

**Univerzita Karlova**

**2. lékařská fakulta**

Doktorský studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka



**MUDr. Cyril Štěchovský**

Využití biomarkerů a intravaskulárních zobrazovacích metod k hodnocení změny aterosklerotického plátu po endovaskulárních intervencích

Biomarkers, Intravascular Ultrasound and Near-Infrared Spectroscopy in the Assessment of Vulnerable Atherosclerotic Plaque

Disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Petr Hájek, Ph.D.

Praha, 2022

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30.12.2022

MUDr. Cyril Štěchovský

## **Poděkování**

Děkuji svému školiteli doc. MUDr. Petru Hájkovi, Ph.D. za odborné vedení, pomoc a cenné rady během studia a za pomoc při korektuře odborných publikací a této disertační práce. Dále děkuji především prof. MUDr. Josefu Veselkovi, CSc., který mi poskytl podněty k vědecké činnosti, podílel se na sběru a analýze dat, prováděl se mnou katetrizační vyšetření studijních pacientů a učil mě správné metodologii psaní odborných publikací a přednášek. V neposlední řadě byl také mým mentorem pro obor intervenční kardiologie.

Děkuji také všem kolegům z Kardiologické kliniky 2.LF UK, bez jejichž práce by nebylo možné organizačně a časově náročné vyšetřování studijních pacientů provádět. Zvláštní poděkování patří MUDr. Martinu Horváthovi za pomoc při provádění studie a paní Evě Hansvenclové, která mi poskytla cenné rady a pomoc při vedení registru pacientů a statistické analýze dat.

# **Využití biomarkerů a intravaskulárních zobrazovacích metod k hodnocení změny aterosklerotického plátu po endovaskulárních intervencích**

## **Abstrakt**

Práce se zabývá patofyziologií vulnerabilního aterosklerotického plátu, jeho detekcí ve stenóze arteria carotis interna (ACI) pomocí zobrazovacích metod a optimalizací karotického stentingu (CAS) využitím intravaskulárního ultrazvuku (IVUS) a infračervené spektroskopie (NIRS). NIRS hodnotí vulnerabilitu detekcí lipidového jádra plátu (LRP). Prokázali jsme bezpečnost NIRS-IVUS vyšetření během CAS. LRP jsme detekovali u třetiny stenóz ACI před CAS, lipidový signál stenózy nekoreloval s morfologií (IVUS), biomarkery ani klinickými parametry. CAS vedl k signifikantnímu poklesu lipidového signálu. Zjistili jsme, že angiografie nadhodnocuje stenózu ACI a značně podhodnocuje reziduální stenózu po CAS v porovnání s IVUS. Nepodařilo se prokázat, že by přítomnost LRP měla vliv na akutní neurologické komplikace CAS nebo byla asociována s dlouhodobě zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. IVUS identifikoval parametry asociované s rozvojem restenózy nebo okluze stentu. Při kontrolním NIRS-IVUS vyšetření (medián 31 měsíců) byla zjištěna pokračující expanze stentů, difusní nástěnná neointimální hyperplazie a pokles lipidového signálu. Předpokládáme, že hojení stentu navozuje dlouhodobé překrytí aterosklerotického plátu stabilní neointimální hyperplazií, která není náchylná k ruptuře a trombóze. Výsledky práce podporují využití IVUS k optimalizaci expanze stentu při CAS a další studium vlivu složení aterosklerotických plátů v karotických tepnách na riziko cévní mozkové příhody a výsledky CAS.

## **Klíčová slova**

ateroembolizace, infračervená spektroskopie, intravaskulární ultrazvuk, karotický stenting, LCBI, lipidový signál, optimalizace výsledků, stabilizace plátu, vulnerabilní plát

# **Biomarkers, Intravascular Ultrasound and Near-Infrared Spectroscopy in the Assessment of Vulnerable Atherosclerotic Plaque**

## **Abstract**

The thesis describes pathophysiology of a vulnerable atherosclerotic plaque, detection of the vulnerable plaque in the stenosis of the internal carotid artery (ICA), and optimization of carotid stenting (CAS) with near-infrared spectroscopy (NIRS) and intravascular ultrasound (IVUS) imaging. NIRS detects lipid core of the vulnerable lipid rich plaque (LRP). We demonstrated safety of NIRS-IVUS imaging during CAS. LRP was detected in one third of ICAs before CAS. Lipid signal was not correlated with plaque morphology (IVUS), biomarkers or clinical variables. CAS caused significant decrease of the lipid signal. Angiography overestimated severity of stenosis of the ICA and vastly underestimated residual stenosis after CAS. Presence of the LRP in the stenosis was neither associated with periprocedural neurological complications of CAS nor long-term adverse cardiovascular events. IVUS identified planimetric features associated with long-term restenosis or stent occlusion. After a median follow-up of 31 months, repeated NIRS-IVUS of the implanted stents showed significant expansion of the stents, diffuse neointimal hyperplasia and further reduction of the lipid signal. We assume, that CAS induced stabilization of the plaque by sealing it with neointimal hyperplasia, which is not prone to rupture and thrombosis. The results support IVUS guided optimization of stent expansion during CAS and further study of the vulnerable plaque on the risk stratification of carotid stenosis and CAS.

## **Keywords**

atheroembolization, carotid stenting, CAS optimization, intravascular ultrasound, lipid core burden index, lipid rich plaque, near-infrared spectroscopy, plaque stabilization, vulnerable plaque

## Seznam zkratek

ACC	arteria carotis communis
ACE	arteria carotis extrna
ACI	arteria carotis interna
BMI	body mass index
CAS	karotický stenting (carotid stenting)
CMP	cévní mozková příhoda
CSA	plocha příčného průřezu tepnou (cross-section area)
CT	počítačová tomografie
DSA	digitální subtrakční angiografie
DUS	duplexní sonografie
EDV	end-diastolická rychlost (end-diastolic velocity)
EEM	lamina elastica externa (extrnal elastic membrane)
IM	infarkt myokardu
ISR	in-stent restenóza
IVUS	intravaskulární ultrazvuk
LCBI	lipid core burden index
LCBI <sub>max</sub>	nejvyšší hodnota LCBI ve 4 mm segmentu tepny
LCBI <sub>mla</sub>	hodnota LCBI ve 4 mm segmentu tepny s minimální plochou lumina
LCP	plát s přítomností lipidového jádra (lipid core plaque)
LRP	plát bohatý na lipidy (lipid rich plaque, zde definován jako LCBI <sub>max</sub> ≥ 400)
MR	magnetická rezonance
MLA	minimální plocha lumina na příčném průřezu (minimal luminal area)
MLD	minimální průměr lumina na příčném průřezu (minimal luminal diameter)
MSA	minimální plocha stentu na příčném průřezu (minimal stent area)
MSD	minimální průměr stentu na příčném průřezu (minimal stent diameter)
NIRS	infračervená spektroskopie (near-infrared spectroscopy)
OCT	optická koherenční tomografie
PB	relativní velikost plátu k velikost průřezu tepnou (plaque burden)
PCI	perkutánní koronární intervence
PSV	vrcholová systolická rychlost (peak systolic velocity)
RLA	referenční plocha průřezu tepnou (reference luminal area)
RLD	referenční průměr průřezu tepnou (reference luminal diameter)
TIA	tranzientní ischemická ataka

## Obsah

Abstrakt .....	4
Abstract.....	5
Seznam zkratk.....	6
1. Úvod .....	9
1.1. Vulnerabilní aterosklerotický plát .....	9
1.2. Vztah aterosklerotického postižení karotid a cévní mozkové příhody.....	10
1.3. Hodnocení stenózy arteria carotis interna .....	12
1.4. Karotický stenting a endarterektomie.....	14
1.5. Intravaskulární ultrazvuk a infračervená spektroskopie.....	15
2. Hypotéza a cíle práce.....	22
3. Soubor pacientů a metodika .....	24
3.1. Karotický stenting s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS.....	25
3.2. NIRS-IVUS: definice a analýza .....	25
3.3. Statistická analýza .....	28
3.4. Soubor pacientů a metodika hodnocení korelace LCBI s morfologií stenózy, biomarkery a kardiovaskulárními rizikovými faktory.....	28
3.5. Soubor pacientů a metodika hodnocení okamžitého efektu CAS na lipidový signál...30	
3.6. Soubor pacientů a metodika hodnocení vlivu LCBI na periprocedurální a dlouhodobé výsledky CAS .....	31
3.7. Metodika porovnání angiografie a IVUS .....	31
3.8. Studie dlouhodobých změn aterosklerotického plátu po CAS .....	32
4. Výsledky.....	35
4.1. Bezpečnost periprocedurálního vyšetření NIRS-IVUS během CAS .....	35
4.2. Hodnocení stenózy ACI pomocí NIRS-IVUS.....	35
4.3. Vztah lipidového signálu s morfologií plátu, biomarkery a kardiovaskulárními rizikovými faktory .....	36
4.4. Efekt CAS na stenózu ACI a lipidový signál aterosklerotického plátu.....	40
4.5. Porovnání angiografie a IVUS v hodnocení stenózy ACI a reziduální stenózy po CAS .....	41
4.6. Vliv lipidového signálu stenózy ACI na periprocedurální a dlouhodobé výsledky CAS.....	42
4.7. Dlouhodobé změny po provedení CAS .....	44

5. Diskuze .....	48
5.1. Cesta k rizikové stratifikaci stenózy ACI a optimalizaci CAS.....	49
5.2. NIRS-IVUS: detailní pohled do nitra aterosklerotického plátu.....	50
5.3. IVUS zpřesňuje kvantifikaci stenózy ACI a reziduální stenózy po CAS .....	52
5.4. Význam detekce vulnerabilního plátu ve stenóze ACI .....	53
5.5. Hojení stentu vede k dlouhodobé stabilizaci plátu po CAS .....	54
6. Závěr .....	57
7. Souhrn.....	58
8. Summary.....	59
9. Literatura .....	60
10. Publikační činnost .....	68
11. Přílohy .....	70



# 1. Úvod

## 1.1. Vulnerabilní aterosklerotický plát

Pochopení patofyziologie vzniku aterotrombotické příhody by nebylo možné bez patologických studií koronárních tepen pacientů zemřelých na infarkt myokardu nebo náhlou smrtí. Postupně byla akceptována hypotéza ruptury pokročilého aterosklerotického plátu s nasedající trombózou jako hlavní příčina infarktu myokardu (Virmani R et al., 2006). Rudolf Virchow popsal koronární „aterom“ a připodobnil jej k opouzdřené dermální cystě vyplněné tukovou hmotou. Pozdější pozorování ruptur fibrózního krytu těchto ateromů, nasedajících trombů a krvácení do plátu již byla dávána do souvislosti s infarktem myokardu. Ateroskleróza je multifaktoriální proces, na kterém se podílí řada mediátorů a buněk. Při popisu tepenných stenóz rentgenovými a ultrazvukovými metodami je běžně vyjádřena závažnosti postižení zúžením lumina, které nereflektuje hemodynamický dopad stenózy ani složení aterosklerotického plátu. Tyto faktory ovlivňují rizikovost stenózy a její klinický význam více než procentuální zúžení lumina. Aterosklerotické pláty se odlišují obsahem lipidů, velikostí lipidového jádra, tloušťkou fibrózního krytu, obsahem solí kalcia, přítomností zánětlivých buněk, přítomností neovaskularizace atd. (Finn AV et al. 2010; Virmani R et al., 2006). Za akutní klinickou manifestaci aterosklerózy je obvykle zodpovědná ruptura vulnerabilního plátu s nasedající trombózou (Bentzon JF et al., 2014), která může způsobit infarkt myokardu či náhlou smrt v případě koronárního postižení a cévní mozkovou příhodu (CMP) v případě aterosklerotických plátů v karotických tepnách. Významnou roli v destabilizaci plátu hrají zánětlivé buňky (monocyty-makrofágy, lymfocyty), které se ve vysoké míře vyskytují v lipidovém jádru plátu. Zánětlivé buňky produkují cytokiny, které ovlivňují buňky hladkého svalu a extracelulární matrix. Zásadní bylo zjištění, že za ztenčení a ruptury fibrózního krytu je zodpovědná nerovnováha mezi tvorbou extracelulární matrix (kolagen I a III) buňkami hladkého svalu a proteolýzou metaloproteinázami, tvořenými aktivovanými makrofágy (Finn AV et al., 2010). Pokročilý aterosklerotický plát může podléhat opakovaným rupturám a epizodám nástěnné trombózy. Organizace trombu a hojení rupturovaného plátu vedou ke skokovému nárůstu objemu plátu. Další faktor vedoucí k destabilizaci a nárůstu plátu je krvácení do plátu z vasa vasorum. Během růstu plátu dochází k rozšiřování cévní stěny v místě plátu, tzv. excentrické remodelaci, která je zodpovědná za zachování lumina tepny i při velkém objemu plátu. Tento jev popsal Seymour Glagov a někdy bývá označován jeho jménem

(Glagov S et al., 1987). Patologické práce položily základ formulaci hypotézy vulnerabilního plátu, tj. lézi, která nemusí představovat hemodynamicky významnou stenózu, ale je náchylná k ruptuře a trombóze. Tento termín poprvé použil James Muller při popisu cirkadiánní variability incidence infarktu myokardu (Muller JE et al., 1989). Patologicky lze vulnerabilní plát popsat jako fibroaterom s tenkým fibrózním krytem (<65 µm) chudým na buňky hladké svaloviny a s lipidovým nekrotickým jádrem, obsahujícím četné zánětlivé buňky (Finn AV et al., 2010; Virmani R et al., 2006). Později byl popis vulnerabilních plátů rozšířen o pozorování pomocí intravaskulárního ultrazvukového (IVUS) vyšetření u pacientů s akutním infarktem myokardu. Vulnerabilní pláty na průřezu tepnou obvykle zabírají více jak 70 % její plochy (poměr plochy plátu k ploše tepny na příčném průřezu = plaque burden, PB), jsou lokalizovány v proximálních segmentech koronárních tepen a vykazují vysoký stupeň excentrické remodelace. Tyto charakteristiky se staly základem pro využití zobrazovacích metod k detekci vulnerabilních plátů in vivo.

Paradigma vulnerabilního plátu bylo narušeno pitevními nálezy intrakoronární trombózy, která nesouvisí s rupturou plátu – eroze endotelu. Eroze nejsou vázány na přítomnost pokročilého aterosklerotického plátu a jsou zodpovědné až za 30 % infarktů myokardu (Finn AV et al., 2010; Virmani R et al., 2006). Tyto nálezy byly potvrzeny také in vivo pomocí optické koherenční tomografie (Higuma T et al., 2016; Roleder T et al., 2014). Další limitací zobrazovacích metod se ukazuje nízká specifita pro detekci lézí, které by i při dlouhé době sledování (roky) způsobily infarkt myokardu (Erlinge D et al., 2021; Oemrawsingh RM et al., 2014; Schuurman AS et al., 2018; Stone GW et al., 2011; Waksman R et al., 2019). Příčinou selhání zobrazovacích metod není neschopnost detekce určitých charakteristik vulnerabilního plátu nebo jejich kombinace, ale dynamický charakter vulnerabilních plátů, kdy epizody destabilizace, nástěnné trombózy, růstu plátu a cévní remodelace probíhají subklinicky, a jen zřídka vedou k trombotickému uzávěru tepny. Navíc observační studie probíhají u pacientů léčených farmakoterapií, která výrazně snižuje riziko klinické manifestace aterosklerózy.

## **1.2. Vztah aterosklerotického postižení karotid a cévní mozkové příhody**

Vaskulární onemocnění způsobená aterosklerózou jsou nadále nejčastější příčinou úmrtí v České republice (Zemřelí 2020, ÚZIS). Stenóza arteria carotis interna (ACI) je silným rizikovým faktorem cévní mozkové příhody (CMP) a její rekurence (Inzitari D et al., 2000). Stenózu označujeme za symptomatickou, pokud pacient během posledních 6

měsíců prodělal ipsilaterální ischemickou CMP, tranzitorní ischemickou ataku (TIA) nebo embolizaci do arteria ophtalmica (amaurosis fugax) a zobrazovacím vyšetřením bylo zjištěno zúžení lumina ACI  $\geq 50$  %. Stenózu detekovanou zobrazovací metodou u pacienta bez těchto symptomů označujeme jako asymptomatickou stenózu. Rizikové faktory pro vznik stenózy ACI jsou shodné s klasickými kardiovaskulárními rizikovými faktory. Prevalence asymptomatické stenózy v populaci je silně závislá na věku. U mužů do 50 let se vyskytuje v 0,1 % případů, ve věku nad 80 let u 3,1 % mužů a 0,9 % žen (Chaturvedi & Sacco, 2015).

Ipsilaterální stenóza nebo uzávěr ACI jsou přítomny u 10-20 % pacientů s ischemickou CMP (Chaturvedi & Sacco, 2015; White CJ, 2014). Riziko vzniku a/nebo rekurence ischemické CMP při aterosklerotickém postižení karotid je ovlivněno mírou stenózy, symptomy, přítomností ipsilaterálních kortikálních či subkortikálních ischemických lézí (včetně asymptomatických), vyčerpáním cerebrovaskulární průtokové rezervy a také složením aterosklerotického plátu v ACI (Aboyans V et al., 2018; Gupta A et al., 2013; Inzitari D et al., 2000). Asociace mezi tíží stenózy a rizikem CMP není lineární. Samotná přítomnost aterosklerotického plátu v ACI se stenózou lumina do 50 % zdvojnásobuje riziko ischemické CMP oproti populaci bez aterosklerotického postižení karotid. S narůstající tíží stenózy (50-60 % vs. 75-95 %) se dále riziko zvyšuje, naopak u velmi těsné (preobliterační) stenózy a chronického uzávěru je riziko nižší (Howard DPJ et al., 2021; Inzitari D et al., 2000). Další faktor určující riziko asymptomatické stenózy ACI je vulnerabilita aterosklerotického plátu. Složení plátu v ACI je hodnoceno pomocí duplexní sonografie (DUS), počítačové tomografie (CT), magnetické rezonance (MR), katetrizačních intravaskulárních vyšetření nebo histologicky po provedení endarterektomie. Retrospektivními studiemi případů a kontrol bylo zjištěno, že charakteristiky vulnerabilního plátu (hypoechoenní plát, nekrotické jádro, krvácení do plátu, nástěnná trombóza plátu, signálové charakteristiky na MR) se vyskytují v symptomatické stenóze ACI u pacientů v akutní fázi ischemické CMP, nebo časně po prodělané CMP, výrazně častěji oproti kontrolám s asymptomatickou stenózou (Gupta A et al., 2013; Hellings WE et al., 2010). V rozsáhlé populační studii osob bez manifestního kardiovaskulárního onemocnění bylo zjištěno, že velikost aterosklerotického plátu v ACI a charakteristika plátu detekovaného pomocí MR je, i po adjustaci na další rizikové faktory, nezávisle asociována s rizikem ischemické CMP a kardiovaskulární mortalitou (Brunner G et al., 2021). Poznatky o významu detekce „vysoce rizikové“ stenózy ACI jsou reflektovány i v doporučených postupech pro léčbu karotické stenózy Evropské kardiologické společnosti

a Evropské společnosti pro cévní chirurgii (Aboyans V et al., 2018). Základem léčby je intervence rizikových faktorů, farmakoterapie vysokou dávkou statinu a antiagregační léčba (Aboyans V et al., 2018; Amarenco P et al. 2006). Intenzivní farmakoterapie zlepšila prognózu pacientů se stenózou ACI v posledních třech dekádách (Howard DPJ et al., 2021). K dalšímu snížení rizika CMP (v primární i sekundární prevenci) se provádí endarterektomie nebo angioplastika s implantací stentu (karotický stenting, CAS).

