

Verschillen in samenstelling van de atherosclerotische plaque tussen mannen en vrouwen als verklaring voor het geringere succes van carotisendarteriëctomie bij vrouwen*

W.E.Hellings, G.Pasterkamp, B.A.N.Verhoeven, D.P.V.de Kleijn, J.P.P.M.de Vries, C.A.Seldenrijk, Th.van den Broek en F.L.Moll

Zie ook de artikelen op bl. 2596 en 2617.

Doel. Nagaan of er tussen vrouwen en mannen verschillen zijn in samenstelling van atherosclerotische plaque verkregen bij carotisendarteriëctomie.

Opzet. Observatieel en beschrijvend.

Methoden. Plaques verkregen bij carotisendarteriëctomie van 450 opeenvolgende patiënten (135 vrouwen, 315 mannen) werden beoordeeld op aanwezigheid van macrofagen, gladde spiercellen, collageen, calcificaties en lumen trombus door middel van immunohistochemische kleuringen. De plaques werden verdeeld in 3 fenotypen gebaseerd op het totaalbeeld van de histologische kenmerken en het vetgehalte. Uit de plaques werd eiwit geïsoleerd voor bepaling van de concentraties van interleukine (IL)-6, IL-8 en de activiteit van matrixmetalloproteïnase (MMP)-8 en MMP-9.

Resultaten. Bij vrouwen werd minder vaak een atheromateuze (> 40% vet) plaque gevonden dan bij mannen (22 versus 40%; $p < 0,001$). Daarnaast hadden meer vrouwen dan mannen een geringe hoeveelheid macrofagen (18 versus 11%; $p = 0,05$) en een grote hoeveelheid gladde spiercellen (38 versus 24%; $p = 0,001$). De plaques van vrouwen hadden een lagere concentratie IL-8 en een lagere MMP-8-activiteit. De verschillen tussen mannen en vrouwen golden voornamelijk de asymptomatische patiëntengroep. Bij 9% van de asymptomatische vrouwen werd een atheromateuze plaque gezien; bij asymptomatische mannen was dit percentage 39 ($p = 0,02$). Daarbij hadden de vrouwen vergeleken met de mannen een grote hoeveelheid gladde spiercellen (53 versus 30%; $p = 0,03$) en collageen (55 versus 24%; $p = 0,003$). Alle verbanden tussen geslacht en plaquekenmerken, behalve MMP-8, bleven identiek in de multivariate analyse, waarin klinische presentatie en cardiovasculaire risicofactoren werden meegenomen.

Conclusie. Vrouwen met een carotisstenose hadden stabielere plaques dan mannen, onafhankelijk van de klinische presentatie en het cardiovasculaire risicoprofiel. Bij asymptomatische vrouwen werden vaak stabiele plaques gevonden. Deze bevindingen kunnen verklaren waarom mannen meer baat hebben bij een carotisendarteriëctomie dan vrouwen.

Ned Tijdschr Geneesk. 2008;152:2624-31

Bij patiënten met een hooggradige stenose van de A. carotis interna vermindert carotisendarteriëctomie (CEA) het risico

op een beroerte, zowel bij symptomatische als asymptomatische stenosen. De reductie in morbiditeit en sterfte door deze chirurgische ingreep is afhankelijk van verschillende patiëntkenmerken. Daarbij is geslacht een belangrijke determinant van de uitkomst.

* Dit onderzoek werd eerder gepubliceerd in het *Journal of Vascular Surgery* (2007;45:289-96) met als titel 'Gender-associated differences in plaque phenotype of patients undergoing carotid endarterectomy.' Afgedrukt met toestemming.

In de internationale literatuur is al vaker beschreven dat mannen meer baat hebben bij een CEA dan vrouwen. Bij conservatief behandelde patiënten is het risico op een beroerte groter bij mannen dan bij vrouwen. Na CEA wordt dit risico tot een voor beide groepen vergelijkbaar niveau gereduceerd.¹⁻³ Gerandomiseerde klinische studies hebben laten zien dat vrouwen met een asymptomatische stenose een groep vormen die minder baat heeft bij CEA dan mannen en patiënten met een symptomatische stenose, hoewel ook bij hen een, weliswaar geringe, reductie van het risico op het krijgen van een beroerte te behalen is door CEA.^{1 2 4}

Universitair Medisch Centrum Utrecht, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht.

Afd. Vaatchirurgie: hr.dr.W.E.Hellings, arts in opleiding tot chirurg (tevens: Laboratorium Experimentele Cardiologie); hr.dr.B.A.N.Verhoeven, arts in opleiding tot chirurg; hr.prof.dr.F.L.Moll, vaatchirurg.

Laboratorium Experimentele Cardiologie, Huispost Go2.523: hr.prof.dr.G.Pasterkamp, arts en epidemioloog; hr.dr.D.P.V.de Kleijn, moleculair bioloog; hr.drs.Th.van den Broek, arts.

St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein.

Afd. Vaatchirurgie: hr.dr.J.P.P.M.de Vries, vaatchirurg.

Afd. Pathologie: hr.dr.C.A.Seldenrijk, patholoog.

Correspondentieadres: hr.prof.dr.G.Pasterkamp

(g.pasterkamp@umcutrecht.nl).

