

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



# ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

# Α' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΟΜΩΝΥΜΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

# ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΗΣ ΤΟΥΣΟΥΛΗΣ

# ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Πειραματική μελέτη θερμικής ετερογένειας

αθηρωματικής πλάκας με την μέθοδο της ακτινομετρίας

μικροκυμάτων.

Συσχέτιση με την ενδοστεφανιαία θερμομέτρηση»

KAPMEN MAPIA MOANTOBAN

ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΣ

**AOHNA 2018** 

Στους γονείς μου,

που λόγω της χιλιομετρικής απόστασης που μας χωρίζει

δεν μπορούν να με καμαρώσουν

Στον Κωνσταντίνο,

Στη Μαρίνα,

Στην Εύα,

Με όλη μου την αγάπη!

### ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ

"Επειδή η διάσημος των Ιατρών Σχολή, του Πρυτάνεως επινεύσαντος ες τους εαυτοίς διδάκτορας δοκιμάσαι με καταξίωσιν, αυτή τε και τη Πρυτανηίη δημοσία την δε δίδωμι πίστιν.

Ηγήσθε με τους διδάξαντας με ταύτην την τέχνην, ίσα γενέτησιν εμοίσι, τη δε τέχνη μηδαμή επ΄ ευμαρίη χρήσεσθαι τη εμαυτού εν τω βίω, αλλ΄ εις δόξαν θεού και ανθρώπων σωτηρίην και της πίστεως αυτής τιμήν τε και όνησιν παν με ό,τι ιητρού έργον εστί, πιστώς και ακριβώς κατά δύναμιν και κρίσιν την εμήν επιτελέων, τοίσι δε νοσέουσιν, ήν τε πλούσιοι τυχώσιν όντες ην τε πένητες, ομοίη σπουδή την εκ τέχνης επαγινέων επικουρίην μηδέ, παραβόλως αποπειρώμενος την τεο ζόην αποκυβεύσειν μηδ΄ τητρεύσειν επί χρηματισμώ ή φάτιος ιμέρω.

Ες οικίας δε οκόσας αν εσίω, εσελεήσεσθαι επ΄ ωφελείη καμνόντων εκτός εών πάσης αδικίης. Α δ' αν εν θεραπηίη ή ίδω ή ακούσω ή και άνευ θεραπηίης κατά βίον ανθρώπων, ά μη μήποτε εκλαλέεσθαι έξω, σιγήσεσθαι άρρητα ηγευμένος τα τοιαύτα, της δε τέχνης επιμελήσεσθαι κατά δύναμιν σπουδήν πλείστην ποιευμένος ακριβώσαι ταύτης τα θέσμια.

Τοίσι δε ομοτέχνοισι φιλόφρονα και φιλάνθρωπον εμαυτόν αεί παρέξειν και σφέας αδελφοίσιν ίσον επικρινέοιν άρρεσι πάν σφι προθύμως συμβαλλόμενος εξ ότεο αν ωελίη γένοιτο τοίσι κάμνουσι. Ταύτην μοι την επαγγελίην επιτελέα ποιέοντι είη επαύρασθαι βίου και τέχνης και Θεόν κτήσασθαι αρηγόνα, παραβαίνοντι δε τανάντια τουτέων".





### Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής

Π. Σφηκάκης, Καθηγητής Παθολογίας

### Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

Φ. Σιγάλα, Επ. Καθηγήτρια Αγγειοχειρουργικής
Κ. Τούτουζας, Αν. Καθηγητής Καρδιολογίας
Γ. Φιλλιπάτος, Καθηγητής Καρδιολογίας
(αντί Χ. Στεφανάδη, Καθηγητή Καρδιολογίας)

### Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

- Φ. Σιγάλα, Επίκουρη Καθηγήτρια Αγγειοχειρουργικής
- Κ. Τούτουζας, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας
- Γ. Φιλλιπάτος, Καθηγητής Καρδιολογίας
- Δ. Τούσουλης, Καθηγητής Καρδιολογίας
- Ε. Βαβουρανάκης, Καθηγητής Καρδιολογίας
- Γ. Σιάσος, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας,
- Θ. Παπαϊωάνου, Αναπληρωτής Καθηγητής Βιοϊατρικής Τεχνολογίας

# ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	10
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	12
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	53
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	54
1. Αθηροσκλήρωση	54
1.1. Παθογένεια	55
1.2. Ιστολογία	63
1.3. Παθοφυσιολογία της ευάλωτης πλάκας	68
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	73
2. Τα πειραματικά μοντέλα κουνελιών με αθηροσκλήρωση	73
2.1. Το πειραματικό μοντέλο γενετικά τροποποιημένων κουνελιών με	
αθηροσκλήρωση (Watanabe Rabbit)	73
2.2. Η τεχνική Baumgartner	75
2.3. Η χρήση του μοντέλου των κουνελιών με αθηροσκλήρωση για την	
αξιολόγηση τεχνικών αγγειοπλαστικής	.76
2.4. Το μοντέλο των κουνελιών με αθηροσκλήρωση για την μελέτη των	
επιπτώσεων της φλεγμονής και της δίαιτας στην εξέλιξη της	
αθηρωμάτωσης	78
2.5. Τροποποιημένο μοντέλο για τη μελέτη του μηχανισμού ρήξης των	
αθηρωματικών πλακών	78

2.6. Η χρήση του μοντέλου των κουνελιών για την εκτίμηση του ρόλου των		
κρυστάλλων χοληστερόλης και της φλεγμονής στη ρήξη των αθηρωματικών		
πλακών		
<b>КЕФАЛАІО 3</b>		
3. Απεικόνιση της ευάλωτης πλάκας		
3.1. Επεμβατικές τεχνικές απεικόνισης89		
3.1.1. Ενδαγγειακός υπέρηχος - IVUS90		
3.1.2. Εικονική ιστολογία - VH-IVUS95		
3.1.3. Ενδαγγειακή Μαγνητική - IV-MRI98		
3.1.4. Φασματοσκοπία εγγύς υπερύθρου - NIRS100		
3.1.5. Οπτικής συνεκτική τομογραφία - ΟCT101		
3.1.6. Ενδαγγειακή Θερμομέτρηση - ΙVT116		
3.2. Μη επεμβατική απεικόνιση αθηρωματικής πλάκας124		
3.2.1. Αξονική Αγγειογραφία - CTA124		
3.2.2. Μαγνητική τομογραφία - MRI128		
3.2.3. Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET) και υβριδική απεικόνιση		
(Hybrid imaging)130		
3.2.4. Ακτινομετρία Μικροκυμάτων - MWR133		
3.2.4.1. Μεταφορά θερμότητας σε βιολογικό μοντέλο		
3.2.4.2. Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία από θερμά αντικείμενα135		
3.2.4.3. Διάδοση των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων εντός του σώματος136		
3.2.4.4. Κατασκευαστικά στοιχεία συσκευής		

3.2.4.5. Κλινικές μελέτες του RTM-01-RES system	139
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	140
1. Σκοπός πειραματικού πρωτοκόλλου	141
2. Μέθοδος	141
2.1. Πειραματόζωα	141
2.2. Απεικονιστικές τεχνικές	141
2.2.1 Μελέτη με OCT	142
2.2.2. Μετρήσεις με IVT	
2.2.3. Μετρήσεις με MWR	144
2.3. Ιστολογία	146
3. Στατιστική ανάλυση	148
4. Αποτελέσματα	148
4.1. Μετρήσεις Θερμοκρασίας	148
4.2. Ιστολογική ανάλυση	150
4.3. Ανοσοϊστοχημεία	154
5. Συζήτηση	157
6. Συμπεράσματα	168
ПЕРІЛНҰН	169
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	171

### ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στην Α΄ Καρδιολογική κλινική της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, στο «Ιπποκράτειο» Γ.Ν.Α, υπό την διεύθυνση του Καθηγητή κ. Χριστόδουλου Στεφανάδη και τον ευχαριστώ θερμά για την συμπάθεια που μου έδειξε, για την εμπιστοσύνη, για την αμέριστη βοήθειά και στήριξή του σε όλα τα στάδια της ειδικότητάς μου. Μπορώ να πω ότι ήμουν πολύ τυχερή που υπήρξα ειδικευόμενη κατά την διάρκεια της διεύθυνσης του.

Η μελέτη ολοκληρώθηκε υπό την Διεύθυνση του Καθηγητή κ. Δημητρίου Τούσουλη, στον οποίο θα ήθελα να εκφράσω την βαθιά μου ευγνωμοσύνη και να τον ευχαριστήσω θερμά για την ευκαιρία που μου έδωσε να φέρω εις πέρας και να παρουσιάσω τη διδακτορική μου διατριβή.

Στον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Τούτουζα, θα ήθελα να απευθύνω τις ολόθερμες ευχαριστίες μου για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση της διδακτορικής μου διατριβής, καθώς και για την υπομονή, την υποστήριξη και την εκτίμηση όλα αυτά τα χρόνια. Από την πρώτη κιόλας μέρα μου στο «Ιπποκράτειο» στάθηκε δίπλα μου με φιλικές συμβουλές, με έκανε να αισθάνομαι μέλος μιας ομάδας και με στήριξε στα πρώτα μου βήματα ως ειδικευόμενη. Αυτές οι εικόνες θα μείνουν χαραγμένες στο μυαλό μου.

Ευχαριστώ θερμά την Επίκουρη Καθηγήτρια Αγγειοχειρουργικής κα Φραγκίσκα Σιγάλα που δέχτηκε να είναι επιβλέπουσα καθηγήτρια της διατριβής μου, να με καθοδηγεί και να με συμβουλεύει σε όλα τα στάδια εκπόνησής της. Στον Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Εμμανουήλ Βαβουρανάκη οφείλω ευγνωμοσύνη για όλα όσα μου δίδαξε και για την πολύτιμη καθοδήγησή του. Με τα πλούσια πνευματικά προσόντα και το ήθος του, συνέβαλε στην διαμόρφωση και ολοκλήρωση του χαρακτήρα μου τόσο σε επαγγελματικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο και τον ευχαριστώ θερμά.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεράσιμο Σιάσο και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Θεόδωρο Παπαϊωάννου, αγαπημένους φίλους, για την αρωγή και τη συμπαράστασή τους στην προσπάθειά μου.

Ευχαριστίες οφείλω στην Καρδιολόγο κα Μαρία Δρακοπούλου, αγαπημένη μου φίλη, με την οποία πορευτήκαμε κάπως παράλληλα, ενίοτε με υγιή ανταγωνισμό, πάντα, όμως, με κοινούς στόχους και χωρίς ποτέ να υπάρξει αλλοίωση των συναισθημάτων εκτίμησης, αγάπης και σεβασμού. Την ευχαριστώ θερμά που μου πρόσφερε απλόχερα την βοήθειά της στην υλοποίηση της διατριβής μου.

Στην διενέργεια των πειραμάτων συμμετείχε και ο Καρδιολόγος κος Ανδρέας Συνετός, ο οποίος μου έδειξε για πρώτη φορά πως γίνονται οι επεμβατικές πράξεις και τον ευχαριστώ θερμά.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους αγαπημένους μου συναδέλφους κ. Κωνσταντίνο Καλογερά, κα Ουρανία Κατσαρού, κ. Δημήτριο Βραχάτη, κα Εβελίνα Μπέη, κ. Χαράλαμπο Καλαντζή, κα Μαρία Καριώρη, κ. Άγγελο Κολοκάθης, κα Μαρία Λάβδα, που στάθηκαν δίπλα μου, με στήριξαν και μαζί τους βρίσκουμε λύσεις για τα πάντα.

Κάρμεν Μαρία Μολντοβάν

2018

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

## 1. ΑΤΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: Κάρμεν Μαρία Μολντοβάν

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: 02/03/1975

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ: Bistrita, Ρουμανία

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ: Λουίζης Ριανκούρ 53,11523, Αθήνα

ΤΗΛΕΦΩΝΟ: 210 6926866, 210 6920561, 6945621462

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΥ ΤΑΧΥΔΡΟΜΕΙΟΥ: <u>carmen75mol@yahoo.com</u>

ΠΑΤΡΩΝΥΜΟ: Βασίλε Μολντοβάν

ΥΠΗΚΟΟΤΗΤΑ: Ελληνική

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ: Έγγαμη (Με δύο παιδιά)

#### 2. ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

04/2013 – 12/2018: Επικουρικός γιατρός καρδιολόγος στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών του Ιπποκρατείου Νοσοκομείου Αθηνών.

#### 3. ΣΠΟΥΔΕΣ ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΕΣ - ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ

**1989/1993**: Δίπλωμα μέσης εκπαίδευσης (Απολυτήριο) στο Λύκειο "Liviu Rebreanu" Bistrita, Ρουμανία με βαθμό 9,25/10.

**1993/1999**: Βασικές Ιατρικές σπουδές στο Πανεπιστήμιο Ιατρικής και Φαρμακευτικής "IULIU HATIEGANU" Cluj-Napoca, Ρουμανία, Ιατρική Σχολή με ειδίκευση Γενική Ιατρική. Μέσος όρος της εξέτασης πτυχίου 9.44/10.

**2000/2001**: Αγροτικό στο Νομαρχιακό Γενικό Νοσοκομείο της πόλης Bistrita, Ρουμανία.

06/ 2002: Αναγνώριση πτυχίου ιατρικής από το "ΔΙΚΑΤΣΑ", Αθήνα, Ελλάδα.

**2001/2003**: Παρακολούθηση στο Καρδιολογικό Τμήμα του Νοσοκομείου "ΚΑΤ", Αθήνα, Ελλάδα.

2003/2004: Ιατρός στην Ιδιωτική Παθολογική Κλινική "Αθηνά", Αθήνα, Ελλάδα.

03/2004 – 03/2006: Ειδίκευση στην Παθολογία που προαπαιτείται για την απόκτηση Τίτλου Ειδικότητας Καρδιολογίας στο ΓΝΑ "Σισμανόγλειο", Αθήνα, Ελλάδα.

**10/2006 -2011**: Ειδικευόμενη στην Α΄ Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθήνας ''Ιπποκράτειο''.

07/2011 – 09/2011: Κλινική Καρδιολογική Παρακολούθηση στο Νοσοκομείο Ronald Reagan UCLA Medical Center, USA.

09/2012: Απόκτηση τίτλου ειδικότητας καρδιολογίας. 12/2012/- 04/2014: Επιστημονικός Συνεργάτης της Α' Καρδιολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

12/2012 έως τώρα: Μέλος της Μονάδας Διαδερμικής αντιμετώπισης Δομικών παθήσεων της καρδιάς της Α΄ Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθήνας ''Ιπποκράτειο''.

06-07/09/2017: Συμμετοχή στο ''Transcatheter Mitral Valve Repair Program'' στις Βρυξέλλες, Βέλγιο.

**20-21 01/2018:** Συμμετοχή στο '' The dynamic cardiac biosimulator: A method for training physicians in beating-heart mitral valve repair procedures'' στο Αϊντχόφεν, Ολλανδία.

**2011- έως τώρα**: Εμπειρία στην Διαδερμική αντιμετώπιση δομικών παθήσεων της καρδίας. Συμμετοχή στο «HeartTeam» για την αντιμετώπιση Δομικών Παθήσεων της Καρδιάς μέσα στα πλαίσια λειτουργίας της Μονάδας Διαδερμικής αντιμετώπισης Δομικών παθήσεων της καρδιάς (βαλβιδοπάθειες, μεσοκολπικά ελλείματα, ανοιχτός βοττάλειος πόρος). Μέσα από αυτή την συμμετοχή έχω αποκτήσει εμπειρία στην επιλογή των κατάλληλων ασθενών με δομικές παθήσεις της καρδίας οι οποίοι υποβάλλονται σε διαδερμικές επεμβάσεις. Διενεργώ τον προ-

επεμβατικό έλεγχο των ασθενών συμπεριλαμβανομένων των ειδικών υπερηχοκαρδιογραφικών μετρήσεων και τον έλεγχο των αποτελεσμάτων των απεικονιστικών εξετάσεων για επιβεβαίωση της καταλληλόλητας τους. Τα τελευταία χρόνια συμμετέχω ως χειρίστρια του δια-επεμβατικού διοισοφαγείου υπερηχογράφου σε επεμβάσεις ασθενών με δομικές ανωμαλίες της καρδίας οι οποίοι υποβάλλονται σε διαδερμική εμφύτευση αορτικής βαλβίδας (TAVI), διαδερμική τοποθέτηση Mitral Clip για την αντιμετώπιση ανεπάρκειας της μιτροειδούς βαλβίδας, διακορυφαία εμφύτευση νέων χορδών (Neochord) για την αντιμετώπιση ανεπάρκειας της μιτροειδούς βαλβίδας, διαδερμική σύγκλειση παραβαλβιδικών ανεπαρκειών, μεσοκολπικών επικοινωνιών στο ΓΝΑ Ιπποκράτειο.

#### 4. ΣΥΜΜΕΤΟΧΕΣ

Romanian Medical Association Πανελλήνιος Ιατρικός Σύλλογος Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών Ελληνική Καρδιολογική Εταιρία

### 5. ΓΕΝΙΚΑ

Γλώσσες: Ρουμανικά, Ελληνικά, Αγγλικά (Certificate of Competition in English Michigan)
Microsoft Office Specialist Master (2008)
Advanced Life Support Course from European Resuscitation Council (2009)
Knowledge of SPSS statistical program

Certificate of completion of Good Clinical Practice and Regulatory Requirements for Clinical Trial.

### 6. ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ

Ερευνητής στην GLAGOV μελέτη "GLobal Assessment of Plaque reGression
 With a PCSK9 antibOdy as Measured by intraVascular Ultrasound" (code :20120153).

• Ερευνητής στην **RE-DUAL PCI** μελέτη "Evaluation of Dual Therapy With Dabigatran vs. Triple Therapy with Warfarin in Patients with AF That Undergo a PCI with Stenting (REDUAL-PCI)" (code:1160.186).

- Ερευνητής στην OLE μελέτη "Extension (OLE) Study to Assess Safety and Efficacy of Evolocumab" (code :20140128).
- Ερευνητής στην **HYDRA** μελέτη "A Clinical Evaluation of the HYDRA Self Expanding Transcatheter Aortic Valve" (Protocol: VI-CL-HYDRA-02).

• Ερευνητής στην **PTOLEMAIOS** μελέτη "A Prospective, Multicenter, Randomized, Open Label, Blinded Endpoint, Phase 3 Study to Assess the Safety and Efficacy of Prophylactic Ticagrelor with Acetylsalicylic Acid versus Clopidogrel with Acetylsalicylic Acid in the Development of Cerebrovascular Embolic Events during Transcatheter Aortic Valve Implantation (TAVI) Operations "(code: D5130C00173). Συμμετοχή στην σχεδίαση και οργάνωση της Greek Core Valve-Medtronic
 Registry, πολυκεντρικής μελέτης καταγραφής περιστατικών διαδερμικής
 εμφύτευσης αορτικής βαλβίδας CoreValve στον ελλαδικό χώρο.

### 7. BPABEIA

28° Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιολογίας, Αθήνα 2007

**Γ' Βραβείο** καλύτερης ερευνητικής ανακοίνωσης με τίτλο: «Μελέτη της νεοαγγείωσης σε αθηρωματικές πλάκες των καρωτίδων μέσω αρμονικής υπερηχογραφίας και έγχυσης μικροφυσαλίδων αντίθεσης». Παπαϊωάννου Θ., Βαβουρανάκης Μ., Ανδρουλάκηs Α., Λάζαρος Γ., **Moldovan K.**, Βλασερός Ι., Καλλικάζαρος Ι., Στεφανάδης Χ.

1° Πανελλήνιο Συνέδριο Θρόμβωσης-Αντιθρομβωτικής Αγωγής, 12-13
 Απριλίου 2013, Αθήνα.

Α' Βραβείο καλύτερης ερευνητικής ανακοίνωσης με τίτλο: « Συσχέτιση της ανταπόκρισης των αιμοπεταλίων στην κλοπιδογρέλη με την επιτευχθείσα μυοκαρδιακή αιμάτωση και τα μακροχρόνια κλινικά συμβάματα σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε καθυστερημένη πρωτογενή διαδερμική στεφανιαία επέμβαση για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του ST: Κ. Καλογεράς, Ε. Βαβουρανάκης, Ν. Δαγρές, Μ. Καριώρη, Δ. Βραχάτης, Ε. Κόκκου, Κ. Μολντοβάν, Ρ. Κατσαρού.

#### 8. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

# Α. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΑΠΗΧΗΣΗΣ ΕΝΤΟΣ PUBMED: No.30

1.Vavuranakis M., Voudris V., Vrachatis D., Thomopoulou S., Toutouzas K., Karavolias G., Tolios I., Sbarouni E., Lazaros G., Chrysohoou C., Khoury M., Brili S., Balanika M., **Moldovan C.**, Stefanadis C. Transcatheter aortic valve implantation, patient selection process and procedure: two centers' experience of the intervention without general anaesthesia. Hellenic J Cardiol. 2010 Nov-Dec;51(6):492-500.

2. Vavuranakis M., Vrachatis D., Papaioannou T., Archontakis S., Kalogeras K., Kariori M., Gafou A., **Moldovan C.,** Tzamalis P., Stefanadis C. Residual platelet reactivity after clopidogrel loading in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing an unexpectedly delayed primary percutaneouscoronary intervention: impact on intracoronary thrombus burden and myocardial perfusion. Circ J. 2011 Aug 25;75(9):2105-12. Epub 2011 Jun 28.

3. Toutouzas K, Grassos H, Synetos A, Drakopoulou M, Tsiamis E, **Moldovan C**, Agrogiannis G, Patsouris E, Siores E, Stefanadis C. A new noninvasive method for detection of local inflammation in atherosclerotic plaques. Experimental application of microwave radiometry. Atherosclerosis. Atherosclerosis 215 (2011) 82–89.

4. Vavuranakis M., Kalogeras K., Vrachatis D., Kariori M., **Moldovan C.,** Stefanadis C. CoreValve deployment during cardiopulmonary resuscitation without angiographic injections guidance. An additional capability of Accutrak system? International Journal of Cardiology. Int J Cardiol. 2011 Nov 9.

5. Vavuranakis M., Kariori M., Kalogeras K., **Moldovan C.**, Vrachatis D., Tousoulis D., Stefanadis C. Biomarkers as a guide of medical treatment in cardiovascular diseases. Current medicinal chemistry 2012; 19 (16).

6. Vavuranakis M., Vrachatis D., Boudoulas H., Papaioannou T., **Moldovan C.,** Kariori M., Kalogeras K., Pietri P., Tentolouris C., Stefanadis C. Effect of transcatheter aortic valve implantation on the ascending aorta's elasticity. Clinical Research in Cardiology 2012; 101 (11) pp. 895-899.

Vavuranakis M., Kalogeras K., Vrachatis D., Kariori M., Voudris V., Aznaouridis K., Moldovan C., Vaina S., Lazaros G., Masoura K., Thomopoulou S., Stefanadis C. Inferior epigastric artery as a landmark for transfemoral TAVI. Optimizing vascular access? Catheter Cardiovasc Interv. 2013; 81 (6) pp. 1061-1066.

8. Manolis Vavuranakis, Konstantinos I. Kalogeras, Dimitrios A. Vrachatis, Maria G. Kariori, Konstantinos Aznaouridis, **Carmen Moldovan**, Christodoulos Stefanadis, A Modified Technique to Safely Close the Arterial Puncture Site After TAVI. J Invasive Cardiol 2013;25(1):45-47.

8. Vavuranakis M., Kariori M., Vrachatis D., Aznaouridis C., Kalogeras K., **Moldovan C.,** Stefanadis, C. "Balloon withdrawal technique" to correct prosthesis malposition and treat paravalvular aortic regurgitation during TAVI. J Invasive Cardiol. 2013 Apr;25(4):196-7.

Vavuranakis M., Kariori M., Kalogeras K., Vrachatis D., Moldovan C., Tousoulis D., Stefanadis C. Refractory angina pectoris: Lessons from the past and current perspectives. Curr Pharm Des. 2013;19(9):1658-72.

10. Vavuranakis M., Kariori M., Voudris V., Thomopoulou S., Aznaouridis K., Kalogeras K., Vrachatis D., **Moldovan C.,** Dima I., Milkas A., Tousoulis D., Stefanadis C. Troponin levels after TAVI are related to the development of distinct electrocardiographic changes. Int J Cardiol. 2013 Jul 31;167(2):606-8.

Vavuranakis M., Kariori M., Vrachatis D., Aznaouridis K., Siasos G., Kokkou
 Mazaris S., Moldovan C., Kalogeras K., Tousoulis D., Stefanadis C.
 MicroRNAs in aortic disease. Curr Top Med Chem. 2013;13(13):1559-72.

12. Vavuranakis M., Kariori M., Voudris V., Kalogeras K., Vrachatis D., Aznaouridis C., **Moldovan C.**, Masoura C., Thomopoulou S., Lazaros G., Stefanadis C. Predictive factors of vascular complications after transcatheter aortic valve implantation in patients treated with a default percutaneous strategy. Cardiovasc Ther. 2013 Oct;31(5): e46-54.

 Vavuranakis M., Kariori M., Voudris V., Thomopoulou S., Vrachatis D., Aznaouridis K., Moldovan C., Stefopoulos C., Kalogeras K., Dima I., Antonakis V., Mpounas P., Lavda M., Tousoulis D., Stefanadis C. Impact of inflammatory process on left ventricular recovery after Transcatheter Aortic Valve Implantation. Int J Cardiol. 2013 Oct 9;168(4):e118-20. Epub 2013 Aug 16. 14. Vavuranakis M., Kariori M., Aznaouridis K., **Moldovan C.**, Kalogeras K., Stefanadis C. "String sign": a mismatch of currently available self-expandable valve and the annulus sizing? Int J Cardiol. 2014 Feb 1;171(2):e28-30. Epub 2013 Dec 9.

15. Vavuranakis M., Kalogeras K., Dagres N., Kariori M., Vrachatis D., **Moldovan** C., Lavda M., Mpei E., Androulakis A., Siasos G., Tousoulis D., Stefanadis C. Residual platelet reactivity after clopidogrel loading in ST-elevation myocardial infarction patients undergoing a delayed catheterization. Impact on long term clinical events. Int J Cardiol. 2014 Oct 20;176(3):1292-3. Epub 2014 Aug 4.

Vavuranakis M., Vrachatis D., Kariori M., Moldovan C., Kalogeras K., Lavda
 M., Aznaouridis K., Stefanadis C. TAVI in the case of preexisting mitral prosthesis:
 tips & tricks and literature review. J Invasive Cardiol. 2014 Nov;26(11):609-13.

17. Vavuranakis M., Kalogeras K., **Moldovan C.**, Vaina S., Vrachatis D., Kariori M., Mpei E., Tousoulis D., Stefanadis C. Percutaneous closure of a large ascending aorta pseudoaneurysm due to mediastinitis using an amplatzer occluder device. JACC Cardiovasc Interv. 2015 Mar;8(3):495-7. Epub 2015 Feb 18.

 Vavuranakis M., Kalogeras K., Vrachatis D., Kariori M., Moldovan C., Mpei
 E., Lavda M., Kolokathis A., Siasos G., Tousoulis D. Antithrombotic therapy in patients undergoing TAVI with concurrent atrial fibrillation. One center experience.
 J Thromb Thrombolysis. 2015 Aug;40(2):193-7.

Vavuranakis M., Vrachatis D., Siasos G., Aznaouridis K., Vaina S., Moldovan
 C., Kalogeras K., Kariori M., Bei E., Papaioannou T., Vavuranakis M., Kolokathis

A., Stefanadis C., Tousoulis D. Managing complications in transcatheter aortic valve implantation. Hellenic J Cardiol. 2015;56 Suppl A:20-30. Review.

20. Vavuranakis M., Kariori M., Vrachatis D., Siasos G., Kalogeras K., Bei E., **Moldovan C.**, Lavda M., Aznaouridis K., Oikonomou E., Tousoulis D. Novel Inflammatory Indices in Aortic Disease. Curr Med Chem. 2015;22(23):2762-72. Review.

21. Vavuranakis M., Vrachatis D., Siasos G., Vaina S., Filis K., Sigala F., Kalogeras K., Kolokathis A., **Moldovan C.,** Papaioannou T., Aggeli C., Tousoulis D. First in Greece Transcatheter Aortic Valve Implantation using the CoreValve Evolut-R Retrievable and Repositionable Bioprosthesis with the InLine Sheath and the EnVeo Loading Guiding Catheter: A Major Advantage for Small Diameter Access Vessels. Hellenic J Cardiol. 2015 Jul-Aug;56(4):338-43.

22. Vavuranakis M., Siasos G., Zografos T., Oikonomou E., Vrachatis D., Kalogeras K., Papaioannou T., Kolokathis A., **Moldovan C.**, Tousoulis D. Dual or single antiplatelet therapy after transcatheter aortic valve implantation? A systematic review and meta-analysis. Curr Pharm Des. 2016 Jun 1.

23. Thomopoulou S., Vavuranakis M., Karyofyllis P., Kariori M., Karavolias G., Balanika M., Smyrli A., Stefopoulos C., Sbarouni E., **Moldovan C.**, Khoury M., Stefanadis C., Voudris V. Four-year clinical results of transcatheter self-expanding Medtronic CoreValve implantation in high-risk patients with severe aortic stenosis. Age Ageing. 2016 May;45(3):427-30. Epub 2016 Mar. 24. Manolis Vavuranakis, Konstantinos Kalogeras, Maria Lavda, Michail-Aggelos Kolokathis, Theodoros Papaioannou, Euaggelos Oikonomou, Mursini Stasinopoulou, Dimitrios Vrachatis, **Carmen Moldovan**, Maria Kariori, Evelina Bei, Sophia Vaina, Georgios Lazaros, Ourania Katsarou, Gerasimos Siasos, Dimitrios Tousoulis. Correlation of CoreValve Implantation 'true cover index' with short and mid-term aortic regurgitation; A novel index. Int J Cardiol. 2016 Aug 7;223:482-487.

25. Vavuranakis M., Kalogeras K., Lozos V., Aznaouridis K., Aggeli K., **Moldovan C.**, Kalantzis C., Siasos G., Koufakis N., Tousoulis D. Transapical closure of multiple mitral paravalvular leaks with dual device deployment through a single sheath. A Heart Team job. Hellenic J Cardiol. 2018 Jan 31.

26. Vavuranakis M., Kalogeras K., Kolokathis A., Vrachatis D., Magkoutis N., Siasos G., Oikonomou E., Kariori M., Papaioannou T., Lavda M., **Moldovan C.**, Katsarou O., Tousoulis D. Antithrombotic therapy in TAVI. J Geriatr Cardiol. 2018 Jan;15(1):66-75.

27. Vavuranakis M., Kariori M., Scott L., Kalogeras K., Siasos G., Vrachatis D., Lavda M., Kalantzis C., Vavuranakis M., Bei E., **Moldovan** C., Oikonomou E., Stefanadis C., Tousoulis D."Impact of "high" implantation on functionality of self-expandable bioprosthesis during the short- and long-term outcome of patients who undergo TAVI. Is high implantation beneficial?" Cardiovasc Ther. 2018 Apr 2:e12330.

28. Drakopoulou M., **Moldovan C.**, Toutouzas K., Tousoulis D. The role of microwave radiometry in carotid artery disease. Diagnostic and clinicalprospective. Curr Opin Pharmacol. 2018 Apr 6;39:99-104.

29. Schizas D., Kariori M., Boudoulas K., Siasos G., Patelis N., Kalantzis C., **Moldovan C.**, Vavuranakis M.''Management of antithrombotic therapy in patients with coronary artery disease or atrial fibrillation who underwent abdominal surgical operations'' Curr Pharm Des. 2018 Apr 2.

# **Β.** ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΧΩΡΙΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΑΠΗΧΗΣΗΣ ΕΝΤΟΣ PUBMED: No. 1

1. Vavuranakis M., Vrachatis D., Siasos G., Aznaouridis K., Vaina S., **Moldovan C.**, Kalogeras K., Kariori M., Bei E., Papaioanou T., Vavuranakis M., Kolokathis A., Stefanadis C., Tousoulis D. Managing Complications in Transcatheter Aortic Valve Implantation. Hellenic Journal of Cardiology 2015; 56 (Suppl A): 20-30.

#### Γ. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΕΚΤΟΣ PUBMED: No. 1

1. Vavuranakis M., Kalogeras K., **Moldovan C.**, Katsarou O., Stefanadis C. Coronary rupture after stent deployment in a patient under chronic immunosuppressive therapy. Journal of Cardiology Cases Volume 6, Issue 5, Pages e145-e149, November 2012. Δ. ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΩΝ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ/ΒΙΒΛΙΑ ΧΩΡΙΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΑΠΗΧΗΣΗΣ ΕΚΤΟΣ PUBMED

Μολντοβάν Κάρμεν, Εμμανουήλ Βαβουρανάκης. Ανωμαλίες του μεσοκολπικού διαφράγματος. Διάγνωση και θεραπεία. Καρδιολογικά θέματα (2009).

Μολντοβάν Κάρμεν, Δ. Βραχάτης, Εμμανουήλ Βαβουρανάκης.΄
 Επεμβατική καρδιολογία πέραν της στεφανιαίας νόσος. Καρδιολογικά θέματα (2010).

**3. Μολντοβάν Κάρμεν**, Εμμανουήλ Βαβουρανάκης. Μεσοκολπικές Επικοινωνίες και κλινικά σύνδρομα. Καρδιολογική Γνώμη (2011) 6 (1):35-40.

4. Ε. Βαβουρανάκης, Δ. Βραχάτης, Γ. Σιάσος, Κ. Αζναουρίδης, Σ. Βαϊνά, Κ.
Μολντοβάν, Κ. Καλογεράς, Μ. Καριώρη, Ε. Μπέη, Θ. Παπαϊωάννου, Δ.
Τούσουλης, Χ. Στεφανάδης. Διακαθετηριακή τοποθέτηση αορτικής βαλβίδας:
Επιπλοκές και αντιμετώπιση. Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση 2014,
Supplements: Διακαθετηριακές Θεραπείες Βαλβίδων: 25-35.

5. Μ. Βαβουρανάκης, Κ. Καλογεράς, Κ. Μολντοβάν, Α.Μ. Κολοκάθης, Μ. Λάβδα, Δ. Βραχάτης, Μ. Καριώρη, Ε. Μπέη, Σ. Βαινά, Γ. Σιάσος, Ε. Οικονόμου, Δ. Τούσουλης. Διακαθετηριακή αντιμετώπιση δομικών παθήσεων της καρδιάς. Σύγχρονη καρδιολογία 2015.

6. Μ. Καριώρη, Κ. Μολντοβάν, Μ. Βαβουρανάκης. Μεσοκολπικές Επικοινωνίες και Κλινικά Σύνδρομα. Προσέγγιση του ασθενούς με κρυπτογενές ισχαιμικό ΑΕΕ και ανοικτό ωοειδές τρήμα. STROKE, Βέμμος 2018.

#### 9. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

#### <u>Α. Ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια (No. 125)</u>

#### American Heart Association Annual Scientific Sessions (No: 2)

Also published in Circulation (IF= 17,047)

1. Manolis Vavuranakis, Dimitrios A. Vrachatis, Theodore G. Papaioannou, Stefanos Archontakis, Konstantinos I. Kalogeras, Maria Kariori, Anthi Gafou, **Carmen Moldovan**, Panagiotis Tzamalis, Christodoulos Stefanadis. Correlation Between Intracoronary Thrombus Burden and Residual Platelet Inhibition After Clopidogrel Loading in Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction Undergoing Unexpectedly-Delayed Primary Percutaneous Coronary Intervention. American Heart Association's Scientific Sessions 2011 in Orlando, Florida, USA, 12-16 November2011. Circulation. 2011;124:A14680.

K. Toutouzas, A. Synetos, M. Drakopoulou, C. Grassos, E. Tsiamis, C.
 Moldovan, D. Tousoulis, G. Agrogiannis, E. Patsouris, E. Siores, C. Stefanadis.
 Microwave Radiometry for the Detection of Local Inflammatory Activation in
 Atherosclerotic Plaques: A New Non-Invasive Method. Circulation. 2010;
 122(21): A15140.

Annual Scientific Sessions of the American College of Cardiology (No: 10)

Also published in Journal of the American College of Cardiology (IF=17,759)

1. K. Toutouzas, H. Grassos, A. Synetos, M. Drakopoulou, E. Tsiamis, C. Moldovan, G. Agrogiannis, E. Patsouris, E. Siores, C. Stefanadis. A New Non-Invasive Method for Detection of Local Inflammation in Atherosclerotic Plaques: Experimental Application of Microwave Radiometry. Journal of the American College of Cardiology; 2011 Mar;215(1):82-9.

2. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Dimitrios Vrachatis; Maria Kariori; Konstantinos Aznauridis; **Carmen Moldovan**; Konstantina Masoura; Georgios Lazaros; Ourania Katsarou; Christodoulos Stefanadis. Using Inferior Epigastric Artery for Vascular Access Optimization During Transcatheter Aortic Valve Implantation. J Am Coll Cardiol. 2012;60.

3. M. Kariori, M. Vavuranakis, **C. Moldovan**, V. Voudris, D. Vrachatis, K. Kalogeras, S. Thomopoulou, T. Papaioannou, K. Tzannos, G. Lazaros, Ch. Stefanadis. Distinct electrocardiographic changes in patients with increased Troponin-I levels after TAVI. J Am Coll Cardiol. 2012;59.

4. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Ioannis Vlasseros; Maria Kariori; Dimitrios Vrachatis; **Carmen Moldovan**; Vicky Katsi; Stylianos Veioglanis; Ioannis Kallikazaros; Christodoulos Stefanadis. Early Changes of Left Ventricle Deformation Indices After Transcatheter Aortic Valve Implantation. A Speckle Tracking Echocardiographic Study. J Am Coll Cardiol. 2012;60.

5. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Maria Kariori; Dimitrios A. Vrachatis; **Carmen Moldovan**; Evangelia Bei; Maria Lavda; Gerasimos Siasos; Christodoulos Stefanadis. Correlation of Corevalve Implantation Depth with The Observed Post-Implantation Aortic Regurgitation andIts Impact On Necessity for Additional Intra-Procedural Techniques. J Am Coll Cardiol. 2014;64.

6. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Nikolaos Dagres; Maria Kariori; Maria Lavda; **Carmen Moldovan**; Evangelia Bei; Dimitrios A. Vrachatis; Christodoulos Stefanadis. Correlation Between Residual Platelet Reactivity After Clopidogrel Loading and Long Term Major Adverse Outcome Among STEMI Patients Undergoing Delayed Primary Percutaneous Coronary Intervention. J Am Coll Cardiol. 2014;64.

7. Manolis Vavuranakis; Dimitrios A. Vrachatis; Angelos-Michail Kolokathis; Konstantinos Kalogeras; Theodoros Papaioannou; Maria Lavda; Evangelia Bei; Maria Kariori; **Carmen Moldovan**; Sophia Vaina; Euaggelos Oikonomou; Gerasimos Siasos; Dimitrios Tousoulis. Atrial Septal Occlusion: Atrial Disks' Deformation Is Independent of Waist Deformation. J Am Coll Cardiol. 2015; 66.

8. Gerasimos Siasos, Manolis Vavuranakis, Eleni Kokkou, Maria Kariori, Mary Lavda, Sophia Vaina, **Carmen Moldovan**, Konstantinos Kalogeras, Evangelia Bei, Dimitrios Vrachatis, Konstantinos Mourouzis, Christodoulos I Stefanadis, Dimitris Tousoulis. The Impact of Inflammation on Reflected Waves After Transcatheter Aortic Valve Implantation.J Am Coll Cardiol. 2015; 65.

9. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Myrsini Stasinopoulou;

Mary Lavda; Angelos-Michail Kolokathis; Dimitrios Vrachatis; Maria Kariori; **Carmen Moldovan**; Evangelia Bei; Sophia Vaina; Gerasimos Siasos; Evangelos Oikonomou; Dimitris Tousoulis. Correlation of CoreValve implantation "true index" with short and mid- term aortic regurgitation: implantation depth really matters. J Am Coll Cardiol. 2016; 67.

10. Eirini Dri, Manolis Vavuranakis, Maria Kariori, Gerasimos Siasos, Konstantinos Kalogeras, Charalampos Kalantzis, **Carmen-Maria Moldovan**, Evangelia Bei, Angel Michail Kolokathis, Evangelos Oikonomou, Dimitrios Tousoulis. Can we trust Aortic Valve Area fusion as gold standard method in symptomatic patients with severe aortic stenosis.? Interventional Cardiology 2018.

# Annual Scientific Sessions of the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. (No: 15)

1. Manolis Vavuranakis, Dimitrios Vrachatis, **Carmen Moldovan**, Maria Kariori, Konstantinos Toutouzas, Elias Sanidas, Stella Brilli, Christina Chrysochoou, Theodore Papaioannou, Panagiotis Tzamalis, Ourania Katsarou, Christodoulos Stefanadis. Correction of Prosthesis' Malpostitioning During Transcatheter Aortic Valve Implantation with Core Valve. The Society for Cardiovascular Angiography and Interventions '34<sup>th</sup> Annual Scientific Sessions in Baltimore, Maryland, USA, 4-7 May 2011. Catheterization and Cardiovascular Interventions 2011;77(S1): S138-9: E-024.

2. Manolis Vavuranakis, Dimitrios Vrachatis, Carmen Moldovan, Maria

Kariori, Konstantinos Toutouzas, Christina Chrysochoou, George Lazaros, Stella Brilli, Panagiotis Tzamalis, Ourania Katsarou, Theodore Papaioannou, Christodoulos Stefanadis. Transcatheter Aortic Valve Implantation with the Core Valve Prosthesis: One Center Experience. The Society for Cardiovascular Angiography and Interventions '34<sup>th</sup> Annual Scientific Sessions in Baltimore, Maryland, USA, 4-7 May 2011. Catheterization and Cardiovascular Interventions 2011;77(S1): S138.

3. M.Vavuranakis, K.Kalogeras, D.Vrachatis, M.Kariori, V.Voudris, C. Moldovan, K.Aznaouridis, S.Vaina, G.Lazaros, K.Masoura, S.Thomopoulou, Ch. Stefanadis. Inferior Epigastric Artery as a Landmark for TransfemoralTranscatheter Aortic Valve Implantation with CoreValve. The Society for Cardiovascular Angiography and Interventions 35th Annual Scientific Sessions in Las Vegas, Nevada, USA, 9-12 May 2012. Catheterization and Cardiovascular Interventions 2012;79(S1): S95-96.

4. M.Vavuranakis, M. Kariori, V. Voudris, D. Vrachatis, K. Kalogeras, C. Moldovan, S. Thomopoulou, K. Masoura, K. Aznaouridis, G. Lazaros, S. Vaina, Ch. Stefanadis. Predictive Factors of Access Site Vascular Complications After TAVI in Patients Treated with a Default Percutaneous Strategy. Experience with the Prostar Closure Device. The Society for Cardiovascular Angiography and Interventions 35th Annual Scientific Sessions in Las Vegas, Nevada, USA, 9-12 May 2012. Catheterization and CardiovascularInterventions 2012;79(S1): S97: C-012.

5. M.Vavuranakis, M. Kariori, C. Moldovan, V. Voudris, D. Vrachatis, K. Kalogeras, Theodore Papaioannou, S. Thomopoulou, K. Tzannos, G. Lazaros, Ch. Stefanadis, D. Vrachatis, T. Papaioannou, K. Tzannos, G. Lazaros, Ch. Stefanadis. Patients with Increased Troponin I Levels After TAVI Manifested Distinct Electrocardiographic Changes. The Society for Cardiovascular ranscatheter Aortic Valve Implantation. A Speckle Tracking Echocardiographic Study. J Am Coll Cardiol. 2012;60.

6. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Maria Kariori; Dimitrios A. Vrachatis; **Carmen Moldovan**; Evangelia Bei; Maria Lavda; Gerasimos Siasos; Christodoulos Stefanadis. Correlation of Corevalve Implantation Depth with The Observed Post-Implantation Aortic Regurgitation andIts Impact On Necessity for Additional Intra-Procedural Techniques. J Am Coll Cardiol. 2014;64.

7. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Nikolaos Dagres; Maria Kariori; Maria Lavda; **Carmen Moldovan**; Evangelia Bei; Dimitrios A. Vrachatis; Christodoulos Stefanadis. Correlation Between Residual Platelet Reactivity After Clopidogrel Loading and Long Term Major Adverse Outcome Among STEMI Patients Undergoing Delayed Primary Percutaneous Coronary Intervention. J Am Coll Cardiol. 2014;64.

8. Manolis Vavuranakis; Dimitrios A. Vrachatis; Angelos-Michail Kolokathis; Konstantinos Kalogeras; Theodoros Papaioannou; Maria Lavda; Evangelia Bei; Maria Kariori; **Carmen Moldovan**; Sophia Vaina; Euaggelos Oikonomou; Gerasimos Siasos; Dimitrios Tousoulis. Atrial Septal Occlusion: Atrial Disks' Deformation Is Independent of Waist Deformation. J Am Coll Cardiol. 2015; 66.

