



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**Α' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ κ. ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΖΩΓΡΑΦΟΣ**

**Μελέτη των χαρακτηριστικών της αθηρωματικής στένωσης των  
καρωτίδων σε σταθερές και ασταθείς πλάκες και συσχέτιση με  
ειδικούς ανοσοϊστοχημικούς δείκτες σε ιστολογικά  
παρασκευάσματα**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Λεβόν Τουφεκτζιάν  
Χειρουργού Θώρακος**

**Αθήνα  
Μάιος 2017**

Copyright © Λεβόν Τουφεκτζιάν, 2017

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της διατριβής για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από το Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών δε δηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα (Νόμος 5343/1932 – άρθρο 202, παράγραφος 2).

## **ΧΡΟΝΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

Κατάθεση αίτησης εκπόνησης Διδακτορικής Διατριβής: 24/06/2011

Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 14/11/2011

Ορισμός Θέματος: 05/04/2013

Κατάθεση Α' Έκθεσης Προόδου: 17/05/2013

Κατάθεση Β' Έκθεσης Προόδου: 24/10/2014

Κατάθεση Γ' Έκθεσης Προόδου: 15/04/2016

Ορισμός Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής: 29/05/2017

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Γεώργιος Ζωγράφος:** Καθηγητής Χειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

**Κωνσταντίνος Φύλης:** Αναπληρωτής Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής Ε.Κ.Π.Α. (επιβλέπων)

Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

**Σωτήριος Γεωργόπουλος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Α' Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Λαϊκό"

## **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Γεώργιος Ζωγράφος:** Καθηγητής Χειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

**Σπυρίδων Βασδέκης:** Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Πανεπιστημιακή Αγγειοχειρουργική Κλινική, Π.Γ.Ν. "Αττικόν"

**Κωνσταντίνος Φύλης:** Αναπληρωτής Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής Ε.Κ.Π.Α. (επιβλέπων)

Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

**Σωτήριος Γεωργόπουλος:** Αναπληρωτής Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Α' Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Λαϊκό"

**Φραγκίσκα Σιγάλα:** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Αγγειοχειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

**Εμμανουήλ Βαβουρανάκης:** Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας Ε.Κ.Π.Α.

Α' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

**Χρήστος Μπακογιάννης:** Επίκουρος Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής Ε.Κ.Π.Α.

Α' Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Α. "Λαϊκό"

*Στους γονείς μου,  
που με μεγάλωσαν με τις αυθεντικές αξίες της ζωής*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Από τη θέση αυτή θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους χωρίς τη συμβολή των οποίων η παρούσα διδακτορική διατριβή δε θα ήταν δυνατό να τελεσφορήσει.

Αρχικά θα ήθελα να καταθέσω τον σεβασμό μου και τη βαθύτατη από καρδιάς ευγνωμοσύνη μου στον Αναπληρωτή Καθηγητή Αγγειοχειρουργικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών Κο Κωνσταντίνο Φίλη, ο οποίος με καθοδήγησε καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσης εργασίας και έχει συμβάλλει να γίνω καλύτερος επιστήμονας και άνθρωπος όλα αυτά τα χρόνια με την αδιάκοπη και ανιδιοτελή βοήθεια που μου έχει προσφέρει.

Την αμέριστή μου ευγνωμοσύνη οφείλω να καταθέσω στην Επίκουρο Καθηγήτρια Αγγειοχειρουργικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών Κα Φραγκίσκα Σιγάλα, η οποία ήταν πάντα πρόθυμη και διαθέσιμη για να συζητήσει και να με βοηθήσει με τις όποιες δυσκολίες ενέκυπταν κατά τη διάρκεια αυτών των ετών.

Η ιδέα της διδακτορικής αυτής διατριβής ανήκει στον Αναπληρωτή Καθηγητή Καρδιολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών Κο Εμμανουήλ Βαβουρανάκη, του οποίου οι έυστοχες παρατηρήσεις κατά τη διάρκεια της εκπόνησής της με βοήθησαν στη βαθύτερη ανάλυση και κατανόηση του θέματος.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τη σύζυγό μου, ιατρό Καρδιολόγο Κα Παναγιώτα Κουρκοβέλη, η οποία εκτός από την ουσιαστική στήριξη που μου παρέχει, συνέβαλε ουσιαστικά με την αξιοζήλευτη κριτική της ικανότητα και τις εύστοχες παρατηρήσεις της στη διόρθωση του παρόντος χειρογράφου.

Θα ήθελα επιπλέον να ευχαριστήσω την Κα Κωνσταντίνα Μασούρα ιατρό Καρδιολόγο της Πανεπιστημιακής Καρδιολογικής Κλινικής του Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο" για την υψηλού επιπέδου γνώση και συμβολή της στην πραγματοποίηση των υπερηχογραφικών μελετών που αποτέλεσαν τον κορμό της παρούσης μελέτης.

Επίσης, θα ήθελα να αναφέρω τη συμβολή του Κου Γεώργιου Γαλύφου ιατρού Αγγειοχειρουργού, του οποίου η βοήθεια ήταν πολύτιμη για τη διόρθωση και την κατάθεση της εργασίας ανασκόπησης του παρόντος θέματος, και του Κου Δημητρίου Βραχάτη ιατρού

Καρδιολόγου της Πανεπιστημιακής Καρδιολογικής Κλινικής του Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο" για την ανάλυση και την παροχή των υπερηχογραφικών εικόνων.

Δεν θα πρέπει να παραλείψω να ευχαριστήσω το προσωπικό του Εργαστηρίου Ιστολογίας - Εμβρυολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, χωρίς τη βοήθεια του οποίου δε θα ήταν δυνατή η επεξεργασία των παρασκευασμάτων ενδαρτηρεκτομής και η ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτών.

Την αμέριστη ευγνωμοσύνη μου οφείλω στον Καθηγητή Χειρουργικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών Κο Γεώργιο Ζωγράφο, ο οποίος με υποστήριξε όλα αυτά τα χρόνια και συνέβαλε με τις πολύτιμες συμβουλές του στη διαμόρφωση του ιατρικού μου ήθους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, η οποία στάθηκε στο πλευρό μου καθόλη τη διάρκεια των σπουδών και της έως της παρούσης ιατρικής μου σταδιοδρομίας και με την αμέριστη αγάπη και κατανόησή της με βοήθησε να γίνω καλύτερος άνθρωπος, αλλά και όλους εκείνους τους ανθρώπους που ανήκουν στο εργασιακό και άμεσο φιλικό μου περιβάλλον που βρίσκονται δίπλα μου όλα αυτά τα χρόνια.

## **ΣΥΝΟΠΤΙΚΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

### **1. Προσωπικά στοιχεία**

Όνοματεπώνυμο: Λεβόν Τουφεκτζιάν

Ημερομηνία γέννησης: 24 Ιουνίου 1978

Τόπος γέννησης: Αθήνα

Υπηκοότητα: Ελληνική

Οικογενειακή κατάσταση: Έγγαμος

Διεύθυνση κατοικίας: Ιασίου 8, 11521, Αθήνα

Τηλέφωνο κατοικίας: 210-7249933

Κινητό τηλέφωνο: 6944-724944

Διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομίου: tlevon@gmail.com

Αρ. Μητρ. Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών: 055736

Ημερομηνία κτήσης ειδικότητας Χειρουργικής Θώρακος: Οκτώβριος 2013 (Αθήνα)

### **2. Παρούσα θέση**

Επικουρικός Επιμελητής Β' Χειρουργός Θώρακος

Θωρακοχειρουργική Κλινική, Γ.Ν.Ν.Θ.Α. "Η Σωτηρία"

### **3. Προπτυχιακή εκπαίδευση**

Έτη φοιτήσεως: 1996 - 2003

Εκπαιδευτικό Ίδρυμα: Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο

Αθηνων

Βαθμός πτυχίου: Λίαν Καλώς

### **4. Υπηρεσία υπαίθρου**

Νόμιμη απαλλαγή βάσει την αριθμ. Υ10γ/25-8-2014 υπουργική απόφαση, κατά την οποία απαλλάσσονται της υποχρέωσης υπηρεσίας υπαίθρου του Ν,Δ 67/1968 οι ιατροί που έχουν εγγραφεί στο Α' έτος Ιατρικών Σπουδών της ημεδαπής και αλλοδαπής μέχρι και το ακαδημαϊκό έτος 2000 - 2001.



## 5. Στρατιωτική θητεία

Οκτώβριος 2005 - Ιούλιος 2006: Πολεμικό Ναυτικό

## 6. Μεταπτυχιακές σπουδές

### 6.1. Εκπαίδευση στην ειδικότητα Χειρουργικής Θώρακος

Ιανουάριος 2013 - Ιούλιος 2013	A' Καρδιοχειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο" Ειδικευόμενος ιατρός στη Χειρουργική Καρδιάς Διευθυντής: Κος Κ. Τριανταφύλλου
Ιανουάριος 2011 - Ιανουάριος 2013	B' Θωρακοχειρουργική Κλινική Γ.Ν.Ν.Θ.Α. "Η Σωτηρία" Ειδικευόμενος ιατρός στη Χειρουργική Θώρακος Διευθυντής: Κος Μ. Κωνσταντίνου
Φεβρουάριος 2010 - Ιανουάριος 2011	Γ' Καρδιοχειρουργική Κλινική Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο Ειδικευόμενος ιατρός στη Χειρουργική Καρδιάς Διευθυντής: Κος Γ. Παλατιανός
Οκτώβριος 2006 - Δεκέμβριος 2009	A' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο" Ειδικευόμενος ιατρός στη Γενική Χειρουργική Διευθυντής: Καθ. Γ. Ζωγράφος
Ιανουάριος 2005 - Ιούλιος 2005	Department of Cardiothoracic Surgery London Chest Hospital, London, UK Ειδικευόμενος ιατρός στη Χειρουργική Καρδιάς Διευθυντής: Mr. I. Weir

## **6.2. Τίτλος μεταπτυχιακής εκπαίδευσης**

Επιτυχής ολοκλήρωση (Μάιος 2015) του διετούς Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Ειδίκευσης με τίτλο "Ογκολογία Θώρακος: Σύγχρονη Κλινικοεργαστηριακή Προσέγγιση και Έρευνα" στο τμήμα Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με βαθμό Λίαν Καλώς.

## **7. Τίτλος ειδικότητας Χειρουργικής Θώρακος**

### **7.1. Ελληνικός τίτλος ολοκλήρωσης ειδικότητας**

Μετά την ολοκλήρωση της εκπαίδευσης στη Χειρουργική Θώρακος (Ιούλιος 2013) συμμετείχα με επιτυχία στις εξετάσεις για την απόκτηση του τίτλου ειδικότητας (Αθήνα, Αύγουστος 2013). Ο τίτλος μου απονεμήθει τον Οκτώβριο του 2013.

### **7.2. Fellow of the European Board of Thoracic Surgery**

Στο πλαίσιο του 22ου Ευρωπαϊκού Συνεδρίου Χειρουργικής Θώρακος (Κοπενχάγη, Δανία, Ιούνιος 2014) συμμετείχα με επιτυχία στις Ευρωπαϊκές εξετάσεις Χειρουργικής Θώρακος (European Board of Thoracic Surgery) με αποτέλεσμα να μου απονεμηθεί ο τίτλος του Fellow of European Board of Thoracic Surgery (FEBTS).

## **8. Μετεκπαίδευση/Εξειδίκευση**

Αύγουστος 2013 - Σεπτέμβριος 2016

Department of Thoracic Surgery  
Guy's Hospital  
Guy's & St. Thomas' NHS Foundation  
Trust, London, UK  
Senior Registrar

## 9. Επιστημονικό έργο

### 9.1. Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά

1. Koulaxouzidis G, **Toufektzian L**, Ashrafiian L, Veres L.  
Does the addition of postoperative radiotherapy to adjuvant chemotherapy offer any benefit in patients with non-small cell lung cancer and mediastinal lymphadenopathy?  
Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2017 Jan 10. PubMed PMID: 28073986
2. Smelt JL, **Toufektzian L**, Pilling J, Routledge T.  
A lateral costal artery complicating video-assisted thorascopic surgery (VATS) pleurectomy.  
Surg Radiol Anat. 2016 Dec 9. PubMed PMID: 27942946
3. Tsitsias T, **Toufektzian L**, Routledge T, Pilling J.  
Are there recognized prognostic factors for patients undergoing pulmonary metastasectomy for colorectal carcinoma?  
Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2016 Dec;23(6):962-969
4. Filis K, **Toufektzian L**, Galyfos G, Sigala F, Kourkovei P, Georgopoulos S, Vavuranakis M, Vrachatis D, Zografos G.  
Assessment of the vulnerable carotid atherosclerotic plaque using contrast-enhanced ultrasonography.  
Vascular. 2016 Aug 31. pii: 1708538116665734
5. Gillon SA, **Toufektzian L**, Harrison-Phipps K, Puchakayala M, Daly K, Ioannou N, Meadows CI, Wyncoll DL, Barrett NA.  
Perioperative Extracorporeal Membrane Oxygenation to Facilitate Lung Resection After Contralateral Pneumonectomy.  
Ann Thorac Surg. 2016 Mar;101(3): e71-e73.
6. Bucknor A, Harrison-Phipps K, Davies T, **Toufektzian L**.  
Is silver nitrate an effective means of pleurodesis?  
Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2015 Jul 18.

7. Patris V, **Toufektzian L**, Field M, Argiriou M.  
Is axillary superior to femoral artery cannulation for acute type A aortic dissection surgery? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Jul 17. pii: ivv181.
8. **Toufektzian L**, Patris V, Sepsas E, Konstantinou M.  
Does postoperative mechanical ventilation predispose to bronchopleural fistula formation in patients undergoing pneumonectomy?  
*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Jun 11. pii: ivv149.
9. Okyere S, Attia R, **Toufektzian L**, Routledge T.  
Is the learning curve for video-assisted thoracoscopic lobectomy affected by prior experience in open lobectomy?  
*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Apr 15. pii: ivv090. PubMed PMID: 25878186
10. **Toufektzian L**, Wilson H, Lang-Lazdunski L.  
The role of surgery in malignant pleural mesothelioma.  
*The Journal of Oncopathology*. 2015 February: 41-53.
11. Akter F, Routledge T, **Toufektzian L**, Attia R.  
In minor and major thoracic procedures is uniport superior to multiport video-assisted thoracoscopic surgery?  
*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Jan 28. pii: ivu375.
12. **Toufektzian L**, Zisis C, Balaka C, Roussakis A.  
Effectiveness of brain natriuretic peptide in predicting postoperative atrial fibrillation in patients undergoing non-cardiac thoracic surgery.  
*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Jan 28. pii: ivu454.
13. **Toufektzian L**. eComment.  
The importance of nutritional assessment and support in patients undergoing oesophagectomy for oesophageal malignancies.  
*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Jan;20(1):113.

14. **Toufektzian L**, Patris V, Potaris K, Konstantinou M.  
Is it safe and worthwhile to perform pulmonary resection after contralateral pneumonectomy? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Feb;20(2):265-9.
15. **Toufektzian L**, Attia R, Polydorou N, Veres L.  
Does the sequence of pulmonary vasculature ligation have any oncological impact during an anatomical lung resection for non-small-cell lung cancer?  
*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Feb;20(2):260-4.
16. **Toufektzian L**, Attia R, Veres L.  
Does the extent of resection affect survival in patients with synchronous multiple primary lung cancers undergoing curative surgery?  
*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2014 Dec;19(6):1059-64.
17. **Toufektzian L**, Sepsas E, Drossos V, Gkiozos I, Syrigos K. Pleural lavage cytology: where do we stand? *Lung Cancer*. 2014 Jan;83(1):14-22.
18. Vavuranakis M, Sigala F, Vrachatis DA, Papaioannou TG, Filis K, Kavantzias N, Kalogeras KI, Massoura C, **Toufektzian L**, Kariori MG, Vlasseros I, Kallikazaros I, Stefanadis C.  
Quantitative analysis of carotid plaque vasa vasorum by CEUS and correlation with histology after endarterectomy.  
*Vasa*. 2013 May;42(3):184-95.
19. Moraitis S, Perelas A, **Toufektzian L**, Mazarakis N, Pechlivanides G.  
Giant sternal metastasis secondary to follicular carcinoma of the thyroid gland: report of a case. *Surg Today*. 2012 Sep;42(9):895-8.
20. Panaretou V, **Toufektzian L**, Sifaka I, Kouroukli I, Sigala F, Vlachopoulos C, Katsaragakis S, Zografos G, Filis K.  
Postoperative pulmonary function after open abdominal aortic aneurysm repair in patients with chronic obstructive pulmonary disease: epidural versus intravenous analgesia.  
*Ann Vasc Surg*. 2012 Feb;26(2):149-55.

21. Konstadoulakis MM, Gomatos IP, **Toufektzian L**, Katsaragakis S, Koskinas J, Antonakis P, Nikiteas N, Leandros E, Tsigris C.  
Spontaneous intrahepatic echinococcal cyst rupture in a patient with chronic hepatitis C infection.  
Can J Surg. 2009 Aug;52(4):E120-E122.
22. Filis K, **Toufektzian L**, Sigala F, Kardoulas D, Kotzadimitriou A, Lagoudianakis E, Koronakis N, Manouras A.  
Right subclavian double steal syndrome: a case report.  
J Med Case Rep. 2008 Dec 23;2:392. doi: 10.1186/1752-1947-2-392.
23. Hountis P, Moraitis S, Dedeilias P, Antonopoulos N, **Toufektzian L**, Douzinas M.  
Bilateral pulmonary contusion, flail chest and respiratory failure on late iatrogenic diaphragmatic eventration and severe kyphoskoliosis: a case report.  
Cases J. 2008 Nov 28;1(1):358. doi: 10.1186/1757-1626-1-358.
24. Hountis P, **Toufektzian L**, Moraitis S, Douzinas M.  
Spontaneous pneumomediastinum treatment.  
Minerva Chir. 2008 Oct;63(5):429-31.
25. Markogiannakis H, Kapralou A, **Toufektzian L**, Theodorou D, Katsaragakis S.  
Perioperative cardiac evaluation: the importance of cardiac failure management.  
South Med J. 2008 Jun;101(6):661-2.
26. Manouras A, Giannopoulos P, **Toufektzian L**, Markogiannakis H, Lagoudianakis EE, Papadima A, Papanikolaou D, Filis K, Kekis P.  
Splenic rupture as the presenting manifestation of primary splenic angiosarcoma in a teenage woman: a case report.  
J Med Case Rep. 2008 Apr 29;2:133.
27. **Toufektzian L**, Theodorou D, Larentzakis A, Misthos P, Katsaragakis S.  
Optimization of cardiac performance in chronic heart failure patients undergoing elective non-cardiac surgery.  
Current Anaesthesia and Critical Care 2007 18 (1), pp. 50-57.

## 9.2. Ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια

**L. Toufektzian**, L. Ashrafiyan, J. King, T. Routledge, K. Harrison-Phipps, J. Pilling, L. Veres, A. Bille

Impact of lymphadenectomy on survival in patients undergoing anatomical lung resection for non-small lung cancer.

in 24th European Conference on General Thoracic Surgery, Naples, Italy, May-June 2016

S. M. Kolokotroni, J. Barron, **L. Toufektzian**, S. Marshall, L. Veres, T. Routledge, A. Bille

Impact of perioperative gabapentin administration on postoperative opioid requirements and chronic pain in patients undergoing anatomical lung resection for non-small cell lung cancer.

in 24th European Conference on General Thoracic Surgery, Naples, Italy, May-June 2016

**L. Toufektzian**, K. Filis, M. Vavuranakis, F. Sigala, D. Vrachatis, T. Papaioannou, N. Kavatzas, C. Massoura, I. Vlasseros, I. Kallikazaros, C. Stefanadis

Detection of carotid plaque neovascularization with contrast-enhanced imaging. From the ultrasonographer to the pathologist.

in 15<sup>th</sup> World Congress of the International Union of Angiology, Prague, Czech Republic, July 2012

E. Papadakis, S. Fragoulis, **L. Toufektzian**, M. Vassili, F. Matsouka, G. Palatianos

Is emergency surgical myocardial revascularization considered sufficient for acute coronary insufficiency?

in 5<sup>th</sup> International Meeting of the Onassis Cardiac Surgery Center, Athens, Greece, September 2010

K. Filis, **L. Toufektzian**, V. Panaretou, C. Loizou, G. Sanidas, F. Sigala, E. Lagoudianakis, L. Georgiou

Observations on cerebral oximetry monitoring by near-infrared spectroscopy during carotid endarterectomy: the influence of external carotid artery flow.

in 13<sup>th</sup> World Congress of the International Union of Angiology, Athens, Greece, June 2008

**L. Toufektzian**, V. Panaretou, K. Filis, C. Loizou, G. Sanidas, F. Sigala, L. Georgiou

Epidural anesthesia results in improved intestinal perfusion in patients undergoing abdominal aortic aneurysm repair.