Er is een aantal mogelijke verklaringen voor de verschil-

len tussen mannen en vrouwen wat betreft de klinische effecten van CEA. Beeldvorming van de A. carotis door middel van duplexonderzoek heeft aangetoond dat het volume van de atherosclerotische plaque bij de carotisbifurcatie groter is bij mannen dan bij vrouwen, en dat dit plaquevolume een belangrijke voorspeller is van de klinische uitkomst na CEA.⁵ Daarnaast wordt het effect van geslachtshormonen bij atherosclerose in toenemende mate onderzocht,⁶ maar een directe link tussen hormonen en de uitkomst van een carotisoperatie ontbreekt vooralsnog.

De klinische verschillen tussen mannen en vrouwen zouden ook een afspiegeling kunnen zijn van een verschillende samenstelling van de carotisplaque. Als vrouwen een plaque hebben die minder de neiging heeft tot het veroorzaken van distale embolisatie en van beroerte als gevolg daarvan, dan zou het verwijderen van een dergelijke plaque minder effect hebben op het klinische beloop. Voor de coronairarteriën zijn plaquekenmerken bekend die sterk verband houden met een onstabiele klinische presentatie. De zogenaamde vulnerabele of instabiele plaque wordt gezien als de oorzaak van een myocardinfarct of van instabiele angina pectoris. Deze plaque wordt gekenmerkt door een groot lipidemeer en weinig fibreus weefsel (namelijk een dunne fibreuze kap, weinig gladde spiercellen en weinig collageen), alsmede door een verhoogde inflammatie en proteaseactiviteit.⁷⁻⁹

Een aantal recente histologische studies waarin carotisplaques zijn bestudeerd, hebben aangetoond dat de pathofysiologie van deze plaques vergelijkbaar is met die van coronaire plaques, dat wil zeggen dat de instabiele plaque in de A. carotis sterk samenhangt met een symptomatische presentatie van carotisstenosen.¹⁰⁻¹² Daarnaast is gerapporteerd dat er een verband is tussen de proteaseactiviteit van matrixmetalloproteïnase (MMP)-8 en MMP-9 enerzijds en instabiliteit van de carotisplaque anderzijds.^{13, 14}

Wij onderzochten of vrouwen die CEA ondergaan stabielere carotisplaques hebben dan mannen en of dit met name het geval is bij vrouwen met een asymptomatische stenose. Dit zou kunnen verklaren dat vrouwen minder baat hebben bij CEA dan mannen.

PATIËNTEN EN METHODEN

Patiënten. De 'Athero-express'-studie is een longitudinale biobankstudie met als primair doel het bestuderen van de relatie tussen kenmerken van atherosclerotische plaques en het optreden van cardiovasculaire uitkomsten.¹⁵ Alle patiënten die een CEA ondergaan in het Universitair Medisch Centrum Utrecht of het St. Antonius Ziekenhuis in Nieuwegein wordt gevraagd om deel te nemen aan de studie; het inclusiepercentage is 94,6. Vóór CEA vullen de patiënten een uitgebreide vragenlijst in en wordt bloed afgenomen en ingevroren bij -80°C . Tijdens CEA wordt de plaque naar

het laboratorium overgebracht en verwerkt volgens een gestandaardiseerd protocol. Na de operatie worden de patiënten gevolgd middels duplexonderzoek en klinische follow-up.

De medisch-ethische toetsingscommissies van beide ziekenhuizen verleenden toestemming voor de studie en alle patiënten gaven schriftelijk informed consent voor deelname. Voor de huidige studie werden alle patiënten bestudeerd die geïncludeerd werden in de periode april 2002-oktober 2005.

Inclusie en preoperatieve beoordeling van patiënten. De indicatie voor CEA was gebaseerd op de aanbevelingen van de ACST-, de ECST- en de NASCET-trial.^{2, 16-18} Alle patiënten werden preoperatief door een neuroloog gezien voor beoordeling van de neurologische status. De mate van stenose in de A. carotis interna (uitgedrukt in %) werd vastgesteld met duplexonderzoek.^{19, 20} Indien dit onderzoek geen conclusie toeliet, werd aanvullend magnetischeresonantieangiografie (MRA), CT-angiografie (CTA) of conventionele angiografie verricht voor het vaststellen van de stenosegraad. Patiënten met een terminale maligniteit en patiënten die na de operatie werden terugverwezen naar een ziekenhuis buiten Nederland werden geëxcludeerd.

Patiëntkarakteristieken. De vragenlijsten en de klinische status dienden als bron voor de uitgangswaarden voor de patiëntkenmerken. De vragenlijsten bevatten vragen over de voorgeschiedenis en over cardiovasculaire risicofactoren (roken, hypertensie, diabetes) en medicijngebruik. De klinische presentatie en de stenosegraad werden uit de klinische status verkregen. Lipidespectra werden bepaald in de bloedmonsters die preoperatief waren afgenomen.

Carotisendarteriëctomie. CEA werd verricht onder algehele anesthesie. Voorafgaand aan het afklemmen van de A. carotis werd intraveneus heparine 5000 E toegediend. Alle CEA's werden verricht middels een open non-eversietechniek met een nauwkeurige dissectie van de plaque vanaf de bifurcatie tot in de A. carotis interna en externa. De atherosclerotische plaque werd na excisie onmiddellijk naar het laboratorium overgebracht.

