

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ, FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE
„GEORGE EMIL PALADE” DIN TÎRGU MUREȘ

ȘCOALA DE STUDII DOCTORALE

Rezumatul tezei de doctorat

Studiul particularităților clinico-patologice, aspectelor morfologice și imunohistochimice ale plăcilor aterosclerotice vulnerabile obținute prin endarterectomie carotidiană

Doctorand **Ioan Alexandru Balmos**

Conducător de doctorat **Prof. Dr. Klara Brînzaniuc**

TÎRGU MUREȘ 2024



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ,
FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE
„GEORGE EMIL PALADE”
DIN TÂRGU MUREȘ

Introducere

Ateroscleroza este o boală inflamatorie cronică localizată la nivelul peretelui arterial ce determină îngustarea lumenului acesteia. S-au identificat numeroși factori constituționali și multiple comorbidități care contribuie la apariția și progresia aterosclerozei. Stenoza carotidiană (SC), consecința aterosclerozei arterei carotide (AC), reprezintă îngustarea lumenului AC fiind o patologie mai frecventă la persoanele vârstnice și o cauză frecventă a accidentelor vasculare cerebrale (AVC). Tratamentul SC severe este conservator asociat cu tratament chirurgical - endarterectomie carotidiană (EC) cu/fără angioplastie sau cu tratament endovascular - angioplastie și stentare carotidiană. Clasificarea American Heart Association (AHA) modificată a plăcilor aterosclerotice carotidiene permite, în urma identificării histologice ale elementelor de la nivelul plăcilor, încadrarea acestora în una din cele 8 categorii. Deși în concepția clasică macrocalcificarea este asociată cu stabilitatea plăcii, conform ultimelor date publicate despre ateroscleroză, microcalcificarea nu oferă stabilitate plăcilor iar aceasta se asociază cu modificări morfologice care creează de asemenea vulnerabilitate plăcilor - prezența infiltratului inflamator, miezul lipidic și ulcerarea de la suprafața plăcii. Toate modificările morfologice apărute la nivelul plăcii sunt consecința inflamației cronice îndelungate în dezvoltarea căreia monocitele și macrofagele joacă un rol important, iar gradul de infiltrare a macrofagelor și mastocitelor împreună cu densitatea microvasculară în placă sunt utile în predicția riscului de rupere a plăcilor carotidiene vulnerabile.

Obiective

Studiile efectuate au scopul caracterizării complexe a SC simptomatice atât din punct de vedere clinic și imagistic, cât și cu ajutorul tehnicilor clasice histologice și imunohistochimice, fiind descrisă printr-un profund grad de interdisciplinaritate (angiologie, tehnici chirurgicale, imagistică, histopatologie, imunohistochimie). Pentru fiecare din cele 4 studii am avut obiective specifice. Astfel, în primul studiu, considerând caracteristicile comune a pacienților înrolați în studiu, am încercat cartografierea factorilor de risc, a particularităților clinico-patologice și paraclinice ale aterosclerozei AC pe baza informațiilor demografice și a datelor clinice ale pacienților. Deoarece toți pacienții înrolați în studiu au beneficiat de tratament chirurgical deschis - EC, în a doua fază a cercetării (Studiul 2) am analizat incidența complicațiilor postoperatorii imediate și factorii de risc ce pot influența apariția acestora. În cel de-al treilea studiu am cercetat corelațiile histologice dintre modelele și localizarea calcificării intraplacă, prezența infiltratului inflamator și expresia osteopontinei (OPN), cu semnele directe de vulnerabilitate. Pe baza rezultatelor Studiului 3 am selectat plăcile cu infiltrat inflamator perilezional activ pentru studiul imunohistochimic. Infiltratul CD68+, expresiile iNOS2+, Arg1+ și CD31+ au fost cuantificate în jurul nucleului lipidic prin morfometrie digitală. Aceste rezultate au fost corelate cu prezența modificărilor morfologice care duc la instabilitatea plăcii (Studiul 4).

Studiul 1 - Studiul aspectelor epidemiologice, particularităților clinico-patologice și paraclinice a aterosclerozei arterei carotide

În acest studiu au fost incluși 119 pacienți simptomatici având SC de peste 70%. Înainte de operație, s-au efectuat investigații imagistice pentru a diagnostica, localiza și clasifica stenoza. Din cei 119 pacienți, 82 erau de sex masculin și 37 de sex feminin, iar vârstă medie a fost de 67 de ani. 84 de indivizi au prezentat leziune unilaterală, iar 35 au avut o afectare bilaterală a carotidelor. La 76 de subiecți a fost confirmat un istoric de AVC anterior. În marea majoritate a cazurilor pacienții au fost hipertensivi (92,4%), iar 27,7% erau diabetici (tip 1 și tip 2). Optzeci dintre ei au prezentat doar ateroscleroză carotidiană; la 28 de pacienți s-a stabilit implicarea a două paturi arteriale (carotide și vase periferice sau coronare), iar la 11 cazuri am identificat implicarea a trei paturi arteriale (carotide, vase periferice și artere coronare). 48,7% din populația coortei erau fumători și cu excepția a 4 subiecți, toți au prezentat hipercolesterolemie. În urma testării distribuției pentru variabilele continue doar pentru variabila vârstă datele sunt normal distribuite.