### 9.3. Συμμετοχή στη συγγραφή βιβλίων

Ενδαγγειακή αποκατάσταση ανευρυσμάτων της κοιλιακής αορτής

**Λ. Τουφεκτζιάν**, Κ. Φίλης

Τμήμα Αγγειοχειρουργικής, Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

Καρδιολογικά Θέματα 2007, Κεφ. 6 Περιφερικά Αγγεία, σ. 187 - 197

Επεμβατική θεραπεία της αθηρωματικής στένωσης του καρωτιδικού διχασμού: Παραμένει η  
καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή ο χρυσός κανόνας έναντι της ενδοαυλικής αγγειοπλαστικής

Κ. Φίλης, **Λ. Τουφεκτζιάν**, Φ. Σιγάλα

Τμήμα Αγγειοχειρουργικής, Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

ΕΛΠΙ(ΔΟ)Σ Μετεκπαιδευτικά Θέματα 2009, σ. 397 - 419

Βελτίωση της σπλαγγχνικής αιματικής άρδευσης με τη χρήση επισκληριδίου αναισθησίας κατά  
τη χειρουργική επιδιόρθωση των ανευρυσμάτων της κοιλιακής αορτής

**Λ. Τουφεκτζιάν**<sup>1</sup>, Β. Παναρέτου<sup>2</sup>, Χ. Λοίζου<sup>2</sup>, Γεώργιος Σανιδάς<sup>2</sup>, Φ. Σιγάλα<sup>1</sup>, Λ. Γεωργίου<sup>2</sup>, Σ.  
Κατσαραγάκης<sup>1</sup>, Κ. Φίλης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Αγγειοχειρουργικής, Α' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

<sup>2</sup>Τμήμα Αναισθησιολογίας, Γ.Ν.Α. "Ιπποκράτειο"

Τιμητικός Τόμος του Ομότιμου Καθηγητού της Χειρουργικής του Πανεπιστημίου Αθηνών  
Γεωργίου Ανδρουλάκη, 2009, σ. 99 - 118



## 10. Εκπαιδευτικό έργο

### 10.1. Ως εκπαιδευόμενος (μετεκπαιδευτικά σεμινάρια)

Advanced Science Course (Laser Certification) The LIMAX Laser - Light/Tissue Interactions	Ιουν. 2016
Intermediate Medical Statistics Course, Imperial College, London, UK	Ιουν. 2016
Postgraduate Course, 24th European Conference on General Thoracic Surgery, Naples, Italy	Ιουν. 2016
Introductory Medical Statistics Course, Imperial College, London, UK	Μαι. 2016
ESTS School of Thoracic Surgery - Tracheal & large airways, Istanbul, Turkey	Φεβ. 2016
Passport to Management, Guy's & St. Thomas' NHS Foundation Trust, London, UK	Ιαν. 2016
2nd International VATS Symposium, Cambridge, UK	Οκτ. 2015
Clinical Audit Course, Guy's & St. Thomas' NHS Foundation Trust, London, UK	Μαι. 2015
Interview Skills for Consultant Interviews, ISC Medical, London, UK	Απρ. 2015
Care of the Critically Ill Surgical Patient (CCrISP) Instructor Course, Royal College of Surgeons, London, UK	Φεβ. 2015
ESTS School of Thoracic Surgery - Chest wall surgery & minimally invasive surgery, Strasbourg, France	Φεβ. 2015
Ethicon & SCTS National Thoracic Symposium, Pinewood, UK	Νοε. 2014

ESTS School of Thoracic Surgery - From Minimally Invasive Surgery to Extended Resections for Mediastinal Diseases focusing on Esophageal and Tracheal Disorders, Strasbourg, France	Σεπ. 2014
Postgraduate Course, 22nd European Conference on General Thoracic Surgery, Copenhagen, Denmark	Ιουν. 2014
EACTS Thoracic Course - Part II, Windsor, UK	Δεκ. 2012
EACTS Thoracic Course - Part I, Windsor, UK	Απρ. 2012
ESTS School of Thoracic Surgery, Antalya, Turkey	Μαρ. 2012
Presentation Skills, National & Kapodistrian University of Athens, Medical School, Athens, Greece	Νοε. 2011
Postgraduate Course, 19th European Conference on General Thoracic Surgery, Marseille, France	Ιουν. 2011
Advanced Life Support (ALS Provider Course), Hellenic College of Cardiology, Athens, Greece	Απρ. 2010
Course on Laboratory Animal Science, BSRC "Alexander Fleming", Athens, Greece	Σεπ. 2007 - Οκτ. 2007
Postgraduate Course, 15th European Conference on General Thoracic Surgery, Leuven, Belgium	Ιουν. 2007
Advanced Trauma Life Support (ATLS Provider Course), University Hospital of Larissa, Greece	Απρ. 2004

## 10.2. Ως εκπαιδευτής

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών "Ογκολογία Θώρακος: Σύγχρονη Κλινικοεργαστηριακή Προσέγγιση και Έρευνα" του τμήματος Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Επιστημονικός υπεύθυνος: Κωνσταντίνος Συρίγος, Καθηγητής Ογκολογίας). Δύο τακτικές παρουσιάσεις διδασκαλίας ανά έτος στο Α' και Β' εξάμηνο του Προγράμματος με θέμα "Μεσοθωρακοσκόπηση" και "Σύγχρονοι και Μετάγχρονοι Καρκίνοι του Πνεύμονος", αντίστοιχα.

Care of the Critically Ill Surgical Patient (CCrISP course) at St. Thomas' Hospital, Royal College of Surgeons of England (Course Director: Ms Karen Harrison-Phipps, Consultant Thoracic Surgeon). Τακτική συμμετοχή ως εκπαιδευτής δύο φορές ανά έτος.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	22
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	23
2. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	26
3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΑΡΩΤΙΔΙΚΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ.....	29
3.1. Ενδοθηλιακά κύτταρα.....	31
3.2. Μακροφάγα.....	34
3.3. Λεία μυικά κύτταρα.....	37
3.4. Μαστοκύτταρα.....	39
3.5. T-λεμφοκύτταρα.....	43
3.6. Ο ρόλος του εξωκυτταρίου στρώματος.....	44
3.7. Ο ρόλος της λοίμωξης στην αθηρογένεση.....	46
4. Η ΕΥΑΛΩΤΗ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΠΛΑΚΑ.....	48
4.1. Δομή και λειτουργία των vasa vasorum.....	52
4.2. Ο ρόλος των vasa vasorum και των νεοαγγείων στην αιμορραγία της αθηρωματικής πλάκας.....	53
5. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΩΤΙΔΙΚΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	59
5.1. Ιστοπαθολογία της αθηρωματικής πλάκας.....	60
5.2. Μαγνητική τομογραφία.....	62
5.3. Χαρακτηριστικά της ασταθούς αθηρωματικής πλάκας στη μαγνητική τομογραφία.....	63
5.4. Αξονική τομογραφία.....	66
5.5. Χαρακτηριστικά της ασταθούς αθηρωματικής πλάκας στην αξονική τομογραφία.....	67
5.6. Η υπερηχογραφία στην απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας.....	69
5.7. Διακράνιος Doppler υπερηχογραφία.....	72
5.8. Μοριακή απεικόνιση.....	73
6. ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΑ ΜΕ ΣΚΙΑΓΡΑΦΙΚΟ ΜΕΣΟ.....	78
6.1. Παθοφυσιολογική βάση για τη χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό στην καρωτιδική αθηρωμάτωση.....	81
6.2. Η απεικόνιση της καρωτιδικής αθηρωμάτωσης με τη χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο.....	83
6.3. Η κλινική εφαρμογή της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό σε ασθενείς με καρωτιδική αθηρωμάτωση.....	87

6.4. Περιορισμοί της χρήσης της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό σε ασθενείς με καρωτιδική αθηρωμάτωση.....	90
B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	92
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	93
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	96
3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	99
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	100
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	107
Γ. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ.....	111
1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ.....	112
2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ.....	114
Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	116

## Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αθηροσκλήρυνση αποτελεί μία χρόνια φλεγμονώδη νόσο του αρτηριακού τοιχώματος και είναι η κύρια αιτία των καρδιαγγειακών νοσημάτων, με τις δύο κύριες κατηγορίες των εκδηλώσεών τους να αποτελούν την ισχαιμική καρδιοπάθεια, η οποία αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου παγκοσμίως και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο που αποτελεί την τρίτη αιτία θανάτου, ενώ τα καρδιαγγειακά νοσήματα προκαλούν περισσότερους θανάτους από τα επτά επόμενα συχνότερα αίτια και είναι υπεύθυνα για τους μισούς περίπου θανάτους στον αναπτυγμένο κόσμο (1). Παράλληλα, καθώς η αθηροσκλήρυνση αποτελεί κατά κύριο λόγο συστηματική νόσο που μπορεί να προσβάλλει υπό την επίδραση κοινών παραγόντων κινδύνου περισσότερα από ένα αγγειακά υποστρώματα ταυτόχρονα, η θνητότητα και η θνησιμότητα που αποδίδονται σε αυτήν αυξάνονται με τον αριθμό των ανατομικών θέσεων στις οποίες εμφανίζεται (2). Με βάση τα στοιχεία αυτά, η αθηροσκλήρυνση αποτελεί ένα μείζον επιδημιολογικό πρόβλημα με ανυπολόγιστο κοινωνικό και οικονομικό κόστος, ενώ πιστεύεται ότι στο άμεσο μέλλον ο επιπολασμός της νόσου αυτής θα αυξηθεί σημαντικά, ειδικότερα στις αναπτυσσόμενες χώρες ως αποτέλεσμα των περιβαλλοντικών συνθηκών και του εκσυγχρονισμού του τρόπου διαβίωσης (3). Επιπλέον, η συνεχής αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης, τόσο στις ανεπτυγμένες, όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες, σε συνδυασμό με την αύξηση της συχνότητας της παχυσαρκίας, του μεταβολικού συνδρόμου και του σακχαρώδους διαβήτη, σηματοδοτούν τη συχνότερη εμφάνιση νοσημάτων που σχετίζονται με τη γήρανση, περιλαμβανομένης της αθηροσκλήρυνσης.

Η αθηροσκλήρυνση είναι μία νόσος με βραδεία πρόοδο η οποία εξελίσσεται για αρκετά χρόνια πριν την εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων λόγω της ανάγκης μακράς έκθεσης στους προδιαθεσικούς παράγοντες για την εμφάνιση της κλινικά σημαντικής αθηρωματικής πλάκας και της στένωσης του αγγειακού αυλού. Ενώ παλαιότερα πιστευόταν ότι η αθηροσκλήρυνση αποτελούσε απλά εναπόθεση λιπιδίων στο αγγειακό τοίχωμα αρτηριών μεσαίου και μεγάλου μεγέθους, τις τελευταίες δεκαετίες η κατανόηση της νόσου έχει εξελιχθεί, και πλέον γίνεται αντιληπτή ως μία πολύπλοκη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που προκαλείται από το συνδυασμό της εναπόθεσης τροποποιημένων λιποπρωτεϊνών, ελευθέρων ριζών οξυγόνου και παθογόνων μικροοργανισμών και της άσκησης αιμοδυναμικών πιέσεων, καθώς και άλλων παραγόντων κινδύνου, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη μίας τοπικής φλεγμονώδους αντίδρασης (4). Ο ρόλος της φλεγμονής στην αθηροσκληρυντική διαδικασία έχει υπό την έννοια αυτή αποκτήσει σημαντική θέση τόσο στην έναρξη της δημιουργίας της αθηρωματικής πλάκας, όσο και στην εξέλιξη αυτής και την τελική επιπλοκή της ρήξης και της ενδοαυλικής θρόμβωσης. Η παρατήρηση αυτή γίνεται αντιληπτή από το γεγονός ότι κατά την έναρξη της αθηροσκλήρυνσης,

τα ενδοθηλιακά κύτταρα διεγείρονται από ποικίλους παράγοντες κινδύνου και εκφράζουν στην επιφάνειά τους μόρια πρόσδεσης τα οποία προσελκύουν φλεγμονώδη μονοκύτταρα από την αιματική κυκλοφορία προς το αγγειακό τοίχωμα. Παράλληλα, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στη φάση αυτή της αθηρογένεσης σχετίζεται με την εναπόθεση και τροποποίηση λιπιδίων στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος, ενώ τα μονοκύτταρα που έχουν μεταναστεύσει στη θέση αυτή διαφοροποιούνται σε μακροφάγα τα οποία καταναλώνουν τα λιπίδια αυτά και μετατρέπονται στα φαινοτυπικά διακριτά αφρώδη κύτταρα. Με την πάροδο του χρόνου, τα πρώιμα φλεγμονώδη κυτταρικά αυτά στοιχεία του αγγειακού τοιχώματος εκκρίνουν μία σειρά από μοριακά προϊόντα, περιλαμβανομένων των κυτταροκινών, με αποτέλεσμα τη διέγερση των λείων μυικών κυττάρων του μέσου χιτώνα, τη μετανάστευσή τους προς τον έσω χιτώνα και τον πολλαπλασιασμό τους. Στη φάση αυτή, η σταδιακή πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος και οι τοπικές συνθήκες υποξίας που αναπτύσσονται ως αποτέλεσμα της ισχαιμίας, σηματοδοτούν τη φλεγμονώδη νεοαγγειογένεση και την ανάπτυξη ενός πλούσιου δικτύου ανώριμων μικροαγγείων εντός της εξελισσόμενης αθηρωματικής αλλοίωσης, τα οποία συμβάλλουν στην περαιτέρω τοπική εναπόθεση φλεγμονωδών στοιχείων. Υπό την επίδραση πρωτεϊνών, το εξωκυττάριο στρώμα αποδομείται και το ινώδες περίβλημα εντός του οποίου βρίσκεται ο νεκρωτικός πυρήνας της αθηρωματικής πλάκας αδυνατίζει και ρηγνύεται, εκθέτοντας θρομβογόνα στοιχεία στην αιματική κυκλοφορία. Η δημιουργία τοπικού θρόμβου, η απόσπασή του και η μετανάστευσή του στην περιφερική εγκεφαλική κυκλοφορία αποτελούν την τελική πράξη προς την εκδήλωση της συμπτωματικής καρωτιδικής αθηροσκλήρυνσης.

Η αθηρωμάτωση του καρωτιδικού διχασμού έχει καθιερωμένο ρόλο στην παθογένεση του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου και είναι υπεύθυνη για έως και 30% των συμβαμάτων αυτών (5). Η θεραπευτική προσέγγιση της καρωτιδικής αθηροσκλήρυνσης βασίζεται κυρίως στο ιστορικό ισχαιμικών συμπτωμάτων και λιγότερο στο βαθμό της ομόπλευρης ενδοαυλικής στένωσης. Στο πλαίσιο αυτό, η επαναγγείωση με καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή συνίσταται για τους ασθενείς με ιστορικό αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου ανεξαρτήτως του βαθμού στενώσεως, ενώ για τους ασυμπτωματικούς ασθενείς με μετρίου βαθμού στενώση, οι ενδείξεις για επεμβατική αντιμετώπιση παραμένουν λιγότερο καλά καθορισμένες (6). Ενώ με βάση κλινικά χαρακτηριστικά, όπως είναι η αρτηριακή υπέρταση, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, το κάπνισμα και το ιστορικό ετερόπλευρων εγκεφαλικών επεισοδίων, ορισμένες υποομάδες ασυμπτωματικών ασθενών εμφανίζουν αυξημένο μακροπρόθεσμο κίνδυνο ομόπλευρων ισχαιμικών επεισοδίων και θεωρητικά θα επωφελούνταν από την επαναγγείωση της καρωτιδικής στένωσης, ο μετεγχειρητικός κίνδυνος δεν εξισορροπεί τον κίνδυνο από τη φυσική εξέλιξη της νόσου. Τα στοιχεία αυτά καθιστούν αναγκαίο έναν καλύτερο χαρακτηρισμό της ασυμπτωματικής αθηρωματικής πλάκας και την αναγνώριση επιπλέον παραμέτρων που



αυξάνουν τον κίνδυνο μελλοντικών ισχαιμικών επεισοδίων (7). Υπό την έννοια αυτή, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μία στροφή από τους παραδοσιακούς κλινικούς παράγοντες κινδύνου προς τις βιολογικές παραμέτρους και τον καθορισμό των συστατικών της αθηρωματικής πλάκας με σκοπό την αναγνώριση των ασθενών που βρίσκονται σε κίνδυνο για ρήξη της. Η προσπάθεια αυτή έχει οδηγήσει στο χαρακτηρισμό της ευάλωτης ή ασταθούς καρωτιδικής πλάκας με διάφορα δομικά και βιολογικά στοιχεία να καθορίζουν την επικινδυνότητά της, περιλαμβανομένων της εξέλιξης, της νεοαγγείωσης και της αιμορραγίας εντός της πλάκας, το λεπτό ινώδες περίβλημα, τον πλούσιο σε λιπίδια νεκρωτικό πυρήνα και την παρουσία ενεργού τοπικής φλεγμονής (8).

Τα τελευταία έτη ένας αυξανόμενος αριθμός επιδημιολογικών μελετών αναφέρει ότι ο κίνδυνος ενός αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου σε ασθενείς με καρωτιδική στένωση είναι υψηλότερος τις πρώτες εβδομάδες μετά από παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο ή μέτριας βαρύτητας εγκεφαλικό επεισόδιο, ενώ ο κίνδυνος αυτός μειώνεται σημαντικά αμέσως μετά (9). Η παρατήρηση αυτή υποδεικνύει ότι υπάρχει ένα αρκετά στενό χρονικό περιθώριο για την αποτελεσματική πρόληψη του εγκεφαλικού επεισοδίου και καθιστά αναγκαία την ταχεία αναγνώριση των ασθενών εκείνων με καρωτιδικές αθηρωματικές πλάκες επιρρεπείς σε ρήξη, ενώ το ίδιο ισχύει χωρίς τον χρονικό περιορισμό για τους ασυμπτωματικούς ασθενείς. Καθώς, όπως προαναφέρθηκε, ο βαθμός της στένωσης δε σχετίζεται απαραίτητα με την αστάθεια της καρωτιδικής στένωσης, ο χαρακτηρισμός της αθηρωματικής βλάβης με τις παραδοσιακές απεικονιστικές τεχνικές πιθανώς αδυνατεί να προβλέψει με αξιοπιστία επικείμενη ρήξη αυτής. Επιπλέον, με τη νεοαγγειογένεση να αποτελεί πλέον ένα δείκτη επικινδυνότητας για τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας, διάφορες απεικονιστικές τεχνικές έχουν αναφερθεί ότι έχουν τη δυνατότητα να ποσοτικοποιήσουν τα νεοαγγεία της πλάκας, και με τον τρόπο αυτό να αναγνωρίσουν την αστάθειά της πριν την πρόκληση συμπτωμάτων (10). Μεταξύ των απεικονιστικών τεχνικών, την τελευταία δεκαετία ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει προσελκύσει η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο ως ένα μη-επεμβατικό διαγνωστικό μέσο για την αναγνώριση της νεοαγγειογένεσης. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί ως σκιαγραφικό μέσο μικροφουσαλλίδες, οι οποίες λόγω του μεγέθους τους και των δομικών τους ιδιοτήτων έχουν τη δυνατότητα να κυκλοφορούν στα μικροαγγεία της αθηρωματικής πλάκας και να ανιχνεύονται υπερηχογραφικά, αποτελώντας έτσι αμιγώς ενδαγγειακούς δείκτες.

## 2. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Υπάρχουν πολλαπλές επιστημονικές ιστορικές αναφορές περί φλεγμονής και αθηροσκλήρυνσης, με τις περισσότερες από αυτές να εστιάζουν κυρίως στην πρώτη παρά στη δεύτερη. Περιγραφές της φλεγμονής στη βιβλιογραφία εμφανίζονται από τον πρώτο χιόλας αιώνα μ.Χ., όταν ο Κέλσος περιέγραψε τα τέσσερα χαρακτηριστικά σημεία αυτής: ερυθρότητα (rubor), οίδημα (tumor), θερμότητα (calor) και άλγος (dolor), ενώ λίγο αργότερα ο Γαληνός αναγνώρισε τη φλεγμονή ως αντίδραση του σώματος στο τραύμα. Στον τελευταίο αυτό συγγραφέα, έχει αποδοθεί από μεταγενέστερους μελετητές και ένα πέμπτο σημείο της φλεγμονής, η απώλεια της λειτουργικότητας (functio laesa). Παρόλ' αυτά, οι πρώτες συστηματικές περιγραφές τόσο των μακροσκοπικών, όσο και των μικροσκοπικών χαρακτηριστικών της φλεγμονής, εμφανίστηκαν πολύ αργότερα, στα μέσα του 19ου αιώνα, όταν οι Lobstein, Claude Bernard και Rudolph Virchow, μεταξύ άλλων, περιέγραψαν τις παθοφυσιολογικές εκφάνσεις της φλεγμονής. Σε μία μελέτη σταθμό, ο Virchow το 1859 περιέγραψε τη φλεγμονή ως μία εξεργασία “θεραπευτικής ευερεθιστότητας”, αποτέλεσμα της “αυξημένης συγκέντρωσης υλικού στο εσωτερικό των κυττάρων, όμοιας με αυτή που παρατηρείται στην απλή υπερτροφία”. Μεταγενέστεροι συγγραφείς, περιλαμβανομένων των Cohnheim, Weigert και Arnold, αναγνώρισαν την υπεραϊμική φύση της φλεγμονής και την αιματική προέλευση των κυτταρικών στοιχείων που παρατηρούνται στα φλεγμονώδη εξιδρώματα (11).