### **1.3. Hodnocení stenózy arteria carotis interna**

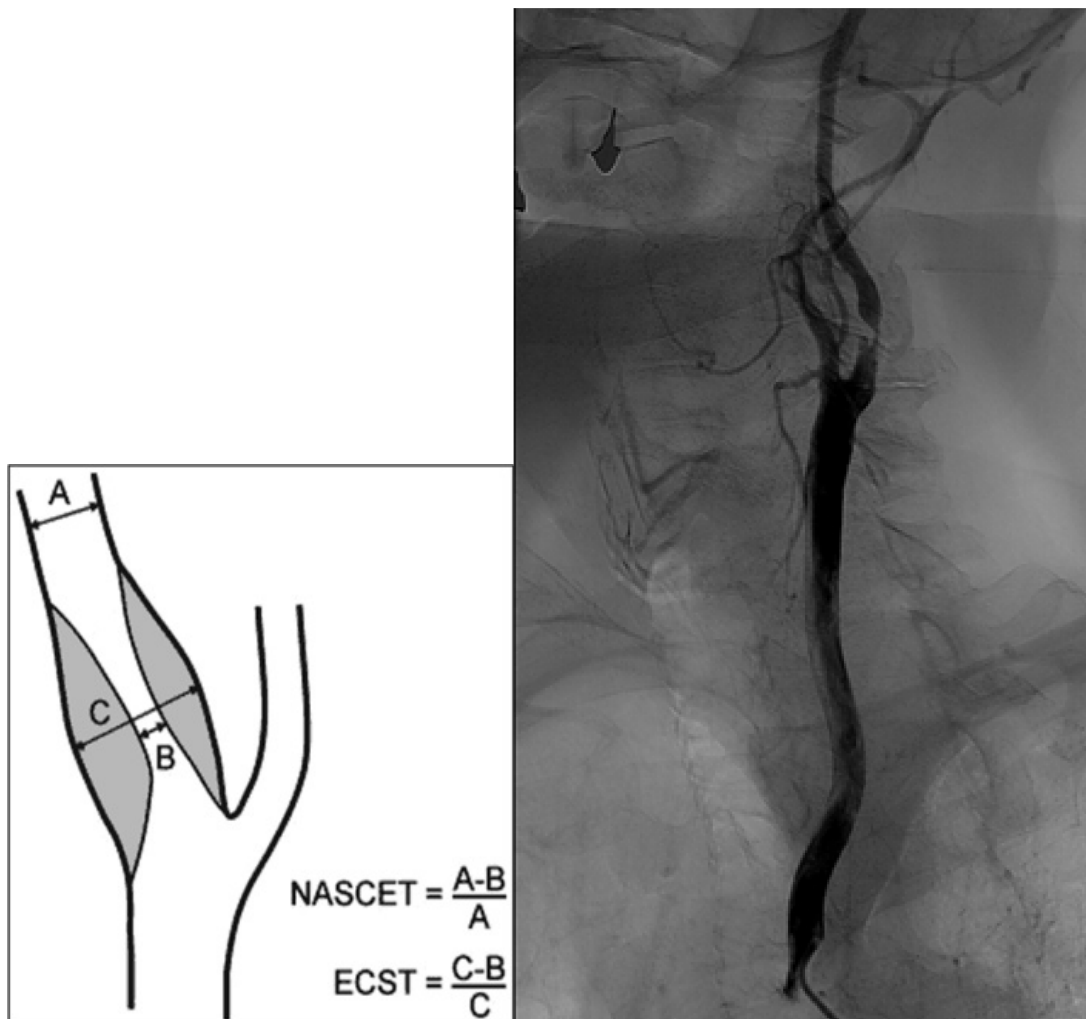
Sonografie s použitím Dopplerovské metody měření rychlosti průtoku krve tepnou (duplexní sonografie – DUS) je nejčastěji používanou metodou k hodnocení aterosklerotického poškození extrakraniální části karotického řečiště. V porovnání s ostatními metodami detekce karotické stenózy je duplexní sonografie nejlépe dostupná, neinvazivní a nezatěžuje pacienta ionizujícím zářením. Stenóza je nejčastěji lokalizována v karotické bifurkaci v místě odstupu ACI, tedy v místě snadno dostupném sonografickému vyšetření. Aterosklerotický plát obvykle zasahuje i do odstupu a. carotis externa a proximálně od bifurkace do arteria carotis communis (ACC). Stenóza je pomocí duplexní sonografie hodnocena morfologicky a hemodynamicky. Existují dvě základní metody vyjádření míry stenózy: 1) NASCET (podle North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial) porovnává minimální průměr nebo plochu lumina v místě stenózy s referenčním průměrem nebo plochou lumina v distální části ACI (Barnett HJM et al., 1991). 2) ECST (podle European Carotid Surgery Trial) porovnává průměr lumina v místě stenózy s průměrem tepny v místě stenózy (European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group, 1998) (Obr. 1). Procentuální vyjádření míry stenózy podle těchto kritérií se pro totožnou lézi odlišuje. V naší práci používáme zásadně metodiku měření dle NASCET. Morfologické hodnocení duplexní sonografií je limitováno několika faktory:

- 1) Stenóza je obvykle excentrická, podélný ani příčný průřez tepnou nemusí zachytit nejmenší průměr lumina.
- 2) Vinutí tepny ztěžuje zachycení podélného i příčného průřezu kolmého na osu tepny.
- 3) Stenóza je často tvořena kalcifikovaným plátem, který znemožňuje znázornění struktur ležících za kalcifikací.

Hemodynamické hodnocení využívá měření urychlení průtoku v místě stenózy pomocí Dopplerovského mapování. Základními parametry jsou vrcholová systolická

rychlost (PSV), end-diastolická rychlost (EDV) a poměr PSV ve stenóze ACI oproti PSV v ACC. Tyto parametry se následně převádějí na odhad míry stenózy dle mezinárodně uznávané metodologie (von Reutern GM et al., 2012). Hemodynamické hodnocení stenózy je ovlivněno lokálními faktory (úhel insonace, turbulentní proudění za stenózou) a systémovými faktory (tepový objem, kontralaterální uzávěr, aortální stenóza nebo jiná obstrukce výtoku LK).

Další metody hodnocení stenózy extrakraniální části karotického řečiště jsou CT-angiografie, MR-angiografie a digitální subtrakční angiografie (DSA). CT je často používanou metodou k detekci symptomatické (při akutní fázi ischemické CMP) a asymptomatické (k potvrzení nálezu DUS) stenózy. Hlavní limitací CT je systematické nadhodnocení stenózy u kalcifikovaných lézí (Horev A et al., 2021). DSA je stále považována za zlatý standard v hodnocení míry stenózy ACI při použití metodiky dle NASCET. Limitací DSA je riziko nesprávného hodnocení míry stenózy u velmi excentrické či ulcerované léze, a invazivní charakter tohoto vyšetření. K verifikaci tíže stenózy se DSA provádí jen v případě plánované intervence (CAS nebo endarterektomie). Vzhledem k limitacím zobrazovacích metod je před provedením CAS nebo endarterektomie doporučeno zhodnocení pomocí dvou vyšetření (Aboyans V et al., 2018). V případě endarterektomie to jsou nejčastěji hemodynamické hodnocení stenózy pomocí DUS a CT vyšetření. Nedílnou součástí CAS je provedení detailní DSA ve více projekcích a korelace nálezu s DUS vyšetřením.



Obrázek 1. Způsoby vyjádření míry stenózy ACI.

Vlevo schématické znázornění dvou nejčastějších způsobů vyjádření míry stenózy ACI. Dle NASCET pomocí distálního referenčního průměru tepny a dle ECST pomocí průměru tepny v místě stenózy. Vpravo angiogram (DSA) extrakraniální části karotického řečiště získaný katétrem zavedeným do odstupu ACC.

#### 1.4. Karotický stenting a endarterektomie

Termín karotický stenting (CAS) označuje perkutánní katetrizační implantaci kovového samoexpandibilního stentu do stenózy ACI nebo ACC obvykle doplněnou o dilataci stentu balónkovým katétrem (angioplastika). CAS je obligatorně doplněn o neuroprotekcí distálním filtrem nebo proximální balónkovou okluzí, které snižují riziko embolizace během výkonu (Cremonesi A et al., 2014). Endarterektomie karotické bifurkace je chirurgický výkon sestávající z naložení svorek na ACC a ACI, podélné nebo příčné (everzní endarterektomie) arteriotomie, vynětí endarteria s aterosklerotickým plátem a sutuře tepny s možným použitím záplaty z xenogenního perikardu. Endarterektomii je možné provést v lokální anestezii s analgosedací a doplnit o perioperační monitoraci

mozkové perfuze pomocí transkraniální spektroskopie. V případě poklesu perfuze ipsilaterální hemisféry při okluzi svorkou je zaveden shunt. Oba výkony vyžadují specifický výběr pacientů a mají odlišná periprocedurální rizika (Müller MD et al., 2020). Společným rizikem obou výkonů je periprocedurální embolizace vedoucí k TIA nebo ischemické CMP. Analýza složení plátu (lipidové jádro, nástěnný trombus) by mohla vést k lepší identifikaci rizika CAS a změně plánované terapie na endarterektomii nebo intenzivnější antitrombotickou léčbu. Navzdory významným odlišnostem endarterektomie a CAS prokázaly randomizované studie srovnatelné dlouhodobé výsledky v prevenci ischemické CMP (Brott TG et al., 2016; Halliday A et al., 2021; Rosenfield K et al., 2016). Protektivní mechanismus CAS není, ani po více jak 30 letech od zavedení této metody, zcela objasněn (Veselka J. et al, 2015). V ostatních částech arteriálního řečiště (koronární, periferní) angioplastika a implantace stentů odstraňuje hemodynamicky významnou stenózu, tím zlepšuje průtok krve do periferie za zátěžových, nebo klidových podmínek, což vede k odstranění symptomů (angina pectoris, klaudikace) nebo záchraně tkání (infarkt myokardu, kritická končetinová ischemie). Naproti tomu stenóza ACI, vzhledem k přítomnosti Willisova okruhu, obvykle nezpůsobuje hemodynamické změny v intrakraniální cirkulaci (Shakur SF et al., 2014). Cévní mozková příhoda při stenóze ACI je způsobena přítomností vulnerabilního plátu, aterotrombózou a následnou embolizací do intrakraniálního řečiště. Zatímco endarterektomie kompletně odstraní aterosklerotický plát z karotické bifurkace, CAS vede pouze k rozšíření lumina tepny a překrytí plátu stentem. Z tohoto pohledu by studium změn aterosklerotického plátu mohlo vést lepšímu pochopení dlouhodobého protektivního mechanismu CAS.

### **1.5. Intravaskulární ultrazvuk a infračervená spektroskopie**

Intravaskulární infračervená spektroskopie (near-infrared spectroscopy, NIRS) je invazivní katetrizační vyšetřovací metoda vyvinutá k identifikaci a kvantifikaci lipidového jádra aterosklerotického plátu in vivo. Výhodou NIRS oproti ultrazvukovým metodám je schopnost detekce aterosklerotických plátů obsahujících lipidové jádro (lipid core plaque – LCP) s daleko vyšší přesností (Pu J et al., 2012). NIRS nezobrazuje lumen tepny, velikost plátu ani tloušťku fibrózního krytu. Kombinace s intravaskulárním ultrazvukem (IVUS) poskytuje vzájemně se doplňující informace o složení a rozsahu aterosklerotického plátu.

Spektroskopie je dlouhodobě používaná metoda v analytické chemii pro identifikaci organických molekul ve směsích. Využívá absorpce a odrazu

elektromagnetického záření o různých vlnových délkách, přičemž vlnové délky odražených paprsků jsou specifické pro určité molekuly ve směsi. NIRS využívá vlnové délky emitovaného záření 800–2 500 nm, tedy v pásmu tzv. blízkého infračerveného záření (near-infrared, NIR). Pro detekci lipidového jádra aterosklerotického plátu in vivo byl vyvinut NIRS katétr, který obsahuje optické vlákno a NIR spektrometr. Dochází k emisi NIR záření do stěny cévy, jeho rozptylu, odrazu a následné detekci odražených paprsků specifických vlnových délek. Průnik NIR záření přes krev je dostatečný k odlišení signálu z cévní stěny. Vyšetření probíhá po zavedení 3,2 French (Fr, 1 Fr = 0,33 mm) NIRS katétru po vodiči průměru 0,014 palce na distální konec úseku tepny určené k vyšetření. NIRS sonda se uvnitř katétru automatizovaně posunuje konstantní rychlostí 0,5 mm/s a rotuje rychlostí 4 otáčky za sekundu. Tímto způsobem spektrometr provede 80 měření na 1 mm délky tepny. Výsledkem vyšetření tepny NIRS katétreem je chemogram: dvourozměrná mapa představující pohled do vnitřku podélně rozříznuté tepny (Obr. 2). Detekce lipidového signálu má binární charakter, každému měření je přiřazen 1 pixel na chemogramu. Podíl pixelů, které byly na chemogramu binárně označeny jako pozitivní (žlutá barva) k celkovému počtu pixelů chemogramu násobený 1000 se nazývá lipid core burden index (LCBI) - bezrozměrné číslo od 0 do 1 000. Čtyřmilimetrový úsek tepny s nejvyšší hodnotou LCBI je označen  $LCBI_{max}$ . LCBI a  $LCBI_{max}$  kvantifikují přítomnost lipidového jádra plátu (lipid core plaque, LCP) ve vyšetřovaném úseku tepny. Lze konstatovat, že při hodnotě LCBI 0 neobsahuje vyšetřený úsek tepny žádný LCP, neznamená to však, že nemůže být postižen aterosklerózou. NIRS neposkytuje strukturální (anatomické) informace o luminu a stěně tepny. Tuto limitaci lze odstranit použitím katétru, který kombinuje NIRS a intravaskulární ultrazvukovou sondu (IVUS). Během jediného vyšetření lze získat informace o morfologii a složení plátu. Schopnost NIRS reprodukovat LCP byla validována ex vivo vyšetřováním preparátů lidských koronárních tepen perfundovaných krví (Gardner CM et al., 2008). Chemogram byl ve studii porovnán s histologickým vyšetřením (fibroaterom v cirkulárním rozsahu  $> 60^\circ$ , tloušťka na příčném histologickém řezu  $> 200 \mu\text{m}$ , fibrózní čepička o průměrné síle  $< 450 \mu\text{m}$ ), byla zjištěna AUC 0,80 (95 % CI; 0,70–0,93) pro detekci LCP. Hlavním zdrojem chyb při detekci LCP byla falešná pozitivita fibroateromů s tloušťkou krytu  $\geq 450 \mu\text{m}$  a plátů  $\leq 200 \mu\text{m}$  na příčném řezu (Gardner CM et al., 2008). Následně bylo provedeno klinické ověření NIRS, které prokázalo, že signály NIRS získané katetrizací pacientů jsou spektrálně podobné signálům z autooptických preparátů (Waxman S et al., 2009). Později byla publikována validace NIRS na aterosklerotických plátech získaných při



endarterektomii ACI. Byla zjištěna dobrá korelace ( $r = 0,624$ ,  $p < 0,001$ ) mezi LCBI a histologickým vyšetřením. NIRS je schopen detekovat LCP v ACI s obdobnou senzitivitou a specificitou jako v koronárních tepnách (Kotsugi M et al., 2020).

Data z observačních studií demonstrují význam detekce LCP. Madder et al. prokázali, že pacienti s akutním infarktem myokardu (IM) měli v koronárních tepnách vyšší LCBI oproti pacientům se stabilní ischemickou chorobou srdeční (Madder RD et al., 2012). Další studie u pacientů s akutním IM prokázala, že  $LCBI_{max} > 400$  se 6x častěji vyskytoval u lézí zodpovědných za IM, než u stabilních lézí (Madder RD et al., 2013). Během angioplastiky dochází k redistribuci plátu (tj. axiálnímu a longitudinálnímu posunu), část obsahu plátu tvořená lipidovými hmotami, může embolizovat a způsobit obstrukci mikrocirkulace. Tento jev je zodpovědný za část periprocedurálních infarktů myokardu (resp. postprocedurální elevaci troponinu) po perkutánní koronární intervenci (PCI) a ve své klinicky nejzávažnější formě způsobí úplnou zástavu průtoku krve intervenovanou tepnou (tzv. no-reflow fenomén). Bylo prokázáno, že při PCI dojde k poklesu LCBI intervenovaného úseku tepny a přítomnost  $LCBI_{max} \geq 400$  v místě implantace stentu je spojena s vyšší periprocedurální elevací biomarkerů nekrózy myokardu (Garcia BA et al., 2010; Goldstein JA et al., 2011; Hildebrandt HA et al., 2016; Kini AS et al., 2015; Maini A et al., 2013). Tato zjištění podporují hypotézu embolizace lipidového jádra vulnerabilního plátu při angioplastice a implantaci stentu. Předpokládáme, že obdobným mechanismem může dojít k embolizaci při CAS. Recentně publikovaná práce týkající se vztahu lipidového signálu (LCBI) stenózy ACI a vzniku mikroembolizačních lézí v ipsilaterální mozkové hemisféře po CAS podporuje tuto hypotézu. Nakagawa et al. provedli pacientům před a za 24 hodin po CAS magnetickou rezonanci hlavy hodnotící nově vzniklé (klinicky němé) ischemické léze pomocí DWI (diffusion weighted imaging) mapování. Zároveň bylo pacientům během CAS provedeno periprocedurální NIRS-IVUS vyšetření. Třetina pacientů měla po CAS detekovatelné nové ischemické léze na MR mozku, přičemž tyto pacienti měli signifikantně vyšší lipidový signál stenózy ACI oproti pacientům bez ischemických lézí. Byla nalezena korelace ( $r = 0,544$ ,  $p < 0,001$ ) mezi LCBI a počtem nových lézí na MR mozku. NIRS predikoval vznik mikroembolizací lépe než hodnocení složení plátu magnetickou rezonancí (AUC 0,94 vs. 0,54;  $p < 0,001$ ) (Nakagawa I et al., 2021).

Potvrzení, že NIRS umožňuje detekci klinicky relevantních vulnerabilních plátů, přinesla velká observační studie u pacientů s anginou pectoris nebo akutním koronárním syndromem, kterým byla provedena PCI a zároveň NIRS-IVUS vyšetření všech

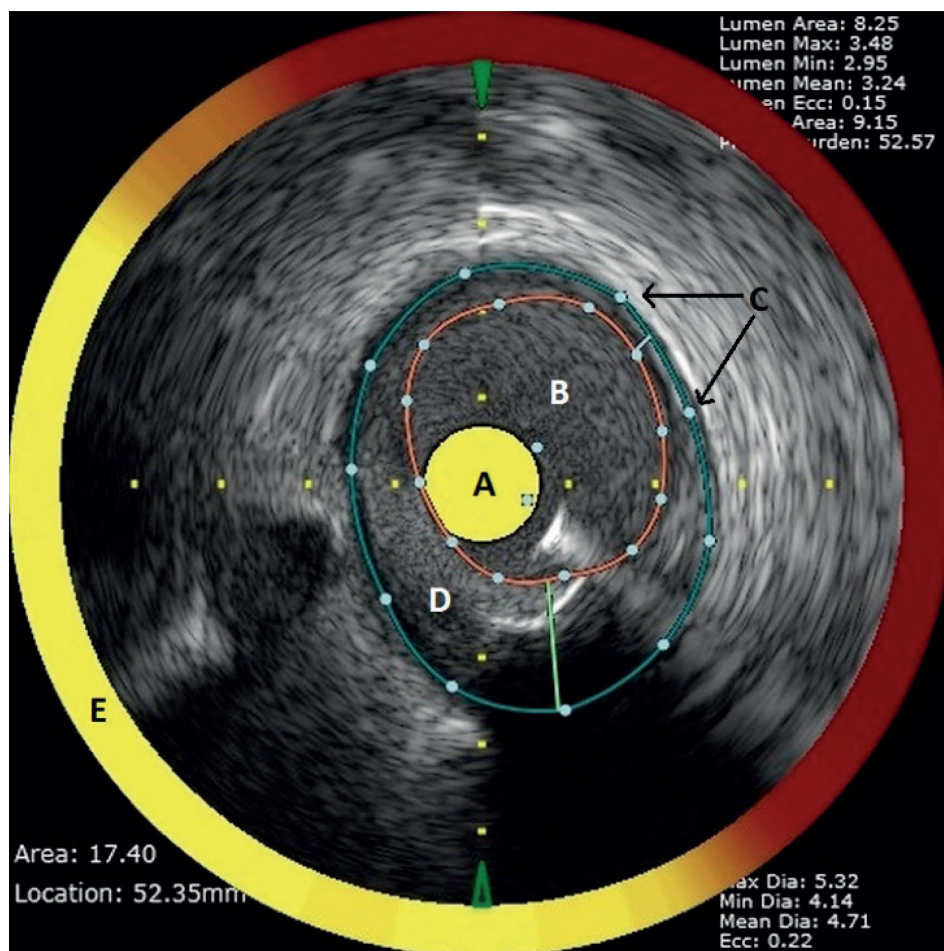
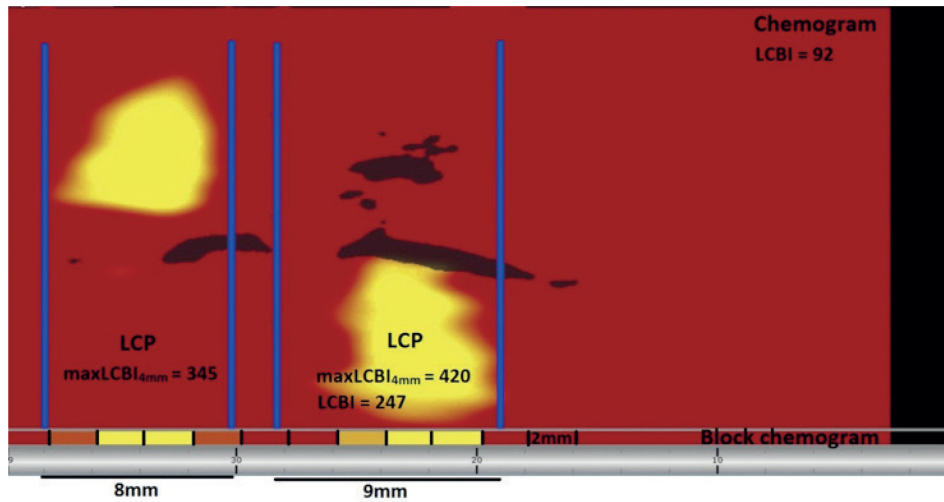
dosazitelných segmentů koronárních tepen. Během dvouletého sledování byla přítomnost  $LCBI_{max} \geq 400$ , v jiné lokalizaci než segment s implantovaným stentem, nezávisle asociována s rizikem kardiovaskulární příhody a potřeby opakované revaskularizace (adjustované HR 1,89) (Waksman R et al., 2019). Další, obdobně koncipovaná, prospektivní observační studie PROSPECT II přinesla prakticky totožné výsledky. U pacientů s akutním koronárním syndromem byl při dlouhodobém sledování lipidový signál koronárních tepen asociován s výskytem dalších kardiovaskulárních příhod jak na úrovni konkrétní léze, tak na úrovni pacienta. Nejvyšší specificita pro detekci vulnerabilních plátu, respektive pacientů, byla zjištěna při průkazu  $PB \geq 70\%$  na IVUS v kombinaci s  $LCBI_{max} \geq 400$  (Erlinge D et al., 2021). Tyto závěry jsou podpořeny dalšími observačními studiemi menšího rozsahu (Oemrawsingh RM et al., 2014; Schuurman AS et al., 2018). Výběr studií je uveden v Tabulce 1.

Tabulka 1. Vybrané studie hodnotící využití NIRS-IVUS k detekci vulnerabilních plátů a rizika kardiovaskulárních příhod po endovaskulárních intervencích.