Verwerking van de plaques. Het preparaat werd door een gespecialiseerde analist in segmenten van 5 mm gesneden. Het segment met het grootste plaqueoppervlak ('culprit lesion') werd gebruikt voor de histologische beoordeling van de plaque. Dit segment werd gefixeerd in formaldehyde 4%, gedecalcificeerd in ethyleendiaminetetra-acetaat en vervolgens ingebed in paraffine. De andere segmenten werden ingevroren in vloeibare stikstof en bewaard bij -80°C . Van het ingebedde segment werden coupes van 5 µm dikte gesneden.

De plaques werden beoordeeld op aanwezigheid van macrofagen (middels CD68-kleuring), gladde spiercellen (middels α -actinekleuring), collageen (middels picosiriusroodkleuring) en calcificaties (middels HE-kleuring). Ze

TABEL 1. Uitgangskennmerken van 450 patiënten die een carotisend-arteriëctomie ondergingen

	♀ (n = 135)	♂ (n = 315)	p*
leeftijd in jaren (SD)	66,2 (9,3)	67,7 (8,5)	0,09
voorgeschiedenis; n (%)			
hypertensie	100 (74)	211 (67)	0,15
diabetes	30 (22)	62 (20)	0,53
eerdere vaatinterventie	41 (30)	128 (41)	0,04
eerdere ipsilaterale carotisinterventie	9 (7)	11 (4)	0,14
roken	41 (31)	76 (25)	0,20
hypercholesterolemie	68 (62)	156 (62)	0,96
medicatie; n (%)			
hormoonvervangende therapie	6 (7)		
statine	79 (66)	182 (63)	0,58
acetylsalicylzuur	106 (85)	249 (85)	0,90
orale anticoagulantia	17 (14)	48 (16)	0,46
NSAID	8 (6)	12 (4)	0,32
laboratoriumuitslagen in mmol/l (SD)			
totaalcholesterol	5,4 (1,1)	4,9 (1,2)	0,006
hdl-cholesterol	1,3 (0,36)	1,1 (0,35)	0,004
ldl-cholesterol	3,2 (1,0)	2,9 (1,0)	0,04
triglyceriden	2,1 (1,2)	2,1 (1,0)	0,96
symptomen; n (%)			
asymptomatische ziekte	33 (25)	69 (22)	
amaurosis fugax	18 (13)	45 (14)	0,91
TIA	47 (35)	118 (38)	
beroerte	37 (27)	83 (26)	
stenose vastgesteld met duplexonderzoek; n (%)			
50-64%	3 (2)	9 (3)	
65-89%	46 (36)	112 (37)	0,84
90-100%	79 (62)	181 (60)	

TIA = 'transient ischaemic attack'.

*Significante waarden zijn rood gedrukt.

werden voor elk van de bovengenoemde factoren semi-kwantitatief gescoord volgens de criteria 'geen', 'weinig', 'gemiddelde hoeveelheid' en 'veel', zoals eerder is beschreven.¹⁵ Een lumbale trombus werd gescoord als 'aanwezig' of 'afwezig' op preparaten gekleurd met HE en elastica-kleuring volgens Van Gieson. De grootte van het lipide-meer werd geschat met behulp van de HE- en de picrosirius-roodkleuring.

Op basis van de grootte van het lipide-meer en het histologische totaalbeeld van de plaque werden 3 plaquefenotypen onderscheiden: fibreuze plaque (< 10% vet), fibro-atheromateuze plaque (10-40% vet) en atheromateuze plaque (> 40% vet).

De plaques werden beoordeeld door onderzoekers die geblindeerd waren voor de patiëntkarakteristieken. Naast de semikwantitatieve beoordelingen werden voor macrofagen en gladde spiercellen kwantitatieve metingen verricht. Hiertoe werden de histologische coupes gedigitaliseerd, waarna door middel van computeranalyse het opper-

vlakpercentage van macrofagen en gladde spiercellen in de plaque werd vastgesteld.

Bepaling van interleukinen en matrixmetalloproteinasen. Het plaquesegment naast de culprit-lesie werd gebruikt voor eiwitisolatie. Bij 301 plaques was eiwit beschikbaar voor analyse. De concentraties van interleukine(IL)-6 en IL-8 werden in alle monsters bepaald ('multiplex suspension array'-systeem, Bio-Rad, Hercules, VS). De activiteit van MMP-8 en MMP-9 werd gemeten in een random bepaalde subgroep van 133 patiënten door middel van de Biotrak-activiteitsassay RPN 2635 en RPN 2634 (Amersham Biosciences, Amersham, VK).

Data-analyse. De U-toets van Mann en Whitney werd gebruikt voor de vergelijking van de histologische plaquekenmerken, de interleukinen en de MMP's tussen mannen en vrouwen en tussen mannen en vrouwen die waren ingedeeld op basis van de combinatie van geslacht en klinische presentatie. De relatie tussen geslacht en plaquekenmerken werd door middel van multivariate logistische regressie geanalyseerd op invloed van cardiovasculaire risicofactoren, klinische presentatie en alle patiëntkarakteristieken die een samenhang met $p < 0,20$ vertoonden met het geslacht. Bevindingen met een p-waarde $< 0,05$ werden als statistisch significant beschouwd.