Όσον αφορά, την αθηροσκλήρυνση, πρώιμες περιγραφές αρτηριακών βλαβών ανευρίσκονται στα συγγράμματα ανατόμων του 16ου και 17ου αιώνα, από τις οποίες περισσότερο χαρακτηριστική είναι αυτή του Ιταλού ανατόμου Gabriele Fallopio, ο οποίος το 1575 περιέγραψε τα ευρήματα νεκροτομικής μελέτης μίας γυναίκας, της οποίας οι αρτηρίες εμφάνιζαν οστική εκφύλιση. Το 1740, ο Johann Friedrich Crell, αναφέρει μία από τις πρώτες καταγεγραμμένες περιγραφές της σκλήρυνσης των στεφανιαίων αρτηριών και της παρουσίας κιτρινόλευκων προσεκβολών στα εσωτερικά στρώματα των τοιχωμάτων των στεφανιαίων αρτηριών, ενώ άλλοι συγγραφείς περιγράφουν τη σκλήρυνση των στεφανιαίων αρτηριών και τη συσχέτισή της με το προκάρδιο άλγος, αναφέροντας όμως ότι είναι περισσότερο αποτέλεσμα εναπόθεσης ανόργανων αλάτων, παρά αληθούς οστεοποίησης. Παράλληλα, αρκετοί Άγγλοι ιατροί του 18ου αιώνα πραγματοποίησαν παθολογοανατομικές παρατηρήσεις αρτηριακής ασβεστοποίησης σε θανατηφόρες περιπτώσεις στηθάγχης (12).

Με βάση τα στοιχεία αυτά για τη φλεγμονή και την αθηροσκλήρυνση, επιχειρείται κατά το πρώτο ήμισυ του 19ου αιώνα μία πρώτη συσχέτιση των δύο αυτών φαινομένων. Το 1815, ο Joseph Hodgson, ένας Άγγλος ιατρός αναφέρει ότι “οι αρτηρίες, όπως τα περισσότερα μέρη του

σώματος, περιλαμβάνουν αγγεία, νεύρα και θρεπτικά συστατικά, τα οποία τις καθιστούν ευάλωτες σε παρόμοιες παθήσεις που προσβάλλουν το υπόλοιπο σώμα. Με τον τρόπο αυτό, το τοίχωμα των αρτηριών μπορεί να φλεγμαίνει και να διέλθει όλων των σταδίων σύμφυσης, διαπύησης και γάγγραινας, με τον ίδιο τρόπο που η διαδικασία αυτή παρατηρείται στο δέρμα, στους αδένες και στους μύες” (13). Ο ίδιος συγγραφέας ανέφερε ότι η πρόκληση αρτηριακής φλεγμονής μπορεί να οφείλεται τόσο στη μηχανική κάκωση, όσο και στην παρατεταμένη άσκηση πίεσης (υπέρταση), ενώ διεπίστωσε ότι οι αρτηρίες μπορούν να πάσχουν από χρόνια φλεγμονή που παρατηρείται γενικά σε πεπαχυσμένα, ασβεστοποιημένα και ανευρισματικά αγγεία. Παράλληλα με τους δύο προαναφερθέντες μηχανισμούς αρτηριακής φλεγμονής, παρατήρησε ότι μία τρίτη και αρκετά συχνή μορφή της κατάστασης αυτής αποδίδεται στη εναπόθεση αθηρωματικού και πυώδους υλικού στη μεμβράνη που διαχωρίζει το μέσο από τον έσω χιτώνα του αγγείου. Η εννοία ότι η αθηροσκλήρυνση αποτελεί ουσιαστικά μία φλεγμονώδη διαδικασία, αποδίδεται αρχικά στον Αυστριακό παθολογοανατόμο Carl Rokitansky, ο οποίος πίστευε ότι οι εναποθέσεις συστατικών μεταξύ των στρωμάτων του αρτηριακού τοιχώματος αποτελούν ενδογενή προϊόντα που προέρχονται από το αίμα, κυρίως από τα ινώδη στοιχεία αυτού. Ο Rokitansky πίστευε ότι η φλεγμονή παρατηρούταν κυρίως σε αθηροσκληρυντικό περιβάλλον, ενώ ανέφερε ότι θα μπορούσε να ισχύει και το αντίθετο, δηλαδή η φλεγμονή να προηγούταν της αθηροσκλήρυνσης και να αποτελούσε αίτιο αυτής.

Η καθιέρωση της συσχέτισης της αθηροσκλήρυνσης με τη φλεγμονή αποτελεί έργο του Γερμανού Rudolf Virchow, ο οποίος στις 14 Απριλίου του 1858 ανέλυσε την ιδέα αυτή σε μία διάλεξή του, κατά την οποία διεχώρισε την “απλή λιπώδη μεταμόρφωση” των αρτηριακών τοιχωμάτων από τη φλεγμονώδη διαδικασία που προηγείται αυτής, και που ουσιαστικά αποτελεί τον πρόδρομο της αθηρωματικής εκφύλισης (14). Είναι σημαντικό να σημειωθεί, ότι ο Virchow αναγνώρισε τη συνεισφορά προγενέστερων μελετητών στην κατανόηση της φλεγμονώδους φύσης της αθηροσκλήρυνσης, αλλά σε αυτόν θα πρέπει να αποδοθεί η λεπτομερής παθολογοανατομική περιγραφή του φαινομένου. Επίσης, περιέγραψε την παρουσία κρυστάλλων χοληστερόλης εντός των αθηρωματικών βλαβών, αναφέροντας παρόλ’ αυτά, την αδυναμία χαρακτηρισμού της προέλευσής τους εντός του τοιχώματος των αρτηριών. Τέλος, περιέγραψε την εναλλακτική παύση του φαινομένου με τη διαδικασία της οστεοποίησης, αναγνωρίζοντας σε συμφωνία με προηγούμενους μελετητές, ότι αυτή αποτελεί αληθή οστεοποίηση, παρά ασβεστοποίηση μέσω της εναπόθεσης ανόργανων αλάτων.

Κατά τις πρώτες δεκαετίες του 20ου αιώνα, υπήρξε έντονη ερευνητική δραστηριότητα σχετικά με τη συσχέτιση της στεφανιαίας σκλήρυνσης και της αρτηριακής εκφύλισης με τις φλεγμονώδεις διαδικασίες που συνδέονται με τις συστηματικές λοιμώξεις. Η έρευνα αυτή ανέδειξε ότι η αθηροσκλήρυνση ήταν δυνατό να προκληθεί πειραματικά μέσω, είτε μηχανικής

κάκωσης, είτε με τοπικό εμβολιασμό με παθογόνους παράγοντες. Αντιστοίχως, οι Ignatowsky και Anistchow πραγματοποίησαν πρωτοποριακά πειράματα αναδεικνύοντας τη σχέση της χοληστερόλης με την αθηροσκλήρυνση, εύρημα το οποίο επιβεβαιώθηκε από αρκετούς ερευνητές μετέπειτα (15,16). Οι μελέτες αυτές έθεσαν τα θεμέλια για την επικρατούσα θεωρία όσον αφορά την προέλευση της αθηροσκλήρυνσης, κατά την οποία πρόκειται για μία μεταβολική νόσο που σχετίζεται με την ηλικία και τη συνάθροιση λιπιδίων (κυρίως χοληστερόλης). Το αποτέλεσμα, παρόλ' αυτά, ήταν κατά τις επόμενες δεκαετίες, η συμβολή της φλεγμονής στην εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης να περιορισθεί σε σποραδικές αναφορές και να επικρατήσει η θεωρία της λιπιδιακής προέλευσης της νόσου, διευκολούμενης από προδιαθεσικούς παράγοντες, όπως είναι η αρτηριακή υπέρταση, η οποία συμβάλλει στη διήθηση των λιπιδίων στο αρτηριακό τοίχωμα. Χρειάστηκε να φτάσουμε στη δεκαετία του '80, προκειμένου να αναζωπυρωθεί το ενδιαφέρον για τη συμβολή της φλεγμονής στην αθηρογένεση, με τον Ross να παρατηρεί την ύπαρξη μακροφάγων εντός των λιπιδίων διηθημάτων στα αρτηριακά τοιχώματα, συμπεραίνοντας την παρουσία τοπικής φλεγμονώδους αντίδρασης (17). Λίγα χρόνια αργότερα, ο ίδιος συγγραφέας, με ένα άρθρο σταθμό (4), θέτει τα θεμέλια για την αναθεώρηση της σχέσης μεταξύ φλεγμονής και αθηρωμάτωσης, με αποτέλεσμα την προηγούμενη δεκαετία να σημειωθεί επιστημονική έκρηξη στον τομέα αυτό που εκφράζεται στις εκατοντάδες των δημοσιεύσεων στη διεθνή βιβλιογραφία.

### 3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΑΡΩΤΙΔΙΚΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ

Η αθηροσκλήρυνση αποτελεί ένα προοδευτικό νόσημα που χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση λιπιδίων και ινωδών στοιχείων στο τοίχωμα αρτηριών μεσαίου και μεγάλου μεγέθους. Οι πρώιμες βλάβες της αθηροσκλήρυνσης περιλαμβάνουν υπενδοθηλιακές συγκεντρώσεις μακροφάγων που έχουν καταναλώσει ποσότητες χοληστερόλης και καλούνται αφρώδη κύτταρα (foam cells). Στους ανθρώπους, οι λιπώδεις αυτές κηλίδες μπορούν να παρατηρηθούν στην αορτή από την πρώτη κιόλας δεκαετία της ζωής, στις στεφανιαίες αρτηρίες κατά τη δεύτερη δεκαετία και στις εγκεφαλικές αρτηρίες κατά την τρίτη και τέταρτη δεκαετία. Λόγω περιοχικών διαφορών που υπάρχουν στη δυναμική της αιματικής κυκλοφορίας, υπάρχουν θέσεις στο αρτηριακό δένδρο, οι οποίες είναι περισσότερο επιρρεπείς στην εμφάνιση αθηροκλήρυνσης. Επιπλέον, οι λιπώδεις κηλίδες δεν αποτελούν κλινικά σημαντικές εκδηλώσεις, αλλά αποτελούν τις πρόδρομες βλάβες για την ανάπτυξη περισσότερο προχωρημένων αλλοιώσεων, οι οποίες χαρακτηρίζονται από τη συσσώρευση νεκρωτικών συγκριμάτων πλούσιων σε λιπίδια και λεία μυικά κύτταρα. Οι ινώδεις αυτές βλάβες τυπικά εμφανίζουν ινώδες περίβλημα (fibrous cap), το οποίο αποτελείται από λεία μυικά κύτταρα και εξωκυττάριο στρώμα που περιβάλλει τον νεκρωτικό πυρήνα. Η λειτουργία του ινώδους αυτού περιβλήματος θεωρείται ότι περιλαμβάνει την απομόνωση του προθρομβωτικού υλικού της πλάκας από τα αιμοπετάλια της αιματικής κυκλοφορίας. Κατά την εξέλιξή τους, οι αθηρωματικές πλάκες είναι δυνατό να καταστούν εξαιρετικά πολύπλοκες, με ασβεστοποίηση, εξέλκωση της αγγειακής αυλικής επιφάνειάς τους και αιμορραγία από μικρά τριχοειδή που αναπτύσσονται εντός της βλάβης από τον έξω και μέσο χιτώνα του αρτηριακού τοιχώματος. Ενώ οι προχωρημένες αθηροσκληρυντικές βλάβες είναι δυνατό να μεγεθυνθούν έως ότου αποκλείσουν την αιματική κυκλοφορία, η πιο σημαντική επιπλοκή τους περιλαμβάνει την οξεία απόφραξη από θρόμβο, με αποτέλεσμα την πρόκληση οξέως εμφράγματος του μυοκαρδίου ή αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου. Συνήθως, η θρόμβωση αυτή σχετίζεται με τη ρήξη ή τη διάβρωση της αθηρωματικής πλάκας.

Τα γεγονότα της αθηροσκλήρυνσης έχουν σε μεγάλο βαθμό αποσαφηνισθεί από μελέτες σε μοντέλα πειραματόζωων. Συγκεκριμένα, ποντίκια που στερούνται απολιποπρωτεΐνης E ή του υποδοχέα της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) εμφανίζουν προχωρημένες βλάβες, και είναι αυτά που χρησιμοποιούνται συνηθέστερα σε γενετικές και φυσιολογικές μελέτες (18). Η πρώτη εμφανής μεταβολή στο αρτηριακό τοίχωμα, μετά από χορήγηση διατροφής υψηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια και χοληστερόλης, είναι η συσσώρευση λιποπρωτεϊνικών τμημάτων στον έσω χιτώνα του αρτηριακού τοιχώματος των αγγείων τα οποία είναι επιρρεπή σε αθηροσκλήρυνση. Εντός ημερών ή εβδομάδων, μονοκύτταρα αρχίζουν να προσκολλώνται στην

επιφάνεια του ενδοθηλίου, τα οποία στη συνέχεια μεταναστεύουν διαμέσω της ενδοθηλιακής στιβάδας στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος. Εκεί πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται σε μακροφάγα, τα οποία αφού καταναλώσουν σημαντικές ποσότητες συσσωρευμένης λιποπρωτεΐνης, μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Με την πάροδο του χρόνου τα αφρώδη κύτταρα πεθαίνουν, συμβάλλοντας στη δημιουργία του πλούσιου σε λιπίδια νεκρωτικού πυρήνα της βλάβης. Ορισμένες λιπώδεις κηλίδες στη συνέχεια, συγκεντρώνουν λεία μυικά κύτταρα, τα οποία μεταναστεύουν από το μέσο χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος και εκκρίνουν ινώδη στοιχεία, τα οποία προκαλούν μεγέθυνση της αθηρωματικής πλάκας και της χορηγούν τον ινώδη χαρακτήρα της. Αρχικά, οι βλάβες μεγεθύνονται προς τον έξω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος έως ενός κρίσιμου σημείου, μετά το οποίο η μεγέθυνση της βλάβης πραγματοποιείται προς τον αγγειακό αυλό. Οι αθηρωματικές αυτές βλάβες συνεχίζουν να μεγεθύνονται με την προσέλκυση νέων μονοπύρηνων κυττάρων από την αιματική κυκλοφορία, τα οποία εισέρχονται εντός του αγγειακού τοιχώματος, πολλαπλασιάζονται και παράγουν εξωκυττάριο στρώμα, ενώ συνεχίζεται η εξωκυττάρια εναπόθεση λιπιδίων. Υπό την έννοια αυτή, η αθηροσκλήρυνση είναι δυνατό να θεωρηθεί ότι αποτελεί ένα αντιδραστικό φαινόμενο στην τοπική κάκωση από τις λιποπρωτεΐνες και τους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου. (19).

Επιδημιολογικές μελέτες τα τελευταία 50 έτη έχουν αποκαλύψει πολυάριθμους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη αθηροσκλήρυνσης. Μεταξύ αυτών, η υπερχοληστερολαιμία, το ανδρικό φύλο, η αύξηση της LDL, η μείωση της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL), η οξειδωση λιπιδίων, η αρτηριακή υπέρταση, η μειωμένη παραγωγή και η δυσλειτουργία του μονοξειδίου του αζώτου και οι φλεγμονή έχουν αναγνωρισθεί ως οι σημαντικότεροι παράγοντες που ευνοούν την εμφάνιση και την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης (20). Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε αυτούς που εμφανίζουν γενετικό χαρακτήρα, και σε αυτούς που είναι κατά κύριο λόγο περιβαλλοντικοί. Η σχετική περίσσεια των διαφόρων λιποπρωτεϊνών του πλάσματος φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο, καθώς τα αυξημένα επίπεδα των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών αποτελούν απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση της νόσου. Με την εξαίρεση του φύλου και των επιπέδων λιποπρωτεΐνης-α, οι υπόλοιποι γενετικοί παράγοντες περιλαμβάνουν πολλαπλά γονίδια. Η πολυπλοκότητα αυτή είναι δυνατό να διαπιστωθεί κατά τη διασταύρωση πειραματοζώων τα οποία βρίσκονται υπό κοινές περιβαλλοντικές συνθήκες και αποκαλύπτει πολυάριθμα γονίδια ως ρυθμιστές των επιπέδων λιποπρωτεΐνης, σωματικού λίπους, καθώς και άλλων παραγόντων κινδύνου (21).

Κατά την πρόοδο της αθηροσκλήρυνσης μία σειρά από κυτταρικούς τύπους διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο όσον αφορά την έναρξη και εξέλιξη της νόσου, καθώς και τη μετατροπή μίας αθηρωματικής πλάκας από σταθερή σε ασταθή. Οι διάφοροι αυτοί τύποι κυττάρων αλληλεπιδρούν μεταξύ τους μέσω της έκκρισης μεσολαβητών, καθώς και με το άμεσο

περιβάλλον τους εντός της αθηρωματικής πλάκας που αποτελείται από το εξωκυττάριο στρώμα. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές, εξαιρετικά πολύπλοκες στη φύση τους, καθορίζουν την έναρξη, την εξέλιξη και τη μετέπειτα εμφάνιση των επιπλοκών της αθηροσκλήρυνσης, ενώ επίσης είναι δυνατό να εμφανίζουν είτε αλληλοενισχυτικό χαρακτήρα, είτε να εξουδετερώνονται μεταξύ τους. Προς το παρόν, είναι σαφές ότι οι λειτουργίες του κάθε κυτταρικού τύπου και η συνεισφορά τους στην εμφάνιση και την πρόοδο της αθηροσκλήρυνσης απέχουν αρκετά από την πλήρη περιγραφή και κατανόησή τους, παρόλ' αυτά, έχουν αποκωδικοποιηθεί, κυρίως τις τελευταίες δύο δεκαετίες, αρκετά από τα βασικά λειτουργικά χαρακτηριστικά τους, τα οποία παρουσιάζονται στις επόμενες ενότητες.

### **3.1. Ενδοθηλιακά κύτταρα**

Η ενδοθηλιακή στιβάδα, που επικαλύπτει το εσωτερικό των αιμοφόρων αγγείων, αποτελεί μία δυναμική δομή η οποία δρα για τη μετάδοση τόσο ορμονικών όσο και μηχανικών ερεθισμάτων. Το αγγειακό ενδοθήλιο αντιδρά στα ερεθίσματα αυτά με τη σύνθεση και το μεταβολισμό προϊόντων, τα οποία στη συνέχεια δρουν με αυτοκρινή ή παρακρινή τρόπο με σκοπό τη διατήρηση της αγγειακής ομοιόστασης. Υπό την έννοια αυτή, μεταβολές στο φαινότυπο του ενδοθηλίου που το καθιστούν δυσλειτουργικό, αποτελούν παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση διαφόρων αγγειακών νοσημάτων, περιλαμβανομένης και της αθηροσκλήρυνσης. Η αθηροσκλήρυνση αποτελεί μία τοπογραφικά μη-τυχαία και χρονικά μη-γραμμική διαδικασία, η οποία αρχικά τουλάχιστον, αναπτύσσεται σε επιρρεπείς θέσεις, οι οποίες εμφανίζουν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (προφλεγμονώδη, προθρομβωτική, διαταραχή της λειτουργίας του ενδοθηλιακού φραγμού), προκαλούμενη από συγκεκριμένες αιμοδυναμικές πιέσεις που ασκούνται στην περιοχή. Οι θέσεις αυτές είναι επιρρεπείς στην κατακράτηση λιποπρωτεϊνών, γεγονός το οποίο περαιτέρω επιδεινώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία, ακολουθώντας την τοπική οξειδωσή τους (22). Ο αλληλοενισχυτικός αυτός συνδυασμός της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και κατακράτησης λιποπρωτεϊνών διεγείρει την είσοδο μονοκυττάρων και τη διαφοροποίησή τους σε μακροφάγα, τα οποία στη συνέχεια καταναλώνουν τη συγκεντρωμένη χοληστερόλη και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα, στην υπενδοθηλιακή επιφάνεια του αγγειακού τοιχώματος. Επιπλέον παράγοντες οι οποίοι είναι απαραίτητοι για την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου προς διευκόλυνση της αθηρογένεσης, περιλαμβάνουν διάφορες κυτταροκίνες, γλυκοζυλιωμένα τελικά προϊόντα του μεταβολισμού, καθώς και πιθανώς μοριακά προϊόντα παθογόνων μικροοργανισμών, όπως είναι οι ιοί και τα βακτήρια.

Μία ενδιαφέρουσα πλευρά της προέλευσης νόσου είναι ότι η αθηροσκλήρυνση δεν εμφανίζεται σε τυχαίες θέσεις, αλλά σε αυτές στις οποίες παρατηρείται διακλάδωση ή

καμπύλωση των αιμοφόρων αγγείων. Διάφορα μοντέλα που έχουν χρησιμοποιηθεί για την εξομοίωση του φαινομένου έχουν καθορίσει ότι οι συγκεκριμένες αυτές θέσεις εμφανίζουν αιμοδυναμικά χαρακτηριστικά τα οποία ευνοούν την ανάπτυξη αθηροσκλήρυνσης. Αντίθετα, σε αγγειακές θέσεις στις οποίες παρατηρείται ομοιογενής γραμμική αιματική ροή (αθηροπροστατευτική ροή), η ανάπτυξη αθηρωματικών βλαβών είναι σημαντικά σπανιότερη. Είναι πλέον γνωστό, ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία επιστρώνουν την εσωτερική επιφάνεια των αγγείων εμφανίζουν διαφορετικά δομικά, μοριακά και λειτουργικά χαρακτηριστικά σε θέσεις επιρρεπείς για αθηροσκλήρυνση, συγκρητικά με αυτά από θέσεις που δεν είναι επιρρεπείς (23).