9. Gerasimos Siasos, Manolis Vavuranakis, Eleni Kokkou, Maria Kariori, Mary Lavda, Sophia Vaina, **Carmen Moldovan**, Konstantinos Kalogeras, Evangelia Bei, Dimitrios Vrachatis, Konstantinos Mourouzis, Christodoulos I Stefanadis, Dimitris Tousoulis. The Impact of Inflammation on Reflected Waves After Transcatheter Aortic Valve Implantation.J Am Coll Cardiol. 2015; 65.

10. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Myrsini Stasinopoulou; Mary Lavda; Angelos-Michail Kolokathis; Dimitrios Vrachatis; Maria Kariori; **Carmen Moldovan;** Evangelia Bei; Sophia Vaina; Gerasimos Siasos; Evangelos Oikonomou; Dimitris Tousoulis. Correlation of CoreValve implantation "true index" with short and mid- term aortic regurgitation: implantation depth really matters. J Am Coll Cardiol. 2016; 67(13\_S):125-125.

11. Eirini Dri,Manolis Vavuranakis,Maria Kariori,Gerasimos Siasos, Angiography and Interventions, 35th Annual Scientific Sessions in Las Vegas, Nevada, USA, 9-12 May 2012. Catheterization and CardiovascularInterventions 2012;79(S1).

12. Manolis Vavuranakis, Konstantinos Kalogeras, DimitriosVrachatis, Maria Kariori, Vasilios Voudris, Konstantinos Aznaouridis, **Carmen Moldovan**, Sophia Vaina, Georgios Lazaros, Konstantina Masoura, Sophia Thomopoulou, Christodoulos Stefanadis. Inferior epigastric artery as a landmark for transfemoral transcatheter aortic valve implantation with CoreValve. SCAI 2012, Las Vegas, 9-12 May 2012. 13. Manolis Vavouranakis, Maria Kariori, Konstantinos Kalogeras, Konstantinos Aznaouridis, **Carmen Moldovan**, Dimitrios Vrachatis, Maria Lavda, Evelina Bei, Christodoulos Stefanadis Acute changes of inflammatory indices after TAVI. SCAI 2013.

 Manolis Vavuranakis, Maria Kariori, Gerasimos Siasos, Konstantinos Kalogeras Dimitrios Vrachatis, Maria Lavda, Evelina Bei, Aggelos Kolokathis,
 Carmen Moldovan, Dimitrios Tousoulis. Inflammatory Process Influences Both Short- And Long-Term Outcome of Transcatheter Aortic Valve Implantation. SCAI 2015.

15. Manolis Vavuranakis, Maria Kariori, Vassilis Voudris, Gerasimos Siasos, Dimitrios Vrachatis, Konstantinos Kalogeras, Sophia Thomopoulou, Maria Lavda, Evelina Bei, Aggelos Kolokathis, **Carmen Moldovan**, Dimitrios Tousoulis. How does "high" implantation affect short and long-term outcome of patients that undergo Transcatheter Aortic valve implantation? SCAI 2011.

#### **Transcatheter Cardiovascular Therapeutics (No:16)**

Also published inJournal of American College of Cardiology (IF=17,759)

1. Manolis Vavuranakis, **Carmen Moldovan**, Maria Kariori, Dimitris Brachatis, Konstantinos Tzannos, Theodore Papaioannou, Kostas Kalogeras, Giorgos Lazaros, Christodoulos Stefanadis. Myocardial Injury and Electrocardiographic Changes Following Transcatheter Aortic Valve Implantation. Transcatheter Cardiovascular Therapeutics in San Francisco, USA, 7-11November 2011. J Am Coll Cardiol (Supplement)2011;JACC Vol 58/20/Suppl B TCT-778. 2. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, M. Kariori, K. Aznaouridis, C. Moldovan, K. Masoura, G. Lazaros, E. Gravia, C. Stefanadis. Using inferior epigastric artery for vascular access optimization during TAVI. (TCT-S17). Transcatheter Cardiovascular Therapeutics (TCT) Mediterranean in Limassol, Cyprus. 4-5 May 2012.

3. M.Vavuranakis, K. Kalogeras, I. Vlasseros, M. Kariori, D. Vrachatis, C. Moldovan, V. Katsi, I. Kallikazaros, C. Stefanadis. Early changes of left ventricle deformation indices after transcatheter aortic valve implantation. A speckle tracking echocardiographic study. (TCT-S18) Transcatheter Cardiovascular Therapeutics (TCT) Mediterranean in Limassol, Cyprus. 4-5 May 2012.

4. M.Vavuranakis, D. Vrachatis, M. Kariori, K. Kalogeras, T. Papaioannou, C. Moldovan, C. Aznaouridis, C. Massoura, O. Katsarou, C. Stefanadis. Selfperceived health-related quality-of-life after transcatheter aortic valve implantation: does gender plays any role? (TCT-S14). Transcatheter Cardiovascular Therapeutics (TCT) Mediterranean in Limassol, Cyprus. 4-5 May 2012.

5. M. Vavuranakis, F. Sigala, D. Vrachatis, T. Papaioannou, K. Filis, N. Kavantazas, K. Kalogeras, **C. Moldovan**, C. Masoura, M. Kariori, I. Vlasseros, I. Kallikazaros, C. Stefanadis. Semi-automated quantitative analysis of carotid plaque vasa vasorum by contrast enhanced ultrasound and histological correlation after endarterectomy. (TCT-S13). Transcatheter Cardiovascular Therapeutics (TCT) Mediterranean in Limassol, Cyprus. 4-5 May 2012.

6. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, M. Kariori, K. Aznaouridis,

**C. Moldovan**, K. Masoura, G. Lazaros, O. Katsarou, C. Stefanadis. Using inferior epigastric artery for vascular access optimization during TAVI. TCT 2012, October 22 - 26, 2012; Miami, Florida.

7. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, I. Vlasseros, M. Kariori, D. Vrachatis, C. Moldovan, V. Katsi, S. Veioglanis, I. Kallikazaros, C. Stefanadis. Early changes of left ventricle deformation indices after transcatheter aortic valve implantation. A speckle tracking echocardiographic study. TCT 2012, October 22 - 26, 2012; Miami, Florida.

8. Manolis Vavuranakis; Maria Kariori; Konstantinos Kalogeras; Dimitrios Vrachatis; **Carmen Moldovan**; Konstantinos Aznaouridis; Evangelia Gravia; Christodoulos Stefanadis. The effect of inflammation on left ventricular function after trancatheter aortic valve implantation. (TCT-861)TCT 2012, October 22 - 26, 2012; Miami, Florida.

9. Manolis Vavuranakis; Maria Kariori; Vassilis Voudris; Konstantinos Kalogeras; Dimitrios Vrachatis; **Carmen Moldovan**; Sofia Thomopoulou; Konstantinos Aznaouridis; Constantina Masoura; George Lazaros; Christodoulos Stefanadis1. Angiographic predictive factors of vascular complications after transcatheter aortic valve implantation in patients treated with Prostar closure device. (TCT-414) TCT 2012, October 22 - 26, 2012; Miami, Florida.

Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Maria Kariori; Dimitrios A.
 Vrachatis; Carmen Moldovan; Evangelia Bei; Maria Lavda; Gerasimos Siasos;
 Christodoulos Stefanadis. Correlation of Corevalve Implantation Depth with The

Observed Post-Implantation Aortic Regurgitation andIts Impact On Necessity for Additional Intra-Procedural Techniques. J Am Coll Cardiol. 2014;64(11\_S).07.844 (TCT 2014).

11. Manolis Vavuranakis; Konstantinos Kalogeras; Nikolaos Dagres; Maria Kariori; Maria Lavda; **Carmen Moldovan**; Evangelia Bei; Dimitrios A. Vrachatis; Christodoulos Stefanadis. Correlation Between Residual Platelet Reactivity After Clopidogrel Loading and Long Term Major Adverse Outcome Among STEMI Patients Undergoing Delayed Primary Percutaneous Coronary Intervention.J Am Coll Cardiol. 2014;64(11\_S):07.080. (TCT 2014).

12. Manolis Vavuranakis; Maria Kariori; V. Voudris; Konstantinos Kalogeras; Sofia Thomopoulou; Konstantinos Aznaouridis; Evangelia Bei; **Carmen Moldovan**; Maria Lavda; Dimitrios A. Vrachatis; Christodoulos Stefanadis. Does "High" implantation of Self-Expandable Prosthesis Affect Positively Short- And Long-Term Outcome of Patients Undergoing Transcatheter Aortic Valve Implantation? (TCT 744) 2012, October 22 - 26, 2012; Miami, Florida.

M. Vavuranakis, D.A. Vrachatis, A-M. Kolokathis, K. Kalogeras, T. Papaioannou, M. Lavda, E. Bei, M. Kariori, C. Moldovan, S. Vaina, E. Oikonomou, G. Siasos, D. Tousoulis. (TCT-741) Atrial Septal Occlusion: Atrial Disks' Deformation Is Independent of Waist Deformation. Transcatheter Cardiovascular Therapeutics (TCT) 2015 in San Francisco, CA, USA. 11 – 15 October 2015. J Am Coll Cardiol. 2015; 66.

14. Manolis Vavuranakis, Konstantinos Kalogeras, Maria Lavda, Michail-
Aggelos Kolokathis, Theodoros Papaioannou, Mursini Stasinopoulou, Dimitrios Vrachatis, **Carmen Moldovan**, Maria Kariori, Evelina Bei, Gerasimos Siasos, Sophia Vaina, Euaggelos Oikonomou, Dimitrios Tousoulis CoreValve device implantation 'true cover index' predicts mid-term aortic regurgitation; a novel index. TCT 2016 Washington, 29 Oct- 2 Nov 2016.

15. Manolis Vavuranakis, Konstantinos Kalogeras, **Carmen Moldovan**. Successful closure of an aortic paravalvular leak with simultaneous implantation of two 'off label' devices in a challenging horizontal aorta. Challenging case accepted for presentation. TCT 2016 Washington, 29 Oct- 2 Nov 2016.

16. Vavuranakis M., Kalogeras K., Lozos V., Aggeli K., Aznaouridis K., **Moldovan C.**, Mourmouris C., Koufakis N., Kalantzis C., Bei E., Tousoulis D. Transapical closure of multiple mitral paravalvular leaks with simultaneous dual device deployment through a single sheath.TCT 2017, Oral presentation, Denver.

## **Congresses of the European Society of Cardiology (No: 15)**

Also published in European HeartJournal (IF= 15,064)

1. M. Vavuranakis, D. Vrachatis, T. Papaioannou, K. Kalogeras, C. Moldovan, S. Archontakis, O. Katsarou, M. Kariori, P. Tzamalis, E. Sanidas, C. Stefanadis. Association of residual platelet reactivity, after clopidogrel loading, with intracoronary thrombus burden and myocardial perfusion in STEMI patients (P5341). European Society of CardiologyCongress 2010, Copenhagen, Sweden. European Heart Journal (2010)31 (Abstract Supplement), 970.

2. M. Drakopoulou, K. Toutouzas, A. Karanasos, A. Synetos, C. Moldovan, H. Grassos, E. Siores, E. Tsiamis, C. Stefanadis. Association of the extent of early atheromatic lesions with thermal heterogeneity assessed non-invasively by microwave radiometry. An experimental study. European Heart journal. 2010;31:502

3. K. Toutouzas, A. Synetos, M. Drakopoulou, **C. Moldovan**, E. Siores, C. Grassos, E. Tsiamis, G. Agrogiannis, E. Patsouris, C. Stefanadis. A new non-invasive method for detection of local inflammatory activation in atheromatic plaques: experimental evaluation of microwave radiometry. European Heart journal. 2010;31:1025-1026.

4. M.Vavuranakis, C. Moldovan, T. Papaioannou, D. Vrachatis, M. Kariori, C. Chrysochoou, G. Lazaros, V. Voudris, S. Thomopoulou, C. Stefanadis.Patients who increase troponin levels after transcatheter aortic valve implantation manifest distinct electrocardiographic findings. European Society of Cardiology Congress 2011, Paris, France. EuropeanHeart Journal (2011) 32 (Abstract Supplement), 927.

5. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, M. Kariori, K. Aznaouridis, C. Moldovan, K. Masoura, G. Lazaros, E. Gravia, Ch. Stefanadis. Inferior epigastric artery as a landmark for transfemoraltranscatheter aortic valve implantation with CoreValve. European Heart Journal (2012) 33 (Abstract Supplement), 927. European Society of Cardiology Congress 2012, Munich, Germany.

6. M. Vavuranakis, I. Vlasseros, K. Kalogeras, M. Kariori, D. Vrachatis, C. Moldovan, V. Katsi, R. Katsarou, I. Kallikazaros, C. Stefanadis. Early changes of

left ventricle deformation indices after transcatheter aortic valve implantation. A speckle tracking echocardiographic study. European Heart Journal (2012) 33 (Abstract Supplement),927. European Society of Cardiology Congress 2012, Munich, Germany.

7. M.Vavuranakis, I. Vlasseros, K. Kalogeras, M. Kariori, D. Vrachatis, C. Moldovan, V. Katsi, R. Katsarou, I. Kallikazaros, C. Stefanadis. Early changes of left ventricle deformation indices after transcatheter aortic valve implantation. A speckle tracking echocardiographic study. ESC 2012, 25 - 29 Aug 2012.

8. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, M. Kariori, K. Aznaouridis, C. Moldovan, K. Masoura, G. Lazaros, E. Gravia, C. Stefanadis. Optimizing vascular access during TAVI by using inferior epigastric artery as a landmark. ESC 2012, 25 - 29 Aug 2012.

9. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, M. Kariori, **C. Moldovan**, M. Lavda, E. Mpei, D. Vrachatis, G. Siasos, K. Aznaouridis, C. Stefanadis. Correlation of corevalve implantation depth with the observed post-implantation aortic regurgitation and its impact on necessity for additional intra-procedural techniques. Eur Heart J (2014) 35 (AbstractSupplement), 853.

10. M. Vavuranakis, M. Kariori, V. Voudris, K. Kalogeras, K. Aznaouridis, S. Thomopoulou, E. Bei, **C. Moldovan**, M. Lavda, CH. Stefanadis. Impact of "high" implantation of self-expandable valve in both short- and long-term outcome of patients undergoing TAVI. Eur Heart J (2014) 35 (AbstractSupplement), 247-248.

11. M. Vavuranakis, M. Kariori, V. Voudris, G. Siasos, K. Kalogeras, D.

Vrachatis, S. Thomopoulou, M. Lavda, C. Moldovan, D. Tousoulis. High implantation is a new parameter that affects the outcome of patients that undergo transcatheter aortic valve implantation with self-expandable bioprosthesis. Eur Heart J (2015) 36 (AbstractSupplement), 955.

12. M. Vavuranakis, M. Lavda, T. Papaioannou1 D. Vrachatis, K. Kalogeras, G. Siasos, **C. Moldovan**, A.M. Kolokathis, M. Kariori, D. Tousoulis. Impact of direct transcatheter aortic valve implantation on final device position and paravalvular leak. Is it beneficial? Eur Heart J (2015) 36 (AbstractSupplement), 793.

13. M. Vavuranakis, D. Vrachatis, M. Lavda, G. Siasos, O. Katsarou, C. Moldovan, S. Vaina, C. Stefanadis, D. Tousoulis. Relation of new morphological features of culprit coronary plaques, as determined by VH-IVUS and a new computational method, with troponin elevation after coronary stenting. T. Papaioannou. ESC 2016, 27 - 31 Aug 2016. Rome.

M. Vavuranakis, K. Kalogeras, M. Lavda, M.A. Kolokathis, T. Papaioannou, M. Stasinopoulou, D. Vrachatis, C. Moldovan, M. Kariori, E. Bei, E. Oikonomou, G. Lazaros, S. Vaina, G. Siasos, D. Tousoulis CoreValve device implantation true cover index predicts mid-term aortic regurgitation. A novel index. ESC 2016, 27 - 31 Aug 2016. Rome.

15. M. Vavuranakis, M. Lavda, P.T. Papaioannou, K.-A.M. Kolokathis, K. Kalogeras, **C. Moldovan**, D. Vrachatis, S.G. Siasos, K.M. Kariori, B.E. Bei, T.D. Tousoulis Five-year all-cause mortality and dual anti-platelet therapy after

transcatheter aortic valve implantation. ESC 2016, 27 - 31 Aug 2016. Rome.

### **Euro PCR Congress (No: 16)**

Also published in Euro Intervention Journal

1. Vavuranakis M., Vrachatis D., **Moldovan C.,** Kariori M., Toutouzas K., Sanidas E., Brili S., Chrysochoou C., Papaioannou T., Tzamalis P., Katsarou O., Stefanadis C. Correction of prosthesis malpositioning during TAVI with CoreValve. Oral Presentation. EuroPCR 2011 in Paris, France, 17-20 May 2011. Eurointervention 2011;7(M): 467.

Vavuranakis M., Moldovan C., Vrachatis D., Kariori M., Papaioannou T.
 Case of valve-in-valve. What we should avoid. Case Corner Presentations EuroPCR
 2011 in Paris, France, 17-20 May 2011.

Vrachatis D., Vavuranakis M., Alexopoulos N., Papaioannou T., Moldovan C., Brili S., Lazaros G., Chrysochoou C., Barbetseas J., Tentolouris C., Stefanadis C. Acute effect of transcatheter aortic valve implantation in the elastic properties of the aortic root: a comparison with surgical aortic valvereplacement. EuroPCR 2011 in Paris, France, 17-20May 2011.Poster Presentation: POS008.

M. Vavuranakis, M. Kariori, V. Voudris, K. Kalogeras, D. Vrachatis, C. Moldovan, S. Thomopoulou, C. Masoura, K. Aznaouridis, Ch. Stefanadis.
 Predictive factors of access site vascular complications after TAVI.EuroPCR 2012;
 Paris, France, 15-17 May 2012.

5. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, C. Moldovan, O. Katsarou, M. Kariori, D.

Vrachatis, T. Papaioannou, C. Stefanadis. Coronary rupture after stent deployment in a patient under chronic immunosuppressive therapy. A case of vulnerable coronary artery wall? EURO PCR 2012, 15-18 May 2012.

6. M. Vavuranakis, M. Kariori, K. Aznaouridis, **C. Moldovan**, K. Kalogeras, D. Vrachatis, I. Dima, Ch. Stefanadis. Vascular access site approach for TAVI in patients with connective tissue disease: does immunosuppression predispose to complications? (interactive case corner) to be presented atEuro PCR 2013; Paris, France, 21-24 May 2013.

7. M. Vavuranakis, M. Kariori, **C. Moldovan**, K. Aznaouridis, D. Vrachatis, K. Kalogeras, I. Dima, C. Chrysohoou, Ch. Stefanadis. How to perform TAVI safely in case of pre-implanted metallic prosthetic mitral valve? (oral presentation) to be presented at EuroPCR 2013; Paris, France, 21-24 May 2013.

8. M. Vavuranakis, M. Kariori, K. Aznaouridis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, S. Vaina, **C. Moldovan**, I. Dima, Ch. Stefanadis. String sign on aortic valve frame: a feature of under-expanded valve after TAVI. (oral presentation) to be presented at EuroPCR 2013; Paris, France, 21-24 May 2013.

9. Vavuranakis M., Siasos G., Kariori M., Aznaouridis K., Kalogeras K., Vrachatis D., S. Vaina, **Moldovan C**., I. Dima, Stefanadis C. Acute changes on arterial stiffness after Transcatheter Aortic Valve Implantation (TAVI): A Pilot study (poster presentation) at EuroPCR 2013; Paris, France, 21-24 May 2013.

10. M. Vavuranakis, Siasos G., M. Kariori, K. Aznaouridis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, S. Vaina, C. Moldovan, I. Dima, Ch. Stefanadis. Acute changes on

arterial stiffness after Trancatheter Aortic Valve Implantation (TAVI): A Pilot study. (poster presentation) to be presented at EuroPCR 2013; Paris, France, 21-24 May 2013.

11. Manolis Vavuranakis, Konstantinos Kalogeras, D. Vrachatis, **C. Moldovan**, Angelos Michail Kolokathis, Evelina Bei, Maria Kariori, Gerasimos Siasos, Euaggelos Oikonomou, Maria Lavda, Dimitrios Tousoulis. Percutaneous closure of a large ascending aorta pseudoaneurysm due to mediastinitis with an off-label use of an occluder device. EuroPCR 2015, Paris.

12. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, N. Dagres, D. Vrachatis, M. Kariori, M. Lavda, **C. Moldovan**, E. Mpei, G. Siasos, D. Tousoulis. Correlation between residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long term major adverse outcome among STEMI patients undergoing delayed primary percutaneous coronary intervention. EuroPCR 2015, Paris.

M. Vavuranakis, K. Kalogeras, M. Lavda, A.M. Kolokathis, M. Stasinopoulou, D. Vrachatis, M. Kariori, C. Moldovan, T. Papaioannou, S. Vaina, G. Siasos, E. Oikonomou, D. Tousoulis Correlation of CoreValve Implantation 'true cover index' with paravalvular regurgitation; Implantation Depth Really Matters. EuroPCR 2016, Paris.

Vavuranakis M., Kalogeras K., Lavda M., Kolokathis A., Vrachatis D.,
Kariori M., Moldovan C., Vaina S., Siasos G., Mpei E., Oikonomou E., Tousoulis
D. Percutaneous closure of ascending aorta pseudoaneurysm. EuroPCR 2016, Paris.

15. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, G. Siasos, M. Lavda, A.M. Kolokathis, O.

Katsarou, D. Vrachatis, M. Kariori, **C. Moldovan**, S. Vaina, E. Bei, C. Kalatzis, D. Tousoulis. Transcatheter aortic valve implantation through an excessively degeneratedbioprosthesis with out of range dimensions. EuroPCR 2017, Oral presentation. Paris.

16. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, K. Aggeli, **C. Moldovan**, M. Lavda, A.M. Kolokathis, O. Katsarou, M. Kariori, D. Vrachatis, E. Bei, G. Siasos, D. Tousoulis. Successful closure of an aortic paravalvular leak with simultaneous implantation of two 'off label' devices in a challenging horizontal aorta. EuroPCR 2017, Oral presentation. Paris.

### London PCR Valves Congress (No: 21)

1. Vavuranakis M., Vrachatis D., Kalogeras K., Kariori M., **Moldovan C**., Vaina S., Aznaouridis K., Brilli S., Lazaros G., Chrysochoou C., Masoura K., Stefanadis C. Correct Deployment of CoreValve prosthesis during Cardiopulmonary Resuscitation without angiographic guidance. An additional capability of Accutrak system? Oral presentation in a Complications session. PCR London Valves 2011, London, UK, 16-18 October 2011.

2. Vavuranakis M., Kalogeras K., Vrachatis D., **Moldovan C.**, Kariori M., Aznaouridis K., Vaina S., Lazaros G., Chrysohoou C., Brilli S., Masoura K., Stefanadis C. Combination of bail-out repositioning techniques for to allow CoreValve Implantation in an 85-years-old male. Case corner presentations. PCR London Valves 2011, London UK, 16-18 October 2011.

3. Vavuranakis M., Kariori M., Moldovan C., Kalogeras K., Vrachatis D.,

Vaina S., Aznaouridis K., Chrysohoou C., Brilli S., Masoura K., Stefanadis C. Vascular Rupture with PROSTAR Failure After TAVI: A Ward of Caution withIntense Calcification in the Arterial Wall. Case corner presentation. PCR London Valves 2011, London, UK, 16-18 October 2011.

4. Vavuranakis M., Kariori M., **Moldovan C**., Vrachatis D., Kalogeras K., Aznaouridis K., Vaina S., Lazaros G., Chrysohoou C., Brilli S., Masoura K., Stefanadis C. Balloon Aortic Valvuloplasty to size the Aortic Annulus prior to TAVI. Case corner presentation.PCR London Valves 2011, London, UK,16-18 October 2011.

M. Vavuranakis, M. Kariori, K. Aznaouridis, C. Moldovan, D. Vrachatis,
 K. Kalogeras, Ch. Stefanadis. How does inflammation influence left ventricular function after TAVI? (oral presentation) PCR London Valves 2012 in London, UK.
 30 September - 2 October 2012.

 M.Vavuranakis, M. Kariori, C. Aznaouridis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, C.
 Moldovan, Ch. Stefanadis. Impact of post dilatation on post procedural clinical and laboratory parameters in patients after transcatheter aortic valve implantation.
 (poster) PCR London Valves 2012 in London, UK. 30 September - 2 October 2012.

7. M.Vavuranakis, V. Voudris, M. Kariori, **C. Moldovan**, S. Thomopoulou, Christos Stefopoulos, Constantinos Aznaouridis, Constantina Masoura, Ch. Stefanadis. The Aortic Core-valve Athenian Registry (ACA Registry). (poster) PCR London Valves 2012 in London, UK. 30 September - 2 October 2012.

M.Vavuranakis, M. Kariori, C. Aznaouridis, D. Vrachatis, K. Kalogeras, C.
 Moldovan, Ch. Stefanadis. How to perform safely TAVI in case of pre-implanted

metallic prosthetic Mitral valve. (Interactive case corner) PCR London Valves 2012 in London UK. 30 September - 2 October 2012.

9. M.Vavuranakis, M. Kariori, C. Aznaouridis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, C. Moldovan, Ch. Stefanadis. Patient with low ejection fraction but preserved left ventricular reserve and multi- valvular regurgitation failed to improve after TAVI. (Interactive case corner) PCR London Valves 2012 in London UK. 30 September - 2 October 2012.

M. Vavuranakis, M. Kariori, C. Aznaouridis, C. Moldovan, K. Kalogeras,
 D. Vrachatis, Ch. Stefanadis. Unexpected retroperitoneal hematoma after TAVI.
 (Interactive case corner) PCR London Valves 2012 in London, UK. 30 September
 2 October 2012.

11. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, M. Kariori, K. Aznaouridis, C. Moldovan, K. Masoura, G. Lazaros, O. Katsarou, C. Stefanadis. Using inferior epigastric artery for vascular access optimization during TAVI. PCR London Valves 2012.

12. Vavuranakis M., Kariori M., Aznaouridis K., Kalogeras K., **Moldovan C**., Vrachatis D., Aggeli K., Stefanadis C. TAVI in a stenotic bicuspid valve: Easy to perform but not easy to expand (oral presentation) PCR London Valves 2013.

13. Vavuranakis M., Kariori M., Aznaouridis K., Siasos G., **Moldovan C.** Kalogeras K., Vrachatis D., Lavda M. Aggeli K., Stefanadis C. How to perform TAVI in a stenotic aortic bioprosthesis with high grade insufficiency and low ostium left main (interactive case corner). PCR London Valves 2013.

14. Vavuranakis M., Kariori M., Aznaouridis K., Vrachatis D., Moldovan C.,

I. Dima, G. Lazaros, Stefanadis C. Transaortic access for TAVI: Be aware that this maybe the easy part. (interactive case corner). PCR London Valves 2013.

15. Vavuranakis M., Kariori M., Siasos G., E. Kokkou, Aznaouridis K., S. Mazaris, Kalogeras K., **Moldovan C.,** E. Venieri, Vrachatis D., Tousoulis D., Stefanadis C. Immediate impact of TAVI on arterial elastic properties (poster presentation) PCR London Valves 2013.

16. Manolis Vavuranakis, Konstantinos Kalogeras, **Carmen Moldovan**, Angelos Michail Kolokathis Maria Lavda D. Vrachatis, S. Vaina, Maria Kariori, Evelina Bei, Gerasimos Siasos, Euaggelos Oikonomou, Dimitrios Tousoulis Successful transcatheter aortic valve implantation of a last generation bioprosthesis in a patient with aortic coarctation. PCR London Valves, Berlin 2015.

17. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, D. Vrachatis, A. Kolokathis, S. Vaina, M. Lavda, **C. Moldovan**, M. Kariori, G. Siasos, D. Tousoulis. Percutaneous closure of ascending aortic pseudoaneurysms with different occlusion devices. PCR London Valves, Berlin 2015.

18. Manolis Vavuranakis, Konstantinos Kalogeras, Maria Lavda, Michail-Aggelos Kolokathis, Theodoros Papaioannou, Euaggelos Oikonomou, Mursini Stasinopoulou, Dimitrios Vrachatis, **Carmen Moldovan**, Gerasimos Siasos, Maria Kariori, Evelina Bei, Sophia Vaina, Dimitrios Syrseloudis, Dimitrios Tousoulis. Implantation 'true cover index' with CoreValve device predicts mid-term aortic regurgitation. PCR London Valves, London 2016.

Vavuranakis M., Kalogeras K., Lozos V., Aggeli K., Aznauridis K.,
 Moldovan C., Mourmouris C., Koufakis N., Kalantzis C., Vavuranakis M., Bei E.,

Tousoulis D. Transapical closure of multiple mitral paravalvular leaks with simultaneous dual device deployment through a single sheath. LondonValves 2017, Oral presentation. London.

20. Manolis Vavuranakis, Konstantinos Kalogeras, Evelina Bei, Charalambos Kalantzis, Mursini Stasinopoulou, Michail-Aggelos Kolokathis, **Carmen Moldovan**, Dimitrios Vrachatis, Maria Kariori, Sophia Vaina, Gerasimos Siasos, Konstantinos Aznaouridis, Theodoros Papaioannou, Dimitrios Tousoulis. 'True cover index' predicts early pacemaker implantation after TAVI with a self-expandable device. Establishment of an index. LondonValves 2017, Oral presentation. London.

21. **Carmen Moldovan**, Manolis Vavuranakis, Konstantina Aggeli, Lozos Vasilios, Dimitrios Tousoulis. Mitral Valve Repair: What Happened with this Neochords? PCR London Valves 2018, Oral presentation.

### **Other International Congresses (No: 3)**

1. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, M. Kariori, M. Lavda, **C. Moldovan**, E. Mpei, D. Vrachatis, G. Siasos, T. Papaioannou, C. Stefanadis. Parathormone role in short-term Pulmonary Artery Systolic Pressure improvement after TAVI. New prognostic index? European Heart Failure congress, Athens 2014.

2. M. Vavuranakis, M. Kariori, V. Voudris, S. Thomopoulou, K. Kalogeras, C. Stefopoulos, K. Aznaouridis, **C. Moldovan**, D. Vrachatis, CH. Stefanadis. Left ventricular recovery after transcatheter aortic valve implantation. European Heart Failure congress, Athens 2014.

3. M. Vavuranakis, K. Kalogeras, M. Lavda, A.M. Kolokathis, M. Stasinopoulou, D. Vrachatis, M. Kariori, **C. Moldovan**, E. Bei, S. Vaina, G. Siasos, E. Oikonomou, D. Tousoulis Correlation of CoreValve Implantation 'true cover index' with Short and Mid-term Aortic Regurgitation; Implantation Depth Really Matters. CSI Frankfurt, 22-25 June 2016.

### **Β.** <u>Ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια στην Ελλάδα:</u>(No. 12)

1. K. Toutouzas, H. Grassos, A. Synetos, M. Drakopoulou, E. Tsiamis, C. Moldovan, G. Agrogiannis, E. Patsouris, E. Siores, C. Stefanadis. A new non-invasive method for detection of local inflammatory activation in atherosclerotic plaques: Experimental application of microwave radiometry. AICT 2010;PP-23.

O. Katsarou, M. Vavuranakis, T. Papaioannou, C. Moldovan, E. Patsatzis,
 D. Vrachatis, K. Kalogeras, M. Kariori, S. Archontakis, P. Tzamalis, C. Stefanadis.
 Longitudinal plaque composition as determined by Virtual Histology influence
 regional adequacy of stent deployment (P-23). Athens Interventional
 Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

3. O. Katsarou, M. Vavuranakis, T. Papaioannou, D. Schizas, C. Moldovan, D. Vrachatis, K. Kalogeras, M. Kariori, S. Archontakis, S. Vaina, E. Patsatzis, C. Stefanadis. Influence of new morphological features of culprit coronary plaguesas determined by Virtual-Histology IVUS and a new computational method, on Troponin elevation after coronary stenting (P-21). Athens Interventional Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

4. D. Vrachatis, M. Vavuranakis, K. Aznaouridis, K. Kalogeras, M. Kariori,

**C. Moldovan**, S. Vaina, G. Lazaros, S. Brili, C. Chrysochoou, C. Massoura, O. Katsarou, T. Papaioannou, C. Stefanadis. Learning-curve on transcatheter aortic valve implantation with the CoreValve prosthesis (P-20). Athens Interventional Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

5. D. Vrachatis, M. Vavuranakis, K. Aznaouridis, K. Kalogeras, M. Kariori, C. Moldovan, S. Vaina, G. Lazaros, S. Brili, C. Chrysochoou, C. Massoura, O. Katsarou, T. Papaioannou, C. Stefanadis. Transcatheter Aortic Valve Implantation with Core Valve: Is repositioning feasible during the operation? (P-19). Athens Interventional Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

6. K. Kalogeras, M. Vavuranakis, D. Tousoulis, D. Vrachatis, M. Kariori, T. Papaioannou, S. Archontakis, A. Gafou, C. Moldovan, O. Katsarou, C. Stefanadis. STEMI patients undergoing unexpectedly- delayed primary percutaneous coronary intervention: Correlation between intracoronary thrombus burden and residual platelet inhibition after clopidogrel loading (P-18). Athens Interventional Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

K. Kalogeras, M. Vavuranakis, K. Aznaouridis, D. Vrachatis, M. Kariori,
 C. Moldovan, S. Vaina, G. Lazaros, S. Brili, C. Chrysochoou, C. Massoura, O. Katsarou, T. Papaioannou, C. Stefanadis. Correct deployment of Core Valve prosthesis during cardiopulmonary resuscitation without angiographic guidance (P-17). Athens Interventional Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

8. M. Kariori, M. Vavuranakis, K. Aznaouridis, K. Kalogeras, D. Vrachatis,

**C. Moldovan**, O. Katsarou, C. Massoura, S. Vaina, G. Lazaros, S. Brili, C. Chrysochoou, T. Papaioannou, C. Stefanadis. Transcutaneous Aortic Valve Implantation: Association between Troponine I levels and ECG findings (P-16). Athens Interventional Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

M. Kariori, M. Vavuranakis, K. Aznaouridis, K. Kalogeras, D. Vrachatis,
 C. Moldovan, O. Katsarou, C. Massoura, S. Vaina, G. Lazaros, S. Brili, C. Chrysochoou, T. Papaioannou, C. Stefanadis. Incidence and management of vascular complications with the Prostar device: Two-center experience (P-15). Athens Interventional Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

10. M. Kariori, M. Vavuranakis, K. Aznaouridis, C. Moldovan, K. Kalogeras, D. Vrachatis, O. Katsarou, C. Masoura, S. Vaina, G. Lazaros, S. Brili, C. Chrysochoou, T. Papaioannou, C. Stefanadis. Multimodal assessment of aortic valve annulus prior to Transcatheter Aortic Valve Implantation (P-14). Athens Interventional Cardiovascular Therapeutics (AICT) XII. Athens, Greece. 7-8 October 2011.

11. K. Kalogeras, M. Vavouranakis, D. Vrachatis, T. Papaioannou, S. Archontakis, **C. Moldovan**, O. Katsarou, M. Kariori, P. Tzamalis, E. Sanidas, C. Stefanadis. Correlation of residual platelet reactivity after clopidogrel loading with coronary thrombus burden in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing an unexpectedly delayed primary percutaneous coronary intervention. ALPIC 2012, Metsovo, 27-29 January 2012.

12. M. Lavda, M. Vavouranakis, T. Papaioannou, D. Vrachatis, K. Kalogeras A. G. Siasos, **C. Moldovan**, Kolokathis, M. Kariori, E. Mpei, D. Tousoulis Impact of direct transcatheter aortic valve implantation on final device position and paravalvular leak. Is it beneficial? EAEBIT congress 2015.

Γ. Ανακοινώσεις σε Ελληνικά Συνέδρια: (No. 18)

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

# Αθηροσκλήρωση

Η αθηροσκλήρωση είναι μια χρόνια εξελικτική διεργασία που προκαλεί βλάβη στις στεφανιαίες, στις εγκεφαλικές και στις περιφερικές αρτηρίες καθώς και στην αορτή<sup>1</sup>. Η αθηροσκλήρωση ξεκινά από την παιδική ηλικία με την ανάπτυξη λιπωδών γραμμώσεων και εξελίσσεται με το πέρασμα των χρόνων και την επίδραση πολλαπλών παραγόντων κινδύνου (Εικόνα 1)<sup>2-4</sup>.



Εικόνα 1 . Εξέλιξη και κατάταξη της αθηρωματικής πλάκας. Η παρουσία λεπτής ινώδους κάψας αποσταθεροποιεί την πλάκα και μπορεί να οδηγήσει σε ρήξη και θρόμβωση. *Τροποποιημένο από Libby et al.*, *Circulation*, 2001;104:365.

### 1.1. Παθογένεια

Πολλαπλοί παράγοντες συμμετέχουν στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης, όπως η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, η δυσλιπιδαιμία, φλεγμονώδεις και ανοσολογικοί παράγοντες, το κάπνισμα καθώς και η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας.

Το ενδοθήλιο σχηματίζει μια βιολογικά ενεργή διαχωριστική επιφάνεια μεταξύ του αίματος και των υπολοίπων ιστών. Η μονή στιβάδα ενδοθηλιακών κυττάρων που επενδύει το εσωτερικό των αρτηριών, σχηματίζει μια προστατευτική στιβάδα, αποτρέποντας το σχηματισμό θρόμβων, καθώς δεν επιτρέπει την επαφή του αίματος με τους δυνητικά θρομβογόνους υπενδοθηλιακούς ιστούς. Επιπλέον, το ενδοθήλιο ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο, την αιμόσταση και τη φλεγμονή στο κυκλοφορικό σύστημα. Η δυσλειτουργία των αγγειοδιασταλτικών μηχανισμών του ενδοθηλίου είναι πρωταρχικό στάδιο για την αθηροσκλήρωση και κυρίως προκαλείται από την απώλεια του μονοξειδίου του αζώτου που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα <sup>5-8</sup>.

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σχετίζεται με αρκετούς από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου για την αθηροσκλήρωση, όπως η υπερχοληστερολαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρταση και το κάπνισμα. Συγκεκριμένα, η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου προκαλείται από την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL)<sup>9</sup>. Η λειτουργία του ενδοθηλίου μπορεί να βελτιωθεί με την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας, είτε με δίαιτα είτε με τη χορήγηση στατινών (αναστολείς της αναγωγάσης του HMG-CoA), αναστολέων του μετατρεπτικού

55

C<sup>10</sup> ή τα φλαβανοειδή<sup>11</sup> που περιέχονται στο κόκκινο κρασί και στο χυμό σταφυλιών <sup>12, 13</sup>. Όλες οι παραπάνω θεραπείες αυξάνουν τη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου, ωστόσο, κλινικά οφέλη έχουν παρατηρηθεί μόνο με τις στατίνες.

Στοιχεία για την παρουσία φλεγμονής 14 15, 16 στα σημεία των αθηρωματικών βλαβών έχουν παρατηρηθεί από τις πρώτες ιστολογικές παρατηρήσεις τέτοιων αλλοιώσεων και η φλεγμονή κατέχει κεντρικό ρόλο για την κατανόηση της παθογένεσης της αθηροσκλήρωσης <sup>17</sup>. Τα μακροφάγα που έχουν φαγοκυτταρώσει τις οξειδωμένες LDL απελευθερώνουν μια ποικιλία φλεγμονωδών παραγόντων, κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων 18. Ανάμεσα στα πολλά μόρια που εμπλέκονται είναι: η χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων (monocyte chemotactic protein (MCP)-1), το μόριο διακυτταρικής προσκόλλησης (intercellular adhesion molecule (ICAM)-1), παράγοντες διέγερσης αποικιών των κοκκιοκυττάρων και των μακροφάγων (macrophage and granulocyte-macrophage colony stimulating factors), CD40 ligand <sup>19</sup>, οι ιντερλευκίνες interleukin IL-1, IL-3, IL-6  $^{20, 21}$ , IL-18  $^{22, 23}$  και ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (tumor necrosis factor alpha TNFα) (Εικόνα 2)<sup>24-27</sup>.



Εικόνα 2. Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και φλεγμονή στην αθηρωματική πλάκα. Τροποποιημένο από Szmitko PE et al., Circulation. 2003 Oct 21;108(16):1917-23.

Τα στοιχεία που υποστηρίζουν τη σημασία της φλεγμονής στην παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης προέρχονται από την παρατήρηση πως αυξημένοι ή μειωμένοι δείκτες συστηματικής φλεγμονής σχετίζονται με τον κίνδυνο σχηματισμού αθηρωματικών αλλοιώσεων. Επιπλέον, η μελέτη CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study) έδειξε πως η αναστολή της ιντερλευκίνης 1β με τη χορήγηση κανακινουμάβης (canakinumab) προκάλεσε μείωση των φλεγμονωδών βιοδεικτών υψηλής ευαισθησίας CRP του ορού (hsCRP) και IL-6 χωρίς όμως να επηρεάσει τα λιπίδια που επάγουν τη δημιουργία αθηρωματικών πλακών, σε ασθενείς με προηγούμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου. Ο κίνδυνος καρδιαγγειακού θανάτου, μη θανατηφόρου εμφράγματος του μυοκαρδίου και μη θανατηφόρου αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου μειώθηκε κατά 15% (p = 0.021) με την πραγματοποίηση υποδερμικών ενέσεων 150 mg κανακινουμάβης κάθε τρεις μήνες <sup>28</sup>.

Η hsCRP είναι ένας από τους φλεγμονώδεις δείκτες <sup>21</sup> που συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για εκδήλωση αθηροσκληρωτικής καρδιαγγειακής νόσου ανεξάρτητα από τα επίπεδα της χοληστερόλης, παρόλο που γενετικά δεδομένα δεν υποστηρίζουν το ρόλο της ως αιτιολογικό παράγοντα κινδύνου. Θεωρείται ένας χρήσιμος δείκτης για τον εντοπισμό ατόμων με αυξημένη φλεγμονώδη διεργασία στο τοίχωμα των αγγείων <sup>29, 30</sup>.

Διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Αρχικά πειράματα σε πειραματόζωα τα οποία ακολούθησαν δίαιτα πλούσια σε χοληστερόλη, έδειξαν επιτάχυνση της εξέλιξης της αθηρωμάτωσης. Μεταγενέστερες επιδημιολογικές μελέτες που διεξήχθησαν σε διάφορες χώρες ανά την υφήλιο, έδειξαν αυξημένη επίπτωση της αθηροσκλήρωσης σε άτομα των οποίων η χοληστερόλη του ορού ξεπερνούσε τα 150 mg/dL (3.9 mmol/L).

Τα υψηλά επίπεδα LDL χοληστερόλης είναι ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την αθηροσκλήρωση. Η χοληστερόλη συσσωρεύεται στο εσωτερικό των πλούσιων σε λιπίδια μακροφάγων (αφρώδη κύτταρα) και στον λιπώδη πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας. Η οξείδωση της LDL διευκολύνει την πρόσληψή της από τα μακροφάγα μέσω unregulated macrophage scavenger receptors (ανάμεσα σε αυτούς ο υποδοχέας CD36, που αλλιώς λέγεται scavenger receptor B) και επιταχύνει τη συσσώρευση χοληστερόλης. Η πρόσληψη της LDL χοληστερόλης από τα μακροφάγα αρχικά αποτελεί αντίδραση προσαρμογής, με σκοπό την προστασία του ενδοθηλίου από την βλάβη που προκαλεί η συσσώρευση της LDL. Ωστόσο, η συσσώρευση χοληστερόλης στα αφρώδη κύτταρα προκαλεί δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων και τα οδηγεί σε απόπτωση ή νέκρωση με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των ενδοκυττάριων πρωτεασών, φλεγμονωδών κυτοκινών και προθρομβοτικών μορίων. Ένα μεγάλο μέρος των στοιχείων που έχουν προκύψει τα τελευταία 50 χρόνια έχει δείξει πως η μείωση της LDL χοληστερόλης μπορεί να μειώσει τα καρδιαγγειακά συμβάματα, ενώ τα χαμηλά επίπεδα LDL χοληστερόλης συσχετίζονται με καλύτερη κλινική έκβαση.