Autoři	Typ studie, hodnocené subjekty	Výsledky studie
Gardner CM et al., 2008	Ex vivo validační studie NIRS, porovnání detekce lipidového jádra plátu oproti histologickému vyšetření koronárních tepen.	NIRS má vysokou senzitivitu i specifitu v detekci lipidového jádra plátu.
Waxman S et al., 2009	In vivo validační studie.	NIRS je schopen detekce lipidového jádra in vivo.
Goldstein JA et al., 2011	Observační studie pacientů podstupujících PCI.	Přítomnost LRP v místě uložení stentu je asociována se zvýšeným rizikem periprocedurálního infarktu.
Madder RD et al., 2013	Porovnání lipidového signálu aterosklerotických plátů u pacientů s infarktem myokardu oproti stabilní ICHS.	V culprit lézích pacientů s infarktem myokardu je častěji detekován LRP ve srovnání se stabilní ICHS. Pacienti s IM mají silnější lipidový signál.
Kini AS et al., 2013	Randomizovaná studie efektu léčby vysokou dávkou rosuvastatinu oproti placebu na lipidový signál koronárních plátů.	Již 7týdenní léčba statinem vedla k signifikantnímu poklesu LCBI oproti kontrolní skupině, kde nedošlo ke změně LCBI.
Roleder T et al., 2014	Porovnání NIRS-IVUS a optické koherenční tomografie (OCT).	Fibroaterom s tenkým fibrózním krytem má silnější lipidový signál oproti jiným lézím detekovaným OCT.
Schuurman AS et al., 2018	Observační studie pacientů podstupujících PCI.	Lipidový signál je asociován s vyšším výskytem infarktu myokardu nebo potřeby opakované revaskularizace během tříleté doby sledování.
Waksman R et al., 2019	Prospektivní observační studie pacientů podstupujících PCI pro anginu pectoris nebo infarkt myokardu.	Přítomnost LRP v koronární tepně je nezávislým rizikovým faktorem KV příhody.
Kotsugi M et al., 2020	Ex vivo validační studie NIRS na chirurgicky vypreparovaném endarteriu ACI.	NIRS je schopen s detekovat LCP v arteria carotis s obdobnou senzitivitou a specifitou jako v koronární tepně.
Nakagawa I et al., 2020	Observační studie hodnotící vztah LCBI stenózy ACI a ischemické mozkové léze (mikroembolizace) zobrazené magnetickou rezonancí (MR) po CAS.	Pacienti s novými ischemickými lézemi po CAS mají vyšší LCBI. Lineární korelace mezi LCBI a počtem nových ischemických lézí. NIRS je lepší prediktor rizika vzniku mikroembolizací, než charakterizace plátu pomocí MR.

Erlinge D et al., 2021	Prospektivní observační studie pacientů s akutním koronárním syndromem.	Lipidový signál koronárních tepen je asociován s výskytem dalších kardiovaskulárních příhod, jak na úrovni konkrétní léze, tak na úrovni pacienta.
---------------------------	---	--

Legenda: ACI – arteria carotis interna, IVUS – intravaskulární ultrazvuk, LCBI – lipid core burden index, LCP – plát s lipidovým jádrem, LRP – plát bohatý na lipidy ( $LCBI_{max} \geq 400$ ), NIRS – infračervená spektroskopie, PCI – perkutánní koronární intervence, OCT – optická koherenční tomografie.



Obrázek 2. Zobrazení stenózy arteria carotis interna pomocí NIRS-IVUS vyšetření.

Nahoře – chemogram tepny, na ose x je vyjádřena délka vyšetřovaného úseku tepny, osa y představuje úhel detekce lipidového signálu. Je přítomen plát s lipidovým jádrem (LCP). Dole – příčný průřez tepnou na IVUS zobrazení: A) katétr, B) lumen tepny, C) lamina elastica externa, D) aterosklerotický plát, na 6 hodině je patrný stín kalcifikace, E) lipidový signál plátu.

## 2. Hypotéza a cíle práce

Schopnost NIRS-IVUS detailně hodnotit morfologii a složení aterosklerotického plátu překonává limitace neinvazivních zobrazovacích metod. Použití NIRS-IVUS během CAS nebylo dosud zkoumáno. NIRS-IVUS nabízí potenciál zlepšit výsledky CAS přesnějším hodnocením míry stenózy ACI, expanze stentu a detekcí vulnerabilního plátu. Detekce vulnerabilního plátu by mohla vést k identifikaci pacientů ve zvýšeném riziku periprocedurální embolizace během CAS a identifikaci dlouhodobě vysokého rizika kardiovaskulárních příhod po CAS. Využití NIRS-IVUS má také potenciál zlepšit pochopení dlouhodobého protektivního efektu CAS objasněním dlouhodobých změn, ke kterým dochází v místě implantovaného stentu.

Nejprve bylo nutné stanovit bezpečnost vyšetření NIRS-IVUS během CAS. Užití jiných intravaskulárních zobrazovacích metod (IVUS a OCT) již bylo během CAS dříve popsáno (Yoshimura S et al., 2011; de Donato G et al., 2013; González A et al., 2012). Dalším úkolem bylo pomocí NIRS-IVUS popsat morfologii a složení stenózy ACI a okamžité změny během CAS, které by byly výchozí hodnotou pro plánované kontrolní vyšetření. Plánovali jsme hodnotit vliv reziduální stenózy (IVUS) a lipidového signálu (NIRS) na periprocedurální komplikace a dlouhodobé výsledky CAS. Zároveň jsme měli v plánu porovnat angiografii a IVUS v hodnocení stenózy ACI a okamžitého výsledku CAS. Posledním úkolem bylo provést kontrolní NIRS-IVUS vyšetření s časovým odstupem minimálně 6 měsíců od CAS s cílem popsat hojení stentu.

Hypotézy, které jsme si během přípravy práce stanovili:

- 1) Lipidový signál (LCBI) stenózy arteria carotis interna je asociován s rizikem periprocedurální embolizace během CAS a se systémovou vulnerabilitou pacienta, která vede k dlouhodobě vyššímu riziku kardiovaskulárních příhod po CAS.
- 2) Karotický stenting vede k dlouhodobé stabilizaci aterosklerotického plátu.

Jednotlivé cíle našeho výzkumu lze v bodech shrnout následovně:

- 1) Zhodnotit korelaci lipidového signálu (LCBI) stenózy ACI s její morfologií, klinickými a demografickými faktory pacientů a biomarkery.
- 2) Popsat okamžitý efekt CAS na lipidový signál plátu.
- 3) Porovnat angiografii a intravaskulární ultrazvuk v hodnocení tíže stenózy ACI a reziduální stenózy po CAS.
- 4) Asociovat lipidový signál karotické stenózy s periprocedurálními komplikacemi (cévní mozková příhoda a tranzientní ischemická ataka) a dlouhodobými výsledky po provedení CAS (celková a kardiovaskulární mortalita, ischemická CMP, infarkt myokardu, restenóza a okluze stentu).
- 5) Pomocí NIRS-IVUS vyšetření popsat dlouhodobé změny po CAS.

### 3. Soubor pacientů a metodika

Etická komise FN Motol schválila provádění výzkumu pomocí katetrizačního vyšetření NIRS-IVUS během CAS a kontrolního vyšetření NIRS-IVUS během dlouhodobého sledování pacientů. Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas s účastí ve studii a samostatný informovaný souhlas s kontrolním NIRS-IVUS vyšetřením. Studie je registrována v mezinárodní databázi klinických studií clinicaltrials.gov (NCT03141580).

Autor disertační práce se podílel ve spolupráci s kolegy Kardiologické kliniky 2. LF UK na designu studie a provádění katetrizačních vyšetření. Samostatně analyzoval NIRS-IVUS vyšetření, vedl registr pacientů a prováděl klinické hodnocení pacientů. Autor dále statisticky zpracovával získaná data a ve spolupráci s kolegy připravoval publikace vycházející ze studie.

Do prospektivní observační studie byli zařazeni konsekutivní pacienti, kteří od roku 2013 do roku 2020 podstoupili CAS s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS ve FN Motol. Pacienti byli indikováni k DSA karotického řečiště a navazujícímu CAS neurologem, kardiologem nebo cévním chirurgem na základě klinické rozvahy a průkazu stenózy ACI pomocí DUS a/nebo CT-angiografie. Při DSA jsme kvantifikovali stenózu dle metodiky NASCET (Barnett HJM et al., 1991). Rozhodnutí o provedení CAS bylo založeno na společných doporučeních Evropské kardiologické společnosti a Evropské společnosti cévní chirurgie (Aboyans V et al., 2018):

- 1) Symptomatická stenóza  $\geq 50\%$  nebo asymptomatická stenóza  $\geq 70\%$  dle NASCET.
- 2) Anatomické poměry a charakter léze umožňují zavedení distální protekce nebo proximální okluzi během CAS.
- 3) V případě asymptomatické stenózy pacient netrpí významnými komorbiditami, které limitují očekávanou délku přežití pod 5 let.

Vyřazovací kritéria pro periprocedurální vyšetření NIRS-IVUS a zařazení do studie byla následující:

- 1) Pokročilá orgánová dysfunkce (srdeční selhávání s ejekční frakcí levé komory pod 30 %, renální insuficience s clearance kreatininu  $\leq 30$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>).
- 2) Předchozí ipsilaterální CAS nebo endarterektomie (tzn. intervence pro restenózu).
- 3) Anatomické poměry (zalomení, vinutí) nejsou vhodné k zavedení stentu.



Do výzkumu bylo celkově zařazeno 151 výkonů CAS. Nábor pacientů do prospektivního registru probíhal po dobu 7 let, počty pacientů se v uvedených publikacích odlišují v závislosti na datu, kdy byla analýza prováděna.

### **3.1. Karotický stenting s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS**

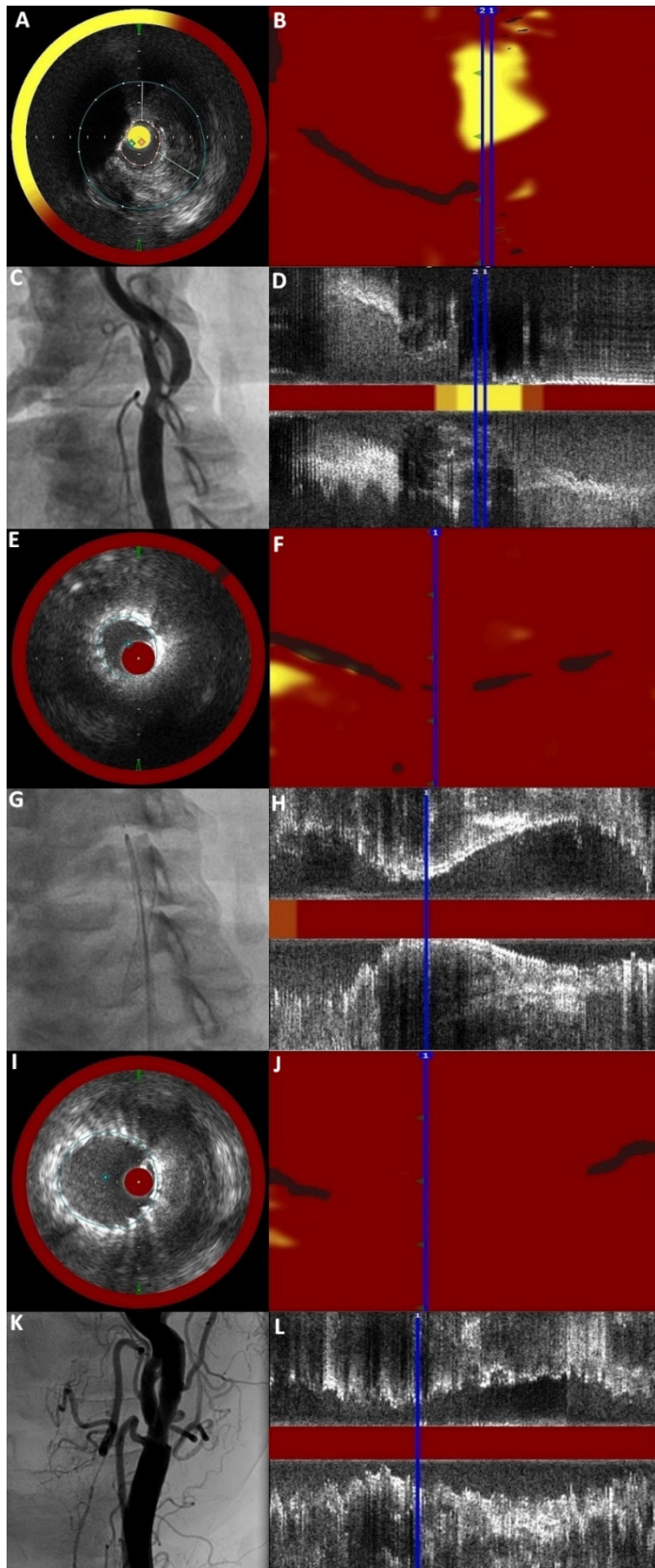
Transfemorálním přístupem v lokální anestezii byl zaveden 100 cm dlouhý 6 Fr sheath (zavaděč) do ACC za pomoci 5 Fr diagnostického katétru a 0,035" vodiče. V případě komplexnější anatomie aortálního oblouku byl zaveden 15 cm dlouhý 8 Fr zavaděč do a. femoralis a přes něj 8 Fr katétr vhodného tvaru do odstupu ACC. Poté byla zavedena neuroprotektce distálním filtrem na 0,014" vodiči nebo proximální balónková okluze (Tab. 3). Po zavedení neuroprotektce bylo provedeno první vyšetření NIRS-IVUS katétrem (Obr. 3). Po zavedeném vodiči s filtrem byl do stenózy implantován samoexpandibilní kovový stent bez predilatace léze balónkovým katétrem. Pouze v případě, kdy pro charakter stenózy nebylo možné provést přímý stenting, byla léze predilatována balónkovým katétrem 2,0 mm průměru (v 8 % případů). Volba typu neuroprotektce a stentu byla dána charakterem stenózy a ponechána na rozhodnutí operátora. Po implantaci stentu bylo provedeno druhé NIRS-IVUS vyšetření (Obr. 3). Stenty byly postdilátovány 4–5 mm balónkovým katétrem tlakem 6-10 atm. Po postdilataci bylo provedeno třetí NIRS-IVUS vyšetření (Obr. 3).

Periprocedurální antitrombotická léčba zahrnovala bolusové podání 70 IU/kg heparinu, u pacientů neužívajících antiagregační léčbu bylo před výkonem podáno 100 mg acetylsalicylové kyseliny a 300 mg clopidogrelu perorálně. Následná antitrombotická léčba sestávala z acetylsalicylové kyseliny 100 mg/den a clopidogrelu 75 mg/den po dobu 1 měsíce a dlouhodobého užívání jednoho z těchto antiagregačních léků.

### **3.2. NIRS-IVUS: definice a analýza**

Vyšetření NIRS-IVUS bylo provedeno 3,2 Fr katétrem TVC-8 Insight Imaging System™ (Infraredx, Burlington, MA, USA) zaváděným po 0,014" vodiči. Tento systém umožňuje simultánní koregistraci měření NIRS s IVUS obrazem a je detailně popsán v kapitole 1.5. Vyšetření pomocí NIRS vytvoří „chemogram“ tepny, dvourozměrnou mapu, na které osa x reprezentuje délku vyšetřeného segmentu tepny a osa y obvod tepny (Obr. 2). Lipidový signál z vyšetřovaného segmentu tepny je kvantifikován pomocí LCBI,

bezrozměrného čísla nabývajícího hodnoty 0-1000. V průběhu NIRS vyšetření probíhá koregistrace IVUS sondou o frekvenci 40 MHz s axiálním rozlišením 100  $\mu\text{m}$  a laterálním rozlišením 200  $\mu\text{m}$ . Během CAS jsme prováděli tři NIRS-IVUS vyšetření (viz 3.1.). Oblast zájmu byla definována pomocí IVUS jako 40mm segment ACI a ACC s místem maxima stenózy, tj. minimální plochy lumina (MLA) uprostřed tohoto segmentu (Obr. 3). Délka segmentu byla zvolena na základě nejčastější délky stentu použitého během CAS, zároveň se jedná o segment, který spolehlivě zahrne celou délku stenózy. Kvantitativní analýza IVUS byla provedena pomocí software QIVUS<sup>TM</sup> (Medis, Leiden, Nizozemí) umožňující semiautomatizovaná planimetrická a volumetrická měření. Byla provedena automatizovaná detekce kontur lumina a lamina elastica externa (EEM) s manuální korekcí. Rozsah kalcifikací byl zhodnocen dle úhlu a počtu kvadrantů, které kalcifikovaný plát zabírá na příčném průřezu v místě MLA. Distální referenční segment ACI byl určen jako nejdálší příčný průřez tepnou na IVUS, ve kterém je patrná kontura lumina a EEM. IVUS byl použit ke zhodnocení minimálního průměru lumina (MLD), minimální plochy lumina (MLA), distálního referenčního průměru (RLD) a plochy (RLA), a plaque burden (PB). Plaque burden reprezentuje plochu tepny zabranou aterosklerotickým plátem vzhledem k celkové ploše tepny na příčném průřezu, hodnota PB neodpovídá vzhledem k remodelaci tepny v místě stenózy procentuální tíži stenózy. Po CAS byla zhodnocena minimální plocha ve stentu (MSA) a reziduální stenóza. Analýzy, definice a výpočty parametrů odvozených z IVUS měření respektují doporučení American College of Cardiology pro interpretaci IVUS vyšetření (Mintz GS et al., 2001). Kvantitativní analýza chemogramu získaného vyšetřením NIRS byla provedena také pomocí software QIVUS<sup>TM</sup>. Pro kvantifikaci lipidového signálu z vyšetřeného segmentu tepny jsme použili následující parametry: LCBI, maximální LCB z 4 mm segmentu ( $\text{LCBI}_{\text{max}}$ ) a LCBI v místě MLA ( $\text{LCBI}_{\text{mla}}$ ), tedy 4mm segment definovaný 2 mm proximálně a distálně od místa MLA. Plát bohatý na lipidy (LRP) byl definován jako  $\text{LCBI}_{\text{max}} \geq 400$  (Erlinge D et al., 2021).



Obrázek 3. Postup periprocedurálního vyšetření NIRS-IVUS během CAS. Legenda: Panel obrázků demonstrující průběh NIRS-IVUS vyšetření během CAS. A) - D) Zobrazení před implantací stentu. E) - H) Zobrazení po implantaci stentu před jeho postdilatací. I) - L) Zobrazení po postdilataci. A), E), I) Příčný průřez tepnou v místě minimální plochy lumina. B), F), J) Chemogramy během jednotlivých fází CAS demonstrují okamžitý efekt CAS na lipidový signál. C), G), K) Angiogramy v průběhu CAS. Angiografie kontroluje průběh CAS a finální výsledek. D), H), L) Longitudinální průřez tepnou na NIRS-IVUS umožňuje orientaci při detekci MLA.

### 3.3. Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena pomocí software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, La Jolla, USA) a IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM, USA). Kontinuální proměnné s normální distribucí jsou vyjádřeny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (SD) nebo průměr a 95% interval spolehlivosti hodnot, ostatní kontinuální proměnné jsou vyjádřeny jako medián a 25. - 75. percentil hodnot (IQR) a jsou porovnány pomocí Wilcoxonova testu pro párové vzorky nebo Mann-Whitney U-testu pro nepárové vzorky. Kategorické proměnné jsou vyjádřeny jako frekvence (%) a porovnány pomocí  $\chi^2$  testu. Lineární asociace mezi kontinuálními proměnnými je vyjádřena Pearsonovým korelačním koeficientem (r). K porovnání přežívání jsme sestavili Kaplan-Meierovy křivky a použili log-rank (Mantel-Cox) test. Hodnota  $p < 0,05$  pro byla stanovena pro statistickou významnost porovnání.

### 3.4. Soubor pacientů a metodika hodnocení korelace LCBI s morfologií stenózy, biomarkery a kardiovaskulárními rizikovými faktory

Od dubna 2013 do června 2017 podstoupilo 159 pacientů celkem 173 CAS na Kardiologické klinice FNM. Do studie jsme v tomto období zařadili 120 CAS s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS. Průměrný věk pacientů byl  $67 \pm 8$  let. Charakteristika tohoto souboru je uvedena v Tabulce 2. Procedurálního úspěchu (implantace stentu) bylo dosaženo u všech CAS. Detailní popis provedení CAS s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS je uveden v kapitole 3.1. Všichni pacienti podstoupili klinické a sonografické hodnocení 30 dní po výkonu. Bezpečnost výkonu byla hodnocena kombinovaným ukazatelem: periprocedurální výskyt transientní ischemické ataky (TIA), jakékoliv CMP, úmrtí a výskyt ipsilaterální ischemické CMP do 30 dní od CAS.

Pomocí NIRS-IVUS jsme popsali typ plátu nacházející se ve stenóze ACI. Sestavili jsme korelační grafy a provedli výpočet Pearsonova korelačního koeficientu pro LCBI a  $LCBI_{max}$  s kontinuálními proměnnými: MLA, PB, věk, BMI, sérovou koncentrací celkového a LDL cholesterolu, C-reaktivního proteinu a kreatininu. Zhodnotili jsme rozdíl v LCBI a  $LCBI_{max}$  u podskupin dle pohlaví, přítomnosti symptomů, diabetu, ischemické choroby srdeční a předchozí léčby statinem (Štěchovský C et al., 2019).

Tabulka 2. Charakteristika souboru pacientů.

