzett érfal-vastagodást és a makroszkópos, plakk képződéssel járó érfali elváltozásokat is magába foglalva jellemzi a vizsgált erekben jelenlévő atherosclerosis súlyosságát. Az érfalvastagság egyenetlensége ezzel szemben véleményünk szerint döntően a plakkok által okozott fali egyenetlenségek mérőszáma.

Az *in vivo* mért IMT és a *post mortem* mért *átlag falvastagság* az arteria carotis communis és az arteria carotis externa esetében jól korrelált, melyet magyaráz a falvastagság és az IMT fent említett összefüggése. Az IMT és a falvastagság irregularitása azonban csak az arteria carotis communis esetében mutatott gyenge korrelációt, mely a kéttípusú mérés által jellemzett elváltozások különbözőségét támasztja alá.

A klasszikus rizikófaktorok közül a hypertonia és az életkor gyakorolt szignifikáns hatást az IMT-re, mely a kis betegszám ellenére is validnak tartható, mivel egyezik a korábbi tanulmányok eredményével.

A *Chlamydia pneumoniae* IgG szeropozitívak aránya az általunk vizsgált betegek között (73%) megegyezik a hasonló korú átlagpopuláció adatával, míg az IgA pozitivitás (49%, az IgG pozitívak 67%-a) a más tanulmányokban leírtánál jóval magasabb. Utóbbi alapján arra következtethetünk, hogy az akut stroke-betegek között nagy arányban van jelen *Chlamydia pneumoniae* fertőzés. A *Chlamydia pneumoniae* jelenléte (IgA pozitivitás) és a szisztémás gyulladásos marker CRP között nem találtunk szignifikáns összefüggést. Ez is a szisztémás, akut *Chlamydia* fertőzés és annak pneumóniát okozó haláloki szerepe ellen szól a vizsgált stroke betegek esetében.

Sem az IgG, sem az IgA státusz nem gyakorolt hatást az IMT-re, ahogyan az IMT irregularitása sem korrelált sem az IgG, sem az IgA antitestek jelenlétével. Fentiek alapján tehát a *Chlamydia pneumoniae* infekció szisztémás markerei nem mutattak összefüggést az arteria carotis communisok atherosclerosisának *in vivo* markereivel.

A *Chlamydia* infekció lokális jelenlétét a legbiztosabb módszerrel, a *Chlamydia* specifikus DNS kimutatásával bizonyítottuk a vizsgált személyek 54%-ának atheroscleroticus plakkjaiban, mely az irodalmi adatokkal megegyező arány. Lokálisan a plakkokban a *Chlamydia* DNS jelenléte közel szignifikáns összefüggést mutatott az IgA jelenlétével, de nem mutatott szignifikáns összefüggést az IgG jelenlétével, mivel az IgG az élet során bekövetkezett átfertőződést jellemző, az IgA pedig a jelenleg is aktív fertőzésre adott szisztémás immunválaszt mutató szerológiai marker. Vizsgálatunkban a PCR és az IgA eredmények között talált közel szignifikáns összefüggés az alkalmazott DNS kimutatási módszer biológiai validitását sugallja. A *Chlamydia* DNS jelenléte sem az *in vivo*, sem a *post mortem* morfológiai markerekkel (IMT és falvastagság, ill. falegyenetlenség) nem mutatott összefüggést.

A *Chlamydia pneumoniae* gyakori kórokozó, mely érfali és gyulladásban résztvevő sejteket is képes megfertőzni. Egy metaanalízis szerint az okozati összefüggésre nincs bizonyíték, mivel a kórokozó és az atherosclerosis között összefüggést csak keresztmetszeti és nem követéses tanulmányokban találtak. Az általunk végzett keresztmetszeti tanulmányban a *Chlamydia pneumoniae* infekció szisztémás és lokális markereit is nagy arányban detektáltuk a vizsgált ischaemiás stroke-ot szenvedett betegcsoportban. A nagyarányú kimutathatóság ellenére a *Chlamydia pneumoniae* infekció nem korrelált az atherosclerosis súlyosságával. Ezek alapján vizsgálatunk sem támasztja alá a feltételezést, miszerint szoros kapcsolat van a *Chlamydia* infekció és az atherosclerosis folyamata között. Ezért a klinikai gyakorlatban az atheroscleroticus betegségben szenvedők gondozása során nem javasoljuk a *Chlamydia pneumoniae* szerologia vizsgálatát, illetve az antibiotikus kezelést addig, míg egyértelmű

tudományos eredmények alá nem támasztják a fertőzés és az atherosclerosis közötti kapcsolatot.