Η HDL, σε αντίθεση με την LDL, έχει θεωρητικά αντιαθηρογόνες ιδιότητες που περιλαμβάνουν την αντίστροφη μεταφορά της απομάκρυνσης χοληστερόλης, τη διατήρηση της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου και την προστασία έναντι του σχηματισμού θρόμβων <sup>31</sup>. Υπάρχει αντίστροφη σχέση μεταξύ των επιπέδων της HDL χοληστερόλης στο πλάσμα και του καρδιαγγειακού κινδύνου. Τιμές πάνω από 75 mg/dL (1.9 mmol/L) σχετίζονται με τη μακροζωία, ενώ τιμές κάτω από 60 mg/dl (1.5 mmol/L) θεωρούνται ως αρνητικός παράγοντας κινδύνου στο Framingham Risk Assessment. Ωστόσο, δεν έχει αποδειχθεί μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων με την αύξηση της HDL χοληστερόλης, ειδικά σε ασθενείς με καλά ρυθμισμένα επίπεδα LDL χοληστερόλης. Μια τυχαιοποιημένη μελέτη μενδελικής κληρονομικότητας έδειξε πως τα αυξημένα επίπεδα HDL χοληστερόλης στο πλάσμα, που οφείλονται σε γενετικούς μηχανισμούς, δεν συσχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εκδήλωσης εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Μελέτες έχουν δείξει πως η μείωση της HDL χοληστερόλης έχει στενή σχέση με την κλινική εκδήλωση αθηροσκλήρωσης και καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Τα δεδομένα αυτά αμφισβητούν την πεποίθηση πως η αύξηση των επιπέδων της HDL χοληστερόλης συνεπάγεται εξίσου μείωση του κινδύνου για την εκδήλωση

59

καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Μία πιθανή εξήγηση για την έλλειψη οφέλους από τις θεραπείες που στοχεύουν στην αύξηση της HDL χοληστερόλης, είναι πως αποτυγχάνουν να βελτιώσουν τον μηχανισμό απομάκρυνσης της χοληστερόλης που μεσολαβείτε από την HDL. Γενετικές μελέτες έχουν αμφισβητήσει τη σχέση μεταξύ των χαμηλών επιπέδων HDL και του αυξημένου κινδύνου εκδήλωσης συμβαμάτων που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση. Ωστόσο, η HDL μπορεί να αποτελέσει ένα βιοδείκτη εκτίμησης του καρδιαγγειακού κινδύνου, ενώ δεν υπάρχουν έως τώρα στοιχεία που να δείχνουν πως τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης είναι ένας τροποποιήσιμος παράγοντας κινδύνου.

Οι οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένων των LDL, HDL, καταλοίπων λιποπρωτεϊνών και φωσφολιπιδίων, θεωρείται πως προκαλούν διάσπαση της επιφάνειας του ενδοθηλίου και επάγουν τη φλεγμονώδη διεργασία μέσω της απελευθέρωσης κυτοκινών από τα μακροφάγα και της μειωμένης απομάκρυνσης της χοληστερόλης, προάγοντας έτσι εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Επιπλέον, πιθανώς να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην αστάθεια των αθηρωματικών πλακών. Τα επίπεδα των οξειδωμένων LDL είναι αυξημένα σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο και σχετίζονται θετικά με την σοβαρότητα του συνδρόμου. Παραμένει υπό μελέτη η μέτρηση των οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών για την καλύτερη κατανόηση της παθοφυσιολογίας της αθηροσκλήρωσης, ενώ δεν έχει επικυρωθεί ως ένας κλινικά χρήσιμος βιοδείκτης. Επιπλέον, θεραπευτικές στρατηγικές που βασίζονται στην χορήγηση αντιοξειδωτικών έχουν επανειλημμένα αποτύχει να δείξουν την παρουσία οφελών στο καρδιαγγειακό σύστημα 32, 33.

Το LDL τμήμα της λιποπρωτεΐνης α [Lp(a)] επάγει την αθηροσκλήρωση. Η Lp(a) σχετίζεται με αυξημένο υπολειπόμενο κίνδυνο εκδήλωσης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σύμφωνα με τις μελέτες JUPITER<sup>34</sup> και AIM-HIGH<sup>35</sup>, οι οποίες καταδεικνύουν πως η Lp(a) παραμένει παράγοντας κινδύνου σε άτομα που εφαρμόστηκε επιθετική θεραπεία για τη μείωση της LDL χοληστερόλης.

Οι γενετικές επιδράσεις στο σχηματισμό αθηρωματικών αλλοιώσεων, στην εξέλιξή τους και στην εκδήλωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων έχουν προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον. Έχουν προταθεί δύο βασικές γενετικές προσεγγίσεις για την κατανόηση του μοριακού μηχανισμού της αθηροσκλήρωσης. Η πρώτη προσέγγιση είναι αυτή του υποψήφιου γονιδίου, κατά την οποία ελέγχεται ο ρόλος γονιδίων που συμμετέχουν σε γνωστά μοριακά μονοπάτια που οδηγούν στην αθηροσκλήρωση μέσω in vitro και in vivo πειραμάτων και μελετών συσχέτισης. Η δεύτερη προσέγγιση χαρακτηρίζεται από τη διεξαγωγή μεγάλου εύρους γενομικών μελετών με σκοπό τον εντοπισμό γενετικών τύπων που σχετίζονται με τη ρύθμιση των διεργασιών της αθηρωμάτωσης. Η μέθοδος αυτή παρέχει τη δυνατότητα ανεύρεσης νέων γονιδίων που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση.

Η περίπλοκη παθοφυσιολογική διεργασία που χαρακτηρίζει την αθηροσκλήρωση δεν ρυθμίζεται από ένα μόνο γονίδιο ή μία μικρή ομάδα γονιδίων. Εμπλέκονται, επιπλέον, περιβαλλοντικοί παράγοντες, καθώς και οι αλληλεπιδράσεις τους με αρκετά γονίδια. Στο γενικό πληθυσμό παρατηρούνται γενετικοί πολυμορφισμοί σε πολλά γονίδια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπιδίων, στη διεργασία της φλεγμονής και στο σχηματισμό θρόμβων. Οι γενετικές και γενομικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, έχουν συμβάλλει στον εντοπισμό νέων θεραπευτικών στόχων για την αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης. Για παράδειγμα, η ανακάλυψη της γενετικής ποικιλότητας της PCSK9 που ρυθμίζει την κυκλοφορία της LDL χοληστερόλης, έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη των αναστολέων PCSK9, οι οποίοι μπορούν να αποτελέσουν μια νέα θεραπευτική προσέγγιση για τη μείωση της LDL χοληστερόλης και για τη μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων <sup>36, 37</sup>.

Η ύπαρξη χρόνιας μόλυνσης μπορεί να συνεισφέρει στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης. Οι κυριότεροι μικροοργανισμοί που σχετίζονται με την αθηρωμάτωση είναι τα χλαμύδια (Chlamydia Pneumoniae), ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV), ο ιός Coxsackie B και το Helicobacter Pylori.

Η χρόνια μόλυνση μπορεί να επιδράσει με πληθώρα μηχανισμών, όπως η άμεση βλάβη των αγγείων και η επαγωγή της συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης.

Παρά την υπόθεση για το ρόλο της μόλυνσης από ορισμένους μικροοργανισμούς στην παθογένεια της αθηρωμάτωσης, δεν υπάρχουν κλινικά στοιχεία που να το αποδεικνύουν αυτό, ενώ η θεραπεία με αντιβιοτικά δεν μειώνει τον κίνδυνο για υποτροπή εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Ο εμβολιασμός έναντι του ιού της γρίπης (Influenza) <sup>38</sup> έχει αξιολογηθεί ως ένας πιθανός προστατευτικός παράγοντας για την εκδήλωση καρδιαγγειακής νόσου. Αρκετές μελέτες έχουν εντοπίσει μια προστατευτική επίδραση του εμβολιασμού για τον ιό της γρίπης, έναντι της εκδήλωσης καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Ενώ αυτές οι μελέτες παρουσιάζουν ενδιαφέρον και όντως εντοπίζουν μια προστατευτική δράση του εμβολιασμού έναντι του συγκεκριμένου ιού στους ηλικιωμένους, αδυνατούν να αποδείζουν μια αιτιολογική σχέση μεταξύ της μόλυνσης από τον ιό της γρίπης και την παθογένεια της αθηροσκλήρωσης.

### 1.2. Ιστολογία

Η πρώτη φάση στην αθηροσκλήρωση, ιστολογικά, εκδηλώνεται ως τοπική πάχυνση του έσω χιτώνα με ταυτόχρονη συσσώρευση εξωκυττάριας ουσίας και μακροφάγων που έχουν φαγοκυτταρώσει λιπίδια (αφρώδη κύτταρα). Λείες μυϊκές ίνες μπορούν επίσης να μεταναστεύουν, να αποικίζουν τον έσω χιτώνα και να πολλαπλασιάζονται, ενώ κάποιες από αυτές μπορεί να προέρχονται από αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα. Τα αρχικά στάδια της αλλοίωσης περιλαμβάνουν τη συσσώρευση λιπιδίων, τόσο ως ενδοκυττάριες όσο και ως εξωκυττάριες εναποθέσεις, οδηγώντας τελικά στο σχηματισμό λιπωδών γραμμώσεων. Η διγλυκάνη, μία μικρή θειϊκή δερματάνη (πρωτεογλυκάνη πλούσια σε λευκίνη) που εντοπίζεται στον έσω χιτώνα των τμημάτων με αθηροσκλήρωση στις στεφανιαίες αρτηρίες, μπορεί να προσδένει και να παγιδεύει λιποπρωτεΐνες συμπεριλαμβανομένων των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής (VLDL) και χαμηλής πυκνότητας (LDL). Οι λιπώδεις γραμμώσεις μπορεί επίσης να περιέχουν Τ λεμφοκύτταρα. Η παρουσία των αφρωδών κυττάρων σηματοδοτεί την πρώιμη αθηρωματική βλάβη.

Καθώς αυτές οι αλλοιώσεις επεκτείνονται, περισσότερες λείες μυϊκές ίνες συσσωρεύονται στον έσω χιτώνα. Οι λείες μυϊκές ίνες του βαθύτερου στρώματος των λιπωδών γραμμώσεων μπορεί να οδηγηθούν σε απόπτωση, κάτι το οποίο σχετίζεται με περαιτέρω συσσώρευση μακροφάγων και μικροκυστιδίων που

63

ασβεστοποιούνται, πιθανώς συμβάλλοντας στη μετατροπή της λιπώδους γράμμωσης σε αθηρωματική πλάκα. Οι αθηρωματικές πλάκες με καλά οριοθετημένο λιπώδη πυρήνα που καλύπτεται με ινώδη συνδετικό ιστό, ο οποίος μπορεί να είναι σχετικά φτωχός σε κυτταρικά στοιχεία (κυρίως αποτελείται από ένα παχύ στρώμα κολλαγόνου), ή μπορεί να είναι πλούσιος σε λείες μυϊκές ίνες, ορίζονται ως αθηρώματα με ινώδη κάψα. Τα vasa vasorum σχηματίζουν ένα δίκτυο μικροαγγείων το οποίο προέρχεται κυρίως από τον έξω χιτώνα των μεγάλων αρτηριών. Αυτά τα αγγεία παρέχουν οξυγόνο και θρεπτικά στοιχεία στις πιο απομακρυσμένες περιοχές του αρτηριακού τοιχώματος. Καθώς οι αθηρωματικές πλάκες αναπτύσσονται και μεγαλώνουν, αποκτούν το δικό τους μικροαγγειακό δίκτυο, το οποίο επεκτείνεται από τον έξω χιτώνα στον μέσο χιτώνα και μέσα στον έσω χιτώνα που έχει παχυνθεί. Αυτά τα λεπτοτοιχωματικά αγγεία είναι επιρρεπή και συχνά υφίστανται ρήξη οδηγώντας σε αιμορραγία στο εσωτερικό της πλάκας, συμβάλλοντας έτσι στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης στα στεφανιαία αγγεία. Η λιπώδης πλάκα εξελίσσεται σε ινώδη πλάκα μέσω της συσσώρευσης στοιχείων του συνδετικού ιστού, ο οποίος περιέχει έναν μεγάλο αριθμό λείων μυϊκών ινών γεμάτων με λιπίδια, ενώ συχνά υπάρχει επίσης μία εξωκυττάρια συσσώρευση λιπιδίων. Οι πιο προχωρημένες αλλοιώσεις συχνά περιέχουν ένα νεκρωτικό, πλούσιο σε λιπίδια πυρήνα και περιοχές με εναποθέσεις ασβεστίου (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Ιστολογική εικόνα μιας αθηρωματικής πλάκας στις καρωτίδες. Τροποποιημένο από Hellings W. et al., Circulation 2010 May 4;121(17):1941-50.

Ο σχηματισμός του αθηρώματος σχετίζεται άμεσα με την αναδιαμόρφωση των στεφανιαίων αρτηριών. Η θετική αναδιαμόρφωση περιλαμβάνει επέκταση της πλάκας και του έξω ελαστικού πετάλου εξαιτίας μίας αντιρροπιστικής αύξησης του μεγέθους του αγγείου τοπικά, ενώ η αρνητική αναδιαμόρφωση αφορά τη μείωση του μεγέθους του έξω ελαστικού πετάλου στην περιοχή της αλλοίωσης, εξαιτίας της μείωσης του μεγέθους του αγγείου στο σημείο αυτό.

Η θετική αναδιαμόρφωση αποτελεί έναν αντιρροπιστικό μηχανισμό στα αρχικά στάδια της στεφανιαίας νόσου, με στόχο να αποφευχθεί η στένωση του αυλού παρά το σχηματισμό της πλάκας. Παρ' όλα αυτά, η αρτηριακή αναδιαμόρφωση που είναι απότοκος του σχηματισμού και της εξάπλωσης της πλάκας σχετίζεται με μη φυσιολογική λειτουργία της αρτηρίας και κλινικά συμπτώματα. Η θετική αναδιαμόρφωση παρατηρείται σε επιπλεγμένες, ασταθείς πλάκες σε ασθενείς με ασταθή στηθάγχη. Αντίθετα, η αρνητική αναδιαμόρφωση παρατηρείται σε πλάκες που προκαλούν σημαντική στένωση του αυλού σε ασθενείς με σταθερή στηθάγχη.

Τα πρώτα στοιχεία για την ύπαρξη της αθηροσκλήρωσης εντοπίζονται στο 1580 π.Χ., καθώς μελέτες σε αιγυπτιακές μούμιες αποκάλυψαν την ύπαρξη αθηρωματικών πλακών <sup>39</sup>. Στις αρχές του 19ου αιώνα, οι θεωρίες γύρω από την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης αποτέλεσαν πεδίο έντονης διαμάχης μεταξύ δύο διακεκριμένων παθολογοανατόμων της εποχής, του Rudolph Virchow (1821–1902) και του Carl von Rokitanski (1804–1878). Ο Virchow θεωρούσε πως αιτία της αθηροσκλήρωσης ήταν η φλεγμονή των αγγειακών τοιχωμάτων, στην οποία αναφερόταν ως "endarteritis deformans". Από την άλλη μεριά, ο von Rokitanski πρότεινε πως η αιτία της αθηροσκλήρωσης ήταν η εναπόθεση στοιχείων του αίματος στο αρτηριακό τοίχωμα σχηματίζοντας "πήγμα". Ωστόσο, η σύνδεση μεταξύ της χοληστερόλης και της αθηροσκλήρωσης αναδείχθηκε για πρώτη φορά από τον Nikolai Anichkov (1885–1964). Οι μελέτες του σε κουνέλια που φρόντιζε να ακολουθούν δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη το 1913 ανέδειξαν τη σχέση μεταξύ της χοληστερόλης και της αθηρωματικής καρδιαγγειακής νόσου <sup>39, 40</sup>. Με το έργο τους και οι τρεις ερευνητές παρείχαν στοιχεία καίριας σημασίας για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας της αθηρωμάτωσης. Ένα ακόμη σημαντικό επίτευγμα προς αυτή την κατεύθυνση ήταν η ανακάλυψη από τον Paris Constantinides το 1963, πως η ο σχηματισμός ρωγμών στην επιφάνεια μιας αθηρωματικής πλάκας ή η ρήξη της αποτελεί την αιτία αρκετών καρδιαγγειακών συμβαμάτων <sup>41</sup>. Αυτό έγινε εφικτό με προσεκτική αφαίρεση της αθηρωματικής

πλάκας στο σημείο της αρτηριακής θρόμβωσης κατά τη διάρκεια αυτοψίας, η οποία αποκάλυψε πως η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας και ο επακόλουθος σχηματισμός θρόμβου στο σημείο της ρήξης αποτελεί τον βασικό μηχανισμό εκδήλωσης καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Η διάβρωση, ο σχηματισμός ρωγμών της αθηρωματικής πλάκας με συνακόλουθο σχηματισμό θρόμβου χαρακτηρίστηκε ως ρήξη της πλάκας από τους Michael Davies και Anthony Thomasin το 1985. Οι Constantinides και Chakravarty χρησιμοποίησαν ως πειραματικό μοντέλο κουνέλια με αθηροσκλήρωση, στα οποία προκαλούσαν διάσπαση της αθηρωματικής πλάκας και συνακόλουθη θρόμβωση με τη χρήση δηλητηρίου οχιάς Russell (RVV) και ισταμίνης 42. Υπέθεσαν πως το δηλητήριο οχιάς και η ισταμίνη θα δημιουργούσαν συνθήκες παρόμοιες με αυτές που παρατηρούνται στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, καθώς επάγουν την ενεργοποίηση των παραγόντων πήξης Χα και Va προκαλώντας έτσι μια κατάσταση υπερπηκτικότητας και βλάβη του έσω χιτώνα των αρτηριών μέσω της αγγειοσύσπασης, αντίστοιχα. Πιο πρόσφατες μελέτες από τον Russell Ross (1929–1999) επικεντρώθηκαν στο ρόλο που διαδραματίζει ο τραυματισμός του αρτηριακού τοιχώματος ως εναρκτήριο σημείο για την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Στη συνέχεια, βρέθηκε πως οι οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDLs) κατέχουν κεντρικό ρόλο στην ενεργοποίηση των μακροφάγων, που ακολουθείται από την αποδόμηση της apoB-100 και στην μετατροπή των μακροφάγων σε αφρώδη κύτταρα 43. Άλλες μελέτες παρείχαν αδιάσειστα στοιχεία για την σημασία της φλεγμονής τόσο στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης όσο και στην αποσταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών. Όλα αυτά οδήγησαν στην δημιουργία του όρου ΄΄ευάλωτη αθηρωματική πλάκα΄΄, η οποία χαρακτηρίζεται από

την ύπαρξη πυρήνα πλούσιου σε λιπίδια, λεπτή ινώδη κάψα με διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα, μειωμένο ποσοστό λείων μυϊκών κυττάρων και αναδιαμόρφωση (remodeling) του τοιχώματος του αγγείου <sup>44</sup>. Ωστόσο, πιο πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει πως υπάρχει σύνδεση μεταξύ του σχηματισμού κρυστάλλων χοληστερόλης και της φλεγμονής μέσω της παραγωγής NLRP3 και IL-1β καθώς και ότι η μηχανική βλάβη στο αρτηριακό τοίχωμα και στην επιφάνεια της αθηρωματικής πλάκας μπορεί να προκαλέσει διάβρωση της επιφάνειάς της και πιθανή ρήξη.

### 1.3. Παθοφυσιολογία της ευάλωτης πλάκας

Γενικά, Οξυ Στεφανιαίο Σύνδρομο (ΟΣΣ) προκαλείται εξαιτίας του σχηματισμού θρόμβου μέσα σ'ένα στεφανιαίο αγγείο σε έδαφος μίας αθηρωματικής αλλοίωσης, με εξαίρεση σπάνιες περιπτώσεις όπως ο αυτόματος διαχωρισμός ή ο αγγειόσπασμος μίας στεφανιαίας αρτηρίας. Έχουν περιγραφεί τρεις διαφορετικοί μηχανισμοί που μπορεί να οδηγήσουν στο σχηματισμό θρόμβου μέσα σ' ένα στεφανιαίο αγγείο: ρήξη της πλάκας, διάβρωση της πλάκας και παρουσία ασβεστοποιημένου οζιδίου. Ως ρήξη της πλάκας ορίζεται η βλάβη ή η ασυνέχεια στην υπερκείμενη ινώδη κάψα του αθηρώματος, με αποτέλεσμα να εκτίθενται στον αυλό τα ιδιαίτερα θρομβογόνα στοιχεία του, κάτι το οποίο έχει ως επακόλουθο τον άμεσο σχηματισμό θρόμβου στο σημείο της ρήξης <sup>44, 45</sup>. Η παθογένεια του ΟΣΣ που σχετίζεται με τη διάβρωση της πλάκας δεν είναι τόσο σαφώς καθορισμένη, ωστόσο χαρακτηρίζεται από την απουσία ρήξης της πλάκας. Η ιστολογική εξέταση κάποιων περιστατικών δείχνει ότι στο σημείο της διάβρωσης είχε χαθεί η ενδοθηλιακή συνοχή, με αποτέλεσμα να εκτίθενται στον αυλό οι πρωτεογλυκάνες και τα λεία μυϊκά κύτταρα του έσω χιτώνα, που είναι πλούσιος σ' αυτά τα στοιχεία. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο επάγεται ο σχηματισμός θρόμβου σ' αυτά τα σημεία παραμένει άγνωστος. Οι Virmani et al. πρότειναν έναν τρίτο μηχανισμό που οδηγεί στο σχηματισμό θρόμβου μέσα σ' ένα στεφανιαίο αγγείο και σχετίζεται με την παρουσία ασβεστοποιημένου οζιδίου <sup>46</sup>. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό τα ασβεστοποιημένα οζίδια που έχουν υποστεί ρήξη προβάλλουν στον αυλό του αγγείου και έτσι προκαλούν θρόμβωση. Ο ρόλος των ασβεστοποιημένων οζιδίων στην παθογένεση στεφανιαίων συμβαμάτων παραμένει ασαφής.

Ο όρος "ευάλωτη πλάκα" χρησιμοποιήθηκε αρχικά από τους Muller et al. στα τέλη της δεκαετίας του 1980 για πλάκες σε στεφανιαία αγγεία που ήταν πολύ επιρρεπείς σε ρήξη <sup>47</sup>. Σήμερα, ως ευάλωτη πλάκα αναφέρεται η αθηρωματική πλάκα με μεγάλη πιθανότητα να επάγει θρόμβωση. Πρόσφατα, οι Stone et al. πρότειναν έναν εναλλακτικό, περισσότερο κλινικά προσανατολισμένο ορισμό της ευάλωτης πλάκας <sup>48</sup>. Ευάλωτη, λοιπόν, θεωρείται μία πλάκα που είναι παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση σοβαρών καρδιακών συμβαμάτων στο μέλλον. Παρ' όλα αυτά, ιστορικά οι περισσότερες παθοφυσιολογικές μελέτες που αφορούν τη μορφολογία της πλάκας με προδιάθεση για εμφάνιση ΟΣΣ, έχουν επικεντρωθεί στη ρήξη της πλάκας. Είναι αναμενόμενο μία πλάκα με έναν μεγάλο νεκρωτικό πυρήνα και μία λεπτή ινώδη κάψα να θεωρείται επιρρεπής στη ρήξη και αναφέρεται συχνά ως αθήρωμα με λεπτή ινώδη κάψα (thin-cap fibroatheroma: TCFA). Στην **Εικόνα 4** απεικονίζεται μία σχηματική αναπαράσταση μίας πιθανής ευάλωτης πλάκας, καθώς και των μορφολογικών στοιχείων που σχετίζονται με τη ρήξη.

69



Εικόνα 4. Ρήξη της αθηρωματικής πλάκας. Τροποποιημένο από Fuster V., Walsh R.A., Harrington R.A.: Hurts's the heart, 13<sup>th</sup> Edition.

Μελέτες αυτοψίας έχουν δείξει μία αντίστροφη σχέση μεταξύ του πάχους της κάψας και του κινδύνου για ρήξη της πλάκας, με το 95% των περιπτώσεων ρήξης της πλάκας να εμφανίζονται σε αθηρωματικές αλλοιώσεις με πάχος κάψας <65 μm. Σε μία μελέτη από τους Narula et al, στην οποία χρησιμοποιήθηκε νεκροτομικό υλικό από 295 στεφανιαίες αρτηρίες με αθηρωματικές πλάκες, αναλύθηκε η σημασία ποικίλων παθολογικών χαρακτηριστικών όσον αφορά στη διάκριση του ινώδους αθηρώματος με λεπτή κάψα (TCFA) από τη σταθερή αθηρωματική πλάκα και αποδείχθηκε ότι το πιο αξιόπιστο κριτήριο διάκρισης είναι το πάχος της ινώδους κάψας <sup>49</sup>. Η ύπαρξη κεντρικής νέκρωσης σε μία μεγάλη πλάκα επηρεάζει αρνητικά τη σταθερότητα της. Η επέκταση του νεκρωτικού πυρήνα μπορεί να οδηγήσει σε λέπτυνση της ινώδους κάψας και επομένως σε διάβρωση αυτής. Πράγματι, μελέτες αυτοψίας έχουν δείξει ότι οι πλάκες που έχουν υποστεί ρήξη σχετίζονται με ένα μεγάλο νεκρωτικό πυρήνα σε σχέση με τις πλάκες που δεν έχουν υποστεί ρήξη. Οι ινώδεις κάψες που έχουν υποστεί ρήξη εμφανίζονται πιο συχνά διηθημένες από αφρώδη μακροφάγα σε σχέση με τις κάψες ευάλωτων πλακών που δεν έχουν υποστεί ρήξη. Υπάρχει η υπόθεση ότι τα μακροφάγα μέσα στην ινώδη κάψα διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στη λέπτυνση και τελικά τη ρήξη της κάψας, εκκρίνοντας πρωτεολυτικά ένζυμα όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες που φαγοκυτταρώνουν θεμέλια ουσία (matrix metalloproteinases) <sup>18</sup>.

Οι στεφανιαίες αρτηρίες είναι πιθανό να ανταποκριθούν στην αύξηση της αθηρωματικής πλάκας με διάταση ή περιορισμό του αρτηριακού τοιχώματος, που ορίζεται ως θετική και αρνητική αναδιαμόρφωση αντίστοιχα. Ενώ οι ευάλωτες πλάκες των στεφανιαίων αρτηριών σχετίζονται με θετική αναδιαμόρφωση, οι σταθερές πλάκες σχετίζονται με αρνητική αναδιαμόρφωση του τοιχώματος του αγγείου. Παρόλο που με τη θετική αναδιαμόρφωση μπορεί να διευρύνεται ο αυλός, η συνεχής ανάπτυξη της πλάκας προς το εσωτερικό του αυλού θα επάγει τη νεοαγγείωση από μικρά αγγεία που προέρχονται από δίκτυο των αγγείων που αρδεύει τον έξω χιτώνα. Δυστυχώς, θεωρείται ότι αυτά τα μικροαγγεία επηρεάζουν αρνητικά τη σταθερότητα της πλάκας <sup>50, 51</sup>. Προκαλούν αιμορραγίες στο εσωτερικό της, κάτι το οποίο οφείλεται στο γεγονός ότι τα νεόπλαστα αυτά αγγεία είναι ασταθή, ενώ παράλληλα υπάρχει έλλειψη επαρκών στηρικτικών κυττάρων.

Η εναπόθεση ασβεστίου στις αθηρωματικές πλάκες σχετίζεται με όλα τα στάδια της αθηροσκλήρωσης και μπορεί να εμφανιστεί ακόμα και στην αρχική φάση της πάχυνσης του έσω χιτώνα. Η παρουσία μικροαποτιτανώσεων μέσα στη

71

λεπτή ινώδη κάψα ή η στικτή ασβεστοποίηση (spotty calcification) τους, μπορεί να είναι ένας δείκτης για τον καθορισμό της ευπάθειας της πλάκας. Αντίθετα, μεγαλύτερες σε έκταση εναποθέσεις ασβεστίου, «φύλλα αποτιτάνωσης», που αποτελούνται από τη συνένωση μικρότερων περιοχών μικροαποτιτάνωσης, σχετίζονται με αυξημένη σταθερότητα της πλάκας. Επομένως, ενώ αναφέρεται ότι η παρουσία μικροαποτιτάνωσης μέσα στην ινώδη κάψα και η ύπαρξη ενός ιδιαίτερου προτύπου ασβεστοποίησης που ονομάζεται στικτή ασβεστοποίηση (spotty calcification) σχετίζονται με τη ρήξη της πλάκας, οι πλάκες που αποτελούνται κατεξοχήν από μεγάλα φύλλα ασβεστοποίησης θεωρούνται ως σταθερές πλάκες.
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

## 2. Τα πειραματικά μοντέλα κουνελιών με αθηροσκλήρωση

# 2.1. Το πειραματικό μοντέλο γενετικά τροποποιημένων κουνελιών με αθηροσκλήρωση (Watanabe Rabbit)

Οι γενετικοί μηγανισμοί που ευθύνονται για την υπεργοληστερολαιμία στον άνθρωπο αρχικά αποσαφηνίστηκαν από τον Avedis Khatchadurianin το 1964, μέσω παρατήρησης του φαινοτύπου ατόμων με οικογενή υπεργοληστερολαιμία και των φυσικών ευρημάτων σε αυτά τα άτομα 52. Στη συνέχεια, ακολούθησε η ανακάλυψη της λειτουργίας του υποδογέα LDL και των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τη λειτουργία του από τους Michael Brown και Joseph Goldstein, οι οποίοι έδειξαν πως η απώλεια της λειτουργίας του υποδοχέα της LDL λόγω μεταλλάξεων στα υπεύθυνα γονίδια είχε ως αποτέλεσμα τα αυξημένα επίπεδα LDL στην κυκλοφορία <sup>53</sup>. Για αυτή την ανακάλυψη έλαβαν το βραβείο Nobel. Πιο πρόσφατα το έργο της Marianne Abifadel αντικείμενο την προπρωτεϊνική κονβερτάση με σαμπτισιλίνης/κεξίνης τύπου 9 (proprotein convertase subtilisin/kexintype 9 (PCSK9), οδήγησε στην ανακάλυψη ενός νέου θεραπευτικού στόχου για τη μείωση των επιπέδων LDL, μέσω της αναστολής της αποδόμησης των υποδοχέων LDL 54. То πειραματικό μοντέλο των Watanabe κουνελιών με κληρονομική υπεργοληστερολαιμία (Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit (WHHL)) είναι ένα καθιερωμένο μοντέλο για τη μελέτη της υπερχοληστερολαμίας και της αθηροσκλήρωσης. Τα WHHL κουνέλια χαρακτηρίζονται από μια ανεπάρκεια στον υποδοχέα της LDL με αποτέλεσμα τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα τους να είναι 8-14 φορές υψηλότερα από αυτά των κανονικών κουνελιών, γεγονός που οδηγεί

στην ανάπτυξη αθηρωματικών αλλοιώσεων. Το είδος αυτών των κουνελιών δημιουργήθηκε από τον καθηγητή Yoshio Watanabe στο πανεπιστήμιο του Κόμπε στην Ιαπωνία, με διαδογικές διασταυρώσεις κουνελιών που έφεραν μια συγκεκριμένη μετάλλαξη, η οποία ανακαλύφθηκε το 1973. Οι περαιτέρω διασταυρώσεις των WHHL κουνελιών είχαν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός είδους κουνελιών (myocardial infarction-prone Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHLMI)) τα οποία ανέπτυσσαν αθηρωματικές πλάκες στα στεφανιαία αγγεία, που ήταν ευάλωτες για αυτόματη ρήξη και εκδήλωση εμφράγματος του μυοκαρδίου <sup>55</sup>. Οι ομοιότητες στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών και στο είδος των αθηρωματικών αλλοιώσεων που ανέπτυσσαν τα WHHLMI κουνέλια με τον άνθρωπο, καθώς και τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά με την οικογενή υπερχοληστερολαιμία στον άνθρωπο, καθιστούν το μοντέλο των κουνελιών την πιο κατάλληλη μέθοδο για την μελέτη της αθηροσκλήρωσης σε σχέση με τη χρήση πειραματικών μοντέλων με ποντίκια (Εικόνα 5). Επιπλέον, ο Abela GS χρησιμοποίησε το μοντέλο των WHHL κουνελιών με παράλληλη εφαρμογή της τεχνικής Baumgartner και της τεχνικής του Constantinides, με τη χορήγηση δηλητηρίου οχιάς Russell (RVV) και ισταμίνης, για να επάγει τη ρήξη της πλάκας και τη δημιουργία θρόμβου αντίστοιχα. Τα τελικά αποτελέσματα ήταν όμοια με αυτά που παρατηρήθηκαν με το κλασικό μοντέλο των άσπρων κουνελιών Νέας Ζηλανδίας, που χρησιμοποιείται για τη μελέτη της αθηροσκλήρωσης (Abela, αδημοσίευτα δεδομένα). Το είδος των WHHL κουνελιών κατείχε σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των αναστολέων της αναγωγάσης του HMG-CoA (στατίνες). Η πρώτη στατίνη που ανακαλύφθηκε, η κομπακτίνη, προκαλούσε μείωση των επιπέδων της LDL στα WHHL κουνέλια <sup>56, 57</sup>. Στη συνέχεια, η πραβαστατίνη, που είναι ανάλογο της κομπακτίνης, μείωνε σημαντικά την ανάπτυξη και την εξέλιξη των αθηρωματικών αλλοιώσεων και των ξανθωμάτων στα WHHL κουνέλια. Περαιτέρω μελέτες σε αυτό το μοντέλο αποκάλυψαν μηχανισμούς με τους οποίους οι στατίνες επιτυγχάνουν τη σταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών <sup>58, 59</sup>.



Εικόνα 5. Η εξέλιξη της αθηρωμάτωσης στα WHHLMI κουνέλια. *Τροποποιημένο από* Shiomi M et al., Atherosclerosis 2009 Nov;207(1):1-7.

## 2.2. Η τεχνική Baumgartner

Δεδομένου πως μια διατροφή πλούσια σε χοληστερόλη μπορεί να χρειαστεί περισσότερο από δύο χρόνια για το σχηματισμό εκτεταμένων αθηρωματικών βλαβών σε φυσιολογικά κουνέλια, ο Baumgartner προκάλεσε και μηχανική βλάβη στο αρτηριακό τοίχωμα για να επιταχύνει τη διεργασία της αθηροσκλήρωσης στα κουνέλια <sup>60</sup>. Αυτό επετεύχθη με την προώθηση ενός καθετήρα εμβολεκτομής 4F (Fogarty embolectomy catheter), που έφερε ένα μπαλόνι από λατέξ στην αορτή μέσω της μηριαίας αρτηρίας και στη συνέχεια φούσκωμα του μπαλονιού και

αφαίρεση του καθετήρα με παλινδρομικές κινήσεις. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε 3 φορές με σκοπό την αφαίρεση του ενδοθηλίου από την επιφάνεια του έσω χιτώνα της αορτής. Τα κουνέλια συνέχισαν να ακολουθούν διατροφή πλούσια σε χοληστερόλη για αρκετές εβδομάδες. Με αυτή τη διαδικασία επιταχύνεται η διεργασία της αθηροσκλήρωσης και παρατηρείται σχηματισμός αθηρωματικών πλακών σε μεγαλύτερη έκταση σε σχέση με τα κουνέλια που ακολουθούν μόνο διατροφή πλούσια σε χοληστερόλη. Επιπλέον, η αφαίρεση του ενδοθηλίου με τη χρήση του μπαλονιού μπορεί να τροποποιήσει την φυσιολογική αγγειοκινητική λειτουργία των αρτηριών με τρόπο παρόμοιο με αυτόν που προκαλείται από την αθηροσκλήρωση στις ανθρώπινες αρτηρίες. Οι Furchgott και Zawadzki, σε ένα άλλο πειραματικό μοντέλο, που χρησιμοποιήθηκαν δακτυλιοειδή τεμάχια αορτής κανονικών κουνελιών, έδειξαν πως ο τραυματισμός του έσω χιτώνα της αορτής δημιουργεί απώλεια της αγγειοδιαστολής που προκαλεί φυσιολογικά η ακετυλοχολίνη 61. Η ανακάλυψη του ρόλου του μονοξειδίου του αζώτου στο πειραματικό μοντέλο των κουνελιών αποτέλεσε ένα από τα σημεία-κλειδιά στην μελέτη της βιολογίας των αγγείων κατά τον 21ο αιώνα και τιμήθηκε με βραβείο Νόμπελ το 1998.

# 2.3. Η χρήση του μοντέλου των κουνελιών με αθηροσκλήρωση για την αξιολόγηση τεχνικών αγγειοπλαστικής

Σε αρχικές μελέτες χρησιμοποιήθηκαν κουνέλια με αθηροσκλήρωση και τραυματισμό του ενδοθηλίου της αορτής με τη χρήση μπαλονιού, για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας διαφόρων αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων. Επιπλέον, το μοντέλο αυτό αξιοποιήθηκε στην ανάπτυξη της αγγειοπλαστικής με μπαλόνι για

την αντιμετώπιση της απόφραξης των στεφανιαίων αγγείων λόγω του σχηματισμού αθηρωματικών πλακών, βοηθώντας σημαντικά στην κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών. Οι μελέτες αυτές αποκάλυψαν την ύπαρξη σημείων ρωγμής στην επιφάνεια της αθηρωματικής πλάκας με ταυτόχρονο διαχωρισμό των αρτηριακών τοιχωμάτων και διάταση των σχετικά φυσιολογικών τμημάτων τους. Όταν η επαναστένωση των στεφανιαίων αγγείων αναγνωρίστηκε ως ένα συχνό επακόλουθο της αγγειοπλαστικής με παλόνι, το μοντέλο των κουνελιών επαναχρησιμοποιήθηκε για την κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών <sup>62</sup>. Η χρήση μηχανισμών laser και σχετικών θερμικών τεχνικών για την αντιμετώπιση της αρτηριακής επανασηράγγωσης, μελετήθηκε σε κουνέλια με αθηροσκλήρωση, ενώ η ιστοπαθολογική εξέταση των αθηρωματικών πλακών που αντιμετωπίστηκαν με αυτές τις μεθόδους ανέδειξε βλάβες από θερμικά κύματα και κύματα κλονισμού (shockwaves) 63. Το μοντέλο των κουνελιών με αθηροσκλήρωση χρησιμοποιήθηκε επίσης για την εκτίμηση της ανταπόκρισης των αγγείων στην τοποθέτηση stent, καθώς ήταν εύκολη η εισαγωγή των χρησιμοποιούμενων καθετήρων 64 (π.χ. στην αγγειοπλαστική με μπαλόνι και καθετήρες laser) στην αορτή, στις λαγόνιες και στις μηριαίες αρτηρίες των κουνελιών, οι οποίες έχουν διαστάσεις παρόμοιες με αυτές των ανθρώπινων στεφανιαίων αγγείων. Πιο πρόσφατα, οι Waxman et al. χρησιμοποίησαν αυτό το πειραματικό μοντέλο για να μελετήσουν την αναστολή της εξέλιξης των αθηρωματικών πλακών με τη χρήση φωτοδυναμικής θεραπείας, η οποία βασίζεται σε ένα παράγοντα που προκαλεί φωτοευαισθητοποίηση και σημαδεύει επιλεκτικά τις αθηρωματικές πλάκες 65. Η μέθοδος αυτή μειώνει τον αριθμό των μακροφάγων και ακολούθως την διήθηση των αθηρωματικών πλακών

από λεία μυϊκά κύτταρα. Με την τεχνική αυτή είναι δυνατή η σταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών και η αναστολή της εξέλιξης της αθηρωμάτωσης <sup>66</sup>.

# 2.4. Το μοντέλο των κουνελιών με αθηροσκλήρωση για την μελέτη των επιπτώσεων της φλεγμονής και της δίαιτας στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης

Τα κουνέλια με αθηροσκλήρωση εκφράζουν σε υψηλά επίπεδα τον ιστικό παράγοντα, την φλεγμονώδη κυτοκίνη CD40L και τον υποδοχέα της CD40 στο εσωτερικό των αθηρωματικών πλακών <sup>67</sup>. Ωστόσο, τα επίπεδα του ιστικού παράγοντα, του CD40L και του CD40 μειώνονται όταν αυτά τα κουνέλια ακολουθήσουν κανονική διατροφή. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν πως η ελάττωση των επιπέδων των λιπιδίων του πλάσματος (από μόνη της) μπορεί να προκαλέσει μείωση της πιθανότητας εκδήλωσης θρομβωτικών επεισοδίων στα κουνέλια με αθηροσκλήρωση.

# 2.5. Τροποποιημένο μοντέλο για τη μελέτη του μηχανισμού ρήξης των αθηρωματικών πλακών

Παρόλο που υπάρχει περιορισμένος αριθμός διαθέσιμων πειραματικών μοντέλων για τη μελέτη του μηχανισμού ρήξης των αθηρωματικών πλακών, το μοντέλο των κουνελιών με αθηροσκλήρωση μπορεί να αξιοποιηθεί για τη μελέτη αυτών των μηχανισμών με τη χρήση φαρμακευτικών ουσιών που επάγουν τη ρήξη των αθηρωματικών πλακών, RVV και ισταμίνη, όπως περιγράφηκε στο έργο του Constantinides et al <sup>68-70</sup>. Με βάση το έργο του Constantinides et al., το μοντέλο αυτό παρουσιάζει κάποιους περιορισμούς στη χρήση του, καθώς απαιτούνται 2 χρόνια προετοιμασίας των πειραματόζωων, εάν ακολουθούν μόνο δίαιτα πλούσια σε χοληστερόλη. Ωστόσο, με την αφαίρεση του ενδοθηλίου με τη χρήση καθετήρα με μπαλόνι παράλληλα με την υψηλή πρόσληψη χοληστερόλης όπως περιέγραψε ο Baumgartner, οι Abela et al. μείωσαν το χρόνο που απαιτείται για την προετοιμασία των πειραματόζωων σε 6 μήνες <sup>71</sup>. Επιπλέον, παρατηρήθηκε παρατεταμένη ενεργοποίηση των λείων μυϊκών κυττάρων και τον λευκοκυττάρων μετά τον τραυματισμό της αορτής των κουνελιών με τη χρήση καθετήρα με μπαλόνι, επάγοντας έτσι τη δημιουργία θρόμβων. Στο πρωτόκολλο αυτό, τα κουνέλια αρχικά ακολουθούν δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε χοληστερόλη για 2 εβδομάδες. Στη συνέχεια, ακολουθεί αφαίρεση του ενδοθηλίου από την αορτή με τη χρήση καθετήρα με μπαλόνι και εναλλαγή ανά μήνα μεταξύ κανονικής διατροφής και δίαιτας που περιλαμβάνει συμπληρωματική πρόσληψη χοληστερόλης σε ποσοστό 1 %. Με αυτόν τον τρόπο, η διαδικασία είναι καλύτερα ανεκτή από τα κουνέλια, καθώς μειώνεται η λιπώδης μετατροπή του ήπατος και η ηπατική ανεπάρκεια. Μετά από 6 μήνες, επάγεται η ρήξη των αθηρωματικών πλακών με τη χορήγηση RVV (0.15 mg/kg με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση) και ισταμίνης (0.02 mg/kg με ενδοφλέβια έγχυση) 48 και 24 ώρες πριν την ευθανασία (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Μηχανισμός ρήξης των αθηρωματικών πλακών των κουνελιών. (a) Μεγάλος θρόμβος πλούσιος σε αιμοπετάλια στον διχασμό των λαγονίων σε κουνέλι με φαρμακευτικά τροποποιημένες αθηρωματικές πλάκες. (b) Ιστολογική ανάλυση της πλάκας που έρχεται σε επαφή με τον θρόμβο κατά την οποία απεικονίζονται κρύσταλλοι χοληστερόλης πίσω από των έσω χιτώνα. (c) Εικόνα θρόμβου σε οπτικό μικροσκόπιο που επικάθεται στον αυλό του αγγείο (d) Θρόμβος πλούσιος σε ινική και αιμοπετάλια (ηλεκτρονικό μικροσκόπιο). *Τροποποιημένο από Abela O.G. et al., Curr Atheroscler Rep (2016) 18: 29.* 

Πιο πρόσφατα, οι Phinikaridou et al. χρησιμοποίησαν ένα πρωτόκολλο 3 μηνών, κατά τη διάρκεια του οποίου ακολουθήθηκε δίαιτα περιεκτικότητας 1% σε χοληστερόλη για 2 εβδομάδες. Ακολούθησε τραυματισμός της αορτής με τη χρήση καθετήρα με μπαλόνι και εν συνεχεία δίαιτα υψηλή σε χοληστερόλη για 6 εβδομάδες και κανονική διατροφή για 4 εβδομάδες, με σκοπό τη δημιουργία ποικίλου βαθμού αθηρωματικών αλλοιώσεων <sup>72</sup>. Στο τροποποιημένο πειραματικό μοντέλο του Constantinides et al. με την φαρμακολογική επαγωγή της ρήξης των

αθηρωματικών πλακών, παρατηρούνται 6 από τα 8 στάδια εξέλιξης αθηρωματικών πλακών που παρατηρούνται στον άνθρωπο όπως αυτά ορίζονται από την American Heart Association. Άλλοι ερευνητές αξιοποίησαν αυτό το μοντέλο για να μελετήσουν τον μηχανισμό ρήξης της αθηρωματικής πλάκας και της επακόλουθης θρόμβωσης με την χρήση της αγγειογραφίας μαγνητικού συντονισμού (MRI) <sup>73</sup>. Στο πειραματικό μοντέλο των κουνελιών, διαδοχικές MRIs απέδειξαν πως η αυξημένη ένταση του σήματος γαδολινίου από τις αθηρωματικές πλάκες σχετίζεται με σημαντικό κίνδυνο ρήξης με τη χορήγηση δηλητηρίου οχιάς Russell (RVV) και ισταμίνης <sup>74</sup>. Σε σύγκριση με την απεικόνιση των σταθερών πλακών στο ίδιο αγγείο, οι εικόνες των ευάλωτων πλακών χαρακτηρίζονται από αυξημένη ένταση του σήματος γαδολινίου για περισσότερο από 3 μήνες και από μια συνεχώς αυξανόμενη επιφάνεια του αγγειακού τοιχώματος και αυξανόμενο λόγο αναδιαμόρφωσης σε σχέση με τις σταθερές αθηρωματικές πλάκες. Στην ίδια ομάδα πειραματόζωων χορηγήθηκαν ενεργοποιημένα κυτταροδιεισδυτικά πεπτίδια (activatable cellpenetrating peptides, ACPPs) για καλύτερο εντοπισμό των αθηρωματικών πλακών υψηλού κινδύνου σε σχέση με τις σταθερές πλάκες με τη χρήση MRI 75. Τα φθορίζοντα ACPPs που στοχεύουν στην μεταλλοπρωτεϊνάσες 9 (MMP-9) και στη θρομβίνη, που είναι ενεργοποιημένες στις διαρρηγμένες πλάκες, δείχνουν υψηλή εκλεκτικότητα, ευαισθησία και συσσωρεύονται σε μεγαλύτερο βαθμό στις διαρρηγμένες αθηρωματικές πλάκες σε σχέση με τις σταθερές. Η ανάπτυξη των φθοριζόντων APCCs που μπορούν να ανιχνευτούν από την MRI μπορεί να επιτρέψει τον in vivo εντοπισμό των αθηρωματικών πλακών υψηλού κινδύνου. Σε μια άλλη προσέγγιση, ο Li et al. χρησιμοποίησαν β-κυκλοδεξτρίνη, η οποία ήταν

συζευγμένη με υπερπαραμαγνητικά νανοσωματίδια οξειδίων του σιδήρου, και προσδένεται επιλεκτικά σε κρυστάλλους χοληστερόλης και νανοσωματίδια γλυκάνης που στοχεύουν το CD44 για τον in vivo εντοπισμό των αθηρωματικών πλακών με τη χρήση της MRI<sup>76</sup>. Αυτές οι προσεγγίσεις μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό ευάλωτων αθηρωματικών πλακών, εφόσον, όπως έχει προταθεί, η ποσότητα των κρύσταλλων χοληστερόλης αποτελεί ενδεικτικό χαρακτηριστικό για επικείμενη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας.