Počet vyšetřených stenóz ACI (n)	120
Muži	75 (67 %)
Věk (roky)	67,4 ± 8,1
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	28,0 ± 4,0
Symptomatická stenóza	17 (14 %)
Ischemická choroba srdeční	60 (50 %)
Diabetes mellitus	44 (37 %)
Arteriální hypertenze	104 (87 %)
Pokračující kuřák	49 (41 %)
Pacient vysoce rizikový k endarterektomii*	78 (65 %)
Distální referenční průměr ACI měřený pomocí IVUS (mm)	4,5 ± 0,8
Minimální průměr lumina ve stenóze měřený pomocí IVUS (mm)	1,9 ± 0,4
Minimální plocha lumina ve stenóze měřená pomocí IVUS (mm <sup>2</sup> )	3,9 ± 1,7
Medikace před CAS:	
Statin	92 (77 %)
Acetylsalicylová kyselina	101 (84 %)
Betablokátor	66 (55 %)
Inhibitor osy renin-angiotensin-aldosteron	89 (74 %)
Sérová koncentrace biomarkerů:	
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,32 ± 0,93
LDL-cholesterol (mmol/l)	2,44 ± 0,83
Kreatinin (μmol/l)	84,8 ± 24,8
Odhadovaná glomerulární filtrace (ml/s/1,73 m <sup>2</sup> )	91 ± 25
C-reaktivní protein (mg/l)	4,8 ± 8,9

Legenda: \*Pacient vysoce rizikový k endarterektomii: Ejekční frakce levé komory ≤40 %, chronická obstrukční plicní nemoc, předchozí infarkt myokardu, předchozí aortokoronární bypassová operace nebo věk ≥75 let.

Tabulka 3. Typ neuroprotektce a stentů použitých během CAS.

Počet výkonů CAS (n)	120
Intervence na levé ACI	67 (56 %)
Užití neuroprotektce	100 %
Proximální balónková okluze*	16 (13 %)
Mo.Ma <sup>TM</sup> (Invatec, Roncadelle, Itálie)	
Distální filtr*	113 (94 %)
Emboshield NAV6 <sup>TM</sup> (Abbott Vascular, Redwood City, CA, USA)	
FilterWire EZ <sup>TM</sup> (Boston Scientific, Mountain View, CA, USA)	
Přímý stenting bez predilatace	110 (92 %)
Postdilatace	117 (98 %)
Počet implantovaných stentů:	129
Open cell	33 (26 %)
Sinus-Carotid <sup>TM</sup> (Optimed, Ettlingen, Německo)	
Hybridní	13 (10 %)
Cristallo Ideale <sup>TM</sup> (Invatec, Roncadelle, Itálie)	
Closed cell	83 (64 %)
Xact <sup>TM</sup> (Abbott Vascular, Galway, Irsko)	
Wallstent <sup>TM</sup> (Boston Scientific, Mountain View, CA, USA)	
Průměrná délka stentu (mm)	37 ± 5
Průměrný nominální průměr stentu (mm)	7 ± 1
Průměrný čas skioskopie (minuty)	8,0 ± 3,6
Průměrná délka výkonu (minuty)	27,4 ± 9,2

Legenda: \*Oba druhy protektce mohou být použity během jedné intervence.

### 3.5. Soubor pacientů a metodika hodnocení okamžitého efektu CAS na lipidový signál

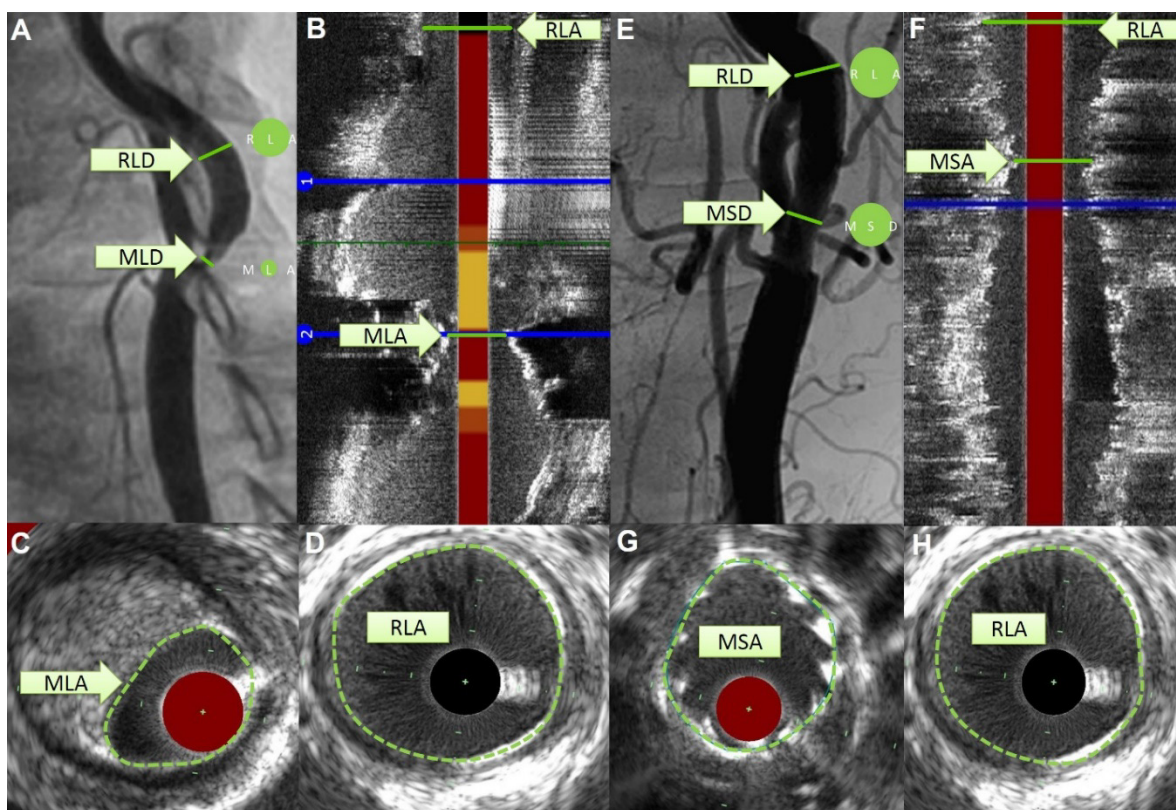
Jedná se o stejný soubor pacientů uvedený v kapitole 3.4. Porovnáním skupin (před CAS, po implantaci stentu a po CAS) párovými testy jsme hodnotili změnu LCBI, LCBI<sub>mla</sub>, LCBI<sub>max</sub> a MLA v průběhu CAS (Štěchovský C et al., 2019).

### **3.6. Soubor pacientů a metodika hodnocení vlivu LCBI na periprocedurální a dlouhodobé výsledky CAS**

Do studie bylo zařazeno všech 151 CAS s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS provedených v letech 2013–2020. Průměrný věk pacientů byl  $67,8 \pm 7,9$  let. Průměrná doba sledování byla  $45 \pm 20$  měsíců. Porovnali jsme LCBI a  $LCBI_{max}$  stenózy ACI, MLA po CAS a reziduální stenózu u pacientů s výskytem jednoho z dále uvedených ukazatelů, oproti skupině, kde se tento ukazatel během doby sledování nevyskytl. Kontinuální proměnnou  $LCBI_{max}$  jsme kategorizovali na  $LCBI_{max} \geq 400$  (LRP pozitivní) a  $LCBI_{max} < 400$  (LRP negativní) a sestavili Kaplan-Meierovy křivky přežívání. Vliv lipidového signálu na periprocedurální embolizaci jsme hodnotili porovnáním LCBI a  $LCBI_{max}$  u pacientů, kteří do 30 dní od CAS (včetně příhod během samotného výkonu) prodělali TIA nebo ipsilaterální ischemickou CMP, oproti pacientům bez těchto periprocedurálních komplikací. Při dlouhodobém klinickém sledování jsme hodnotili tyto ukazatele: celková mortalita, ipsilaterální ischemická CMP, jakákoliv CMP, infarkt myokardu, restenóza nebo okluze stentu v ACI, intervence na kontralaterální ACI nebo její uzávěr, koronární revaskularizace a hospitalizace pro ischemickou chorobu srdeční (ICHS). Vzhledem k očekávanému nízkému výskytu jednotlivých ukazatelů jsme hodnotili výskyt kombinovaného ukazatele č.1 (smrt, cévní mozková příhoda a infarkt myokardu), č.2 (ukazatel č.1 + restenóza nebo okluze stentu v ACI a koronární revaskularizace) a č.3 (ukazatel č.2 + intervence na kontralaterální ACI nebo její uzávěr a hospitalizace pro ICHS). Důvodem hodnocení klinických příhod přímo nesouvisejících se stenózou ACI byl předpoklad, že vulnerabilita plátu ve stenóze ACI může odrážet systémovou vulnerabilitu pacienta.

### **3.7. Metodika porovnání angiografie a IVUS**

Na totožném souboru pacientů jako v oddíle 3.6. jsme provedli simultánní hodnocení IVUS a kvantitativní angiografie. Pomocí obou metod byly změřeny MLD a MLA, míra stenózy v porovnání s distálním referenčním segmentem (RLA). Vzorec pro planimetrický výpočet míry stenózy a reziduální stenózy po CAS je uveden v Tabulce 4. Po provedení CAS byl změřen minimální průměr (MSD) a minimální plocha stentu (MSA) a reziduální stenóza (Obr. 4). Cílem bylo zjistit, jakým způsobem angiografie zkresluje hodnocení tíže stenózy oproti přesnějšímu měření pomocí IVUS.



Obrázek 4. Panel obrázků demonstrující způsob měření stenózy ACI pomocí angiografie (A, E) a IVUS (B, F-H). Nepřesnost angiografie je dána především výpočtem MLA kruhového tvaru z MLD. V případě DSA karotid často není možné provést dvě na sebe kolmé projekce, ve kterých by ACI a ACE nebyly v sumaci. Na IVUS vidíme, že stenóza je excentrická (C). Měření reziduální stenózy pomocí angiografie (E). Na IVUS vidíme, že stent nemá kruhový průřez (G).

### 3.8. Studie dlouhodobých změn aterosklerotického plátu po CAS

V této studii jsme si dali za cíl pomocí NIRS-IVUS popsat změny, ke kterým dochází v segmentu tepny s implantovaným stentem, s odstupem více jak 6 měsíců od CAS. K účasti ve studii jsme vyzvali pacienty, kteří od roku 2013 do roku 2017 podstoupili CAS s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS (120 CAS). Primárním sledovaným ukazatelem byla změna LCBI v segmentu tepny s implantovaným stentem. Porovnali jsme chemogram ihned po provedení CAS s chemogramem při kontrolním vyšetření. Dalšími měřenými parametry bylo planimetrické hodnocení změny minimální plochy průřezu stentem (minimal stent area – MSA) a MLA, a volumetrické hodnocení expanze stentu (změna objemu stentu) a in-stent restenózy (ISR) (Tab. 4) (Štěchovský C et al., 2021). Samoexpandibilní stent implantovaný během CAS vyvíjí svou radiální silou, danou vlastnostmi materiálu a technologií výroby, neustálý tlak na stěnu tepny. Tento tlak



vede k pokračující remodelaci tepny po implantaci stentu a indukuje přerůstání stentu neointimální hyperplazií, které může vést k restenóze (Han RO et al., 2001; Kobayashi Y et al., 2001).

Ve studii jsme provedli kontrolní vyšetření NIRS-IVUS u 58 karotických stentů. Důvody pro neprovedení kontrolního vyšetření byly následující: 6 pacientů zemřelo během doby sledování, 2 pacienti měli uzávěr stentu, 3 pacienti prodělali opakovaný CAS pro restenózu, 13 pacientů neodpovědělo a 36 pacientů odmítlo účast ve studii. Medián času od provedení CAS ke kontrolnímu vyšetření byl 31 měsíců (rozpětí 5-56 měsíců). Charakteristika souboru vyšetřených pacientů je uvedena v Tabulce 5. Žádný z vyšetřených pacientů neprodělal od provedení CAS ipsilaterální CMP. Kontrolní vyšetření sestávalo z transfemorální katetrizace, zavedení 6 Fr katétru do ACC, provedení angiografie karotidy, zavedení 0,014" vodiče přes implantovaný stent do ACI a provedení NIRS-IVUS vyšetření segmentu tepny s implantovaným stentem (Štěchovský C et al., 2021).

Tabulka 4. Definice a výpočty planimetrických a volumetrických parametrů IVUS.

Stenóza (%)	$[1 - (MLA / RLA)] \times 100$
Reziduální stenóza (%)	$[1 - (MSA / RLA)] \times 100$
Expanze stentu (%)	$\{[\text{objem stentu (B)} / \text{objem stentu (A)}] - 1\} \times 100$
Objem in-stent restenózy (mm <sup>3</sup> )	Objem stentu (B) - objem lumina tepny ve stentu (B)
Procentuální vyjádření in-stent restenózy (%)	$[\text{Objem in-stent restenózy} / \text{objem stentu (B)}] \times 100$
Změna MLA (mm <sup>2</sup> )	MLA (B) - MLA (A)
Procentuální vyjádření změny MLA (%)	$\{[MLA (B) / MLA (A)] - 1\} \times 100$
Plaque burden (PB) (%)	$[(EEM \text{ CSA} - \text{lumen CSA}) / EEM \text{ CSA}] \times 100$
Index remodelace (RI)	$EEM \text{ CSA}_{MLA} / EEM \text{ CSA}_{\text{referenční}}$

Legenda: MLA – minimální plocha lumina, MSA – minimální plocha stentu, RLA – distální referenční plocha, CSA – cross-sectional area, A – bezprostředně po implantaci stentu, B – kontrolní vyšetření.

Tabulka 5. Charakteristika souboru pacientů vyšetřených ve studii dlouhodobého sledování změn po CAS.

Počet vyšetřených stentů	58
Střední doba sledování v měsících (rozmezí)	35 (5-51)
Věk pacientů (roky)	67,4 ± 8,1
Výskyt ipsilaterální CMP během doby sledování	0
Ischemická choroba srdeční	32 (62 %)
Diabetes mellitus	26 (50 %)
Arteriální hypertenze	50 (96 %)
Pokračující kuřáctví po CAS	16 (31 %)
Terapie vysokou dávkou statinů	49 (94 %)
Antiagregační terapie (ASA nebo clopidogrel)	47 (90 %)
Antikoagulační terapie (warfarin nebo NOAC)	8 (15 %)
Celkový cholesterol (mmol/l)	4,32 ± 0,93
LDL cholesterol (mmol/l)	2,44 ± 0,83
Kreatinin (μmol/l)	84,8 ± 24,8
C-reaktivní protein (mg/l)	4,8 ± 8,9
Změna celkového cholesterolu (Δ mmol/l) během doby sledování	-0,27 (95 % CI; -0,47 až -0,07)
Změna LDL cholesterolu (Δ mmol/l) během doby sledování	-0,25 (95 % CI; -0,43 až -0,06)
Změna C-reaktivního proteinu (Δ mg/l) během doby sledování	-0,5 (95 % CI; -3,9 až +3,0)
Open cell stent (Sinus)	15 (26 %)
Hybridní stent (Cristallo)	3 (5 %)
Closed cell stent (Xact, Wallstent)	40 (69 %)
Délka stentu	37 ± 5
Nominální průměr stentu	7,3 ± 0,9

## 4. Výsledky

### 4.1. Bezpečnost periprocedurálního vyšetření NIRS-IVUS během CAS

Dva pacienti (1,7 %) prodělali periprocedurální TIA s kompletním vymizením neurologické symptomatologie. Během 30 dní od CAS prodělali další 2 pacienti (1,7 %) ipsilaterální ischemickou CMP (Štěchovský C et al., 2019). V porovnání s historickými (Veselka J et al., 2007) a recentními (Štěchovský C et al., 2022) výsledky CAS z našeho registru byl 30denní výskyt CMP a úmrtí u pacientů s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS numericky nižší a nebyl statisticky významně odlišný.

### 4.2. Hodnocení stenózy ACI pomocí NIRS-IVUS

Vyšetření NIRS-IVUS poskytlo detailní zhodnocení tíže stenózy a složení aterosklerotického plátu ve stenóze ACI (Tab. 6). V místě MLA byly kalcifikace alespoň v jednom kvadrantu detekovány u 91 stenóz (76 %) a LRP u 24 stenóz (20 %). V celém vyšetřeném segmentu tepny byl LRP detekován u 40 (33 %) stenóz (Štěchovský C et al., 2019). IVUS detekoval nástěnnou trombózu ve 2 stenózách (2 %), rupturu plátu ve 3 stenózách (3 %) a prolaps plátu po CAS ve 2 případech (2 %). Angiografie detekovala pouze 1 rupturu plátu a 1 prolaps plátu po CAS (oba nálezy ve shodě s IVUS). Nejvyšší průměrná hodnota LCBI se nalézala 2 mm proximálně od místa MLA (Horváth M et al., 2020). Segment  $LCBI_{max}$  se nacházel v 80 % případů do 10 mm od místa MLA a zároveň v 67 % případů proximálně od místa MLA (Štěchovský C et al., 2016). Medián  $LCBI_{max}$  byl signifikantně vyšší než  $LCBI_{mla}$  (294 [157-449] vs. 124 [0-338],  $p < 0,001$ ), průměrný PB v místě MLA byl signifikantně větší než PB v místě  $LCBI_{max}$  ( $PB_{mla} 88,5 \pm 5,2$  % vs.  $PB_{lcbimax} 63,7 \pm 20,0$  %,  $p < 0,001$ ) (Štěchovský C et al., 2019).

Tabulka 6. Popis stenózy ACI pomocí NIRS-IVUS u pacientů podstupujících CAS.

NIRS-IVUS před CAS	120 (100 %)
NIRS-IVUS po implantaci stentu	114 (95 %)
NIRS-IVUS po postdilataci	114 (95 %)
Minimální průměr lumina (mm)	1,94 ± 0,42
Referenční průměr lumina v distální ACI (mm)	4,34 ± 0,82
Minimální plocha lumina (mm <sup>2</sup> )	3,99 ± 1,77
Plaque burden v místě MLA (%)	88,5 ± 5,2
Plaque burden v místě LCBI <sub>max</sub> (%)	63,7 ± 20,0
LRP ve vyšetřené segmentu (LCBI <sub>max</sub> ≥ 400)	40 (33 %)
Kalcifikace v místě MLA (počet kvadrantů)	
0	29 (24 %)
1	43 (36 %)
2	35 (29 %)
3 nebo 4	13 (11 %)
Typ aterosklerotického plátu ve 4 mm segmentu MLA	
Fibrózně-kalcifikovaný plát	91 (76 %)
LRP (LCBI <sub>mla</sub> ≥ 400)	24 (20 %)

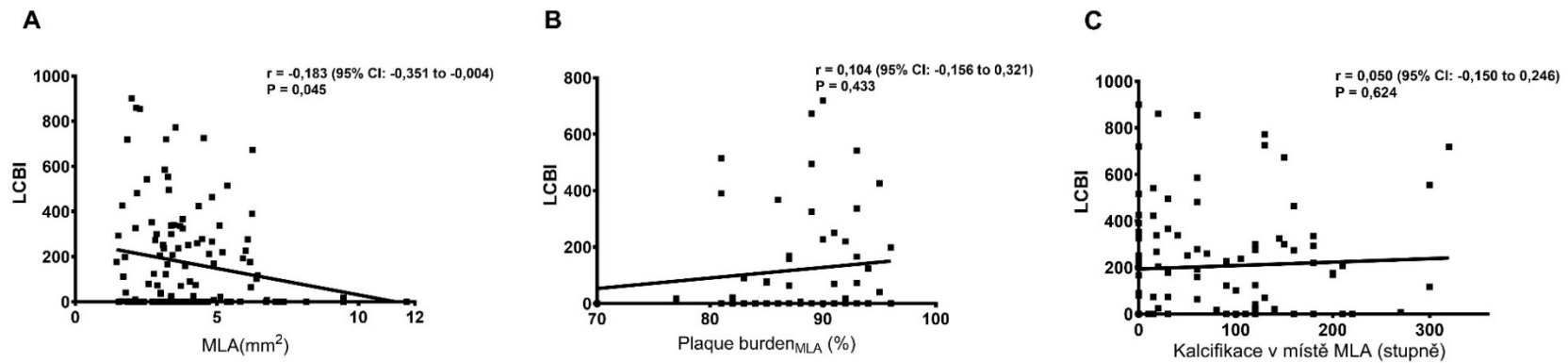
Legenda: ACI – arteria carotis interna, MLA – minimální plocha lumina, LRP – plát bohatý na lipidy.

