

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

Doktori Tézisek

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. Kőhidai László, Ph.D., habil. egyetemi docens

Dr. Szűk Tibor, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest
2017

1. BEVEZETÉS

Az arterioszklerózis egy szisztémás betegség, melynek a szívben jelentkező lokális manifesztációja a koronária szklerózis és a következményes iszkémiás szívbetegség. A betegség progressiójával kialakuló plakk egyre nagyobb mértékű akadályt jelent a koszorúér véráramlásának szempontjából, mely többféle formában jelenhet meg (angina pectorisz, akut szívinfarktus). A perkután koronária intervenció (percutaneous coronary intervention - PCI) a koronária arterioszklerózis modern terápiája. Az intervenció eljárás lényege, hogy katéterrel felkereshető a beszűkült érszakasz, és az adott helyen a katéteren található ballont nagy nyomással felfújva a plakk szétroncsolható, és ily módon a szűkület feltágítható.

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 eléri. A restenosis mechanikai megelőzésének céljából fejlesztették ki a beültethető fém hálókát, más néven stenteket.

1.1 Koronária stentek

A legelső stentek alapváza rozsdamentes acélból készült, 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. A hagyományos fém stentek alkalmazása az egyszerű ballon dilatációhoz képest közel felére csökkentette a stenten belüli koronária szegmens visszaszűkülésének, az in-stent restenosisnak (ISR) az arányát, mely még továbbra is igen fontos problémát jelent a gyakorlatban. Ennek 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. A hagyományos fém stentek továbbra is, illetve a jövőben is fontos részét fogják képezni a rutin ellátásnak. Alacsonyabb árak mellett előnyük, hogy alkalmazhatóak minden olyan esetben, amikor a DES-ek használata valamilyen oknál fogva nem célszerű, például a DES-sel együtt járó kettős trombocita aggregáció kezelés miatt (pl. tervezett műtét előtt a vérzéses szövődmények lehetősége miatt).

1.2 Az in-stent restenosis

Az in-stent restenosisnak több formája ismert. Míg a fokális megjelenésűek (<10 mm hosszú) relatíve jó gyógyhajlamot mutatnak nagy nyomású ballonos dilatációra, addig a diffúz formák kevésbé eredményesen kezelhetők. A restenosisra hajlamosító rizikófaktorokat két fő csoportra oszthatjuk:

1) A betegől függő (szisztémás) tényezők, melyek jellemzően a diffúz ISR-ekkel hozhatók kapcsolatba. A diabétesz mellitusz, a magasvérnyomás betegség, a hiperlipoproteinémia, valamint a dohányzás a restenosis kialakulásának jelentős, független kockázati tényezői. Az ISR-ra inkább a női nem hajlamosít, illetve egyéb genetikai faktorok is szerepet játszanak, például különböző genetikai polimorfizmusok.

2) A másik csoportot a lokális, az adott érszakaszt, illetve a beavatkozást jellemző tényezők jelentik. Ezek elsősorban a fokális ISR kialakulásával hozhatók kapcsolatba. Ilyen például a plakkok morfológiája, a szűkület hossza. Nagyobb a restenosis kockázata: hosszú lézió, több éren, kis átmérőjű éren végzett beavatkozás után. Ezekon felül bizonyos, az eljárásból adódó tényezők is szerepet játszanak a restenosis kialakulásában, például a stent megtöretése, a nem megfelelően expandált stent, a nem megfelelő stent pozíció.

1.3 Az ISR kialakulása

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, gyulladásosejtekből. Ilyenek például a tromboxán A₂, a szerotonin, és a trombocita növekedési faktor, melyek együttesen elősegítik a simaizomsejtek proliferációját és migrációját. Ezzel egyidejűleg a simaizomsejtekben (VSMC-k) a kontraktilisról szintetizálóra való fenotípus váltás következik be, illetve bizonyos sejtostódásért felelős gének (pl. c-myc) expressziója fokozódik, mely proliferációhoz vezet. Mindemellett a VSMC-k olyan fehérjéket termelnek, melyek elősegítik a többi sejt migrációját, így többek között a mátrix metalloproteinázok termelődése is fokozódik, mely hozzájárul az ECM remodelációjához. Ezen változások hatására aktivált simaizomsejtek vándorolnak az intimába. Ezen kaskád végeredménye a VSMC-k kontrollálatlan proliferációja és az ECM elemeinek lerakódása az ér-intima körül, így neointima képződése.

1.4 Génpolimorfizmusok szerepe

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%-ában 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. ISR kialakulásával kapcsolatba hozható több polimorfizmus is. Ezek az ún. „jelölt” gének általában az arterioszklerózis patomechanizmusában is részt vevő proteineket kódolnak.

