

# Pszicho-neuro-immun állapot vizsgálata koszorúér-betegekben

Ph.D. értekezés tézisei

Serfőző Gyöngyi MSc



Témavezető: Keresztes Margit M.D. Ph.D.

Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

Biokémiai Intézet

Általános Orvostudományi Kar

Szegedi Tudományegyetem

Szeged

2016

## KÖZLEMÉNYEK

- I. Margit Keresztes, Tamás Horváth, Imre Ocsovszki, Imre Földesi, Gyöngyi Serfőző, Krisztina Boda, Imre Ungi  
ACTH- and cortisol-associated neutrophil modulation in coronary artery disease patients undergoing stent implantation  
PLoS One (Published: Aug 14, 2013)  
DOI: 10.1371/journal.pone.0071902  
IF: 3.534
  
- II. Gyöngyi Serfőző, Tamás Horváth, Imre Földesi, Beatrix Rafael, Tamás Forster, Imre Ungi, Roland von Känel, Margit Keresztes  
The monocyte-to-lymphocyte ratio correlates with psycho-neuro-inflammatory factors in patients with stable coronary artery disease  
Neuroimmunomodulation (Published online: March 1, 2016)  
DOI: 10.1159/000443835  
IF: 1.882 (2013/14)

## BEVEZETÉS

### 1. Koszorúér-betegség

A koszorúér-betegség a világ három vezető halálójának egyike napjainkban. Bár halálozási aránya csökkent a 20. század második felében, várhatóan 2030-ra a második leggyakoribb halálót fogja képviselni a világban (szorosan a rákos megbetegedések mögött). A koszorúér-betegség a koszorúereket érintő érlelmeszesedés következményeként jön létre, ami a kialakuló csökkent véráramlás miatt a szívizomsejtekben jelentkező oxigénigény és -kínálat egyensúlyának felborulásához és az angina pectoris tüneteinek kialakulásához vezet. A betegség jól ismert hagyományos kockázati tényezői mellett egyes újabb rizikófaktorok (pszichoszociális faktorok stressz, depresszió) elismertsége is növekszik.

### 2. Az érlelmeszesedés folyamata – fő tényezők

Az érlelmeszesedés az artériák krónikus gyulladós betegsége. Kialakulása már fiatal korban elkezdődik, és bár évtizedekig tünetmentes marad, végül súlyos kardio- és cerebrovaszkuláris szövődmények megjelenéséhez vezethet.

A betegség kezdetén bizonyos proaterogén hatásokra endotel diszfunkció alakul ki, majd lipoprotein részecskék és kisméretű vérplazma molekulák, átjutva az endoteliumon, a szubendoteliális térben felhalmozódnak, oxidatív módosuláson mennek keresztül és gyulladáskeltővé válnak. Az említett részecskék és molekulák közül az oxidált LDL a legjelentősebb proaterogén szereplő az érlelmeszesedés kezdeti szakaszában.

Az endotelium aktiválódását követően fokozódik az adhézios receptorok kifejeződése, ami elősegíti a monociták, T-sejtek és más vérsejtek érlelmeszesedéses területben történő felhalmozódását. A monociták az érfal belső rétegébe jutva makrofágokká differenciálódnak, melyek „scavenger” receptorjaik segítségével proaterogén lipoproteineket vesznek fel, majd lipiddel telített habos sejtekké alakulnak. A makrofágok lipidekkel való túltelítődése, majd apoptózisa egy lipid-gazdag mag kialakulásához vezet, melyet zsíros csíknak hívunk. Ez még nem jár tünetekkel, azonban a makrofágok aktiválódása és halála sokféle gyulladós, kemoaktikus és növekedési faktor felszabadulását eredményezi.

Az érfal belső rétegének simaizomsejtjei fibroproliferatív hatás közvetítésében vesznek részt, ami plakk-képződéshez vezet és hozzájárul az érüreg szűküléséhez, a véráramlás csökkenéséhez és az iszkémia kialakulásához. Azonban a válaszreakcióban az artériafal átalakul („remodelling”), és így az ér képes a közel normális lument fenntartani, emellett hipoxia hatására új kollaterális erek is képződnek.

A miofibroblasztok elpusztulása a plakkot borító fibrózus sapka elvékonyodásához és sérülékeny plakk kialakulásához vezet, majd e plakk felszakadása végül aterotrombus kialakulását eredményezi.