RESULTATEN

In totaal werden 450 plaques verkregen. De patiëntkarakteristieken worden beschreven in tabel 1. De plaques van vrouwen lieten een meer fibreus fenotype zien dan die van mannen (tabel 2). In plaques van vrouwen was de infiltratie van macrofagen geringer terwijl deze plaques een groter oppervlak aan gladde spiercellen bevatten. De aanwezigheid van lumbale trombus, de calcificaties en het collageen verschillen niet tussen mannen en vrouwen. De plaquekenmerken hingen niet samen met de lipidespectra in het bloed (data niet getoond).

De plaquekenmerken werden tevens vergeleken tussen mannen en vrouwen die waren onderverdeeld naar klinische presentatie, dat wil zeggen naar asymptomatische presentatie of naar 'transient ischaemic attack'(TIA)/beroerte. Deze analyse liet zien dat de verschillen in plaquekenmerken in sommige gevallen nog duidelijker waren tussen asymptomatische vrouwen en asymptomatische mannen (figuur). Atheromateuze plaques werden gevonden bij 9% van de asymptomatische vrouwen, bij 39% van de asymptomatische mannen ($p = 0,02$) en bij 44% van de symptomatische mannen ($p < 0,001$). De plaques van asymptomatische vrouwen kenmerkten zich tevens door uitgebreide aanwezigheid van gladde spiercellen en collageen. De verschillen in histologische kenmerken van de plaque tussen mannen en vrouwen gingen gepaard met verschillen in inflammatie en proteaseactiviteit (tabel 3). Bij vrouwen werden lagere

TABEL 2. Histologische kenmerken van plaquemateriaal uit de A. carotis: verschillen tussen vrouwen en mannen

	♀ (in %) (n = 135)	♂ (in %) (n = 315)	p*	
			univariate analyse	multivariate analyse†
plaquefenotype (semikwantitatief gescoord)			< 0,001	0,006
fibreus	40,7	24,4		
fibroatheromateus	37,8	35,2		
atheromateus	21,5	40,3		
luminale trombus			0,26	0,45
afwezig	77,0	70,6		
aanwezig	23,0	29,4		
macrofagen (semikwantitatief gescoord)			0,05	0,20
geen	18,0	10,6		
weinig	31,6	33,2		
gemiddelde hoeveelheid	36,8	35,2		
veel	13,5	21,0		
macrofagen (kwantitatief gescoord)			0,12	0,36
mediane oppervlakte in % (ika)	0,26 (0,08-0,95)	0,39 (0,07-1,30)		
gladde spiercellen (semikwantitatief gescoord)			0,001	0,01
geen	0,8	1,9		
weinig	20,3	32,9		
gemiddelde hoeveelheid	41,4	41,9		
veel	37,6	24,2		
gladde spiercellen (kwantitatief gescoord)			0,03	0,03
mediane oppervlakte in % (ika)	2,27 (0,86-4,35)	1,62 (0,47-3,58)		
collageen (semikwantitatief gescoord)			0,08	0,39
geen	0,0	0,3		
weinig	19,4	22,6		
gemiddelde hoeveelheid	53,0	57,6		
veel	27,6	19,4		
calcificaties (semikwantitatief gescoord)			0,41	0,88
geen	29,6	25,7		
weinig	15,6	24,8		
gemiddelde hoeveelheid	28,9	31,1		
veel	25,9	18,4		

ika = interkwartielafstand.

*Significante waarden zijn rood gedrukt.

†In de analyse werden meegenomen: klinische presentatie, leeftijd, hypertensie, diabetes, roken, eerdere vaatinterventie, eerdere ipsilaterale carotis-interventie en cholesterolwaarde.

concentraties van MMP-8 en het pro-inflammatoire cytokine IL-8 gemeten. Bij vergelijking met de andere groepen werden bij asymptomatische vrouwen de laagste waarden van interleukinen en MMP's gemeten: statistisch significant lager dan bij symptomatische mannen waren de uitslagen voor IL-8: 14,1 versus 83,3 pg/ml ($p < 0,001$); voor MMP-8-activiteit: 2,6 versus 9,2 ($p = 0,003$); en voor MMP-9-activiteit: 1,1 versus 2,9 ($p = 0,002$) (zie tabel 3).