#### 4.3. Vztah lipidového signálu s morfologií plátu, biomarkery a kardiovaskulárními rizikovými faktory

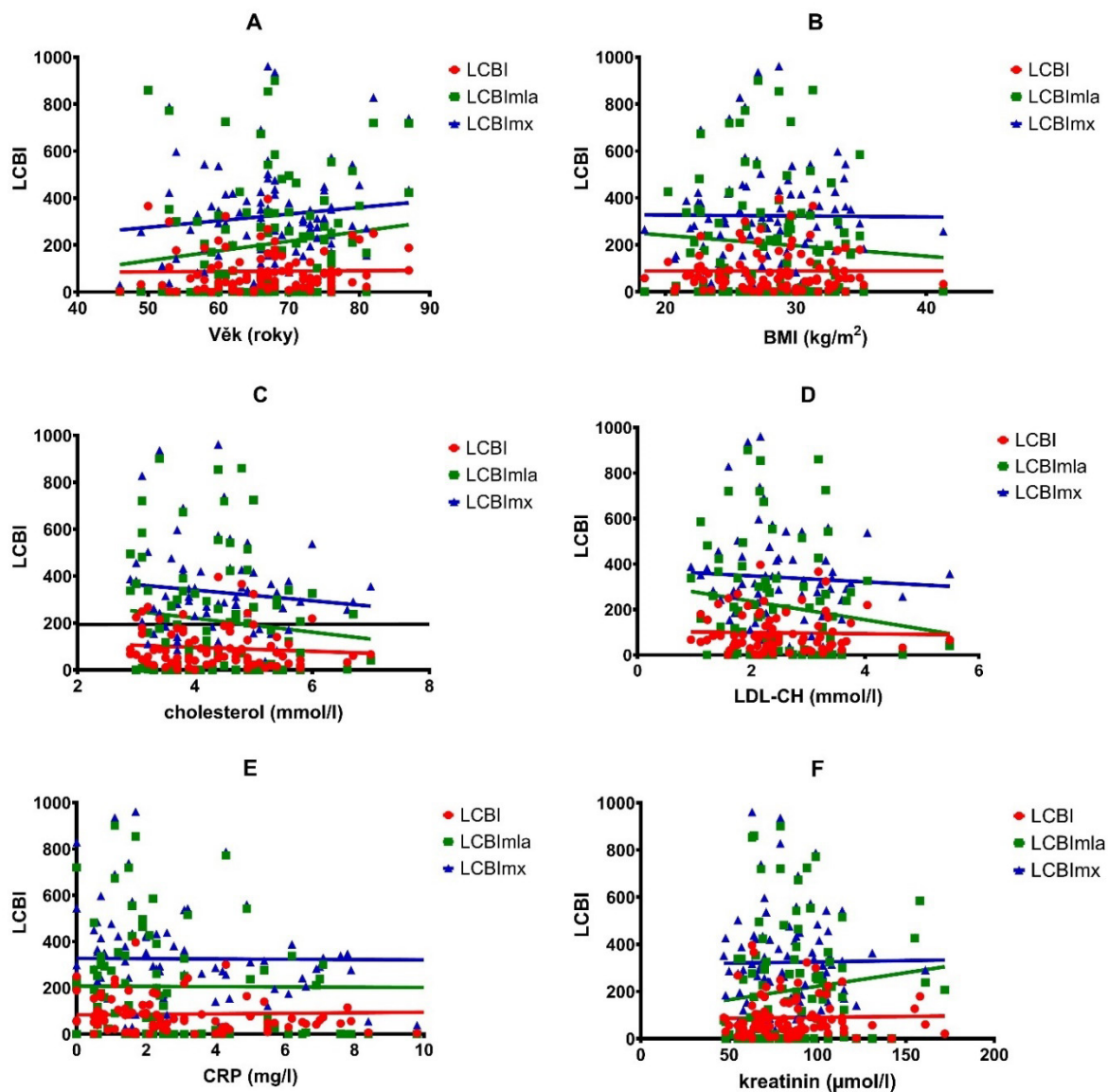
Nalezli jsme pouze slabou korelaci mezi LCBI<sub>mla</sub> a MLA ( $r = -0,183$ ;  $p = 0,045$ ), žádnou korelaci mezi LCBI<sub>mla</sub> a PB<sub>mla</sub> ( $r = 0,104$ ;  $p = 0,433$ ) ani mezi LCBI<sub>mla</sub> a množstvím kalcifikací v místě MLA ( $r = 0,05$ ;  $p = 0,624$ ) (Obr. 5). Medián LCBI, LCBI<sub>max</sub> ani LCBI<sub>mla</sub> se významně neliší mezi symptomatickou a asymptomatickou stenózou ani jinými podskupinami uvedenými v Tabulce 7. Nenalezli jsme korelaci lipidového signálu s věkem, BMI, sérovou hladinou celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu, kreatininu ani CRP (vše  $p > 0,05$ ) (Obr. 6) (Štěchovský C et al., 2019).

Tabulka 7. Rozdíl v lipidovém signálu stenózy ACI u podskupin pacientů.

	n (%)	LCBI, medián (IQR)	p	LCBI <sub>max</sub> , medián (IQR)	p	LCBI <sub>mla</sub> , medián (IQR)	p
Pohlaví							
Muž	75 (67 %)	75 (30 - 152)	0,096	315 (173 - 467)	0,213	177 (0 - 347)	0,196
Žena	37 (33 %)	56 (21 - 84)		289 (151 - 362)		76 (0 - 241)	
Symptomatická stenóza							
Ano	17 (14 %)	88 (56 - 179)	0,098	381 (271 - 543)	0,100	300 (0 - 495)	0,587
Ne	103 (86 %)	57 (25 - 104)		291 (157 - 428)		122 (1 - 286)	
Ischemická choroba srdeční							
Ano	60 (50 %)	56 (28 - 153)	0,825	293 (155 - 480)	0,938	120 (0 - 298)	0,949
Ne	60 (50 %)	67 (31 - 102)		296 (203 - 426)		172 (0 - 338)	
Terapie statinem před CAS							
Ano	92 (77 %)	65 (29 - 126)	0,511	294 (174 - 449)	0,873	159 (0 - 337)	0,396
Ne	28 (23 %)	67 (47 - 153)		314 (244 - 422)		41 (0 - 267)	
Diabetes mellitus							
Ano	44 (37 %)	83 (58 - 172)	0,098	331 (241 - 434)	0,181	185 (0 - 327)	0,504
Ne	76 (63 %)	59 (29 - 155)		292 (162 - 389)		120 (0 - 274)	



Obrázek 5. Korelační grafy s vyjádřením Pearsonova korelačního koeficientu ( $r$ ) pro  $LCBI_{mla}$  s MLA (A), PB v místě MLA (B) a kalcifikacemi v místě MLA (C). V případě B a C není přítomna statisticky významná korelace.



Obrázek 6. Korelační grafy mezi lipidovým signálem (LCBI, LCBI<sub>mla</sub>, LCBI<sub>max</sub>) stenózy ACI a věkem pacientů (A), BMI (B), hladinou sérového cholesterolu (C), LDL-cholesterolu (D), C-reaktivního proteinu (E) a kreatininu (F). Všechny hodnoty  $p > 0,05$ .

#### 4.4. Efekt CAS na stenózu ACI a lipidový signál aterosklerotického plátu

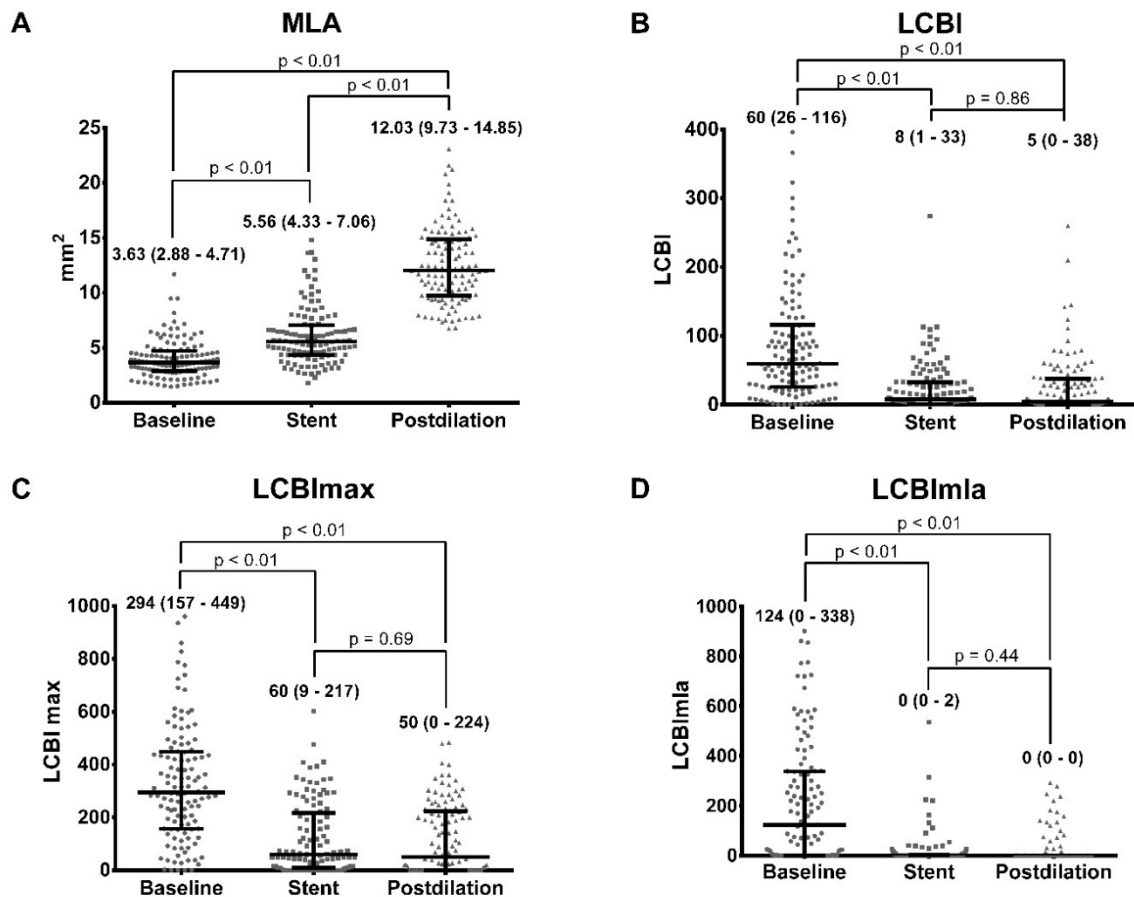
Medián MLA se signifikantně zvýšil po implantaci stentu (3,63 mm<sup>2</sup> na 5,56 mm<sup>2</sup>, p <0,001) a po jeho postdilataci (5,56 mm<sup>2</sup> na 12,03 mm<sup>2</sup>, p <0,001) (Obr. 7A). Medián LCBI (Obr. 7B), LCBI<sub>max</sub> (Obr. 7C) a LCBI<sub>m1a</sub> (Obr. 7D) signifikantně poklesl po implantaci stentu: LCBI [z 60 (26 – 116) na 8 (1 – 33), p <0,001], LCBI<sub>max</sub> [z 294 (157 – 449) na 60 (9 – 217), p <0,001] a LCBI<sub>m1a</sub> [z 124 (0 – 338) na 0 (0 – 2), p <0,001]. Postdilatace stentu neměla další významný efekt na LCBI [z 8 (1 – 33) na 5 (0 – 38), p = 0,890], LCBI<sub>max</sub> [z 60 (9 – 217) na 50 (0 – 224), p = 0,690] ani LCBI<sub>m1a</sub> [z 0 (0 – 2) na 0 (0 – 0), p = 0,438] (Štěchovský C et al., 2019).

Nenalezli jsme významný rozdíl v LCBI po CAS v závislosti na použitém typu stentu: open-cell versus hybridní a closed-cell (Tab. 8) (Štěchovský C et al., 2019).

Tabulka 8. Lipidový signál po CAS v závislosti na použitém typu stentu.

	Open-cell	Closed-cell a hybridní	p
LCBI před CAS	77 (25 - 176)	57 (26 - 105)	0,304
LCBI po implantaci stentu	11 (1 - 71)	7 (1 - 30)	0,258
LCBI po postdilataci	9 (1 - 52)	4 (0 - 34)	0,170

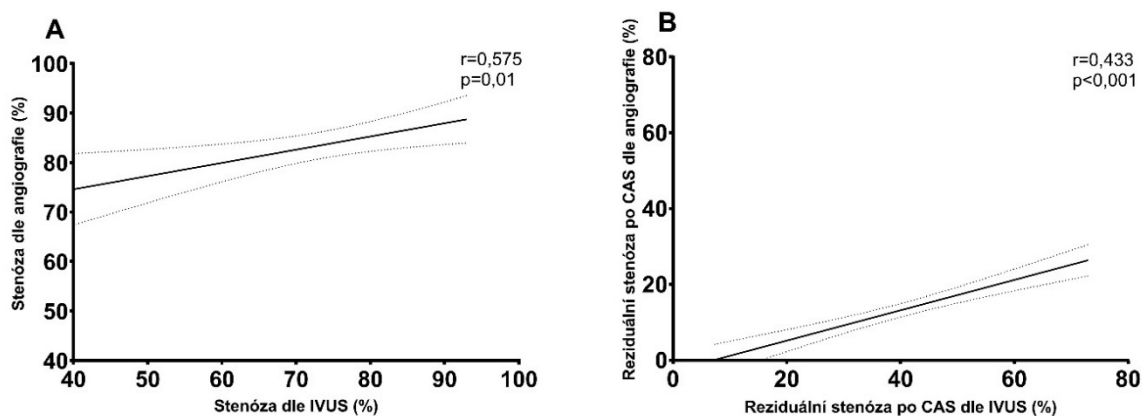




Obrázek 7. Výchozí (baseline) hodnoty MLA (A), LCBI (B), LCBI<sub>max</sub> (C) a LCBI<sub>mla</sub> (D) a jejich změny v průběhu CAS. V grafech je vyznačen medián a 25. až 75. percentil hodnot.

#### 4.5. Porovnání angiografie a IVUS v hodnocení stenózy ACI a reziduální stenózy po CAS

Angiografie nadhodnocovala tíži stenózy ACI, přičemž korelace s IVUS byla středně silná (Obr. 8A). Průměrná ( $\pm$  SD) míra stenózy byla  $84 \pm 9$  % dle angiografie a  $76 \pm 13$  % dle IVUS ( $p < 0,001$ ), korelační koeficient  $r = 0,575$  ( $p = 0,01$ ). Průměrný MLD  $1,9 \pm 0,4$  mm a MLA  $3,9 \pm 1,7$  mm<sup>2</sup> dle IVUS byly měřením kvantitativní angiografií podhodnocovány. Angiografie podhodnocovala tíži reziduální stenózy po CAS a jen slabě korelovala s IVUS (Obr. 8B). Průměrná reziduální stenóza po CAS byla  $12 \pm 10$  % dle angiografie a  $40 \pm 16$  % dle IVUS ( $p < 0,001$ ), korelační koeficient  $r = 0,433$  ( $p < 0,001$ ). Pacienti, u kterých během dlouhodobého sledování (průměr  $45 \pm 20$  měsíců) došlo k rozvoji restenózy vyžadující opakovanou intervenci nebo k okluzi stentu, měli po CAS signifikantně menší MSA ( $10,1$  mm<sup>2</sup> vs.  $12,2$  mm<sup>2</sup>,  $p = 0,02$ ) a větší reziduální stenózu ( $48$  % vs.  $38$  %,  $p = 0,04$ ).



Obrázek 8. Korelační grafy s vyjádřením Pearsonova korelačního koeficientu ( $r$ ) pro planimetrické hodnocení stenózy ACI (A) a reziduální stenózy po CAS (B) pomocí angiografie a IVUS.

#### 4.6. Vliv lipidového signálu stenózy ACI na periprocedurální a dlouhodobé výsledky CAS

V celém souboru 151 CAS byl průměrný (95 % interval spolehlivosti) LCBI 83 (70 - 96),  $LCBI_{max}$  322 (287 - 358), MSA 12 mm<sup>2</sup> (11,5 mm<sup>2</sup> - 12,6 mm<sup>2</sup>) a reziduální stenóza 40 % (37 % - 43 %). Do 30 dní od provedení CAS došlo ke 3 TIA a 2 ipsilaterálním ischemickým CMP (3 %). Medián LCBI (96 vs. 83,  $p = 0,48$ ) a  $LCBI_{max}$  (351 vs. 322,  $p = 0,55$ ) u pacientů s neurologickými příhodami do 30 dní od CAS se významně neodlišoval od zbytku populace. Během doby sledování (průměr 45 ± 20 měsíců) nebyl nalezen významný rozdíl v LCBI ani  $LCBI_{max}$  u žádné podskupiny pacientů s výskytem některé z 8 sledovaných kardiovaskulárních příhod nebo kombinovaného ukazatele (viz kapitola 3.6.) oproti skupině, kde se tyto příhody nevyskytly (Tab. 9). Nepozorovali jsme rozdíl v přežívání (úmrtí, kombinovaný ukazatel 1-3) mezi  $LCBI_{max} \geq 400$  (LRP pozitivní) a  $LCBI_{max} < 400$  (LRP negativní) (log-rank  $p > 0,05$  pro všechny testy).

Tabulka 9. Vliv lipidového signálu stenózy ACI a reziduální stenózy po CAS na výskyt kardiovaskulárních příhod během průměrné doby  $45 \pm 20$  měsíců od CAS.

		n (%)	LCBI	p	LCBI <sub>max</sub>	p	MSA (mm <sup>2</sup> )	p	reziduální stenóza (%)	p
úmrť	ANO	15 (10 %)	99 (51-146)	0,4	332 (221-442)	0,79	10,9 (9,4-12,5)	0,24	45 (38-52)	0,21
	NE	136 (90 %)	82 (68-95)		321 (283-359)		12,1 (11,6-12,7)		40 (37-42)	
ipsilaterální CMP	ANO	8 (5 %)	93 (28-158)	0,58	339 (195-482)	0,61	10,6 (8,1-13,0)	0,23	43 (29-57)	0,52
	NE	143 (95 %)	83 (69-96)		321 (285-358)		12,0 (11,5-12,7)		40 (37-43)	
jakákoliv CMP	ANO	9 (6 %)	90 (33-146)	0,57	341 (217-464)	0,54	10,6 (8,6-12,7)	0,24	46 (32-59)	0,26
	NE	142 (94 %)	83 (69-96)		321 (284-358)		12,1 (11,5-12,7)		40 (37-42)	
infarkt myokardu	ANO	6 (4 %)	85 (0-247)	0,85	289 (0-724)	0,62	11,2 (10,2-12,2)	0,74	37 (0-74)	0,65
	NE	145 (96 %)	83 (70-96)		323 (287-359)		12,0 (11,5-12,6)		40 (38-43)	
restenóza nebo uzávěr stentu	ANO	14 (9 %)	68 (10-127)	0,17	302 (163-441)	0,5	10,1 (8,9-11,2)	<b>0,02</b>	48 (41-55)	<b>0,04</b>
	NE	137 (91 %)	85 (72-98)		324 (287-361)		12,2 (11,6-12,8)		38 (35-41)	
koronární revaskularizace	ANO	22 (15 %)	79 (39-120)	0,55	269 (190-401)	0,32	11,5 (10,2-12,7)	0,5	42 (34-49)	0,64
	NE	129 (85 %)	84 (70-98)		327 (289-365)		12,1 (11,5-12,7)		40 (37-42)	
intervence na kontralaterální ACI nebo její uzávěr	ANO	31 (21 %)	76 (48-104)	0,5	310 (234-387)	0,81	12,3 (11,1-13,6)	0,54	39 (35-43)	0,67
	NE	120 (79 %)	85 (70-100)		325 (285-366)		11,9 (11,3-12,6)		40 (37-43)	
hospitalizace pro ICHS	ANO	16 (11 %)	74 (33-114)	0,56	276 (181-371)	0,34	11,3 (9,5-13,2)	0,28	42 (32-51)	0,7
	NE	135 (89 %)	84 (71-98)		328 (290-366)		12,1 (11,5-12,7)		40 (37-43)	
kombinovaný ukazatel 1	ANO	25 (17 %)	89 (57-122)	0,53	323 (241-404)	0,87	10,6 (9,6-11,6)	<b>0,05</b>	45 (39-51)	0,08
	NE	126 (83 %)	82 (68-96)		322 (283-362)		12,2 (11,6-12,9)		39 (36-42)	
kombinovaný ukazatel 2	ANO	51 (34 %)	82 (57-107)	0,73	314 (255-374)	0,66	11,0 (10,2-11,7)	<b>0,01</b>	43 (39-47)	0,12
	NE	100 (66 %)	84 (69-99)		326 (282-371)		12,6 (11,8-13,3)		39 (36-42)	
kombinovaný ukazatel 3	ANO	78 (52 %)	81 (63-100)	0,66	317 (270-364)	0,76	11,5 (10,8-12,2)	0,06	42 (39-46)	0,08
	NE	73 (48 %)	85 (67-103)		328 (247-382)		12,6 (11,8-13,4)		38 (33-42)	

#### 4.7. Dlouhodobé změny po provedení CAS

Změny, ke kterým došlo od provedení CAS do kontrolního vyšetření NIRS-IVUS jsou shrnuty v Tabulce 10. Planimetrické hodnocení průřezu stentem prokázalo signifikantní nárůst průměrné MSA ( $p < 0,001$ ), což bylo kompenzováno restenózou. Z tohoto důvodu nedošlo k signifikantní změně MLA ( $p = 0,098$ ) (Obr. 9A-B). Pozorovali jsme vysokou variabilitu ve vývoji MLA (Obr. 9A), průměrná změna MLA činila  $4 \pm 33 \%$ . Nedošlo k významné změně reziduální stenózy po CAS ( $p = 0,221$ ). Volumetrické hodnocení změny objemu virtuálního „válcovitého“ tělesa tvořeného stentem a neointimální hyperplazie tvořící restenózu prokázalo průměrnou expanzi stentů o  $43 \pm 24 \%$  jejich objemu na konci CAS (Obr. 9D). Došlo pouze k mírnému nárůstu objemu lumina o  $6 \pm 30 \%$  ( $p = 0,025$ ) (Obr. 9C). Difusní in-stent restenóza zabírala v průměru  $26 \pm 15 \%$  objemu stentu (Štěchovský C et al., 2021).

Neprokázali jsme korelaci mezi volumetrickým hodnocením expanze stentu a objemem in-stent restenózy ( $r = 0,19$ ;  $p = 0,16$ ). Korelace nebyla přítomna ani pro dobu od provedení CAS ke kontrolnímu vyšetření s expanzí stentu ( $r = -0,02$ ;  $p = 0,88$ ) nebo in-stent restenózou ( $r = 0,11$ ;  $p = 0,45$ ) (Obr. 10A-B). Nebyl pozorován významný rozdíl ve velikosti in-stent restenózy mezi podskupinami včetně typu stentu (Tab. 11) (Štěchovský C et al., 2021).

Pozorovali jsme pokles lipidového signálu LCBI ( $p = 0,002$ ) i  $LCBI_{max}$  ( $p = 0,002$ ) v segmentu tepny s implantovaným stentem (Obr. 11A-B). Při porovnání LCBI mezi podskupinami bylo signifikantně vyšší LCBI při kontrolním vyšetření pozorováno pouze u diabetiků (Tab. 11) (Štěchovský C et al., 2021).

Významná in-stent restenóza (definovaná jako snížení  $MLA \geq 50 \%$  výchozí hodnoty po CAS) byla nalezena v 7 (12 %) stentech. Stenty s významnou restenózou měly menší výchozí MLA ( $9,15 \pm 2,27 \text{ mm}^2$  oproti  $11,4 \pm 3,05 \text{ mm}^2$ ,  $p = 0,037$ ) a generovaly výrazně více neointimální hyperplazie v celém objemu stentu ( $53 \pm 17 \%$  oproti  $22 \pm 11 \%$ ,  $p < 0,001$ ) (Štěchovský C et al., 2021).