### **3. A neutrofil granulociták és a monociták szerepe a koszorúér-betegség folyamatában**

Az aktivált neutrofil granulociták az érlemezésnek mind a kezdeti, mind a későbbi szakaszaiban részt vesznek, elsősorban az oxidatív stresszhez és ezen kívül a gyulladáshoz járulnak hozzá. Számos irodalmi adat igazolja, hogy a magas neutrofil granulocita szám, vagy neutrofil-limfocita arány kapcsolatban áll a koszorúér-szűkülettel, és előre jelezheti a koszorúér-betegséget és súlyos szívesemények (pl. szívinfarktus) bekövetkeztét. Nem stabil angina pectorisban e granulociták aktiválódását már sokan igazolták, azonban stabil anginában a neutrofilek aktiváltsági állapotának leírása ellentmondásosnak tűnik, és további vizsgálatokat igényel.

Az aktivált monociták és makrofágok részvétele a habos sejtek képzésében és a gyulladáshoz vezető faktorok termelésében központi szereppel ruházta fel őket az érlemezés folyamatában. A monocita szám előre jelezheti az érlemezéses szűkület és a koszorúér-plakk progresszió súlyosságát akut koronária szindrómákban. Tünetmentes felnőtteknél, az összes fehérvérsejt-típus közül ez a sejtszám mutatta a legszorosabb független pozitív kapcsolatot a koszorúér-betegséggel. Egy közelmúltban megjelent tanulmány emellett összefüggést talált az alacsony limfocita-monocita arány – azaz a magas monocita-limfocita arány (MLR) – és a koszorúér-betegség, valamint a korábbi szívinfarktus(ok) előfordulási aránya között. Azonban az MLR érlemezésben – és különösképpen koszorúér-betegségben – betöltött klinikai jelentősége jelenleg nagyrészt feltérképezetlen.

### **4. Pszichoszociális stressz és koszorúér-betegség (pszicho-neuro-immunológia)**

A pszichoszociális stresszt (pl. társadalmi elszigeteltség, munkahelyi stressz vagy gyermekkori abúzus) és a depressziót egyre inkább a koszorúér-betegség és a rossz kardiális prognózis fő kockázati tényezőinek ismerik el. A pszicho-neuro-immunológia (PNI) egy viszonylag új kutatási terület, amely a stressz (pszichológiai állapot), a neuroendokrin- és az immunrendszer, valamint az egészségi állapot közötti kölcsönhatásokat vizsgálja.

A szervezet stresszorok hatására egy általános adaptációs szindrómának nevezett mechanizmussal válaszol, melyet elsődlegesen a szimpatikus-adrenomedulláris rendszer (katekolaminok felszabadításával) és a hipofízis-hipotalamusz-mellékvesekéreg (HPA) tengely (kortikotropin-releasing hormon /CRH/, adrenokortikotróp hormon /ACTH/ és kortizol termelésén

keresztül) irányít. A kromogranin A (CgA) a katekolaminokkal együtt raktározódik és szabadul fel a mellékvesevelőből, ezért emelkedett szintje jó jelzője lehet az általános neuroendokrin túlműködésnek, beleértve a fokozott szimpatoadrenális aktivitást.

Az immun- és gyulladásos sejtek, azaz a fehérvérsejtek többsége (pl. neutrofil granulociták és monociták) rendelkezik stressz hormon receptorokkal, így ezen sejtek aktiválódását pszichológiai stresszhatás befolyásolhatja. Sokféle stressz hormon képes olyan immunmodulációs hatásra, mely citokin termelést válthat ki; ezek a citokinek azután visszahatnak a hipotalamuszra és még tovább fokozhatják a HPA tengely aktivitását. E citokinek közül az interleukin-6 (IL-6) bizonyult az egyik leghatékonyabb HPA tengely serkentőnek. Az említett kölcsönhatásokkal kapcsolatos hálózat részleteinek és összefüggéseinek feltérképezése a pszicho-neuro-immunológia egyik fő feladata.

## **5. Vérplazma gyulladásos faktorok koszorúér-betegségben**

A citokinek a PNI hálózatban központi jelentőséggel bíró kisméretű fehérjemolekulák. A gyulladáskeltő citokinek (különösképp az IL-1, az IL-6 és a TNF- $\alpha$ ) nemcsak az érlemezés folyamatában és koszorúér-betegségben, hanem a stressz és a depresszió kifejlődésében is részt vesznek. Az IL-6 az általános gyulladásos válaszreakció egyik fő szabályozója, és az akut fázis reakció kiváltójaként a C-reaktív protein (CRP) szintézist is beindítja. Az IL-6 és a CRP a koszorúereket érintő gyulladás fő biomarkerei, emelkedett szintjüket megfigyelték pszichoszociális stresszben és depresszióban is. A neutrofil granulociták számos különféle citokint termelnek (pl. sztentelés hatására), másrészt saját működésüket is sokféle citokin befolyásolja a sejtmembránjukban található nagyszámú különböző citokin receptornak köszönhetően.