1.5 MBL (mannóz-kötő lektin)

A mannóz-kötő lektin (MBL) egy máj által termelt akut fázis fehérje, amely a veleszületett immunrendszer egyik eleme. Fontos szerepe van az exogén patogének felszínén lévő szénhidrát-mintázatok felismerésében, segíti azok fagociták általi felismerését és elpusztítását. Az MBL2 gén promoter régióját érintő polimor-

fizmusai befolyásolják az MBL biológiai hozzáférhetőségét, mivel alacsonyabb funkcionális fehérje szérumszintet 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. A polimorfizmusok hordozása 5-10-szeres szérumszint aktivitás csökkentést okozhat. Az eddigi vizsgálatok eredményei alapján az alacsony MBL-szint kapcsolatba hozható az arterioszklerózis gyorsabb progressziójával. A működő allélok hiánya kapcsolatban áll a súlyos koronária betegséggel és/vagy a fokozott karotisz plakkképződéssel, valamint a koszorúér műtét utáni graft elzáródással.

1.6 VEGF (vascular endothelial growth factor, ér-endotél növekedési faktor)

A VEGF egy szoros rokonságot mutató növekedési faktorokat magába foglaló fehérjecsalád (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D és placenta növekedési faktor (PIGF)). A VEGF-A-nak elsősorban az angiogenezisben és az endotél proliferáció szabályozásában van szerepe. A VEGF-nek kitüntetett szerepe van a PCI utáni endotelizáció folyamatában, mely a sebgyógyulási folyamathoz hasonlóan megy végbe, valamint közvetett hatása van a gyulladásos kaszkádra, továbbá a simaizomsejt-proliferációra. A VEGF szerepe kettős, az endotél-stimuláló hatása szükséges az érfa integritásának visszaállításához, ugyanakkor felelőssé tehető a túlburjánzásért, végső soron hozzájárulva a neointima-hiperpláziához, mely restenosishoz vezet. A VEGF-et kódoló gének polimorfizmusai kapcsolatba hozhatók a koronária arterioszklerózis kialakulásával, a plakkok neovaszakularizációjával és a kollaterális hálózatok kialakulásával. A VEGF-A gén G405C (rs2010963) és a C2578A (rs699947) egyedi nukleotid polimorfizmusai befolyásolják a VEGF produkcióját. Watson és mtsai az rs2010963 polimorfizmus esetén, míg Shahbazi és mtsai az rs699947 esetén mutatták ki, hogy mindkét polimorfizmus a gén promóter régióját érinti, illetve hordozásuk és a VEGF fehérje szérumszintje között összefüggés van. Az rs2010963 polimorfizmus többféle kórképpel hozható kapcsolatba, így például diabéteszes retinopátiával és nefropátiával, metabolikus

szindrómával, miokardiális infarktussal, míg az rs699947 esetén a veseátültetést követő allograft rejekció és kolorektális karcinóma kialakulásának fokozott rizikója mutatott összefüggést a polimorfizmus hordozásával.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Munkám során az MBL2 gén promoter régióját érintő polimorfizmusainak és a VEGF gén két polimorfizmusának az ISR 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 vizsgálatba, illetve csak a natív koronáriákba ültetett stentekben kialakult ISR-t elemeztük, a korábban koszorúér graft beültetésén (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.

3.2. Klinikai meghatározások

Az in-stent restenosiszt akkor tekintettük szignifikánsnak, ha koronarográfiával igazoltan több mint 50%-ban beszűkült az adott érszakasz átmérője. 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 korábban diagnosztizált és gyógyszeresen, inzulinnal vagy diétával kezelt diabétesz állt fent. A hipertóniásnak tekintettük a beteget, ha korábban felállított hipertónia diagnózis alapján gyógyszeres kezelést kapott. Hiperlipidémiásnak akkor tekintettük a beteget, ha lipidszint-csökkentő gyógyszert szedett, vagy ha az aktuális laborleletében hiperlipidémia igazolódott. A BMI-t a szokásos módon a testtömegeből és testmagasságból számítottuk, túlsúlyosnak tekintettük a beteget, ha 25-nél nagyobb értéket kaptunk.

3.3. Mintavétel, tárolás, DNS izolálás

A páciensektől vérmintát vettünk laboratóriumi vizsgálatok és genotipizálás céljából. Az EDTA-s csövekben lévő vérmintákat -80°C-on fagyasztva tároltuk. A DNS-t a Qiagen FlexiGen DNS kittel (Qiagen, Hilden, Németország) izoláltuk teljes perifériás vérből proteáz emésztéses módszerrel. 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.

3.3.1. Genotipizálás

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.

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 µL DNS, 5 µM primert és próbát, 1 µL LightCycler FastStart DNA Master HybProbe kit-et (Roche GmbH, Penzberg, Németország), és 2.5 mM MgCl₂-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-rel végeztük. A mérésekhez az Applied Biosystems (kit number: c__8311602_10) primereit

használtuk (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 futtatunk: 10 perc 95°C-on, denaturálás: 15 másodperc 92°C-on, 60 másodperc 60°C-on.