Tabulka 10. Změny planimetrických a volumetrických parametrů a lipidového signálu od provedení CAS.

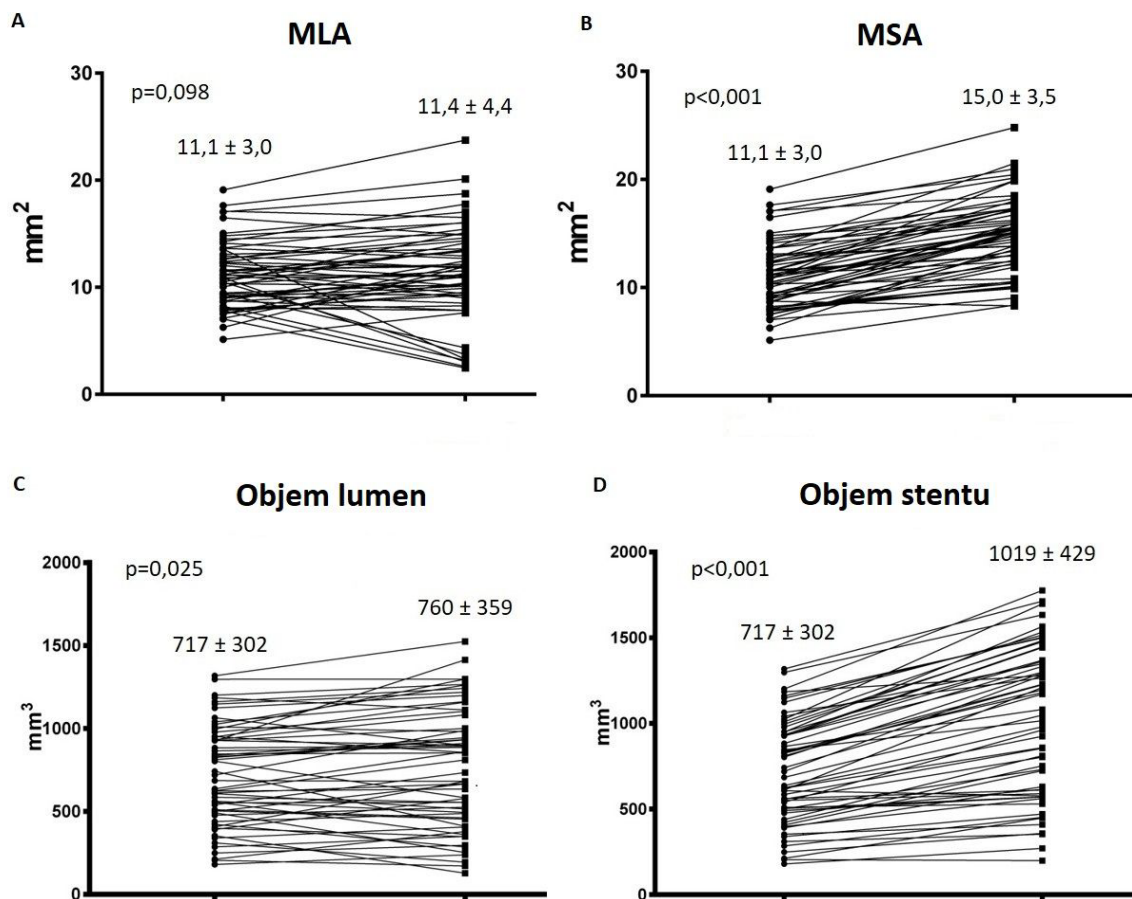
	Výchozí hodnota po CAS	Kontrolní vyšetření	p
Minimální plocha lumina (mm <sup>2</sup> )	11,1 ± 3,0	11,4 ± 4,4	0,098
Minimální plocha ve stentu (mm <sup>2</sup> )	11,1 ± 3,0	15,0 ± 3,5	<0,001
Objem lumina (mm <sup>3</sup> )	717 ± 302	760 ± 359	0,025
Objem stentu (mm <sup>3</sup> )	717 ± 302	1019 ± 429	<0,001
LCBI	32 ± 56	17 ± 27	0,002
LCBI <sub>max</sub>	122 ± 136	80 ± 111	0,002
Délka vyšetřeného segmentu tepny (mm)	33,3 ± 7,4	33,1 ± 8,7	0,154
Reziduální stenóza (%)	40 ± 16	38 ± 18	0,221

Legenda: LCBI – lipid core burden index, LCBI<sub>max</sub> – maximální LCBI ze 4 mm segmentu tepny.

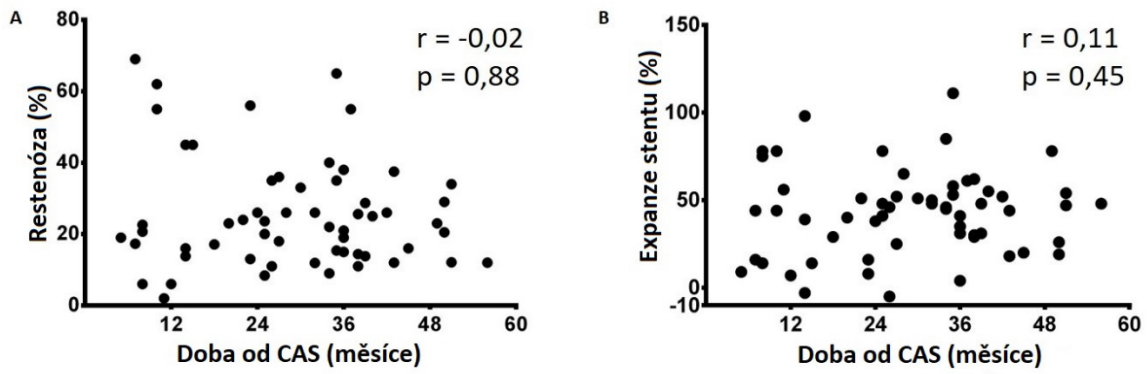
Tabulka 11. Restenóza a lipidový signál při kontrolním vyšetření NIRS-IVUS u podskupin pacientů.

	Procento restenózy z objemu stentu	p	LCBI	p
Muž	26 ± 16	0,51	14 ± 27	0,34
Žena	24 ± 15		22 ± 30	
Diabetes	23 ± 14	0,30	31 ± 36	0,02
Bez diabetu	17 ± 16		10 ± 17	
Kuřák	28 ± 19	0,51	11 ± 22	0,06
Nekuřák	23 ± 12		21 ± 30	
Vysoká dávka statinu*	26 ± 16	0,86	17 ± 37	0,68
Nízká dávka statinu	15 ± 14		21 ± 33	
Stent typu open-cell	21 ± 7	0,36	22 ± 32	0,36
Stent typu closed-cell	27 ± 17		15 ± 25	

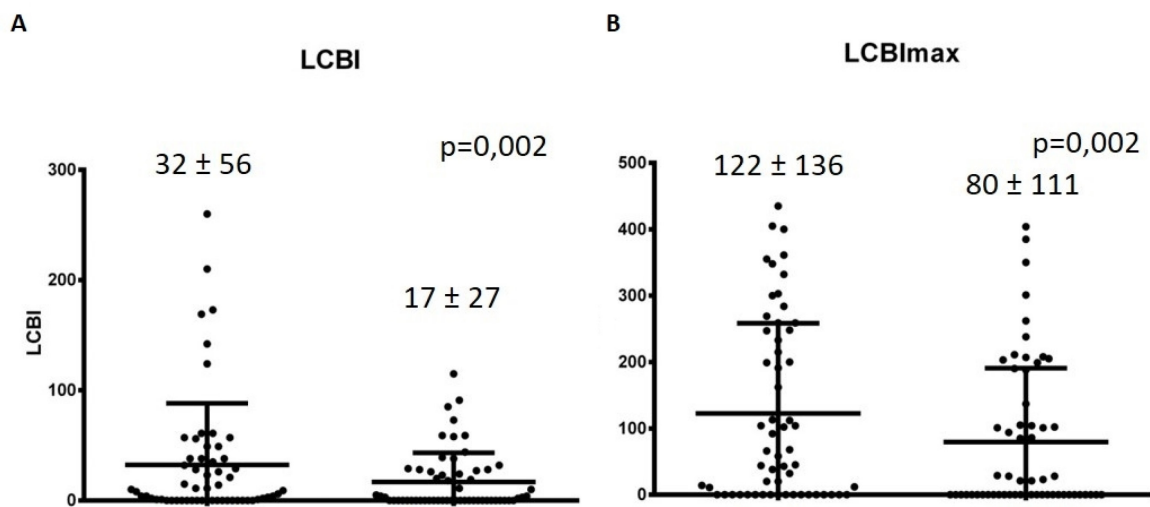
Legenda: Vysoká dávka statinu: atorvastatin 40-80 mg/den nebo rosuvastatin 20-40 mg/den.



Obrázek 9. Vývoj minimální plochy lumina (A), minimální plochy stentu (B), objemu lumina (C) a objemu stentu (D) od provedení CAS do kontrolního vyšetření NIRS-IVUS.



Obrázek 10. Korelační grafy s vyjádřením Pearsonova korelačního koeficientu ( $r$ ) pro dobu od provedení CAS s in-stent restenózou (A) a expanzí stentu (B). Není přítomna žádná korelace.



Obrázek 11. Změna lipidového signálu LCBI (A) a LCBI<sub>max</sub> (B) od provedení CAS do kontrolního vyšetření NIRS-IVUS. V grafech je vyznačen medián a 25. až 75. percentil hodnot.

## 5. Diskuze

Cílem naší práce bylo zhodnotit význam detekce vulnerabilního plátu ve stenóze ACI pomocí NIRS-IVUS u pacientů podstupujících CAS. Postupovali jsme od popisu nálezů získaných vyšetřováním stenózy před CAS a jejich srovnáním s angiografií, přes popis okamžitého efektu CAS na aterosklerotický plát, až po popis dlouhodobých změn po CAS. Zároveň jsme porovnali lipidový signál stenózy ACI s řadou proměnných ve snaze najít prediktory přítomnosti vulnerabilního plátu ve stenóze ACI. U pacientů jsme dále sledovali mortalitu a výskyt kardiovaskulárních příhod a snažili jsme se najít souvislost mezi lipidovým signálem stenózy ACI a dlouhodobými výsledky CAS. Pokud bychom prokázali, že vulnerabilní plát detekovaný pomocí NIRS-IVUS ve stenóze ACI ovlivňuje výsledek CAS, měli bychom k dispozici nástroj k optimalizaci tohoto intervenčního výkonu. Informace o přítomnosti vulnerabilního plátu by mohla vést k modifikaci technických aspektů CAS jako použití kombinace distálního filtru s balónkovou okluzí tepny, systému pro reverzní průtok v ACI během CAS nebo dvouvrstvého stentu s mikroskopickou sítí. Tato informace by mohla sloužit jako výchozí bod pro studii porovnávající výsledky CAS, endarterektomie a intenzivní farmakoterapie u pacientů s vulnerabilní stenózou ACI.

Naše hypotézy vycházely z poznatků získaných využitím NIRS-IVUS při koronárních intervencích, které jsou detailně popsány v úvodu práce, a byly dále podpořeny studii aterosklerotického plátu ve stenóze ACI pomocí magnetické rezonance. Bylo publikováno několik retrospektivních studií prokazujících, že určité charakteristiky vulnerabilního plátu se častěji nacházejí u symptomatické stenózy. Ve studiích případů a kontrol byly nalezeny charakteristiky vulnerabilního plátu (lipidové jádro a krvácení do plátu) signifikantně častěji u symptomatických stenóz oproti asymptomatickým (Gupta A et al., 2013). Sato et al. popsali v malé prospektivní studii častější výskyt ipsilaterálních ischemických lézí na MR mozku po endarterektomii vulnerabilního plátu (Sato Y et al., 2016). Je třeba uvést, že nám není známa prospektivní studie, které by prokázala signifikantně vyšší riziko klinicky manifestní (ipsilaterální ischemická CMP) embolizace během CAS v závislosti na velikosti lipidového jádra plátu.



## 5.1. Cesta k rizikové stratifikaci stenózy ACI a optimalizaci CAS

Od zavedení CAS jako alternativy k endarterektomii uplynulo již 30 let zkušeností s touto metodou. Přes významné pokroky v designu stentů určených specificky pro CAS, zavedení neuroprotektce distálním filtrem a proximální okluzí, zlepšení diagnostických zobrazovacích metod a množství dat z registrů a randomizovaných studií, stále existuje prostor pro zlepšení indikace a výsledků CAS (Horváth M et al., 2015; Spacek M et al., 2015; White CJ, 2014). Historicky byl CAS vyhrazen pro pacienty s vysokým operačním rizikem endarterektomie zapříčiněným věkem a komorbiditami nebo z anatomických příčin (restenóza po endarterektomii, poradiační stenóza, příliš distální stenóza). Během posledních 10 let byly publikovány tři velké randomizované studie srovnávající periprocedurální a dlouhodobé výsledky CAS a endarterektomie (Brott TG et al., 2016; Halliday A et al., 2021; Rosenfield K et al., 2016). Z nich vyplývá ekvivalence obou metod jak v periprocedurálním riziku invalidizující CMP a úmrtí, tak dlouhodobě nízké riziko ipsilaterální ischemické CMP po úspěšně provedeném výkonu. V těchto studiích byl CAS zatížen mírně vyšším počtem embolizací, které způsobují TIA nebo drobné neinvalidizující CMP. Tato zjištění byla reflektována i v doporučeních Evropské kardiologické společnosti a Evropské společnosti pro cévní chirurgii (Aboyans V et al., 2018). Obě metody léčby stenózy ACI mají stejnou sílu doporučení a důraz je kladen na bezpečnost výkonu a výběr pacientů. Bezpečnost výkonu z hlediska CAS znamená vyvarovat se lézí, kde je předpoklad složité a dlouhé manipulace s katétrem a obtížné zavádění stentu (oblouk aorty 3. typu, více ohybů nad 90°), prudkého zalomení ACI nad stenózou (tzv. kinking), a masivně kalcifikovaných lézí limitujících expanzi stentu. Skokový nárůst periprocedurálního rizika CAS je patrný u pacientů ve věku nad 80 let (Stanziale SF et al., 2006). Vzhledem k pokrokům ve farmakoterapii není v současnosti zcela jasné, jakým způsobem mají být selektováni pacienti s asymptomatickou stenózou, pro které představuje endarterektomie nebo CAS klinicky významný přínos dlouhodobého snížení rizika CMP, převažující rizika výkonu. Cílem je nalezení stenózy, která: 1) představuje vysoké riziko CMP i přes intenzivní farmakoterapii, 2) představuje charakterem aterosklerotického plátu lézí rizikovou embolizací při CAS. K detekci těchto lézí byla testována řada zobrazovacích metod. Absolutní velikost plátu a jeho echodensita na DUS jsou asociovány s vulnerabilitou (Nicolaidis AN et al., 2010). Nárůst plátu s progresí stenózy je asociován s nárůstem rizika CMP (Kakkos SK et al., 2014). Vyčerpaná cerebrovaskulární průtoková rezerva hodnocená Dopplerovským měřením rychlosti průtoku v a. cerebri media nebo

pomocí SPECT jsou spojeny s vyšším rizikem asymptomatické stenózy (Markus H & Cullinane M, 2001; Silvestrini M et al., 2000). Průkaz hemorrhagie do aterosklerotického plátu nebo lipidového jádra plátu při zobrazení magnetickou rezonancí je také asociován s vulnerabilitou plátu (Gupta A et al., 2013).

Intravaskulární zobrazovací metody jako IVUS, optická koherenční tomografie (OCT) a NIRS-IVUS jsou schopné zobrazit aterosklerotický plát ve stenóze ACI v detailech, které převyšují možnosti neinvazivních metod, a tím nabízejí možnost k identifikaci vulnerabilního plátu. Užití IVUS a OCT přineslo nové poznatky o složení stenózy ACI u pacientů podstupujících CAS a možných příčinách periprocedurální a časné postprocedurální embolizace. Vysoká rozlišovací schopnost OCT (axiální rozlišení 10  $\mu\text{m}$ , laterální rozlišení 20-40  $\mu\text{m}$ ) umožnila detekci drobných nástěnných trombů ve stenóze ACI u 44 % vyšetřených, zatímco ostatní zobrazovací metody včetně IVUS detekovaly tento nález jen u 3 %. Nástěnné tromby se daleko častěji vyskytovaly u symptomatických stenóz (76 %) oproti asymptomatickým (16 %) (Yoshimura S et al., 2012). Ruptury aterosklerotického plátu byly pomocí OCT detekovány u 38 % stenóz ACI před CAS (Shindo S et al., 2015). Donato et al. popsali pomocí OCT častý výskyt malapozice (neúplné naléhání jednotlivých částí stentu na cévní stěnu) stentu a prolapsu plátu skrz oka stentu (de Donato G et al., 2013). Tyto nálezy nejsou, až na výjimky, patrné na angiografii prováděné po CAS ani na kontrolním DUS. Klinický význam submilimetrových nástěnných trombů, malapozice stentu a malých prolapsů po CAS zůstává nejasný (de Donato G et al., 2013).

## **5.2. NIRS-IVUS: detailní pohled do nitra aterosklerotického plátu**

Naše práce byla první publikovanou studií, která se systematicky zabývala využitím NIRS-IVUS během CAS (Štěchovský C et al., 2016; Štěchovský C et al., 2019). Na souboru 120 CAS, jsme prokázali, že ve stenóze ACI se nalézají především kalcifikované pláty, nicméně u jedné třetiny stenóz jsme našli také vulnerabilní plát s lipidovým jádrem. Lipidový signál stenózy ACI jen velmi slabě koreloval s MLA. Nenalezli jsme ani jiné morfologické, biochemické a klinické prediktory lipidového signálu stenózy ACI. Předpokládali jsme, že nalezneme více vulnerabilních plátů u symptomatické stenózy v porovnání s asymptomatickou. Při porovnání LCBI (88 vs. 57,  $p = 0,098$ ) a  $\text{LCBI}_{\text{max}}$  (381 vs. 291,  $p = 0,1$ ) byl sice patrný trend k vyššímu lipidovému signálu symptomatické stenózy, ale nedosahoval statistické významnosti. Vysvětlením by mohl být malý podíl

symptomatických stenóz (17/120) a rozdílná doba od symptomatologie k provedení vyšetření. Je nám známa jediná studie srovnávající detekci lipidového jádra plátu ve stenóze ACI pomocí NIRS-IVUS s jinou zobrazovací metodou. Nakagawa et al. porovnali NIRS a různé techniky MR v detekci lipidového jádra plátu u 82 symptomatických stenóz ACI a našli dobrou korelaci mezi LCBI a MR T1W-SIR ( $r = -0,610$ ,  $p < 0,001$ ) (Nakagawa I et al., 2021). V našem souboru byla nejvyšší intenzita lipidového signálu detekována v místech s velkým rozsahem plátu (průměrný PB  $64 \pm 20,0$  %), nejčastěji proximálně od místa MLA (Horváth M et al., 2020; Štěchovský C et al., 2016). Tyto nálezy korespondují s výsledky studií prováděných na koronárních tepnách. Ve validační studii NIRS-IVUS na preparátech koronárních tepen Gardner et al. prokázali, že LCBI koreluje s PB lépe, než s mírou stenózy lumina tepny (Gardner CM et al., 2008), což bylo následně popsáno i při vyšetřeních in vivo (Pu J et al., 2012). Výskyt vulnerabilních plátů proximálně od bifurkace tepny, respektive na proximální části plátu vystavené vyššímu smykovému tření proudící krve, je dáván do souvislosti právě s efektem smykového tření na destabilizaci plátu (Horváth M et al., 2020). Kotsugi et al. porovnali lipidový signál z aterosklerotických plátů získaných endarterektomií ACI s histologickým vyšetřením preparátů. Nalezli dobrou korelaci mezi  $LCBI_{max}$  a podílem plochy lipidového jádra plátu, kterou zabírá na histologickém řezu. Dobrá korelace byla nalezena i mezi úhlem, pod kterým je lipidový signál detekován, a úhlem, pod kterým se nalézá lipidové jádro plátu na histologickém řezu (Kotsugi M et al., 2020). Přesnost detekce lipidového jádra plátu byla obdobná, jako ve studii Gardnera et al. na koronárních tepnách (Gardner CM et al., 2008).

CAS vedl k signifikantnímu poklesu lipidového signálu v místě implantovaného stentu. Předpokládáme několik možných mechanismů, které mohly vést k tomuto poklesu.

1) Implantací stentu dojde k porušení fibrózního krytu plátu, protruzi a embolizaci obsahu plátu. Tento mechanismus je zřejmě příčinou části periprocedurálních ischemických CMP a TIA. Může se jednat o kombinaci ateroembolizace obsahu plátu a časně trombozy na obnaženém vulnerabilním plátu, která může vést k opožděné embolizaci. Na menších souborech pacientů Donato et al. a Reimers et al. pozorovali pomocí OCT protruze lipidových plátů po CAS (de Donato G et al., 2013; Reimers B et al., 2011). Autoři obou studií shodně poukazují na embolizační potenciál těchto nálezů. Limitací jejich studií, stejně jako naší, je nízká incidence neurologických komplikací, která, spolu s velikostí vyšetřeného souboru, neumožňuje činit závěry o rizikovosti lipidového jádra pro periprocedurální komplikace při CAS.

2) CAS vede ke zvětšení lumina a plochy průřezu tepnou, aterosklerotický plát je během CAS „posunut“ axiálně i longitudinálně, což vede ke zvýšení vzdálenosti lipidového jádra od sondy a ke změně úhlu, pod kterým je lipidový plát detekován. Dochází tedy k oslabení lipidového signálu, které neodpovídá skutečné změně lipidového jádra plátu.