Ενδοθηλιακά κύτταρα από αγγειακές θέσεις που δεν είναι επιρρεπείς στην αθηροσκλήρυνση εμφανίζουν κυτταρική και πυρηνική ελλειψοειδή μορφολογία, ενώ ο προσανατολισμός τους είναι παράλληλος με την αιματική ροή, σε αντίθεση με αυτά τα οποία βρίσκονται σε αθηρογόνες περιοχές τα οποία είναι παρατεταγμένα με λιγότερο τακτική διάταξη και εμφανίζουν κυβοειδές σχήμα. Επιπλέον, τα ενδοθηλιακά κύτταρα από αθηροπροστατευμένες θέσεις επικαλύπτονται από ένα παχύ στρώμα γλυκοκάλυκα, το οποίο προστατεύει από την εξαγγείωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης στον υπενδοθηλιακό χώρο (24). Ενδοθηλιακά κύτταρα από θέσεις επιρρεπείς στην αθηροσκλήρυνση εμφανίζουν διαταραχή του ενδοθηλιακού φραγμού, υψηλότερους ρυθμούς πολλαπλασιασμού και ταχύτερη κυτταρική γήρανση, συγκρητικά με κύτταρα από περιοχές μη-επιρρεπείς στην αθηροσκλήρυνση. Τα κύτταρα αυτά, εκφράζουν επίσης δείκτες χρόνιου αιμοδυναμικού stress, οι οποίοι φαίνεται ότι ευνοούν την εμφάνιση αθηροσκλήρυνσης μέσω της διαδικασίας της κυτταρικής απόπτωσης (25).

Σε μοριακό επίπεδο οι αθηροπροστατευμένοι και αθηροεπιρρεπείς ενδοθηλιακοί φαινότυποι εμφανίζουν διακριτά μοτίβα γονιδιακής έκφρασης και μηχανικά προκαλούμενων οδών σηματοδότησης (signaling pathways). Μεταξύ των σημαντικότερων διαφορών, είναι η ενεργοποίηση των παραγόντων έκφρασης KLF2 και KLF4 (Kruppel-like factor) στο αθηροπροστατευμένο ενδοθήλιο και η ενεργοποίηση της οδού NF-κB στο επιρρεπές σε αθηροσκλήρυνση ενδοθήλιο, με ανταγωνιστική μεταξύ τους δράση (26). Παρόλ' αυτά, η συνεισφορά της έκφρασης του KLF2 στον φαινότυπο αυτό δεν είναι πλήρως καθορισμένη. Επίσης, είναι ενδιαφέρον το γεγονός, ότι ο KLF2 εμφανίζει αντιφλεγμονώδη δράση σε αλλά σχετικά με την αθηροσκλήρυνση κύτταρα, περιλαμβανομένων των μονοκυττάρων, των T-λεμφοκυττάρων και των δενδριτικών κυττάρων (27), ενώ ο ρόλος του παράγοντα έκφρασης KLF4 στην εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης είναι σαφέστερος και συμβάλλει στην προστασία έναντι της νόσου (28). Όσον αφορά το ρόλο της οδού σηματοδότησης NF-κB των ενδοθηλιακών κυττάρων στα πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρυνσης, αυτός είναι η ενεργοποίησή της σε



προαθηροσκληρωτικές επιρρεπείς θέσεις στο αγγειακό τοίχωμα πειραματόζων. Η αθηρογόνος αιματική ροή ενεργοποιεί την οδό αυτή στα ενδοθηλιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα την έκφραση προαθηρογόνων υποδοχέων επιφανείας (29). Επιπλέον, το ενδοθήλιο που είναι επιρρεπές στην αθηροσκλήρυνση παράγει διάφορες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, χημειοκίνες, πρωτεΐνες του εξωκυττάριου στρώματος, αυξητικούς παράγοντες και μικρο-RNA, στοιχεία τα οποία δρουν ως αυτοκρινείς ή παρακρινείς παράγοντες και ενισχύουν τις τοπικές αθηρογόνες συνθήκες (30).

Η διαταραχή της αιματικής ροής επιπλέον τροποποιεί τους ρυθμούς μεθυλίωσης του DNA, μέσω μεταβολών της δραστηριότητας της μεθυλτρανσφεράσης. Συγκεκριμένα, η διαταραχή της τοπικής αιματικής ροής αυξάνει τη μεθυλίωση του ενισχυτή του KLF4, αναστέλλοντας με τον τρόπο αυτό την έκφρασή του σε θέσεις που είναι επιρρεπείς στην αθηροσκλήρυνση (31). Οι παρατηρήσεις αυτές συνιστούν ότι κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του αγγειακού συστήματος, η αρχική έκθεση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε αθηρογόνο ή αθηροπροστατευτική αιματική ροή σημαδεύει το DNA τους, με αποτέλεσμα την εμφάνιση ενδοθηλίου μοναδικά εξαρτώμενου και καθορισμένου από την αιματική ροή. Η αθηρογόνος αιματική ροή είναι δυνατό επίσης να επηρεάσει τη διάτμηση του mRNA, αναστέλλοντας τη δράση προστατευτικών παραγόντων, και ενισχύοντας με τον έμμεσο αυτό τρόπο την έναρξη και την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης (32).

Η ιδιότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων να ανταποκρίνονται σε μηχανικά ερεθίσματα της αιματικής κυκλοφορίας έχει εξηγηθεί με διάφορες πρόσφατες υποσχόμενες υποθέσεις που βασίζονται σε πειραματικά δεδομένα. Κεντρικό ρόλο στην αγωγή ερεθισμάτων ως απόκριση στις μεταβολές της αιματικής ροής διαδραματίζει το σύμπλεγμα μορίων PECAM-1, VEGFR2 και καντχερίνης VE, το οποίο βρίσκεται στις ενδοθηλιακές συνδέσεις και προκαλεί μεταβολές στην οδό σηματοδότησης NF-κB, καθώς και στην κυτταρική στοίχιση. Συγκεκριμένα, ένας εξαρτώμενος από την αιμοδυναμική ροή παράγοντας που συμβάλλει στην ανταλλαγή GTP και καλείται TIAM1 συνδέει την μηχανική αγωγή μέσω PECAM-1 με την τοπική ενεργοποίηση της GTPάσης Rac1 στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων που εκτίθενται στην αιμοδυναμική επίδραση της αιματικής κυκλοφορίας. Η Rac-1 διεγείρει στη συνέχεια την οδό σηματοδότησης NF-κB, καθώς και την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (33). Ένας άλλος μηχανοϋποδοχέας που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι ο Piezo 1, ο οποίος αποτελεί μεσολαβητή της εισόδου ιόντων ασβεστίου εντός των ενδοθηλιακών κυττάρων ως απόκριση στις ασκούμενες δυνάμεις από την αιματική ροή. Η είσοδος αυτή του ασβεστίου φαίνεται ότι είναι σημαντική για την ενίσχυση της δράσης της καλπαΐνης και τη μετέπειτα τροποποίηση τοπικών συμφύσεων. Έτσι, ενδοθηλιακά κύτταρα από πειραματόζωα που στερούνται του μηχανοϋποδοχέα αυτού, αποτυγχάνουν να διαταχθούν κατά μήκος της αιματικής ροής όταν εκτίθενται σε αθηροπροστατευτική αιματική ροή. Επιπλέον τα ενδοθηλιακά κύτταρα από

εγκεφαλικές αρτηρίες πειραματόζων που στερούνται του Piezo-1 εμφανίζουν την ίδια αποτυχία γραμμικής διάταξης (34). Τέλος, η συνδεκάνη 4, η οποία αποτελεί μία διαμεμβρανική πρωτεογλυκάνη, έχει πρόσφατα αναφερθεί ως απαραίτητο στοιχείο για τη στοίχιση των ενδοθηλιακών κυττάρων που εκτείνονται σε γραμμική αιματική ροή σε πειραματόζωα (35). Κατά την απουσία του παράγοντα αυτού και σε διατροφή πλούσια σε χοληστερόλη και λιπίδια, παρατηρείται αυξημένη εμφάνιση αθηροσκληρυντικών βλαβών, συγκριτικά με άτομα που εκφράζουν φυσιολογικά τη συνδεκάνη 4.

### **3.2. Μακροφάγα**

Η προκαλούμενη από χημειοκίνες είσοδος των μονοκυττάρων στον υπενδοθηλιακό χώρο προκαλείται από την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου σε θέσεις που είτε υπάρχει συσσώρευση λιποπρωτεϊνών, είτε έχει προκληθεί ενδοθηλιακή βλάβη. Τα μονοκύτταρα που κυρίως εισέρχονται στις αναπτυσσόμενες αθηροσκληρυντικές βλάβες αποτελούν τον υπότυπο εκείνο που συμμετέχει στη φλεγμονώδη απόκριση (36). Παρόλ' αυτά, η αθηροσκλήρυνση μπορεί να ανασταλλεί στο μέγιστο βαθμό μόνο όταν αποκλειστεί πειραματικά η υπενδοθηλιακή διείσδυση περισσότερων του ενός υποτύπου μονοκυττάρων, γεγονός που υποδεικνύει την πολύπλοκη φύση της επίδρασης των κυττάρων αυτών στην εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης. Επιπλέον, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η φύση και η λειτουργία των διαφόρων υποτύπων μονοκυττάρων, είναι δυνατό να διαφέρει μεταξύ των ανθρώπων και των διαφόρων μοντέλων πειραματόζων, με αποτέλεσμα η αξιοπιστία της εξαγωγής συμπερασμάτων από τα μοντέλα αυτά για την αθηροσκλήρυνση στον άνθρωπο να είναι μειωμένη.

Κατά τις πρώτες φάσεις της αθηροσκληρυντικής διαδικασίας, τα προερχόμενα από τα μονοκύτταρα μακροφάγα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο. Διεργασίες οι οποίες ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό αιμοποιητικών κυττάρων από το μυελό των οστών, όπως είναι η υπενδοθηλιακή συσσώρευση χοληστερόλης, προκαλούν αύξηση των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων και διεγείρουν την αθηρογένεση. Πράγματι, υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των μονοκυττάρων του αίματος και της αθηροσκληρυντικής νόσου στον άνθρωπο. Τα μακροφάγα που βρίσκονται στις πρώιμες βλάβες καταναλώνουν ποσότητες κατακρατηθείσας λιποπρωτεΐνης, ή οποία μπορεί να είναι είτε τοπικά παραγόμενη, είτε οξειδωτικά τροποποιημένη. Η λιποπρωτεΐνη αυτή προσλαμβάνεται από τα μακροφάγα, είτε μέσω της διαδικασίας της φαγοκυττάρωσης, είτε μέσω της εκλεκτικής εισόδου στα κύτταρα με τη μεσολάβηση μεμβρανικών υποδοχέων, και στη συνέχεια εισέρχεται εντός των ενδοκυτταρικών ενδοσωματίων και λυσοσωματίων, όπου αποδομείται με την επίδραση υδρολασών (37).

Μία από τις σημαντικότερες προαθηροσκληρυντικές διαδικασίες, είναι η ενεργοποίηση φλεγμονωδών οδών στα μακροφάγα που βρίσκονται στις προαθηρωματικές θέσεις. Συγκεκριμένα, ορισμένοι υποπληθυσμοί μακροφάγων προσλαμβάνουν υπό την επίδραση των τροποποιημένων λιποπρωτεϊνών έναν φλεγμονώδη φαινότυπο, ο οποίος προκαλεί περαιτέρω ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, με αποτέλεσμα τη συνέχιση της εισόδου μονοκυττάρων στον υπενδοθηλιακό χώρο (38). Το οξειδωτικό stress που προκαλείται από τις τροποποιημένες λιποπρωτεΐνες, τις οξυστερόλες και άλλους τοπικούς παράγοντες, επίσης διευκολύνουν την εμφάνιση τοπικών φλεγμονωδών συνθηκών. Για παράδειγμα, το μιτοχονδριακό οξειδωτικό stress παρατηρείται στην αθηροσκλήρυνση τόσο στους ανθρώπους, όσο και στα πειραματόζωα και είναι δυνατό να προκληθεί τεχνητά σε καλλιέργειες μακροφάγων υπό την επίδραση οξειδωμένης λιποπρωτεΐνης και στερολών. Το μιτοχονδριακό οξειδωτικό stress ενισχύει την ενεργοποίηση της οδού NF-κB, η οποία με τη σειρά της διεγείρει την απελευθέρωση της χημειοκίνης MCP-1, με αποτέλεσμα την περαιτέρω προσέλκυση μονοκυττάρων εντός των βλαβών (39). Επιπροσθέτως, υπάρχουν πολλές ενδείξεις που συνιστούν την ενεργοποίηση φλεγμονωδών σωματίων εντός των αθηροσκληρυντικών βλαβών υπό τη μεσολάβηση της ιντερλευκίνης-1β, στα αρχικά τουλάχιστον στάδια της αθηρογένεσης (40). Με βάση in vitro μελέτες και in vivo παρατηρήσεις, μία κυρίαρχη υπόθεση αναφέρει ότι οι μικροκρύσταλλοι χοληστερόλης που προκύπτουν από την κυτταρική κατανάλωση κατακρατημένης λιποπρωτεΐνης, είναι δυνατό να ενεργοποιήσουν φλεγμονώδεις οδούς (41).

Η αμιγής αθηρογόνος δράση των μακροφάγων είναι περισσότερο κατανοητή ως το ερέθισμα που διαταράσσει μία λεπτή ισορροπία μεταξύ της τοπικής φλεγμονής και των παραγόντων που την αποτρέπουν (42). Για παράδειγμα, οι προφλεγμονώδεις επιδράσεις της περίσσειας χοληστερόλης της πλασματικής μεμβράνης αντιρροπείται από την έξοδο χοληστερόλης από το κύτταρο μέσω μεμβρανικών πυλών. Επιπλέον, όταν τα μακροφάγα καταναλώνουν αθηρογόνο λιποπρωτεΐνη, παρατηρείται συσσώρευση δεσμοστερόλης, ενός προϊόντος της χοληστερόλης, η οποία ενεργοποιεί αντιφλεγμονώδεις μηχανισμούς (43). Οι φλεγμονώδεις διαδικασίες επίσης, είναι δυνατό από μόνες τους να διευκολύνουν αντισταθμιστικά και την έκφραση αντιφλεγμονωδών οδών, όπως για παράδειγμα συμβαίνει κατά τον αποκλεισμό της οδού NF-κB, με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της αθηρογένεσης και της εξέλιξης των αθηροσκληρυντικών βλαβών, γεγονότα που σχετίζονται με την αναστολή της αντισταθμιστικής απόκρισης μέσω της δράσης της ιντερλευκίνης-10 (44). Το συμπέρασμα αυτής της αλληλοεξαρτώμενης ισορροπίας είναι ότι η πρόληψη της αθηροσκλήρυνσης δεν μπορεί να επιτευχθεί με την αναστολή μίας μόνο συγκεκριμένης φλεγμονώδους οδού (45).

Ο τύπος των αθηροσκληρυντικών βλαβών που προκαλούν οξεία αθηροθρομβωτικά αγγειακά επεισόδια χαρακτηρίζεται από εκτεταμένες περιοχές νέκρωσης, επίμονη φλεγμονή και

λέπτυνση του υπενδοθηλιακού ινώδους περιβλήματος. Η νέκρωση στην αθηρωματική πλάκα οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στο συνδυασμό της απόπτωσης των μακροφάγων και την ελαττωματική απομάκρυνση των νεκρωμένων συγκριμάτων τους, ενώ τα μακροφάγα συμβάλλουν στη λέπτυνση του ινώδους περιβλήματος μέσω της έκκρισης μεταλλοπρωτεϊνών του εξωκυττάριου στρώματος (46). Η εκτεταμένη απόπτωση των μακροφάγων εντός των αθηροσκληρυντικών βλαβών πιθανώς εξαρτάται από μία ποικιλία παραγόντων. Παραδείγματα αποτελούν οι οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες και τα φωσφολιπίδα και η συσσώρευση προερχόμενης από λιποπρωτεΐνες χοληστερόλης στον εξωκυττάριο χώρο. Επιπλέον, δεδομένης της σημασίας της παχυσαρκίας και του τύπου-2 σακχαρώδους διαβήτη στην εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, συστημικοί παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη, καθώς και οι άμεσες επιδράσεις της δυσλειτουργικής ινσουλίνης στα μακροφάγα είναι δυνατό να προκαλέσουν το θάνατό τους (47).

Η διαδικασία της απομάκρυνσης των κυτταρικών συγκριμάτων των νεκρών μακροφάγων παύει να είναι αποτελεσματική όσο περισσότερο προχωρημένη είναι η αθηροσκληρυντική βλάβη (48). Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται μέσω της αναγνώρισης των αποπτωτικών κυττάρων από υποδοχείς των μακροφάγων και διαμεσολαβούντων μορίων. Αρκετά από τα μόρια αυτά έχουν αναγνωρισθεί ότι είναι ενεργά στην αθηροσκλήρυνση, ενώ η διαταρχή είτε της παραγωγής τους, είτε της λειτουργίας τους συμβάλλει στη δυσλειτουργία της απομάκρυνσης των νεκρωμένων κυττάρων και την επακόλουθη συγκέντρωση νεκρωτικού υλικού στην αθηρωματική πλάκα (49). Ως παράδειγμα αναφέρεται ο υποδοχέας MerTK των μακροφάγων, ο οποίος έχει αναγνωρισθεί ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της απομάκρυνσης αποπτωτικών κυττάρων και ο οποίος όταν τροποποιηθεί λόγω τοπικών συνθηκών φλεγμονής χάνει τη λειτουργικότητά του με αποτέλεσμα τη διαταραχή της συνολικής διαδικασίας. Το φαινόμενο αυτό, το οποίο έχει επιβεβαιωθεί μόνο σε *in vitro* συνθήκες, είναι σημαντικά εντονότερο σε προχωρημένες βλάβες, με αποτέλεσμα τη συνεχή ενίσχυσή του και την περαιτέρω μεγέθυνση της νεκρωτικής περιοχής της αθηρωματικής πλάκας σε μία διαδικασία φαύλου κύκλου (50).

Σημαντικό μέρος της αθηρογόνου δράσης των μακροφάγων στις προχωρημένες αθηροσκληρυντικές βλάβες, περιλαμβανομένων της διαρκούς φλεγμονώδους κατάστασής τους, τη συνεχή εισροή μονοκυττάρων από την αιματική κυκλοφορία και τη δυσλειτουργία της διεργασίας απομάκρυνσης αποπτωτικών κυττάρων, είναι δυνατό να εξηγηθούν με βάση την αδυναμία ελέγχου της τοπικής φλεγμονώδους απόκρισης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, κατά τη διάρκεια τραύματος και ενεργοποίησης των μηχανισμών άμυνας του ξενιστή, η φλεγμονώδης απόκριση διεγείρει άμεσα τη φάση έλεγχου της, ενισχύοντας τους μηχανισμούς ιστικής επιδιόρθωσης και διευκολύνοντας την επιστροφή στην ομοιόσταση (51). Η λήξη της

φλεγμονώδους αντίδρασης μεσολαβείται από πρωτεΐνες όπως η ιντερλευκίνη-10, ο μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας-β (TGF-β) και η ανεξίνη A1, και από μικρά λιπίδια που προέρχονται από το αραχιδονικό οξύ και τα ω-3 λιπαρά οξέα, όπως είναι οι λιποξίνες, οι ρεσολβίνες και οι μαρεσίνες (52). Παρά το γεγονός ότι η υπενδοθηλιακή συσσώρευση λιποπρωτεϊνών αποτελεί το μείζον φλεγμονώδες ερεθίσμα στην αθηροσκλήρυνση, δεν είναι αρκετή για να εξηγήσει την αποτυχία λύσης της συνεχούς φλεγμονώδους αντίδρασης, ενώ πιστεύεται ότι η μειωμένη έκφραση αντιφλεγμονωδών μεσολαβητών και υποδοχέων συμβάλλει στο φαινόμενο αυτό.

### **3.3. Λεία μυϊκά κύτταρα**

Η συσσώρευση λιποπρωτεϊνών, η ενδοθηλιακή ενεργοποίηση και η φλεγμονώδης αντίδραση που παρατηρείται στις αναπτυσσόμενες αθηροσκληρυντικές βλάβες έχουν ως αποτέλεσμα τη φαινοτυπική μεταβολή των λείων μυϊκών κυττάρων. Κατά τη διάρκεια της διεργασίας αυτής τα πλήρως συσταλτά λεία μυϊκά κύτταρα υποεκφράζουν ορισμένα γονίδια διαφοροποίησης, όπως είναι αυτά που κωδικοποιούν την α-ακτίνη και τη βαρεία άλυσος της μυοσίνης. Το αποτέλεσμα είναι, τα κύτταρα αυτά να αρχίσουν να πολλαπλασιάζονται και να μεταναστεύουν, ενώ αυξάνουν την παραγωγή εξωκυττάριου στρώματος, πρωτεογλυκανών και άλλων πρωτεϊνικών μορίων τα οποία διευκολύνουν την διεύρυνση των αγγείων προς τον έξω χιτώνα και σταθεροποιούν την αθηρωματική πλάκα (53). Πράγματι, η ισχύουσα υπόθεση είναι ότι βλάβες οι οποίες είναι επιρρεπείς σε ρήξη και συνοδά οξέα θρομβωτικά επεισόδια εμφανίζουν μείωση του πληθυσμού των λείων μυϊκών κυττάρων συγκριτικά με τα μακροφάγα που έχουν καταναλώσει συσσωρευμένα λιπίδια, ειδικά πλησίον της ινώδους πλάκας. Παρόλ' αυτά, υπάρχει σημαντική ασάφεια για το εάν οι κυτταρικοί πληθυσμοί που υπάρχουν εντός της αθηρωματικής πλάκας προέρχονται από τα λεία μυϊκά κύτταρα ή από τα μακροφάγα, κυρίως λόγω της έλλειψης μελετών που να παρακολουθούν την εξέλιξή τους κατά την πρόοδο της αθηροσκλήρυνσης.