A laktoferrin a neutrofil granulocitákra jellemző specifikus sejt felszíni aktiválódási marker, amely a keringésben is megjelenhet, így vérplazma gyulladásos markernek is tekinthető; plazmában való megjelenése neutrofil aktiválódásra/degranulációra utal, ami (többek között) gyulladáskeltő citokinek és reaktív oxigén gyökök felszabadulásához vezet.

Az LL-37, a humán antimikrobiális katelicidin család egyetlen tagja, részt vesz a gyulladás és az érlemezés folyamatában is. Számos sejt képes a termelésére, köztük az érlemezés területen megtalálható makrofágok is. Kemotaktikus hatással rendelkezik: serkenti a gyulladásos sejtek érlemezéses plakkba való vándorlását és az endotel sejtek aktiválásával részt vesz az érképződés beindításában is.

## CÉLKITŰZÉSEK

A neutrofil granulocita aktiváltsági állapot pszicho-neuroendokrin-immun vonatkozásait érintően még hiányosak az ismereteink a koszorúér-betegséggel kapcsolatban. Mivel azonban a neutrofil granulociták központi szerepet játszanak a koszorúér-meszesedés folyamatában, így kiemelten fontos azt feltárni, hogy ezen sejtek aktiváltsági állapotát hogyan szabályozhatják a stressz hormonok koszorúér-betegekben PCI (percutaneous coronary intervention) azaz sztentelés előtt, ill. azt követően. A monociták/makrofágok részvétele és jelentősége az érlelmeszesedés folyamatában jól ismert, azonban a monocita-limfocita arány és a pszicho-neuro-immun hálózat tényezőinek kapcsolatai koszorúér-betegekben nagyrészt feltáratlanok.

Ezek alapján, szerettük volna kutatásainkban feltérképezni a koszorúér-betegek pszicho-neuro-immun jellemzőit, illetve megvizsgálni a stressz markerek, a depressziós tünetek és gyulladásos markerek közötti lehetséges összefüggéseket, különösen a neutrofil aktiváltsági állapot és a monocita-limfocita arány szempontjából.

Így célul tűztük ki a következő vizsgálatok elvégzését:

### 1. Kutatási projekt: stabil angina pectorisban (SAP) és akut koronária szindrómában szenvedő (ACS) betegek részvételével, koszorúér-sztenteléssel (PCI) összefüggésben (kezelés előtt, közvetlenül utána és 1 nappal később)

- a pszicho-neuroendokrin-immun állapot vizsgálata (mért stressz hormonok: ACTH, kortizol és egy általános gyulladásos marker: IL-6; mindegyik vérplazmából meghatározva)
- a granulocita aktiváltsági állapot tanulmányozása (vizsgált sejtfelszíni markerek: L-szelektin, CD15 és a neutrofil-specifikus laktoferrin; vérplazma laktoferrin)
- a granulocita (neutrofil) aktivációs markerek és a stressz markerek (vérplazma ACTH és kortizol) között lehetséges összefüggések vizsgálata

### 2. Kutatási projekt: stabil koszorúér-betegek részvételével

- az MLR és a neuroendokrin markerek (kortizol és CgA), gyulladásos paraméterek (IL-6, CRP, LL-37) és pszichológiai tényezők (depressziós tünetek, stressz-megküzdés pontszámai) között lehetséges összefüggések vizsgálata
- további PNI összefüggések tanulmányozása a pszichológiai tényezők, a neuroendokrin markerek és a gyulladásos paraméterek között

## ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

- Betegek: 21 stabil angina pectorisban (SAP) és 20 akut koronária szindrómában (ACS) szenvedő beteg vett részt az 1. projektben, 23 stabil angina pectoris beteg a 2. projektben.
- A betegek éhomiai vérmintáinak gyűjtése PCI előtt, közvetlenül a beavatkozás után és 1 nappal a beavatkozás után történt az 1. projektben, 1 nappal PCI előtt a 2. projektben.
- A rutin vér paraméterek: a teljes vérkép, az összkoleszterin, a HDL-koleszterin és a CRP (csak a 2. projektben) értékek klinikai automatákban kerültek meghatározásra, az LDL-koleszterin és az MLR értékek meghatározása számítással történt.
- A speciális plazmamérésekhez EDTA-Vacutainer csövekben történt a minták gyűjtése, majd azokat részletekre osztva,  $-80^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A következő speciális plazmamérésekre került sor: neuroendokrin markerek: ACTH (csak az 1. projektben), kortizol és CgA (csak a 2. projektben); gyulladási markerek: laktoferrin (csak az 1. projektben), LL-37 (csak a 2. projektben) és IL-6. Az ACTH mérése kemilumineszcens teszttel, a kortizol és a CgA mérése radioimmunoassay módszerrel, a laktoferrin meghatározása „házi” ELISA teszttel, az LL-37 és az IL-6 meghatározása ELISA kitékkel történt.
- A granulocita aktiválódás sejtfelszíni markereinek: L-szelektin, CD15 és laktoferrin meghatározása áramlási citometriával, indirekt immunofluoreszcenciás módszerrel történt (az 1. projektben), FACStar Becton Dickinson citométer alkalmazásával. A granulociták többi fehérvérsejttől való elválasztása a rájuk jellemző magas előre- és oldalirányú szórás alapján történt. A felszínükön laktoferrint kifejező granulocitákat aktivált neutrofilekként azonosítottuk. A jelölt granulociták arányát (sejtfelszínükön jelölt markert tartalmazó granulociták %-a) és az átlagos fluoreszcencia intenzitást (MFI, arányos a jelölt molekulák/sejtek mennyiségével) adtuk meg az analízis adatai közül.
- Pszichoszociális mérések: a depressziós tünetek súlyosságának felmérése a 21 kérdéses Beck Depresszió Kérdőívvel (BDI) történt, az általános stressz-szintet és a megküzdési kapacitást a Rahe-féle Rövidített Stressz és Megküzdés Kérdőív (BSCI) segítségével vizsgáltuk a 2. projektben. A BSCI megküzdési alszámai közül a Társas (pszichoszociális) támogatottság alszáma a társas kötelékek kiterjedtségét vizsgálja, az Életcél és kapcsolatok alszáma eredménye pedig azt mutatja meg, hogy a kitöltő mennyire érzi értelmesebbnek az életét.
- Statisztikai analízis: kétmintás t-próbát és Fisher-egzakt tesztet alkalmaztunk a betegcsoportok általános jellemzőinek összehasonlítására az 1. projektben. Az időbeli változások felmérése kétszemponos ismételt mérések varianciaanalízissel (ANOVA) történt, a stressz hormonok és a választott gyulladási markerek közötti kapcsolat vizsgálata céljából

a Spearman-féle rangkorrelációs együtthatót (és annak szignifikanciáját) határoztuk meg az 1. projektben. A 2. projektben az MLR és a pszichoszociális tényezők, neuroendokrin faktorok, illetve a gyulladáshoz kapcsolódó markerek közötti összefüggéseket kétváltozós és többváltozós (életkor-, nem- és BMI-kontrollált) Pearson korrelációs analízissel végeztük; hasonlóan jártunk el a pszichoszociális tényezők és a neuroendokrin, illetve gyulladáshoz kapcsolódó faktorok közötti kapcsolatok vizsgálatánál is. A CgA változót tartalmazó modelleknél figyelembe vettük továbbá a protonpumpa gátló gyógyszerek szedését és NYHA stádiumot (New York Heart Association, szívelégtelenségben szenvedők funkcionális beosztására alkalmazott skála) is, a BDI pontszámok korrelációjánál a nyugtatószedést is a korrekciós tényezők közé vettük. A statisztikai analízist IBM-SPSS (v15.0 és v20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) és SAS szoftverrel (v9.1, SAS Institute, Cary, NC) végeztük.



## EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

### 1. Stressz és gyulladásoos paraméterek PCI kezelésén áteső koszorúér-betegekben

A nagymértékben emelkedett plazma kortizol szint alapján az akut (ACS) betegek rendkívül stresszes állapotban voltak PCI előtt; a PCI-t követő napra jelentősen lecsökkent plazma kortizol értékek egy sokkal nyugodtabb állapotot mutatnak. A stabil (SAP) betegek plazma kortizol értéke csak alig észrevehetően változott, aminek a háttérében egy krónikusan túlterhelt, kimerült HPA tengely állhat. Az ACS betegek végső alacsony ACTH értéke arra utal, hogy a kezdetben erősen aktivált állapotban lévő HPA tengely sztentelés után visszatért egy sokkal mérsékeltebb, fiziológiásan működő állapotba. A SAP betegek ACTH értékének kismértékű csökkenése a PCI-t követő napra a beavatkozás utáni megkönnyebbülést jelezheti.