3) Dochází k odrazu NIR paprsků od stentu. Skutečná luminální plocha stentu, kterou překrývá stěnu tepny, představuje asi jen 10-20% plochy tepny, ve které je stent implantován. Tento mechanismus by neměl mít rozhodující vliv na pozorované snížení lipidového signálu po CAS.

Výsledky této práce nám posloužily jako výchozí hodnoty pro studium dlouhodobého efektu CAS na aterosklerotický plát a k hodnocení vlivu lipidového signálu stenózy ACI jako markeru systémové vulnerability na dlouhodobé výsledky pacientů po CAS.

### **5.3. IVUS zpřesňuje kvantifikaci stenózy ACI a reziduální stenózy po CAS**

Přesné hodnocení stenózy ACI je základem pro rozhodování o způsobu léčby. Neinvazivních zobrazovacích metody (DUS a CT) jsou limitovány častou přítomností kalcifikovaného plátu, v případě DUS řadou dalších faktorů omezujících přesné hodnocení stenózy (viz kapitola 1.3.). Angiografie hodnotí stenózu lumina výpočtem z dvourozměrného obrazu, čím se může v případě excentrických stenóz dopustit nadhodnocení i podhodnocení tíže stenózy. Během CAS je rozpoznání nedostatečně expandovaného stentu důležité pro další rozhodnutí o postdilataci, průměru balónkového katétru a dilatačním tlaku.

IVUS je rutinně používán k optimalizaci PCI (Hannan et al., 2022; Mintz et al., 2001). Schopnost IVUS hodnotit průměr tepny v místě stenózy a zvolit správnou velikost stentu je lepší než při izolovaném angiografickém hodnocení. Počet nedostatečně expandovaných stentů po provedení PCI je při užití IVUS výrazně snížen (Shlofmitz E et al., 2020). Bylo prokázáno, že užití IVUS zlepšuje akutní i dlouhodobé výsledky PCI. V porovnání s angiografií, vede použití IVUS ke snížení rizika trombózy stentu, restenózy vyžadující opakovanou revaskularizaci, výskytu infarktu myokardu v povodí intervenované tepny a kardiovaskulární mortality (Darmoch et al., 2020).

V naší studii jsme zjistili, že angiografické hodnocení stenózy ACI sice korelovalo s IVUS, ale nadhodnocovalo tíži stenózy v průměru o 8 %. Při hodnocení reziduální

stenózy po CAS se ukázalo, že angiografie je velmi nespolehlivá, jen slabě koreluje s IVUS a výrazně podhodnocuje reziduální stenózu. Menší MSA a větší reziduální stenóza po CAS byla asociována s restenózou vyžadující opakovanou intervenci a s okluzí stentu.

Nepředpokládáme, že by rutinní užití IVUS během CAS mělo potenciál snížit výskyt ipsilaterální ischemické CMP od 30. dne po výkonu. Její incidence byla v randomizovaných studiích (Brott TG et al., 2016; Halliday A et al., 2021; Rosenfield K et al., 2016) i v našem registru pacientů (Štěchovský C et al., 2022; Veselka J et al., 2007) nízká (okolo 0,5 % ročně) a další snižování je vzhledem k multifaktoriální etiologii CMP nepravděpodobné. Užití IVUS umožňuje spolehlivější detekci nedostatečně postdilatovaných stentů a tím by mohlo snížit riziko významné in-stent restenózy vyžadující opakovanou intervenci. IVUS je také schopen detekovat nástěnnou trombózu, avšak její incidence byla v naší studii nízká (2/120). OCT detekuje nástěnné tromby ve stenóze ACI daleko častěji, nicméně klinický význam submilimetrových trombů je sporný (de Donato G et al., 2013; Yoshimura S et al., 2012). Přesnější hodnocení tíže stenózy by také mohlo ve sporných případech pomoci rozhodnutí o provedení CAS nebo pokračování v konzervativní terapii.

#### **5.4. Význam detekce vulnerabilního plátu ve stenóze ACI**

Teoretické předpoklady pro význam detekce vulnerabilního plátu ve stenóze ACI vycházejí ze studií porovnávajících charakter plátu u symptomatických a asymptomatických stenóz (Gupta a et al., 2013) a analogie s periprocedurálním IM při PCI (Kini AS et al., 2015). Nepodařilo se nám prokázat, že by lipidový signál stenózy ACI, hodnocený periprocedurálním NIRS-IVUS vyšetřením u pacientů podstupujících CAS, byl asociován se symptomatickou periprocedurální embolizací. Dlouhodobé přežívání pacientů (event-free survival) nebylo signifikantně odlišné při rozdělení dle  $LCBI_{max} \geq 400$  pro žádnou ze sledovaných kardiovaskulárních příhod, in-stent restenózu a okluzi stentu.

Periprocedurální embolizace má řadu příčin, které nesouvisí s lipidovým jádrem plátu detekovaným NIRS. Během CAS může dojít k embolizaci mikrobubblek vzduchu ulpívajících na stentu nebo v kontrastní látce, plátu z aortálního oblouku při manipulaci s katétrem, trombózy vzniklé v katéttru, nástěnné trombózy na ruptuře plátu, buněčné drti uvolněné dilatací stentu, která nepochází z lipidového jádra plátu atd. CAS je vždy prováděn s neuroprotekcí, která by měla většinu embolizovaného materiálu zachytit. Je zřejmé, že lipidový plát detekovaný NIRS není jedinou příčinou embolizace.

Předpoklad systémové vulnerability pacientů s přítomností LRP ve stenóze ACI vycházel z velké observační studie osob bez manifestního kardiovaskulárního onemocnění, ve které byla přítomnost aterosklerotického plátu s lipidovým jádrem v ACI, zjištěná při screeningovém MR vyšetření hodnotícím rozsah subklinické aterosklerózy v populaci, nezávisle asociována s výskytem kardiovaskulárních příhod, zatímco pro kalcifikované pláty tato asociace pozorována nebyla (Brunner G et al., 2021). Rozdíl mezi studií Brunnera et al. a naší byl ve velikosti souboru, metodě detekce lipidového jádra plátu a především ve studované populaci. V našem případě se jednalo o starší pacienty s rozsáhlým aterosklerotickým postižením tepen, jehož manifestací je stenóza ACI, kteří byli shodně léčeni CAS a intenzivní farmakoterapií. U poloviny pacientů v našem souboru byla provedena i revaskularizace myokardu. U pacientů po CAS nebylo složení plátu hodnocené NIRS faktorem, který by ovlivňoval výskyt kardiovaskulárních příhod a přežívání. Vliv na dlouhodobé výsledky CAS jsme neprokázali ani u jiných charakteristik, jako například u preobliterační stenózy (Štěchovský et al., 2022; Veselka et al., 2012). Naopak, pacienti s bilaterální stenózou nebo uzávěrem ACI měli vyšší mortalitu (Veselka et al., 2020; Veselka et al., 2014; Veselka et al., 2011). Také přítomnost koronární choroby tří tepen je u pacientů po CAS spojena s dlouhodobě vyšší mortalitou (Veselka et al., 2016).

Z našeho pohledu nejzajímavější studii, týkající se embolizace lipidového jádra plátu během CAS, publikovali recentně Nakagawa et al. Na souboru 117 CAS s periprocedurálním vyšetřením NIRS-IVUS prokázali, že pacienti s novými ischemickými lézemi na MR mozku po CAS (39/117) měli signifikantně vyšší LCBI<sub>max</sub> stenózy ACI před CAS a celkový objem nových ischemických lézí koreloval s LCBI<sub>max</sub> ( $r = 0,473$ ,  $p < 0,001$ ). Dále je zajímavé, že pacienti s novými ischemickými lézemi po CAS neměli signifikantně odlišné parametry vulnerability plátu měřené pomocí MR. Je třeba poznamenat, že se jednalo o mikroskopické embolizace (průměrný objem nových ischemických lézí na MR mozku byl  $22,0 \pm 42,3 \text{ mm}^3$ ). Ani těmto autorům se nepodařilo prokázat vztah mezi LCBI a klinicky manifestní ischemickou CMP (Nakagawa I et al., 2021).

## **5.5. Hojení stentu vede k dlouhodobé stabilizaci plátu po CAS**

K lepšímu porozumění protektivního efektu CAS na dlouhodobé snížení rizika ischemické CMP jsme provedli kontrolní NIRS-IVUS vyšetření samoexpandibilních stentů

v ACI. Při přehledu literatury jsme našli jedinou studii, která by se zabývala systematickým hodnocením hojení stentu v ACI pomocí IVUS (Clark DJ et al., 2006). Pokud je nám známo, publikovali jsme první studii popisující dlouhodobé změny po CAS pomocí NIRS-IVUS (Štěchovský et al., 2021).

Předešlé studie monitorující hojení samoexpandibilních stentů pomocí DUS naznačují, že již od prvního dne po CAS lze pozorovat na povrchu stentu submilimetrovou echolucentní vrstvu, která byla autory studie interpretována jako fibrinový trombus (Willfort-Ehringer A et al., 2003). Jiní autoři se domnívají, že nepřítomnost signálu barevného Dopplerovského mapování v submilimetrové vrstvě mezi stentem a průtočným lumenem tepny je zobrazovací artefakt (Johnston KW, 2013). Během dalšího sledování dochází nárůstu tloušťky echolucentní vrstvy (do 6 měsíců od CAS) a zvyšování její echogenicity (do 12 měsíců po CAS), což autoři práce interpretovali jako hojení stentu neointimální hyperplazií (Willfort-Ehringer A et al., 2004). Clark et al. provedli sériové IVUS vyšetření 6 měsíců po CAS, jejich závěry jsou v mnohém podobné s našimi. Pozorovali jsme expanzi stentu o 43 % původního objemu a ISR zabírající 26 % objemu stentu, zatímco Clark et al. hodnotili planimetricky nárůst MSA o 49 % a ISR na stejném místě zabírající 37 % plochy stentu. Shodně jsme také nenalezli korelaci mezi procentuální expanzí stentu a in-stent restenózou (Clark DJ et al., 2006). Rozdíl byl v mediánu času od provedení CAS, 6 měsíců ve studii Clark et al. a 31 měsíců ve studii Štěchovský et al. Planimetrické hodnocení příčných průřezů v jednotlivých částech stentu stejnou metodikou jako Clark et al. jsme doplnili o volumetrické hodnocení expanze celého stentu a objemu tkáně ve stentu pomocí software QIVUS (Medis, Nizozemí), který umožňuje trojrozměrnou rekonstrukci NIRS-IVUS obrazu. Obdobné studie koronárních stentů prokázaly, že samoexpandibilní stenty generují více neointimální hyperplazie vedoucí k ISR než stenty na balónkovém katétru, které nemají elastické vlastnosti a aktivně nevyvíjejí tlak na stěnu tepny (Han RO et al., 2001; Kobayashi Y et al., 2001). Možným vysvětlením pozorované expanze stentů a ISR je běžná praxe použití většího nominálního průměru stentu oproti průměru tepny (v naší studii byl nominální průměr implantovaných stentů  $7,3 \pm 0,9$  mm a distální referenční průměr ACI  $4,3 \pm 0,8$  mm), což vede k chronickému dráždění stěny tepny, která reaguje neointimální proliferací (Schwartz RS, 1998). Další faktory určující možnost stentu dále expandovat po CAS jsou kalcifikace aterosklerotického plátu a rozdílná radiální síla stentů. Kromě tlaku vyvíjeného stentem na stěnu tepny, existuje mnoho faktorů vedoucích k zánětlivé odpovědi po implantaci stentu (Welt & Rogers, 2002). Variabilní expanze stentu a neointimální proliferace vede k velké

variabilitě námi měřené ISR. Počet vyšetřených stentů nám umožňuje činit jen omezené závěry o klinických a procedurálních charakteristikách, které by vedly k větší či menší míře expanze stentu a neointimální proliferaci. Stejně jako na celém soboru 151 CAS, i na podskupině s kontrolním NIRS-IVUS vyšetřením, jsme zjistili, že pacienti s in-stent restenózou (snížení MLA  $\geq$  50 % výchozí hodnoty) měli suboptimální výsledek CAS hodnocený pomocí IVUS.

Přidanou hodnotu naší studie spatřujeme v tom, že jsme oproti předchozím studiím (Clark DJ et al., 2006; Willfort-Ehringer A et al., 2004) kromě expanze stentu a restenózy hodnotili také dlouhodobý vývoj lipidového signálu po CAS. Nízký lipidový signál zjištěný při kontrolním vyšetření, navíc nezávislý na procentu in-stent restenózy, naznačuje, že in-stent restenóza je tvořena neointimální hyperplazií (buňkami hladké svaloviny a extracelulární matrix), nikoliv prorůstáním aterosklerotického plátu. Pokles lipidového signálu by také mohl být způsoben změnou složení aterosklerotického plátu pod stentem působením farmakoterapie. Pokles LCBI koronárních aterosklerotických plátů byl pozorován po terapii vysokou dávkou statinu (Kini AS et al., 2013).

Naše studie by mohla alespoň částečně objasňovat dlouhodobý protektivní efekt CAS před ischemickou CMP, který je shodný s kompletním odstraněním plátu chirurgickou endarterektomií. V naší práci prokazujeme, že CAS působí nejen přechodnou disrupci plátu (de Donato G et al., 2013; Reimers B et al., 2011), ale hojením stentu navozuje dlouhodobé překrytí aterosklerotického plátu stabilní neointimální hyperplazií, která není náchylná k ruptuře a trombóze. Limitací studie je neschopnost NIRS-IVUS hodnotit endotelizaci stentu.



## 6. Závěr

V této práci jsme se zabývali využitím katetrizačního vyšetření NIRS-IVUS ke zlepšení výsledků karotického stentingu. Mezi lety 2013-2020 jsme v rámci prospektivní observační studie provedli 151 NIRS-IVUS vyšetření během CAS. Hodnotili jsme diagnostickou přesnost angiografie v porovnání s IVUS a význam detekce vulnerabilního plátu ve stenóze ACI u pacientů podstupujících CAS. U podskupiny 58 CAS jsme provedli kontrolní NIRS-IVUS vyšetření s odstupem více jak 6 měsíců od CAS (medián 31 měsíců) s cílem popsat morfologické změny vedoucí k protektivnímu efektu CAS na dlouhodobé snížení rizika ischemické CMP.

Nejdůležitější závěry našeho výzkumu shrnujeme následovně:

- 1) U třetiny pacientů jsme pomocí NIRS-IVUS detekovali vulnerabilní plát s lipidovým jádrem ve stenóze arteria carotis interna. Lipidový signál nekoreloval s morfologií aterosklerotického plátu, biomarkery ani klinickými charakteristikami pacientů.
- 2) Karotický stenting vedl k poklesu lipidového signálu.
- 3) Angiografie nadhodnocovala tíži stenózy arteria carotis interna a podhodnocovala reziduální stenózu po karotickém stentingu v porovnání s intravaskulárním ultrazvukem. Nedostatečná expanze stentu hodnocená intravaskulárním ultrazvukem byla při dlouhodobém sledování asociována s restenózou vyžadující opakovanou intervenci a s okluzí stentu.
- 4) Neprokázáli jsme, že by lipidový signál stenózy arteria carotis interna měl vliv na neurologické komplikace karotického stentingu, mortalitu, výskyt kardiovaskulárních příhod a vznik restenózy během dlouhodobého sledování po implantaci stentu.
- 5) Při kontrolním NIRS-IVUS vyšetření jsme pozorovali expanzi stentů, difusní nástěnnou neointimální hyperplazii a další pokles lipidového signálu. Tyto nálezy považujeme za dlouhodobou stabilizaci plátu po karotickém stentingu.

## 7. Souhrn

Karotický stenting je endovaskulární metoda léčby stenózy extrakraniální části ACI a ACC. Přes technické pokroky zůstává limitujícím faktorem riziko periprocedurální embolizace vedoucí k akutní neurologické symptomatologii. Snaha o zlepšení výsledků CAS vede k hledání charakteristik stenózy spojených s vysokým rizikem periprocedurální embolizace. Jednou z cest je detekce vulnerabilního plátu pomocí zobrazovacích metod.

Práce se zabývá využitím NIRS-IVUS k hodnocení morfologie a složení stenózy ACI a optimalizaci výsledků CAS. NIRS je metoda hodnotící vulnerabilitu aterosklerotického plátu detekcí jeho lipidového jádra - tzv. lipidový signál. V teoretické části práce podáváme stručný přehled o patofyziologii vulnerabilních aterosklerotických plátů a jejich detekci zobrazovacími metodami, diagnostice a léčbě stenózy ACI, vývoji a směřování CAS a využití NIRS-IVUS. Uvádíme důvody, které nás vedly k formulaci hypotéz a cílů práce. V experimentální části práce popisujeme výsledky prospektivní observační studie periprocedurálního NIRS-IVUS vyšetření stenózy ACI během CAS a dlouhodobého sledování pacientů po CAS. Dále prezentujeme výsledky kontrolního NIRS-IVUS vyšetření implantovaných stentů popisující dlouhodobé změny po CAS.

Prokázali jsme bezpečnost NIRS-IVUS vyšetření během CAS. Vulnerabilní LRP jsme detekovali u třetiny stenóz ACI před CAS, lipidový signál stenózy nekoreloval s morfologií (IVUS), biomarkery ani klinickými parametry. CAS vedl k signifikantnímu poklesu lipidového signálu. Zjistili jsme, že angiografie nadhodnocuje stenózu ACI a značně podhodnocuje reziduální stenózu po CAS v porovnání s IVUS. Nepodařilo se prokázat, že by přítomnost LRP měla vliv na akutní neurologické komplikace CAS nebo byla asociována s dlouhodobě zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. IVUS identifikoval parametry asociované s rozvojem restenózy nebo okluze stentu. Při kontrolním NIRS-IVUS vyšetření (medián 31 měsíců) byla zjištěna expanze stentů, difusní nástěnná neointimální hyperplazie a pokles lipidového signálu. Předpokládáme, že CAS působí nejen přechodnou disrupci plátu, ale hojením stentu navozuje dlouhodobé překrytí aterosklerotického plátu stabilní neointimální hyperplazií, která není náchylná k ruptuře a trombóze.

## 8. Summary

Carotid artery stenting is an endovascular treatment of the extracranial carotid artery stenosis. Despite numerous technical advances, periprocedural embolization causing stroke remains the major limitation of CAS. In the search for optimizing the results of CAS, high-risk stenosis for the periprocedural embolization needs to be identified. Detection of the vulnerable plaque features with non-invasive or intravascular imaging is a promising approach.

The thesis describes assessment of the morphology and composition of the atherosclerotic plaques in the carotid stenosis with NIRS-IVUS imaging and use of NIRS-IVUS in the optimization of CAS. NIRS is an imaging method detecting a lipid signal from the lipid core of the vulnerable lipid rich plaque (LRP). The thesis contains a concise overview of the pathophysiology and imaging of the vulnerable plaque, definition, diagnosis and treatment of the ICA stenosis, history of CAS and future directions, technical aspects, and validation of the NIRS-IVUS imaging. Background and rationale for the aims of the study are provided. In the experimental part, we present the results of the prospective observational study on periprocedural NIRS-IVUS imaging during CAS and association of NIRS-derived lipid signal with periprocedural complications and long-term outcomes. Finally, we present results of a pre-planned follow-up observational study with NIRS-IVUS imaging of the implanted carotid stents, to explore the long-term changes after CAS.

We demonstrated safety of NIRS-IVUS imaging during CAS. LRP was detected in one third of ICAs before CAS. Lipid signal was not correlated with plaque morphology (IVUS), biomarkers or clinical variables. CAS caused significant decrease of the lipid signal. Angiography overestimated severity of stenosis of the ICA and vastly underestimated residual stenosis after CAS. Presence of the LRP in the stenosis was neither associated with periprocedural neurological complications of CAS nor long-term adverse cardiovascular events. IVUS identified planimetric features associated with long-term restenosis or stent occlusion. After a median follow-up of 31 months, repeated NIRS-IVUS imaging of the implanted stents showed significant expansion of the stents, diffuse neointimal hyperplasia and further reduction of the lipid signal. We assume, that CAS caused acute plaque disruption, but also induced long-term stabilization of the plaque by sealing it with neointimal hyperplasia, which is not prone to rupture and thrombosis.

## 9. Literatura

1. Aboyans V, Ricco JB, Bartelink MEL, et al. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur Heart J*. 2018;39(9):763-816.
2. Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A 3rd, et al. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack *N Engl J Med*. 2006;355(6):549-559.
3. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res*. 2014;114(12):1852-1866.
4. Brott TG, Howard G, Roubin GS, et al. Long-Term Results of Stenting versus Endarterectomy for Carotid-Artery Stenosis. *N Engl J Med*. 2016;374(11):1021-1031.
5. Brunner G, Virani SS, Sun W, et al. Associations Between Carotid Artery Plaque Burden, Plaque Characteristics, and Cardiovascular Events: The ARIC Carotid Magnetic Resonance Imaging Study. *JAMA Cardiol*. 2021;6(1):79-86.
6. Clark DJ, Lessio S, O'Donoghue M, et al. Mechanisms and predictors of carotid artery stent restenosis: a serial intravascular ultrasound study. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:2390-6.
7. Cremonesi A, Castriota F, Secco GG, Macdonald S, Roffi M. Carotid artery stenting: an update. *Eur Heart J*. 2015;36(1):13-21.
8. Darmoch F, Alraies MC, Al-Khadra Y, Moussa Pacha H, Pinto DS, Osborn EA. Intravascular Ultrasound Imaging-Guided Versus Coronary Angiography-Guided Percutaneous Coronary Intervention: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc*. 2020;9(5):e013678.
9. de Donato G, Setacci F, Sirignano P, Galzerano G, Cappelli A, Setacci C. Optical coherence tomography after carotid stenting: rate of stent malapposition, plaque prolapse and fibrous cap rupture according to stent design. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2013;45(6):579-587.