5.2. Az érfali kalcium tartalom vizsgálata

Tudomásunk szerint ez az első olyan vizsgálat, mely az *in vivo*, ultrahanggal mért IMT-t és *post mortem*, PIXE módszerrel meghatározott elemi kalcium eloszlási térképeket hasonlítja össze. Az IMT értékek és az ugyanazon érminták átlagos össz-kalcium tartalma közötti korreláció csak tendenciát jelzett, de nem volt szignifikáns (Spearman $r = 0,545$; $p = 0,066$). A PIXE térképeken látható igen egyenlőtlen kalcium eloszlás miatt azt is megvizsgáltuk, vajon a legkifejezettebb kalcifikációt mutató területek kalcium tartalma korrelál-e az IMT-vel. A 16x16 pixel felbontásúra alakított eloszlási térképek alapján számított *Felső Quartilis Alsó Határértéke_b*, valamint 12 minta összes pixelének adatait tartalmazó *Egyesített Felső Quartilis_{al2}*-ba eső pixelek száma (Spearman $r = 0,66$; $p = 0,02$) is szignifikánsan korrelált az azonos érmintákban mért IMT értékekkel. Egy hasonló összehasonlításban szignifikáns összefüggést találtak az arteria carotis communisban mért IMT és az elektronnyaláb CT-vel mért carotis mészlerakódás között. Véleményük szerint is az IMT jó jelzője az atheroscleroticus kalcifikációnak.

A kalcium lerakódás érfalon belüli lokalizációját 8 érmintán vizsgáltuk, melyeket 16 rétegre osztottunk. A rétegek kalcium tartalma szignifikánsan különbözött egymástól és a kalcium akkumuláció elsősorban a 4. és 11. rétegek között jelentkezett, mely az artériafal tunica mediájának felel meg. Ezt erősíti meg az *Egyesített Felső Quartilis_{as}*-ba eső pixelek száma is, mely szintén a tunica mediát reprezentáló rétegekben mutat legmagasabb kalcium tartalmat. Hasonló eredményre jutottak korábban a mellkasi aorta vizsgálatánál, ahol a kalcium lerakódás legkorábban a tunica mediában jelentkezett, az intima érintettségét csak idősebb életkorban észlelték.

Az IMT és a *post mortem* vizsgálatokhoz a minták kiválasztása során olyan érszakaszokat választottunk, melyekben nem voltak atheroscleroticus plakkok. A PIXE képek ennek ellenére kalcium lerakódást mutattak az érfalakban. A mintavételezési helyeken kívül a vizsgált erekben csak kisméretű, érdemi szűkületet nem okozó plakkokat találtunk, melyek mindegyike hyperechogén és homogén volt. A kis mintaszám és az egységesen kisméretű plakkok miatt az IMT és a plakk morfológia, valamint a szűkület súlyossága között nem tudunk összefüggést kimutatni. Ezen összefüggések vizsgálatára nagyobb elemszámú, prospektív vizsgálat szükséges.

Az atheroscleroticus kalcifikáció folyamata nem teljesen tisztázott, de az eddigi adatok szerint jól szervezett, szabályozott folyamat, mely a csontszövetben zajló folyamatokhoz hasonló. A nem differenciált vascularis simaizomsejtek játszanak benne központi szerepet, számos faktor hatására kalcium szekretáló sejtekké alakulhatnak, míg más faktorok gátolják az ilyen irányú differenciálódást. A csontosodásban is szerepet játszó faktorok közül a matrix vezikulumok, BMP-2, osteopontin, osteocalcin, kollagen I, mátrix glia protein, csont morfogén protein és a sialoprotein szerepe bizonyított. Az oxidált lipidek jelenléte igen fontos az érfal kalcifikációjában, melyek a csontszövetben gátolják a csontképződést, ezzel újabb bizonyítékot szolgáltatva a csont anyagcsere és az érlemezésedés folyamata közötti szoros kapcsolatra. Van olyan szélsőséges vélemény is, mely szerint az érfalban is a csontéhoz hasonló ásványianyag homeostasis működik és a kalcium leakódás pedig az osteoblast és az osteoclast szerű sejtek működése közötti egyensúly kóros szabályozás miatti megbomlására vezethető vissza. Vizsgálataink szerint a kalcium lerakódás már jóval az ultrahanggal detektálható plaque-képződés előtt megindul és elsősorban a tunica mediában kimutatható. A megvastagodott IMT az érfal tunica mediájában proliferálódó simaizomsejtek következménye is lehet. A simaizomsejtek kalcium szekretáló sejtekké differenciálódása a tunica mediában kalcifikációhoz vezet. Az általunk végzett keresztmetszeti vizsgálatban a PIXE módszer és ultrahang vizsgálat segítségével kimutattuk a korai kalcium akkumulációt a carotisok tunica media rétegében. Eredményeink szignifikáns összefüggést igazoltak az arteria carotis communisokban PIXE módszerrel mért érfali kalcium tartalom és az azonos érfal részleteken mért IMT között. Véleményünk szerint az általunk alkalmazott PIXE módszer alkalmas lehet az atherosclerosis korai stádiumát kutató tudományos vizsgálatokban az érfali kalcifikáció igen precíz, kvantitatív és lokalizációs követésére. Állatkísérletekben az atherosclerosis befolyásoló gyógyszerek (pl. statinok) hatásának vizsgálatában tartjuk leginkább ígéretesnek ezt a fizikai módszert a biológiai módszerekkel ötvözve. A humán atherosclerosis kutatásban inkább az *in vivo* is alkalmazható, non-invazív vizsgálmódszereknek (pl. elektronnyaláb CT) van jövője.