A fehérvérsejtek sejtmembránjában folyamatosan jelen van az L-szelektin, mely sejtaktiválódáskor lehasítódik a felszínről. Megfigyelték azonban, hogy ez a receptor (pl. mechanikai traumát követő) sejtaktiválódáskor fokozott mértékben is megjelenhet a sejt felszínén. A SAP betegek L-szelektint felszínükön kifejező granulocitáinak aránya némileg emelkedett PCI alatt, ezt kismértékű csökkenés követte (mindkét változás szignifikánsnak bizonyult). E változások háttérében homeosztatisz folyamatok állhatnak (az L-szelektin a lehasítása után újra megjelenik a sejtmembránban).

A CD15 (Lewis-X) egy olyan szelektinkötő tetraszacharid ligand, amely minden mieloid sejt felszínén megtalálható; ez a neutrofil granulociták felszínén stimuláció hatására jelenik meg, miután felszabadult azok primer granulumjaiból. A CD15 sejt felszíni markert tartalmazó sejtek aránya mindkét betegcsoportban kis mértékben emelkedett közvetlenül PCI után. Ez a sztentelés alatt megfigyelhető statisztikailag szignifikáns, bár nem számottevő növekedés enyhe, késői (primer granulumokat érintő) granulocita aktiválódást jelezhet. A PCI-t követő napon megfigyelhető mérsékelt csökkenés a granulociták aktiváltságának csillapodására utal.

A laktoferrin egy specifikus neutrofil aktiválódási marker: sejtaktivációt követően felszabadul a neutrofil granulociták szekunder granulumjaiból, majd a sejt felszínhez kötődik, illetve megjelenik a keringésben. Hasonlóan a CD15 markert „viselő” sejtek esetéhez, a laktoferrint hordozó neutrofil granulocita arány is emelkedett valamelyest közvetlenül a sztentelést követően (mindkét betegcsoportban). Ezzel párhuzamosan megfigyeltük a plazma laktoferrin érték enyhe emelkedését is közvetlenül a PCI után mind az akut, mind a stabil betegekknél, ami e granulociták kismértékű aktiválódására utal. Már a PCI-t megelőzően is figyelemre méltóan magas volt a sejt felszínén laktoferrint kifejező neutrofil granulociták aránya (>25%), ami az aktivált neutrofil granulociták magas arányát jelzi koszorúér-betegségben. A PCI-t követő napon, mindkét betegcsoportban a

sejtfelszíni (hordozó sejtek aránya, MFI) és a plazma laktoferrin értékek kifejezett csökkenését figyeltük meg, ami a neutrofil aktiváltság jelentős csillapodására utal.

Mivel mind a plazma laktoferrin értéke, mind a laktoferrint hordozó granulociták aránya jelentős mértékben és hasonló irányban változott betegcsoportjainkban, így koszorúér-betegekben mindkettő alkalmazható lenne mint „neutrofil aktiváltsági állapotot érzékelő” marker. Azonban gyakorlati szempontból a plazma laktoferrin mérése sokkal alkalmasabb lehet, mivel a vérplazmából végzett mérések olcsóbbak, egyszerűbbek és valószínűleg automatizálhatóak.

A plazma IL-6 értékek a sztentelés alatt emelkedtek mindkét betegcsoportban; ez az emelkedés különösen a PCI-t követő napon volt jelentős, amikor a neutrofil granulociták aktiváltsági állapota már mérséklődött. A változások háttérében egy kezdődő akut fázis reakció állhat. A vérplazma IL-6 értéke szoros összefüggésben lehet a pszichológiai stresszel is.

## **2. ACTH-val és kortizollal összefüggő neutrofil moduláció PCI kezelésen áteső koszorúér-betegekben**

Kimutattuk, hogy a plazma ACTH, ill. kortizol szint összefüggésben lehet a neutrofil granulociták aktiváltsági állapotával koszorúér-betegségben.

Mindkét betegcsoport PCI-t követő napon mért mintáiban negatív összefüggést találtunk az ACTH és a sejtfelszínen laktoferrint kifejező granulociták aránya, valamint a plazma laktoferrin koncentráció között. A feltevésünk, hogy az ACTH képes a neutrofil aktiváció/degranuláció csökkentésére, összhangban van azzal az elmélettel, mely szerint az ACTH képes az immunválasz/gyulladásos válasz gátlására.