# 2.6. Η χρήση του μοντέλου των κουνελιών για την εκτίμηση του ρόλου των κρυστάλλων χοληστερόλης και της φλεγμονής στη ρήξη των αθηρωματικών πλακών

Το μοντέλο των λευκών κουνελιών Νέας Ζηλανδίας με αθηροσκλήρωση, στα οποία επάγεται παρεμβατικά η ρήξη των αθηρωματικών πλακών, έχει αξιοποιηθεί για την αξιολόγηση της χρήσης της τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων (PET) με ταυτόχρονη χορήγηση δεοξυγλυκόζης [18F] deoxyglucose (FDG18) για την ανίχνευση περιοχών φλεγμονής στο αρτηριακό τοίχωμα με αυξημένη πιθανότητα να υποστούν ρήξη <sup>77</sup>. Η προσέγγιση αυτή βασίζεται στην αρχή ότι η PET μπορεί να ανιχνεύσει τις περιοχές με έντονη φλεγμονή λόγω της αυξημένης συσσώρευσης μακροφάγων. Οι βιοδείκτες φλεγμονής στο πλάσμα, η CRP και η Plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) αυξάνονται με την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης και είναι υψηλότεροι με τον σχηματισμό θρόμβωσης. Τα ευρήματα αυτά ταυτίζονται με ευρήματα μελετών σε ανθρώπους που μετρήθηκε η πρόσληψη FDG σε ασταθείς αθηρωματικές πλάκες στις καρωτίδες , όπως αναφέρουν οι Rudd et al <sup>78</sup>.

82

Σε μία άλλη μελέτη έγινε προσπάθεια διερεύνησης της συσχέτισης μεταξύ της φλεγμονής της καρωτιδικής πλάκας που εκτιμήθηκε με ακτινομετρία μικροκυμάτων (MWR) και με FDG-PET/ CT σε μια παρόμοια ομάδα ασθενών με σοβαρή καρωτιδική στένωση <sup>79</sup>. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων της θερμοκρασίας της καρωτίδας και της πρόσληψης FDG. Επιπλέον, μετρήσεις και με τις δύο μεθόδους συσχετίστηκαν με ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά ευρήματα.

Σε μία άλλη ανάλυση μελετήθηκε ο μηχανισμός ρήξης των αθηρωματικών πλακών και της επίδρασης της μείωσης των επιπέδων των λιπιδίων με τη χορήγηση εζετιμίμπης <sup>80</sup>. Τα κουνέλια, που χαρακτηρίζονταν από την παρουσία αθηροσκλήρωσης, χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, με τη μία να ακολουθεί θεραπεία με εζετιμίμπη και με την άλλη όχι, ενώ στη συνέχεια προκλήθηκε ρήξη των αθηρωματικών πλακών. Στη συνέχεια ακολούθησε άμεση εξέταση PET/CT και έγινε συσχέτιση με τους βιοδείκτες φλεγμονής στο πλάσμα και με τη συγκέντρωση των μακροφάγων στο αρτηριακό τοίχωμα. Τα κουνέλια που ακολούθησαν θεραπεία με εζετιμίμπη παρουσίασαν χαμηλότερη χοληστερόλη στο πλάσμα, μείωση της πυκνότητας των κρυστάλλων χοληστερόλης στο αρτηριακό τοίχωμα, μειωμένη συχνότητα ρήξης αθηρωματικών πλακών, χαμηλότερα επίπεδα βιοδεικτών φλεγμονής, μειωμένη ενεργοποίηση των μακροφάγων κα μικρότερη έκταση των αθηρωματικών πλακών (**Εικόνα 7**).



Εικόνα 7. (α) Αορτή κουνελιού σε αθηρογόνο δίαιτα όπου απεικονίζεται εκτεταμένη αθηρωμάτωση και θρόμβωση. (b) RAM 11 χρώση όπου απεικονίζεται συσσώρευση μακροφάγων (καφέ χρώμα). (c) PET, όπου απεικονίζεται αυξημένη πρόσληψη FDG στην αντίστοιχη αρτηρία. (d) Αορτή κουνελιού σε αθηρογόνο δίαιτα υπό εζετιμίμπη που απεικονίζεται μικρή αθηρωματική πλάκα και καθόλου θρόμβωση. (e) RAM 11 χρώση όπου απεικονίζεται ελάχιστη διήθηση από μακροφάγα. (f) PET, όπου απεικονίζεται χαμηλή πρόσληψη FDG. Απεικόνιση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αορτής κουνελιού σε αθηρογόνο δίαιτα όπου (g) φαίνεται η διάτρηση του έσω χιτώνα του αγγείου από κρυστάλλους χοληστερόλης και (h) υπό αγωγή με εζετιμίμπη όπου απεικονίζονται λίγοι κρύσταλλοι χοληστερόλης στην επιφάνεια του έσω χιτώνα. *Τροποποιημένο από Abela O.G. et al., Curr Atheroscler Rep (2016) 18: 29.* 

Τα ευρήματα αυτά συνάδουν με την μελέτη IMPROVIT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial) που δείχνει πως η εζετιμίμπη μπορεί να ελαττώσει σημαντικά τα καρδιαγγειακά συμβάματα, πέρα από τις ευεργετικές επιδράσεις των στατινών<sup>81</sup>. Οι αθηρωματικές πλάκες των κουνελιών

περιέχουν κρυστάλλους χοληστερόλης παρόμοιους με αυτούς που ανευρίσκονται στις ανθρώπινες αθηρωματικές πλάκες (Εικόνα 8)<sup>82,83</sup>.



Εικόνα 8.(a) Εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου του πρόσθιου κατιόντα κλάδου (LAD) σε ασθενή που απεβίωσε μετά από ΟΣΣ. Αμέσως κάτω από το σημείο της ρήξης της πλάκας απεικονίζονται κρύσταλλοι χοληστερόλης που προκαλούν διάτρηση της επιφάνειας του έσω χιτώνα (b-e). Εικόνα χαμηλής ισχύος από καρωτίδα ασθενούς με πράσινό φθορισμό (g,h). Αυξημένη μεγέθυνση που αποκαλύπτει την ύπαρξη κρυστάλλων χοληστερόλης που αναδύονται από την επιφάνεια της πλάκας. *Τροποποιημένο από Abela O.G. et al., Curr Atheroscler Rep (2016) 18: 29.* 

Σε μεταθανάτιες μελέτες 19 ατόμων που πέθαναν λόγω ΟΣΣ, η εξέταση με χρήση συνεστιακού και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης έδειξε πως

κρύσταλλοι χοληστερόλης διαπερνούσαν την ινώδη κάψα όλων των αθηρωματικών πλακών που είχαν υποστεί ρήξη. Εν αντιθέσει προς τα προηγούμενα, στην ίδια μελέτη δεν βρέθηκαν κρύσταλλοι γοληστερόλης να διαπερνούν την ινώδη κάψα των αθηρωματικών πλακών ασθενών οι οποίοι δεν πέθαναν από οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, παρά την εκτεταμένη παρουσία αθηρωματικών αλλοιώσεων στα στεφανιαία αγγεία. Με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης, διαπιστώθηκε πως η δομή των κρυστάλλων χοληστερόλης είναι σχεδόν ταυτόσημη με αυτή στις ανθρώπινες αθηρωματικές πλάκες, επιβεβαιώνοντας έτσι ξανά την καταλληλότητα του μοντέλου των κουνελιών για τη μελέτη φαρμακευτικών ουσιών κατά της αθηρωμάτωσης και την ανάπτυξη επεμβατικών απεικονιστικών μεθόδων όπως η MRI και η PET. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι στους ανθρώπους, συχνά γίνεται ρήξη αθηρωματικών πλακών σε διάφορα σημεία των αρτηριών και σε διαφορετικές αρτηρίες. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στα κουνέλια με αθηροσκλήρωση, στα οποία επάγεται παρεμβατικά η ρήξη των αθηρωματικών πλακών, καθώς παρατηρήθηκαν ρήξεις αθηρωματικών πλακών σε διαφορετικά αρτηριακά υποστρώματα (π.χ. στις στεφανιαίες αρτηρίες και σε διάφορα σημεία της αορτής) (Εικόνα 9) <sup>80</sup>.



Εικόνα 9. (a) Συνολική εικόνα του προσθίου τοιχώματος και της κορυφής της καρδιάς. (b) Διαφραγματικό έμφραγμα μυοκαρδίου μετά από πρόκληση (triphenyltetrazolium chloride staining)-(βέλη). (c) Στεφανιαίο αγγείο (διαμέτρου 20 μm) με οργανωμένο αποφρακτικό θρόμβο πλούσιο σε αιμοπετάλια (Masson's trichrome stain). (d) Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου στην οποία απεικονίζεται (σκούρα μωβ γραμμή) η πρώιμη διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων σε εμφραγματική ζώνη (hematoxylin and eosin). *Τροποποιημένο από Abela O.G. et al., Curr Atheroscler Rep (2016) 18: 29.* 

Συνεπώς, αυτό φανερώνει την ύπαρξη μιας συστηματικής διεργασίας με τοπικές εκδηλώσεις που συνάδει με έναν "ευάλωτο ασθενή", ο οποίος έχει "ευάλωτες" αθηρωματικές πλάκες σε συγκεκριμένα σημεία με εκτεταμένο σχηματισμό κρυστάλλων χοληστερόλης και έντονη φλεγμονή, οι οποίες είναι ευάλωτες σε πιθανή ρήξη <sup>84</sup>.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

## Απεικόνιση της ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας

Κατά κανόνα, οι TCFA πλάκες γαρακτηρίζονται ως "ευάλωτες πλάκες", δηλαδή πλάκες που είναι επιρρεπείς σε ρήξη 49,85. Η ανίχνευση των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών, με τη χρήση απεικονιστικών μεθόδων <sup>86</sup> μπορεί να βασιστεί στον εντοπισμό ποικίλων ανατομικών στοιχείων της TCFA, καθώς και διαφόρων μεταβολικών διεργασιών 87. Τα μορφολογικά γαρακτηριστικά και η μεταβολική δραστηριότητα των αθηρωματικών πλακών μπορούν να αξιολογηθούν<sup>86</sup>, κατά μη επεμβατικό τρόπο με την αξονική αγγειογραφία (CTA), τη μαγνητική τομογραφία (MRI) και την τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET). Οι επεμβατικές μέθοδοι απεικόνισης όπως ο ενδοαγγειακός υπέρηχος (IVUS) ή η ενδοαγγειακή μαγνητική τομογραφία (IV-MRI), παρέχουν αυξημένη ανάλυση επιτρέποντας την ακριβή απεικόνιση του αγγείου και των διαστάσεων του αυλού, καθώς επίσης τον προσδιορισμό της έκταση και της σοβαρότητας των αθηρωματικών βλαβών. Με την υπέρυθρη φασματοσκοπία (NIRS) μπορεί να προσδιοριστεί η χημική σύσταση του αρτηριακού τοιχώματος και να ποσοτικοποιηθεί το περιεχόμενο της πλάκας σε λίπος. Η οπτική συνεκτική τομογραφία (OCT) επιτρέπει την απεικόνιση των διαφόρων συστατικών της πλάκας με μεγάλη ανάλυση. Η ΟCT, παρέχει εικόνες εξαιρετικά υψηλής ανάλυσης και έτσι επιτρέπει την απεικόνιση των υποκείμενων παθολογικών διεργασιών σε κυτταρικό και σε υποκυτταρικό επίπεδο. Μία σύγχρονη μελέτη έδειξε ότι ένα πιο υψηλό ποσοστό των ΟΣΣ οφείλεται σε επιφανειακή διάβρωση της πλάκας και όχι σε ρήξη της ινώδους κάψας, κάτι το οποίο σημαίνει ότι η ρήξη της πλάκας δεν είναι ο κυρίαρχος μηχανισμός θρόμβωσης

στις στεφανιαίες αρτηρίες <sup>88</sup>. Η χρήση της μΟCT ανοίγει νέους ορίζοντες για τη λεπτομερή ανάλυση της εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης και μπορεί να φανεί χρήσιμη στη διευκρίνιση και διεύρυνση του ορισμού της ευάλωτης πλάκας.

#### 3.1. Επεμβατικές τεχνικές απεικόνισης

Η αγγειογραφία των στεφανιαίων αγγείων παρέχει σε πραγματικό χρόνο απεικόνιση του αυλού των στεφανιαίων αγγείων και της ανατομίας τους, αποτελώντας την πιο διαδεδομένη επεμβατική τεχνική για τη διάγνωση της στεφανιαίας νόσου και για κατεύθυνση της αγγειοπλαστικής (guiding PCI). Ωστόσο, η στεφανιογραφία χαρακτηρίζεται από αρκετούς περιορισμούς που πηγάζουν από την απεικόνιση σε δύο διαστάσεις του τρισδιάστατου στεφανιαίου αρτηριακού δικτύου και την αδυναμία αξιολόγησης του τοιχώματος του αγγείου, της σύστασης των αθηρωματικών πλακών καθώς και της έκτασης και της διανομής των αθηρωματικών αλλοιώσεων 89. Επιπλέον, η στεφανιογραφία σχετίζεται με αυξημένη ετερογένεια ανάμεσα στους μελετητές, στην οπτική εκτίμηση του βαθμού της στένωσης, ακόμα και ανάμεσα σε πεπειραμένους παρατηρητές, ενώ η ποσοτική στεφανιαία αγγειογραφία βελτιώνει οριακά τη διαγνωστική ακρίβεια και την ικανότητα εκτίμησης της λειτουργικότητας του αγγείου. Ακόμη, τμήματα των στεφανιαίων αγγείων που χαρακτηρίζονται ως φυσιολογικά στη στεφανιογραφία μπορεί να υποκρύπτουν ένα σημαντικό φορτίο αθηροσκλήρωσης 90,91. Τα νοσούντα αγγεία που δεν εμφανίζουν στένωση στην αγγειογραφική εξέταση υφίστανται αντιρροπιστικές μεταβολές σε απάντηση στο σχηματισμό αθηρωματικών πλακών, εμφανίζοντας προς τα έξω επέκταση του έξω ελαστικού πετάλου για τη διατήρηση της διατομής του αυλού (θετική αναδιαμόρφωση). Η ενδαγγειακή απεικόνιση με τη χρήση IVUS ή OCT παρέχει λεπτομερή απεικόνιση των ενδοαυλικών και διατοιχωματικών ανατομικών χαρακτηριστικών των στεφανιαίων αγγείων, ξεπερνώντας έτσι τους περιορισμούς της στεφανιογραφίας (Πίνακας 1).

Modality	Resolution	Penetration	Fibrous Cup	Lipid Core	Inflammation	Ca++	Thrombus	Current Status
IVUS	100 µm	Good	+	++	-	+++	+	CA
Angioscopy	UK	Poor	+	++	-	-	+++	CA
OCT	$10 \ \mu m$	Poor	+++	+++	+	+++	+	CS
Thermography	0.5 mm	Poor	_	_	+++	_	-	CS
Spectroscopy	NA	Poor	+	++	++	++	-	PCS
Intravascular MRI	$160 \mu\mathrm{m}$	Good	+	++	++	++	+	PCS

Πίνακας 1. Τεχνικές απεικόνησης της αθηρωματικής πλάκας. Τροποποιημένο από Toutouzas K. et al., J Interven Cardiol 2005; 18: 485 – 589.

### 3.1.1. Ενδαγγειακός υπέρηχος (Intravascular ultrasound: IVUS)

Το ενδαγγειακό υπερηχογράφημα είναι μία επεμβατική τεχνική απεικόνισης με χρήση καθετήρα η οποία επιτρέπει την εκτίμηση σε πραγματικό χρόνο, με τη λήψη πολλαπλών τομών σε όλους του άξονες (real-time cross-sectional assessment) του αγγείου και των διαστάσεων του αυλού καθώς και την κατανομή και τη μορφολογία των αθηρωματικών πλακών. Η απεικόνιση με τη χρήση της κλίμακας του γκρι στον ενδαγγειακό υπέρηχο μετράει το εύρος των ανακλώμενων ηχητικών σημάτων και παρέχει αξονική ανάλυση της τάξης των 150–250 μm με βάθος διείσδυσης 45mm.

Η ενδαγγειακή υπερηχογραφία χρησιμοποιεί έναν μικρού μεγέθους ανιχνευτή υπερήχων τοποθετημένο στο τέλος ενός ευέλικτου (2.5–3.5 French) καθετήρα που εισάγεται στις στεφανιαίες αρτηρίες και λαμβάνει εικόνες. Οι τυπικές συχνότητες λειτουργίας των καθετήρων IVUS είναι 20–60 MHz <sup>92, 93</sup>. Η ασφάλεια του IVUS έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες. Με εξαίρεση τον παροδικό αγγειόσπασμο, η

συχνότητα των επιπλοκών εξαιτίας του IVUS ήταν εξαιρετικά χαμηλή (λιγότερο από 0.6%), ενώ δεν έχει παρατηρηθεί επιτάχυνση της διαδικασίας της αθηροσκλήρωσης με τη χρήση του.

Τα χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας και η μορφολογία της. Στο κλασικό ενδοστεφανιαίο υπερηχογράφημα με βάση την κλίμακα του γκρι, οι υγιείς στεφανιαίες αρτηρίες εμφανίζουν 3 διακριτές στιβάδες. Η πρώτη στιβάδα είναι ο έσω χιτώνας και διαχωρίζεται από το μέσο χιτώνα με το έσω ελαστικό πέταλο. Η αθηρωματική πλάκα σχηματίζεται στον έσω χιτώνα. Η δεύτερη στιβάδα είναι ο μέσος χιτώνας, που αποτελείται από λεία μυϊκά κύτταρα και είναι ηχοδιαφανής. Η τρίτη στιβάδα που διακρίνεται στην IVUS αποτελείται από την ακουστική επιφάνεια μεταξύ του έξω ελαστικού πετάλου και του έξω χιτώνα (Εικόνα 11). Το IVUS στη κλίμακα του γκρι δεν μπορεί να γρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό και την ποσοτικοποίηση ειδικών ιστολογικών χαρακτηριστικών, καθώς οι εικόνες του υπερήχου διαφέρουν ριζικά από τις ιστολογικές. Οι αθηρωματικές πλάκες με πλούσιο λιπώδη πυρήνα εμφανίζονται υπόηχες, οι αθηρωματικές πλάκες με ινώδη κάψα αποτελούν την πλειοψηφία των αθηρωματικών αλλοιώσεων και εμφανίζουν μέτρια ηχογένεια, ενώ οι ασβεστοποιημένες πλάκες έχουν αυξημένη ηχογένεια και δημιουργούν σήματα με ακουστική σκιά. 94.



Εικόνα 11. Τυπική συμβατική απεικόνιση στη κλίμακα του γκρι, της εικόνας που λαμβάνεται από το IVUS. Α' Καρδιολογική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

**Ρήξη της πλάκας.** Με τη χρήση ενδαγγειακής υπερηχογραφίας, ως ρήξη της πλάκας ορίζεται ο σχηματισμός κοιλότητας που επικοινωνεί με τον αυλό του αγγείου, με διαρρηγμένη επιφανειακή ινώδη κάψα <sup>95</sup>. Η ρήξη μιας αθηρωματικής πλάκας είναι η πιο κοινή αιτία (60%–70%) εκδήλωσης ΟΣΣ και σχετίζεται με κακή πρόγνωση <sup>96</sup>. Οι Kusama et. al αναφέρουν πως η ρήξη της πλάκας σχετίζεται με εμφράγματα μεγαλύτερης έκτασης και υψηλότερα ποσοστά μη επαναιμάτωσης μετά από PCI <sup>97</sup>. Μία πρόσφατη μελέτη με τη χρήση OCT/IVUS από τους Soeda et al. έδειξε πως η μη επαναιμάτωση σχετίζεται με αρνητική έκβαση, συμπεριλαμβανομένης της θνησιμότητας και της συστολικής δυσλειτουργίας. Παρατηρείται στο 40% των ασθενών με STEMI και μέγεθος της αθηρωματικής πλάκας μεγαλύτερο από 80% (του αγγείου) και αποτελεί προβλεπτικό δείκτη της μη

αθηρωματικής πλάκας, όπως εντοπίζεται με το IVUS, δεν αντιπροσωπεύει την "ύποπτη" αθηρωματική αλλοίωση. Οι Hong et al. αναφέρουν πως το IVUS ανιχνεύει τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας στο 66% των "ύποπτων" αλλοιώσεων και στο 17% των αρτηριών που δεν σχετίζονται με το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, σε ασθενείς μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου <sup>99, 100</sup>. Η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας προκαλεί συμπτώματα όταν σχετίζεται με μικρά MLAs (minimum lumen area - ελάχιστη επιφάνεια του αυλού ) και σχηματισμό θρόμβου, ενώ ρήξη της αθηρωματικής πλάκας χωρίς την εκδήλωση συμπτωμάτων σχετίζεται με το σχηματισμό ουλώδους ιστού και με την εξέλιξη της αθηρωματικής αλλοίωσης.

**Θρόμβος.** Με τη χρήση του IVUS, ένας θρόμβος αναγνωρίζεται ως μία ενδοαυλική επιφάνεια με στιβαδωτή εμφάνιση, με σχετικά υποηχογενή ή έντονα ηχητικά σήματα, ενώ ορισμένες φορές παρατηρείται ροή αίματος στο εσωτερικό της μάζας, με το σχηματισμό μικροαυλών. Ωστόσο, τα ευρήματα αυτά με τη χρήση IVUS έχουν μειωμένη ευαισθησία και ειδικότητα, και ο αποκλεισμός της διάγνωσης θρόμβου είναι εφικτός μόνο όταν απουσιάζουν όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά.

**Ασβέστωση.** Η έκταση της ασβεστοποίησης των στεφανιαίων αρτηριών συσχετίζεται με το βαθμό της αθηροσκλήρωσης και μελλοντικά καρδιαγγειακά επεισόδια. Στον IVUS, το ασβέστιο εμφανίζεται ως υπερηχογενής πλάκα που φαίνεται πιο φωτεινή από τον έξω χιτώνα που απεικονίζεται ως ακουστική σκίαση (Εικόνα 12).



Εικόνα 12. Εκτίμηση των επιμέρους χαρακτηριστικών της αθηρωματικής πλάκας με το ενδοστεφανιαίο υπερηχογράφημα. (Α) Υποηχογενής πλάκα (Β) Ασβεστωμένη πλάκα που παρατηρούνται 2 τοξοειδής σχηματισμοί ασβεστίου εντός αυτής (C) Ρηχθείσα αθηρωματική πλάκα με σχηματισμό κοιλότητας εντός της πλάκας (κίτρινος αστερίσκος). *Τροποποιημένο από Song AJ et al.*, *Echocardiography. 2018 Apr*;35(4):520-533.

Οι σταθερές αλλοιώσεις παρουσιάζουν μεγαλύτερο βαθμό αποτιτάνωσης από τις ασταθείς αλλοιώσεις. Ωστόσο, οι ασταθείς αλλοιώσεις σχετίζονται με την παρουσία στικτών ασβεστώσεων και ασβεστοποιημένων οζιδίων <sup>101</sup>. Με τον όρο «στικτές ασβεστώσεις» ορίζεται η μικρή σε έκταση εναπόθεση ασβεστίου με τόξο < 90° και σχετίζεται με προχωρημένη αθηροσκλήρωση και την επιτάχυνση της εξέλιξης της νόσου <sup>102</sup>.

Ο ενδοαγγειακός υπέρηχος είναι η πιο ακριβής μέθοδος για την ανίχνευση του ασβεστίου από την αγγειογραφία. Σε μια μελέτη που εξετάστηκαν 1155 αλλοιώσεις αγγείων με τον ενδαγγειακό υπέρηχο εντοπίστηκε ασβέστιο στο 73% των βλαβών σε σύγκριση με το 38% που ανιχνεύτηκε με την αγγειογραφία <sup>103</sup>. Παρόλα αυτά ο ενδαγγειακός υπέρηχος δεν ανίχνευσε το ασβέστιο σε 14,8% των τμημάτων με μικροαποτιτανώσεις ή ασβέστιο που βρισκόταν πιο βαθιά (κρυμμένο), πίσω από μεγάλους νεκρωτικούς πυρήνες. Η παρουσία ασβεστίου έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με οξείες επιπλοκές μετά από παρεμβατικές τεχνικές, όπως αιμορραγία, θρόμβωση των stent (ST), επαναγγείωση των αγγείων-στόχων (TVR) και έμφραγμα του μυοκαρδίου μετά από επαναγγείωση. Το γεγονός αυτό μπορεί να εξηγηθεί από τη μη φυσιολογική έκπτυξη του stent και τις αυξημένες ανεπιθύμητες επιπτώσεις μετά από την PCI (μη επαναιμάτωση, διαχωρισμός του αγγείου, διάτρηση του αγγείου λόγω της χρήσης υψηλής πίεσης για την έκπτυξη του μπαλονιού και συσκευών τροποποίησης της αθηρωματικής πλάκας), που παρατηρούνται σε αθηρωματικές αλλοιώσεις με μεγάλο βαθμό ασβέστωσης. Συνεπώς, το IVUS μπορεί να βοηθήσει στην εκτίμηση της αθηρωματικής πλάκας και στην προετοιμασία της για την τοποθέτηση του stent με σκοπό το βέλτιστο αποτέλεσμα στην αντιμετώπιση των ασβεστοποιημένων αλλοιώσεων <sup>104, 105</sup>.

## **3.1.2.** Εικονική ιστολογία (Virtual histology IVUS: VH-IVUS)

Η εικονική ιστολογία (VH-IVUS) χρησιμοποιεί τεχνολογία ανάλυσης των ριαδιοσυχνοτήτων των ηχητικών κυμάτων που αντανακλώνται για την δημιουργία πολλαπλών παραμέτρων της αθηρώματικής πλάκας και έτσι μπορεί να παρέχει μία πιο ακριβή ανάλυση της σύστασης της πλάκας (Εικόνα 13).



Εικόνα 13. IVUS – VH. Τα συστατικά της αθηρωματικής πλάκας με χρωματισμούς, με σκούρο πράσινο χρώμα απεικονίζεται ο ινώδης συνδετικός ιστός, με ανοικτό πράσινο ο ινολιπώδης ιστός, με κόκκινο ο νεκρωτικός πυρήνας και με άσπρο χρώμα το πυκνό ασβέστιο. *Α' Καρδιολογική Κλινική, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών*.

Ωστόσο εξαιτίας της περιορισμένης διακριτικής ικανότητας (250 μm) η VH-IVUS δε μπορεί να προσδιορίσει άμεσα τη λεπτή ινώδη κάψα. Γι' αυτό, ο ορισμός της TCFA με βάση την VH-IVUS βασίζεται στις ακόλουθες ποσοτικές μετρήσεις: μία βλάβη στην οποία  $\geq$  10% της σύστασής της αφορά σε νεκρωτικό πυρήνα χωρίς εμφανή κάλυψη από ινώδη ιστό με αθηρωματικό φορτίο  $\geq$  40%. Η χρήση της VH-IVUS για τον χαρακτηρισμό των συστατικών της ευάλωτης πλάκας έχει ερευνηθεί εκτενώς και έχει αποδειχθεί ότι οι ασθενείς που είχαν εμφανίσει ΟΣΣ έχουν σε σημαντικό ποσοστό περισσότερες TCFA πλάκες και περισσότερες πλάκες που έχουν υποστεί ρήξη. Επιπλέον, οι ύποπτες βλάβες σε ασθενείς με ΟΣΣ είχαν μεγαλύτερο ποσοστό σε νεκρωτικό πυρήνα και μικρότερο ποσοστό σε ινο-λιπώδη συστατικά. Στη μελέτη PROSPECT (Providing Regional Observations to Study Predictors of Events in the Coronary Tree), 697 ασθενείς με ΟΣΣ υποβλήθηκαν σε VH-IVUS. Κατά τη διάρκεια της επεμβατικής αγγειογραφίας αξιολογήθηκαν τόσο οι ύποπτες βλάβες όσο και οι βλάβες που δε θεωρούνται ύποπτες. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως κατά την παρακολούθηση, μέσης διάρκειας 3 με 4 ετών, η επανεκδήλωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων ήταν ίδια ανάμεσα στις μη ύποπτες (11.6%) και στις ύποπτες αθηρωματικές αλλοιώσεις (12.9%). Οι μη ύποπτες αλλοιώσεις που σχετίζονται με την εκδήλωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων χαρακτηρίζονται από αθηρωματικό φορτίο ≥70% και ελάχιστη επιφάνεια αυλού <4.0mm<sup>2</sup> ή κατηγοριοποιούνται ως TCFA με βάση το VH-IVUS. Παρόλο που η VH-IVUS χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο στην κλινική έρευνα για να αναγνωριστούν τα χαρακτηριστικά της ευάλωτης πλάκας η ικανότητά της να αναγνωρίσει τις TCFA πλάκες και να προσδιορίσει τα ποσοτικά τους χαρακτηριστικά παραμένει πρόκληση. Μια ex vivo μελέτη σε χοίρους προσπάθησε να ερευνήσει τη συσχέτιση μεταξύ VH-IVUS και των ιστολογικών μετρήσεων όσων αφορά το μέγεθος του νεκρωτικού πυρήνα. Τα ευρήματα δεν έδειξαν την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των μετρήσεων του νεκρωτικού πυρήνα που πραγματοποιούνται με VH-IVUS και ιστολογικές τεχνικές. Αυτή η ex vivo μελέτη εφιστά προσοχή στην αποκλειστική χρήση των μετρήσεων που πραγματοποιούνται με VH-IVUS για την εκτίμηση θεραπευτικών προσεγγίσεων, την πρόβλεψη μελλοντικών συμβαμάτων και τον έλεγχο αποτελεσματικότητας άλλων απεικονιστικών τεχνικών.

#### 3.1.3. Ενδαγγειακή Μαγνητική (Intravascular MRI: IV-MRI)

Παρά τις πρόσφατες εξελίξεις στη μη επεμβατική μαγνητική τομογραφία καρδιάς η ανίχνευση των αθηρωματικών πλακών και η κατάταξή τους με βάση τα χαρακτηριστικά τους παραμένει δύσκολη. Η μεγάλη απόσταση ανάμεσα στο πηνίο του μαγνητικού τομογράφου και τις στεφανιαίες αρτηρίες οδηγεί σε μία μείωση του λόγου σήμα/θόρυβος, με αποτέλεσμα αλλοιωμένη ποιότητα εικόνας. Η ελικοειδής πορεία των στεφανιαίων αρτηριών καθώς και τα σφάλματα κίνησης που προκύπτουν εξαιτίας του καρδιακού κύκλου και της κίνησης του διαφράγματος επιπλέκουν περαιτέρω την απεικόνιση της καρδιάς με μαγνητική τομογραφία. Μία παλαιότερη μελέτη έδειξε ότι ένα πηνίο με διαστάσεις 7.62 cm συνδεδεμένο σε έναν 1.5 Τ σαρωτή MRI ήταν ικανό να διακρίνει τα ινώδη συστατικά της αθηρωματικής πλάκας από τα ασβεστοποιημένα και τα πλούσια σε λιπίδια συστατικά (p = 0.0001), με διακριτική ικανότητα της τάξης των 312 μm στις λαγόνιες αρτηρίες. Αυτή η χωρική διακριτική ικανότητα ωστόσο, δεν είναι επαρκής για να αναγνωρίσει τις TCFA πλάκες. Επιπλέον, η ανάγκη χρήσης ενός εξωτερικού σαρωτή και η ενδεχόμενη αύξηση της θερμοκρασίας του τοιχώματος του αγγείου λόγω της χρήσης πηνίων in vivo εμποδίζει την καθιέρωση αυτής της τεχνικής στην καθημερινή κλινική πράξη. Η χωρική διακριτική ικανότητα της IV-MRI είναι 160 μm. Μία προηγούμενη μελέτη στην οποία χρησιμοποιήθηκε ex vivo IV-MRI έδειξε ότι η μέθοδος είχε μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα (100% και 89%, αντίστοιχα) για βλάβες των στεφανιαίων αρτηριών, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε ιστολογικά. Η πρώτη in vivo χρήση της IV-MRI σε στεφανιαίες αρτηρίες ήταν ικανή να διακρίνει τις ινώδεις αθηρωματικές πλάκες από τις πλούσιες σε λιπίδια πλάκες με καμία επιπλοκή κατά τη διάρκεια παρακολούθησης 30 ημερών. Οι βελτιώσεις των παραγόντων αντίθεσης σε συνδυασμό με την IV-MRI ενδέχεται να επιτρέψουν την ανίχνευση και άλλων στοιχείων των ευάλωτων πλακών, όπως η φλεγμονώδης δραστηριότητα, η νεοαγγείωση και η παρουσία θρόμβου (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Έγχρωμη ψηφιακή εικόνα που δημιουργήθηκε μετά από χαρτογράφηση των διαφόρων ιστολογικών συστατικών σε διατομή αθηρωματικής πλάκας και η συσχέτιση με τις αντίστοιχες εικόνες μαγνητικού συντονισμού. Οι περιοχές της ινώδους κάψας, του οιδηματώδους κολλαγόνου, των λείων μυϊκών ινών, των λιπιδίων, της αιμορραγίας, του οργανωμένου θρόμβου και του ασβεστίου κωδικοποιήθηκαν με χρώμα και χρησιμοποιήθηκαν για να καθοδηγήσουν τον εντοπισμό των ROI σε εικόνες μαγνητικού συντονισμού. Ο ινώδης ιστός με το μπλε χρώμα έχει παρόμοια σύνθεση με την πυκνή ινώδη κάψα αλλά είναι εξωτερικά του λιπώδους ιστού. Πρόσφατη αιμορραγία δεν υπάρχει σε αυτό το παράδειγμα. *Τροποποιημένο από Walter J. Rogers et al., Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000;20:1824-1830*.

Η φασματοσκοπία NIR είναι μία μέθοδος με την οποία είναι δυνατόν να προσδιοριστεί η χημική σύσταση του αρτηριακού τοιχώματος. Παρέχει τα δεδομένα της ανάλυσης της σύστασης του αρτηριακού τοιχώματος με τη μορφή «χημειογράμματος» (ένα δισδιάστατο έγχρωμο χάρτη που απεικονίζει τα σκορ πρόβλεψης του λιπιδιακού φορτίο), το οποίο διευκολύνει την ανίχνευση των ευάλωτων πλακών. Με τη ΝΙR φασματοσκοπία εκπέμπεται υπέρυθρη ακτινοβολία μέσα στον ιστό και ακολούθως μετράται η αναλογία του ανακλώμενου φωτός σε σχέση με το μεγάλο εύρος του μήκους κυμάτων του ορατού φωτός (από 800 έως 2500 nm). Η χρήση της φασματοσκοπίας NIR για την ανίχνευση των TCFA πλακών ερευνήθηκε πρώτη φορά σε δείγματα ανθρώπινης αορτής που προέρχονταν από αυτοψία. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της φασματοσκοπίας NIR για τον προσδιορισμό των ιστολογικών χαρακτηριστικών της αθηρωματικής πλάκας με βάση τα οποία καθορίζεται αν μία πλάκα είναι ευάλωτη ήταν: 90% και 93% για την λιπώδη δεξαμενή, 77% και 93% για την λεπτή ινώδη κάψα, 84% και 89% για τα φλεγμονώδη κύτταρα, αντίστοιχα. Η ικανότητα της φασματοσκοπίας NIR για την ανίχνευση των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών στις στεφανιαίες αρτηρίες ελέγχθηκε με ιστολογική ανάλυση ως μέθοδο αναφοράς και επικυρώθηκε. Με τη χρήση ενδοστεφανιαίας φασματοσκοπίας NIR εξετάστηκαν αθηρωματικές βλάβες και αποδείγθηκε ότι στις αθηρωματικές βλάβες που ευθύνονταν για την εμφάνιση ΟΣΣ ο νεκρωτικός λιπώδης πυρήνας αποτελούσε το 84.4% της αθηρωματικής πλάκας έναντι του 52.8% των αθηρωματικών πλακών σε ασθενείς με σταθερή στηθάγχη. Ταυτόχρονα χαρακτηρίζονταν από υψηλότερο lipid core burden index

(LCBI) (391± 229 έναντι 226 ±268, p< 0.001). Μία ακόμη μελέτη έδειξε πως συνδυάζοντας τις μετρήσεις του LCBI, με βάση τη φασματοσκοπία NIR και τις μετρήσεις του πάχους του τοιχώματος της πλάκας, όπως προκύπτουν από τον IVUS βελτιώνεται σημαντικά η ικανότητα προσδιορισμού των ευάλωτων πλακών (p = 0.028). Η εντατική θεραπεία με στατίνες για σύντομο χρονικό διάστημα είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του LCBI όπως αυτό μετρήθηκε με τη φασματοσκοπία NIR μετά από 7 εβδομάδες παρακολούθησης. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ενθαρρυντικά για τη διεξαγωγή μελετών με μεγαλύτερο χρόνο παρακολούθησης των ασθενών στο μέλλον, ενώ επισημαίνουν τις δυνατότητες της φασματοσκοπίας NIR στη φαρμακολογική έρευνα.

## 3.1.5. Οπτικής συνεκτική τομογραφία (Optical coherence tomography: OCT)

Η οπτική συνεκτική τομογραφία (OCT) είναι μία διαγνωστική τεχνική καθετηριασμού των στεφανιαίων αρτηριών που παρέχει λεπτομερή απεικόνιση των αιμοφόρων αγγείων στο αιμοδυναμικό εργαστήριο. Το πρώτο σύστημα OCT αναπτύχθηκε από την ομάδα του James G. Fujimoto το 1991. Μέχρι τις αρχές του 2000, ο Yabushita και οι συνεργάτες του είχαν καταγράψει τις πρώτες εικόνες αθηροσκλήρωσης σε ανθρώπινες στεφανιαίες αρτηρίες. Το 2008, ήταν διαθέσιμο το πρώτο σύστημα time-domain OCT (M2 OCT imaging system, LightLab Imaging, Inc., Westford, MA, USA), το οποίο άρχισε να χρησιμοποιείται στην Ιαπωνία και το κόστος της εξέτασης καλυπτόταν από την ασφάλεια του ασθενούς <sup>106</sup>. Ωστόσο, το σύστημα time-domain OCT απαιτούσε την προσθήκη ενός over-the-wire-type καθετήρα με μπαλόνι για την απόφραξη της αιματικής ροής, για τη λήψη συνεχών εικόνων μεγάλων τμημάτων του αγγείου. Γιαυτό το λόγο, η εφαρμογή του

101

συστήματος time-domain OCT περιορίστηκε κυρίως σε ερευνητικούς σκοπούς. Πρόσφατα, αναπτύχθηκε μία νέα γενιά συστημάτων OCT, όπως η frequencydomain OCT και η optical frequency-domain imaging (OFDI), με σκοπό να υπερνικήσουν αυτόν τον περιορισμό<sup>107</sup>. Έκτοτε, η OCT έχει γίνει μία αξιοσημείωτη τεχνική βασιζόμενη στη χρήση καθετήρων, που μπορεί να παρέχει επιστημονικά δεδομένα στη βιολογία των αγγείων και πρακτική καθοδήγηση κατά τη διενέργεια αγγειοπλαστικής στην κλινική πράξη<sup>108</sup>.

Η OCT είναι ένα οπτικό ανάλογο της IVUS, όμως με χωρική διακριτική ικανότητα 10 φορές μεγαλύτερη. Η απεικόνιση με τη χρήση ΟCT βασίζεται στην αρχή πόλωσης του φωτός και χρησιμοποιεί οπτικές ίνες που εκπέμπουν ακτίνες φωτός και συλλέγουν τη αντανάκλασή τους. Εξαιτίας της εξασθένισης του φωτός που προκαλείται από το αίμα, για τη χρήση των συστημάτων ΟCT ήταν αναγκαία η απομάκρυνση του αίματος κατά τη διενέργεια της εξέτασης. Εξαιτίας της υψηλής χωρικής διακριτικής ικανότητάς της (10 μm), η OCT επιτρέπει τη μέτρηση του πάχους της ινώδους κάψας. Ωστόσο, η χαμηλή διείσδυση στους ιστούς (σε βάθος 1-2.5 mm) αποκλείει την απεικόνιση μεγάλων αθηρωματικών πλακών ή τη χρήση της σε μεγάλα αγγεία. Μία ex vivo μελέτη εξέτασε την ακρίβεια της OCT σε σχέση με το IVUS όσον αφορά στην κατηγοριοποίηση των τύπων των αθηρωματικών πλακών στις στεφανιαίες αρτηρίες έχοντας ως σημείο αναφοράς την ιστολογική τους ταξινόμηση. Η απεικόνιση με τη χρήση ΟCT είναι ταχύτερη και παρέχει εικόνες υψηλότερης ανάλυσης, αλλά έχει χαμηλότερο βάθος διείσδυσης στους ιστούς σε σχέση με το IVUS με βάση την κλίμακα του γκρι. Η υψηλότερη διακριτική ικανότητα της ΟCT προσφέρει καλύτερη εκτίμηση των επιμέρους λεπτομερειών σε σχέση με το IVUS, όπως και πιο λεπτομερή καθορισμό των ιστολογικών χαρακτηριστικών (π.χ. εναπόθεση ασβεστίου, παρουσία θρόμβου, σχηματισμός νεοχιτώνα) και των παραμέτρων του stent, όπως κακή τοποθέτησή του στο τοίχωμα του αγγείου, πρόπτωση πλάκας εντός των struts ή διαχωρισμός της πλάκας <sup>109</sup>. Εξαιτίας του μεγαλύτερου βάθους διείσδυσης, η IVUS είναι πιο κατάλληλη για τον έλεγχο μεγαλύτερων αγγείων, όπως η αριστερή στεφανιαία αρτηρία και για την απόκτηση πιο αξιόπιστων εικόνων των αθηρωματικών πλακών κοντά στην έκφυση των στεφανιαίων αγγείων από την αορτή, αφού η απεικόνιση με IVUS δεν απαιτεί απομάκρυνση του αίματος, σε αντίθεση με την ΟCT. Παρά τις διαφορές τους, και οι δύο τεχνικές έχουν αξία στη διάγνωση και στην επεμβατική καθοδήγηση, παρέχοντας πληροφορίες συμπληρωματικές της αγγειογραφίας.