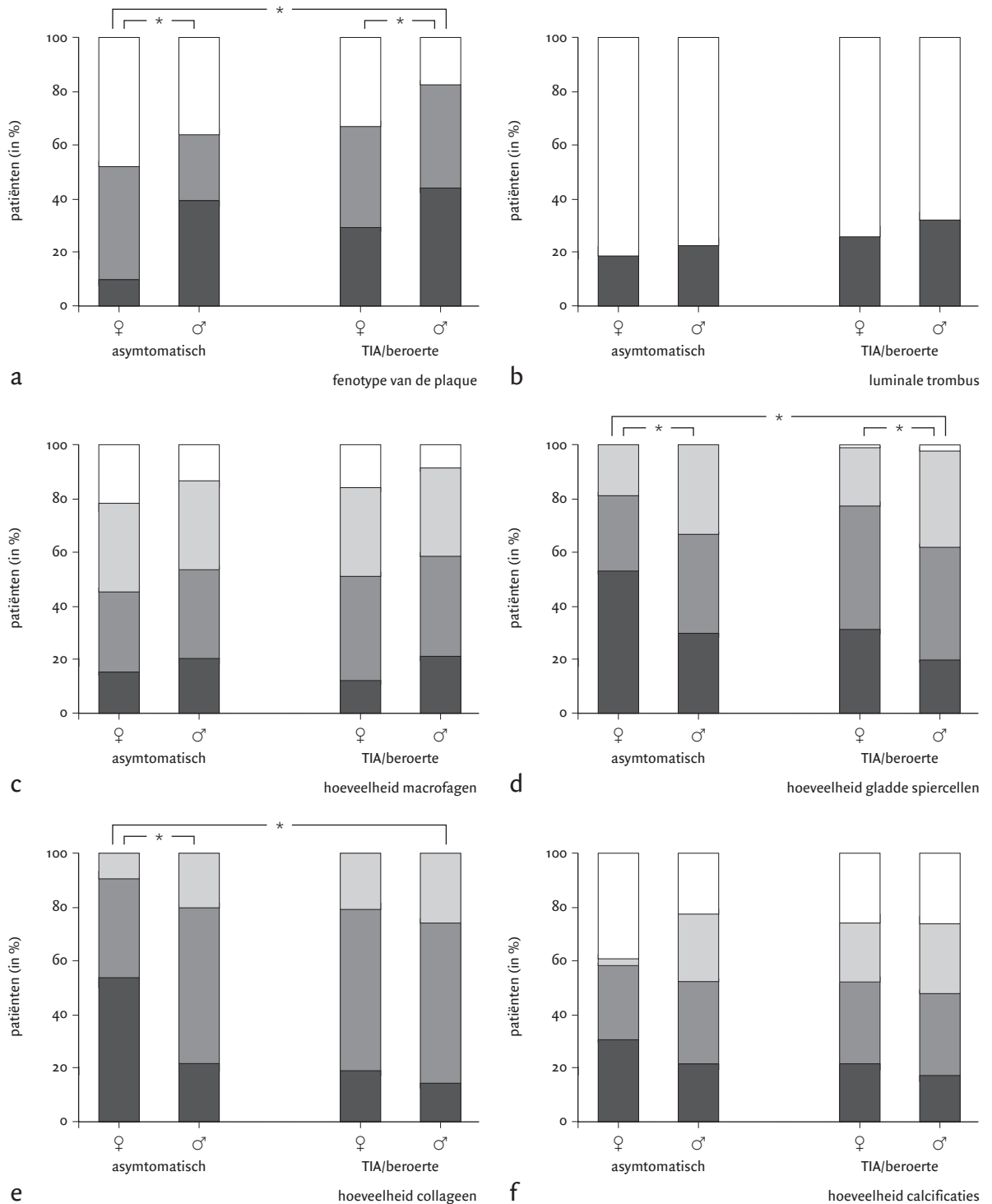
Alle plaquekenmerken die aan geslacht gerelateerd waren in de univariate analyse, met uitzondering van MMP-8, waren ook significant na correctie voor klinische presentatie, leeftijd, hypertensie, diabetes, roken, eerdere vaatinterventie, eerdere interventie aan de ipsilaterale A. carotis, en cholesterolspiegels. Deze bevinding suggereert

dat de gevonden verschillen tussen mannen en vrouwen niet veroorzaakt worden door verschillen in klinische presentatie of in cardiovasculaire risicofactoren.

BESCHOUWING

De belangrijkste bevinding van deze studie is dat vrouwen die een CEA ondergingen stabielere plaques hadden dan mannen: de carotisplaques verkregen bij vrouwen bevatten minder vet en macrofagen en meer gladde spiercellen. Daarnaast hadden de plaques van vrouwen een lagere IL-8-concentratie en een lagere MMP-8-activiteit.

Uit eerdere studies is bekend dat de histologische plaquekenmerken samenhangen met de klinische presentatie



Verschillen tussen mannen en vrouwen in de histologische kenmerken van de plaque verwijderd bij carotisendarteriëctomie. De onderzoekspersonen waren onderverdeeld naar klinische presentatie (asymptotisch versus 'transient ischaemic attack' (TIA)/beroerte): (a) fenotype van de plaque (■) atheromateus; (■) fibroatheromateus; (□) fibromateus, (b) aanwezigheid van luminaire trombus (■) trombus aanwezig; (□) trombus afwezig; (c) hoeveelheid macrofagen; (d) hoeveelheid gladde spiercellen; (e) hoeveelheid collageen; (f) hoeveelheid calcificaties. Bij (c)-(f): (■) veel aankleuring; (■) gemiddelde aankleuring; (□) weinig aankleuring; (□) geen aankleuring. (*) significant verschil; $p < 0,05$.

TABEL 3. Interleukine (IL) en matrixmetalloproteïnase (MMP) in plaquemateriaal uit de A. carotis: verschillen tussen vrouwen en mannen