10. Erlinge D, Maehara A, Ben-Yehuda O, et al. Identification of vulnerable plaques and patients by intracoronary near-infrared spectroscopy and ultrasound (PROSPECT II): a prospective natural history study. *Lancet*. 2021;397(10278):985-995.
11. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet*. 1998;351(9113):1379-1387.
12. Finn AV, Nakano M, Narula J, Kolodgie FD, Virmani R. Concept of vulnerable/unstable plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(7):1282-1292.
13. Garcia BA, Wood F, Cipher D, Banerjee S, Brilakis ES. Reproducibility of near-infrared spectroscopy for the detection of lipid core coronary plaques and observed changes after coronary stent implantation. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2010;76(3):359-365.
14. Gardner CM, Tan H, Hull EL, et al. Detection of lipid core coronary plaques in autopsy specimens with a novel catheter-based near-infrared spectroscopy system. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2008;1(5):638-648.
15. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987;316(22):1371-1375.
16. Goldstein JA, Maini B, Dixon SR, et al. Detection of lipid-core plaques by intracoronary near-infrared spectroscopy identifies high risk of periprocedural myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Interv*. 2011;4(5):429-437.
17. González A, López-Rueda A, Gutiérrez I, et al. Carotid plaque characterization by virtual histology intravascular ultrasound related to the timing of carotid intervention. *J Endovasc Ther*. 2012;19(6):764-773.
18. Gupta A, Baradaran H, Schweitzer AD, et al. Carotid plaque MRI and stroke risk: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2013;44(11):3071-3077.
19. Halliday A, Bulbulia R, Bonati LH, et al. Second asymptomatic carotid surgery trial (ACST-2): a randomised comparison of carotid artery stenting versus carotid endarterectomy. *Lancet*. 2021;398(10305):1065-1073.
20. Han RO, Schwartz RS, Kobayashi Y, et al. Comparison of self-expanding and balloon-expandable stents for the reduction of restenosis. *Am J Cardiol* 2001;88:253-9.
21. Hannan EL, Zhong Y, Reddy P, et al. Percutaneous Coronary Intervention With and Without Intravascular Ultrasound for Patients With Complex Lesions: Utilization,

- Mortality, and Target Vessel Revascularization. *Circ Cardiovasc Interv.* 2022;15(6):e011687.
22. Hellings WE, Moll FL, de Vries JP, de Bruin P, de Kleijn DP, Pasterkamp G. Histological characterization of restenotic carotid plaques in relation to recurrence interval and clinical presentation: a cohort study. *Stroke.* 2008;39(3):1029-1032.
  23. Hellings WE, Peeters W, Moll FL, et al. Composition of carotid atherosclerotic plaque is associated with cardiovascular outcome: a prognostic study. *Circulation.* 2010;121(17):1941-1950.
  24. Higuma T, Soeda T, Abe N, et al. A Combined Optical Coherence Tomography and Intravascular Ultrasound Study on Plaque Rupture, Plaque Erosion, and Calcified Nodule in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: Incidence, Morphologic Characteristics, and Outcomes After Percutaneous Coronary Intervention [published correction appears in JACC Cardiovasc Interv. 2016 Mar 14;9(5):516]. *JACC Cardiovasc Interv.* 2015;8(9):1166-1176.
  25. Hildebrandt HA, Patsalis PC, Al-Rashid F, et al. Quantification and characterisation of released plaque material during bioresorbable vascular scaffold implantation into right coronary artery lesions by multimodality intracoronary imaging. *EuroIntervention.* 2016;12(12):1481-1489.
  26. Horev A, Honig A, Cohen JE, et al. Overestimation of carotid stenosis on CTA - Real world experience. *J Clin Neurosci.* 2021;85:36-40.
  27. Horváth M, Hájek P, Štěchovský C, Honěk J, Veselka J. Carotid artery plaque composition and distribution: near-infrared spectroscopy and intravascular ultrasound analysis. *Eur Heart J Suppl.* 2020;22(Suppl F):F38-F43.
  28. Horváth M, Hájek P, Štěchovský C, Honěk J, Veselka J. Intravascular Near-Infrared Spectroscopy: A Possible Tool for Optimizing the Management of Carotid Artery Disease. *Int J Angiol.* 2015;24(3):198-204.
  29. Howard DPJ, Gaziano L, Rothwell PM; Oxford Vascular Study. Risk of stroke in relation to degree of asymptomatic carotid stenosis: a population-based cohort study, systematic review, and meta-analysis [published correction appears in Lancet Neurol. 2021 May;20(5):e4]. *Lancet Neurol.* 2021;20(3):193-202.
  30. Chaturvedi S, Sacco RL. How recent data have impacted the treatment of internal carotid artery stenosis. *J Am Coll Cardiol.* 2015;65(11):1134-1143.

31. Inzitari D, Eliasziw M, Gates P, et al. The causes and risk of stroke in patients with asymptomatic internal-carotid-artery stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med*. 2000;342(23):1693-1700.
32. Johnston, K.W. (2013). Errors and Artifacts of Carotid Ultrasound Evaluation. In: AbuRahma, A., Bandyk, D. (eds) *Noninvasive Vascular Diagnosis*. Springer, London. ISBN 978-1-4471-4005-4
33. Kakkos SK, Nicolaides AN, Charalambous I, et al. Predictors and clinical significance of progression or regression of asymptomatic carotid stenosis. *J Vasc Surg*. 2014;59(4):956-967.
34. Kini AS, Baber U, Kovacic JC, et al. Changes in plaque lipid content after short-term intensive versus standard statin therapy: the YELLOW trial (reduction in yellow plaque by aggressive lipid-lowering therapy). *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(1):21-29.
35. Kini AS, Motoyama S, Vengrenyuk Y, et al. Multimodality Intravascular Imaging to Predict Periprocedural Myocardial Infarction During Percutaneous Coronary Intervention. *JACC Cardiovasc Interv*. 2015;8(7):937-945.
36. Kobayashi Y, Honda Y, Christie GL, et al. Long-term vessel response to a self-expanding coronary stent: a serial volumetric intravascular ultrasound analysis from the ASSURE Trial. A Stent vs. Stent Ultrasound Remodeling Evaluation. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1329-34.
37. Kotsugi M, Nakagawa I, Hatakeyama K, et al. Lipid Core Plaque Distribution Using Near-infrared Spectroscopy Is Consistent with Pathological Evaluation in Carotid Artery Plaques. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2020;60(10):499-506.
38. Madder RD, Goldstein JA, Madden SP, et al. Detection by near-infrared spectroscopy of large lipid core plaques at culprit sites in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction. *JACC Cardiovasc Interv*. 2013;6(8):838-846.
39. Madder RD, Smith JL, Dixon SR, Goldstein JA. Composition of target lesions by near-infrared spectroscopy in patients with acute coronary syndrome versus stable angina. *Circ Cardiovasc Interv*. 2012;5(1):55-61.
40. Maini A, Buyantseva L, Maini B. In vivo lipid core plaque modification with percutaneous coronary revascularization: a near-infrared spectroscopy study. *J Invasive Cardiol*. 2013;25(6):293-295.
41. Markus H, Cullinane M. Severely impaired cerebrovascular reactivity predicts stroke and TIA risk in patients with carotid artery stenosis and occlusion. *Brain*. 2001;124(Pt 3):457-467.

42. Mintz GS, Nissen SE, Anderson WD, et al. American College of Cardiology Clinical Expert Consensus Document on Standards for Acquisition, Measurement and Reporting of Intravascular Ultrasound Studies (IVUS). A report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(5):1478-1492.
43. Muller JE, Tofler GH, Stone PH. Circadian variation and triggers of onset of acute cardiovascular disease. *Circulation*. 1989;79(4):733-743.
44. Müller MD, Lyrer P, Brown MM, Bonati LH. Carotid artery stenting versus endarterectomy for treatment of carotid artery stenosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;2(2):CD000515. Published 2020 Feb 25.
45. Nakagawa I, Kotsugi M, Park H, et al. Lipid Core Burden Index Assessed by Near-Infrared Spectroscopy of Symptomatic Carotid Plaques: Association with Magnetic Resonance T1-Weighted Imaging. *Cerebrovasc Dis*. 2021;50(5):597-604.
46. Nakagawa I, Kotsugi M, Park HS, et al. Near-infrared spectroscopy carotid plaque characteristics and cerebral embolism in carotid artery stenting. *EuroIntervention*. 2021;17(7):599-606.
47. Nicolaidis AN, Kakkos SK, Kyriacou E, et al. Asymptomatic internal carotid artery stenosis and cerebrovascular risk stratification. *J Vasc Surg*. 2010;52(6):1486-1496.
48. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators, Barnett HJM, Taylor DW, et al. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med*. 1991;325(7):445-453.
49. Oemrawsingh RM, Cheng JM, García-García HM, et al. Near-infrared spectroscopy predicts cardiovascular outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(23):2510-2518.
50. Pu J, Mintz GS, Brilakis ES, et al. In vivo characterization of coronary plaques: novel findings from comparing greyscale and virtual histology intravascular ultrasound and near-infrared spectroscopy. *Eur Heart J*. 2012;33(3):372-383.
51. Reimers B, Nikas D, Stabile E, et al. Preliminary experience with optical coherence tomography imaging to evaluate carotid artery stents: safety, feasibility and techniques. *EuroIntervention*. 2011;7(1):98-105.
52. Roleder T, Kovacic JC, Ali Z, et al. Combined NIRS and IVUS imaging detects vulnerable plaque using a single catheter system: a head-to-head comparison with OCT. *EuroIntervention*. 2014;10(3):303-311.



53. Rosenfield K, Matsumura JS, Chaturvedi S, et al. Randomized Trial of Stent versus Surgery for Asymptomatic Carotid Stenosis. *N Engl J Med*. 2016;374(11):1011-1020.
54. Sato Y, Ogasawara K, Narumi S, et al. Optimal MR Plaque Imaging for Cervical Carotid Artery Stenosis in Predicting the Development of Microembolic Signals during Exposure of Carotid Arteries in Endarterectomy: Comparison of 4 T1-Weighted Imaging Techniques. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2016;37(6):1146-1154.
55. Shakur SF, Hrbac T, Alaraj A, et al. Effects of extracranial carotid stenosis on intracranial blood flow. *Stroke*. 2014;45(11):3427-3429.
56. Shindo S, Fujii K, Shirakawa M, et al. Morphologic Features of Carotid Plaque Rupture Assessed by Optical Coherence Tomography. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2015;36(11):2140-2146.
57. Shlofmitz E, Ali ZA, Maehara A, Mintz GS, Shlofmitz R, Jeremias A. Intravascular Imaging-Guided Percutaneous Coronary Intervention: A Universal Approach for Optimization of Stent Implantation. *Circ Cardiovasc Interv*. 2020;13(12):e008686.
58. Schuurman AS, Vroegindewey M, Kardys I, et al. Near-infrared spectroscopy-derived lipid core burden index predicts adverse cardiovascular outcome in patients with coronary artery disease during long-term follow-up. *Eur Heart J*. 2018;39(4):295-302.
59. Schwartz RS. Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia, and/or remodeling. *Am J Cardiol* 1998;81:14E-7E.
60. Silvestrini M, Vernieri F, Pasqualetti P, et al. Impaired cerebral vasoreactivity and risk of stroke in patients with asymptomatic carotid artery stenosis. *JAMA*. 2000;283(16):2122-2127.
61. Spacek M, Veselka J. Carotid Artery Stenting-Historical Context, Trends, and Innovations. *Int J Angiol*. 2015;24(3):205-209.
62. Stanziale SF, Marone LK, Boules TN, et al. Carotid artery stenting in octogenarians is associated with increased adverse outcomes. *J Vasc Surg*. 2006;43(2):297-304.
63. Stone GW, Maehara A, Lansky AJ, et al. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011;364(3):226-235.
64. Štěchovský C, Hájek P, Horváth M, Špaček M, Veselka J. Composition of carotid artery stenosis and restenosis: A series of patients assessed with intravascular ultrasound and near-infrared spectroscopy. *Int J Cardiol*. 2016;207:64-66.
65. Štěchovský C, Hájek P, Horváth M, Špaček M, Veselka J. Near-infrared spectroscopy combined with intravascular ultrasound in carotid arteries. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2016;32(1):181-188.

66. Štěchovský C, Hájek P, Horváth M, Veselka J. Effect of stenting on the near-infrared spectroscopy-derived lipid core burden index of carotid artery plaque. *EuroIntervention*. 2019;15(3):e289-e296. Published 2019 Jun 12.
67. Štěchovský C, Hájek P, Roland R, Horváth M, Veselka J. Long-term changes after carotid stenting assessed by intravascular ultrasound and near-infrared spectroscopy. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2021;11(6):1180-1189.
68. Štěchovský C, Horváth M, Hájek P, Veselka J. Význam vulnerabilních aterosklerotických plátů a možnosti jejich detekce pomocí intravaskulární spektroskopie [Detection of vulnerable atherosclerotic plaque with near-infrared spectroscopy: a systematic review]. *Vnitr Lek*. 2014;60(4):375-379.
69. Štěchovský C, Hulíková Tesárková K, Hájek P, Horváth M, Hansvenclová E, Veselka J. Comparison of 30-Day Outcomes after Carotid Artery Stenting in Patients with Near-Occlusion and Severe Stenosis: A Propensity Score Matching Analysis. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2022;43(9):1311-1317.
70. Veselka J, Cerná D, Zimolová P, et al. Thirty-day outcomes of direct carotid artery stenting with cerebral protection in high-risk patients. *Circ J*. 2007;71(9):1468-1472.
71. Veselka J, Hájek P, Štěchovský C, et al. Long-term survival of carotid stenting patients with regard to single- or double-vessel carotid artery disease: a propensity score matching analysis. *Arch Med Sci*. 2020;17(4):849-855.
72. Veselka J, Špaček M, Hájek P, Horváth M, Štěchovský C, Zimolová P. Impact of single versus double vessel carotid disease on long-term survival in patients treated with carotid stenting. *Int J Cardiol*. 2014;176(3):1299-1300.
73. Veselka J, Špaček M, Horváth M, et al. Impact of coexisting multivessel coronary artery disease on short-term outcomes and long-term survival of patients treated with carotid stenting. *Arch Med Sci*. 2016;12(4):760-765.
74. Veselka J, Zimolová P, Martinkovičová L, et al. Comparison of mid-term outcomes of carotid artery stenting for moderate versus critical stenosis. *Arch Med Sci*. 2012;8(1):75-80.
75. Veselka J, Zimolová P, Špaček M, et al. Comparison of carotid artery stenting in patients with single versus bilateral carotid artery disease and factors affecting midterm outcome. *Ann Vasc Surg*. 2011;25(6):796-804.
76. Veselka J. Atherosclerotic Plaque Composition Is Still an Almost Unrecognized Factor of Risk Stratification in Patients with Carotid Artery Disease. *Int J Angiol*. 2015;24(3):155-156.

77. Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(8 Suppl):C13-C18.
78. von Reutern GM, Goertler MW, Bornstein NM, et al. Grading carotid stenosis using ultrasonic methods [published correction appears in *Stroke*. 2012 May;43(5):e54]. *Stroke*. 2012;43(3):916-921.
79. Waksman R, Di Mario C, Torguson R, et al. Identification of patients and plaques vulnerable to future coronary events with near-infrared spectroscopy intravascular ultrasound imaging: a prospective, cohort study [published correction appears in *Lancet*. 2019 Nov 2;394(10209):1618]. *Lancet*. 2019;394(10209):1629-1637.
80. Waxman S, Dixon SR, L'Allier P, et al. In vivo validation of a catheter-based near-infrared spectroscopy system for detection of lipid core coronary plaques: initial results of the SPECTACL study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2009;2(7):858-868.
81. Welt FG, Rogers C. Inflammation and restenosis in the stent era. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(11):1769-1776.
82. White CJ. Carotid artery stenting. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(7):722-731.
83. Willfort-Ehringer A, Ahmadi R, Gruber D, et al. Arterial remodeling and hemodynamics in carotid stents: a prospective duplex ultrasound study over 2 years. *J Vasc Surg* 2004;39:728-34.
84. Willfort-Ehringer A, Ahmadi R, Gschwandtner ME, et al. Healing of carotid stents: a prospective duplex ultrasound study. *J Endovasc Ther* 2003;10:636-42.
85. Yoshimura S, Kawasaki M, Yamada K, et al. Visualization of internal carotid artery atherosclerotic plaques in symptomatic and asymptomatic patients: a comparison of optical coherence tomography and intravascular ultrasound. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2012;33(2):308-313.
86. Zemřelí 2020, Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, <https://www.uzis.cz/res/f/008370/demozem2020.pdf>

## 10. Publikační činnost

### Publikace, které jsou podkladem pro tuto disertační práci:

- 1) Štěchovský C, Horváth M, Hájek P, Veselka J. Význam vulnerabilních aterosklerotických plátů a možnosti jejich detekce pomocí intravaskulární spektroskopie [Detection of vulnerable atherosclerotic plaque with near-infrared spectroscopy: a systematic review]. *Vnitr Lek.* 2014;60(4):375-379.
- 2) Štěchovský C, Hájek P, Horváth M, Špaček M, Veselka J. Near-infrared spectroscopy combined with intravascular ultrasound in carotid arteries. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2016;32(1):181-188. **(IF 1,896)**
- 3) Štěchovský C, Hájek P, Horváth M, Špaček M, Veselka J. Composition of carotid artery stenosis and restenosis: A series of patients assessed with intravascular ultrasound and near-infrared spectroscopy. *Int J Cardiol.* 2016;207:64-66. **(IF 6,189)**
- 4) Štěchovský C, Hájek P, Horváth M, Veselka J. Effect of stenting on the near-infrared spectroscopy-derived lipid core burden index of carotid artery plaque. *EuroIntervention.* 2019;15(3):e289-e296. **(IF 3,993)**
- 5) Štěchovský C, Hájek P, Roland R, Horváth M, Veselka J. Long-term changes after carotid stenting assessed by intravascular ultrasound and near-infrared spectroscopy. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2021;11(6):1180-1189. **(IF 2,845)**
- 6) Horváth M, Hájek P, Štěchovský C, Honěk J, Veselka J. Carotid artery plaque composition and distribution: near-infrared spectroscopy and intravascular ultrasound analysis. *Eur Heart J Suppl.* 2020;22(Suppl F):F38-F43. **(IF 1,803)**

### Publikace související s tématem disertační práce:

- 1) Veselka J, Špaček M, Hájek P, Horváth M, Štěchovský C, Zimolová P. Impact of single versus double vessel carotid disease on long-term survival in patients treated with carotid stenting. *Int J Cardiol.* 2014;176(3):1299-1300. **(IF 4,036)**
- 2) Horváth M, Hájek P, Štěchovský C, Honěk J, Veselka J. Intravascular Near-Infrared Spectroscopy: A Possible Tool for Optimizing the Management of Carotid Artery Disease. *Int J Angiol.* 2015;24(3):198-204. **(IF 0,682)**
- 3) Spacek M, Stechovsky C, Horvath M, Hajek P, Veselka J. Predicting Hemodynamic Changes of Cerebral Blood Flow during Temporal Carotid Occlusion: A Review of Current Knowledge with Implication for Carotid Artery Stenting. *Int J Angiol.* 2015;24(3):210-214. **(IF 0,682)**

- 4) Spacek M, **Stechovsky C**, Horvath M, Hajek P, Zimolova P, Veselka J. Evaluation of cerebrovascular reserve in patients undergoing carotid artery stenting and its usefulness in predicting significant hemodynamic changes during temporary carotid occlusion. *Physiol Res.* 2016;65(1):71-79. **(IF 1,461)**
- 5) Horvath M, Hajek P, Muller JE, Honek J, **Stechovsky C**, Spacek M, Veselka J. First-in-man near-infrared spectroscopy proof of lipid-core embolization during carotid artery stenting. *Arch Med Sci.* 2016;12(4):915-918. **(IF 1,969)**
- 6) Horvath M, Hajek P, **Stechovsky C**, Honek J, Spacek M, Veselka J. The role of near-infrared spectroscopy in the detection of vulnerable atherosclerotic plaques. *Arch Med Sci.* 2016;12(6):1308-1316. **(IF 1,969)**
- 7) Veselka J, Špaček M, Horváth M, **Štěchovský C**, Homolová I, Zimolová P, Hájek P. Impact of coexisting multivessel coronary artery disease on short-term outcomes and long-term survival of patients treated with carotid stenting. *Arch Med Sci.* 2016;12(4):760-5. **(IF 1,969)**
- 8) Veselka J, Hajek P, **Štěchovský C**, et al. Long-term survival of carotid stenting patients with regard to single- or double-vessel carotid artery disease: a propensity score matching analysis. *Arch Med Sci.* 2020;17(4):849-855. **(IF 3,318)**
- 9) **Štěchovský C**, Hulíková Tesárková K, Hájek P, Horváth M, Hansvenclová E, Veselka J. Comparison of 30-Day Outcomes after Carotid Artery Stenting in Patients with Near-Occlusion and Severe Stenosis: A Propensity Score Matching Analysis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2022;43(9):1311-1317. **(IF 4,966)**

## **11. Přílohy**

11.1. Publikace č.1: Význam vulnerabilních aterosklerotických plátů a možnosti jejich detekce pomocí intravaskulární spektroskopie.

11.2. Publikace č.2: Near-infrared spectroscopy combined with intravascular ultrasound in carotid arteries.

11.3. Publikace č.3: Composition of carotid artery stenosis and restenosis: A series of patients assessed with intravascular ultrasound and near-infrared spectroscopy.

11.4. Publikace č.4: Effect of stenting on the near-infrared spectroscopy-derived lipid core burden index of carotid artery plaque.

11.5. Publikace č.5: Long-term changes after carotid stenting assessed by intravascular ultrasound and near-infrared spectroscopy.

11.6. Publikace č.6: Carotid artery plaque composition and distribution: near-infrared spectroscopy and intravascular ultrasound analysis.