Το πρόβλημα αυτό έχει διερευνηθεί από σποραδικές μελέτες σε πειραματόζωα επιρρεπή στην αθηροσκλήρυνση, που στερούνται της απολιποπρωτεΐνης E, οι οποίες αναφέρουν ότι σε προχωρημένες βλάβες τα λεία μυϊκά κύτταρα του έσω χιτώνα δεν εμφανίζουν διακριτούς δείκτες, όπως είναι η α-ακτίνη και η βαρεία άλυσος της μυοσίνης. Επιπλέον, η παρουσία περίσσειας χοληστερόλης σε καλλιέργειες λείων μυϊκών κυττάρων προκαλεί την υποέκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τους δείκτες αυτούς, ενώ ταυτόχρονα ενισχύεται η έκφραση δεικτών των μακροφάγων, όπως είναι ο CD68 και ο Mac2 (54,55). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το αντίστροφο του φαινομένου αυτού μπορεί επίσης να παρατηρηθεί, ότι δηλαδή

μακροφάγα, ή τουλάχιστον κύτταρα προερχόμενα από αιμοποιητικές σειρές είναι δυνατό να εκφράσουν δείκτες των λείων μυικών κυττάρων, περιλαμβανομένης της α-ακτίνης. Για παράδειγμα, σε καλλιέργειες μακροφάγων η χορήγηση μεταμορφωτικού αυξητικού παράγοντα-β (TGF-β) ή θρομβίνης προκαλεί την έκφραση δεικτών των λείων μυικών κυττάρων, ενώ επίσης κύτταρα που προέρχονται από αιμοποιητικές σειρές εκφράζουν δείκτες των λείων μυικών κυττάρων σε πρώιμες αλλά όχι σε προχωρημένες βλάβες (56). Οι μελέτες αυτές είναι μερικώς συμβατές με το γεγονός ότι σε πειραματόζωα τα οποία στερούνται απολιποπρωτεΐνης E, σχεδόν όλα τα κύτταρα που εκφράζουν δείκτες των λείων μυικών κυττάρων, προέρχονται πράγματι από περιοχικά λεία μυικά κύτταρα (57). Τα συμπεράσματα των προαναφερθείσων μελετών συνιστούν ότι είναι σχεδόν βέβαιο πως υπάρχει αδυναμία αναγνώρισης των λείων μυικών κυττάρων και των μακροφάγων εντός των αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων. Επιπλέον, κύτταρα που εκφράζουν δείκτες των λείων μυικών κυττάρων είναι δυνατό να προέρχονται και από διαφορετικές κυτταρικές σειρές, ενώ η πλειοψηφία των λείων μυικών κυττάρων που βρίσκονται εντός των βλαβών δεν έχουν αναγνωρισθεί σε προηγούμενες μελέτες, λόγω της μη έκφρασης των αντιπροσωπευτικών δεικτών τους. Αντιστοίχως, κύτταρα που εκφράζουν δείκτες των μακροφάγων είναι δυνατό να μην είναι μακροφάγα ή ακόμα και να μην προέρχονται από αιμοποιητικά κύτταρα.

Ένα από τα σημαντικότερα στοιχεία κατά τη μελέτη της αθηροσκληρυνσης είναι η αναγνώριση της προέλευσης και των χαρακτηριστικών των διαφόρων κυτταρικών τύπων που βρίσκονται στις αθηρωματικές αλλοιώσεις, προκειμένου να γίνει κατανοητή η παθογένεση της νόσου και να επινοηθούν νέοι μέθοδοι για την αντιμετώπισή της. Για παράδειγμα, περίπου το 50% των αφρώδων κυττάρων σε προχωρημένες αθηρωματικές βλάβες των στεφανιαίων αρτηριών εκφράζουν το δείκτη των λείων μυικών κυττάρων α-ακτίνη (58). Παρόλ' αυτά, η πλειοψηφία των κυττάρων αυτών επίσης εκφράζει τον δείκτη των μακροφάγων CD68, με αποτέλεσμα η προέλευσή τους να είναι αβέβαιη, ειδικά εάν ληφθεί υπόψη ότι κύτταρα μυελοειδούς προέλευσης είναι δυνατό να διεγερθούν και να εκφράσουν τον δείκτη α-ακτίνη. Επιπλέον, η έκφραση του χοληστερολικού υποδοχέα ABCA1 είναι μειωμένη στα αφρώδη κύτταρα που εκφράζουν α-ακτίνη, συγκριτικά με τα κύτταρα που εκφράζουν τον CD68 αλλά όχι την α-ακτίνη, υποδεικνύοντας ότι τα αφρώδη αυτά κύτταρα είναι δυνατό να παρουσιάζουν διαταραχή της διαμεμβρανικής μεταφοράς της χοληστερόλης, συμβάλλοντας στη συσσώρευση της στο εξωκυττάριο περιβάλλον της αθηρωματικής πλάκας και διεγείροντας τη φλεγμονώδη αντίδραση. Υπό την έννοια αυτή, έχει αναφερθεί ότι ενώ καλλιέργειες λείων μυικών κυττάρων που έχουν καταναλώσει χοληστερόλη εμφανίζουν μειωμένη έκφραση αντιπροσωπευτικών τους δεικτών και αυξημένη έκφραση δεικτών των μακροφάγων, ο συνολικός τους φαινότυπος υποδεικνύει ότι είναι πιθανό να παρουσιάζουν με δυσλειτουργικό τρόπο διάφορες ιδιότητες των

μακροφάγων, περιλαμβανομένης της φαγοκυττάρωσης και της απομάκρυνσης αποπτωτικών κυττάρων (59).

Η προέλευση των αγγειακών κυττάρων είναι επίσης σημαντική για την κατανόηση των κυτταρικών συνεπειών διαφόρων κοινών οδών σηματοδότησης. Για παράδειγμα, ο παράγοντας έκφρασης KLF4 εμφανίζει αθηροπροστατευτικό χαρακτήρα τόσο στα ενδοθηλιακά κύτταρα, όσο και στα μακροφάγα, ενώ αντίθετα κατά την αγγειακή βλάβη, η έκφραση του KLF4 στα λεία μυϊκά κύτταρα μπορεί να είναι καταστροφική και να προκαλέσει αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας (60). Επίσης, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ο παράγοντας έκφρασης KLF4 είναι απαραίτητος για τη φαινοτυπική μετατροπή καλλιεργείων λείων μυϊκών κυττάρων ως απόκριση στη χορήγηση αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων (PDGF-BB) ή οξειδωμένων φωσφολιπιδίων (61). Ένα άλλο παράδειγμα είναι ότι ενώ η σηματοδότηση μέσω ιντερλευκίνης-1β σε ομοιάζοντα στα μακροφάγα κύτταρα εμφανίζει προαθηρογόνο δράση, η ίδια διαδικασία σε αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα είναι δυνατό να ενισχύσει τη σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας (62).

Όσον αφορά την εύρεση νέων κυτταρικών θεραπευτικών στόχων, τα παραδείγματα αυτά της τροποποιημένης έκφρασης των διαφόρων κυτταρικών τύπων ως απόκριση στα περιβαλλοντικά τους ερεθίσματα εντός της αθηροσκληρυντικής βλάβης, υπογραμμίζουν τη σημασία του καθορισμού της αρχικής προέλευσης των κυτταρικών αυτών τύπων και των παραγόντων που ρυθμίζουν τη φαινοτυπική τους μετατροπή. Στην περίπτωση των λείων μυϊκών κυττάρων, η γνώση αυτή είναι μείζονος σημασίας εφόσον είναι επιθυμητή η σταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας. Όσον αφορά τη ρύθμιση της φαινοτυπικής μετατροπής, η κατανάλωση χοληστερόλης από καλλιεργημένα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλεί την εμφάνιση από τα κύτταρα αυτά ιδιοτήτων των μακροφάγων, αλλά η κλινική σημασία του φαινομένου αυτού ως σύνδεσμος μεταξύ υπερχοληστερολαιμίας και συσσώρευσης λιποπρωτεϊνών με την εξέλιξη της αθηροσκληρυνσης δεν είναι σαφής.

### **3.4. Μαστοκύτταρα**

Τα μαστοκύτταρα χαρακτηρίστηκαν για πρώτη φορά στα τέλη του 19ου αιώνα από τον Γερμανό φυσιολόγο Paul Ehrlich, ο οποίος παρατήρησε κύτταρα με μεταχρωματικά κοκκία εντός τους συνδετικού ιστού. Τα κοκκία αυτά πιστευόταν ότι προκύπτουν από την υπερκατανάλωση θρεπτικών συστατικών από τα κύτταρα αυτά, αλλά αργότερα η υπόθεση αυτή αποδείχθηκε λανθασμένη, ενώ διαφωτίστηκε ο πραγματικός ρόλος των μαστοκυττάρων, τα οποία συμμετέχουν σε διάφορες φυσιολογικές και παθολογικές διαδικασίες, περιλαμβανομένων των αλλεργικών αντιδράσεων, της άμυνας έναντι βακτηρίων και παρασίτων, της έκκρισης

γαστρικού οξέως, του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών, καθώς και στα αυτοάνοσα νοσήματα (63). Τα μαστοκύτταρα προέρχονται από αιμοποιητικά αρχέγονα κύτταρα του μυελού των οστών. Οι αδιαφοροποίητες πρόδρομες μορφές τους κυκλοφορούν στο αίμα και στο λεμφικό σύστημα πρώτου μεταναστεύσουν στους ιστούς στόχους, όπου πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται σε T- και TC- τύπου ώριμα μαστοκύτταρα με ποικίλες ενδοκυττάρειες ποσότητες τρυπτάσης, χυμάσης και καθεψίνης, καθώς και διάφορα ανοσοβιολογικά χαρακτηριστικά (64). Το σημαντικότερο λειτουργικό χαρακτηριστικό των μαστοκυττάρων είναι η ικανότητά τους, μετά από την ενεργοποίησή τους να εκκρίνουν αγγειοενεργούς μεσολαβητές, περιλαμβανομένων των χυμασών, της τρυπτάσης, της ισταμίνης, προσταγλανδινών και λευκοτριενών, οι οποίοι ρυθμίζουν τη φλεγμονή και την κυτταρική αύξηση, ή παρουσιάζουν ανοσοτροποποιητικές δράσεις (65).

Τα μαστοκύτταρα είναι παρόντα τόσο στα φυσιολογικά αιμοφόρα αγγεία, όσο και στις αθηροσκληρυντικές αλλοιώσεις, όπου και αποτελούν μέρος του φλεγμονώδους διηθήματος (66). Αυξημένοι αριθμοί ενεργοποιημένων μαστοκυττάρων έχουν εντοπιστεί σε ασταθείς βλάβες στους ασθενείς με στεφανιαία σύνδρομα, μία παρατήρηση η οποία υποδεικνύει ότι τα μαστοκύτταρα συμμετέχουν στην παθογένεση της αθηροσκλήρυνσης (67). Πράγματι, υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι τα μαστοκύτταρα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων, στη δημιουργία αφρωδών κυττάρων και στην αποσταθεροποίηση αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων (68).

Η πρόσδεση των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο αποτελεί ένα από τα πρωιμότερα φαινόμενα της αθηροσκλήρυνσης. Η είσοδος των μονοκυττάρων στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος καθορίζεται από την αλληλεπίδραση μορίων πρόσδεσης στην επιφάνεια του ενδοθηλίου. Τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα εκκρίνουν μία σειρά από φλεγμονώδεις ουσίες, πολλές από τις οποίες, περιλαμβανομένων του TNF $\alpha$ , της τρυπτάσης και της ισταμίνης, διεγείρουν την έκφραση των μορίων πρόσδεσης P-σελεκτίνης και VCAM-1, με αποτέλεσμα την προσέλκυση μονοκυττάρων και λεμφοκυττάρων από την αιματική κυκλοφορία (69). Τα μαστοκύτταρα διεγείρουν επίσης την παραγωγή του χημειοτακτικού πεπτιδίου-1 των μακροφάγων από τους ινοβλάστες μέσω της δράσης των TNF- $\alpha$  και TGF- $\beta$  (70), με αποτέλεσμα τη διείσδυση των μονοκυττάρων στον έσω χιτώνα.

Στις αθηροσκληρυντικές βλάβες, τα μαστοκύτταρα εντοπίζονται σε θέσεις κοντά στις συσσωρεύσεις μακροφάγων και εξωκυττάρων λιπιδίων, καθώς και σε θέσεις σχηματισμού των αφρωδών κυττάρων. Σύμφωνα με τη θεωρία της ισορροπίας κατά την αθηρογένεση, η χοληστερόλη μεταφέρεται εντός του έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος από την χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL), ενώ επιστρέφεται στην κυκλοφορία με τη μεσολάβηση της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL). Συνεπώς, η συσσώρευση χοληστερόλης και η



δημιουργία αφρωδών κυττάρων οφείλεται στη διαταραχή της ισορροπίας που υπάρχει μεταξύ των δύο αυτών διεργασιών. Όλο και περισσότερα στοιχεία υποδεικνύουν ότι τα μαστοκύτταρα συμβάλλουν στη μεταμόρφωση των μακροφάγων και των λείων μυικών κυττάρων σε αφρώδη κύτταρα προκαλώντας διαταραχή της ισορροπίας της μεταφοράς χοληστερόλης (71).

Προκειμένου να εισέλθουν στον έσω χιτώνα, τα σωματίδια της LDL πρέπει να διαπεράσουν το φραγμό του αγγειακού ενδοθηλίου. Η ισταμίνη που εκκρίνεται από τα μαστοκύτταρα ενισχύει την αγγειακή διαπερατότητα στα μακρομόρια, συνιστώντας ότι τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα αδυνατίζουν τον ενδοθηλιακό φραγμό και προκαλούν αύξηση της συσσώρευσης LDL στον έσω χιτώνα (72). Τα μαστοκύτταρα διεγείρουν την πρόσληψη της LDL από τα μακροφάγα και τα λεία μυικά κύτταρα, ενώ οι ηπαρινοειδείς πρωτεογλυκάνες των υπολειμμάτων κοκκίων των μαστοκυττάρων δεσμεύουν την LDL, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση των λιποπρωτεϊνικών τμημάτων και τη συσσώρευσή τους στα υπολείμματα των κοκκίων. Στη συνέχεια τα επικαλυπτόμενα από λιποπρωτεϊνικά τμήματα κοκκία φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα και τα λεία μυικά κύτταρα, οδηγώντας με τον τρόπο αυτό στη δημιουργία των αφρωδών κυττάρων. Επιπλέον, οι υδατοδιαλυτές ηπαρινοειδείς πρωτεογλυκάνες που απελευθερώνονται από τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα διεγείρουν την πρόσληψη της LDL μέσω υποδοχέων της μεμβράνης των μακροφάγων και των λείων μυικών κυττάρων (73). Όσον αφορά την έξοδο της χοληστερόλης από τα κύτταρα, αυτή ενισχύεται από αποδέκτες χοληστερόλης που υπάρχουν στον εξωκυττάριο χώρο, οι οποίοι όμως είναι επιρρεπείς στην πρωτεόλυση από τη δράση της χυμάσης των μαστοκυττάρων, με αποτέλεσμα τη μειωμένη εξωκυττάρωσή τους από τα αφρώδη κύτταρα και την ενίσχυση της κατακράτησης λιπιδίων εντός των μακροφάγων (74). Επιπροσθέτως, η τρυπτάση των μαστοκυττάρων προκαλεί αποδόμηση της LDL, αναστέλλοντας τη δράση της ως αποδέκτης χοληστερόλης, ένα φαινόμενο όμως του οποίου η κλινική σημασία δεν είναι γνωστή (75).

Ο σημαντικότερος μηχανισμός οξέων στεφανιαίων συνδρόμων, περιλαμβανομένων της ασταθούς στηθάγχης, του οξέως εμφράγματος του μυοκαρδίου και του αιφνιδίου θανάτου, είναι η διάβρωση ή η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας (76). Εκτός από τα μακροφάγα, αυξημένοι αριθμοί ενεργοποιημένων μαστοκυττάρων βρίσκονται κοντά στις θέσεις ρήξης της αθηρωματικής πλάκας σε ασθενείς που καταλήγουν από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (77). Η σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας εξαρτάται από το πάχος και την ποιότητα του ινώδους περιβλήματος που καλύπτει τον πλούσιο σε λιπίδια νεκρωτικό πυρήνα, ενώ η σύστασή του περιλαμβάνει λεία μυικά κύτταρα και εξωκυττάριο στρώμα, κυρίως κολλαγόνο που παράγεται και συντηρείται από τα λεία μυικά κύτταρα. Διεργασίες οι οποίες προκαλούν ελάττωση των λείων μυικών κυττάρων, αναστέλλουν τη σύνθεση κολλαγόνου από τα κύτταρα αυτά ή ενισχύουν την αποδόμηση του εξωκυτταρίου στρώματος και αποτελούν παράγοντες

αποσταθεροποίησης της αθηρωματικής πλάκας. Υπό την έννοια αυτή, οι ηπαρινοειδείς πρωτεογλυκάνες που παράγονται από τα μαστοκύτταρα φαίνεται ότι αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων σε συνθήκες *in vitro* (78), υποδεικνύοντας ότι τα μαστοκύτταρα συμμετέχουν στη ρύθμιση της αύξησής τους. Υπό συνθήκες χαμηλού πολλαπλασιασμού, ο πληθυσμός των λείων μυικών κυττάρων καθορίζεται από το θάνατό τους είτε μέσω νέκρωσης, είτε με τη διαδικασία της απόπτωσης. Ορισμένοι από τους μεσολαβητές που απελευθερώνονται από τα μαστοκύτταρα είναι προαποπτωτικοί, περιλαμβανομένων της χυμάσης η οποία προκαλεί καρδιομυοκυτταρική απόπτωση (79), και του TNF-α ο οποίος διεγείρει την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων (80). Οι παρατηρήσεις αυτές υποδεικνύουν την πιθανότητα ότι τα μαστοκύτταρα διευκολύνουν τη διαδικασία της απόπτωσης των λείων μυικών κυττάρων και με τον τρόπο αυτό προκαλούν ελάττωση της σταθερότητας της αθηρωματικής πλάκας.

Οι μεταλλοπρωτεΐνάσες του στρώματος πιστεύεται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση των συστατικών του εξωκυτταρίου στρώματος της αθηρωματικής πλάκας και συμβάλλουν στη διάβρωση και τη ρήξη της (81). Απελευθερώνοντας τον TNF-α, μίας ισχυρής αντιφλεγμονώδους κυτταροκίνης, τα μαστοκύτταρα διεγείρουν τη σύνθεση και την απελευθέρωση μεταλλοπρωτεϊνών, τόσο από τα παρακείμενα μακροφάγα, όσο και από τα ίδια τα μαστοκύτταρα που περιέχουν TNF-α (82). Επιπλέον, ο TNF-α έχει αναφερθεί ότι προκαλεί αύξηση της έκφρασης μεταλλοπρωτεϊνών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ τα ίδια τα μαστοκύτταρα συνθέτουν και απελευθερώνουν την μεταλλοπρωτεΐνη-1, η οποία ανευρίσκεται σε σημαντικές ποσότητες εντός των αθηρωματικών πλακών (83).

Οι μεταλλοπρωτεΐνάσες του στρώματος συντίθενται και εκκρίνονται ως ζυμογόνα, δηλαδή ως ανενεργά ένζυμα (προ-μεταλλοπρωτεΐνάσες), οι οποίες θα πρέπει να ενεργοποιηθούν μετά την απελευθέρωσή τους για να καταστούν λειτουργικές. Η χυμάση και η τρυπτάση που εκκρίνονται από τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα έχουν τη δυνατότητα να ενεργοποιήσουν τις προ-μεταλλοπρωτεΐνάσες (84), ενώ η μεταλλοπρωτεΐνη 3, εκτός από τη δράση της ως αποδομητής του εξωκυτταρίου στρώματος, είναι δυνατό να ενεργοποιήσει άλλες μεταλλοπρωτεΐνάσες, διεγείροντας με τον τρόπο αυτό μία ισχυρότερη αποδόμηση του περιβάλλοντος εξωκυτταρίου στρώματος. Επιπλέον, η χυμάση και η τρυπτάση έχουν τη δυνατότητα άμεσης αποδόμησης των συστατικών του εξωκυτταρίου στρώματος, περιλαμβανομένης της φμπρονεκτίνης και της βιτρονεκτίνης (85), ενώ η τρυπτάση μπορεί να αναστείλει την πήξη μέσω της αποδόμησης του ινωδογόνου και ενός προπηκτικού παράγοντα του κινινογόνου, με αποτέλεσμα την επιβράδυνση της ανάπτυξης του θρόμβου σε θέσεις ρήξης της αθηρωματικής πλάκας (86). Σε συνδυασμό με την ικανότητα των μαστοκυττάρων να αναστέλλουν την οξειδωση της LDL σε συνθήκες *in vitro* (87), γίνεται σαφές ότι εκτός από τις

προαθηρογόνες δράσεις, τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν και αθηροπροστατευτικές ιδιότητες, περιλαμβανομένης της αντιθρομβωτικής και της αντιοξειδωτικής τους δράσης.