5.3. A különböző érterületek atherosclerosisának patológiai összehasonlítása

Arteria carotis communis

A teljes érhálózat atherosclerosisának becslésére leggyakrabban az arteria carotis communis (ACC) atheroscleroticus elváltozásait használják, mivel ez a legkönnyebben vizsgálható felszínhez közeli nagyartéria. Az ACC-ban mért IMT cardiovascularis eseményeket

prognosztizáló értékét is igazolták. A Cardiovascular Health Study-ban közel 6000 résztvevőn azt találták, hogy a vastagabb ACC-IMT cardiovascularis előzmények nélküli idősebb egyéneknél is magasabb szívinfarktus és stroke rizikóval társul. Egy másik vizsgálatban (több mint 6400 egyénben) az IMT és a Framingham risk score korrelált szignifikánsan. Ezen eredmények és korábbi tanulmányok miatt a carotis communis IMT-t a cardiovascularis betegségek kiegészítő markerének tekintik.

Egy vizsgálatban neurológiai osztályon elhunyt betegek boncolási anyagában szoros összefüggést találtak a coronariasclerosis előfordulási gyakorisága és az arteria carotisokban, vagy az egyéb, agyat ellátó erekben talált atherosclerosis súlyossága között. Más vizsgálatokban a carotis plakkok területét megbízhatóbb coronaria betegség indikátornak találták, mint az IMT-t. Vizsgálatunkban az arteria carotis communis atheroscleroticus markerei kizárólag a bal arteria coronaria RIA ágával korreláltak, de a rizikófaktorokra történt korrekció után ez az összefüggés sem bizonyult szignifikánsnak. A korábbi és a saját eredmények közötti ellentmondás magyarázható az atheroscleroticus elváltozások különböző megközelítésével. Míg az IMT a korai stádiumú plakkmentes érfal elváltozások markere, addig az általunk használt paraméterek az atherosclerosis előrehaladottabb stádiumában tapasztalható súlyosabb elváltozásokat írják le pontosan mind az arteria carotisok, mind az arteria coronariák vonatkozásában. Ezért úgy gondoljuk, hogy eredményünk nem ellentmond a korábbi megfigyeléseknek, hanem kiegészíti azokat az általunk használt egységes értékelési módszer eredményével. Néhány szerző összefüggést talált az arteria carotis communis falvastagsága és az alsó végtagi érbetegség között. Mi nem találtunk szignifikáns korrelációt az ACC és az arteria femoralisok paraméterei között, hasonlóan egy korábbi vizsgálat eredményéhez, ahol csak gyenge összefüggést észleltek az ACC és más perifériás arteriák plakk-terheltsége között. Egy korábbi, IMT alapú vizsgálatához hasonlóan mi sem találtunk szoros összefüggést az arteria carotis communis és az interna elváltozásai között.

Arteria carotis interna

Vizsgálatunkban a korábbi megfigyelésekkel ellentétben nem találtunk összefüggést az arteria carotis interna és az arteria coronariák atheroscleroticus markerei között. Szoros összefüggés volt viszont az ACC és a femoralis arteriák elváltozásai között, hasonlóan más vizsgálatokhoz.