Studiul 2 - Studiul evoluției postoperatorii imediate a pacienților cu endarterectomie carotidiană

În acest studiu prospectiv au fost incluși toți cei 119 pacienți din Studiul 1 care au beneficiat de EC. Toți pacienții au fost monitorizați în ceea ce privește parametrii biologici și starea clinică în primele două zile postoperator. Au fost monitorizate complicațiile postoperatorii acute cum ar fi tulburările neurologice, hematoamele de dimensiuni medii-mari ale regiunii cervicale și pareza de nerv facial, acestea necesitând îngrijiri suplimentare sau reintervenție chirurgicală. În grupul nostru, am identificat 15 pacienți cu complicații după EC și niciun deces. Prin urmare, am încercat să determinăm factorii care ar putea influența

apariția complicațiilor postoperatorii imediate. Astfel apariția hematomului regiunii cervicale este mai frecventă la pacienții cu boală coronariană avansată, fumători sau care au folosit preoperator medicație anticoagulantă. Complicațiile neurologice apar dacă durata intervenției chirurgicale este prelungită peste 90 minute iar hipertensiunea arterială ar putea influența apariția parezei de nerv facial postoperator.

Studiul 3 - Studiul aspectelor histologice ale vulnerabilității plăcii la pacienții cu stenoză carotidiană severă

Un total de 119 cazuri au fost selectate pentru studiul histopatologic. Plăcile aterosclerotice au fost obținute prin EC de la pacienții diagnosticați cu stenoză severă a AC. Toate fragmentele au fost prelucrate conform metodologiei standard, colorate cu hematoxin-eozină. Pentru evidențierea calcificării a fost realizată colorația von Kossa și colorația imunohistochimică folosind anticorpii policlonali OPN. În urma examenului microscopic s-au observat semnele vulnerabilității plăcilor astfel: un nucleu necrotic mare bogat în lipide a fost detectat în 58,8% din specimene, o componentă activă de celule mononucleare (macrofage și limfocite) a fost găsită în 63,02% din cazuri, agregate de eritrocite în structura plăcii-hemoragie intraplaacă (HIP) a fost prezentă în 32,8% din cazuri și multe plăci au prezentat neovascularizație, prin proliferarea unor vase cu pereți subțiri și cu lumenul colabă (66,4%), în majoritatea cazurilor coexistând cu inflamația și HIP. Plăcile ulcerate cu capsule fibroase neregulate și discontinue (43,7%) au dus la formarea de trombi în 16 cazuri. Microcalcificarea și calcificarea nodulară au fost cele mai frecvente tipuri de expresie a calcificării iar localizarea acesteia superficială a predominat în plăcile examinate. Expresia de grad înalt a OPN la nivelul plăcilor a fost corelată cu prezența infiltratului inflamator, nucleului lipidic și ulcerăției.

Studiul 4 - Micromediul inflamator și densitatea vaselor neoformate la nivelul plăcilor aterosclerotice ca factori predictivi a vulnerabilității: studiul imunohistochimic și morfometric

În acest studiu am propus caracterizarea imunohistochimică a micromediului inflamator eterogen și cartografierea aspectului arhitectural al neovascularizației în interiorul plăcii, prin caracterizare morfologică și determinarea densității microvasculare dintr-un număr de 67 de specimene de endarterectomie notate cu prezența infiltratului inflamator perilezional în Studiul 3. Am folosit metoda morfometriei digitale pentru a evalua macrofagele CD68+ ca elemente principale ale infiltratului celular. De asemenea, am cuantificat suprafața Arg1+ și iNOS2+ din cadrul "hotspotului inflamator" pentru a determina dominanța subtipului M2 - Arg1 pozitive sau M1- iNOS2 pozitive. Am observat predominanța subtipului M2 în lotul nostru (55 cazuri) iar în cazurile cu predominanței macrofagelor M1 aceasta s-a asociat cu aterotromboza. Suprafața CD68+ a fost aproape aceeași în ambele grupuri (1,38%-Arg1+ vs. 1,33%-iNOS2+). Inflamația perilezională a fost asociată cu neovascularizația plăcii în doar 41 de cazuri. În aceste cazuri, neovascularizația, observată ca prezență a microvaselor nou formate în interiorul plăcii, a fost asociată cu o suprafață CD31+ semnificativ mai mare decât în plăcile fără acest fenomen ($1,07 \pm 0,14\%$ vs. $0,05 \pm 0,05\%$). De asemenea în cele 13 plăci cu aterotromboză, suprafața pozitivă CD31 a fost semnificativ mai mare decât în plăcile fără aterotromboză ($1,02 \pm 0,20\%$ vs. $0,61 \pm 0,12\%$).

Concluzii

În urma acestor studii am observat că 63,9% dintre pacienții cu SC severă care au beneficiat de tratament chirurgical prin EC au avut AVC preoperator. Vârsta, sexul, hipertensiunea, diabetul, și fumatul nu au putut fi asociate cu prezența bolii polivasculare, cu implicarea unilaterală/bilaterală carotidiană și cu gradul de stenoză a AC. EC este o procedură chirurgicală sigură cu complicații postoperatorii puține, efectuată la pacienții cu stenoză severă a AC, pentru a preveni apariția sau reapariția AVC și pentru a îmbunătăți calitatea vieții postoperator. La pacienții cu plăci carotidiene cu componente inflamatorii scăzute/ușoare, apariția evenimentelor cerebrovasculare (AVC) este semnificativ mai mică în comparație cu cei cu inflamație abundentă, sugerând rolul macrofagelor proinflamatorii în vulnerabilitatea ateromului. Rezultatele noastre aduc dovezi histologice despre rolul critic important al microcalcificării și al inflamației cronice în formarea și destabilizarea plăcilor carotidiene avansate. Luând în considerare doar populația de macrofage, fără cele care au aspect de celule spumoase, chiar dacă subtipul M2 de macrofage a fost cel dominant în specimenele de endarterectomie, aterotromboza se asociază doar cu inflamația în care predomină macrofagele M1 cu caracter proinflamator.