Τόσο η IVUS όσο και η OCT παρουσίασαν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για την αναγνώριση των ινωδών και ασβεστοποιημένων αθηρωματικών πλακών, όμως η ευαισθησία της OCT ήταν υψηλότερη για τον εντοπισμό των πλουσίων σε λιπίδια αθηρωματικών πλακών σε σχέση με αυτή του IVUS (85% vs. 59%, p = 0.03). Η χρήση της OCT για την εκτίμηση της μορφολογίας των ύποπτων αλλοιώσεων σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου επιτρέπει την ανίχνευση της αλλοίωσης και την κατηγοριοποίησή της ως ρήξη της πλάκας, διάβρωση της ινώδους κάψας της αθηρωματικής πλάκας, σχηματισμό ενδαρτηριακού θρόμβου και TCFA. Η OCT επιτρέπει την ανίχνευση της κατανομής των μακροφάγων στις αθηρωματικές πλάκες. Η πυκνότητα των μακροφάγων ήταν σημαντικά υψηλότερη τόσο στις ινώδεις όσο και στις πλούσιες σε λιπίδια αθηρωματικές πλάκες που ασθενών με ασταθή στηθάγχη σε σχέση με ασθενείς με σταθερή στηθάγχη. Οι πλάκες που έχουν υποστεί ρήξη περιείχαν σε σημαντικό βαθμό περισσότερα μακροφάγα σε σχέση με τις αθηρωματικές πλάκες που δεν έχουν υποστεί ρήξη (6.95% έναντι 5.29%, p= 0.002). Επιπλέον, η ΟCT επιτρέπει την παρακολούθηση διαδοχικών μεταβολών που συμβαίνουν στην ινώδη κάψα και εντόπισε αύξηση του πάχους της ινώδους κάψας σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με στατίνες. Ωστόσο, οι αθηρωματικές πλάκες με πεπαχυσμένη ινώδη κάψα μπορούν να υποστούν ρήξη κατά τη διάρκεια μέγιστης άσκησης, γεγονός που αμφισβητεί τα καθιερωμένα μορφολογικά κριτήρια για την αναγνώριση των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών. Επιπλέον, μία μελέτη με τη χρήση ΟCT έδειξε πως η διάβρωση των πλακών είναι ένα συχνό εύρημα σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο χωρίς ανάσπαση του ST τμήματος και οι πλάκες αυτές χαρακτηρίζονται από την παρουσία παχύτερης ινώδους κάψας και χαμηλότερο περιεχόμενο λιπιδίων. Ο σχηματισμός και η εξέλιξη των αθηρωματικών αλλοιώσεων μεσολαβείτε από κυτταρικά και εξωκυττάρια συστατικά. Για την παρατήρηση αυτών των μικροδομών, αναπτύχθηκε η μΟCT και έτσι επιτυγχάνεται αξονική ανάλυση ≤1 μm. Η χρήση της OCT μπορεί να βοηθήσει στην βαθύτερη κατανόηση των υποκείμενων βιολογικών διεργασιών στην αθηροσκλήρωση των στεφανιαίων αγγείων μέσω της απεικόνισης των κυτταρικών συστατικών και να επιτρέψει τον καλύτερο ορισμό των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών.

Η εστίαση στην προσπάθεια απεικόνισης και αντιμετώπισης συγκεκριμένων ευάλωτων αθηρωματικών πλακών παραβλέπει το στοιχείο πως η αθηρωμάτωση είναι μια συστηματική, πολυπαραγοντική νόσος και πως η ιδανική αντιμετώπιση αποτελείται από συστηματική και πολυεστιακή διάγνωση και θεραπεία, με τις τοπικές αθηρωματικές πλάκες να αποτελούν ένα από τα επιμέρους στοιχεία της. Επιπλέον, η γνώση του επιπολασμού και της φυσικής ιστορίας των χαρακτηριστικών των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών, που χαρακτηρίζονται ως ύποπτες από τις τεχνικές απεικόνισης, είναι περιορισμένη. Από ορισμένες διαχρονικές μελέτες απεικόνισης έχει προταθεί πως η μορφολογία των αθηρωματικών πλακών μπορεί να αλλάξει με την πάροδο του χρόνου, και πως ορισμένες ύποπτες ευάλωτες πλάκες ενδέχεται να μην εξελιχθούν ή ακόμη και να υποστραφούν σε σταθερές αθηρωματικές αλλοιώσεις. Παρόλο που με τον in vivo εντοπισμό των επιρρεπών προς ρήξη αθηρωματικών πλακών δεν θα είναι εφικτή η πρόβλεψη όλων των καρδιαγγειακών συμβαμάτων, δύναται να παρέχει επιπλέον

**Μορφολογία των στεφανιαίων αρτηριών.** Η υψηλότερης ποιότητας ανάλυση του OCT συχνά επιτρέπει την απεικόνιση της κάθε δομής με πιο σαφή όρια σε σύγκριση με το IVUS και μπορεί να οπτικοποιήσει αξιόπιστα τη μικροδομή (δηλαδή 15-50 έναντι 150-200 μm για IVUS) κανονικών και νοσούντων αγγείων. Τυπικά, ο μέσος χιτώνας των αγγείων εμφανίζεται ως μία ζώνη σήματος χαμηλότερης έντασης σε σχέση με τον έσω και έξω χιτώνα, παρέχοντας έτσι μια απεικόνιση του τοιχώματος του αγγείου σε τρεις ζώνες. Υπάρχει μεγάλη ταύτιση στο πάχος του έσω χιτώνα μεταξύ των μετρήσεων με OCT και με ιστολογικές τεχνικές (r = 0.98, p < 0.001, μέση διαφορά=  $0.01 \pm 0.04$  mm)<sup>108</sup>.

Οι περισσότεροι ενήλικες στους οποίους πραγματοποιείται καρδιακός καθετηριασμός, παρουσιάζουν πάχυνση του έσω χιτώνα και μια ζώνη ισχυρού σήματος που αντιστοιχεί στον έσω χιτώνα, ακόμα και σε τμήματα των στεφανιαίων

αγγείων που δεν εμφανίζουν στένωση κατά την αγγειογραφική εξέταση. Το βάθος διείσδυσης του σήματος της OCT στο τοίχωμα του νοσούντος αγγείου είναι περιορισμένο (όχι περισσότερο από 2 mm με τις διαθέσιμες συσκευές OCT), καθιστώντας δύσκολη την εξέταση τμημάτων που βρίσκονται βαθύτερα στο τοίχωμα της αρτηρίας.

Χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας. Οι ινώδεις αθηρωματικές πλάκες αποτελούνται από ομογενείς περιοχές ισχυρού σήματος και υψηλής ανάκλασης, οι πλάκες με υψηλό λιπώδη περιεχόμενο από περιοχές χαμηλού σήματος με ασαφή όρια, ενώ οι ασβεστοποιημένες πλάκες αποτελούνται από περιοχές χαμηλού σήματος και με σαφώς καθορισμένα άνω και κάτω όρια (Εικόνα 15).



Εικόνα 15. Ταξινόμηση των αθηρωματικών πλακών με OCT. (IT, intimal thickening) πάχυνση του έσω χιτώνα, τα λευκά βέλη δείχνουν καλά καθορισμένη εξωτερική ελαστική μεμβράνη). (EFA, early fibroatheroma) πρώιμο ινοαθήρωμα, τα κίτρινα βέλη δείχνουν την ασαφώς καθορισμένη εξωτερική ελαστική μεμβράνη. (TCFA, thin cap fibroatheroma) ινοαθήρωμα με λεπτή ινώδη κάψα, οι αστερίσκοι δείχνουν τον λιπώδη πυρήνα. (ThCFA, thick cap fibroatheroma) ινοαθήρωμα με παχιά ινώδη κάψα, οι αστερίσκοι απεικονίζουν τον λιπώδη πυρήνα. *Τροποποιημένο από Toutouzas K. et al., European Heart Journal - Cardiovascular Imaging, Volume 18, Issue 8, 1 August 2017.* 

Η ΟCT έχει το πλεονέκτημα πως μπορεί να πετύχει την απεικόνιση των στοιχείων που καλύπτονται από ασβέστιο χωρίς να σκιάζονται, αντίθετα η απεικόνιση με τη χρήση του IVUS δεν έχει το ίδιο αποτέλεσμα. Συνεπώς, στις περιοχές ασβεστοποίησης υπάρχει καλύτερη συσχέτιση μεταξύ OCT και ιστολογικής εξέτασης από ότι του IVUS και της ιστολογικής εξέτασης (r = 0.84, p < 0.001 έναντι. r = 0.78, p < 0.001). Τα δεδομένα αυτά δείχνουν πως η επιφανειακή ασβεστοποίηση των αθηρωματικών βλαβών μπορεί να προσδιοριστεί με μεγαλύτερη ακρίβεια με τη χρήση της OCT σε σχέση με τον IVUS.

**Έλεγχος της ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας.** Μία από τις πιο σημαντικές προκλήσεις για την OCT <sup>110</sup> είναι ο ρόλος της στον εντοπισμό των ευάλωτων

αθηρωματκών πλακών 111. Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, ο αιφνίδιος καρδιακός θάνατος και η ασταθής στηθάγχη προκαλούνται από τη θρόμβωση των στεφανιαίων αγγείων, ως αποτέλεσμα ρήξης μίας ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας. Μελέτες σε νεκροτομικά παρασκευάσματα έχουν ταυτοποιήσει αρκετά ιστολογικά χαρακτηριστικά των αθηρωματικών πλακών που σχετίζονται με τον κίνδυνο ρήξης και την επακόλουθη εκδήλωση οξέων στεφανιαίων συνδρόμων. Τα χαρακτηριστικά<sup>107</sup> περιλαμβάνουν: (1) μεγάλος νεκρωτικός πυρήνας, ο οποίος καλύπτεται από λεπτή ινώδη κάψα (<65 μm), και ονομάζεται ινώδες αθήρωμα με λεπτή κάψα (TCFA) (2) ενεργοποιημένα μακροφάγα κοντά στην ινώδη κάψα και (3) νεοαγγειογένεση 50, 51, 112. Η ινώδης κάψα αποτελείται από λεία μυϊκά κύτταρα και εξωκυττάρια ουσία, σχηματίζοντας έτσι μία ζώνη ισχυρού σήματος που καλύπτει μία ζώνη ασθενούς σήματος, που αντιστοιχεί στο νεκρωτικό πυρήνα. Στην απεικόνιση με OCT, ο νεκρωτικός πυρήνας εμφανίζεται ως μία περιοχή σήματος χαμηλής ισχύος με ασαφή όρια, σε αντιστοιχία με τις αθροίσεις λιπιδίων. Ιστολογικά, οι αθροίσεις λιπιδίων μετατρέπονται σε νεκρωτικό πυρήνα, μέσω της διήθησης από μακροφάγα και την απόπτωσή τους, σχηματίζοντας έτσι τον πρώιμο νεκρωτικό πυρήνα. Σε προηγούμενες μελέτες με τη χρήση συνδυασμού ιστολογικών τεχνικών και OCT, οι ερευνητές δεν επιχείρησαν να διαφοροποιήσουν το νεκρωτικό πυρήνα από τις αθροίσεις λιπιδίων, παρά την διαφορετική κλινική σημασία αυτών των δομών <sup>113</sup>. Πρόσφατα, ο Fujii και οι συνεργάτες του ανέφεραν πως τα ιστολογικά ευρήματα που οδηγούσαν στην ψευδώς θετική διάγνωση του ινώδους αθηρώματος με λεπτή κάψα από την ΟCT περιελάμβαναν τη συσσώρευση αφρωδών κυττάρων, επιφανειακές μικροασβεστώσεις, συσσώρευση αιμοσιδιρίνης
ή την οργάνωση θρόμβου. Η διαγνωστική ακρίβεια της ΟCT για τον εντοπισμό των TCFA δεν ήταν υψηλότερη του αναμενόμενου, επομένως η ικανότητα της OCT να διακρίνει μία συνάθροιση λιπιδίων με νεκρωτικό πυρήνα πρέπει να εξεταστεί περαιτέρω με ιστολογικές μελέτες <sup>114</sup>.

Η νεοαγγείωση <sup>115, 116</sup> αποτελεί ακόμα ένα χαρακτηριστικό των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών. Τα νεοσχηματισμένα αγγεία είναι εύθραυστα και τείνουν να υφίστανται ρήξη. Αυτό μπορεί να προκαλέσει αιμορραγία στο εσωτερικό της πλάκας, οδηγώντας εν τέλει στη στένωση του αυλού του αγγείου <sup>117-120</sup>. Σε εικόνες ΟCT, η νεοαγγειογένεση μπορεί να αναγνωριστεί ως μικρές μαύρες τρύπες ή σωλήνες (μικροκανάλια). Τα μικροκανάλια που ανιχνεύονται με την OCT έχουν συσχετιστεί μέσα από κλινικές μελέτες, με την πιθανότητα ρήξης της πλάκας και προβλέπουν τη στένωση του αυλού. Η ακρίβεια των διαθέσιμων συστημάτων OCT για την ανίχνευση της νεοαγγειογένεσης στις αθηρωματικές πλάκες των στεφανιαίων αγγείων δεν έχει μελετηθεί. Άλλα σημαντικά χαρακτηριστικά των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών που μπορούν να οδηγήσουν στην εκδήλωση οξέων στεφανιαίων συνδρόμων, είναι η διάβρωση της πλάκας και τα ασβεστοποιημένα οζίδια.

Η διάβρωση της αθηρωματικής πλάκας <sup>121</sup> ευθύνεται για το 1/3 των αιφνίδιων καρδιακών θανάτων. Παθολογανατομικά, η διάβρωση της πλάκας ορίζεται ως μία διαδικασία που οδηγεί σε μία αθηρωματική πλάκα με άθικτη ινώδη κάψα η οποία καλύπτεται από μειωμένο αριθμό, δυσλειτουργικών ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα διαθέσιμα συστήματα OCT δεν είναι αρκετά ευαίσθητα για τον άμεσο προσδιορισμό της ανεπάρκειας των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η διάβρωση της αθηρωματικής πλάκας <sup>121</sup> με τη χρήση OCT (OCT-erosion) χαρακτηρίζεται ως μια αθηρωματική πλάκα με άθικτη ινώδη κάψα, στην επιφάνεια της οποίας έχει σχηματιστεί θρόμβος, με τις υποκείμενες δομές της πλάκας να είναι ορατές κατά την εξέταση (Εικόνα 16).



Εικόνα 16. Διάβρωση αθηρωματικής πλάκας. Τροποποιημένο από T. Kume et al.., Cardiovascular Intervention and Therapeutics, January 2018.

Οι διαβρωμένες αθηρωματικές πλάκες, όπως καθορίζονται από την ΟCT, περιλαμβάνουν δύο τύπους: 1) πλάκα με άθικτη ινώδη κάψα χωρίς το σχηματισμό θρόμβου, με ακανόνιστη μορφή προς τον αυλό του αγγείου και 2) πλάκα με σχηματισμό θρόμβου στην επιφάνειά της, με αποτέλεσμα να μην είναι ορατές οι υποκείμενες δομές της αθηρωματικής πλάκας και να μην εντοπίζονται επιφανειακές συναθροίσεις λιπιδίων και επιφανειακή ασβεστοποίηση στο εγγύς ή σε απομακρυσμένα τμήματα από την περιοχή σχηματισμού του θρόμβου.

**Τα ασβεστοποιημένα οζίδια**, όπως προσδιορίζονται από την ΟCT, χαρακτηρίζονται από τη διάβρωση της αθηρωματικής πλάκας και την προεκβολή της ασβέστωσης, την επιφανειακή ασβέστωση και την παρουσία ασβεστίου κοντά ή/και μακριά από την αλλοίωση <sup>88</sup>.

Οι μοναδικές ικανότητες της ΟCT ως μία τεχνική ελέγχου των αθηρωματικών αλλοιώσεων υψηλού κινδύνου θα συμβάλλουν στην πρόοδο της καρδιολογίας, καθώς συμβάλλουν στην καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών σχηματισμού κα στην αναγνώριση των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών, βοηθώντας στην καλύτερη και ακριβέστερη θεραπεία των ασθενών, τόσο σε οξείες όσο και χρόνιες παθολογικές καταστάσεις.

Η εκτίμηση του θρόμβου. Τα περισσότερα οξέα στεφανιαία σύνδρομα, συμπεριλαμβανομένων του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, της ασταθούς στηθάγχης και του αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, εκδηλώνονται έπειτα από θρόμβωση των στεφανιαίων αγγείων, που οφείλεται σε τρεις παθολογικές διεργασίες στο τοίχωμα του αγγείου: στη ρήξη μίας ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας (Εικόνα 17), στη διάβρωση μίας αθηρωματικής πλάκας (Εικόνα 16), ή στην παρουσία ενός ασβεστοποιημένου οζιδίου<sup>88</sup>.



Εικόνα 17. Ρήξη αθηρωματικής πλάκας. Ασθενής 57 ετών με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του διαστήματος ST (STEMI), ο οποίος αντιμετωπίστηκε με θρομβόλυση. (Α) Η στεφανιογραφία δείχνει την ένοχη βλάβη στη μέση της αριστερής πρόσθιας στεφανιαίας αρτηρίας (η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει που αντιστοιχεί η ρήξη). Η ρήξη της πλάκας αναγνωρίζεται σε εγκάρσια (Β) και επιμήκη τομή (C) από τη διασπασμένη ινώδη κάψα (βέλη) και από ένα σχηματισμό κοιλότητας (\*) μέσα στην πλάκα σε εικόνες από OCT. Τροποποιημένο από Jia H et al., J. Am. Coll. Cardiol. 2013 Nov 5;62(19):1748-5.

Οι θρόμβοι που σχηματίζονται σε περιοχές που παρατηρείται στάση ή ελάττωση της αιματικής ροής, αποτελούνται κυρίως από ερυθρά αιμοσφαίρια παγιδευμένα σε ινίδια ινικής και σε μικρό ποσοστό από αθροίσεις αιμοπεταλίων. Αυτοί οι θρόμβοι εμφανίζονται σκουρόχρωμοι εξαιτίας την παρουσίας μεγάλης ποσότητας αιμοσφαιρίνης, και συχνά χαρακτηρίζονται ως ''ερυθροί'' θρόμβοι. Σε αντίθεση, οι θρόμβοι που αποτελούνται σε μεγάλο ποσοστό από αιμοπετάλια και περιέχουν λιγότερα ερυθρά αιμοσφαίρια, εμφανίζονται με λευκό χρώμα και αποκαλούνται ''λευκοί'' θρόμβοι. Οι ερυθροί θρόμβοι εμφανίζονται στην

απεικόνιση ΟCT ως προσεκβολές υψηλής ανάκλασης, χωρίς σκίαση του σήματος. Οι λευκοί θρόμβοι εμφανίζονται ως προσεκβολές ισχυρού σήματος και χαμηλής ανάκλασης. Υπάρχει σημαντική διαφορά στην απόσβεση της έντασης του σήματος ανάμεσα στους λευκούς και στους ερυθρούς θρόμβους. Η σημασία του χαρακτηρισμού του θρόμβου στην κλινική πράξη παραμένει άγνωστη. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για τον έλεγχο της κλινικής αξίας της διάκρισης μεταξύ του θρόμβου από ερυθροκύτταρα και του θρόμβου από αιμοπετάλια. Οι παλαιότεροι θρόμβοι των στεφανιαίων αγγείων οργανώνονται σχηματίζοντας de novo αυλούς με ποικίλο μέγεθος. Έχει αναφερθεί πως το 1/3 των ασθενών με απόφραξη του αγγείου λόγω θρόμβωσης εμφανίζουν σχηματισμό νεοαυλών στο εσωτερικό των θρόμβων, όπως επιβεβαιώνεται μετά από παθολογοανατομική εξέταση. Παρόλο που δεν έχει ελεγχθεί η ικανότητα της ΟCT για την αξιολόγηση των παλαιότερων θρόμβων, ο Kang και οι συνεργάτες του αναφέρουν την απεικόνιση νεοαγγείων στο εσωτερικό θρόμβων με τη χρήση ΟCT. Οι θρόμβοι που εμφανίζουν νεοαγγεία, χαρακτηρίζονται από την παρουσία διαφραγμάτων σήματος υψηλής έντασης και υψηλής ανάκλασης, που χωρίζουν τον αυλό σε πολλαπλές μικρές κοιλότητες. Οι κοιλότητες αυτές επικοινωνούν μεταξύ τους, όπως φάνηκε σε απεικόνιση με τη χρήση ΟCΤ (Εικόνα 18).



Εικόνα 18. Επανασηραγγοποιημένος θρόμβος σε εικόνα ΟCT. Οι επανασηραγγοποιημένοι θρόμβοι παρουσιάζουν πλούσια διαφραγμάτια που διαιρούν τον αυλό σε πολλαπλές μικρές κοιλότητες. Αυτές οι κοιλότητες επικοινωνούν μεταξύ τους (βέλος). Τα λεπτά διαφραγμάτια έχουν εμφάνιση "ελβετικού τυριού". Τροποποιημένο από T. Kume et al., Cardiovascular Intervention and Therapeutics, January 2018.

Τα λεπτά διαφράγματα είχαν την εμφάνιση "ελβετικού τυριού". Το εύρημα αυτό χαρακτηρίζεται επίσης ως "ρίζα λωτού" στις απεικονίσεις με τη χρήση του IVUS<sup>122</sup>.

**Τρισδιάστατη OCT**. Η τρισδιάστατη αναδόμηση των ευρημάτων της OCT (three-dimensional (3D) reconstruction of OCT) περιγράφηκε πρώτη φορά το 2008 και η τεχνολογία τρισδιάστατης αναδόμησης της OCT έχει αποδείξει την κλινική της αξία<sup>123</sup>. Η τρισδιάστατη ανακατασκευή με αυτόματη ανίχνευση (automatic stent strut detection) είναι προς το παρόν διαθέσιμη στην Ιαπωνία, και με τη χρήση αυτής της τεχνολογίας είναι δυνατή η ελεγχόμενη τοποθέτηση του καθετήρα, με σκοπό την ελάττωση του ποσοστού της ατελούς τοποθέτησης των stent στις αθηρωματικές πλάκες που βρίσκονται σε διχασμό αγγείων <sup>124, 125</sup>. Επιπλέον, με τη χρήση της τρισδιάστατης αναδόμησης είναι δυνατή η απεικόνιση της περιοχής σύνδεσης του side branch στο διχασμό και του στηρίγματος του stent σε βλάβες διχασμού που αντιμετωπίζονται με την τοποθέτηση ενός μόνο stent (Εικόνα 19).



Εικόνα 19. Τρισδιάστατη απεικόνιση με ΟCT κατά την αγγειοπλαστική σε βλάβη διχασμού. Η 3D ανασύνθεση με την αυτόματη ανίχνευση του καθετήρα μπορεί να καθοδηγήσει την τοποθέτηση του stent έτσι ώστε να μειωθεί η συχνότητα κακής εναπόθεσης του stent στις βλάβες διχασμού. Η θέση του σύρματος στο στόμιο του κλάδου του πλευρικού αγγείου (side branch) θα μπορούσε να ελαχιστοποιήσει την παραμόρφωση του stent μετά τη διαστολή του μπαλονιού εντός του side branch. *Τροποποιημένο από T. Kume et al., Cardiovascular Intervention and Therapeutics, January 2018.* 

Προηγούμενες παθολοανατομικές μελέτες έδειξαν πως οι περιοχές με σήμα υψηλής έντασης στην OCT, που αντιστοιχούσαν στους ιστούς που κάλυπταν τα struts του side branch, αποτελούνταν από λεία μυϊκά κύτταρα με ένα πλούσιο

υπόστρωμα πρωτεογλυκάνης-κολλαγόνου, υποδεικνύοντας το σχηματισμό φυσιολογικού νεοχιτώνα <sup>126</sup>. Συνεπώς, ο φυσιολογικός σχηματισμός νεοχιτώνα στο σημείο αυτό μπορεί να έχει προστατευτικό ρόλο, αποτρέποντας μελλοντικό σχηματισμό θρόμβου στο stent. Εν αντιθέσει, ο σχηματισμός νεοχιτώνα στο σημείο αυτό μπορεί να προκαλέσει διαταραχή της αιματικής ροής στον side branch κατά τη μακροχρόνια παρακολούθηση <sup>127, 128</sup>.

#### 3.1.6. Ενδαγγειακή Θερμομέτρηση (Intravascular Thermography: IVT)

Παρά την πρόοδο στον σχεδιασμό και στην τεχνική των θερμογραφικών καθετήρων, η **θερμογραφία** παραμένει μια επεμβατική μέθοδος αναγνώρισης της ευάλωτης πλάκας.

Η φλεγμονή έχει αποδειχθεί ως κύρια αιτία για την αστάθεια των αθηρωματικών πλακών και του σχηματισμού θρόμβου, προκαλώντας ρήξη της αθηρωματικής πλάκας και στη συνέχεια εκδήλωση οξέος στεφανιαίου συνδρόμου<sup>84</sup>. Τα μακροφάγα είναι κύτταρα τα οποία είναι ιδιαίτερα ενεργά μεταβολικά. Η αυξημένη πρόσληψη γλυκόζης και η αυξημένη κατανάλωση οζυγόνου από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα προκαλεί αύξηση της τοπικής θερμοκρασίας. Μόλις εξαντληθεί η παροχή οξυγόνου στα φλεγμονώδη κύτταρα, αρχίζει σε κάποιο βαθμό αναερόβιος μεταβολισμός προκαλώντας έτσι τοπική οξείδωση. Η ανάπτυξη της θερμογραφίας ως τεχνικής εντοπισμού των ευάλωτων αθηρωματικών πλακών βασίστηκε στην βασική αρχή πως η φλεγμονή αποτελεί έναν από τους κύριους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην αστάθεια των αθηρωματικών πλακών, τη ρήξη τους, το σχηματισμό θρόμβου και την εκδήλωση οξέος στεφανιαίου συνδρόμο. Εφόσον η φλεγμονή σχετίζεται άμεσα με την αυξημένη παραγωγή θερμότητας, η αύξηση της θερμοκρασίας στις αθηρωματικές πλάκες μπορεί να αντανακλά την ένταση της τοπικής φλεγμονώδους διεργασίας.

Αρχικά οι Casscells et al. μέτρησαν ex vivo την επιφανειακή θερμοκρασία του έσω χιτώνα καρωτίδων και εντόπισαν θερμική ετερογένεια, ανακαλύπτοντας αρκετές περιοχές όπου η επιφανειακή θερμοκρασία είχε διαφορετικές τιμές, αγγίζοντας τη διαφορά των 2,2°C σε ορισμένες πλάκες <sup>129</sup>. Επιπλέον, η θερμοκρασία συσχετίστηκε ισχυρά με την πυκνότητα των κυττάρων, τα περισσότερα εκ των οποίων ήταν μακροφάγα <sup>130</sup>. Έχει βρεθεί πως οι αθηρωματικές πλάκες με μεγάλο λιπώδη πυρήνα παρουσιάζουν αυξημένη θερμοκρασία και χαμηλότερες τιμές pH, ενώ οι ασβεστοποιημένες πλάκες παρουσιάζουν χαμηλότερη θερμοκρασία και υψηλότερο pH. Η μέτρηση της θερμοκρασίας των αθηρωματικών πλακών in vivo έγινε εφικτή με την δημιουργία ενός καθετήρα θερμογραφίας, που σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε στην κλινική μας και τώρα κατασκευάζεται συστηματικά (Epiphany catheter, Medispes SW, ZUG, Switzerland) (Εικόνα 20) <sup>131, 132</sup>.



Εικόνα 20. Καθετήρα θερμογραφίας. Ο βραχίονας (Steering Arm, SA) με υποδοχή για το θερμίστορα (Thermistor, Th), με καλώδια προσαρτημένα στο εγγύς τμήμα του καθετήρα (A). *Τροποποιημένο από Stefanadis C. et al., Am J Cardiol 2004; 93: 207.* 

Ένας περιστρεφόμενος βραχίονας με έναν υποδοχέα για τα καλώδια του θερμικού δέκτη τοποθετείται στον άκρο του καθετήρα. Ο περιστρεφόμενος βραχίονας διέρχεται από τον αυλό του καθετήρα και προσδένεται στην άκρη του. Τα τελευταία 7 cm του καθετήρα αποτελούνται από ένα μαλακό μη θρομβογόνο υλικό <sup>132</sup>. Τα καλώδια του θερμικού δέκτη διέρχονται από ξεχωριστό χώρο του αυλού του καθετήρα και καταλήγουν στον υποδοχέα τους. Ο θερμικός δέκτης τοποθετείται στο κέντρο της άκρης του καθετήρα. Ο χειρισμός του περιστρεφόμενου βραχίονα από το εγγύς άκρο επιτρέπει την καμπύλωση του άπω άκρου που φέρει τον θερμικό δέκτη (0° έως 180°). Η ευαισθησία του θερμικού υποδοχέα είναι της τάξης των 0.05 °C και η σταθερά του χρόνου 300 ms. Κλινικές μελέτες in vivo έδειζαν πως ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, το οποίο έχει εκδηλωθεί πρόσφατα ή ακριβώς πριν την εξέταση, εμφανίζουν υψηλότερες διαφορές θερμοκρασίας μεταξύ των ένοχων αθηρωματικών αλλοιώσεων που ευθύνονται για την εκδήλωση του συνδρόμου και των παρακείμενων τμημάτων του αγγείου, σε σχέση με ασθενείς με σταθερή στηθάγχη <sup>133</sup>. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των διαφορών θερμοκρασίας και των δεικτών φλεγμονής <sup>134</sup>. Αυτά τα έμμεσα ευρήματα για τη συσχέτιση της θερμοκρασίας και της αυξημένης φλεγμονώδους διεργασίας, επιβεβαιώθηκαν από μια ex vivo μελέτη σε ζώα, η οποία έδειξε τη σχέση μεταξύ το σημείο <sup>135</sup>. Πρωταρχικά ευρήματα κλινικών δοκιμών σε ανθρώπους που συνδυάζουν τη μέτρηση της θερμοκρασίας των αθηρωματικών πλακών και την αθηρεκτομή, δείχνουν πως η θερμοκρασία είναι υψηλότερη όταν παρατηρείται αυξημένη διήθηση της αθηρωματικής πλάκας από μικροφάγα.

Ψυκτική επίδραση - Cooling effect. Παρά το γεγονός πως η φλεγμονή αποτελεί τον υποκείμενο παθοφυσιολογικό μηχανισμό που οδηγεί στην αυξημένη απελευθέρωση θερμότητας <sup>134</sup> από τις αθηρωματικές πλάκες, έχει παρατηρηθεί μία διαφορά ανάμεσα στις ex vivo και στις in vivo μετρήσεις. Έχει προταθεί πως η παρατήρηση αυτή οφείλεται στην επίδραση της αιματικής ροής <sup>136</sup>. Για να ελεγχθεί η πιθανή επίδραση της αιματικής ροής στις τιμές της θερμοκρασίας στα στεφανιαία αγγεία, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις μετά από διακοπή της αιματικής ροής. Παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών της θερμοκρασίας τόσο σε ασθενείς με σταθερή στηθάγχη όσο και σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο <sup>137, 138</sup>. Τα αποτελέσματα αυτά τονίζουν ιδιαίτερα πως η αιματική ροή στα στεφανιαία αγγεία έχει ψυκτική επίδραση στη θερμική ετερογένεια, το οποίο οδηγεί σε υποεκτίμηση της ποσότητας της θερμότητας που παράγεται τοπικά. Πρόσφατα, καθιερώθηκε η χρήση νέων καθετήρων για τον περιορισμό αυτού του φαινομένου, ιδιαίτερα σε αθηρωματικές αλλοιώσεις μετρίας έκτασης, όπου δεν μπορεί να εξασφαλιστεί η επαφή του θερμικού δέκτη με την επιφάνεια του έσω χιτώνα. Ένας καθετήρας θερμογραφίας με μπαλόνι με τον θερμικό υποδοχέα τοποθετημένο απέναντι από το μπαλόνι εξασφαλίζει την επαφή του δέκτη με την επιφάνεια της αθηρωματικής πλάκας. Με τη χρήση αυτού του καθετήρα, είναι δυνατή η καταγραφή αύξησης της θερμοκρασίας έως 59% σε σταθερές αθηρωματικές αλλοιώσεις <sup>138</sup>.

Εξάπλωση της φλεγμονής. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει πως η φλεγμονή δεν αποτελεί μόνο τοπική διεργασία που περιορίζεται στις αθηρωματικές αλλοιώσεις, αλλά, ειδικά σε ασθενείς με οξέα στεφανιαία σύνδρομα, η φλεγμονώδης διεργασία είναι διάχυτη στα στεφανιαία αγγεία <sup>139</sup>. Αυτές οι μελέτες υποστηρίζουν πως υπάρχει διάχυτη αποσταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών, δημιουργώντας έτσι την υπόθεση πως η αστάθεια των αθηρωματικών πλακών δεν παρουσιάζεται ως ένα μόνο τυχαίο καρδιαγγειακό σύμβαμα, αλλά αντανακλά μια διεργασία που εκτείνεται σε όλο το στεφανιαίο αρτηριακό δίκτυο, εξαιτίας της φλεγμονώδους ενεργοποίησης <sup>140</sup>. Η παρουσία αυξημένης θερμικής ετερογένειας έχει παρατηρηθεί και σε μέσου μεγέθους αθηρωματικές αλλοιώσεις που δεν ευθύνονται για την εκδήλωση συμπτωμάτων (non culprit). Έχει βρεθεί πως τόσο οι ένοχες αθηρωματικές αλλοιώσεις όσο και οι μη ένοχες αθηρωματικές αλλοιώσεις που δεν ευθύνονται για την πρόκληση συμπτωμάτων, παρουσίαζαν θερμική ετερογένεια, η οποία ήταν παρόμοια και στις δύο (Εικόνα 21). Στην ίδια μελέτη, οι ασθενείς με ΟΣΣ παρουσίαζαν αυξημένη θερμική ετερογένεια τόσο στις ένοχες όσο και στις μη ένοχες αθηρωματικές αλλοιώσεις, υποστηρίζοντας την υπόθεση πως παρατηρείται φλεγμονώδης ενεργοποίηση σε όλο το στεφανιαίο αρτηριακό δίκτυο <sup>141</sup>. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν την υπόθεση της διάχυτης αποσταθεροποίησης των αθηρωματικών πλακών, καθώς τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα σχετίζονται με διάχυτη θερμική ετερογένεια, παρόλο που για την κλινική τους εκδήλωση ευθύνεται μόνο μία αθηρωματική αλλοίωση.



Εικόνα 21. Στο αριστερό γράφημα, στην ένοχη βλάβη ανευρέθη μία αύξηση της θερμικής ετερογένειας της τάξεως των 0,10°C. Στο δεξιό γράφημα, στην μη ένοχη βλάβη παρατηρήθηκε μια αύξηση της τάξεως των 0,14°C. Τροποποιημένο από Toutouzas K. et al., J Interven Cardiol 2005; 18: 485 – 589.

Σε μία προσπάθεια ελέγχου της πιθανότητας η διάχυτη φλεγμονή των στεφανιαίων αγγείων να προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας του αίματος καθώς αυτό ρέει στο στεφανιαίο δίκτυο και καταλήγει στο στεφανιαίο κόλπο, μετρήθηκε η διαφορά θερμοκρασίας του αίματος ανάμεσα στο στεφανιαίο κόλπο και το δεξιό κόλπο, σε ασθενείς με συμπτωματική στεφανιαία νόσο. Η θερμοκρασία του αίματος στο στεφανιαίο κόλπο <sup>142</sup> βρέθηκε υψηλότερη σε σχέση με το αίμα στο δεξιό κόλπο σε ασθενείς με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένες, σημαντικού βαθμού αθηρωματικές αλλοιώσεις σε σχέση με άτομα χωρίς στεφανιαία νόσο. Τα ευρήματα αυτά ήταν ανεξάρτητα του εντοπισμού των αθηρωματικών πλακών και υποστηρίζουν την παρουσία διάχυτης εκτεταμένης φλεγμονής στο στεφανιαίο αρτηριακό δίκτυο σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι η φλεγμονή είναι ιδιαίτερα έντονη σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη και παρατηρείται αυξημένη διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα στις αθηρωματικές πλάκες αυτών των ασθενών. Η ένταση της τοπικής φλεγμονώδους διεργασίας έχει εκτιμηθεί με τη χρήση στεφανιαίας θερμογραφίας. Στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη παρατηρείται αυξημένη τοπική φλεγμονώδης διεργασία σε σχέση με ασθενείς χωρίς σακχαρώδη διαβήτη. Επιπλέον, οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και ΟΣΣ ή χρόνια σταθερή στηθάγχη παρουσίαζαν αυξημένη διαφορά θερμοκρασίας (ΔΤ) σε σχέση με μη διαβητικούς ασθενείς. Ακόμη, οι διαβητικοί ασθενείς που ακολουθούσαν αγωγή με στατίνες παρουσίαζαν μικρότερη ΔΤ σε σχέση με ασθενείς που δεν ακολουθούσαν αυτή την αγωγή, δείχνοντας πως οι στατίνες έχουν θετική επίδραση στις αθηρωματικές αλλοιώσεις των ασθενών με διαβήτη <sup>143</sup>.

Με την πάροδο των χρόνων έχει γίνει ευρέως αποδεκτό πως είναι πιο σημαντική η πρόληψη της ρήξης μιας αθηρωματικής πλάκας παρά η θεραπεία των επιπτώσεών της. Η θερμογραφία είναι μια επεμβατική μέθοδος που έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για την εκτίμηση της επίδρασης της διατροφής και της φαρμακευτικής αγωγής στις αθηρωματικές πλάκες. Μελετήθηκε η επίδραση της

122

διατροφής στη θερμική ετερογένεια των αθηρωματικών πλακών<sup>144</sup> μετά από 3 μήνες ελάττωσης της χοληστερόλης. Το πάχος των αθηρωματικών πλακών έμεινε αμετάβλητο, αλλά μειώθηκε σημαντικά η θερμική τους ετερογένεια, το οποίο φανερώνει σημαντική μείωση του αριθμού των μακροφάγων στις αθηρωματικές πλάκες. Οι στατίνες φαίνεται πως έχουν πλειοτροπικές δράσεις, πέρα από την αποτελεσματικότητά τους στη μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης. Έχει παρατηρηθεί πως η θερμική ετερογένεια είναι χαμηλότερη σε ασθενείς που ακολουθούν αγωγή με στατίνες, ανεξάρτητα από τις κλινικές εκδηλώσεις της πάθησής τους <sup>133, 145, 146</sup>. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν πως η επιθετική θεραπεία με στατίνες ίσως είναι αναγκαία για τη σταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, συμπεριλαμβανομένων αυτών στους οποίους προγραμματίζεται PCI, καθώς έχει παρατηρηθεί πως οι ασθενείς με αυξημένη θερμοκρασία της ύποπτης αθηρωματικής αλλοίωσης τη στιγμή της PCI έχουν κακή πρόγνωση <sup>147</sup>.

# 3.2. Μη επεμβατική απεικόνιση αθηρωματικής πλάκας

# 3.2.1. Αξονική Αγγειογραφία (Computed tomography angiography: CTA)

Η αξονική αγγειογραφία (CTA) των στεφανιαίων αγγείων είναι ένα μη επεμβατικό διαγνωστικό εργαλείο που επιτρέπει την ανίχνευση αθηρωματικής πλάκας και του βαθμού στένωσης του στεφανιαίου αγγείου. Η CTA επιτρέπει την απεικόνιση της μορφολογίας και της σύστασης των αθηρωματικών πλακών<sup>148</sup>. Χαρακτηριστικά της πλάκας υψηλού κινδύνου, όπως η λεπτή ινώδης κάψα (<65 μm) και ο μεγάλος νεκρωτικός πυρήνας (με μέσο μήκος 8mm και επιφάνεια νέκρωσης >1mm2 στο 80% των περιπτώσεων) αποδείχθηκε ότι σχετίζονται άμεσα με οξέα στεφανιαία συμβάματα <sup>149, 150</sup>. Η διακριτική ικανότητα των υπαρχόντων CT τομογράφων (400 μm) δεν επιτρέπει την άμεση απεικόνιση της λεπτής ινώδους κάψας, ωστόσο οι διαστάσεις του μεγάλου νεκρωτικού πυρήνα είναι ανιχνεύσιμες από το όριο της διακριτικής ικανότητας της CTA 151. Στις περισσότερες μελέτες που γρησιμοποιήθηκε η CTA, οι αθηρωματικές πλάκες ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες με βάση την παρουσία και το βαθμό αποτιτάνωσης των συστατικών της ασβεστοποιημένες, μερικώς ασβεστοποιημένες πλάκας ως: και μη ασβεστοποιημένες πλάκες <sup>152</sup>. Ωστόσο, ο διαγωρισμός των μη ασβεστοποιημένων πλακών σε πλούσιες σε λιπίδια ή σε ινώδεις αλλοιώσεις αποτελεί πρόκληση. Αρκετές μελέτες επιδίωξαν να αξιολογήσουν την αποτελεσματικότητα της CTA να διακρίνει τις μη αποτιτανωμένες πλάκες σε υπότυπους, ανάλογα με τη σύσταση τους, σε πλάκες με συστατικά πλούσια σε λιπίδια και σε ινώδεις πλάκες χρησιμοποιώντας την IVUS ως μέθοδο αναφοράς <sup>153, 154</sup>. Σε μία έρευνα, μελετήθηκε με τη χρήση της μεθόδου η κατανομή των μονάδων Hounsfield (Hounsfield Units:

HU) στις αθηρωματικές αλλοιώσεις στεφανιαίων αρτηριών και βρέθηκε ότι υπήργε μικρότερη πυκνότητα HU σε μεγαλύτερο ποσοστό στις πλάκες που ήταν πλούσιες σε λιπίδια σε σύγκριση με τις πλάκες που περιείχαν κυρίως ινώδη συστατικά (16% έναντι 6%, p< 0.0001)<sup>155</sup>. Μία άλλη μελέτη επισήμανε επίσης ότι οι μη ασβεστοποιημένες πλάκες χαμηλής πυκνότητας (-100 to 30HU) σχετίζονται με ένα νεκρωτικό πυρήνα πλούσιο σε λιπίδια και ινολιπώδη συστατικά ενώ οι μη ασβεστοποιημένες πλάκες υψηλής πυκνότητας (30-149 HU) σχετίζονται με ινώδη συστατικά. Ο όρος «σημείο napkin-ring» (napkin-ring sign, NRS) αναφέρεται σε ένα ιδιαίτερο πρότυπο εξασθένισης της πλάκας (plaque attenuation pattern) που παρατηρείται στη CTA των μη ασβεστοποιημένων πλακών με τη λήψη πολλαπλών τομών σε όλους τους άξονες και χαρακτηρίζεται από την παρουσία 2 στοιχείων: μία κεντρική περιοχή χαμηλής εξασθένισης που είναι σε επαφή με τον αυλό, και μια δακτυλιοειδή περιοχή μεγαλύτερης εξασθένισης που περιβάλλει την κεντρική περιοχή <sup>156, 157</sup>. Η παρουσία του NRS στην αξονική αγγειογραφία στεφανιαίων αγγείων υποδηλώνει μία προχωρημένη αθηροσκληρωτική βλάβη. Η συχνότητα των NRS ήταν υψηλότερη στις TCFA σε σχέση με τις μη TCFA ύποπτες βλάβες (44%vs.4%, p<0.0001) όπως καθορίστηκε από την OCT. Σε μία προοπτική μελέτη, η παρουσία του NRS ως δείκτης για την πρόβλεψη ΟΣΣ είχε μεγάλη ειδικότητα (97%), αλλά σχετικά μικρή ευαισθησία (42%) <sup>158</sup>. Πρόσφατα, μελετήθηκε κατά πόσο είναι χρήσιμη η αξιοποίηση ημιαυτόματων λογισμικών που βασίζονται σε αλγορίθμους με σκοπό τη βελτίωση της ακρίβειας και της επαναληψιμότητας για την ανάλυση των αθηρωματικών πλακών (Εικόνα 22)<sup>159, 160</sup>.



Εικόνα 22. Χαρακτηρισμός αθηρωματικής πλάκας. Εικόνα αξονικής στεφανιογραφίας του LAD (A) με την παρουσία μη-ασβεστοποιημένης πλάκας. Κατακερματισμένο ολόκληρο το στεφανιαίο δέντρο (B), όπου ο LAD υποδεικνύεται με μπλε χρώμα, οι κεντρικοί κλάδοι των στεφανιαίων αρτηριών και η αορτή υποδεικνύονται με πράσινο και το κόκκινο πλαίσιο υποδεικνύει την περιοχή ενδιαφέροντος. Έγχρωμη εγκάρσια διατομή της αθηρωματικής πλάκας του LAD (C).

0 λιπώδης απεικονίζεται πυρήνας κόκκινο χρώμα. Jμ 0 ινο-λιπώδης ιστός παρουσιάζεται aμ ανοιχτό πράσινο χρώμα. Ο ινώδης ιστός εμφανίζεται με σκούρο πράσινο χρώμα. Ίδια διατομή της πλάκας (D) με τις περιοχές του λιπώδους πυρήνα να αφορίζονται με κόκκινες διακεκομμένες γραμμές. Τροποποιημένο από C. Celeng et al., Trends in Cardiovascular Medicine 26(2016) 538 - 547.