A femoralis artériák

A coronaria és femoralis artériák közötti korrelációk figyelemre méltók, különösen, ha elemezzük a változó eredményű korábbi vizsgálatokat. Az egyikben nem találtak szignifikáns

összefüggést az arteria femoralis főtörzs (AFF) IMT-je vagy plakkjai és az arteria coronariák stenosisa között, míg egy másik vizsgálat szignifikáns összefüggést talált az AFF- IMT és a coronaria betegség rizikója között. Egy harmadik vizsgálatban az arteria femoralis IMT volt az egyetlen független paraméter, mely a coronariasclerosist jellemző Gensini score-al korrelált. A coronaria kalcium tartalom és az arteria femoralisban talált plakkok között is találtak összefüggést. Más vizsgálatokban az arteria femoralisok plakk- terheltsége és az arteria femoralis IMT a szignifikáns coronaria-betegség erősebb jelzőjének bizonyult, mint az arteria carotis communisokban mért hasonló paraméterek. Sajnos ezek a vizsgálatok csak az arteria femoralis főtörzseket használták fel az összehasonlításokhoz. *A mi adataink egyértelmű korrelációt mutattak az arteria femoralisok és a coronariák között, különösen az arteria profunda femoris (APF) vonatkozásában.* A saját és a korábbi vizsgálatok közötti különbségek a mérési technikák és a mért paraméterek különbözőségéből adódhattak. A legtöbb korábbi vizsgálat csak az AFF –ban mért IMT-t használta, míg mások a plakkok számát határozták meg a femoralis arteriákban. *Mi 7 paramétert használtunk az érfali elváltozások minél pontosabb leírására, valamint minden vizsgált ér esetén az egész értékelhető érszakasz adatait vettük figyelembe, ellentétben az IMT mérés lokális, plakkmentes szegmentumával.* Ez a megközelítés az atherosclerotikus elváltozások sokkal megbízhatóbb becslését teszi lehetővé, mint az IMT mérés.

Regionális különbségek

Az atherosclerosis súlyossága szignifikánsan különbözött az egyes érterületekben. Mind a *Relatív érfal terület*, mind az *Érfal index* adatok alapján az atherosclerosis legsúlyosabban az arteria coronariákat érintette. Az arteria femoralisok atherosclerosis enyhébb volt, az arteria carotisokban találtuk a legkevesbé súlyos elváltozásokat. Az arteria carotis communisban voltak legenyhébbek, míg a három carotis közül az externában a legsúlyosabbak az elváltozások. Az utóbbi is alátámasztja a Spearman korreláció során kapott összefüggéseket, mely szerint az arteria carotis externák atherosclerosis mindhárom érterület adataival korrelált, ellentétben a legtöbb korábbi vizsgálatban szereplő arteria carotis communissal. A három érterület közötti különbség leginkább a haemodinamikai paraméterekre vezethető vissza. Geometriai tényezőket (pl. az ACI eredési szöge vagy az erek görbületei) figyelték meg az atheroscleroticus elváltozások kialakulási helyének és rizikójának hátterében. A zavart, turbulens áramlású régiók sokkal fogékonyabbak az atherosclerosis kialakulására, mint a szabályos, lamináris áramlású érszakaszok. A plakk képződés legkifejezettebb az alacsony és oscilláló érfali nyíróerőnek kitett részekben, mely a turbulens áramlással, ezáltal az

arteriák elágazásaival van szoros összefüggésben. Ez magyarázhatja, hogy az arteria carotis externa és az arteria profunda femoris elváltozásai miért jelzik jobban a súlyos coronariasclerosist, mint az arteria carotis communis eltérései. Az ACE és az APF számos helyen elágazik (következésképpen nagyobb a lehetőség a turbulens áramlás kialakulására), ugyanúgy, mint az arteria coronariák, ezzel szemben az arteria carotis communis esetében ilyen áramlási zavar kialakulására nincs lehetőség.

Összefoglalva, eredményeink azt igazolják, hogy az arteria carotis communisban végzett IMT mérésen túl, mely a coronariasclerosis súlyosságának gyakran használt indikátora, egyéb erek elváltozásait is vizsgálni kell a coronariasclerosis és a globális atherosclerosis becslésére. Véleményünk szerint az arteria carotis externa és az arteria femoralisok (elsősorban az arteria femoralis főtrzs és az arteria profunda femoris) érzékenyebb markerei a generalizált atherosclerosisnak, mint az arteria carotis communis. A napi rutinba ültetve ez azt jelenti, hogy a carotisok neuroszonológiai vizsgálata során a sokszor nem is vizsgált arteria carotis externa tanulmányozása klinikailag fontos információt biztosíthat, a coronariasclerosis és a cardiovascularis morbiditás fontos rizikómarkerének tekinthető. Az arteria carotis externa (és a femoralis artériák) értékei egy kifejlesztendő pontozóskála részei lehetnének (nagyobb betegpopuláció adataira támaszkodva).