A VEGEF másik G405C (rs2010963) polimorfizmusának meghatározásához a genotipizálást a LightCycler (Roche GmbH, Penzberg, Németország) RT-PCR-rel végeztük. A használt primerek a következők voltak 5'-CCAGAAACCTGAAATGAAGG-3' és 5'-GGGCTCGGTGATTTAGC-3'. A protokoll megegyezett a rs69947 polimorfizmusnál írottakkal.

3.3.2. 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. 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. A regresszióban használt modellt a Hosmer Lemeshow teszt használatával értékeltük. A különböző genotípusok eltérését a Hardy–Weinberg ekvilibríumtól khi-négyzet próbával vizsgáltuk. A különbségeket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha p értéke kisebb volt mint 0,05.

4. EREDMÉNYEK

Mindösszesen 225, 2011 és 2013 között a Semmelweis Egyetem Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinikáján kezelt, korábban már PCI-n és BMS stent beültetésen átesett beteg került beválasztásra vizsgálatunkba. 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 ábrázolódtott. A kontroll csoportba 108 fő került, akiknek a kontroll angiográfián nem vagy csak fokális restenosis ábrázolódtott 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 stentbeültetés 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 között nem mutatkozott jelentős különbség (1. táblázat). 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%) esetben a kontroll csoportban és 19 (16,2%) betegnél az ISR csoportban ($p=0,131$).

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

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

4.1. Az MBL2 polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában

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 egyensúlytól ($p=0,08$). 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, $p=0,04$).

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 vizsgálatunk során egyváltozós elemzés során szignifikáns különbséget találtunk-e a két csoport között. 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 rizikófaktornak a diffúz in-stent restenosis kialakulásában (2. táblázat).

2. 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 antihipertenzív 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

4.2. A VEGF polimorfizmusok szerepe az in-stent restenosis kialakulásában

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

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 ekvilibríumtól ($p = 0,45$ és $p=0,65$).

3. táblázat – Az rs2010963 és a rs699947 polimorfizmus genotípus eloszlása a kontroll és ISR (in-stent restenosis) csoportok között, Khi-négyszet.

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

A két csoportban vizsgálva a genotípusok eloszlását a G405C (rs2010963) polimorfizmus esetén diffúz ISR szignifikánsan ritkábban fordult elő a C/G + C/C (variáns) genotípus esetén, mint homozigóta normál (G/G) genotípus esetén (OR 0,56; p=0,04). Nem volt szignifikáns különbség a vizsgált csoportokban a C2578A (rs699947) polimorfizmus esetén (3. táblázat). A diffúz in-stent restenosisban szerepet játszó tényezők függetlenségének vizsgálatához többváltozós elemzést végeztünk azokkal a faktorokkal, melyek estén az egyváltozós elemzések (1. táblázat) során a két csoport közötti különbség p értéke 0,3 vagy annál kisebb volt.

4. táblázat – Logisztikus regresszió eredménye 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

A multivariáns logisztikus regresszió eredménye szerint az G405C (rs2010963) homozigóta normál genotípusa független rizikófaktor a

diffúz ISR kialakulásának tekintetében (4. táblázat). A VEGF gén C2578A (rs699947) polimorfizmusa nem mutatott összefüggést a diffúz ISR kialakulásával.

5. 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 C2578A (rs699947) polimorfizmusa esetén nem volt kimutatható összefüggés a polimorfizmus hordozása és a diffúz in-stent restenosis gyakorisága között BMS beültetést követően.

2) A VEGF G405C (rs2010963) polimorfizmus esetében a homozigóta normál genotípus járt együtt nagyobb diffúz restenosis gyakorisággal BMS beültetést követően. Ezek alapján a mutáció 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 polimorfizmusai esetén mutációval rendelkezőkben magasabb restenosis gyakoriságot találtunk, így ebben az esetben a mutáció hordozása tehát rizikófaktor a koronária in-stent restenosis kialakulásának tekintetében.

Összegezve tehát a VEGF polimorfizmusa önálló védőfaktornak, az MBL2 polimorfizmusa pedig rizikófaktornak bizonyult a diffúz ISR kialakulásának tekintetében. A VEGF rs2010963 és az MBL2 SNP-k esetén ez az összefüggés akkor is fennáll, ha figyelembe vesszük a diffúz in-stent restenosis tekintetében ismert hajlamosító tényezőket.

6. PUBLIKÁCIÓK

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

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) Signs of subclinical atherosclerosis in asymptomatic patients at increased risk of type 2 diabetes mellitus. *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 komputertomográfiás 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 prevenciók populációs felmérés: Budakalász Epidemiológiai Vizsgálat előzetes eredmények. *Orvosképzés*, 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. *Orvosképzés*, 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