### 3.5. T-λεμφοκύτταρα

Η αθηροσκλήρυνση εμφανίζει πολλές ομοιότητες με τα αυτοάνοσα φλεγμονώδη νοσήματα, όπως είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η πολλαπλή σκλήρυνση (88). Σημαντικοί αριθμοί λεμφοκυττάρων ανευρίσκονται εντός των αθηρωματικών βλαβών (89), ενώ πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ότι η παρουσία T-λεμφοκυττάρων έχει λειτουργικές συνέπειες στην αθηρογένεση, καθώς η πλήρης απουσία τους επιβραδύνει την εξέλιξη των βλαβών υπό συνθήκες υπερχοληστερολαιμίας (90). Ένα προφανές ερώτημα που προκύπτει από τον τρόπο λειτουργίας των T-λεμφοκυττάρων είναι ποια αντιγόνα διεγείρουν την ενεργοποίησή τους, καθώς και ποια από αυτά που συμμετέχουν στη διαδικασία της αθηρογένεσης εμπλέκουν τη δράση των T-λεμφοκυττάρων. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων αυτών που εμφανίζουν υποδοχείς για αντιγόνα σχετιζόμενα με την αθηροσκλήρυνση, περιλαμβανομένων των τροποποιημένων LDL και των C. pneumoniae, συνιστά ότι η κυτταρική ανοσολογική αντίδραση λαμβάνει μέρος κατά την αθηρογένεση. Ενώ αρχικά πιστευόταν ότι οι αθηροσκληρυντικές βλάβες προσελκύουν T-λεμφοκύτταρα μειωμένης ετερογένειας, πρόσφατες μελέτες αθηρωματικών αλλοιώσεων στους ανθρώπους συνιστούν ότι τα συμμετέχοντα T-λεμφοκύτταρα εμφανίζουν σημαντική πολυκλωνικότητα (91). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι τα T-λεμφοκύτταρα στην αθηροσκλήρυνση εμφανίζουν αντιδραστικότητα, όχι σε μία βασική κατηγορία αντιγόνων, αλλά σε μία πληθώρα αυτών. Συνεπώς, τα T-λεμφοκύτταρα τα οποία βρίσκονται εντός των βλαβών προέρχονται μάλλον από αυτά που διεισδύουν στην αθηρωματική πλάκα και δεν παρουσιάζουν ειδική αντιγονική αντιδραστικότητα, και τα οποία στη συνέχεια αποκτούν εντός της βλάβης αντιγονική εξειδίκευση (92).

Η κύρια κατηγορία T-λεμφοκυττάρων που εντοπίζονται στις αθηροσκληρυντικές βλάβες είναι αυτά που φέρουν υποδοχείς για το αντιγόνο επιφανείας CD4. Ως αντίδραση στο τοπικό περιβάλλον το οποίο είναι πλούσιο σε κυτταροκίνες, τα κύτταρα αυτά διαφοροποιούνται στις σειρές Th1 και Th2, μέσω της δράσης των ιντερλευκινών 12 και 10, αντιστοίχως (93). Η λειτουργική δραστηριότητα των ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων καθορίζεται από την έκκριση κυτταροκινών από αυτά, της ιντερφερόνης- $\gamma$  από τη σειρά Th1 και της ιντερλευκίνης-4 από τη σειρά Th2 (94). Τα κύτταρα της σειράς Th1 διεγείρουν την ενεργοποίηση των μακροφάγων, ενισχύοντας με τον τρόπο αυτό τις φλεγμονώδεις συνθήκες εντός της αθηρωματικής αλλοίωσης, και το επιτυγχάνουν αυτό κυρίως μέσω της έκκρισης ιντερφερόνης- $\gamma$ , η οποία ανιχνεύεται εντός της πλάκας και ενισχύει την εξέλιξή της (88). Αντίθετα, τα κύτταρα

της σειράς Th2 καταστέλουν τη δράση των μακροφάγων, μέσω της έκκρισης των ιντερλευκινών 4 και 10, καθώς και του TGF- $\beta$  (95). Οι μηχανισμοί αυτοί υποδεικνύουν ότι η παρουσία ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων σε όλα τα στάδια των αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων στον άνθρωπο διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου, παρόλ' αυτά, ο συγκεκριμένος ρόλος τους δεν είναι απόλυτα σαφής.

### **3.6. Ο ρόλος του εξωκυτταρίου στρώματος**

Κατά την εξέταση μίας τυπικής ινώδους αθηρωματικής πλάκας, γίνεται σαφής η σημασία της σύνθεσης του εξωκυτταρίου στρώματος στην εξέλιξη της αλλοίωσης. Μεγάλες περιοχές του υπενδοθηλιακού στρώματος αποτελούνται από θέσεις πλούσιες σε κολλαγόνο, με λίγα κυτταρικά στοιχεία παρόντα. Η εκτεταμένη αυτή εναπόθεση εξωκυτταρίου στρώματος συμβάλλει σε σημαντικό βαθμό στη στένωση του αγγειακού αυλού. Επιπλέον, η εξασθένηση του εξωκυτταρίου στρώματος σε συγκεκριμένες θέσεις της αθηρωματικής πλάκας διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρήξη της, η οποία αποτελεί και την περισσότερο επικίνδυνη επιπλοκή της. Ενώ το εξωκυττάριο στρώμα φυσιολογικά αντιπροσωπεύει ένα περιορισμένο μόνο μέρος του αρτηριακού τοιχώματος, η συνεισφορά του στη λειτουργία του είναι σημαντική. Το εξωκυττάριο στρώμα αποτελεί το κύριο συστατικό που συμβάλλει στην ελαστικότητα του αγγειακού τοιχώματος και την αντοχή του στις ασκούμενες δυνάμεις της αιματικής κυκλοφορίας. Η αντοχή αυτή οφείλεται κυρίως στις ίνες κολλαγόνου, περιλαμβανομένων των τύπου I, III, V, XII και XIV, καθώς και σε μικρές πρωτεογλυκάνες, ειδικά της ντεκορίνης και της λουμικάνης. Χάρη στις υδρόφιλες ιδιότητές τους, άλλες πρωτεογλυκάνες, ειδικότερα η υψηλού μοριακού βάρους βερσικάνη, γεμίζουν τον χώρο του εξωκυτταρίου στρώματος, συμβάλλοντας με τον τρόπο αυτό στη ρύθμιση της ποσότητας ύδατος και κατά συνέπεια των ρευστοελαστικών ιδιοτήτων του αρτηριακού τοιχώματος.

Όπως προαναφέρθηκε, η μετανάστευση λείων μυικών κυττάρων από το μέσο στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος συνδυάζεται με μεταβολή του φαινοτύπου τους από συσταλά σε κύτταρα με ινοβλαστικό χαρακτήρα (96). Τα λεία αυτά μυικά κύτταρα με τις συνθετικές ιδιότητες εκκρίνουν πρωτεΐνες του εξωκυτταρίου στρώματος, συγκεκριμένα κολλαγόνο τύπου I και III, μία διεργασία η οποία είναι φυσιολογική σε αγγειακές θέσεις με υψηλό μηχανικό φορτίο, ενώ επίσης συμμετέχουν στην επαναστένωση του αγγειακού αυλού μετά από αγγειοπλαστική ή ενδαρτηρεκτομή μέσω ανάπτυξης νεοέσω χιτώνα (97). Στη βάση της διαδικασίας αυτής βρίσκεται ο έντονος πολλαπλασιασμός των λείων μυικών κυττάρων στον έσω χιτώνα, παρόλ' αυτά, τη σημαντικότερη συνεισφορά στην πάχυνση του έσω χιτώνα κατά την επαναστένωση εμφανίζει η σύνθεση και η εναπόθεση συστατικών του εξωκυτταρίου στρώματος (98).

Ο ρόλος της έντονης σύνθεσης του εξωκυτταρίου στρώματος στην εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας είναι πολύ περισσότερο πολύπλοκος συγκριτικά με αυτόν στην επαναστένωση και ανεπαρκώς κατανοητός. Η προσέλκυση μονοκυττάρων από την αιματική κυκλοφορία και η υπενδοθηλιακή συσσώρευση μακροφάγων προς δημιουργία λιπωδών κηλίδων ή ξανθωμάτων μπορεί να αποτελούν το εναρκτήριο γεγονός της αθηρογένεσης, παρόλ' αυτά, η πλειοψηφία των λιπωδών κηλίδων δεν εξελίσσονται σε αθηροσκληρυντικές βλάβες. Κατά την υπερχοληστερολαιμία στους ανθρώπους, τα λιπίδια τείνουν να συσσωρεύονται στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος και η αλληλεπίδρασή τους με τα μακροφάγα που εισέρχονται στην περιοχή αυτή οδηγεί στην οξειδωση της LDL και τη δημιουργία αφρωδών κυττάρων, ενώ η αλληλεπίδρασή τους με τα T-λεμφοκύτταρα ενισχύει την τοπική φλεγμονώδη αντίδραση (99). Επιπλέον, η ενισχυμένη έκφραση κυτταροκινών προκαλεί τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων, τα οποία με τη σειρά τους εκκρίνουν αυξημένες ποσότητες συστατικών του εξωκυτταρίου στρώματος. Η έναρξη της φλεγμονώδους αντίδρασης δεν προκαλείται μόνο από οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες, αλλά επίσης και από τη χημική τροποποίηση των δομικών πρωτεϊνών του εξωκυτταρίου στρώματος. Υπό την έννοια αυτή, η μη-ενζυματική γλυκοζυλίωση του κολλαγόνου, όπως αυτή παρατηρείται σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων. Τα τελικά προϊόντα της γλυκοζυλίωσης προκαλούν ενεργοποίηση των μακροφάγων μέσω ειδικών υποδοχέων στην επιφάνειά τους, ενώ επίσης αυξάνουν τη διαπερατότητα του ενδοθηλίου, τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων και ενισχύουν την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων (100).

Η τελική επίπτωση της αυξημένης παραγωγής εξωκυτταρίου στρώματος είναι η δημιουργία της τυπικής αθηροσκληρυντικής βλάβης, του αθηρώματος εντός του ινώδους περιβλήματος, το οποίο περιέχει τον πυρήνα με τα συσσωρευμένα και μερικώς νεκρωμένα αφρώδη κύτταρα. Τα στοιχεία αυτά διαχωρίζονται από τον αγγειακό αυλό από τον ινώδη ιστό που παράγεται από τα λεία μυικά κύτταρα. Παρόλ' αυτά, το εξωκυτταριο στρώμα που παράγεται από τα λεία μυικά κύτταρα έχει ασαφή ρόλο, καθώς αφενός η συσσώρευση ινώδους ιστού συμβάλλει στη δημιουργία του νεκρωτικού πυρήνα εμποδίζοντας την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών από τα βαθύτερα στρώματα του αρτηριακού τοιχώματος, αφετέρου το ινώδες περίβλημα προστατεύει από τη δημιουργία ενδοαυλικού θρόμβου απομονώνοντας το θρομβογόνο νεκρωτικό πυρήνα από την αιματική κυκλοφορία.

Η μορφολογία του εξωκυτταρίου στρώματος της αθηρωματικής βλάβης στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος παρουσιάζει χαρακτηριστικές διαφορές συγκριτικά με το εξωκυτταριο στρώμα του μέσου χιτώνα. Το εξωκυτταριο στρώμα του έσω χιτώνα αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του συνολικού ιστού και εμφανίζει σημαντική ποικιλομορφία όσον αφορά την κυτταροβρίθειά του ακόμα και εντός της αθηρωματικής πλάκας. Ενώ στην περιοχή του

ινώδους περιβλήματος τα κυτταρικά στοιχεία είναι σχετικά αυξημένα, η υπόλοιπη πλάκα του έσω χιτώνα περιέχει αραιούς κυτταρικούς σχηματισμούς. Συγκριτικά με το εξωκυττάριο στρώμα του μέσου χιτώνα, ο έσω χιτώνα περιέχει περισσότερο κολλαγόνο και λιγότερη ελαστίνη. Επιπλέον, η αναλογία του τύπου III κολλαγόνου είναι μικρότερη, ενώ παρατηρούνται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις κολλαγόνου τύπου I, V και VI (101). Ανοσοϊστοχημικές μελέτες αναδεικνύουν την κυριάρχη παρουσία του τύπου I κολλαγόνου στις ινωτικές αλλοιώσεις, αλλά οι χρώσεις για συστατικά της βασικής μεμβράνης αποκαλύπτει την παρουσία πρωτεϊνών που προέρχονται από τα λεία μυϊκά κύτταρα, όπως είναι το κολλαγόνο τύπου IV, κυρίως υπό τη μορφή κενών φακέλων σε θέσεις που προηγουμένως καταλαμβάνονταν από κυτταρικά στοιχεία.

Η διείσδυση των μακροφάγων θεωρείται ότι αδυνατίζει το ινώδες περίβλημα μέσω της έκκρισης των μεταλλοπρωτεϊνών του στρώματος, όπως είναι οι μεταλλοπρωτεϊνάσες 3 και 9, καθώς και της καθεψίνης (102). Πρόσφατες παρατηρήσεις, παρόλ' αυτά, υποδεικνύουν ότι τα μακροφάγα συμμετέχουν επίσης στη σύνθεση των συστατικών του εξωκυτταρίου στρώματος. Υπό την έννοια αυτή, η ενεργός έκφραση του τύπου I κολλαγόνου παρατηρείται από λεία μυϊκά κύτταρα που βρίσκονται πλησίον των μη αφρώδων μακροφάγων. Το γεγονός αυτό συνιστά ότι τα μακροφάγα είναι δυνατό να διεγείρουν τη σύνθεση κολλαγόνου από κύτταρα που βρίσκονται κοντά τους, πιθανώς μέσω της σύνθεσης, έκκρισης και δράσης του TGF-β. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι τα μακροφάγα συνθέτουν συστατικά του εξωκυτταρίου στρώματος, όπως είναι η φιβρονεκτίνη, η οστεοποντίνη και οι πρωτεογλυκάνες, ενώ έχει επίσης αναφερθεί ότι έχουν τη δυνατότητα να συνθέτουν και να εκκρίνουν τουλάχιστον ένα τύπο κολλαγόνου (103). Η λειτουργία αυτή των μονοκυττάρων/μακροφάγων κατά την αθηροσκλήρυνση είναι κατανοητή εάν ληφθεί υπόψη η βασική βιολογική τους δράση της ιστικής επούλωσης. Πέρα από τη κύρια δράση τους να απομακρύνουν συγκρίματα, τα μακροφάγα είναι δυνατό να συνθέτουν ένα προκαταρκτικό εξωκυττάριο στρώμα, το οποίο επιτρέπει τη μετακίνηση κυτταρικών στοιχείων για τη σύνθεση νέου ιστού.

### **3.7. Ο ρόλος της λοίμωξης στην αθηρογένεση**

Διάφοροι παθογόνοι μικροοργανισμοί είναι δυνατό να επιμολύνουν άμεσα τα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος, όπου μπορούν να παραμείνουν σε λανθάνουσα κατάσταση, να πολλαπλασιάζονται με αργούς ρυθμούς, ή να προκαλέσουν έκδηλη λοίμωξη. Εναλλακτικά, παθογόνοι παράγοντες όπως είναι ο κυτταρομεγαλοϊός και τα χλαμύδια της πνευμονίας μπορούν να φθάσουν στο φλεγμαίνον αγγειακό τοίχωμα μέσω μονοκυττάρων της αιματικής κυκλοφορίας από τα οποία έχουν φαγοκυττωθεί, όπου αρχίζουν να εκφράζουν προϊόντα του γονιδιώματός τους (104,105). Οι μικροοργανισμοί αυτοί, όταν εγκατασταθούν στο

αγγειακό τοίχωμα προκαλούν προαθηρωματικά φαινόμενα, περιλαμβανομένων του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των λείων μυικών κυττάρων, της αυξημένης έκφρασης κυτταροκινών, χημειοκινών και μορίων πρόσδεσης, καθώς και παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Επιπλέον, ο κυτταρομεγαλοϊός και τα χλαμύδια της πνευμονίας που καταφθάνουν στο αγγειακό τοίχωμα μέσω των μονοκυττάρων, διεγείρουν την πρόσληψη της οξειδωμένης LDL, της οποίας η συμμετοχή στην εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης είναι πολύ σημαντική (106).

Ορισμένοι από τους παθογόνους μικροοργανισμούς που σχετίζονται με την αθηροσκλήρυνση στον άνθρωπο, είναι δυνατό να βρίσκονται σε λανθάνουσα κατάσταση εντός των μακροφάγων του αγγειακού τοιχώματος για μακρά χρονικά διαστήματα. Σε κάποιες περιπτώσεις, όπως για παράδειγμα με τον κυτταρομεγαλοϊό, προϊόντα του γονιδιώματός τους διεγείρουν προαθηρωματικές εκδηλώσεις χωρίς τον πολλαπλασιασμό των παθογόνων (107). Κατά την ίδια έννοια, τα χλαμύδια της πνευμονίας είναι δυνατό να παραμένουν σε μεταβολικά λανθάνουσα μη-μιτωτική κατάσταση, ενώ ταυτόχρονα να εκφράζουν τα προϊόντα συγκεκριμένων γονιδίων, τα οποία με τη σειρά τους πυροδοτούν διεργασίες της αθηροσκλήρυνσης. Παραδείγματα αποτελούν η έκφραση TNF-α και μεταλλοπρωτεϊνών από τα μακροφάγα, η έκφραση μορίων πρόσδεσης από τα γειτνιάζοντα ενδοθηλιακά κύτταρα, καθώς και η ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης NF-κΒ (108), εκδηλώσεις οι οποίες συμβάλλουν στην εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης και την πρόκληση αστάθειας της αθηρωματικής πλάκας.

Είναι βέβαιο ότι εφόσον τα διάφορα παθογόνα συμβάλλουν στην εμφάνιση και την εξέλιξη των αθηρωματικών αλλοιώσεων, η δράση τους δεν περιορίζεται μόνο στην επιμόλυνση του αγγειακού τοιχώματος, αλλά περιλαμβάνει επίσης και συστηματικές εκδηλώσεις. Συνεπώς, λοιμώξεις που εμφανίζονται σε άλλες θέσεις, μέσω της απελευθέρωσης κυτταροκινών στην αιματική κυκλοφορία μπορούν να επιταχύνουν τις εκδηλώσεις και την εξέλιξη των αγγειακών αλλοιώσεων, χωρίς την άμεση παρουσία παθογόνων στις αλλοιώσεις αυτές. Επιπλέον, T-λεμφοκύτταρα με μνήμη από παλαιότερη έκθεση σε αντιγόνα παθογόνων μικροοργανισμών, όπως του κυτταρομεγαλοϊού, σε θέσεις ανεξάρτητες από τις αθηρωματικές αλλοιώσεις, θα απελευθερώσουν κυτταροκίνες μετά από έκθεση σε ομόλογα αντιγόνα του ξενιστή, οι οποίες με τη σειρά τους θα επιτείνουν τις φλεγμονώδεις συνθήκες εντός των αθηρωματικών αλλοιώσεων (109). Κατά ανάλογο τρόπο, λοίμωξη για παράδειγμα από κυτταρομεγαλοϊό, απελευθερώνει στην αιματική κυκλοφορία κυτταροκίνες, οι οποίες καταφθάνουν στις αθηρωματικές αλλοιώσεις και επιδεινώνουν την ήδη υπάρχουσα φλεγμονώδη αντίδραση. Τα δεδομένα αυτά συνιστούν ότι ενώ η φλεγμονώδης αντίδραση που προκαλείται από μία λοίμωξη αποτελεί έναν απαραίτητο μηχανισμό για την προστασία του ξενιστή, επίσης επιδεινώνει ή ακόμα μπορεί και να συμβάλει στην έναρξη της αθηροσκληρυντικής διαδικασίας.

#### 4. Η ΕΥΑΛΩΤΗ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΠΛΑΚΑ

Τα αίτια της εξέλιξης της αθηρωματικής βλάβης από την ασυμπτωματική ινοαθηρωματική πλάκα έως την υψηλού κινδύνου αλλοίωση για ρήξη (ινοαθήρωμα λεπτού περιβλήματος ή ευάλωτη πλάκα) δεν είναι πλήρως κατανοητά. Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ότι η αιμορραγία εντός της αθηρωματικής πλάκας αποτελεί ένα σημαντικό φαινόμενο που συμβάλλει στην εξέλιξη των ασυμπτωματικών βλαβών σε υψηλού κινδύνου ασταθείς αλλοιώσεις (110). Επιπλέον, μεμβράνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων, οι οποίες είναι πλούσιες σε φωσφολιπίδια και ελεύθερη χοληστερόλη και η συσσώρευσή τους εντός της αθηρωματικής πλάκας διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προαγωγή της αστάθειας της βλάβης, μέσω μεγέθυνσης του νεκρωτικού πυρήνα και την προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων. Η προέλευση των ερυθροκυττάρων εντός των αθηρωματικών πλακών εξηγείται πιθανότατα από ανώριμα και διαρρέοντα αιμοφόρα αγγεία, τα οποία περιβάλλουν την πλάκα και διεισδύουν σε αυτήν. Συνεπώς η κατανόηση των μηχανισμών μέσω των οποίων λαμβάνει χώρα η αγγειογένεση και η αιμορραγία εντός της αθηροσκληρυντικής βλάβης, είναι δυνατό να συμβάλλει στον περιορισμό ή ακόμα και στην αναστολή της εξέλιξης από σταθερή σε ασταθή βλάβη.