Έχει αποδειχθεί ότι ο προσδιορισμός των ποσοτικών στοιχείων της πλάκας από ημιαυτόματα λογισμικά εργαλεία έχει προγνωστική αξία για τη διαβάθμιση του κινδύνου εκδήλωσης ΟΣΣ, ο οποίος σχετίζεται τόσο με το βαθμό στένωσης όσο

και με την παρουσία άλλων κλινικών παραγόντων κινδύνου. Σε ασθενείς που εκδήλωσαν ΟΣΣ μετρήθηκε μεγαλύτερος όγκος πλάκας (94mm<sup>3</sup> έναντι 29mm<sup>3</sup>,  $p \le 0.001$ ) και αυξημένο φορτίο της αθηρωματικής πλάκας σε σχέση με το αρτηριακό τοίχωμα (plaque burden)  $(57\% vs.36\% p \le 0.01)^{161}$ . Η αξιολόγηση της «ευαλωτότητας» της πλάκας με τη χρήση ημιαυτόματου λογισμικού σε συνδυασμό με τους συνηθισμένους παράγοντες κινδύνου και τη συμβατική αξονική αγγειογραφία στα στεφανιαία αγγεία παρείχε μία σημαντική βελτίωση στην πρόγνωση OΣΣ: η AUC αυξήθηκε από 0.64 σε 0.79 (AUC- the area under the curve)  $(p < 0.05)^{161}$ . Μία άλλη έρευνα είχε ως στόχο να επιβεβαιώσει ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας διαφορετικός τρόπος μέτρησης για την πρόγνωση ΟΣΣ με τη χρήση ημι-αυτόματου λογισμικού για την ποσοτική αξιολόγηση των χαρακτηριστικών της πλάκας υψηλού κινδύνου 162. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το σκορ που προκύπτει από τις μετρήσεις με τη χρήση ημιαυτόματου λογισμικού αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη για την εκδήλωση ΟΣΣ και είναι ένας δείκτης που λειτουργεί αθροιστικά με άλλους παράγοντες κινδύνου, όπως το φύλο και η παρουσία στένωσης  $\geq$  50% (AUC:0.91 έναντι 0.85, p = 0.002). Συνεπώς, η εφαρμογή ημιαυτόματων λογισμικών ενδέχεται να παρέχει πιο αξιόπιστη εκτίμηση των αθηρωματικών πλακών, επιτρέποντας έτσι την καλύτερη διαστρωμάτωση κινδύνου.

Με την MRI είναι δυνατόν να εντοπιστούν διάφορα χαρακτηριστικά των καρωτιδικών πλακών, όπως ο πλούσιος σε λιπίδια νεκρωτικός πυρήνας, το πάχος της ινώδους κάψας και η πιθανή αιμορραγία <sup>163</sup>. Σε αντίθεση με την MRI των καρωτίδων, η απεικόνιση των αθηρωματικών πλακών στις στεφανιαίες αρτηρίες με τη χρήση της MRI βρίσκεται ακόμα σε πρώιμα στάδια. Παρόλο που η MRI καρδιάς επιτρέπει την απεικόνιση με υψηλή χρονική διακριτική ικανότητα, η απεικόνιση των στεφανιαίων αρτηριών παρεμποδίζεται από την εναλλαγή μεταξύ χρονικής και γωρικής διακριτικής ικανότητας. Το υψηλής έντασης σήμα (HIS) που εκπέμπουν οι αθηρωματικές πλάκες στις στεφανιαίες αρτηρίες σε εικόνες της Τ1-ακολουθίας σχετίζεται με την εμφάνιση μελλοντικών στεφανιαίων συμβαμάτων <sup>164</sup>. Μία αναλυτική μελέτη προσπάθησε να προσδιορίσει τις ιδιότητες του σήματος υψηλής έντασης (HIS) που εκπέμπεται από τις αθηρωματικές πλάκες των στεφανιαίων αρτηριών, όπως αυτό ανιχνεύεται με τη MRI καρδιάς χρησιμοποιώντας εικόνες της Τ1-ακολουθίας, αξιοποιώντας ταυτόχρονα και τα στοιχεία που προκύπτουν για τις αθηρωματικές πλάκες από τον ενδοαγγειακό υπέρηχο, σε ασθενείς με σταθερή στηθάγχη και στένωση μεγαλύτερη του 70% των στεφανιαίων αρτηριών όπως μετράται από την αξονική αγγειογραφία<sup>165</sup>. Μία αθηρωματική πλάκα που εκπέμπει σήμα υψηλής έντασης (HIS πλάκα), ορίστηκε η πλάκα σε μία στεφανιαία αρτηρία για την οποία ισχύει ότι ο λόγος σήμα που εκπέμπει η πλάκα / σήμα που εκπέμπει ο καρδιακός μυς είναι μεγαλύτερος από 1.0. Στην ομάδα των ατόμων με HIS πλάκες παρατηρήθηκε θετική αναδιαμόρφωση των αγγείων με μεγαλύτερη συχνότητα (89% έναντι 0%, p<0.01) και περισσότερες περιοχές στικτής ασβεστοποίησης (89%)

έναντι. 50%, p = 0.08). Επιπλέον, βρέθηκε ότι οι HIS πλάκες εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με γαμηλότερη πυκνότητα ΗU όπως προσδιορίζεται από την CTA (-23 HU έναντι 10 HU, p< 0.01). Μία άλλη μελέτη επιχείρησε να διερευνήσει τη σχέση μεταξύ της κατανομής του σήματος υψηλής έντασης κατά μήκος των στεφανιαίων αρτηριών, και της μορφολογίας της πλάκας όπως αυτή καθορίζεται από την ΟCT σε ασθενείς με σταθερή στηθάγχη<sup>166</sup>. Η μελέτη έδειξε ότι το σήμα υψηλής έντασης (HIS) που προεργόταν από το τοίγωμα των αγγείων σγετιζόταν με συσσώρευση μακροφάγων (p = 0.019) και απουσία ασβεστοποίησης (p = 0.014), ενώ το σήμα υψηλής έντασης που προεργόταν από το εσωτερικό του αυλού σγετιζόταν με την παρουσία θρόμβου (p=0.003) και του αγγειακού δικτύου του έσω χιτώνα (p = 0.045). Επιπρόσθετα, έγινε δυνατός ο προσδιορισμός της παρουσίας θρόμβου με τη χρήση απεικόνισης χωρίς αντίθεση με την Τ1-ακολουθία με ευαισθησία 91% και ειδικότητα 88% σε ασθενείς με ΟΣΣ  $^{167}$ . Παρά τα πολλά υποσχόμενα ευρήματα της απεικόνισης με τη χρήση της Τ1- ακολουθίας, δεν είναι επαρκής η ικανότητα της MRI καρδιάς να διαχωρίσει με ακρίβεια τα συστατικά της αθηρωματικής πλάκας των στεφανιαίων αρτηριών. Για να επιλυθεί αυτό το ζήτημα, μια άλλη μελέτη επιχείρησε να συνδυάσει τις Τ1 και Τ2 ακολουθίες ως μεθόδους απεικόνισης με υψηλή ανάλυση και την UTE (ultra-short echo time) MRI καρδιάς για να ταξινομήσει ex vivo αθηρωματικές πλάκες προεργόμενες από ανθρώπινες στεφανιαίες αρτηρίες. 168. Τα αποτελέσματα έδειξαν μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα και για τον πλούσιο σε λιπίδια νεκρωτικό πυρήνα (90% και 75%) και για την ασβεστοποίηση (100% και 90%, αντίστοιχα). Συνοψίζοντας η ταξινόμηση των αθηρωματικών πλακών με βάση τη MRI καρδιάς ήταν πολύ κοντά με την

ιστολογική ταξινόμηση (κ=0.69). Παρά τον ex vivo χαρακτήρα της μελέτης αυτής, η δυνατότητα της MRI καρδιάς να προσδιορίσει τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ευάλωτων πλακών μπορεί να αποτελέσει μια νέα προσέγγιση για τη μη επεμβατική αξιολόγηση των αθηρωματικών πλακών στο άμεσο μέλλον.

# 3.2.3. Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (Positron emission tomography:PET) και υβριδική απεικόνιση (Hybrid imaging)

Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), ως μέθοδος απεικόνισης, χρησιμοποιείται σήμερα στην κλινική πράξη κυρίως για ογκολογικές εκτιμήσεις. Η PET είναι μία μη επεμβατική μέθοδος που ανιχνεύει τα επίπεδα της 18Fφθοροδεοξυγλυκόζης (18F-FDG), η οποία αποτελεί έναν ποσοτικό δείκτη φλεγμονής <sup>169</sup>. Έχει προταθεί ότι η ανίχνευση έντονου σήματος από την PET σε αθηρωματικές πλάκες προέρχεται από τη μεταβολική δραστηριότητα των ενεργοποιημένων μακροφάγων της ευάλωτης πλάκας. Η υψηλή πρόσληψη της 18F-FDG φαίνεται ότι σχετίζεται με τα ευρήματα που προκύπτουν από την MRI στις καρωτίδες αλλά και από την CTA, δηλαδή με τα ανατομικά χαρακτηριστικά μίας πλάκας υψηλού κινδύνου, όπως ο πλούσιος σε λιπίδια νεκρωτικός πυρήνας και η ύπαρξη θετικής αναδιαμόρφωσης, αντίστοιχα <sup>170</sup>.

Σε μία μελέτη έγινε προσπάθεια διερεύνησης της συσχέτισης μεταξύ της φλεγμονής της καρωτιδικής πλάκας που εκτιμήθηκε με MWR και με FDG-PET/ CT σε μια παρόμοια ομάδα ασθενών με σοβαρή καρωτιδική στένωση <sup>79</sup>. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων της θερμοκρασίας της καρωτίδας και της πρόσληψης FDG. Επιπλέον, μετρήσεις και με τις δύο μεθόδους συσχετίστηκαν με ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά ευρήματα. Η μέτρηση της πρόσληψης 18F-FDG από το αρτηριακό τοίχωμα είναι εύκολα αναπαραγόμενη και σχετίζεται θετικά με την έκφραση γονιδίων από τα μακροφάγα<sup>171</sup>. Επιπρόσθετα, αρκετές μελέτες έδειξαν ότι η θεραπεία με στατίνες έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της δραστηριότητας της 18F-FDG στις αθηρωματικές πλάκες <sup>172</sup> και βρέθηκε ότι η δραστηριότητα της 18F-FDG αποτελεί έναν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την ύπαρξη μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων <sup>173</sup>. Σε μία προοπτική μελέτη εξετάστηκε η δυνατότητα της χρήσης του 18F-FDG και του 18F-φθοριούχου νατρίου (18F-NaF), ως δείκτες, σε 40 ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου και σε 40 ασθενείς με σταθερή στηθάγχη, ενώ και οι δύο ομάδες ασθενών υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία <sup>174</sup>. Οι ερευνητές έδειξαν πως η πρόσληψη της 18F-FDG δύναται να διακρίνει τις ύποπτες από τις μη ύποπτες αλλοιώσεις, ωστόσο η πρόσληψη της 18F-NaF ήταν σημαντικά υψηλότερη σε ύποπτες αθηρωματικές βλάβες (Εικόνα 23).



Εικόνα 23. Στεφανιαία αγγειογραφία (Α) που παρουσιάζει μη αποφρακτική νόσο στη δεξιά στεφανιαία αρτηρία (RCA). Αυξημένη πρόσληψη 18F-NaF ανιχνεύεται στη μεσότητα της RCA (κόκκινη γραμμή) στην αντίστοιχη σάρωση PET-CT (B) ενώ δεν είναι ορατή πρόσληψη 18F-FDG στο εγγύς τμήμα της RCA (κίτρινη γραμμή). Η απεικόνιση με VH-IVUS (C) δείχνει ότι το τμήμα της πλάκας στο οποίο δεν απεικονίζεται πρόσληψη 18F-NaF περιέχει κυρίως φθοριούχο και λιπαρό συστατικό (πράσινο) με ασβεστοποίηση (λευκό με ακουστική σκιά).Το τμήμα της πλάκας υψηλού κινδύνου όπως ο μεγάλος πλούσιος σε λιπίδια νεκρωτικός πυρήνας (κόκκινο) και ασβέστιο (λευκό). RCA (right coronary artery); 18F-NaF (18F-sodium fluoride); 18F-FDG (18F-fluorodeoxyglucose). *Τροποποιημένο από* C. Celeng et al., Trends in Cardiovascular Medicine 26(2016) 538 – 547.

Η απεικόνιση της δραστηριότητας της 18F-FDG στις στεφανιαίες αρτηρίες αποτελεί πρόκληση εξαιτίας του μικρού μεγέθους τους, της διαρκούς κίνησης και την υψηλή πρόσληψη 18F-FDG από το μυοκάρδιο. Προτάθηκε να χρησιμοποιηθούν δίαιτες χαμηλές σε υδατάνθρακες και υψηλές σε λίπη έτσι ώστε να περιοριστεί η πρόσληψη της 18F-FDG από το μυοκάρδιο με σκοπό τη βελτίωση της απεικόνισης της φλεγμονής των αθηρωματικών πλακών στις στεφανιαίες αρτηρίες. Η απεικόνιση με τη χρήση PET ενέχει ακόμα προκλήσεις εξαιτίας της μη ομοιόμορφης εξασθένισης των φωτονίων που προκαλείται από την περιορισμένη διακριτική ικανότητα (4–5 mm) της μεθόδου. Η χρήση της PET σε συνδυασμό με CT ή MRI επιτρέπει πιο ακριβή διόρθωση της εξασθένισης των φωτονίων και καλύτερη στόχευση του σήματος της PET σε συγκεκριμένα ανατομικά μορφώματα. Τεχνικές υβριδικής απεικόνισης όπως η PET-CT<sup>79</sup> και η PET-MR επιτρέπουν την ταυτόχρονη εκτίμηση των ανατομικών και μεταβολικών χαρακτηριστικών της αθηρωματικής πλάκας. Η PET-MR έχει τη δυνατότητα εξέτασης ασθενών με οξεία ισχαιμική καρδιοπάθεια καθώς οριοθετεί την περιοχή υψηλού κινδύνου μέσω της απεικόνισης της μειωμένης πρόσληψης 18F-FDG, ενώ η διόρθωση της εξασθένισης του σήματος της MR παραμένει μια πρόκληση<sup>175, 176</sup>.

## 3.2.4. Ακτινομετρία Μικροκυμάτων (Microwave Radiometry: MWR)

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί τεχνικές καταγραφής της θερμοκρασίας των ιστών με την μέθοδο της ακτινομετρίας μικροκυμάτων (MWR). Η MWR αποτελεί μια νέα, αναπτυσσόμενη διαγνωστική τεχνική, η οποία βασίζεται στην μέτρηση της θερμοκρασίας των ιστών του οργανισμού, εκτιμώντας την θερμική ακτινοβολία σε συχνότητες μικροκυμάτων. Η μέθοδος αυτή έχει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με την ενδοστεφανιαία θερμομέτρηση. Συγκεκριμένα, είναι περισσότερο ασφαλής, όχι μόνο γιατί είναι μη επεμβατική, αλλά και γιατί δεν απαιτεί κανενός είδους ακτινοβολία<sup>177</sup>.

Η MWR υπολογίζει την φυσική ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία η οποία εκλύεται από τους εσωτερικούς ιστούς ενός οργανισμού σε συχνότητα

133

μικροκυμάτων. Η ένταση αυτής της ακτινοβολίας είναι ανάλογη της θερμοκρασίας του ιστού. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατή η μέτρηση της θερμοκρασίας ενός εσωτερικού ιστού του οργανισμού, και η προβολή της στην οθόνη ενός υπολογιστή. Η βασική της διαφορά με την υπέρυθρη ακτινοβολία είναι ότι η δεύτερη επιτρέπει την μέτρηση της θερμοκρασίας της επιφάνειας του σώματος, ενώ η MWR του ιστού που βρίσκεται κάτω από την επιφάνεια του σώματος.

#### 3.2.4.1. Μεταφορά θερμότητας σε βιολογικό μοντέλο

Όπως συμβαίνει σε κάθε αντικείμενο, έτσι και στους ζωντανούς οργανισμούς, η θερμότητα μεταφέρεται από μια περιοχή υψηλής θερμότητας σε μια περιοχή χαμηλής θερμότητας. Υπάρχουν τρεις τρόποι ανακατανομής της θερμότητας. Η μεταφορά θερμότητας (transfer), η διάδοση της θερμότητας με ρεύμα και η ακτινοβολία. Για τους βιολογικούς οργανισμούς, η διάδοση της θερμότητας με ρεύμα είναι η μεταφορά θερμότητας μέσω του αίματος σε ορισμένα σημεία του σώματος ενώ η θερμοκρασία παραμένει σταθερή λόγω της ομοιόστασης. Η θερμοκρασία αυτή είναι σχεδόν ίδια με την θερμοκρασία που μπορεί να μετρηθεί στη στοματική κοιλότητα ή στο ορθό (36.5°C – 37.0°C). Το κεντρικό νευρικό σύστημα, τα όργανα του θώρακα, η κοιλιακή χώρα και ορισμένα τμήματα του ώμου, έχουν σταθερή θερμοκρασία. Όταν η θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι 20-25°C, η θερμοκρασία του δέρματος μειώνεται σε 32-33°C, έτσι ώστε να υπάρχει κλίση

Η υπέρυθρη ακτινοβολία και η MWR περιγράφεται από το νόμο του Planck, σύμφωνα με τον οποίο, η ένταση της εκπομπής είναι συνάρτηση της συχνότητας εκπομπής και της απόλυτης θερμοκρασίας.

## 3.2.4.2. Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία από θερμά αντικείμενα

Σύμφωνα με τους νόμους της φυσικής, κάθε αντικείμενο με θερμοκρασία μεγαλύτερη των 0°C εκπέμπει ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε όλες τις συχνότητες, αλλά κυρίως στην συχνότητα των μικροκυμάτων. Αυτήν την ιδιότητα των σωμάτων εκμεταλλεύεται η MWR. Με έναν δέκτη είναι δυνατή η καταγραφή του σήματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην συχνότητα των μικροκυμάτων που εκπέμπεται από τους ιστούς ενός οργανισμού. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατή η καταγραφή της μέσης εσωτερικής θερμοκρασίας ενός οργάνου, ή μιας περιοχής του ιστού. Το σήμα που καταγράφεται από την κεραία λήψης των μικροκυμάτων η οποία είναι σε επαφή με ένα σώμα που απορροφά την ακτινοβολία

 $P = kT \Delta f$ 

όπου

 $k-\eta$  σταθερά του Boltzmann (1.38 x 10<sup>-23</sup> Dg/°K)

 $\Delta f$  - System bandwidth

Τ – Θερμοκρασία του βιολογικού αντικειμένου

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η τιμή του καταγραφόμενου σήματος είναι ανάλογη της θερμοκρασίας του βιολογικού αντικειμένου. Όταν η θερμοκρασία του αντικειμένου είναι 309°K, δηλ. 36°C, η ένταση του σήματος που καταγράφεται είναι 3x10<sup>-13</sup> Watt, και είναι ίση με την τιμή του σήματος που παράγεται από τον δέκτη.

## 3.2.4.3. Διάδοση των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων εντός του σώματος

Τα βιολογικά αντικείμενα που εξετάζονται, συνήθως αποτελούνται από πολλές στιβάδες ιστού (δέρμα, λίπος, μύες, κτλ). Η ακτινοβολία διαπερνά αυτά τα επίπεδα με διαφορετικές απώλειες και διαφορετικές θερμοκρασίες. Για τις συχνότητες μικροκυμάτων, η εξασθένιση-απορρόφηση εξαρτάται από την περιεκτικότητα των ιστών σε νερό. Οι ιστοί μπορούν να διαχωριστούν σε 2 κατηγορίες: στους ιστούς με χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό (οστά, λίπος) που παρουσιάζουν μικρή εξασθένηση (20-30% ανά cm) και στους ιστούς με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό (δέρμα, μύες) που η απορρόφηση είναι περίπου 50% ανά cm.

Η MWR έχει ήδη αξιοποιηθεί στην ογκολογία για τον εντοπισμό του καρκίνου του θυρεοειδούς και του μαστού, αλλά και για την παρακολούθηση της θεραπείας καλοηθών όγκων <sup>178-182</sup>. Η τεχνική αυτή παρουσιάζει μερικά πλεονεκτήματα για τον εντοπισμό του καρκίνου του μαστού σε σχέση με άλλες μεθόδους. Αρχικά , δεν είναι επικίνδυνη, τόσο για τους ασθενείς που δέχονται την εξέταση όσο και για το προσωπικό που πραγματοποιεί τη θερμογραφία. Επιπλέον, είναι μία μη επεμβατική μέθοδος και έχει την ικανότητα να εντοπίζει αλλοιώσεις που προηγούνται των ανατομικών αλλοιώσεων που ανιχνεύονται από την υπερηχογραφική εξέταση, τη μαστογραφία και άλλες μεθόδους. Η ικανότητα έγκυρης ανίχνευσης αυτών των αλλοιώσεων καθιστά τη MWR μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο για τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού από το αρχικό του στάδιο. Οι ταχέως αυξανόμενοι όγκοι εκπέμπουν περισσότερη θερμότητα, καθώς η ειδική παραγωγή θερμότητας είναι ανάλογη του ρυθμού αύξησης του όγκου, με αποτέλεσμα να απεικονίζονται με μεγαλύτερη αντίθεση στα θερμογράμματα. Το στοιχείο αυτό καθιστά την MWR τη μοναδική μέθοδο για τον καθορισμό των ταχέως αναπτυσσόμενων όγκων και σε συνδυασμό με τις άλλες μεθόδους που χρησιμοποιούνται ήδη, επιτρέπει την διάγνωση των ασθενών με ταχέως εξελισσόμενους όγκους <sup>183</sup>.

# 3.2.4.4. Κατασκευαστικά στοιχεία συσκευής

Το 1997 η RES, Ltd ανέπτυξε την συσκευή RTM-01-RES, η οποία βασίζεται στην λειτουργία ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή και είναι κατάλληλη για την μέτρηση της MWR. Η συσκευή αποτελείται από έναν αισθητήρα εσωτερικής θερμοκρασίας, από τον αισθητήρα θερμοκρασίας δέρματος, και από την κεντρική μονάδα ανάλυσης (**Εικόνα 24**). Το σύστημα περιλαμβάνει επίσης έναν προσωπικό υπολογιστή και έναν εκτυπωτή.



Εικόνα 24. Το σύστημα MWR. Η κεραία του αισθητήρα μικροκυμάτων είναι σε επαφή με το δέρμα πάνω από την εξεταζόμενη περιοχή. Η συσκευή συνδέεται με τον υπολογιστή με σειριακό τρόπο και έτσι το θερμοδιάγραμμα μπορεί να απεικονιστεί στην οθόνη του υπολογιστή και να εκτυπωθεί. Η συσκευή έχει επίσης την δυνατότητα να υπολογίζει πολλαπλές παραμέτρους, όπως την θερμική ασυμμετρία, και τη διασπορά της θερμοκρασίας του ιστού.

Τα τεχνικά χαρακτηριστικά της συσκευής εμφανίζονται στον Πίνακα 2.

Items	Specifications
Depth of detection of a thermal abnormality (higher or lower temperature), cm	3-7 (depending on water content)
Width of detection of a thermal abnormality, cm	2
Accuracy of measuring the internal temperature, when the temperature range is 32-38 °C	±0.2 °C
Time of measuring internal temperature at one point, seconds	8
Applicator diameter, mm	39
Accuracy of skin temperature measurement, °C	±0.2
Time of measuring skin temperature at one point, second, when the temperature range	1
is 32-38 °C, seconds	
System weight, kg	4
Power supply	220±22 Volt 1 phase, 50 Hz

Πίνακας 2. Τεχνικά χαρακτηριστικά της συσκευής MWR.

Η απεικόνιση της θερμοκρασίας των σημείων, μπορεί να γίνει είτε σαν ένα διάγραμμα στο οποίο στον οριζόντιο άξονα εμφανίζονται τα ονόματα των σημείων, και στον κάθετο οι θερμοκρασίες, είτε σε θερμοδιάγραμμα, στο οποίο οι θερμοκρασίες απεικονίζονται με διαφορετικό χρώμα.

Τα δεδομένα από τις μετρήσεις θερμοκρασίας απεικονίζονται σαν πεδίο θερμοκρασίας, στο οποίο οι πιο ψυχρές περιοχές απεικονίζονται με «ψυχρά» χρώματα του αγγείου (μπλε) και οι πιο θερμές περιοχές με «ζεστά» χρώματα (κόκκινο και πορτοκαλί) (Εικόνα 25).



Εικόνα 25. Θερμογραφία με τη συσκευή MWR.

# 3.2.4.5. Κλινικές μελέτες του RTM-01

Κλινικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σε ασθενείς με όγκους στο μαστό <sup>184-186</sup>. Σκοπός αυτών των μελετών ήταν να εκτιμηθεί η ικανότητα του συστήματος RTM-01-RES και κατ' επέκταση και της MWR να μπορεί να διαγνώσει τον καρκίνο του μαστού και μέσω αυτού να γίνεται η παρακολούθηση των ασθενών με καλοήθεις όγκους. Τα αποτελέσματα του RTM-01-RES συγκρίθηκαν με αποτελέσματα από μαστογραφία, υπέρηχο μαστών και με την ιστολογία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτών των ερευνών η ευαισθησία της MWR για την διάγνωση του καρκίνου του μαστού ήταν 90.3%, υψηλότερη αυτής των άλλων μεθόδων. Η θερμική ετερογένεια η οποία υπάρχει στον καρκίνο του μαστού μπορεί να ανιχνευθεί και να καταγραφεί μέσω της MWR και της συσκευής RTM-01-RES, προσφέροντας αναίμακτη και ασφαλή διάγνωση του καρκίνου του μαστού.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1. Σκοπός πειραματικού πρωτοκόλλου

Ο σκοπός της παρούσης μελέτης είναι να διερευνηθεί εάν: 1) η MWR μπορεί να εφαρμοστεί με ασφάλεια για τη μη επεμβατική μέτρηση της θερμοκρασίας των αρτηριακών τοιχωμάτων και 2) οι μετρήσεις που πραγματοποιούνται με την τεχνική της MWR συσχετίζονται με τις μετρήσεις που καταγράφονται με τη μέθοδο της IVT και με την τοπική φλεγμονώδη αντίδραση όπως αυτή ανιχνεύεται με ιστολογικές τεχνικές.

## 2. Μέθοδος

#### 2.1. Πειραματόζωα

Στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 24 λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας (με βάρος 3.8 ± 0.5 kg). Τυχαιοποιημένα, 12 κουνέλια ακολούθησαν κανονική διατροφή, ενώ άλλα 12 ακολούθησαν διατροφή πλούσια σε χοληστερόλη (αποτελούμενη από 0.3% χοληστερόλη και 4.7% λάδι καρύδας, Research Diets) για 6 μήνες. Μετά την πάροδο του διαστήματος των 6 μηνών, όλα τα κουνέλια προετοιμάστηκαν για τη διενέργεια ενδαγγειακής αγγειογραφίας, IVT και MWR της κοιλιακής αορτής. Η Επιτροπή Ιδρυματικής Εργαστηριακής Φροντίδας και Χρήσης Πειραματόζωων ενέκρινε το πρωτόκολλο, το οποίο διεξήχθη σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες για τη φροντίδα των πειραματόζωων.

# 2.2. Απεικονιστικές τεχνικές

Η προώθηση του οδηγού σύρματος προς τη λαγόνιο αρτηρία, πραγματοποιήθηκε μέσω ενός θηκαριού 5 F το οποίο εισήχθη στην δεξιά καρωτίδα, και πραγματοποιήθηκε αγγειογραφία της κοιλιακής αορτής για να αναδειχθούν οι αθηρωματικές πλάκες. Πριν την πραγματοποίηση μετρήσεων της θερμοκρασίας, η αορτή χωρίστηκε σε 5 διαδοχικά τμήματα ίσου μήκους (2 cm), με τη χρήση OCT. Για το διαχωρισμό των τμημάτων χρησιμοποιήθηκαν εξωτερικοί ακτινοσκιεροί δείκτες. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της θερμοκρασίας της κοιλιακής αορτής: (Ι) επεμβατικά με IVT (Medispes S.W., ZUG, Switzerland) και (ΙΙ) μη επεμβατικά με MWR (RTM-01-RES system, IMRI, Bolton University, Bolton, UK).

## 2.2.1 Μελέτη με ΟCΤ

Η μελέτη ΟCT πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του καθετήρα LightLabOCT (Image-wire<sup>TM</sup>, Westford, MA, USA). Ο καθετήρας έχει εξωτερική διάμετρο 0.019 inch, και περιέχει πυρήνα οπτικών ινών 0.006 inch και ένα ακτινοσκιερό τελικό άκρο, παρόμοιο με τους συμβατικούς οδηγούς καθετήρες. Ο καθέτηρας του OCT τοποθετήθηκε στην κοινή λαγόνια αρτηρία των πειραματόζωων και αποσύρθηκε αυτόματα (pulled back) με ταχύτητα 3 mm/s, με ταυτόχρονη έγχυση ενός ιξώδους ισοοσμωτικού διαλύματος από τον οδηγό καθετήρα, επιτρέποντας την εκτόπιση του αίματος από την αρτηρία κατά τη διάρκεια της καταγραφής εικόνων (**Εικόνα 1**). Καταγράφηκαν εικόνες καθόλο το μήκος της κοιλιακής αορτής, ξεκινώντας από τον διχασμό των λαγονίων αρτηριών μέχρι το άπω τμήμα της θωρακικής αορτής.



Εικόνα 1. Αγγειογραφία της κοιλιακής αορτής των πειραματόζωων, που δείχνει τη θέση του οδηγού σύρματος και το σύρμα ΟCT στην δεξιά λαγόνια αρτηρία. Ο εξωτερικός δείκτης είναι τοποθετημένος στην επιφάνεια του δέρματος και κάθετα στον θερμικό ανιχνευτή.

## 2.2.2. Μετρήσεις με ΙΥΤ

Ένα θερμογραφικός καθετήρας (Medispes S.W., ZUG, Switzerland) εισήχθη και τοποθετήθηκε στην κοιλιακή αορτή, στη θέση διχασμού των λαγονίιων αρτηριών<sup>138, 187</sup>. Έγιναν μετρήσεις της θερμοκρασίας σε 3 διαφορετικά σημεία κάθε τμήματος της αορτής. Για τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε η μέγιστη θερμοκρασία που σημειώθηκε σε κάθε τμήμα. Ως διαφορά θερμοκρασίας (ΔΤ<sub>IVT</sub>) κάθε τμήματος ορίστηκε η θερμοκρασία κάθε τμήματος μείον την ελάχιστη θερμοκρασία που καταγράφηκε και στα 5 τμήματα της αορτής. Ως μέγιστη διαφορά θερμοκρασίας (ΔΤ<sub>IVTmax</sub>) ορίστηκε η διαφορά της μέγιστης θερμοκρασίας που σημειώθηκε σε ολόκληρη την κοιλιακή αορτή μείον την ελάχιστη.

#### 2.2.3. Μετρήσεις με MWR

Οι μετρήσεις με MWR έγιναν με το σύστημα μέτρησης μικροκυμάτων RTM-01-RES, το οποίο ανιχνεύει τη θερμοκρασία των εσωτερικών ιστών του σώματος μετρώντας την ακτινοβολία που εκπέμπουν οι ιστοί σε συχνότητες μικροκυμάτων. Τα τεχνικά χαρακτηριστικά του συστήματος RTM-01-RES έχουν περιγραφεί στο γενικό μέρος του συγράμματος.

Καθώς το μήκος του αισθητήρα του συστήματος MWR είναι 2 εκατοστά, η αορτή διαιρέθηκε σε 5 ίσα τμήματα μήκους 2 εκατοστών. Πραγματοποιήθηκαν 3 μετρήσεις σε κάθε τμήμα της κοιλιακής αορτής, ξεκινώντας από τον διγασμό των λαγονίων αρτηριών για να διασφαλιστεί η επαναληψιμότητα της μεθόδου. Κατά τη διάρκεια των μετρήσεων, ο αισθητήρας της συσκευής μέτρησης τοποθετήθηκε κάθετα προς την επιφάνεια του δέρματος των πειραματόζωων, με ταυτόχρονη άσκηση ελαφράς μηχανικής πίεσης και υπό την καθοδήγηση εξωτερικών ακτινοσκιερών δεικτών, οι οποίοι βρίσκονται σε γωνία 90 μοίρες με την υπό εξέταση περιοχή. Ο αισθητήρας κρατήθηκε στη θέση αυτή για 10 δευτερόλεπτα, κατά τη διάρκεια των οποίων ο δέκτης ολοκλήρωσε τη μέτρηση μικροκυμάτων και ένας μικροεπεξαργαστής μετέτρεψε το καταγεγραμμένο σήμα σε μέτρηση θερμοκρασίας. Η διαδικασία συνεχίστηκε μέχρι που έγινε καταγραφή των μετρήσεων και στα 5 τμήματα στα οποία είχε χωριστεί η κοιλιακή αορτή. Τα δεδομένα από τις μετρήσεις θερμοκρασίας απεικονίστηκαν σαν πεδίο θερμοκρασίας, στο οποίο οι πιο ψυχρές περιοχές απεικονίζονται με «ψυχρά» χρώματα (μπλε) και οι πιο θερμές περιοχές με «ζεστά» χρώματα (κόκκινο και πορτοκαλί) (Εικόνα 2). Ως διαφορά θερμοκρασίας (ΔT<sub>MR</sub>) κάθε τμήματος ορίστηκε
η θερμοκρασία κάθε τμήματος μείον την ελάχιστη θερμοκρασία που καταγράφηκε και στα 5 τμήματα της αορτής. Ως μέγιστη διαφορά θερμοκρασίας (ΔT<sub>MRmax</sub>) ορίστηκε η διαφορά της μέγιστης θερμοκρασίας που σημειώθηκε σε ολόκληρη την κοιλιακή αορτή μείον την ελάχιστη (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Θερμική απεικόνιση της κοιλιακής αορτής των πειραματόζωων με τη χρήση ακτινομετρίας μικροκυμάτων. (Α) Μια αντιπροσωπευτική ΔΤ 0.9 ° C που μετρήθηκε στην αορτή ενός υπερχοληστερολαιμικού πειραματόζωου. (Β) Ένα αντιπροσωπευτικό θερμικό πεδίο της αορτής ενός πειραματόζωου της ομάδας ελέγχου που δείχνει ισοκατανεμημένες μετρήσεις θερμοκρασίας με μέγιστη ΔΤ 0.3 ° C. Κάθε τιμή θερμοκρασίας αντιστοιχεί σε ένα συγκεκριμένο χρώμα της κλίμακας στο κάτω μέρος της εικόνας.

#### 2.3. Ιστολογία

Ακολούθως, έγινε ευθανασία των πειραματόζωων με παράλληλη χορήγηση ενδοφλέβιας ηπαρίνης (100 U/kg) για την αποφυγή σχηματισμού θρόμβων αμέσως μετά την ευθανασία. Πριν τη διατομή των στελεχών της κοιλιακής αορτής, σημειώθηκαν με ανεξίτηλη μελάνη τα 5 τμήματα στα οποία είχε διαιρεθεί η κοιλιακή αορτή, από την αρχή και κατά μήκος της. Μετά την ευθανασία, έγινε επεξεργασία των τμημάτων της κοιλιακής αορτής με ηπαρινισμένο αλατούχο διάλυμα σε φυσιολογική πίεση και μετά με ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλδεϋδης 4 %. Αφού τα δείγματα μονιμοποιήθηκαν με παραφίνη, ελήφθησαν πολλαπλές τομές (4 μm) από κάθε τμήμα της κοιλιακής αορτής.

Ακολούθησε χρώση των ιστολογικών παρασκευασμάτων με χρώση αιματοξυλίνης-ιωσίνης και ανάλυσή τους στο οπτικό μικροσκόπιο. Έγινε εξέταση της σύνθεσης και του σχηματισμού των αθηρωματικών πλακών και μετρήθηκε το πάχος τους. Για το σκοπό αυτό, τα δείγματα ψηφιοποιήθηκαν με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου (Nikon Eclipse 80i, Nikon Corp., Tokyo, Japan), συνδεδεμένο με ψηφιακή κάμερα (DS-2MW, NikonCorp.). Το πάχος της πλάκας μετρήθηκε κάθετα από την επιφάνεια του ενδοθηλίου σε 5 τυχαία επιλεγμένα σημεία ανά εγκάρσιο τμήμα. Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των φλεγμονωδών κυττάρων χρησιμοποιήθηκε το ακόλουθο σκορ : 0, 1+, 2+, 3+: απόντα, ελάχιστη διήθηση, διήθηση έχοντας σχηματίσει συναθροίσεις και εκτεταμένη διήθηση, αντίστοιχα.

Χρησιμοποιήθηκε ανοσοϊστοχημεία για την εκτίμηση του βαθμού διήθησης από λεμφοκύτταρα (CD3+) και μακροφάγα (CD68+). Πραγματοποιήθηκε ανοσοϊστοχημική χρώση για την ανίχνευση CD3 και CD68 θετικών κυττάρων στις

μονιμοποιημένες με φορμαλίνη και παραφίνη τομές, πάχους 4 μm, μετά από ολονύχτια θέρμανση στους 37 °C και αποπαραφίνωση με ξυλόλη και επανυδάτωση με διαβαθισμένες αλκοόλες. Μετά την εξουδετέρωση της δραστηριότητας της ενδογενούς υπεροξειδάσης με τη χρήση διαλύματος 0,3% Η202 σε φυσιολογικό ορό με ρυθμιστικό διάλυμα TRIS για 30 λεπτά προχωρήσαμε σε ανάκτηση των αντισωμάτων με τη χρήση μικροκυμάτων ισχύος 750 W σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού άλατος 10 mM (pH 6.0) για 15 λεπτά. Μετά από πλύση με φυσιολογικό ορό και ρυθμιστικό διάλυμα TRIS, προστέθηκε φυσιολογικός ορός αλόγου για 30 λεπτά για να αποτραπεί η σύνδεση μη ειδικών αντισωμάτων. Στη συνέχεια, οι τομές επωάστηκαν ολονυκτίως με τα αντισώματα αντι-CD3 (κλονικά NCL-L-565, Novokastra-Leica Microsystems, Gmbh, Germany) και αντι-CD68 (PGM1, Dako Corp., Glostrup, Denmark) σε διάλυμα αναλογίας 1:50. Για την οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων εφαρμόστηκε μια τεχνική δύο σταδίων, με τη χρήση της διαμινοβενζιδίνης ως χρωστική ουσία (Envision; Dako, Glostrup, Denmark). Εν τέλει, έγινε χρώση των τομών με αιματοξυλίνη και ακολούθησε σκήνωσή τους. Τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημείας βαθμολογήθηκαν ανάλογα με το βαθμό της φλεγμονής, όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Στο κομμάτι κάθε τμήματος της αορτής που παρατηρήθηκε το μέγιστο πάχος της αθηρωματικής πλάκας, μετρήθηκε η πυκνότητα και η ανοσοδραστικότητα των CD3 και CD68 θετικών φλεγμονωδών κυττάρων. Αυτές οι τομές χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση και τη συσχέτιση με τις μετρήσεις της θερμοκρασίας.

Πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητη εκτίμηση της ανοσοϊστολογικής χρώσης από δύο παθολογοανατόμους με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου, χωρίς να γνωρίζουν τα κλινικά χαρακτηριστικά κάθε δείγματος. Σε περιπτώσεις διαφωνίας, έγινε κοινή ανασκόπηση του δείγματος με σκοπό την από κοινού βαθμολόγησή του.

### 3. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με εμπορικό διαθέσιμο λογισμικό ανάλυσης (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως αναλογίες ή μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Η σύγκριση των συνεχών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε με αμφίπλευρους (2-sided) ελέγχους Student test. Διαφορές μεταξύ κατηγορικών μεταβλητών υπολογίστηκαν με τη χρήση της δοκιμασίας του  $\chi^2$ . Για όλες τις ιστολογικές και ανοσοϊστολογικές παρατηρήσεις, η μεταβλητότητα (interobserver και intraobserver variability) εκτιμήθηκε με εκ νέου ανάλυση ορισμένων αντιπροσωπευτικών ιστολογικών τομών. Η τιμή p < 0.05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

#### 4. Αποτελέσματα

Πραγματοποιήθηκε θερμογραφία σε συνολικά 60 τμήματα κοιλιακής αορτής κάθε ομάδας και καταγράψαμε 48 διαφορετικές τιμές θερμοκρασίας στην αορτή της ομάδας με την αυξημένη χοληστερόλη και 48 στην ομάδα ελέγχου. Δεν υπήρξαν επιπλοκές κατά τη διενέργεια των μετρήσεων.

### 4.1. Μετρήσεις Θερμοκρασίας

Και οι δύο μέθοδοι ανίχνευσαν θερμική ετερογένεια στα δείγματα αορτής των πειραματόζωων με υπερχοληστερολαιμία. Οι 3 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις MWR κάθε τμήματος έδειξαν άριστη επαναληψιμότητα της μεθόδου καθώς οι διαφορές της ΔT<sub>MR</sub> και της ΔT<sub>MRmax</sub> ήταν μικρότερες από 0.2°C και στις δύο ομάδες των πειραματόζωων. Η ΔT<sub>MR</sub> των αθηροσκληρωτικών δειγμάτων ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με την ΔT<sub>MR</sub> των δειγμάτων της ομάδας ελέγχου (1.02 ± 0.23°C έναντι 0.21 ± 0.09°C, p < 0.001). Αντίστοιχα, τα δείγματα αορτής με αθηροσκλήρωση παρουσίαζαν υψηλότερη ΔT<sub>MRmax</sub> σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου (1.14 ± 0.21°C έναντι 0.25 ± 0.11°C, p < 0.001) (Πίνακας 1). Οι μετρήσεις που έγιναν με IVT επιβεβαίωσαν αυτά τα ευρήματα: η ΔT<sub>IVT</sub> ήταν 0.19 ± 0.03°C για τα αθηροσκληρωτικά δείγματα έναντι 0.01 ± 0.01°C, (p < 0.001) της ομάδας ελέγχου. Η ΔT<sub>IVTmax</sub> ήταν υψηλότερη στα αθηροσκληρωτικά δείγματα αορτής σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου (0.22 ± 0.02 έναντι 0.02 ± 0.01°C, p < 0.001) (Πίνακας 1). Σε όλα τα τμήματα, υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ των διαφορών θερμοκρασίας που ανιχνεύτηκαν και με τις δύο μεθόδους (p < 0.001, R = 0.94). Στα τμήματα αορτής των υπερχοληστερολαιμικών πειραματόζωων, βρέθηκε καλή συσχέτιση, στατιστικά σημαντική, μεταξύ των δύο διαφορετικών μεθόδων (p < 0.001, R = 0.57).

	Ενδαγγεια	κή θερμογραφία	Ραδιομετρία μικροκυμάτων		
	ΔT <sub>IVT</sub> (n=96)	ΔT <sub>IVTmax</sub> (n=24)	ΔT <sub>MR</sub> (n=96)	$\Delta T_{MRmax}$ (n=24)	
Αθηρωματικά δείγματα	0.19±0.03°C	0.22±0.02°C	1.02±0.23°C	1.14±0.21°C	
Δείγματα ελέγχου	0.01±0.01°C	0.02±0.01°C	0.21±0.09°C	0.25±0.11°C	
p value	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	

Πίνακας 1. In vivo διαφορές θερμοκρασίας μεταξύ ενδαγγειακής θερμογραφίας και ακτινομετρίας μικροκυμάτων σε δείγματα αορτής υπεχοληστερολαιμικών πειραματόζωων και της ομάδας ελέγχου.

## 4.2. Ιστολογική ανάλυση

Η αορτή της ομάδας ελέγχου παρουσίαζε φυσιολογικό αγγειακό τοίχωμα, χωρίς ύπαρξη αθηρωματικών πλακών. Οι αθηρωματικές πλάκες στην κοιλιακή αορτή των υπερχοληστερολαιμικών δειγμάτων αποτελούνταν τόσο από ινωμυώδη ιστό όσο και από αφρώδη κύτταρα (Εικόνα 4). Σε ορισμένες περιπτώσεις, παρατηρήθηκε ένας νεκρωτικός πυρήνας, περιβαλλόμενος από αυξημένα μονοκύτταρα, ενδεικτικό έντονης φλεγμονής. Αυξημένη διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα βρέθηκε σε όλη την έκταση της αθηρωματικής πλάκας. Δεν εντοπίστηκαν εναποθέσεις ασβεστίου.



Εικόνα 4. Αντιπροσωπευτικές μικροφωτογραφίες παρασκευασμάτων κατά μήκος της κοιλιακής αορτής των υπερχοληστεροαιμικών πειραματόζωων, με χρώση αιματοξυλίνης ιωσίνης [Α (εγγύς)-Ε (άπω )] (200χαρχική μεγέθυνση). Οι αθηρωματικές αλλοιώσεις είναι πιο έντονες στο μέσο τμήμα της κοιλιακής αορτής (βέλη).