A kortizol és származékai jól ismert gyulladáscsökkentő és immunszuppresszáns hatóanyagok, így nem egyértelmű az ACS betegek PCI előtti mintáiban talált, a kortizol és a plazma laktoferrin között fennálló korreláció háttere. Mivel a glükokortikoidok képesek lehetnek a humán neutrofil granulociták aktiválására (köszönhetően a sejtfelszíni magas  $\alpha$  -  $\beta$  glükokortikoid receptor aránynak), így a talált korreláció valószínűleg arra utal, hogy a rendkívül stresszes betegekben a kortizol szint és a neutrofil aktiválódás között kapcsolat állhat fenn. A kortizol reggel mért plazmaszintje és az érlemeszesedés súlyossága között korrelációt írtak le (az amerikai légierő tagjainál), így a kortizolt tulajdonképpen érlemeszesedést elősegítő stressz faktornak is tekinthetjük.

## **3. Monocita-limfocita arány: a PNI állapot korrelációs jelzője stabil angina pectorisban szenvedő betegekben**

A stabil koszorúér-betegek emelkedett monocita aránya és MLR értéke gyulladással állapot jelenlétét tükrözi, amelyet az MLR és a vérplazma LL-37, IL-6, illetve CRP között fennálló

korrelációk is alátámasztanak. Figyelemre méltó, hogy az általunk kapott MLR érték reciproka ( $1/0.32 = 3.125$ ) majdnem teljesen megegyezik azzal a kritikus 3.1-es limfocita-monocita aránnyal, ami olyan betegekre volt jellemző, akiknél fennáll a súlyos (érelmeszesedés okozta) alsó végtagi iszkémia kialakulásának fokozott kockázata, mely gyakran kísérője a koszorúér-betegségnek.

Betegeink emelkedett plazma CgA szintje fokozott általános neuroendokrin aktivitás és szimpatoadrenális aktivitást jelezhet. Fontos megjegyezni, hogy a CgA változót tartalmazó korrelációs modelleknél figyelembe vettük a protonpumpa gátló gyógyszerek szedését és annak a lehetőségét, hogy szívizomból is származhat CgA, mivel ezek a tényezők is a vérplazma CgA szintjének emelkedéséhez vezethetnek. Egy közelmúltban megjelent tanulmány szerint az emelkedett szimpatikus aktivitás és a monocitózis között közvetlen kapcsolat állhat fenn azért, hogy a hemopoetikus sejtek szimpatikus hatásra fokozottan szabadulhatnak fel a vörös csontvelőből, és ezt megnövekedett monocita képzés követi a lépben. A monociták fokozott vérbe jutása, gyulladáskeltő hatásuk révén, hozzájárulhat az érelmeszesedés súlyosbodásához, kiváltképp egy szívinfarktust követően. Tehát az emelkedett CgA szint a vérplazmában szimpatikus tónusfokozódást tükrözhet, amely monocitózishoz vezethet a vérben; ez a jelenség állhat a CgA és az MLR közötti erősen szignifikáns korreláció hátterében. Emellett aktivált monociták és makrofágok is képesek kromograninok szintézisére.

A betegek kb. 1/3-ának volt klinikailag jelentős depressziós szindrómája, és összesített stressz-megküzdési pontszámuk átlaga mindössze az „elégleges” tartományt érte el, ami arra utal, hogy betegeinknek korlátozott a stresszel szembeni megküzdési kapacitása. A súlyosabb depressziós tünetekkel rendelkező betegek mintáiban magasabb plazma CgA szintet találtunk, ami a depressziós tüneteket kísérő fokozott neuroendokrin-szimpatoadrenális aktivitással magyarázható. Korábbi kutatási eredmények alapján mind a depressziós, mind a tartósan stresszes egyéneknél szimpatoadrenális hiperaktivitás figyelhető meg, ami  $\beta$ -adrenerg receptorokon keresztül monocita/makrofág aktiválódáshoz vezethet koszorúér-betegségben. A magas CgA szint az alacsony pszichoszociális támogatottsággal is korrelált, ami arra utal, hogy a korlátozott érzelmi/társas támogatottság pszichoszociális stresszhez és fokozott szimpatoadrenális aktivitáshoz vezethet.