Η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας αποτελεί τη βασική αιτία ενδοαυλικής θρόμβωσης, και παρατηρείται έως και το 75% των ασθενών που καταλήγουν από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (111). Οι αθηρωματικές πλάκες που είναι ευάλωτες στη ρήξη χαρακτηρίζονται από παρόμοια ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά, και εμφανίζουν λεπτό αλλά ακέραιο ινώδες περίβλημα (112). Κατά τη ρήξη της πλάκας, το ινώδες περίβλημα παρουσιάζει εστιακές διασχίσεις, με αποτέλεσμα η αιματική κυκλοφορία να έρχεται σε άμεση επαφή με τα θρομβογόνα στοιχεία του πλούσιου σε λιπίδια νεκρωτικού πυρήνα και να προκαλείται τοπική θρόμβωση. Η δημιουργία και η απόσπαση του θρόμβου αυτού αποτελεί την κύρια αιτία τόσο του ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, όσο και των οξέως στεφανιαίων συνδρόμων, αναλόγως με τη θέση προέλευσής του. Οι αθηρωματικές πλάκες που έχουν υποστεί ρήξη εμφανίζουν έναν ευρύ νεκρωτικό πυρήνα που περιβάλλεται από το λεπτό ινώδες περίβλημα, ενώ επίσης παρατηρείται εκτεταμένη τοπική διήθηση από μακροφάγα και συσσώρευση αφρωδών κυττάρων. Στις βλάβες που έχουν υποστεί ρήξη, ο νεκρωτικός πυρήνας καταλαμβάνει περίπου το μισό του συνολικού όγκου της πλάκας, ενώ αντίθετα σε αυτές που είναι ακέραιες ο νεκρωτικός πυρήνας αντιστοιχεί περίπου στο ένα τέταρτο του συνολικού όγκου της πλάκας. Η παρατήρηση αυτή υποδεικνύει ότι η διεύρυνση του νεκρωτικού πυρήνα προηγείται της ρήξης της αθηρωματικής πλάκας (113).

Η παθολογική πάχυνση του μέσου χιτώνα αποτελεί την πρωιμότερη αθηροσκληρυντική αλλοίωση και χαρακτηρίζεται από ένα επιφανειακό στρώμα λείων μυικών κυττάρων που



περιβάλλουν μία σχετικά ακυτταρική συσσώρευση λιπιδίων. Η συσσώρευση αυτή των λιπιδίων στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος οφείλεται πιθανότατα στην απώλεια των λείων μυικών κυττάρων (114). Το στρώμα πρωτεογλυκάνης στη συσσώρευση αυτή των λιπιδίων παραμένει σχετικά ανέπαφο με ελάχιστη παρούσα χοληστερόλη, ενώ παρατηρείται εστιακή έναρξη ασβεστοποίησης. Όταν τα μακροφάγα διεισδύσουν στη συγκέντρωση των λιπιδίων, η παγίδευση και τελικά ο θάνατός τους πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνα για τη μετατροπή της παθολογικής πάχυνσης του έσω χιτώνα στο πρώιμο ινοαθήρωμα. Ο συνδυασμός της περαιτέρω διείσδυσης μακροφάγων και του αποπτωτικού τους θανάτου, καθώς και η νέκρωση λόγω τοπικών συνθηκών υποξίας οδηγεί στην ανάπτυξη της προχωρημένης ινοαθηρωματώδους βλάβης. Καθώς η αθηρωματική πλάκα μεγεθύνεται, η συνεπακόλουθη τοπική υποξία και η διήθηση των φλεγμονωδών κυττάρων πιστεύεται ότι προάγει τη νεοαγγειογένεση. Το αποτέλεσμα είναι να σχηματίζεται ένα δίκτυο ανώριμων νεοαγγείων, τα οποία είναι από τη φύση τους διαρρέοντα και επιτρέπουν την εξαγγείωση ερυθρών αιμοσφαιρίων εντός της αθηρωματικής πλάκας, περαιτέρω μεγεθύνοντας το νεκρωτικό της πυρήνα.

Έχει αποδειχθεί ότι η διείσδυση μακροφάγων αποτελεί το πρώτο στάδιο που οδηγεί τελικά στην ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας. In vitro μελετες έχουν δείξει ότι τα μακροφάγα αυτά προσλαμβάνουν την χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL), μέσω μίας οξειδωτικής διαδικασίας δύο σταδίων, η οποία ξεκινάει με την ήπια οξείδωση των λιπιδίων και ακολουθείται από την οξείδωση της απολιποπρωτεΐνης B, μία τροποποίηση που απαιτείται για την αναγνώριση μεμβρανικών υποδοχέων και η οποία δεν επηρεάζεται από την ενδοκυττάρια χοληστερόλη (115). Καλλιέργειες μακροφάγων που εκτίθενται σε οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη, εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις ελεύθερης χοληστερόλης παρά χοληστερολικών εστέρων. Επιπλέον, τα επίπεδα της ενδοκυττάριας χοληστερόλης στα μακροφάγα ρυθμίζονται μερικώς μέσω της διαδικασίας της επαναεστεροποίησης, η οποία εμπλέκει το συνένζυμο ACAT1, η ρύθμιση της δράσης του οποίου σε καλλιέργειες ή πειραματικά μοντέλα ευνοεί τη συγκέντρωση ελεύθερης ενδοκυττάριας χοληστερόλης (116). Η εμφάνιση του νεκρωτικού πυρήνα αποδίδεται κυρίως στο θάνατο των μακροφάγων, ενώ καθώς η αθηρωματική πλάκα εξελίσσεται από το στάδιο των λιπωδών ραβδώσεων σε αυτό με νεκρωτικό πυρήνα, η συσσώρευση ελεύθερης χοληστερόλης εντός της βλάβης παρουσιάζει αύξηση, ενώ αντίθετα οι χοληστερολικοί εστέρες μειώνονται (117). Η αύξηση αυτή της ελεύθερης χοληστερόλης πιθανώς σχετίζεται άμεσα με την αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας. Σε μία μελέτη αθηρωματικών πλακών από αορτές, η πρόοδος από τη σταθερότητα στη ρήξη, συνοδευόταν από αύξηση της ελεύθερης χοληστερόλης, χοληστερολικών εστέρων, καθώς και της αναλογίας ελεύθερης προς εστεροποιημένης χοληστερόλης εντός του νεκρωτικού πυρήνα, ενώ η ποσότητα τριγλυκεριδίων της πλάκας παρέμεινε αμετάβλητη (118). Η επίδραση της λιπιδικής σύστασης

στην αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας σε οξεία στεφανιαία σύνδρομα και αιφνιδίους θανάτους φαίνεται επίσης από το γεγονός ότι η συσσώρευση χοληστερόλης είναι μεγαλύτερη σε πλάκες που έχουν υποστεί ρήξη, συγκριτικά με αυτές που είναι διαβρωμένες ή σταθερές (76).

Γενικά ενώ πιστεύεται ότι τα αποπτωτικά μακροφάγα αποτελούν πηγή χοληστερόλης για την αθηρωματική πλάκα, είναι δυνατό η ελεύθερη χοληστερόλη εντός του νεκρωτικού πυρήνα να προέρχεται και από άλλες πηγές, περιλαμβανομένων των κυτταρικών μεμβρανών των ερυθρών αιμοσφαιρίων (116). Σε μία πρόσφατη μελέτη χρόνιας πνευμονικής υπέρτασης λόγω θρομβοεμβολικής νόσου αναφέρθηκε ότι οι νεκρωτικοί πυρήνες αθηρωματικών πλακών του έσω χιτώνα μεγάλων πνευμονικών αρτηρίων περιέχουν ερυθρά αιμοσφαίρια (όπως αποδείχθηκε με χρώσεις αντιγλυκοπρωτεΐνης A) και μακροφάγα. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι εξαγγειωμένα ερυθροκύτταρα σε παθήσεις εκτός της στεφανιαίας νόσου, συνοδεύονται από συσσωρεύσεις ελεύθερης χοληστερόλης και αφρωδών κυττάρων (119). Είναι κατανοήτο ότι η ποσότητα χοληστερόλης στις ερυθροκυτταρικές μεμβράνες είναι περισσότερη από κάθε άλλο κυτταρικό τύπο, με τα λιπίδια να αποτελούν έως και το 40% του βάρους τους (120). Επιπλέον, η χοληστερόλη που προέρχεται από τις ερυθροκυτταρικές μεμβράνες είναι αυξημένη στους ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία, ενώ ανταποκρίνεται σε βραχεία αγωγή με στατίνες (121). Επειδή τα ερυθρά αιμοσφαίρια δεν παρουσιάζουν την ικανότητα παραγωγής λιπιδίων, η μεγαλύτερη ποσότητα των μεμβρανικών λιπιδίων προέρχεται από τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος. Το επίπεδο δραστηριότητας της σφιγγομυελινάσης εντός της αθηρωματικής πλάκας είναι αρκετό για να καταλύσει την απελευθέρωση χοληστερόλης από τις ερυθροκυτταρικές μεμβράνες (122). Επιπροσθέτως, η περίσσεια χοληστερόλης μπορεί να κινηθεί ξεχωριστά και να σχηματίσει μεμβρανικά τμήματα που αποτελούνται αμιγώς από διατεταγμένη χοληστερόλη, δημιουργώντας εστίες κρυσταλλοποίησής της (123).

Η υπόθεση της αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας ως αιτία προόδου της αθηροσκληρυντικής βλάβης έχει διατυπωθεί από τα μέσα του 20ου αιώνα, αλλά η ακριβής συσχέτιση των δύο αυτών φαινομένων και οι μηχανισμοί που μεσολαβούν δεν ήταν απολύτως κατανοητοί. Περισσότερο πρόσφατες μελέτες συνιστούν ότι τα αιμορραγικά επεισόδια εντός των αθηρωματικών αλλοιώσεων είναι περισσότερο συχνά στη στεφανιαία κυκλοφορία ασθενών με οξεία στεφανιαία σύνδρομα, καθώς και στο καρωτιδικό σύστημα ασθενών με θρομβωτικά αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια. Το φαινόμενο αυτό έχει επαληθευθεί και σε νεκροτομικές μελέτες, κατά τις οποίες έχει παρατηρηθεί υψηλότερη συχνότητα παλαιότερων αιμορραγικών επεισοδίων σε αθηροσκληρυντικές βλάβες επιρρεπείς στη ρήξη ασθενών που καταλήγουν από αιφνίδιο στεφανιαίο θάνατο, συγκριτικά με πρώιμες βλάβες ή περιοχές με παθολογική πάχυνση του έσω χιτώνα (110). Είναι επίσης σημαντικό να αναφερθεί ότι ο βαθμός της αντιδραστικής χρώσης με γλυκοφορίνη A και το επίπεδο εναποθέσεων σιδήρου εντός της αθηρωματικής

πλάκας αντιστοιχούν στο μέγεθος του νεκρωτικού πυρήνα αυτής, ενώ μεταβολές στις παραμέτρους αυτές συνοδεύονται από αύξηση της συγκέντρωσης μακροφάγων, υποδεικνύοντας ότι η τοπική αιμορραγία αποτελεί φλεγμονώδες ερέθισμα. Συμβάλλοντας στην εισροή μακροφάγων, στην εναπόθεση ελεύθερης χοληστερόλης και μεγέθυνσης του νεκρωτικού πυρήνα, η συσσώρευση ερυθροκυτταρικών μεμβρανών εντός της αθηρωματικής πλάκας, μπορεί από μόνη της να αποτελέσει ένα ισχυρό αθηρογόνο ερέθισμα και να οδηγήσει στην αποσταθεροποίηση της πλάκας.

Πειραματικά έχει αποδειχθεί ότι η άμεση έγχυση συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων στο εσωτερικό σταθερών αθηρωματικών πλακών, προκαλεί εκτεταμένη διείσδυση μακροφάγων, σχηματισμό κρυστάλλων ελεύθερης χοληστερόλης και την εναπόθεση σιδήρου σε θέσεις πλησίον των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Αντίθετα, στις αθηρωματικές εκείνες πλάκες στις οποίες δεν πραγματοποιείται πειραματική έγχυση ερυθρών αιμοσφαιρίων, παρατηρείται σταθερότητα της βλάβης, καθώς και μικρότερη συγκέντρωση μακροφάγων και ελεύθερης χοληστερόλης. Επιπλέον, τα ουδέτερα λιπίδια είναι σημαντικά περισσότερα στις αποσταθεροποιημένες πλάκες κατά την προηγούμενη διαδικασία, συγκριτικά με τις σταθερές (110). Με τον τρόπο αυτό, τα πειραματικά μοντέλα χορηγούν περαιτέρω ενδείξεις ότι τα επεισόδια αιμορραγίας εντός των αθηρωματικών βλαβών συνεισφέρουν στην ενίσχυση της τοπικής φλεγμονώδους αντίδρασης και τη συσσώρευση ελεύθερης χοληστερόλης.

Η συνεισφορά της χοληστερόλης των ερυθροκυτταρικών μεμβρανών στη μεταβολή του όγκου του νεκρωτικού πυρήνα φαίνεται πως είναι πολύ σημαντική, καθώς πιστεύεται ότι τα επεισόδια αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας συμβαίνουν περιοδικά για ένα διάστημα ετών. Μία αιμορραγία 100μL αίματος με εναπόθεση 10% της μεμβρανικής χοληστερόλης θα προσθέσει περίπου  $0,2\text{mm}^3$  όγκου στον νεκρωτικό πυρήνα. Η μεγαλύτερη ποσότητα ερυθροκυττάρων θα αποδομηθεί σε διάστημα ημερών και καθώς η μεμβρανική χοληστερόλη δεν είναι δυνατό να μεταβολισθεί θα είναι διαθέσιμη για απορρόφηση από τον νεκρωτικό πυρήνα. Επιπλέον, η πρόσληψη της προερχόμενης από τα ερυθροκύτταρα χοληστερόλης από τα μακροφάγα, τελικά θα αποδώσει την προσλαμβανόμενη χοληστερόλη στον νεκρωτικό πυρήνα μετά το θάνατο των μακροφάγων αυτών. Ενδείξεις από μελέτες με μαγνητική τομογραφία καρωτιδικών βλαβών, ανέδειξαν τα επεισόδια αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας ως παράγοντα που συμβάλλει στη μεγέθυνση του νεκρωτικού πυρήνα και του συνολικού όγκου της αλλοίωσης (124). Τέλος, ασθενείς με αιμορραγικά επεισόδια εντός της αθηροσκληρυντικής βλάβης είναι περισσότερο επιρρεπείς να υποστούν επαναλαμβανόμενα επεισόδια αιμορραγίας και για το λόγο αυτό έχει θεωρηθεί ότι η τοπική συγκέντρωση χοληστερόλης που προέρχεται από τα ερυθροκύτταρα μπορεί να αποτελεί την κρίσιμη μετάπτωση του φαινοτύπου της πλάκας από σταθερή σε ασταθή.

#### 4.1. Δομή και λειτουργία των vasa vasorum

Τα vasa vasorum (VV) σχηματίζουν ένα μικροαγγειακό δίκτυο που προέρχεται κυρίως από τον έξω χιτώνα των μεγάλων αρτηριών (εξωτερικά VV) και επιτελούν τη λειτουργία της μεταφοράς και της χορήγησης οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στις εξωτερικές στιβάδες του αρτηριακού τοιχώματος (125). Στα μεγαλύτερα θηλαστικά, τα VV είναι δυνατό επίσης να προέρχονται από τον αυλό των αγγείων (εσωτερικά VV), ή ακόμα και από το μέσο χιτώνα. Επιπλέον, υπάρχουν και φλεβικά VV, τα οποία παροχετεύουν το αγγειακό τοίχωμα στις συνοδές φλέβες (126). Στους δύο ανατομικά διακριτούς τύπους των δομών αυτών περιλαμβάνονται τα πρώτης τάξης VV, τα οποία παρατηρούνται στα μεγάλα αγγεία και διατρέχουν επιμήκως τον έξω και μέσο χιτώνα αυτών, και τα δεύτερης τάξης VV, τα οποία προέρχονται από τα προηγούμενα και σχηματίζουν κυκλωτερή δίκτυα γύρω από το αγγειακό τοίχωμα (127). Τα VV προέρχονται από διάφορες αρτηρίες: αυτά της ανιούσης αορτής εκφύονται από τη βραχιονοκεφαλική και τις στεφανιαίες αρτηρίες, ενώ αυτά της κατιούσης θωρακικής αορτής προέρχονται από τις μεσοπλεύριες αρτηρίες και της κοιλιακής αορτής από τις οσφυϊκές και τις μεσεντέριες αρτηρίες.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα VV αναπτύσσονται στους ανθρώπους από τις πρώτες εβδομάδες της κύησης και το δίκτυο τους επεκτείνεται κατά την εμβρυική ανάπτυξη από τη 12η εβδομάδα (128). Μία μελέτη εξέτασε την ανάπτυξη των στεφανιαίων αρτηριών σε νεογέννητους χοίρους και ανέφερε ότι η ακτίνα του αγγειακού αυλού και η επιφάνεια του αγγειακού τοιχώματος αυξανόταν με την ηλικία των χοίρων κατά τους πρώτους μήνες της ζωής τους. Ανακατασκευασμένες εικόνες από μικροαξονική τομογραφία απομονώθηκαν για να απεικονίσουν το αγγειακό δένδρο και στη συνέχεια επεξεργάστηκαν για να αναλύσουν τη διάμετρο, το μήκος και τη γωνία διακλάδωσης κάθε κλάδου ξεχωριστά των VV. Οι μετρήσεις του VV δικτύου αποκάλυψαν ότι αυτό ήταν μικρότερο στους νεότερους χοίρους, αποδεικνύοντας με τον τρόπο αυτό ότι τα αγγεία διακλαδίζονται με την πάροδο του χρόνου, τουλάχιστον κατά τους πρώτους μήνες της ζωής (129). Επίσης, αντίστοιχες εικόνες από μικροαξονική τομογραφία έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για τη μελέτη μοτίβων διακλάδωσης των VV. Μία μελέτη συνέκρινε την αναλογία πρώτης και δεύτερης τάξης VV, την πυκνότητα και τη διάμετρό τους σε φυσιολογικές και πάσχουσες καρδιές. Στους χοίρους με φυσιολογικές καρδιές, τα πρώτης τάξης VV ήταν σημαντικά περισσότερα συγκριτικά με τον αριθμό των δεύτερης τάξης, ενώ η διάμετρος των πρώτων ήταν τουλάχιστον διπλάσια από αυτή των δεύτερων. Το μοτίβο αυτό, ήταν σημαντικά διαφορετικό σε χοίρους με πάσχουσες καρδιές. Η διάμετρος των δεύτερης τάξης VV ήταν περισσότερο κοντά σε αυτή των πρώτης τάξης, ενώ η πυκνότητα των δεύτερης τάξης VV ήταν πλέον διπλάσια αυτής των πρώτης τάξης. Η αύξηση

αυτή του αριθμού των δεύτερης τάξης VV συνδυαζόταν με αυξημένη επιφάνεια του αρτηριακού τοιχώματος, αλλά προηγούταν της εμφάνισης της αθηρωματικής πλάκας. Η εντονότερη διαφορά ήταν η παρουσία ενός πυκνού δικτύου VV στο έξω χιτώνα των υπερχοληστερολαιμικών χοίρων, το οποίο έλειπε από τα στεφανιαία αγγεία των φυσιολογικών ατόμων (130).

Η μελέτη των μοτίβων διακλάδωσης των VV σε μη πάσχοντες χοίρους με τη χρήση μικροαξονικής τομογραφίας αναδεικνύει ένα πρότυπο διχοτόμησης, το οποίο είναι παρόμοιο με το αγγειακό δίκτυο της συστηματικής κυκλοφορίας. Επομένως, ένας κλάδος-γονέας χορηγεί δύο κλάδους, οι οποίοι με τη σειρά τους χορηγούν δύο κλάδους, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μίας ιεραρχικής δομής όπου κάθε ζεύγος αγγειακών κλάδων αποτελεί την επόμενη γενιά του κλάδο-γονέα. Παρόλ' αυτά, το μοτίβο αυτό διακλάδωσης δεν είναι ομοιόμορφο, καθώς ενώ κάποιοι κλάδοι εξακολουθούν να διακλαδίζονται, άλλοι δε συνεχίζουν αυτή τη διαδικασία. Η ανομοιομορφία αυτή πιστεύεται ότι οφείλεται στις διαφορετικές απαιτήσεις που υπάρχουν για την περιοχική αιματική ροή (131). Στο ίδιο πλαίσιο, η μικροαξονική τομογραφία έχει χρησιμοποιηθεί προκειμένου να αναγνωρισθεί η προέλευση των VV με βάση τον κλάδο-γονέα. Στα απεικονιζόμενα αγγεία αναλύθηκε η διάμετρός τους, ενώ ο βαθμός ελάττωσής της διαμέτρου από τον κλάδο-γονέα στο αγγείο της επόμενης γενιάς χρησιμοποιήθηκε για την ταξινόμηση των διαφόρων VV. Με βάση τις μετρήσεις αυτές τα εξωτερικά VV ταξινομήθηκαν στην κατηγορία των αγγείων με μυικό τοίχωμα και ελάχιστους κλάδους, καθώς και την ίδια διάμετρο κατά μήκος αρκετών γενεών. Αντίθετα, τα εσωτερικά VV είναι αγγεία με πολλούς συμμετρικούς κλάδους και ελάττωση της διαμέτρου τους σε κάθε διακλάδωση, που τελικά καταλήγουν σε τριχοειδή. Το τελικό συμπέρασμα της κατηγοριοποίησης αυτής είναι ότι το μοτίβο διακλάδωσης των εξωτερικών και των εσωτερικών VV δε διαφέρει σημαντικά από αυτό που παρατηρείται σε άλλα αγγειακά δίκτυα (132).