	♀	♂	p*		asymptotisch		symptomatisch		p*		
			uni- variaat	multi- variaat†	♀ (a)	♂ (b)	♀ (c)	♂ (d)	(a) vs (b)	(c) vs (d)	(a) vs (d)
IL-6			0,2	0,89					0,81	0,56	0,23
mediaan (ika)	6,7 (0,5-21,1)	8,8 (3,6-19,3)			6,3 (1,6-23,4)	7,9 (3,6-12,0)	11,0 (1,0-23,8)	10,3 (3,9-23,8)			
IL-8			0,001	0,01					0,18	0,01	< 0,001
mediaan (ika)	25,9 (0,0-59,3)	51,3 (8,8-147,4)			14,1 (0,0-31,6)	17,2 (0,5-53,6)	41,9 (7,5-90,8)	83,3 (25,6-178,7)			
MMP-8			0,01	0,34					0,18	0,04	0,003
mediaan (ika)	4,2 (1,2-8,1)	7,1 (3,7-11,4)			2,6 (0,0-6,6)	5,0 (2,5-8,5)	5,7 (2,1-8,8)	9,2 (4,5-12,7)			
MMP-9			0,07	0,42					0,19	0,12	0,002
mediaan (ika)	1,6 (0,9-3,1)	2,6 (0,8-6,4)			1,1 (0,3-2,7)	1,4 (0,4-3,6)	1,7 (1,0-3,7)	2,9 (1,2-7,0)			

vs = versus; ika = interkwartielafstand.

*Significante waarden zijn rood gedrukt.

†In de analyse werden meegenomen: klinische presentatie, leeftijd, hypertensie, diabetes, roken, eerdere vaatinterventie, eerdere ipsilaterale carotis-interventie en cholesterolwaarde.

van atherosclerotische plaques in de coronairarteriën en de carotiden. Naar ons inzicht is er geen studie bekend waarin geslachtgerelateerde verschillen in carotisplaques zijn onderzocht, wellicht vanwege het daarvoor benodigde aantal patiënten. Voor coronaire plaques zijn er aanwijzingen dat een verse trombus en een plaqueruptuur vaker voorkomen bij mannen.²¹⁻²² Deze studies waren echter niet specifiek gericht op man-vrouwverschillen, maar hadden als primaire vraagstelling wat de relatie is tussen morfologische kenmerken van de plaque en klinische syndromen zoals myocardinfarct en acute hartdood.

Eerder werd gevonden dat er bij mannen vaker een groter plaquevolume was, gepaard gaande met een vergroting van het vat door expansieve remodelering.⁵ Tevens was het plaquevolume voorspellend voor cardiovasculaire uitkomsten. Onze studie laat zien dat vrouwen die geopereerd werden voor een carotisstenose stabielere plaques hadden dan mannen, en dat dus niet alleen het volume van de plaque, maar ook het fenotype ervan verschilde tussen mannen en vrouwen. Uit eerder onderzoek is bekend dat expansieve remodelering verband houdt met het plaquefenotype, en met name voorkomt bij instabiele plaques.²³ Onze resultaten komen dus overeen met die uit eerdere studies.

De hoeveelheid IL-8 was significant hoger bij mannen dan bij vrouwen, maar voor IL-6 was er geen statistisch significant verschil. De laagste waarden van beide cytokinen werden gevonden in de plaques van asymptomatische vrouwen. Beide cytokinen spelen een belangrijke rol bij atherosclerose en beide kunnen geproduceerd worden door verschillende celtypen in de atherosclerotische plaque.²⁴

In de huidige studie was de MMP-8-activiteit lager bij vrouwen dan bij mannen. De MMP-9-activiteit was lager bij asymptomatische vrouwen dan bij symptomatische mannen. Experimentele modellen en eerdere onderzoeken van humane plaques hebben aangetoond dat de activiteit van deze MMP's bijdraagt aan plaque-instabiliteit.¹³⁻¹⁴ MMP's zijn belangrijk voor de migratie van cellen, de afbraak van de fibreuze kap, de expansieve remodelering en de vorming van nieuwe vaten in de plaque.²⁵ De productie van MMP's wordt geremd door statinen.²⁶ Tot op heden zijn er geen studies geweest die geslachtsverschillen voor MMP-activiteit in atherosclerotische plaques hebben beschreven. Twee studies in een rattenmodel hebben aangetoond dat de MMP-9-productie in de aorta groter is bij mannelijke ratten dan bij vrouwelijke.²⁷⁻²⁸ Dit verschil kon worden verkleind door behandeling met oestrogenen of door transplantatie van de aorta van een mannelijke rat naar een vrouwelijke. Deze bevindingen suggereren dat er een direct effect van hormonen op de productie van MMP's bestaat, hetgeen zou kunnen bijdragen aan de geringere atherosclerose bij vrouwen.

De met geslacht samenhangende verschillen die wij vonden in histologische kenmerken van de plaque, in inflammatie en in proteaseactiviteit waren zowel binnen de asymptomatische als binnen de symptomatische groep aanwezig. Daarom kunnen deze verschillen niet worden toegeschreven aan een verschil in klinische presentatie. Ze kunnen evenmin het gevolg zijn van een verschil in cardiovasculaire risicofactoren, omdat alle verbanden tussen geslacht en plaquekenmerken, behalve voor MMP-8, intact bleven na correctie voor risicofactoren.