Az MLR és a depressziós tünetek súlyossága között szignifikáns összefüggést mutattunk ki, ami valószínűleg az aktivált monociták/makrofágok által termelt gyulladáskeltő citokinek (leginkább az IL-1) hatásával magyarázható: Ezek a citokinek a neurotranszmissziót befolyásolva járulhatnak hozzá a depressziós hangulat kialakulásához. Az MLR és az IL-6, valamint a CRP közötti korrelációk valószínűleg a monociták aktiválódásával és azok IL-6 termelésével függenek össze; a véráramba jutó IL-6 a CRP szintézis és általában az akut fázis reakció leghatékonyabb indukálóját. Az IL-6 és a CRP a fő gyulladáskeltő markerekhez tartoznak, melyek a stressz/depresszió és a koszorúér-betegség

közötti kapcsolatot biztosíthatják. Irodalmi adatok alapján a depressziós koszorúér-betegek CRP szintje jelentősen magasabb, kortizol szintje jelentősen alacsonyabb lehet a vérplazmában, mint a nem depressziós betegtársaiké. Ezzel összhangban, a mi betegeink vérmintáira is jellemző volt az irodalmi adatok alapján magasan tekinthető CRP koncentráció és a viszonylag alacsony kortizol szint, mely a krónikus stresszben jelentkező tartós negatív visszacsatolás következménye lehet.

Az MLR és az LL-37 között kapott korreláció nem meglepő, hiszen a monociták és a monocita eredetű makrofágok képesek LL-37 termelésére az érlelmeszedéses lézióban. Az LL-37 szignifikánsan korrelált a betegek depressziós tüneteinek súlyosságával; ez az összefüggés tovább erősíti azt az elképzelést, hogy a gyulladás és a depresszió egymással kapcsolatban lehet.

## KONKLÚZIÓ

Eredményeink háttérben egy kóros ("ördögi") PNI hálózat működése állhat, melyet a következő egyszerűsített képpel festhetünk le: a pszichés feszültség vagy az alacsony szintű pszichoszociális támogatottság fokozott HPA aktivitáshoz és szimpatikus tónusfokozódáshoz vezethet, mely elősegítheti a neutrofil granulociták aktiválódását, valamint a monociták számának és aktiváltsági állapotának emelkedéséhez vezethet. Az aktivált neutrofil granulociták és monociták által termelt gyulladáskeltő citokinek és más faktorok elősegíthetik a koszorúér-betegség és/vagy a depresszió kifejlődését; a koszorúér-betegség súlyosbodásával pedig az említett PNI hálózat folyamatainak aktivitása még tovább fokozódhat. Eredményeink hangsúlyozzák a stresszkezelési programok és a pszichoszociális intervenciók potenciális fontosságát, mivel ezek a módszerek képesek a krónikus stressz csökkentésére, a pszichoszociális támogatottság és a stressz-megküzdési képességek javítására, valamint a depressziós tünetek enyhítésére. Ezek a programok/intervenciók kedvezően befolyásolhatják az egymással kölcsönhatásban lévő pszichoszociális tényezők, neuroendokrin és gyulladásos faktorok kóros PNI hálózatát, és ezáltal hatékonyan hozzájárulhatnak a koszorúér-betegek mentális és fizikai egészségének javításához.

Eredményeink arra utalnak, hogy míg a plazma laktoferrin neutrofil aktiválódási markerként lehetne alkalmazni koszorúér-betegségben, addig a monocita-limfocita arányt – az általunk vizsgált másik egyszerűen mérhető és olcsó laboratóriumi paramétert – pedig a stabil koszorúér-betegek rutin klinikai állapotfelmérésében lehetne használni mint PNI korrelációs markert.