Το μέσο πάχος των αθηροσκληρωτικών τμημάτων αορτής ήταν  $352.1 \pm 152.2$  mm. Η θερμική ετερογένεια των αθηροσκληρωτικών τμημάτων, όπως αυτή μετρήθηκε και με τις δύο παραπάνω μεθόδους, παρουσίασε καλή συσχέτιση με το πάχος της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτή μετρήθηκε με ιστολογικές τεχνικές (MR:R = 0.60, p < 0.001, IVT:R = 0.41, p = 0.004) (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Συσχέτιση μεταξύ της διαφοράς θερμοκρασίας που καταγράφεται σε αθηρωματικές πλάκες με τη MWR και το αντίστοιχο πάχος της αθηρωματικής πλάκας όπως καθορίζεται με ιστολογικούς μεθόδους.

Ανάλογα με τη σύστασή τους σε φλεγμονώδη κύτταρα και την ανοσοαντίδραση σε CD3 και CD68, οι αθηρωματικές πλάκες κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο ομάδες (αυξημένη/χαμηλή διήθηση και αυξημένη/χαμηλή ανοσοαντίδραση). Τα τμήματα αορτής που χαρακτηρίζονταν από την παρουσία αθηρωματικών πλακών, παρουσίαζαν αυξημένη διήθηση από λεμφοκύτταρα, μαστοκυττάρα και

μακροφάγα σε σχέση με τα δείγματα της ομάδας ελέγχου (p < 0.001 για όλες τις συγκρίσεις) (Πίνακας 2).

	Υπερχοληστερολαιμικά τμήματα αορτής (n=48)			Τμ	Τμήματα ελέγχου (n=48)			
Ιστολογικά χαρακτηριστικά (Βαθμός)	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+
Τ Λεμφοκύτταρα (n) (%) Μαστοκύτταρα (n) (%)	0(0%) 0(0%)	4(8.3%) 1(2.1%)	17(35.4%) 19(39.6%)	27(56.2%) 28(58.3%)	48(100%) 48(100%)	0(0%) 0(0%)	0(0%) 0(0%)	0(0%) 0(0%)
Ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά								
CD68 (n) (%) CD3 (n) (%)	0(0%) 0(0%)	5(10.4%) 4(8.3%)	18(37.5%) 15(31.2%)	25(52.0%) 29(60.4%)	48(100%) 48(100%)	0(0%) 0(0%)	0(0%) 0(0%)	0(0%) 0(0%)

Πίνακας 2. Ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση των τμημάτων αορτής των πειραματόζωων (p< 0.05 μεταξύ των υπερχοληστερολαιμικών τμημάτων αορτής και των τμημάτων ελέγχου).

Tα τεμάχια αορτής με αυξημένη διήθηση από λεμφοκύτταρα (≥3) (n = 27) είχαν υψηλότερη ΔT<sub>MR</sub> σε σχέση με τεμάχια αορτής με χαμηλή διήθηση από λεμφοκύτταρα (<3) (n = 69) (1.12 ± 0.16°C έναντι 0.41 ± 0.35°C, p < 0.001) (Εικόνα 6A). Παρομοίως, η ΔT<sub>IVT</sub> βρέθηκε υψηλότερη στα τεμάχια αορτής με αυξημένη διήθηση από λεμφοκυττάρα (0.21 ± 0.03 έναντι 0.06 ± 0.08°C, p < 0.001).

Tα τεμάχια αορτής με αυξημένη διήθηση από μαστοκυττάρα (≥3) (n = 28) παρουσίαζαν υψηλότερη ΔT<sub>MR</sub> σε σχέση με τεμάχια αορτής με χαμηλή διήθηση από μαστοκύτταρα (n = 68) (1.10 ± 0.23°C έναντι 0.41 ± 0.34°C, p < 0.001) (Εικόνα 6B). Παρομοίως, η ΔT<sub>IVT</sub> βρέθηκε υψηλότερη στα τεμάχια αορτής με αυξημένη διήθηση από μαστοκυττάρα (0.20 ± 0.03 ° C έναντι 0.06 ± 0.08 ° C, p < 0.001).

Tα τεμάχια αορτής με αυξημένη διήθηση από μακροφάγα (≥3) (n = 71) παρουσίαζαν υψηλότερη  $\Delta T_{MR}$  σε σχέση με τεμάχια αορτής με χαμηλή διήθηση από μακροφάγα (n = 25) (1.08 ± 0.20°C έναντι 0.45 ± 0.38°C, p < 0.001) (Εικόνα

6Γ, Εικόνα 7). Αντίστοιχα, η  $\Delta T_{IVT}$  βρέθηκε υψηλότερη σε τεμάχια αορτής με υψηλότερη διήθηση από μακροφάγα (0.25 ± 0.03°C έναντι 0.07 ± 0.08°C, p < 0.001).



Εικόνα 6. Διαφορές θερμοκρασίας που καταγράφηκαν με τη χρήση MWR σε τμήματα αορτής με υψηλή έκφραση φλεγμονωδών δεικτών έναντι τμημάτων με χαμηλή έκφραση. (Α) Έντονη έναντι χαμηλής συγκέντρωσης λεμφοκυττάρων. (Β) Έντονη έναντι χαμηλής συγκέντρωσης μαστοκυττάρων. (C) Έντονη έναντι χαμηλής συγκέντρωσης μακροφάγων. (D) Έντονη έναντι χαμηλής έκφρασης των CD3.

#### 4.3. Ανοσοϊστοχημεία

Όλα τα αθηροσκληρωτικά τεμάχια αορτής ήταν θετικά για την ύπαρξη CD3+ και CD68+ κυττάρων σε αντίθεση με τα τεμάχια αορτής της ομάδας ελέγχου (Πίνακας 2). Η  $\Delta T_{MR}$  σε τεμάχια αορτής με έντονη διήθηση από CD3 θετικά κύτταρα ( $\geq$ 3) (n = 29) ήταν υψηλότερη σε σχέση με την  $\Delta T_{MR}$  σε τεμάχια αορτής με χαμηλή διήθηση (<3) (n = 67) (1.1 ± 0.17 έναντι 0.40 ± 0.35°C, p < 0.001) (Εικόνα 6Δ, Εικόνα 8). Παρομοίως, η  $\Delta T_{IVT}$  στα τεμάχια αορτής με έντονη διήθηση από CD3+ κύτταρα ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με την  $\Delta T_{IVT}$  στα τεμάχια αορτής με χαμηλή διήθηση (0.20 ± 0.03 έναντι 0.06 ± 0.08°C, p < 0.001).



Εικόνα 7. Αντιπροσωπευτική ιστολογική εικόνα της κοιλιακής αορτής με χρώση για μακροφάγα (αντισώμα του PGM1).

Εικόνα 8. Αντιπροσωπευτική ιστολογική εικόνα της κοιλιακής αορτής με χρώση για ανίχνευση CD3+ κυττάρων.

## 5. Συζήτηση

Τα κύρια ευρήματα αυτής της παρούσας μελέτης είναι ότι: 1) η MWR δύναται να μετρήσει, μη επεμβατικά, διαφορές θερμοκρασίας στην κοιλιακή αορτή πειραματόζωων με αθηρωμάτωση και 2) οι μετρήσεις θερμοκρασίας με την τεχνική της MWR συσχετίζονται με τις ενδαγγειακές μετρήσεις της θερμοκρασίας. Επιπλέον, οι διαφορές θερμοκρασίας των αθηροσκληρωτικών τμημάτων αορτής, όπως υπολογίστηκαν και από τις δύο μεθόδους, συσχετίζονται με το πάχος της αθηρωματικής πλάκας και τη διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα, όπως εκτιμήθηκαν από την ιστολογική εξέταση.

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει πως η τοπική φλεγμονώδης ενεργοποίηση στην αθηρωματική αγγειακή νόσο σχετίζεται με ex vivo μετρήσεις της θερμοκρασίας <sup>129</sup>, με in vivo πειραματική μέτρηση της θερμοκρασίας <sup>135</sup> και in vivo μετρήσεις σε ανθρώπους <sup>118, 131, 138, 141, 145</sup>. Η IVT είναι μία επεμβατική μέθοδος που μετρά τη θερμοκρασία των αγγειακών τοιχωμάτων in vivo και παρέχει σημαντικές διαγνωστικές και προγνωστικές πληροφορίες <sup>118, 131, 141, 145</sup>. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος έχει κάποιους περιορισμούς. Αρχικά, η IVT δε μπορεί να σαρώσει ολόκληρα τμήματα αρτηρίας, καθώς παρέχει μόνο σημειακές μετρήσεις της θερμοκρασίας του αρτηριακού τοιχώματος. Κατά δεύτερον, οι χρησιμοποιούμενοι καθετήρες για την IVT δεν διασφαλίζουν την επαφή του θερμοαισθητήρα με το αρτηριακό τοίχωμα σε περιοχές με μη σημαντικές αθηρωματικές αλλοιώσεις. Και τρίτον, αυτές οι μετρήσεις γίνονται μόνο επεμβατικά. Όλοι αυτοί οι περιορισμοί

157

δεν επιτρέπουν την πραγματοποίηση ευρέων κλινικών δοκιμών της ενδαγγειακής θερμογραφίας.

Η MWR είναι μία νέα μέθοδος, που ήδη βρίσκει εφαρμογή στην ογκολογία, για την μη επεμβατική μέτρηση της θερμοκρασίας των ιστών. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που αξιολογεί τη χρήση της MWR σε ένα in vivo πειραματικό μοντέλο αποτελούμενο από υπερχοληστερολαιμικά πειραματόζωα. Η MWR ανιχνεύει τη φυσική ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε συχνότητα μικροκυμάτων, που προέρχεται από τους εσωτερικούς ιστούς και, καθώς η ένταση της ακτινοβολίας είναι ανάλογη της θερμοκρασίας του ιστού, παρέχει ακριβείς μετρήσεις της θερμοκρασίας. Θεωρητικά, μπορεί να πραγματοποιηθεί θερμική σάρωση σε οποιοδήποτε αρτηριακό τμήμα που εντοπίζεται σε 1 έως 7 cm βάθος από την επιφάνεια του δέρματος <sup>177, 181, 182</sup>.

Σε αυτό το πειραματικό πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκαν δύο ομάδες (μία ομάδα κουνελιών με υπερχοληστερολαιμία και μία ομάδα ελέγχου), έγινε σύγκριση της MWR ως μη επεμβατικής μεθόδου θερμομέτρησης με την καθιερωμένη επεμβατική μέθοδο της IVT για την εκτίμηση διαφορών θερμοκρασίας στις κοιλιακές αορτές των ζώων. Με τον σχεδιασμό αυτό του πρωτοκόλλου, αποφεύχθηκε η σύγχυση μεταξύ των υπερχοληστερολαιμικών δειγμάτων και των δειγμάτων της ομάδας ελέγχου στο ίδιο πειραματικό μοντέλο. Επιπλέον, το πειραματικό πρωτόκολλο περιελάμβανε καθοδηγούμενες μετρήσεις της MWR με επεμβατικούς δείκτες για να διασφαλιστεί η μέτρηση της θερμοκρασίας στα ίδια ακριβώς σημεία και με τις δυο τεχνικές.

158

Η MWR καταγράφει τη μέση τμηματική διαφορά θερμοκρασίας ενώ η IVT καταγράφει τη μέγιστη εστιακή διαφορά θερμοκρασίας. Παρά τα διαφορετικά τεχνικά χαρακτηριστικά των δύο συσκευών μέτρησης, βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων της MWR και της IVT. Και οι δύο τεχνικές μέτρησης κατέγραψαν τη μέγιστη θερμοκρασία στο ίδιο τεμάχιο αορτής στην πλειοψηφία των πειραματόζωων (66.6%). Επιπλέον, υπήρξε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των διαφορών θερμοκρασίας που καταγράφηκαν και με τις δύο μεθόδους, τόσο στα τεμάχια αορτής των υπερχοληστερολαιμικών πειραματόζωων (R=0.62) όσο και στο σύνολο των τμημάτων που μελετήθηκαν (R=0.94). Η χαμηλότερη συσχέτιση στα υπερχοληστερολαιμικά τμήματα μπορεί να οφείλεται στην υποεκτίμηση της θερμοκρασίας του τοιχώματος της αορτής με την ΙVT, εξαιτίας μίας «ψυκτικής» επίδρασης του αίματος και της περιορισμένης δυνατότητας του καθετήρα να εξασφαλίσει την επαφή του θερμικού δέκτη με τα τοιχώματα του αγγείου. Μία ακόμη εξήγηση είναι πως η αυξημένη θερμοκρασία που καταγράφεται με την MWR σε σχέση με την ΙVT οφείλεται στην αδυναμία της ΙVT να εντοπίσει τη φλεγμονώδη ενεργοποίηση του μέσου και έξω χιτώνα του αρτηριακού τοιχώματος. Με βάση προηγούμενες παρατηρήσεις που έδειξαν οτι η διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων εντοπίζεται σε αυτές τις στιβάδες του τοιχώματος του αγγείου 188, 189, η εφαρμογή της MWR μπορεί να παρέχει πιο ακριβείς μετρήσεις της θερμοκρασίας. Πράγματι, οι μετρήσεις θερμοκρασίας της MWR προσεγγίζουν τις ex vivo μετρήσεις θερμοκρασίας που έγιναν από τους Casscells et al. <sup>129</sup>. Ωστόσο, η IVT αποτελεί τη μόνη έως τώρα διαθέσιμη μέθοδο για την in vivo μέτρηση της θερμικής ετερογένειας, παρά τους αναφερόμενους περιορισμούς.

Ένα άλλο θέμα που πρέπει να εξεταστεί είναι εάν οι μετρήσεις που καταγράφονται από τις δύο μεθόδους στα ξεχωριστά τμήματα αορτής αντιστοιχούν με τα ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά ευρήματα. Πριν την αφαίρεση των αγγείων, δείκτες μελάνης τοποθετήθηκαν για το διαχωρισμό των τμημάτων για περαιτέρω ανάλυση όπως αναφέρθηκε προηγουμένως <sup>190</sup>. Για την τελική ανάλυση επιλέχθηκε το τμήμα αορτής με το μεγαλύτερο πάχος αθηρωματικής πλάκας. Η συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων θερμοκρασίας και των ιστολογικών ευρημάτων δείχνει πως η MWR μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση της τοπικής φλεγμονώδους ενεργοποίησης.

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε πειραματικό μοντέλο με κουνέλια για δυο λόγους. Η διατροφή πλούσια σε χοληστερόλη επάγει την φλεγμονώδη ενεργοποίηση στην κοιλιακή αορτή των πειραματόζωων, και η απόσταση από τον αισθητήρα του συστήματος MWR και την κοιλιακή αορτή είναι ελάχιστη (3-7 cm) ειδικά μετά την άσκηση ελαφράς πίεσης στην κοιλιακή χώρα. Για να αποφευχθεί η πιθανότητα μέτρησης θερμοκρασίας άλλων ιστών, χρησιμοποιήσαμε πειραματόζωα ελέγχου και όχι μεμονωμένα τμήματα ελέγχου. Έτσι, ο πιθανός αντίκτυπος στις μετρήσεις από την ακτινοβολία που εκπέμπουν άλλα εσωτερικά όργανα είναι περιορισμένος, και η κάθε πιθανή επίδραση είχε τον ίδιο πιθανό αντίκτυπο και στις δύο ομάδες. Εν τέλει, παρά το σχετικά μεγάλο εύρος κατανομής, δείξαμε πως οι μετρήσεις της MWR αντανακλούν τη θερμοκρασία του αορτικού τοιχώματος, καθώς δεν εντοπίστηκε θερμική ετερογένεια στα τμήματα της αορτής της ομάδας ελέγχου σε αντίθεση με την υψηλή θερμική ετερογένεια που εντοπίστηκε στα τμήματα της αορτής της υπερχοληστερολαιμικής ομάδας. Επιπλέον, τμήματα αορτής με αυξημένη θερμοκρασία παρουσίαζαν αυξημένη πυκνότητα φλεγμονωδών κυττάρων στην ανοσοϊστοχημική εξέταση.

**Κλινικές εφαρμογές.** Η παρούσα μελέτη έδειξε πως η MWR δύναται να παρέχει μη επεμβατικές μετρήσεις της θερμοκρασίας των αρτηριακών τοιχωμάτων. Τα διαθέσιμα τεχνολογικά μέσα περιορίζουν τη χρήση της MWR μόνο σε αρτηρίες που βρίσκονται σε βάθος μικρότερο των 7 εκατοστών από την επιφάνεια του δέρματος.

Η μελέτη αυτή αποτέλεσε τη βάση για την διενέργεια κλινικών μελετών και την μη επεμβατική ανίχνευση θερμικής ετερογένειας σε αθηρωματικές πλάκες ανθρώπινων καρωτίδων, οι οποίες μεταξύ των άλλων αγγείων εντοπίζονται σε κατάλληλο βάθος για την ανίχνευση της θερμοκρασίας τους από την συσκευή του MWR (Πίνακας 3).

# Πίνακας 3. Κλινικές μελέτες με MWR σε ασθενείς με καρωτιδική νόσο.

Study	Vear	Study Population	Findings
Toutouzoa at	2012	24 notion to askeduled for	AT higher in other calculation constitution $(n < 0.01)$ AT
	2012	34 patients scheduled for	$\Delta 1$ higher in fatty plaques, plaques with placeted surface and
al		and a control group	higher in faity plaques, plaques with dicerated surface and between generous plaques ( $n < 0.01$ ). AT higher in plaques
		and a control group	neterogeneous praques ( $p<0.01$ ). $\Delta T$ night in praques
			CD(8, and anomalan and attacked expression of CD3,
			(1200, 100)
<b>T</b> (	2012	40	(p<0.01).
1 outouzas et	2012	48 consecutive patients	Contrast enhancement (CE <sup>172</sup> ) higher in fatty plaques,
al		with CAD	heterogeneous plaques and plaques with irregular surface
			$(p<0.01)$ . Good correlation between $\Delta 1$ and CE (R=0.60,
<b>T</b> (	2012	207	
1 outouzas et	2013	287 consecutive patients	$\Delta I$ an independent predictor for the presence and extend
al		scheduled for coronary	of CAD.
		angiography	
The day should be	2014	200	C'all and the distance of the Charles of the Charle
1 outouzas et	2014	300 consecutive patients	Similar carolid plaque inickness among patients with DM
al		with significant CAD; 112(27.7%) had DM	and without DM. $\Delta I$ higher in caroud arteries of patients
		115 (57.7%) had DM	with DM (both vessel- and patient-based analyses). DM
			was an independent predictor of high $\Delta 1$ both unmaterally and bilatarally $(n = 0.02)$ and $n = 0.05$ , respectively.
Toutourses at	2015	50 consecutive notionts	AT higher in culturit corotid arterias compared with non
1 outouzas et	2013	so consecutive patients	$\Delta 1$ inglier in culput caroud alteries compared with non- submit (0.02+0.58 years) 0.58+0.25°C; p < 0.001). The
al		anterior isohomia stroko	ddition of AT to a rick prediction model based only on
		anterior ischemic stroke	addition of $\Delta 1$ to a first prediction model based only of
			accuracy significantly (p=0.05)
Panatos at	2015	200 patients with	Similar AT between the left and right carotid arteries
al <sup>19</sup>	2013	significant CAD	Similar $\Delta T$ between the left and right carolid alteries $(p=0,12)$ . The extent of CAD high AT and thereby with
ai		significant CAD	$(p=0.12)$ . The extent of CAD, high $\Delta 1$ , and therapy with angiotansin II recentor blockers were independent.
			angiotensin in receptor blockers were independent
Toutouzos ot	2016	21 patients undergoing	AT correlated with EDC untake $(\mathbf{P} = 0.40, \mathbf{p} < 0.01)$ No
1000002as et	2010	21 patients undergoing	$\Delta 1$ contralated with 1 DO uptake (R=0.40, p<0.01). No
al		carolid endanterectomy	content on Derween the degree of angiographic stenosis
		positron	and $\Delta I$ (K=0.02, F<0.91) of FE1/C1 (K=0.20, F<0.00).
		position amission/acmnuted	right $\Delta I$ and FDO uptake in plaques with high lipid core extension and plaques with low coloification ( $n=0.001$ )
		tomography (EDC DET	Higher AT and EDC uptoke in pleques containing
		CT) imaging and MWP	increased CD68
		magning and WWWK	increased CD08.
Benetos et	2016	364 patients with CAD	Max plaque thickness and co IMT were similar between
al <sup>197</sup>	2010	304 patients with CAD	max plaque inexites and ce fiver were similar between $m_{1}^{2}$ males and females $(n=0.96)$ . Carotid arteries of females
ai			showed higher AT values $(p=0.001)$ . Earola arches of remains
			showed higher $\Delta 1$ values (p<0.001). Female gender was
			adjusted to potential covariates $(n=0.003)$
Toutouzas et	2017	250 patients from 3	MACEs occurred in 30% of patients having hilateral high
al <sup>198</sup>	2017	centers with $C\Delta D$	AT versus 3.8% in the remaining patients $(n < 0.001)$
ai			Bilateral high AT was independently associated with
			increased one-year MACE rate $(n < 0.001)$ The addition of
			$\Delta T$ information on a baseline model significantly
			increased the prognostic value of the model $(n-0.05)$
	I		I mereased the prognostic value of the model (p=0.03)

Η πρώτη κλινική εφαρμογή της MWR αφορά μια μελέτη 34 ασθενών με σημαντική στένωση των καρωτίδων που ήταν προγραμματισμένοι για ενδαρτηρεκτομή κατά την οποία έγινε υπερηχογραφική μελέτη, MWR μελέτη και ιστολογική ανάλυση <sup>191</sup>. Κατά την διάρκεια της υπερηχογραφικής μελέτης αξιολογήθηκαν η σύσταση, η μορφολογία και η ηχογένεια της αθηρωματικής πλάκας. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε κάθε τμήμα από την εγγύς κοινή καρωτίδα και περιφερικά αυτής. Για να διασφαλιστεί ότι συγκρίθηκαν αντίστοιχα τμήματα μεταξύ υπερήχων και MWR, τοποθετήθηκαν δερματικοί δείκτες με υπερηχογραφική καθοδήγηση. Η θερμική ετερογένεια (ΔΤ) ορίστηκε ως η διαφορά της μέγιστης θερμοκρασίας κατά μήκος της καρωτίδας μείον την ελάχιστη. Η μέση ΔΤ ήταν υψηλότερη στις αθηροσκληρωτικές καρωτίδες έναντι των καρωτίδων μίας ομάδας ελέγχου **(Εικόνα 8).** 



Εικόνα 8. Θερμική ετερογένεια αθηρωματικών πλακών σε δυο καρωτίδες.

Επιπρόσθετα, υψηλότερες τιμές ΔΤ ανευρέθησαν στις λιπώδεις πλάκες, στις πλάκες με εξελκωμένη επιφάνεια καθώς επίσης και στις ετερογενείς πλάκες. Τα δείγματα ενδαρτηρεκτομής στάλθηκαν για ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Στα δείγματα με υψηλή έκφραση τόσο του CD3 όσο και του CD68 και του VEGF παρατηρήθηκε υψηλότερη ΔΤ συγκριτικά με τα δείγματα με χαμηλή έκφραση αυτών. Αυτή ήταν η πρώτη μελέτη που έδειξε ότι η MWR μπορεί να αξιολογήσει in vivo και μη επεμβατικά την θερμική ετερογένεια των αθηρωματικών πλακών της καρωτίδας και έδειξε συσχέτιση μεταξύ θερμικής ετερογένειας, υπερηχογραφικών χαρακτηριστικών της 'ευάλωτης πλάκας', ιστολογικών και ανοσοϊστοχημικών ευρημάτων. Βάσει των ανωτέρω φάνηκε ότι η MWR μπορεί να ανιχνεύσει τη φλεγμονή της πλάκας in vivo μη επεμβατικά. Επίσης, αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ενώ το 21% των πλακών δεν πληρούσαν τα υπερηχογραφικά κριτήρια της ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας, η MWR ανίχνευσε υψηλές θερμοκρασίες, εύρημα που επιβεβαιώθηκε στα ιστολογικά και στα ανοσοϊστοχημικά δεδομένα.

Σε μία άλλη μελέτη έγινε προσπάθεια διερεύνησης της συσχέτισης μεταξύ της φλεγμονής της καρωτιδικής πλάκας που εκτιμήθηκε με MWR και με FDG-PET/ CT σε μια παρόμοια ομάδα ασθενών με σοβαρή καρωτιδική στένωση <sup>79</sup>. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων της θερμοκρασίας της καρωτίδας και της πρόσληψης FDG. Επιπλέον, μετρήσεις και με τις δύο μεθόδους συσχετίστηκαν με ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά ευρήματα. Αυτή η σημαντική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων δείχνει ότι και οι δύο μέθοδοι αξιολογούν, έμμεσα, αλλά με ακρίβεια την υποκείμενη φλεγμονή και συμφωνούν με τα ιστολογικά ευρήματα.

Σε υποομάδα των ασθενών με σημαντική αμφοτερόπλευρη στένωση καρωτίδας και πρόσφατο οξύ αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, οι μετρήσεις της MWR φάνηκαν να προβλέπουν με μεγάλη ακρίβεια την 'ένοχη βλάβη' στις καρωτίδες <sup>19, 195</sup>. Φάνηκε ότι οι καρωτίδες με την 'ένοχη βλάβη' έχουν πλάκα αυξημένου πάχους και υψηλότερης φλεγμονώδους αντίδρασης συγκριτικά με τις καρωτίδες χωρίς ένοχες βλάβες. Είναι ενδιαφέρον ότι η ΔΤ σε αυτή τη μελέτη προέβλεπε την αναγνώριση της ένοχης καρωτίδας.

Η υπερηχογραφική μελέτη με τη χρήση μέσων ηχοαντίθεσης (υπερηχογράφημα αυξημένης ηχοαντίθεσης-CEUS) είναι μία αζιόπιστη μέθοδος που προσφέρει άμεση οπτική απεικόνιση των vasa vasorum εντός της πλάκας χρησιμοποιώντας μικροσφαιρίδια αντίθεσης ως ενδοαγγειακούς ιχνηθέτες <sup>50, 51, 115,</sup> <sup>199</sup>. Σε υποομάδα 48 ασθενών με ενδιάμεσου βαθμού στένωση καρωτίδων και σοβαρή καρδιαγγειακή νόσο, αξιολογήθηκαν τα χαρακτηριστικά της ευάλωτης πλάκας με CEUS και MWR <sup>192</sup>. Το βασικό εύρημα της μελέτης ήταν ότι οι αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις σε ενδιάμεσου βαθμού στένωση καρωτίδας σε ασθενείς με σοβαρή καρδιαγγειακή νόσο, παρουσιάζουν αυξημένη θερμοκρασία. Το συγκεκριμένο εύρημα συσχετίζεται με την αυξημένη νεοαγγειογένεση καθώς επίσης και τα υπερηχογραφικά χαρακτηριστικά της ευάλωτης πλάκας. Ενισχύεται με αυτή τη μελέτη η θεωρία της ανατροφοδότησης μεταξύ της φλεγμονής της πλάκας και της νεοαγγειογένεσης στην εξέλιζη της ευάλωτης πλάκας.

165

Σε άλλη μελέτη, σε μια παρόμοια ομάδα ασθενών αξιολογήθηκε αν η παρουσία σακχαρώδους διαβήτη (ΣΔ) επηρεάζει το βαθμό της φλεγμονώδους αντίδρασης της πλάκας στη μία ή και στις δύο καρωτίδες <sup>194</sup>. Αν και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά ήταν παρόμοια μεταξύ των ασθενών με και χωρίς την παρουσία ΣΔ, η φλεγμονώδης αντίδραση ήταν μεγαλύτερη σε ασθενείς με ΣΔ. Σε αυτήν την ομάδα ασθενών, η παρουσία του ΣΔ ανεδείχθη ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της αυξημένης τοπικής παραγωγής θερμότητας σε μία ή και στις δύο καρωτιδικές αρτηρίες. Το πιο σημαντικό είναι ότι οι ασθενείς με ΣΔ εμφάνιζαν συχνότερα αυξημένη φλεγμονώδη αντίδραση στις καρωτίδες αμφοτερόπλευρα γεγονός που υποστηρίζει τη θεωρία της διάχυτης αγγειακής φλεγμονής που φαίνεται να υπάρχει σε αυτή την υποομάδα ασθενών.

Η διάχυτη παρουσία ευάλωτων αθηρωματικών πλακών φάνηκε και από μία επιπλέον μελέτη που αξιολόγησε αν η θερμική ετερογένεια της καρωτίδας προβλέπει την παρουσία καρδιαγγειακής νόσου <sup>193</sup>. Αυτή η προοπτική μελέτη έδειξε ότι μεταξύ των ασθενών που ήταν προγραμματισμένοι για στεφανιογραφικό έλεγχο, οι ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο παρουσίαζαν αυξημένη τοπική φλεγμονή στις καρωτίδες συγκριτικά με ασθενείς χωρίς σημαντική καρδιαγγειακή νόσο. Είναι ενδιαφέρον ότι σε αυτόν τον πληθυσμό της μελέτης, η φλεγμονώδης αντίδραση ανεδείχθη ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την παρουσία και την έκταση καρδιαγγειακής νόσου. Μοντέλα πρόβλεψης κινδύνου, με βάση δομικούς ή λειτουργικούς δείκτες, έδειξαν παρόμοια προγνωστική ακρίβεια για καρδιαγγειακή νόσο. Αυτά τα ευρήματα υποστήριξαν τη ύπαρξη της διάχυτης φλεγμονής.

Τέλος, μια πρόσφατη προοπτική πολυκεντρική μελέτη διεξήχθη με σκοπό τη διερεύνηση της προγνωστικής αξίας της MWR της καρωτίδας για την εμφάνιση μείζονων καρδιαγγειακών συμβαμάτων, συμπεριλαμβανομένου του θανάτου, του εγκεφαλικού επεισοδίου, εμφράγματος μυοκαρδίου του του ή της επαναγγείωσης<sup>198</sup>. Σε αυτή την πολυκεντρική μελέτη, 250 ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο από 3 κέντρα παρακολουθήθηκαν για 1 έτος. Μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα καταγράφηκαν στο 30% των ασθενών με υψηλές τιμές  $\Delta T$  αμφοτερόπλευρα έναντι 3,8% στους υπόλοιπους ασθενείς (p <0.001). Μάλιστα, η αμφοτερόπλευρη υψηλή ΔΤ συσχετίσθηκε ανεξάρτητα με αύξηση του ποσοστού σημαντικών δυσμενών καρδιαγγειακών επεισοδίων. Το πιο σημαντικό είναι ότι η προσθήκη της ΔΤ στους κλασικούς παράγοντες κινδύνου φάνηκε να βελτιώνει σημαντικά την προγνωστική αξία του μοντέλου κινδύνου.

Η τεχνολογική βελτίωση της διαθέσιμης συσκευής MWR και η ανάπτυξη της ικανότητας μέτρησης θερμοκρασίας ιστών που βρίσκονται σε μεγαλύτερο βάθος ίσως στο μέλλον παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τη φυσική εξέλιξη της αθηρωμάτωσης των στεφανιαίων αρτηριών. Ακόμη, μπορεί να ερευνηθεί η εφαρμογή της MWR και σε άλλες καρδιαγγειακές νόσους που χαρακτηρίζονται από την παρουσία φλεγμονής, όπως η βαλβιδική νόσος, η μυοκαρδίτιδα, η περικαρδίτιδα και άλλες μυοκαρδιοπάθειες.

# 6. Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη έδειξε πως η MWR μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια για τη μη επεμβατική μέτρηση της θερμοκρασίας των αρτηριακών τοιχωμάτων, η οποία αντανακλά την τοπική φλεγμονώδη αντίδραση. Αυτή η νέα μέθοδος φαίνεται να ξεπερνά τους περιορισμούς της in vivo μέτρηση του βαθμού της φλεγμονής στις αθηρωματικές πλάκες. Η κλινική αξία της MWR στον εντοπισμό και στην πρόγνωση των αθηρωματικών αλλοιώσεων, πρέπει να ερευνηθεί περαιτέρω με κλινικές μελέτες.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός. Ο σκοπός της παρούσης μελέτης είναι να διερευνηθεί εάν: 1) η MWR μπορεί να εφαρμοστεί με ασφάλεια για τη μη επεμβατική μέτρηση της θερμοκρασίας των αρτηριακών τοιχωμάτων και 2) οι μετρήσεις που πραγματοποιούνται με την τεχνική της MWR συσχετίζονται με τις μετρήσεις που καταγράφονται με τη μέθοδο της IVT και με την τοπική φλεγμονώδη αντίδραση όπως αυτή ανιχνεύεται με ιστολογικές τεχνικές.

**Μέθοδος.** Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 24 λευκά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας (με βάρος  $3.8 \pm 0.5$  kg) εκ των οποίων 12 τυχαιοποιήθηκαν σε αυτά που ακολούθησαν κανονική διατροφή, ενώ τα υπόλοιπα ακολούθησαν διατροφή πλούσια σε χοληστερόλη για 6 μήνες. Στη συνέχεια όλα τα κουνέλια προετοιμάστηκαν για τη διενέργεια ενδαγγειακής αγγειογραφίας, IVT και MWR της κοιλιακής αορτής. Η αορτή διαιρέθηκε σε 5 τμήματα των 2cm. Ως διαφορά θερμοκρασίας ( $\Delta T_{IVT}$ ,  $\Delta T_{MR}$ .) κάθε τμήματος ορίστηκε η θερμοκρασία κάθε τμήματος μείον την ελάχιστη θερμοκρασία που καταγράφηκε και στα 5 τμήματα της αορτής. Ως μέγιστη διαφορά θερμοκρασίας ( $\Delta T_{IVTmax}$ ,  $\Delta T_{MR}$ .) ορίστηκε η διαφορά της μέγιστης θερμοκρασίας που σημειώθηκε σε ολόκληρη την κοιλιακή αορτή μείον την ελάχιστη. Οι θερμογραφικές μετρήσεις με τις δύο μεθόδους συσχετίσθηκαν μεταξύ τους καθώς και με τα ιστολογικά ευρήματα.

**Αποτελέσματα.** Και με τις δύο μεθόδους, οι διαφορές θερμοκρασίας ήταν υψηλότερες στα αθηρωματικά κουνέλια σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Σε όλα τα τμήματα, υπήρχε θετική συσχέτιση μεταξύ των διαφορών θερμοκρασίας που ανιχνεύτηκαν και με τις δύο μεθόδους (p < 0.001, R = 0.94). Παρατηρήθηκε θετική

συσχέτιση μεταξύ της  $\Delta T_{MR}$  και το αντίστοιχο πάχος της αθηρωματικής πλάκας όπως καθορίζεται με ιστολογικές μεθόδους. Τα τεμάχια αορτής με αυξημένη φλεγμονώδη αντίδραση είχαν υψηλότερη  $\Delta T_{MR}$  και  $\Delta T_{IVT}$  σε σχέση με τεμάχια αορτής με χαμηλή φλεγμονώδη αντίδραση.

Συμπεράσματα. Η MWR ανιχνεύει με ασφάλεια και ακρίβεια τη θερμοκρασία των αρτηριακών τοιχωμάτων, η οποία αντανακλά την τοπική φλεγμονώδη αντίδραση και φαίνεται να έχει καλή συσχέτιση με την IVT, τα ιστολογικά και τα ανοσοϊστοχημικά ευρήματα.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

 Kalampogias A, Siasos G, Oikonomou E, Tsalamandris S, Mourouzis K, Tsigkou V, Vavuranakis M, Zografos T, Deftereos S, Stefanadis C and Tousoulis D.
 Basic Mechanisms in Atherosclerosis: The Role of Calcium. *Med Chem.* 2016;12:103-13.

2. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, Jr., Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD and Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995;92:1355-74.

3. Tuzcu EM, Kapadia SR, Tutar E, Ziada KM, Hobbs RE, McCarthy PM, Young JB and Nissen SE. High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. *Circulation*. 2001;103:2705-10.

4. McGill HC, Jr., McMahan CA, Zieske AW, Tracy RE, Malcom GT, Herderick EE and Strong JP. Association of Coronary Heart Disease Risk Factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. *Circulation*. 2000;102:374-9.

5. Kitta Y, Obata JE, Nakamura T, Hirano M, Kodama Y, Fujioka D, Saito Y, Kawabata K, Sano K, Kobayashi T, Yano T, Nakamura K and Kugiyama K. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on

outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53:323-30.

6. Harrison DG, Armstrong ML, Freiman PC and Heistad DD. Restoration of endothelium-dependent relaxation by dietary treatment of atherosclerosis. *J Clin Invest.* 1987;80:1808-11.

7. John S, Schlaich M, Langenfeld M, Weihprecht H, Schmitz G, Weidinger G and Schmieder RE. Increased bioavailability of nitric oxide after lipid-lowering therapy in hypercholesterolemic patients: a randomized, placebo-controlled, doubleblind study. *Circulation*. 1998;98:211-6.

8. Mancini GB, Henry GC, Macaya C, O'Neill BJ, Pucillo AL, Carere RG, Wargovich TJ, Mudra H, Luscher TF, Klibaner MI, Haber HE, Uprichard AC, Pepine CJ and Pitt B. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on Reversing ENdothelial Dysfunction) Study. *Circulation*. 1996;94:258-65.

9. Anderson TJ, Meredith IT, Charbonneau F, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP and Ganz P. Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation*. 1996;93:1647-50.

10. Antoniades C, Tousoulis D, Tountas C, Tentolouris C, Toutouza M, Vasiliadou C, Tsioufis C, Toutouzas P and Stefanadis C. Vascular endothelium and inflammatory process, in patients with combined Type 2 diabetes mellitus and coronary atherosclerosis: the effects of vitamin C. *Diabet Med.* 2004;21:552-8.

11. Kokkou E, Siasos G, Georgiopoulos G, Oikonomou E, Verveniotis A, Vavuranakis M, Zisimos K, Plastiras A, Kollia ME, Stefanadis C, Papavassiliou AG and Tousoulis D. The impact of dietary flavonoid supplementation on smoking-induced inflammatory process and fibrinolytic impairment. *Atherosclerosis*. 2016;251:266-272.

12. Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keaney JF, Jr. and Vita JA. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1996;93:1107-13.

13. Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S and Folts JD. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1999;100:1050-5.

 Synetos A, Papaioannou S and Tousoulis D. Atherosclerosis and inflammation. Clinical aspects of a modern tale. *Hellenic J Cardiol*. 2017;58:122-123.

15. Siasos G, Papavassiliou AG and Tousoulis D. Editorial: Inflammation and Atherosclerosis: The Role of Novel Biomarkers (Part-I). *Curr Med Chem*. 2015;22:2616-8.

16. Papageorgiou N and Tousoulis D. Interaction between HDL and inflammation: When the good turns to be bad. *Int J Cardiol*. 2015;189:15-7.

17. Tousoulis D, Oikonomou E, Economou EK, Crea F and Kaski JC. Inflammatory cytokines in atherosclerosis: current therapeutic approaches. *Eur Heart J*. 2016;37:1723-32.

Toutouzas K, Synetos A, Nikolaou C, Tsiamis E, Tousoulis D and Stefanadis
 C. Matrix metalloproteinases and vulnerable atheromatous plaque. *Curr Top Med Chem.* 2012;12:1166-80.

19. Benetos G, Toutouzas K, Drakopoulou M, Tolis E, Masoura C, Nikolaou C, Tsekoura D, Tsiamis E, Grassos H, Siores E, Stefanadis C and Tousoulis D. Bilateral symmetry of local inflammatory activation in human carotid atherosclerotic plaques. *Hellenic J Cardiol.* 2015;56:118-24.

20. Toutouzas K, Klettas D, Anousakis-Vlachochristou N, Melidis K, Azilazian Z, Asimomiti M, Karanasos A, Spanos A, Tsiamis E, Nihoyannopoulos P and Tousoulis D. The -174 G>C Interleukin-6 Gene Polymorphism is Associated with Angiographic Progression of Coronary Artery Disease over a 4-Year Period. *Hellenic J Cardiol.* 2017;58:80-86.

21. Hatzis G, Tousoulis D, Papageorgiou N, Bouras G, Oikonomou E, Miliou A, Siasos G, Toutouzas K, Papaioannou S, Tsiamis E, Antoniades C and Stefanadis C. Combined effects of smoking and interleukin-6 and C-reactive protein genetic variants on endothelial function, inflammation, thrombosis and incidence of coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2014;176:254-7.

22. Rectenwald JE, Moldawer LL, Huber TS, Seeger JM and Ozaki CK. Direct evidence for cytokine involvement in neointimal hyperplasia. *Circulation*. 2000;102:1697-702.

Brizzi MF, Formato L, Dentelli P, Rosso A, Pavan M, Garbarino G, Pegoraro
 M, Camussi G and Pegoraro L. Interleukin-3 stimulates migration and proliferation

of vascular smooth muscle cells: a potential role in atherogenesis. *Circulation*. 2001;103:549-54.

24. Tousoulis D, Charakida M and Stefanadis C. Endothelial function and inflammation in coronary artery disease. *Heart*. 2006;92:441-4.

25. Li H, Freeman MW and Libby P. Regulation of smooth muscle cell scavenger receptor expression in vivo by atherogenic diets and in vitro by cytokines. *J Clin Invest.* 1995;95:122-33.

26. Tintut Y, Patel J, Parhami F and Demer LL. Tumor necrosis factor-alpha promotes in vitro calcification of vascular cells via the cAMP pathway. *Circulation*. 2000;102:2636-42.

27. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ and Verma
S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation*.
2003;108:1917-23.

28. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M, Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ and Group CT. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017;377:1119-1131.

29. Oikonomou E and Tousoulis D. Inflammation: A pathogenetic mechanism or a mediator, linking risk factors and cardiovascular disease? *Int J Cardiol*. 2018;264:170-171.

30. Kollia C, Antonopoulos AS, Siasos G, Konsola T, Oikonomou E, Gouliopoulos N, Tsigkou V, Papapanagiotou A, Kassi E, Tentolouris N, Katsiki N, Vavuranakis M, Papavassiliou AG and Tousoulis D. Associations between adiponectin gene variability, pro-inflammatory and angiogenetic markers: implications for microvascular disease development in type 2 diabetes mellitus? *Curr Vasc Pharmacol.* 2018.

31. Papageorgiou N, Zacharia E, Androulakis E, Briasoulis A, Charakida M and Tousoulis D. HDL as a prognostic biomarker for coronary atherosclerosis: the role of inflammation. *Expert Opin Ther Targets*. 2016;20:907-21.

32. Inoue T, Uchida T, Kamishirado H, Takayanagi K, Hayashi T and Morooka S. Clinical significance of antibody against oxidized low density lipoprotein in patients with atherosclerotic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:775-9.

33. Bui MN, Sack MN, Moutsatsos G, Lu DY, Katz P, McCown R, Breall JA and Rackley CE. Autoantibody titers to oxidized low-density lipoprotein in patients with coronary atherosclerosis. *Am Heart J*. 1996;131:663-7.

34. Cho T, Romagnuolo R, Scipione C, Boffa MB and Koschinsky ML. Apolipoprotein(a) stimulates nuclear translocation of beta-catenin: a novel pathogenic mechanism for lipoprotein(a). *Mol Biol Cell*. 2013;24:210-21.

35. Albers JJ, Slee A, O'Brien KD, Robinson JG, Kashyap ML, Kwiterovich PO, Jr., Xu P and Marcovina SM. Relationship of apolipoproteins A-1 and B, and lipoprotein(a) to cardiovascular outcomes: the AIM-HIGH trial (Atherothrombosis

Intervention in Metabolic Syndrome with Low HDL/High Triglyceride and Impact on Global Health Outcomes). *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:1575-9.

36. Vlachopoulos C, Koutagiar I, Terentes-Printzios D, Skoumas I, Rigatou A, Miliou A, Skliros AN, Pantou S, Filis K and Tousoulis D. Relationship of PCSK9 levels with indices of vascular function and subclinical atherosclerosis in patients with familial dyslipidaemias. *Hellenic J Cardiol.* 2018.

37. Achimastos A, Alexandrides T, Alexopoulos D, Athyros V, Bargiota A, Bilianou E, Chrysochoou C, Drogari E, Elisaf M, Ganotakis E, Goudevenos I, Ioannidis I, Kolovou G, Kotsis V, Lekakis I, Liberopoulos E, Melidonis A, Nikolaou V, Ntaios G, Papanas N, Pappas S, Pitsavos C, Rallidis L, Richter D, Skoumas I, Tentolouris N, Tousoulis D, Tselepis A, Tsioufis K, Tziakas D, Tziomalos K, Vardas P, Vlachopoulos C and Vlahakos D. Expert consensus on the rational clinical use of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) inhibitors. *Hormones* (*Athens*). 2016;15:8-14.

38. Gurfinkel EP, de la Fuente RL, Mendiz O and Mautner B. Influenza vaccine pilot study in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions: the FLU Vaccination Acute Coronary Syndromes (FLUVACS) Study. *Circulation*. 2002;105:2143-7.

39. Braunstein EM, White SJ, Russell W and Harris JE. Paleoradiologic evaluation of the Egyptian royal mummies. *Skeletal Radiol*. 1988;17:348-52.