Het feit dat vrouwen vaker een stabiel plaquefenotype hebben, kan een verklaring zijn voor het geringere succes van CEA bij vrouwen. Alle gerandomiseerde klinische trials naar CEA laten zien dat vrouwen met een carotisstenose een lager risico op een beroerte hebben dan mannen wanneer zij conservatief behandeld worden.^{1 2 16-18 29} Behandeling door middel van CEA verlaagt het risico ongeveer even sterk in beide groepen. Daardoor is de risicoreductie groter bij mannen. Stabiele plaques gaan minder vaak samen met klinische uitingen van atherosclerose, zoals een myocardinfarct of een beroerte.⁷⁻¹²

Op basis van deze bevindingen stellen wij als hypothese dat het verwijderen van een stabiele plaque minder voordeel met zich meebrengt dan het verwijderen van een instabiele plaque; deze laatste wordt vaker gevonden bij asymptomatische mannen en bij symptomatische mannen en vrouwen. Daarnaast hebben de genoemde studies ook aangetoond dat vrouwen een licht verhoogd perioperatief risico op een beroerte hebben bij een CEA. Het is hierbij interessant te vermelden dat de aanwezigheid van een fibreuze plaque samengaat met een verhoogde micro-embolisatie gedurende de CEA.³⁰

Onze resultaten suggereren dat beeldvormend onderzoek van atherosclerotische plaques een belangrijke rol zou kunnen gaan spelen bij de selectie van patiënten voor CEA, met name in de patiëntengroepen waarin er een relatief kleine reductie is van het risico op het krijgen van een beroerte na het ondergaan van een CEA. Ons huidige onderzoek laat zien dat de variaties in plaquefenotype verband houden met de winst die te behalen is bij CEA. Dit impliceert dat selectie voor CEA van alleen die asymptomatische vrouwen die een instabiele plaque hebben de resultaten van de procedure sterk zou kunnen verbeteren. Nieuwe beeldvormende technieken zoals hogeresolutie-MRI, 'single-photon'-emissie-CT (SPECT) en palpografie kunnen gebruikt worden om deze strategie in praktijk te brengen.³¹⁻³³ Palpografie is een intravasculaire echografie waarbij een indruk wordt verkregen van de rek van de vaatwand. Die rek hangt samen met de lokale weefselstructuur.

Een beperking van de huidige studie is dat wij hierin alleen het segment van de plaque met het grootste plaqueoppervlak onderzochten en niet de gehele plaque. De rationale hiervan is dat het segment met het grootste plaqueoppervlak in het algemeen ook het segment is met de meeste inflammatie en het grootste lipidemeer. Daarnaast is bekend dat de beoordeling van dit segment redelijk representatief is voor die van de plaque als geheel.³⁴ In sommige gevallen zou echter een belangrijk kenmerk van de plaque gemist kunnen worden door deze methode. Dit nadeel werd gecompenseerd door het grote aantal patiënten in onze studie.

CONCLUSIE

De atherosclerotische plaques die tijdens CEA werden verwijderd bij vrouwen waren stabielier dan die van mannen, onafhankelijk van andere cardiovasculaire risicofactoren. Vergeleken met mannen hadden vrouwen die geopereerd werden voor een asymptomatische carotisstenose zeer stabiele plaques. Deze bevindingen kunnen verklaren waardoor mannen meer baat hebben bij een CEA dan vrouwen.

E. Busser en E. Velema gaven technische ondersteuning bij dit onderzoek.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Aanvaard op 26 september 2007

Literatuur

- 1 Executive Committee for the Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. Endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis. *JAMA*. 1995;273:1421-8.
- 2 Halliday A, Mansfield A, Marro J, Peto C, Peto R, Potter J, et al. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;363:1491-502.
- 3 Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJ. Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups and timing of surgery. Carotid Endarterectomy Trialists' Collaboration. *Lancet*. 2004;363:915-24.
- 4 Rothwell PM. ACST: which subgroups will benefit most from carotid endarterectomy? *Lancet*. 2004;364:1122-3.
- 5 Lemolo F, Martiniuk A, Steinman DA, Spence JD. Sex differences in carotid plaque and stenosis. *Stroke*. 2004;35:477-81.
- 6 Mendelsohn ME, Karas RH. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science*. 2005;308:1583-7.
- 7 Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: part II. *Circulation*. 2003;108:1772-8.
- 8 Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: part I. *Circulation*. 2003;108:1664-72.
- 9 Sary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull jr W, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1512-31.
- 10 Redgrave JN, Lovett JK, Gallagher PJ, Rothwell PM. Histological assessment of 526 symptomatic carotid plaques in relation to the nature and timing of ischemic symptoms: the Oxford plaque study. *Circulation*. 2006;113:2320-8.