## ÖSSZEFOGLALÁS: ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Kimutattuk, hogy stabil és akut koszorúér-betegekben a koszorúér kezelést közvetlenül megelőző és követő állapotot az aktivált/degranulálódott neutrofil granulociták emelkedett aránya jellemezheti, melyet a jellemzően magas laktoferrin paraméter-értékek (sejtfelszíni laktoferrint hordozó neutrofil granulociták arányai és vérplazmában levő laktoferrin koncentrációk) tükröznek. Az említett laktoferrin értékek a PCI utáni napra nagymértékben, a kezdeti érték alá csökkentek, ami a neutrofil granulociták aktiváltságának nagyfokú csillapodására utal.
2. Kimutattuk, hogy a koszorúér-kezelésen átesett betegekben a vérplazma ACTH ill. kortizol koncentrációja és a neutrofil aktiváltsági állapot/degranuláció között korrelációs összefüggések állnak fenn. Negatív korrelációt találtunk a koszorúér-kezelést követő napon vett mintákban a laktoferrin értékek (sejtfelszíni laktoferrint hordozó neutrofil granulociták arányai és a laktoferrin vérplazma koncentrációi) és a vérplazma ACTH szintjei között mindkét koszorúér-beteg csoportban, mely a neutrofil granulociták aktiváltsági állapota és a vérplazma ACTH szint közötti negatív összefüggésre utalhat. Továbbá az akut koronária szindrómás betegcsoport sztentelés előtti mintáiban korrelációt mutattunk ki a kortizol szint és a plazma laktoferrin koncentráció között, mely a vér kortizol szintje és a neutrofil granulociták aktiváltsági állapota közötti pozitív összefüggést tükrözheti a nagymértékben stresszes akut koszorúér-betegekben a koszorúér-kezelést megelőzően.
3. Kimutattuk, hogy stabil koszorúér-betegekben az emelkedett monocita-limfocita arány összefüggésben lehet a depressziós tünetek megjelenésével/súlyosságával, a fokozott neuroendokrin-szimpatikus aktivitással (amit az emelkedett vérplazma kromogranin A szint jelzett) és az érlemeszesedés kialakulásában és súlyosbodásában jelentős szerepet játszó gyulladásos faktorok (LL-37, IL-6 és CRP) magas koncentrációival.
4. Korrelációkat mutattunk ki továbbá a fokozott neuroendokrin-szimpatikus aktivitás és az alacsony szintű pszichoszociális támogatottság, illetve a magas pontszámú depressziós tünetegyüttes között, ami a fokozott szimpatoadrenális aktivitás összefüggését tükrözheti a korlátozott pszichoszociális (érzelmi) támogatottsággal és a depressziós tünetek súlyosságával.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom Dr. Dux László professzor úrnak, aki lehetőséget biztosított arra, hogy Ph.D. tanulmányaimat az SZTE ÁOK Biokémiai Intézetében végezhessem.

Különösen hálás vagyok témavezetőmnek, Dr. Keresztes Margitnak az útmutatásért és a tanácsokért, melyek segítettek a munkámat, és azért, hogy bátorított, amikor a sikertelen publikálás lehangolt és elbizonytalanított.

Köszönöm Forster Tamás professzor úrnak, a II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ igazgatójának, hogy biztosította számunkra a lehetőséget, hogy a Klinika betegein végezhessük el vizsgálatainkat.

Hálás vagyok a Stresszkutató Csoportunk kardiológusainak, Dr. Ungi Imrének (az Invazív Kardiológiai Részleg igazgatójának) és különösen Dr. Horváth Tamásnak, akik a kardiológiai háttér biztosításával és a betegek kutatásba történő bevonásával segítettek a munkát.

Köszönöm Rafael Beatrix hozzájárulását, aki munkacsoportunk pszichológusaként a betegek pszichotesztjeinek kiértékelésében nyújtott felbecsülhetetlen segítséget.

Nagyon köszönöm Dr. Földesi Imrének (a Laboratóriumi Medicina Intézet vezetőjének) és Dr. Gardi Jánosnak (az I. sz. Belgyógyászati Klinika Endokrin Laboratóriumának vezetőjének) a segítségét a neuroendokrin markerek mérésében.

Köszönöm Ocsovszki Imre áramlási citometriás mérésben nyújtott segítségét, mellyel a sejtfelszíni granulocita-aktiválódási markerek meghatározása megvalósulhatott.

Hálásan köszönöm Dr. Boda Krisztinának az 1. projekt statisztikai elemzésében nyújtott segítségét.

Hálás vagyok Roland von Känelnek (Department of Neurology, Bern University Hospital, and Department of Psychosomatic Medicine, Clinic Barmelweid, Barmelweid, Switzerland) a 2. kutatási projektünk kéziratának módosításában nyújtott szakértői tanácsaiért.

Köszönöm az áldozatos laboratóriumi munkát laboratóriumi technikusunknak, Lajtós Zsuzsának.

Hálásan köszönöm Hepp Krisztinának, az Invazív Kardiológiai Részleg főnővérének, a nélkülözhetetlen klinikai segítséget.

És végül, de nem utolsósorban, nagyon köszönöm a családomnak, hogy támogattak a munkám éve alatt.

Jelen munka az Emberi Erőforrások Minisztériuma által biztosított 3 éves doktori képzés anyagi támogatásának felhasználásával valósult meg.