40. Finking G and Hanke H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885-1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. *Atherosclerosis*. 1997;135:1-7.

41. Maseri A and Sanna T. The role of plaque fissures in unstable angina: fact or fiction? *Eur Heart J.* 1998;19 Suppl K:K2-4.

42. Constantinides P and Chakravarti RN. Rabbit arterial thrombosis production by systemic procedures. *Arch Pathol.* 1961;72:197-208.

43. Steinberg D and Witztum JL. Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:2311-6.

44. Schaar JA, Muller JE, Falk E, Virmani R, Fuster V, Serruys PW, Colombo A, Stefanadis C, Ward Casscells S, Moreno PR, Maseri A and van der Steen AF. Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. Report of a meeting on the vulnerable plaque, June 17 and 18, 2003, Santorini, Greece. *Eur Heart J*. 2004;25:1077-82.

45. Stefanadis C, Vavuranakis M and Toutouzas P. Vulnerable plaque: the challenge to identify and treat it. *J Interv Cardiol*. 2003;16:273-80.

46. Sakamoto A, Virmani R, Finn AV and Gupta A. Calcified Nodule as the Cause of Acute Coronary Syndrome: Connecting Bench Observations to the Bedside. *Cardiology*. 2018;139:101-104.

47. Waksman R, Torguson R, Spad MA, Garcia-Garcia H, Ware J, Wang R, Madden S, Shah P and Muller J. The Lipid-Rich Plaque Study of vulnerable plaques and vulnerable patients: Study design and rationale. *Am Heart J*. 2017;192:98-104.

48. Zaromytidou M, Antoniadis AP, Siasos G, Coskun AU, Andreou I, Papafaklis MI, Lucier M, Feldman CL and Stone PH. Heterogeneity of Coronary Plaque Morphology and Natural History: Current Understanding and Clinical Significance. *Curr Atheroscler Rep.* 2016;18:80. 49. Narula J, Nakano M, Virmani R, Kolodgie FD, Petersen R, Newcomb R, Malik S, Fuster V and Finn AV. Histopathologic characteristics of atherosclerotic coronary disease and implications of the findings for the invasive and noninvasive detection of vulnerable plaques. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61:1041-51.

50. Filis K, Toufektzian L, Galyfos G, Sigala F, Kourkoveli P, Georgopoulos S, Vavuranakis M, Vrachatis D and Zografos G. Assessment of the vulnerable carotid atherosclerotic plaque using contrast-enhanced ultrasonography. *Vascular*. 2017;25:316-325.

51. Vrachatis DA, Papaioannou TG, Vavuranakis M and Tousoulis D. In Vivo Assessment of Atherosclerotic Plaque Neovascularization by Contrast-Enhanced Ultrasound: An Unsolved Mystery? *J Am Soc Echocardiogr*. 2017;30:724.

52. Khachadurian AK. The Inheritance of Essential Familial Hypercholesterolemia. *Am J Med.* 1964;37:402-7.

53. Goldstein JL and Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29:431-8.

54. Abifadel M, Varret M, Rabes JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derre A, Villeger L, Farnier M, Beucler I, Bruckert E, Chambaz J, Chanu B, Lecerf JM, Luc G, Moulin P, Weissenbach J, Prat A, Krempf M, Junien C, Seidah NG and Boileau C. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet*. 2003;34:154-6. 55. Shiomi M, Ito T, Yamada S, Kawashima S and Fan J. Development of an animal model for spontaneous myocardial infarction (WHHLMI rabbit). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:1239-44.

56. Shiomi M and Ito T. The Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbit, its characteristics and history of development: a tribute to the late Dr. Yoshio Watanabe. *Atherosclerosis*. 2009;207:1-7.

57. Watanabe Y, Ito T, Shiomi M, Tsujita Y, Kuroda M, Arai M, Fukami M and Tamura A. Preventive effect of pravastatin sodium, a potent inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, on coronary atherosclerosis and xanthoma in WHHL rabbits. *Biochim Biophys Acta*. 1988;960:294-302.

58. Fukumoto Y, Libby P, Rabkin E, Hill CC, Enomoto M, Hirouchi Y, Shiomi M and Aikawa M. Statins alter smooth muscle cell accumulation and collagen content in established atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Circulation*. 2001;103:993-9.

59. Shiomi M, Ito T, Hirouchi Y and Enomoto M. Fibromuscular cap composition is important for the stability of established atherosclerotic plaques in mature WHHL rabbits treated with statins. *Atherosclerosis*. 2001;157:75-84.

60. Baumgartner HR and Studer A. [Effects of vascular catheterization in normo- and hypercholesteremic rabbits]. *Pathol Microbiol (Basel)*. 1966;29:393-405.

61. Furchgott RF and Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288:373-6.
62. Block PC, Baughman KL, Pasternak RC and Fallon JT. Transluminal angioplasty: correlation of morphologic and angiographic findings in an experimental model. *Circulation*. 1980;61:778-85.

63. Abela GS, Normann SJ, Cohen DM, Franzini D, Feldman RL, Crea F, Fenech A, Pepine CJ and Conti CR. Laser recanalization of occluded atherosclerotic arteries in vivo and in vitro. *Circulation*. 1985;71:403-11.

64. Iqbal J, Chamberlain J, Francis SE and Gunn J. Role of Animal Models in Coronary Stenting. *Ann Biomed Eng.* 2016;44:453-65.

65. Waksman R, McEwan PE, Moore TI, Pakala R, Kolodgie FD, Hellinga DG, Seabron RC, Rychnovsky SJ, Vasek J, Scott RW and Virmani R. PhotoPoint photodynamic therapy promotes stabilization of atherosclerotic plaques and inhibits plaque progression. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:1024-32.

66. Synetos A, Toutouzas K, Benetos G, Drakopoulou M, Trantalis G, Kotronias R, Agrogiannis G, Tsiamis E, Deftereos S, Davlouros P, Patsouris E and Stefanadis C. Catheter based inhibition of arterial calcification by bisphosphonates in an experimental atherosclerotic rabbit animal model. *Int J Cardiol.* 2014;176:177-81.

67. Aikawa M, Voglic SJ, Sugiyama S, Rabkin E, Taubman MB, Fallon JT and Libby P. Dietary lipid lowering reduces tissue factor expression in rabbit atheroma. *Circulation*. 1999;100:1215-22.

68. Animal models for the study of thrombolysis in vivo. *Circulation*. 1991;83:IV1-79.

69. Priyadharsini RP. Animal models to evaluate anti-atherosclerotic drugs. *Fundam Clin Pharmacol*. 2015;29:329-40.

70. Constantinides P, Booth J and Carlson G. Production of advanced cholesterol atherosclerosis in the rabbit. *Arch Pathol.* 1960;70:712-24.

71. Abela GS, Picon PD, Friedl SE, Gebara OC, Miyamoto A, Federman M, Tofler GH and Muller JE. Triggering of plaque disruption and arterial thrombosis in an atherosclerotic rabbit model. *Circulation*. 1995;91:776-84.

72. Phinikaridou A, Hallock KJ, Qiao Y and Hamilton JA. A robust rabbit model of human atherosclerosis and atherothrombosis. *J Lipid Res.* 2009;50:787-97.

73. Phinikaridou A, Ruberg FL, Hallock KJ, Qiao Y, Hua N, Viereck J and Hamilton JA. In vivo detection of vulnerable atherosclerotic plaque by MRI in a rabbit model. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2010;3:323-32.

74. Pham TA, Hua N, Phinikaridou A, Killiany R and Hamilton J. Early in vivo discrimination of vulnerable atherosclerotic plaques that disrupt: A serial MRI study. *Atherosclerosis*. 2016;244:101-7.

75. Hua N, Baik F, Pham T, Phinikaridou A, Giordano N, Friedman B, Whitney M, Nguyen QT, Tsien RY and Hamilton JA. Identification of High-Risk Plaques by MRI and Fluorescence Imaging in a Rabbit Model of Atherothrombosis. *PLoS One*. 2015;10:e0139833.

76. El-Dakdouki MH, El-Boubbou K, Kamat M, Huang R, Abela GS, Kiupel M, Zhu DC and Huang X. CD44 targeting magnetic glyconanoparticles for atherosclerotic plaque imaging. *Pharm Res.* 2014;31:1426-37.

77. Murata P, Kase Y, Ishige A, Sasaki H, Kurosawa S and Nakamura T. The herbal medicine Dai-kenchu-to and one of its active components [6]-shogaol increase intestinal blood flow in rats. *Life Sci.* 2002;70:2061-70.

78. Rudd JH, Narula J, Strauss HW, Virmani R, Machac J, Klimas M, Tahara N, Fuster V, Warburton EA, Fayad ZA and Tawakol AA. Imaging atherosclerotic plaque inflammation by fluorodeoxyglucose with positron emission tomography: ready for prime time? *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:2527-35.

79. Toutouzas K, Koutagiar I, Benetos G, Aggeli C, Georgakopoulos A, Athanasiadis E, Pianou N, Trachanellis S, Patelis N, Agrogiannis G, Kafouris P, Filis K, Bessias N, Klonaris C, Spyrou G, Tsiamis E, Siores E, Patsouris E, Cokkinos D, Tousoulis D and Anagnostopoulos CD. Inflamed human carotid plaques evaluated by PET/CT exhibit increased temperature: insights from an in vivo study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017;18:1236-1244.

80. Patel R, Janoudi A, Vedre A, Aziz K, Tamhane U, Rubinstein J, Abela OG, Berger K and Abela GS. Plaque rupture and thrombosis are reduced by lowering cholesterol levels and crystallization with ezetimibe and are correlated with fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31:2007-14.

81. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, Darius H, Lewis BS, Ophuis TO, Jukema JW, De Ferrari GM, Ruzyllo W, De Lucca P, Im K, Bohula EA, Reist C, Wiviott SD, Tershakovec AM, Musliner TA, Braunwald E, Califf RM and Investigators I-I. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015;372:2387-97.

82. Abela GS, Aziz K, Vedre A, Pathak DR, Talbott JD and Dejong J. Effect of cholesterol crystals on plaques and intima in arteries of patients with acute coronary and cerebrovascular syndromes. *Am J Cardiol*. 2009;103:959-68.

83. Liu L, Gardecki JA, Nadkarni SK, Toussaint JD, Yagi Y, Bouma BE and Tearney GJ. Imaging the subcellular structure of human coronary atherosclerosis using micro-optical coherence tomography. *Nat Med.* 2011;17:1010-4.

84. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, Badimon JJ, Stefanadis C, Moreno P, Pasterkamp G, Fayad Z, Stone PH, Waxman S, Raggi P, Madjid M, Zarrabi A, Burke A, Yuan C, Fitzgerald PJ, Siscovick DS, de Korte CL, Aikawa M, Juhani Airaksinen KE, Assmann G, Becker CR, Chesebro JH, Farb A, Galis ZS, Jackson C, Jang IK, Koenig W, Lodder RA, March K, Demirovic J, Navab M, Priori SG, Rekhter MD, Bahr R, Grundy SM, Mehran R, Colombo A, Boerwinkle E, Ballantyne C, Insull W, Jr., Schwartz RS, Vogel R, Serruys PW, Hansson GK, Faxon DP, Kaul S, Drexler H, Greenland P, Muller JE, Virmani R, Ridker PM, Zipes DP, Shah PK and Willerson JT. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*. 2003;108:1664-72.

85. Finn AV, Nakano M, Narula J, Kolodgie FD and Virmani R. Concept of vulnerable/unstable plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:1282-92.

86. Lerakis S, Synetos A, Toutouzas K, Vavuranakis M, Tsiamis E and Stefanadis C. Imaging of the vulnerable plaque: noninvasive and invasive techniques. *Am J Med Sci.* 2008;336:342-8.

87. Goncalves I, den Ruijter H, Nahrendorf M and Pasterkamp G. Detecting the vulnerable plaque in patients. *J Intern Med.* 2015;278:520-30.

88. Jia H, Abtahian F, Aguirre AD, Lee S, Chia S, Lowe H, Kato K, Yonetsu T, Vergallo R, Hu S, Tian J, Lee H, Park SJ, Jang YS, Raffel OC, Mizuno K, Uemura

S, Itoh T, Kakuta T, Choi SY, Dauerman HL, Prasad A, Toma C, McNulty I, Zhang S, Yu B, Fuster V, Narula J, Virmani R and Jang IK. In vivo diagnosis of plaque erosion and calcified nodule in patients with acute coronary syndrome by intravascular optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:1748-58.

89. Topol EJ and Nissen SE. Our preoccupation with coronary luminology. The dissociation between clinical and angiographic findings in ischemic heart disease. *Circulation*. 1995;92:2333-42.

90. Mintz GS, Painter JA, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Popma JJ, Chuang YC, Bucher TA, Sokolowicz LE and Leon MB. Atherosclerosis in angiographically "normal" coronary artery reference segments: an intravascular ultrasound study with clinical correlations. *J Am Coll Cardiol*. 1995;25:1479-85.

91. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R and Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1987;316:1371-5.

92. Nakatani S, Proniewska K, Pociask E, Paoletti G, de Winter S, Muramatsu T and Bruining N. How clinically effective is intravascular ultrasound in interventional cardiology? Present and future perspectives. *Expert Rev Med Devices*. 2013;10:735-49.

93. Batkoff BW and Linker DT. Safety of intracoronary ultrasound: data from a Multicenter European Registry. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1996;38:238-41.

94. Mintz GS, Nissen SE, Anderson WD, Bailey SR, Erbel R, Fitzgerald PJ, Pinto FJ, Rosenfield K, Siegel RJ, Tuzcu EM and Yock PG. 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;37:1478-92.

95. Maehara A, Mintz GS, Bui AB, Walter OR, Castagna MT, Canos D, Pichard AD, Satler LF, Waksman R, Suddath WO, Laird JR, Jr., Kent KM and Weissman NJ. Morphologic and angiographic features of coronary plaque rupture detected by intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:904-10.

96. Higuma T, Soeda T, Abe N, Yamada M, Yokoyama H, Shibutani S, Vergallo R, Minami Y, Ong DS, Lee H, Okumura K and Jang IK. 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. *JACC Cardiovasc Interv*. 2015;8:1166-1176.

97. Kusama I, Hibi K, Kosuge M, Nozawa N, Ozaki H, Yano H, Sumita S, Tsukahara K, Okuda J, Ebina T, Umemura S and Kimura K. Impact of plaque rupture on infarct size in ST-segment elevation anterior acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:1230-7.

98. Soeda T, Higuma T, Abe N, Yamada M, Yokoyama H, Shibutani S, Ong DS, Vergallo R, Minami Y, Lee H, Okumura K and Jang IK. Morphological predictors for no reflow phenomenon after primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation myocardial infarction caused by plaque rupture. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017;18:103-110.

99. Abdul Jabbar A, Houston J, Burket M, Il'Giovine ZJ, Srivastava BK and Agarwal A. Screening for subclinical subclavian artery stenosis before coronary artery bypass grafting: Should we do it? *Echocardiography*. 2017;34:928-933.

100. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber DK, Malcom GT, Smialek J and Virmani R. Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation*. 2001;103:934-40.

101. Mintz GS. Intravascular imaging of coronary calcification and its clinical implications. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2015;8:461-471.

102. Kataoka Y, Wolski K, Uno K, Puri R, Tuzcu EM, Nissen SE and Nicholls SJ. Spotty calcification as a marker of accelerated progression of coronary atherosclerosis: insights from serial intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59:1592-7.

103. Pu J, Mintz GS, Biro S, Lee JB, Sum ST, Madden SP, Burke AP, Zhang P, He B, Goldstein JA, Stone GW, Muller JE, Virmani R and Maehara A. Insights into echo-attenuated plaques, echolucent plaques, and plaques with spotty calcification: novel findings from comparisons among intravascular ultrasound, near-infrared spectroscopy, and pathological histology in 2,294 human coronary artery segments. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:2220-33.

104. Koneru S, Collier P, Goldberg A, Sanghi V, Grimm R, Rodriguez L, Griffin B, Budd T, James K, Popovic ZB and Tamarappoo B. Temporal Variability of Global Longitudinal Strain in Stable Patients Undergoing Chemotherapy With Trastuzumab. *Am J Cardiol*. 2016;118:930-935.

105. Genereux P, Madhavan MV, Mintz GS, Maehara A, Palmerini T, Lasalle L, Xu K, McAndrew T, Kirtane A, Lansky AJ, Brener SJ, Mehran R and Stone GW. Ischemic outcomes after coronary intervention of calcified vessels in acute coronary syndromes. Pooled analysis from the HORIZONS-AMI (Harmonizing Outcomes With Revascularization and Stents in Acute Myocardial Infarction) and ACUITY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage Strategy) TRIALS. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63:1845-54.

106. Takarada S, Imanishi T, Liu Y, Ikejima H, Tsujioka H, Kuroi A, Ishibashi K, Komukai K, Tanimoto T, Ino Y, Kitabata H, Kubo T, Nakamura N, Hirata K, Tanaka A, Mizukoshi M and Akasaka T. Advantage of next-generation frequency-domain optical coherence tomography compared with conventional time-domain system in the assessment of coronary lesion. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2010;75:202-6.

107. Chatzizisis YS, Koutkias VG, Toutouzas K, Giannopoulos A, Chouvarda I, Riga M, Antoniadis AP, Cheimariotis G, Doulaverakis C, Tsampoulatidis I, Bouki K, Kompatsiaris I, Stefanadis C, Maglaveras N and Giannoglou GD. Clinical validation of an algorithm for rapid and accurate automated segmentation of intracoronary optical coherence tomography images. *Int J Cardiol.* 2014;172:568-80.

108. Kume T, Akasaka T, Kawamoto T, Watanabe N, Toyota E, Neishi Y, Sukmawan R, Sadahira Y and Yoshida K. Assessment of coronary intima--media thickness by optical coherence tomography: comparison with intravascular ultrasound. *Circ J*. 2005;69:903-7.

109. Mintz GS. Clinical utility of intravascular imaging and physiology in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64:207-22.

110. Bouki KP, Katsafados MG, Chatzopoulos DN, Psychari SN, Toutouzas KP, Charalampopoulos AF, Sakkali EN, Koudouri AA, Liakos GK and Apostolou TS. Inflammatory markers and plaque morphology: an optical coherence tomography study. *Int J Cardiol*. 2012;154:287-92.

111. Barbero U, Scacciatella P, Iannaccone M, D'Ascenzo F, Niccoli G, Colombo F, Ugo F, Colangelo S, Mancone M, Calcagno S, Sardella G, Amabile N, Motreff P, Toutouzas K, Garbo R, Tamburino C, Montefusco A, Omede P, Moretti C, D'Amico M, Souteyrand G, Gaita F and Templin C. Culprit plaque characteristics in younger versus older patients with acute coronary syndromes: An optical coherence tomography study from the FORMIDABLE registry. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2017.

112. Toutouzas K, Karanasos A, Riga M, Tsiamis E, Synetos A, Michelongona A, Papanikolaou A, Triantafyllou G, Tsioufis C and Stefanadis C. Optical coherence tomography assessment of the spatial distribution of culprit ruptured plaques and thin-cap fibroatheromas in acute coronary syndrome. *EuroIntervention*. 2012;8:477-85.

113. Iannaccone M, D'Ascenzo F, Frangieh AH, Niccoli G, Ugo F, Boccuzzi G, Bertaina M, Mancone M, Montefusco A, Amabile N, Sardella G, Motreff P, Toutouzas K, Colombo F, Garbo R, Biondi-Zoccai G, Tamburino C, Omede P, Moretti C, D'Amico M, Souteyrand G, Meieir P, Luscher TF, Gaita F and Templin C. Impact of an optical coherence tomography guided approach in acute coronary syndromes: A propensity matched analysis from the international FORMIDABLE-CARDIOGROUP IV and USZ registry. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2017;90:E46-E52.

114. Fujii K, Hao H, Shibuya M, Imanaka T, Fukunaga M, Miki K, Tamaru H, Sawada H, Naito Y, Ohyanagi M, Hirota S and Masuyama T. Accuracy of OCT, grayscale IVUS, and their combination for the diagnosis of coronary TCFA: an ex vivo validation study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2015;8:451-460.

115. Ruiz EM, Papaioannou TG, Vavuranakis M, Stefanadis C, Naghavi M and Kakadiaris IA. Analysis of contrast-enhanced intravascular ultrasound images for the assessment of coronary plaque neoangiogenesis: another step closer to the identification of the vulnerable plaque. *Curr Pharm Des.* 2012;18:2207-13.

116. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, Vavuranakis M, Stefanadi E and Kipshidze N. First-in-man study with bevacizumab-eluting stent: a new approach for the inhibition of atheromatic plaque neovascularisation. *EuroIntervention*. 2008;3:460-4.

117. Vavuranakis M, Kakadiaris IA, O'Malley SM, Papaioannou TG, Sanidas EA, Naghavi M, Carlier S, Tousoulis D and Stefanadis C. A new method for assessment of plaque vulnerability based on vasa vasorum imaging, by using contrast-enhanced intravascular ultrasound and differential image analysis. *Int J Cardiol.* 2008;130:23-9.

118. Toutouzas K, Synetos A, Stefanadi E, Vaina S, Markou V, Vavuranakis M, Tsiamis E, Tousoulis D and Stefanadis C. Correlation between morphologic characteristics and local temperature differences in culprit lesions of patients with symptomatic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:2264-71.

119. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, Farb A, Guerrero LJ, Hayase M, Kutys R, Narula J, Finn AV and Virmani R. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med*. 2003;349:2316-25.

120. Uemura S, Ishigami K, Soeda T, Okayama S, Sung JH, Nakagawa H, Somekawa S, Takeda Y, Kawata H, Horii M and Saito Y. Thin-cap fibroatheroma and microchannel findings in optical coherence tomography correlate with subsequent progression of coronary atheromatous plaques. *Eur Heart J*. 2012;33:78-85.

121. Toutouzas K, Synetos A, Karanasos A, Tsiamis E and Stefanadis C. Simultaneous occlusion of two coronary arteries in a patient with acute myocardial infarction: a result of plaque rupture and plaque erosion. *Int J Cardiol.* 2011;152:e29-30.

122. Vogiatzi G, Toutouzas K, Karanasos A, Synetos A, Latsios G, Tsiamis E and Tousoulis D. Everolimus-eluting bioresorbable vascular scaffold implantation in Kawasaki disease: serial OCT observation. *Hellenic J Cardiol*. 2018.

123. Tearney GJ, Waxman S, Shishkov M, Vakoc BJ, Suter MJ, Freilich MI, Desjardins AE, Oh WY, Bartlett LA, Rosenberg M and Bouma BE. Threedimensional coronary artery microscopy by intracoronary optical frequency domain imaging. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2008;1:752-61. 124. Onuma Y, Okamura T, Muramatsu T, Uemura S and Serruys PW. New implication of three-dimensional optical coherence tomography in optimising bifurcation PCI. *EuroIntervention*. 2015;11 Suppl V:V71-4.

125. Andrikos IO, Sakellarios AI, Siogkas PK, Rigas G, Exarchos TP, Athanasiou LS, Karanasos A, Toutouzas K, Tousoulis D, Michalis LK and Fotiadis DI. A novel hybrid approach for reconstruction of coronary bifurcations using angiography and OCT. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2017;2017:588-591.

Her AY, Kim JS, Kim YH, Shin DH, Kim BK, Ko YG, Choi D, Jang Y and Hong MK. Histopathologic validation of optical coherence tomography findings of non-apposed side-branch struts in porcine arteries. *J Invasive Cardiol*. 2013;25:364-6.

127. Chatzizisis YS, Toutouzas K, Giannopoulos AA, Riga M, Antoniadis AP, Fujinom Y, Mitsouras D, Koutkias VG, Cheimariotis G, Doulaverakis C, Tsampoulatidis I, Chouvarda I, Kompatsiaris I, Nakamura S, Rybicki FJ, Maglaveras N, Tousoulis D and Giannoglou GD. Association of global and local low endothelial shear stress with high-risk plaque using intracoronary 3D optical coherence tomography: Introduction of 'shear stress score'. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017;18:888-897.

128. Toutouzas K, Chatzizisis YS, Riga M, Giannopoulos A, Antoniadis AP, Tu S, Fujino Y, Mitsouras D, Doulaverakis C, Tsampoulatidis I, Koutkias VG, Bouki K, Li Y, Chouvarda I, Cheimariotis G, Maglaveras N, Kompatsiaris I, Nakamura S, Reiber JH, Rybicki F, Karvounis H, Stefanadis C, Tousoulis D and Giannoglou GD. Accurate and reproducible reconstruction of coronary arteries and endothelial shear stress calculation using 3D OCT: comparative study to 3D IVUS and 3D QCA. *Atherosclerosis*. 2015;240:510-9.

129. Casscells W, Hathorn B, David M, Krabach T, Vaughn WK, McAllister HA, Bearman G and Willerson JT. Thermal detection of cellular infiltrates in living atherosclerotic plaques: possible implications for plaque rupture and thrombosis. *Lancet*. 1996;347:1447-51.

130. Naghavi M, John R, Naguib S, Siadaty MS, Grasu R, Kurian KC, van Winkle WB, Soller B, Litovsky S, Madjid M, Willerson JT and Casscells W. pH Heterogeneity of human and rabbit atherosclerotic plaques; a new insight into detection of vulnerable plaque. *Atherosclerosis*. 2002;164:27-35.

131. Stefanadis C, Diamantopoulos L, Vlachopoulos C, Tsiamis E, Dernellis J, Toutouzas K, Stefanadi E and Toutouzas P. Thermal heterogeneity within human atherosclerotic coronary arteries detected in vivo: A new method of detection by application of a special thermography catheter. *Circulation*. 1999;99:1965-71.

132. Stefanadis C and Toutouzas P. In vivo local thermography of coronary artery atherosclerotic plaques in humans. *Ann Intern Med.* 1998;129:1079-80.

Toutouzas K, Vaina S, Tsiamis E, Vavuranakis M, Mitropoulos J, Bosinakou
E, Toutouzas P and Stefanadis C. Detection of increased temperature of the culprit
lesion after recent myocardial infarction: the favorable effect of statins. *Am Heart J*.
2004;148:783-8.

134. Stefanadis C, Diamantopoulos L, Dernellis J, Economou E, Tsiamis E, Toutouzas K, Vlachopoulos C and Toutouzas P. Heat production of atherosclerotic plaques and inflammation assessed by the acute phase proteins in acute coronary syndromes. *J Mol Cell Cardiol*. 2000;32:43-52.

135. Verheye S, De Meyer GR, Van Langenhove G, Knaapen MW and Kockx MM. In vivo temperature heterogeneity of atherosclerotic plaques is determined by plaque composition. *Circulation*. 2002;105:1596-601.

136. ten Have AG, Gijsen FJ, Wentzel JJ, Slager CJ and van der Steen AF. Temperature distribution in atherosclerotic coronary arteries: influence of plaque geometry and flow (a numerical study). *Phys Med Biol*. 2004;49:4447-62.

137. Stefanadis C, Toutouzas K, Vavuranakis M, Tsiamis E, Vaina S and Toutouzas P. New balloon-thermography catheter for in vivo temperature measurements in human coronary atherosclerotic plaques: a novel approach for thermography? *Catheter Cardiovasc Interv*. 2003;58:344-50.

138. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, Mitropoulos I, Tsioufis C, Kallikazaros I, Pitsavos C and Toutouzas P. Thermal heterogeneity in stable human coronary atherosclerotic plaques is underestimated in vivo: the "cooling effect" of blood flow. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:403-8.

139. Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G, D'Onofrio G, Crea F and Maseri A.
Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med.* 2002;347:512.

140. Spagnoli LG, Bonanno E, Mauriello A, Palmieri G, Partenzi A, Sangiorgi G and Crea F. Multicentric inflammation in epicardial coronary arteries of patients dying of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:1579-88.

141. Toutouzas K, Drakopoulou M, Mitropoulos J, Tsiamis E, Vaina S, Vavuranakis M, Markou V, Bosinakou E and Stefanadis C. Elevated plaque temperature in non-culprit de novo atheromatous lesions of patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:301-6.

142. Toutouzas K, Drakopoulou M, Markou V, Stougianos P, Tsiamis E, Tousoulis D and Stefanadis C. Increased coronary sinus blood temperature: correlation with systemic inflammation. *Eur J Clin Invest*. 2006;36:218-23.

143. Toutouzas K, Markou V, Drakopoulou M, Mitropoulos I, Tsiamis E and Stefanadis C. Patients with type two diabetes mellitus: increased local inflammatory activation in culprit atheromatous plaques. *Hellenic J Cardiol*. 2005;46:283-8.

144. Verheye S, De Meyer GR, Krams R, Kockx MM, Van Damme LC, Mousavi Gourabi B, Knaapen MW, Van Langenhove G and Serruys PW. Intravascular thermography: Immediate functional and morphological vascular findings. *Eur Heart J*. 2004;25:158-65.

145. Toutouzas K, Drakopoulou M, Markou V, Karabelas I, Vaina S, Vavuranakis M, Tsiamis E, Tsioufis C, Androulakis A and Stefanadis C. Correlation of systemic inflammation with local inflammatory activity in non-culprit lesions: beneficial effect of statins. *Int J Cardiol*. 2007;119:368-73.

146. Toutouzas K, Markou V, Drakopoulou M, Mitropoulos I, Tsiamis E, Vavuranakis M, Vaina S and Stefanadis C. Increased heat generation from atherosclerotic plaques in patients with type 2 diabetes: an increased local inflammatory activation. *Diabetes Care*. 2005;28:1656-61.

147. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, Stratos C, Vavuranakis M, Kallikazaros I, Panagiotakos D and Toutouzas P. Increased local temperature in human coronary atherosclerotic plaques: an independent predictor of clinical outcome in patients undergoing a percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:1277-83.

148. Fischer C, Hulten E, Belur P, Smith R, Voros S and Villines TC. Coronary CT angiography versus intravascular ultrasound for estimation of coronary stenosis and atherosclerotic plaque burden: a meta-analysis. *J Cardiovasc Comput Tomogr*. 2013;7:256-66.

149. Virmani R, Burke AP, Farb A and Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:C13-8.

150. Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Gold HK, Yuan J, Narula J, Finn AV and Virmani R. The thin-cap fibroatheroma: a type of vulnerable plaque: the major precursor lesion to acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol*. 2001;16:285-92. 151. van der Giessen AG, Toepker MH, Donelly PM, Bamberg F, Schlett CL, Raffle C, Irlbeck T, Lee H, van Walsum T, Maurovich-Horvat P, Gijsen FJ, Wentzel JJ and Hoffmann U. Reproducibility, accuracy, and predictors of accuracy for the detection of coronary atherosclerotic plaque composition by computed tomography: an ex vivo comparison to intravascular ultrasound. *Invest Radiol*. 2010;45:693-701. 152. Weigold WG, Abbara S, Achenbach S, Arbab-Zadeh A, Berman D, Carr JJ, Cury RC, Halliburton SS, McCollough CH, Taylor AJ and Society of

Cardiovascular Computed T. Standardized medical terminology for cardiac

computed tomography: a report of the Society of Cardiovascular Computed Tomography. *J Cardiovasc Comput Tomogr*. 2011;5:136-44.

153. Pohle K, Achenbach S, Macneill B, Ropers D, Ferencik M, Moselewski F, Hoffmann U, Brady TJ, Jang IK and Daniel WG. Characterization of non-calcified coronary atherosclerotic plaque by multi-detector row CT: comparison to IVUS. *Atherosclerosis*. 2007;190:174-80.

154. Voros S, Rinehart S, Qian Z, Vazquez G, Anderson H, Murrieta L, Wilmer C, Carlson H, Taylor K, Ballard W, Karmpaliotis D, Kalynych A and Brown C, 3rd. Prospective validation of standardized, 3-dimensional, quantitative coronary computed tomographic plaque measurements using radiofrequency backscatter intravascular ultrasound as reference standard in intermediate coronary arterial lesions: results from the ATLANTA (assessment of tissue characteristics, lesion morphology, and hemodynamics by angiography with fractional flow reserve, intravascular ultrasound and virtual histology, and noninvasive computed tomography in atherosclerotic plaques) I study. *JACC Cardiovasc Interv.* 2011;4:198-208.

155. Marwan M, Taher MA, El Meniawy K, Awadallah H, Pflederer T, Schuhback A, Ropers D, Daniel WG and Achenbach S. In vivo CT detection of lipid-rich coronary artery atherosclerotic plaques using quantitative histogram analysis: a head to head comparison with IVUS. *Atherosclerosis*. 2011;215:110-5.

156. Maurovich-Horvat P, Hoffmann U, Vorpahl M, Nakano M, Virmani R and Alkadhi H. The napkin-ring sign: CT signature of high-risk coronary plaques? *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010;3:440-4.

157. Maurovich-Horvat P, Ferencik M, Voros S, Merkely B and Hoffmann U. Comprehensive plaque assessment by coronary CT angiography. *Nat Rev Cardiol*. 2014;11:390-402.

158. Otsuka K, Fukuda S, Tanaka A, Nakanishi K, Taguchi H, Yoshikawa J, Shimada K and Yoshiyama M. Napkin-ring sign on coronary CT angiography for the prediction of acute coronary syndrome. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6:448-57.

159. Blackmon KN, Streck J, Thilo C, Bastarrika G, Costello P and Schoepf UJ. Reproducibility of automated noncalcified coronary artery plaque burden assessment at coronary CT angiography. *J Thorac Imaging*. 2009;24:96-102.

160. Klass O, Kleinhans S, Walker MJ, Olszewski M, Feuerlein S, Juchems M and Hoffmann MH. Coronary plaque imaging with 256-slice multidetector computed tomography: interobserver variability of volumetric lesion parameters with semiautomatic plaque analysis software. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2010;26:711-20.

161. Versteylen MO, Kietselaer BL, Dagnelie PC, Joosen IA, Dedic A, Raaijmakers RH, Wildberger JE, Nieman K, Crijns HJ, Niessen WJ, Daemen MJ and Hofstra L. Additive value of semiautomated quantification of coronary artery disease using cardiac computed tomographic angiography to predict future acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61:2296-305.

162. Ferencik M, Mayrhofer T, Puchner SB, Lu MT, Maurovich-Horvat P, Liu T, Ghemigian K, Kitslaar P, Broersen A, Bamberg F, Truong QA, Schlett CL and Hoffmann U. Computed tomography-based high-risk coronary plaque score to predict acute coronary syndrome among patients with acute chest pain--Results from the ROMICAT II trial. *J Cardiovasc Comput Tomogr*. 2015;9:538-45.

163. Saam T, Ferguson MS, Yarnykh VL, Takaya N, Xu D, Polissar NL, Hatsukami TS and Yuan C. Quantitative evaluation of carotid plaque composition by in vivo MRI. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:234-9.

164. Noguchi T, Kawasaki T, Tanaka A, Yasuda S, Goto Y, Ishihara M, Nishimura K, Miyamoto Y, Node K and Koga N. High-intensity signals in coronary plaques on noncontrast T1-weighted magnetic resonance imaging as a novel determinant of coronary events. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:989-99.

165. Kawasaki T, Koga S, Koga N, Noguchi T, Tanaka H, Koga H, Serikawa T, Orita Y, Ikeda S, Mito T, Goto Y, Shintani Y, Tanaka A and Fukuyama T. Characterization of hyperintense plaque with noncontrast T(1)-weighted cardiac magnetic resonance coronary plaque imaging: comparison with multislice computed tomography and intravascular ultrasound. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2009;2:720-8.

166. Matsumoto K, Ehara S, Hasegawa T, Sakaguchi M, Otsuka K, Yoshikawa J and Shimada K. Localization of Coronary High-Intensity Signals on T1-Weighted MR Imaging: Relation to Plaque Morphology and Clinical Severity of Angina Pectoris. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2015;8:1143-52.

167. Jansen CH, Perera D, Makowski MR, Wiethoff AJ, Phinikaridou A, Razavi RM, Marber MS, Greil GF, Nagel E, Maintz D, Redwood S and Botnar RM. Detection of intracoronary thrombus by magnetic resonance imaging in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2011;124:416-24.

168. Karolyi M, Seifarth H, Liew G, Schlett CL, Maurovich-Horvat P, Stolzmann P, Dai G, Huang S, Goergen CJ, Nakano M, Otsuka F, Virmani R, Hoffmann U and Sosnovik DE. Classification of coronary atherosclerotic plaques ex vivo with T1, T2, and ultrashort echo time CMR. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6:466-74.

169. Tarkin JM, Joshi FR and Rudd JH. PET imaging of inflammation in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*. 2014;11:443-57.

170. Figueroa AL, Subramanian SS, Cury RC, Truong QA, Gardecki JA, Tearney GJ, Hoffmann U, Brady TJ and Tawakol A. Distribution of inflammation within carotid atherosclerotic plaques with high-risk morphological features: a comparison between positron emission tomography activity, plaque morphology, and histopathology. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012;5:69-77.

171. Blomberg BA, Thomassen A, Takx RA, Hildebrandt MG, Simonsen JA, Buch-Olsen KM, Diederichsen AC, Mickley H, Alavi A and Hoilund-Carlsen PF. Delayed (1)(8)F-fluorodeoxyglucose PET/CT imaging improves quantitation of atherosclerotic plaque inflammation: results from the CAMONA study. *J Nucl Cardiol*. 2014;21:588-97.

172. Tawakol A, Fayad ZA, Mogg R, Alon A, Klimas MT, Dansky H, Subramanian SS, Abdelbaky A, Rudd JH, Farkouh ME, Nunes IO, Beals CR and Shankar SS. Intensification of statin therapy results in a rapid reduction in atherosclerotic inflammation: results of a multicenter fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography feasibility study. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:909-17.

173. Figueroa AL, Abdelbaky A, Truong QA, Corsini E, MacNabb MH, Lavender ZR, Lawler MA, Grinspoon SK, Brady TJ, Nasir K, Hoffmann U and Tawakol A. Measurement of arterial activity on routine FDG PET/CT images improves prediction of risk of future CV events. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6:1250-9.

174. Joshi NV, Vesey AT, Williams MC, Shah AS, Calvert PA, Craighead FH, Yeoh SE, Wallace W, Salter D, Fletcher AM, van Beek EJ, Flapan AD, Uren NG, Behan MW, Cruden NL, Mills NL, Fox KA, Rudd JH, Dweck MR and Newby DE. 18F-fluoride positron emission tomography for identification of ruptured and highrisk coronary atherosclerotic plaques: a prospective clinical trial. *Lancet*. 2014;383:705-13.

175. Nensa F, Poeppel TD, Beiderwellen K, Schelhorn J, Mahabadi AA, Erbel R, Heusch P, Nassenstein K, Bockisch A, Forsting M and Schlosser T. Hybrid PET/MR imaging of the heart: feasibility and initial results. *Radiology*. 2013;268:366-73.

176. Bini J, Robson PM, Calcagno C, Eldib M and Fayad ZA. Quantitative carotid PET/MR imaging: clinical evaluation of MR-Attenuation correction versus CT-Attenuation correction in (18)F-FDG PET/MR emission data and comparison to PET/CT. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;5:293-304.

177. Leroy Y, Bocquet B and Mamouni A. Non-invasive microwave radiometry thermometry. *Physiol Meas*. 1998;19:127-48.

178. Shaeffer J, El-Mahdi AM and Carr KL. Cancer detection studies using a 4.7 Gigahertz radiometer. *Cancer Detect Prev.* 1981;4:571-8.

179. Shaeffer J, El-Mahdi AM and Carr KL. Thermographic detection of human cancers by microwave radiometry. *Prog Clin Biol Res.* 1982;107:509-21.

180. Myers PC, Barrett AH and Sadowsky NL. Microwave thermography of normal and cancerous breast tissue. *Ann N Y Acad Sci.* 1980;335:443-55.

181. Lee JW, Lee SM, Kim KS, Han WT, Yoon G, Pasmanik LA, Ulyanichev IA and Troitsky AV. Experimental investigation of the mammary gland tumour phantom for multifrequency microwave radio-thermometers. *Med Biol Eng Comput*. 2004;42:581-90.

182. Davis SK, Van Veen BD, Hagness SC and Kelcz F. Breast tumor characterization based on ultrawideband microwave backscatter. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2008;55:237-46.

183. Helmy A, Holdmann M and Rizkalla M. Application of thermography for non-invasive diagnosis of thyroid gland disease. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2008;55:1168-75.

184. Barrett AH and Myers PC. Subcutaneous temperatures: a method of noninvasive sensing. *Science*. 1975;190:669-71.

185. Barrett AH and Myers PC. Microwave thermography: a method of detecting subsurface thermal patterns. *Bibl Radiol.* 1975:45-56.

186. Barrett AH, Myers PC and Sadowsky NL. Microwave thermography in the detection of breast cancer. *AJR Am J Roentgenol*. 1980;134:365-8.

187. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, Vavuranakis M, Tsioufis C, StefanadiE and Boudoulas H. Relation between local temperature and C-reactive protein

levels in patients with coronary artery disease: effects of atorvastatin treatment. *Atherosclerosis*. 2007;192:396-400.

188. Rus HG, Vlaicu R and Niculescu F. Interleukin-6 and interleukin-8 protein and gene expression in human arterial atherosclerotic wall. *Atherosclerosis*. 1996;127:263-71.

189. Recinos A, 3rd, LeJeune WS, Sun H, Lee CY, Tieu BC, Lu M, Hou T, Boldogh I, Tilton RG and Brasier AR. Angiotensin II induces IL-6 expression and the Jak-STAT3 pathway in aortic adventitia of LDL receptor-deficient mice. *Atherosclerosis*. 2007;194:125-33.

190. Krams R, Verheye S, van Damme LC, Tempel D, Mousavi Gourabi B, Boersma E, Kockx MM, Knaapen MW, Strijder C, van Langenhove G, Pasterkamp G, van der Steen AF and Serruys PW. In vivo temperature heterogeneity is associated with plaque regions of increased MMP-9 activity. *Eur Heart J*. 2005;26:2200-5.

191. Toutouzas K, Grassos C, Drakopoulou M, Synetos A, Tsiamis E, Aggeli C, Stathogiannis K, Klettas D, Kavantzas N, Agrogiannis G, Patsouris E, Klonaris C, Liasis N, Tousoulis D, Siores E and Stefanadis C. First in vivo application of microwave radiometry in human carotids: a new noninvasive method for detection of local inflammatory activation. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59:1645-53.

192. Toutouzas K, Drakopoulou M, Aggeli C, Nikolaou C, Felekos I, Grassos H, Synetos A, Stathogiannis K, Karanasos A, Tsiamis E, Siores E and Stefanadis C. In vivo measurement of plaque neovascularisation and thermal heterogeneity in intermediate lesions of human carotid arteries. *Heart*. 2012;98:1716-21.

193. Toutouzas K, Benetos G, Drakopoulou M, Michelongona A, Nikolaou C, Masoura C, Stathogiannis K, Aggeli C, Tsiamis E, Siores E and Stefanadis C. Morphological and functional assessment of carotid plaques have similar predictive accuracy for coronary artery disease. *Stroke*. 2013;44:2607-9.

194. Toutouzas K, Benetos G, Drakopoulou M, Bounas P, Tsekoura D, Stathogiannis K, Koutagiar I, Aggeli C, Karanasos A, Panagiotakos D, Siores E and Stefanadis C. Insights from a thermography-based method suggesting higher carotid inflammation in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease. *Diabetes Metab.* 2014;40:431-8.

195. Toutouzas K, Benetos G, Drakopoulou M, Deligianni C, Spengos K, Stefanadis C, Siores E and Tousoulis D. Incremental predictive value of carotid inflammation in acute ischemic stroke. *Stroke*. 2015;46:272-4.

196. Toutouzas K, Koutagiar I, Benetos G, Aggeli C, Georgakopoulos A, Athanasiadis E, Pianou N, Trachanellis S, Patelis N, Agrogiannis G, Kafouris P, Filis K, Bessias N, Klonaris C, Spyrou G, Tsiamis E, Siores E, Patsouris E, Cokkinos D, Tousoulis D and Anagnostopoulos CD. Inflamed human carotid plaques evaluated by PET/CT exhibit increased temperature: insights from an in vivo study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2016.

197. Benetos G, Toutouzas K, Matsoukis I, Drakopoulou M, Mitropoulou F, Koutagiar I, Nikolaou C, Stathogiannis K, Siores E and Tousoulis D. Female gender is independently associated with increased carotid temperatures in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2016;219:130-5.

198. Toutouzas K, Benetos G, Koutagiar I, Barampoutis N, Mitropoulou F, Davlouros P, Sfikakis PP, Alexopoulos D, Stefanadis C, Siores E and Tousoulis D. Noninvasive detection of increased carotid artery temperature in patients with coronary artery disease predicts major cardiovascular events at one year: Results from a prospective multicenter study. *Atherosclerosis*. 2017;262:25-30.

199. Vavuranakis M, Sigala F, Vrachatis DA, Papaioannou TG, Filis K, Kavantzas N, Kalogeras KI, Massoura C, Toufektzian L, Kariori MG, Vlasseros I, Kallikazaros I and Stefanadis C. Quantitative analysis of carotid plaque vasa vasorum by CEUS and correlation with histology after endarterectomy. *Vasa*. 2013;42:184-95.