- 11 Spagnoli LG, Mauriello A, Sangiorgi G, Fratoni S, Bonanno E, Schwartz RS, et al. Extracranial thrombotically active carotid plaque as a risk factor for ischemic stroke. *JAMA*. 2004;292:1845-52.
- 12 Verhoeven B, Hellings WE, Moll FL, Vries JP de, Kleijn DP de, Bruin P de, et al. Carotid atherosclerotic plaques in patients with transient ischemic attacks and stroke have unstable characteristics compared with plaques in asymptomatic and amaurosis fugax patients. *J Vasc Surg*. 2005;42:1075-81.
- 13 Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, Crowther M, Jones L, Bell PR, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques. A potential role in acute plaque disruption. *Stroke*. 2000;31:40-7.
- 14 Molloy KJ, Thompson MM, Jones JL, Schwalbe EC, Bell PR, Naylor AR, et al. Unstable carotid plaques exhibit raised matrix metalloproteinase-8 activity. *Circulation*. 2004;110:337-43.
- 15 Verhoeven BA, Velema E, Schoneveld AH, Vries JP de, Bruin P de, Seldenrijk CA, et al. Athero-express: differential atherosclerotic plaque expression of mRNA and protein in relation to cardiovascular events and patient characteristics. Rationale and design. *Eur J Epidemiol*. 2004;19:1127-33.
- 16 North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med*. 1991;325:445-53.
- 17 Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet*. 1998;351:1379-87.
- 18 Barnett HJ, Taylor DW, Eliasziw M, Fox AJ, Ferguson GG, Haynes RB, et al. Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med*. 1998;339:1415-25.
- 19 Knox RA, Breslau PJ, Strandness jr DE. A simple parameter for accurate detection of severe carotid disease. *Br J Surg*. 1982;69:230-3.
- 20 Moneta GL, Edwards JM, Papanicolaou G, Hatsukami T, Taylor jr LM, Strandness jr DE, et al. Screening for asymptomatic internal carotid artery stenosis: duplex criteria for discriminating 60% to 99% stenosis. *J Vasc Surg*. 1995;21:989-94.
- 21 Rittersma SZ, Wal AC van der, Koch KT, Piek JJ, Henriques JP, Mulder KJ, et al. Plaque instability frequently occurs days or weeks before occlusive coronary thrombosis: a pathological thrombectomy study in primary percutaneous coronary intervention. *Circulation*. 2005;111:1160-5.
- 22 Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1262-75.
- 23 Pasterkamp G, Schoneveld AH, Wal AC van der, Haudenschild CC, Clarijs RJ, Becker AE, et al. Relation of arterial geometry to luminal narrowing and histologic markers for plaque vulnerability: the remodeling paradox. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:655-62.
- 24 Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005;352:1685-95.
- 25 Chase AJ, Newby AC. Regulation of matrix metalloproteinase (matrixin) genes in blood vessels: a multi-step recruitment model for pathological remodelling. *J Vasc Res*. 2003;40:329-43.
- 26 Luan Z, Chase AJ, Newby AC. Statins inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:769-75.
- 27 Ailawadi G, Eliason JL, Roelofs KJ, Sinha I, Hannawa KK, Kaldjian EP, et al. Gender differences in experimental aortic aneurysm formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:2116-22.
- 29 Chambers BR, Donnan GA. Carotid endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis [Cochrane review]. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005;(4):CD001923.
- 30 Verhoeven BA, Vries JP de, Pasterkamp G, Ackerstaff RG, Schoneveld AH, Velema E, et al. Carotid atherosclerotic plaque characteristics are associated with microembolization during carotid endarterectomy and procedural outcome. *Stroke*. 2005;36:1735-40.
- 31 Cai J, Hatsukami TS, Ferguson MS, Kerwin WS, Saam T, Chu B, et al. In vivo quantitative measurement of intact fibrous cap and lipid-rich necrotic core size in atherosclerotic carotid plaque: comparison of high-resolution, contrast-enhanced magnetic resonance imaging and histology. *Circulation*. 2005;112:3437-44.
- 32 Davies JR, Rudd JH, Weissberg PL. Molecular and metabolic imaging of atherosclerosis. *J Nucl Med*. 2004;45:1898-907.
- 33 Schaar JA, Korte CL de, Mastik F, Strijder C, Pasterkamp G, Boersma E, et al. Characterizing vulnerable plaque features with intravascular elastography. *Circulation*. 2003;108:2636-41.
- 34 Lovett JK, Gallagher PJ, Rothwell PM. Reproducibility of histological assessment of carotid plaque: implications for studies of carotid imaging. *Cerebrovasc Dis*. 2004;18:117-23.

Abstract

Differences between men and women in the composition of atherosclerotic plaque, as an explanation for the lower success rate of carotid endarterectomy in women

Objective. To determine whether men and women differ in the histological characteristics of plaque material removed at carotid endarterectomy.

Design. Observational and descriptive.

Methods. Carotid endarterectomy plaque specimens obtained from 450 consecutive patients (135 women, 315 men) were assessed for the presence of macrophages, smooth muscle cells, collagen, calcifications, and luminal thrombus by means of immunohistochemical staining. The plaques were categorised in 3 phenotypes according to the overall presentation of histological characteristics and the lipid level. Protein was isolated from the plaques to determine the interleukin-6 (IL-6) and IL-8 concentrations and the activity of matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9.

Results. Atheromatous plaques (> 40% fat) were less frequently observed in women than in men (22 versus 40%; $p < 0.001$). In addition, more women than men had a low macrophage staining (18 versus 11%; $p = 0.05$) and strong smooth muscle cell staining (38 versus 24%; $p = 0.001$). Compared with men, women had a lower plaque concentration of IL-8 and lower MMP-8 activity. The observed differences were most pronounced in the asymptomatic group. An atheromatous plaque occurred in 9% of asymptomatic women compared to 39% of asymptomatic men ($p = 0.02$). Moreover, a large proportion of plaques obtained from asymptomatic women showed high smooth muscle cell content (53 versus 30%; $p = 0.03$) and high collagen content (55 versus 24%; $p = 0.003$). All relations between gender and plaque characteristics, except for MMP-8, remained the same in a multivariate analysis that was adjusted for clinical presentation and other cardiovascular risk factors.

Conclusion. Women with a carotid stenosis had more stable plaques than men, independent of clinical presentation and cardiovascular risk profile. Asymptomatic women demonstrated the highest prevalence of stable plaques. These findings may explain why women benefit less from carotid endarterectomy than men.

Ned Tijdschr Geneeskd. 2008;152:2624-31