6. ÖSSZEFOGLALÁS, ÚJ EREDMÉNYEK

Vizsgálatainkat súlyos ischaemiás stroke-ban szenvedő betegeken végeztük. Összehasonlító klinikopatológiai megközelítést alkalmaztunk. In vivo a kardiovaszkuláris rizikófaktorokat, a Chlamydia pneumoniae infekció szerológiai markereit és az arteria carotis communisban ultrahanggal mért intima-media vastagságot (IMT) vizsgáltuk. Post mortem az arteria carotisok plakkjaiban Chlamydia pneumoniae jelenlétét kerestük, az arteria carotis communisok falában a kalcium lerakódás lokalizációját és mennyiségét vizsgáltuk, továbbá a carotis, femoralis és coronaria artériák egyes szakaszainak atherosclerosis okozta elváltozásainak súlyosságát elemeztük és hasonlítottuk össze.

➔ Az IMT, a Chlamydia infekció és a carotis atherosclerosis kapcsolatának vizsgálata során az in vivo mért IMT és a post mortem mért átlag falvastagság az arteria carotis communis és az externa esetében jól korrelált. A Chlamydia pneumoniae infekció szisztémás markerei (az IgG és IgA antitestek) nem mutattak összefüggést az arteria carotis communisok atherosclerosisának in vivo markereivel (IMT és irregularitás). Lokálisan a plakkokban a Chlamydia DNS jelenléte nem mutatott szignifikáns összefüggést sem az IgA, sem az IgG jelenlétével. A Chlamydia DNS jelenléte sem az in vivo, sem a post mortem morfológiai markerekkel (IMT és falvastagság, ill. egyenetlenség) nem függött össze. *A gyakori előfordulás ellenére a Chlamydia pneumoniae infekció nem korrelált a carotis atherosclerosis súlyosságával. Ezek alapján vizsgálatunk nem támasztja alá a feltételezést, miszerint szoros kapcsolat lenne a Chlamydia infekció és az atherosclerosis súlyossága között.*

➔ Az IMT és az érfali kalcium tartalom kapcsolatának vizsgálata során mi hasonlítottuk össze először az in vivo, ultrahanggal mért IMT-t a post mortem, PIXE módszerrel meghatározott érfali kalcium elemtérképekkel. Megállapítottuk, hogy a PIXE módszer alkalmas nativ érszleteken kalcium regionális eloszlásának vizsgálatára. *Kimutattuk a korai kalcium akkumulációt a carotisok tunica media rétegében és szignifikáns összefüggést találtunk az érfali kalcium tartalom és az azonos érfal részleteken mért IMT között.*

➔ A különböző érterületek atherosclerosisának patológiai összehasonlítása során kapott eredményeink azt igazolják, hogy az arteria carotis communisban végzett IMT mérésen túl, mely a coronariascclerosis gyakran használt indikátora, egyéb -ultrahang számára jól hozzáférhető- erek elváltozásait is vizsgálni kell a coronariascclerosis és a globális atherosclerosis megbecsléséhez. *Véleményünk szerint az arteria carotis externa és az arteria femoralisok legalább olyan érzékeny markerei a generalizált atherosclerosisnak, mint az arteria carotis communis.*

7. IRODALOM

7.1. Az értekezés alapját képező teljes terjedelmű közlemények

1. **Molnár S**, Kerényi L, Ritter MA, Magyar MT, Ida Y, Szöllősi Z, Csiba L. Correlations between the atherosclerotic changes of femoral, carotid and coronary arteries A post mortem study. *J Neurol Sci.* 2009;287:241-5. **IF2008: 2,359**
2. Kónya J, **Molnár S**, Magyar MT, Szekeres CC, Kerényi L, Csiba L. Severity of carotid atherosclerosis unrelated to Chlamydia pneumoniae infection in acute ischemic stroke patients: a clinicopathological study. *Cerebrovasc Dis.* 2008;25:170-175. **IF: 3,041**
3. Magyar MT, Szikszai Z, Kertész Z, **Molnár S**, Uzonyi I, Szíki GA, Csiba L. Calcium distribution in the vessel wall and intima-media thickness of the human carotid arteries. *Ultrasound Med Biol.* 2007;33:1171-8. **IF: 1,922**

7.2. Az értekezés témájában megjelent absztraktok

1. **Molnár S**, Kerényi L, Ritter M, Magyar T, Ringelstein EB, Csiba L. Comparison of in vivo carotid IMT and carotid wall thickness measured with a novel method (comparison of in vivo and post-mortem data). *Cerebrovasc Dis.* 2003;16(Suppl 4):75
2. Kerényi L, **Molnár S**, Ritter M, Magyar T, Ringelstein EB, Csiba L. Correlation of atherosclerotic changes between carotid, coronary and femoral arteries. Comparison of in vivo findings with autopsy. *Cerebrovasc Dis.* 2003;16(Suppl 4):54
3. Ritter M, Kerényi L, **Molnár S**, Magyar T, Droste D, Csiba L. Correlation of in vivo IMT measurements of the common carotid artery with wall thickness and plaque extent of ex-vivo intracranial arteries. *Cerebrovasc Dis.* 2003;16(Suppl 2):2

4. Kónya J, Kerényi L, **Molnár S**, Magyar T, Ritter M, Ringelstein EB, Csiba L. The relationship between the intima-media thickness (IMT) of the carotid artery and atherosclerosis of the carotid, femoral and coronary arteries and the role of Chlamydia pneumoniae in the atherosclerosis of the extra- and intracranial arteries. *European Journal of Neurology*. 2003;10(Suppl 1):46.
5. Konya J, **Molnár S**, Kerenyi L, Ritter M, Magyar T, Csiba L. The role of Chlamydia pneumoniae infection in carotid atherosclerosis of acute ischemic stroke patients. *Cerebrovasc Dis*. 2004;17(suppl 5):83

7.3. Egyéb közlemények

1. Molnar MJ, Valikovics A, **Molnar S**, Tron L, Dioszeghy P, Mechler F, Gulyas B. Cerebral blood flow and glucose metabolism in mitochondrial disorders. *Neurology*. 2000;55:544-8. **IF: 4,781**
2. Csepány T, Boczan J, Magyar MT, **Molnar S**, Csiba L, Decsy J, Toth J, Felszeghy S, Szakall S, Szentkereszty Z, Bereczki D. Miller Fisher syndrome--a presenting clinical manifestation of lung cancer in a previously apparently healthy individual. *J Neurol*. 2004;251:898-900. **IF:3,14**
3. Kemény V, **Molnár S**, Andrejkovics M, Makai A, Csiba L. Acute and chronic effects of vinpocetine on cerebral hemodynamics and neuropsychological performance in multi-infarct patients. *J Clin Pharmacol*. 2005;45:1048-54. **IF:2,889**
4. Szikszai Z, Kertész Z, Uzonyi I, Sziki GA, Magyar MT, **Molnár S**, Ida Y, Csiba L. Regional calcium distribution and ultrasound images of the vessel wall in human carotid arteries. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 2005; 231:263-267. **IF: 1,181**

5. Rosengarten B, Paulsen S, **Molnar S**, Kaschel R, Gallhofer B, Kaps M. Acetylcholine esterase inhibitor donepezil improves dynamic cerebrovascular regulation in Alzheimer patients. *J Neurol*. 2006;253:58-64. **IF: 2,984**

6. Rosengarten B, **Molnar S**, Trautmann J, Kaps M. Simultaneous VEP and transcranial Doppler ultrasound recordings to investigate activation-flow coupling in humans. *Ultrasound Med Biol*. 2006;32:1171-80. **IF: 2,011**

7. Rosengarten B, Paulsen S, **Molnar S**, Kaschel R, Gallhofer B, Kaps M. Activation-flow coupling differentiates between vascular and Alzheimer type of dementia. *J Neurol Sci*. 2007;257:149-54. **IF: 2,315**

8. Oláh L, Raiter Y, Candale C, **Molnár S**, Rosengarten B, Bornstein NM, Csiba L. Visually evoked cerebral vasomotor response in smoking and nonsmoking young adults, investigated by functional transcranial Doppler. *Nicotine Tob Res*. 2008;10:353-8. **IF: 2,539**

9. **Molnár S**, Csiba L. Magyar stroke-betegek vaszkuláris rizikófaktorainak alakulása 1 éves követés során. *Házi orvos továbbképző szemle*. 2008;13:118–123

Összesített impakt faktor: 29,319