#### **4.2. Ο ρόλος των vasa vasorum και των νεοαγγείων στην αιμορραγία της αθηρωματικής πλάκας**

Ιστολογικές αναλύσεις ασταθών αθηρωματικών πλακών έχουν αναδείξει ότι η αιμορραγία εντός της βλάβης και τελικά η ρήξη αυτής σχετίζονται με μία αυξημένη πυκνότητα μικροαγγείων (133,134). Ο τρόπος με τον οποίο τα ερυθρά αιμοσφαίρια διαφεύγουν από τον ενδαγγειακό χώρο και καταλήγουν στον νεκρωτικό πυρήνα δεν είναι πλήρως κατανοητός. Τα μικροαγγεία της αθηρωματικής πλάκας εμφανίζουν διάχυτη περιαγγειακή χρώση με τον παράγοντα von Willebrand, με ταυτόχρονη ένδειξη συσσώρευσης ερυθροκυτταρικών μεμβρανών εντός των νεκρωτικών πυρήνων (110). Οι παρατηρήσεις αυτές συνιστούν ότι η μικροαγγειακή διαρροή πιθανώς ενισχύει την εξέλιξη της αθηρωματικής αλλοίωσης ευνοώντας

την εναπόθεση ερυθροκυτταρικής χοληστερόλης. Επιπλέον, τα διαρρέοντα μικροαγγεία, καθώς και οι διασχίσεις (fissuring) της αθηρωματικής πλάκας συμβάλλουν στη συγκέντρωση ερυθροκυττάρων, γεγονός που έχει παρατηρηθεί στη στεφανιαία κυκλοφορία ασθενών που καταλήγουν από αιφνίδιο στεφανιαίο θάνατο (135).

Ο αριθμός των νεοαγγείων εντός της αθηρωματικής βλάβης φαίνεται ότι αυξάνεται όσο περισσότερο αυξάνεται ο κίνδυνος ρήξης της πλάκας, με διπλασιασμό αυτών για τις ευάλωτες πλάκες και τετραπλασιασμό για τις πλάκες που έχουν υποστεί ρήξη, συγκριτικά με τις βλάβες που είναι σταθερές και προκαλούν σημαντικό βαθμό στένωση του αγγειακού αυλού. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η άμεση διείσδυση νεοαγγείων από τον έξω χιτώνα προς το εσωτερικό του αγγειακού τοιχώματος ακολουθεί ένα συγκεκριμένο μοτίβο διακλάδωσης. Η είσοδος των νεοαγγείων από τον έξω (adventitia) στον έσω (intima) χιτώνα πραγματοποιείται σε συγκεκριμένες θέσεις του μέσου χιτώνα στις οποίες παρατηρούνται ανοίγματα και οι οποίες βρίσκονται άμεσα ύπερθεν νεοσχηματιζόμενων νεκρωτικών πυρήνων. Τα νεοαγγεία διακλαδίζονται καθώς πλησιάζουν τον νεκρωτικό πυρήνα, με δευτερογενείς και τριτογενείς κλάδους να τον περιβάλλουν. Τα μικροαγγεία που βρίσκονται εντός του μέσου χιτώνα εμφανίζονται ως καλά σχηματισμένα λόγω της παρουσίας λείων μυικών κυττάρων στο τοίχωμά τους, ενώ αντίθετα αυτά που διεισδύουν εντός του έσω χιτώνα και πλησίον του αγγειακού αυλού εμφανίζουν ανώριμο τοίχωμα. Στα ανοίγματα του μέσου χιτώνα μέσω των οποίων εισέρχονται τα νεοαγγεία, καθώς και στη βάση του νεκρωτικού πυρήνα, παρατηρούνται πληθυσμοί T-λεμφοκυττάρων, οι οποίοι απουσιάζουν από άλλες θέσεις της αθηρωματικής πλάκας. Είναι πιθανό, ανοσολογικές αντιδράσεις που μεσολαβούνται από τα T-βοηθητικά κύτταρα να αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων, με αποτέλεσμα αφενός να προκύπτουν τα ανοίγματα στο μέσο χιτώνα, αφετέρου να εξηγείται η απουσία τους από το τοίχωμα των νεοαγγείων του έσω χιτώνα (136).

Ο έσω χιτώνας των μη πάσχοντων αρτηριών δεν περιέχει μικροαγγεία, τα οποία βρίσκονται φυσιολογικά στον έξω χιτώνα και στην εξωτερική επιφάνεια του μέσου χιτώνα. Ο ρυθμός ενδοθηλιακού πολλαπλασιασμού στα φυσιολογικά αυτά αγγεία είναι χαμηλός. Στα τέλη του 19ου αιώνα είχε περιγραφεί για πρώτη φορά η ύπαρξη αυξημένων μικροαγγείων στις αθηρωματικές αλλοιώσεις, ένα εύρημα το οποίο επιβεβαιώθηκε αργότερα από πολλούς ερευνητές (130). Σε περισσότερο πρόσφατες μελέτες δειγμάτων ανθρώπινης αθηροσκλήρυνσης, ο ρυθμός ενδοθηλιακού πολλαπλασιασμού είναι μέτριος, παρόλ' αυτά, όταν παρατηρείται νεοαγγειογένεση, ο ρυθμός αυτός μπορεί να είναι πολύ υψηλότερος (137). Τα στοιχεία αυτά έχουν επιβεβαιωθεί και από άλλες μελέτες σε πειραματόζωα, όπου αναφέρεται σημαντική αύξηση της αιματικής ροής στον έσω και μέσο χιτώνα αθηροσκληρυντικών αγγείων (138). Η πλειοψηφία των παθολογικών μικροαγγείων του έσω χιτώνα φαίνεται ότι προέρχονται από το

δίκτυο αγγείων του έξω χιτώνα (vasa vasorum) που βρίσκεται πλησίον της αθηρωματικής πλάκας, παρά από τον αγγειακό αυλό (139). Επιπλέον, ο βαθμός της αγγειογένεσης στην αθηροσκλήρυνση συσχετίζεται με την ένταση της τοπικής φλεγμονής, τον ινώδη ιστό που αναπτύσσεται και την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας προς την αστάθεια.

Τα περισσότερα από τα νεοαγγεία της αθηρωματικής πλάκας είναι ενδοθηλιοποιημένα, αλλά ελάχιστα από αυτά περιβάλλονται από τοιχωματικά περικύτταρα και λεία μυικά κυττάρια. Η έλλειψη περικυττάρων και η χαλαρή σύνδεση μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων συμβάλλουν πιθανότατα στη διαρροή μορίων και κυτταρικών στοιχείων από τα αγγεία αυτά προς τον εξωαγγειακό χώρο (140). Η πορώδης φύση των νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας οφείλεται στην απελευθέρωση αγγειογενετικών παραγόντων από τα μακροφάγα που βρίσκονται στο στενό τους περιβάλλον. Ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων β (PDGF), ο οποίος είναι υπεύθυνος για την προσέλκυση τοιχωματικών κυττάρων δε συνδέεται με τα ενδοθηλιακά κύτταρα των νεοσχηματισθέντων αυτών μικροαγγείων λόγω έλλειψης έκφρασης υποδοχέων γι' αυτόν, με αποτέλεσμα να διαταράσσεται η στενή επαφή των ενδοθηλιακών κυττάρων μεταξύ τους και να προκύπτει ένα ανώριμο δίκτυο μικροαγγείων εντός της αθηρωματικής πλάκας.

Στην αθηροσκλήρυνση στον άνθρωπο, η νεοαγγειογένεση και η τοπική φλεγμονή είναι δύο φαινόμενα τα οποία είναι σημαντικά ισχυρότερα σε συμπτωματικούς ασθενείς συγκριτικά με αυτούς που δεν παρουσιάζουν συμπτώματα της νόσου. Το γεγονός αυτό ισχύει σε διάφορα αγγειακά υποστρώματα, περιλαμβανομένων των λαγονίων, των καρωτίδων και των νεφρικών αρτηριών. Τα νεοαγγεία σχετίζονται με την παρουσία μακροφάγων στον έσω χιτώνα, ενώ είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με ιστορικό καρδιαγγειακών επεισοδίων συγκριτικά με αυτούς που πάσχουν από υποκλινική αθηροσκλήρυνση (134). Είναι αξιοσημείωτο ότι αυτή η συσχέτιση μεταξύ νεοαγγειογένεσης και συμπτωμάτων της νόσου παρατηρείται ακόμα και στους διαβητικούς ασθενείς. Η ποσοτική αυτή συσχέτιση της αγγειογενετικής και φλεγμονώδους δραστηριότητας στο αρτηριακό δίκτυο παρέχει σημαντικές ενδείξεις μίας ευρύτερης συγγένειας ανάμεσα στη νεοαγγειογένεση και τη φλεγμονή, η οποία παρατηρείται και στο στεφανιαίο αγγειακό δίκτυο.

Η αυξημένη ετερογένεια που παρατηρείται στα νεοαγγεία στα διαφορετικά αγγειακά υποστρώματα πιθανώς να εξηγεί επίσης και τις διαφορές που παρατηρούνται στην έκφραση της αθηροσκληρυντικής νόσου σε διαφορετικές ανατομικές θέσεις. Έτσι, σε πειραματικές μελέτες η πυκνότητα των νεοαγγείων, όπως αυτή μετρήθηκε με μικροαξονική τομογραφία ήταν υψηλότερη σε φυσιολογικά στεφανιαία αγγεία και χαμηλότερη στις νεφρικές, τις καρωτίδες και τις μηριαίες αρτηρίες (141). Η σχέση μεταξύ των τριχοειδών του έξω χιτώνα των αγγείων (vasa vasorum) και της εμφάνισης αθηροσκλήρυνσης αποδεικνύεται περαιτέρω από την παρατήρηση ότι η έσω μαστική αρτηρία, ένα αγγείο με χαμηλή επίπτωση αθηροσκλήρυνσης, εμφανίζει

σημαντικά μειωμένη πυκνότητα των αγγείων αυτών στον έξω χιτώνα του τοιχώματός της. Επιπλέον, η συνεισφορά των τριχοειδών του αγγειακού τοιχώματος στα αγγειακά νοσήματα είναι δυνατό να μεσολαβείται από τη φυσική τους ευθραστότητα. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι οι διαφορές στην πυκνότητα των αγγείων αυτών στις διάφορες ανατομικές θέσεις αποδίδονται αρχικά στα δεύτερης γενιάς τριχοειδή του αγγειακού τοιχώματος, τα οποία εμφανίζουν μικρότερο διάμετρο από τα αντίστοιχα της πρώτης γενιάς, είναι λιγότερο ώριμα και προφανώς περισσότερο επιρρεπή σε αιμορραγικά επεισόδια.

Η αγγειογένεση οφείλεται στη συνδυασμένη δράση των διαφόρων κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων που εκκρίνονται από τα διεισδύοντα φλεγμονώδη κύτταρα. Η νεοαγγειογένεση παρατηρείται κατά τις χρόνιες ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αντιδράσεις, οι οποίες χαρακτηρίζονται από την ισχυρή παρουσία των T-λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων στις θέσεις των αλλοιώσεων. Τα T-λεμφοκύτταρα είναι παρόντα σε ποικίλους πληθυσμούς σε αθηροσκληρυντικές βλάβες που παρατηρείται νεοαγγειογένεση, κυρίως στον έσω χιτώνα των παθολογικών αγγείων και πλησίον του νεκρωτικού πυρήνα. Οι μορφολογικές αυτές παρατηρήσεις αποτελούν ισχυρή ένδειξη ότι τα T-λεμφοκύτταρα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και ωρίμανση των νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας. Τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα αποτελούν γνωστή πηγή αγγειογενετικών παραγόντων, περιλαμβανομένου του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και είναι δυνατό να διεγείρουν την αγγειογένεση σε συνδυασμό με την πρόιμη συσσώρευση των λεμφοκυτταρικών πληθυσμών (88). Η εξάρτηση των αγγειογενετικών αποκρίσεων από τα T-λεμφοκύτταρα φαίνεται από πειραματικές συνθήκες ισχαιμίας άκρων απουσία του αντιγόνου επιφανείας CD4, όπου η εξέλιξη της φλεγμονής και ο σχηματισμός παράπλευρων αγγειακών δικτύων είναι σημαντικά μειωμένα. Επιπλέον, η έγχυση T-λεμφοκυττάρων θετικών σε CD4, προκαλεί αύξηση της διείσδυσης μακροφάγων, με αποτέλεσμα την επαναφορά της αιματικής ροής σε περισσότερο φυσιολογικά επίπεδα, την αναστροφή της ισχαιμίας και τη μειωμένη μυϊκή ατροφία. Τα δεδομένα αυτά υπογραμμίζουν τη σημασία των θετικών σε CD4 T-λεμφοκυττάρων ως παράγοντες που συμβάλλουν στην έναρξη των αγγειογενετικών αντιδράσεων και την προσέλκυση μακροφάγων, τα οποία με τη σειρά τους εκκρίνουν ένα εύρος κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων, περιλαμβανομένου του VEGF και διευκολύνουν την αγγειογένεση στις αντίστοιχες θέσεις βλάβης (142).

Διάφορες αναφορές έχει αναδείξει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του αντιγόνου επιφανείας CD40 και του αντίστοιχου συνδέσμου του (CD40L), τα οποία διεγείρουν πολλαπλές δράσεις στη διαδικασία της φλεγμονής, περιλαμβανομένων της παραγωγής κυτταροκινών, χημειοκινών και του παράγοντα αγγειογένεσης VEGF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα στον άνθρωπο έχει αναφερθεί ότι μεσολαβούν στην εξαρτώμενη από την επαφή



έκφραση των μεταλλοπρωτεΐνών του εξωκυτταρίου στρώματος από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω σηματοδότησης από το σύμπλεγμα CD40/CD40L (143). Οι αλληλεπιδράσεις του συμπλέγματος αυτού είναι επίσης δυνατό να διεγείρουν αγγειογενετική απόκριση από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία είναι ευαίσθητα στην αναστολή από τις μεταλλοπρωτεΐνες του στρώματος. Επιπλέον, ο αποκλεισμός του παράγοντα επιφανείας CD40 έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση πολλαπλών αγγειογενετικών παραγόντων, περιλαμβανομένων των VEGF (144), του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών και των υποδοχέων Flt-1 και Flt-4 (145). Οι μελέτες αυτές παρέχουν τις ενδείξεις τις προαγγειογενετικής λειτουργίας των αλληλεπιδράσεων του συμπλέγματος CD40/CD40L.

Στις αθηροσκληρυντικές αλλοιώσεις ο ρόλος της φλεγμονής που προκαλείται από τις κυτταροκίνες και της ιστικής καταστροφής έχει αναγνωρισθεί ως σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στην αστάθεια της βλάβης (95). Η παραγωγή των κυτταροκινών αυτών διεγείρεται από τη σηματοδότηση από συγκεκριμένους υποδοχείς (toll-like receptors, TLRs), οι οποίοι αναγνωρίζουν μόρια του ξενιστή που απελευθερώνονται από την ιστική και κυτταρική κάκωση. Οι TLRs ενεργοποιούν τον προφλεγμονώδη πυρηνικό παράγοντα έκφρασης κB (NF-κB) και τη μιτογόνο οδό της πρωτεϊνικής κινάσης, με αποτέλεσμα την παραγωγή κυτταροκινών που ενισχύουν την τοπική φλεγμονή. Η σηματοδότηση μέσω των TLRs διευκολύνεται από την πρωτεΐνη διαφοροποίησης του μυελοειδούς (MyD88) και άλλες αντίστοιχες πρωτεΐνες οι οποίες εκφράζουν κοινές ομόλογες θέσεις με ενδοκυτταρικές θέσεις σηματοδότησης του υποδοχέα της ιντερλευκίνης-1, με αποτέλεσμα την αλληλεπίδρασή τους με τις διάφορες φάσεις ενεργοποίησης της οδού NF-κB (146). Στην αθηροσκλήρυνση στον άνθρωπο οι υποδοχείς TLR1, TLR2 και TLR4 υπερεκφράζονται στο ενδοθήλιο, καθώς και σε θέσεις όπου υπάρχει συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων σε πρωτεϊνικό επίπεδο και επίπεδο mRNA. Οι υποδοχείς αυτοί συνεντοπίζονται στα κύτταρα που εκφράζουν δείκτες των μακροφάγων και των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ έχει αναφερθεί ότι ορισμένα T-λεμφοκύτταρα επίσης εκφράζουν τους υποδοχείς TLR2 και TLR4 (147). Επιπλέον, ινοβλάστες και δενδριτικά κύτταρα του έξω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος εκφράζουν λειτουργικούς υποδοχείς TLR4 και είναι ικανά να παράγουν μία ποικιλία κυτταροκινών μετά την ενεργοποίηση των υποδοχέων αυτών (148).

Έχει αναφερθεί ότι οι υποδοχείς TLRs ή οι συνοδές πρωτεΐνες τους, όπως είναι η MyD88 επιδρούν σημαντικά στην εξέλιξη και την αποσταθεροποίηση των αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων. Υπό την έννοια αυτή, γενετική έλλειψη του TLR4 ή της MyD88 σε πειραματόζωα που στερούνται απολιποπρωτεΐνης E, έχει ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση της αορτικής αθηροσκλήρυνσης παρά την παρουσία υπερχοληστερολαιμίας (149). Η μείωση αυτή του αθηρωματικού φορτίου σχετίζεται με τα χαμηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντων κυτταροκινών, όπως είναι η ιντερλευκίνη-12 και η πρωτεΐνη προσέλκυσης των μονοκυττάρων, καθώς και από

τους μειωμένους πληθυσμούς μακροφάγων εντός των αναπτυσσόμενων αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων και την εξασθενημένη έκφραση παραγόντων πρόσδεσης των λευκοκυττάρων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Είναι επίσης σημαντικό να αναφερθεί ότι μελέτες σε ανθρώπους συνιστούν ότι η έκφραση του υποδοχέα TLR4 είναι αυξημένη σε αθηρωματικές πλάκες πλούσιες σε λιπίδια συγκριτικά με την αντίστοιχη έκφραση του υποδοχέα αυτού σε ινώδεις πλάκες. Επιπλέον, η ικανότητα του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος να ενισχύει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις ως απάντηση στις ενδοτοξίνες είναι δυσλειτουργική σε ασθενείς με πολυμορφισμούς στον υποδοχέα TLR4 (150). Οι μελέτες αυτές συνιστούν ότι οι υποδοχείς TLRs είναι ουσιαστικής σημασίας για την προαγωγή των φλεγμονωδών διεργασιών στις αθηροσκληρυντικές αλλοιώσεις. Παρά τις επιδράσεις της ενεργοποίησης των φλεγμονωδών κυττάρων στις αγγειογενετικές αποκρίσεις, η ενεργοποίηση των υποδοχέων TLRs πιθανώς επιδρά άμεσα στην παραγωγή του αυξητικού παράγοντα VEGF. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα συμπλέγματος G-πρωτεΐνης-αδενοσίνης της κυτταρικής επιφάνειας των μακροφάγων προκαλεί, εκτός από αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα, και υπερέκφραση του VEGF (151). Παρά το γεγονός ότι η χορήγηση αγωνιστών αδενοσίνης στα μακροφάγα προκαλεί ήπια αύξηση της έκφρασης VEGF, η διέγερση με τον υποδοχέα της αδενοσίνης A<sub>2A</sub>AR, παρουσία των υποδοχέων TLRs προκαλεί αύξηση της έκκρισης VEGF σε επίπεδα παρόμοια με αυτά που παρατηρούνται σε συνθήκες υποξίας και ίσως αποτελεί τον ισχυρότερο διεγέρτη της έκφρασης του αυξητικού παράγοντα VEGF.

Ο ρόλος του συμπλέγματος CD40/CD40L και των υποδοχέων TLRs στη νεοαγγειογένεση της αθηρωματικής πλάκας, αποτελεί προς το παρόν μία υπόθεση. Πειραματικές μελέτες έχουν σαφώς αναδείξει το ρόλο που διαδραματίζουν οι παράγοντες αυτοί στην εμφάνιση και την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης, παρόλ' αυτά, καμία μελέτη προς παρόν δεν έχει αναδείξει ότι αναστολή του συμπλέγματος CD40/CD40L ή των υποδοχέων TLRs είναι δυνατό να αναστείλει την εξέλιξη της αγγειογένεσης στον έξω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος.

## 5. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΩΤΙΔΙΚΗΣ ΠΛΑΚΑΣ

Η αθηρωματική στένωση της καρωτίδας αποτελεί ένα καλά καθιερωμένο παράγοντα κινδύνου για την πρόκληση ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου, συμβάλλοντας περίπου στο 10-20% των παροδικών και των ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων (152). Τυχαιοποιημένες μελέτες οι οποίες συγκρίνουν τη συντηρητική φαρμακευτική αγωγή με τη χειρουργική επαναιμάτωση για την αντιμετώπιση της καρωτιδικής αθηρωμάτωσης επιλέγουν τους ασθενείς με βάση τη σοβαρότητα της στένωσης του αγγειακού αυλού (153,154). Εφόσον οι παρούσες κατευθυντήριες οδηγίες έχουν καθιερώσει το βαθμό της στένωσης του αγγειακού αυλού ως το βασικό δείκτη και την εκτίμηση του κινδύνου εγκεφαλικού επεισοδίου και τον καθορισμό της θεραπευτικής προσέγγισης με επεμβατικές μεθόδους, η αντίστοιχη έρευνα που πραγματοποιείται εστιάζει στον καθορισμό ευαίσθητων, ειδικών και οικονομικά αποτελεσματικών τεχνικών για την ακριβή μέτρηση του βαθμού της αγγειακής στένωσης (155).

Είναι γνωστό ότι η σταθερότητα της στεφανιαίας αθηρωματικής πλάκας και ο ευάλωτος χαρακτήρας της αποτελούν περισσότερο σημαντικά χαρακτηριστικά σε σύγκριση με το βαθμό της στένωσής της για τον καθορισμό του κινδύνου οξέως στεφανιαίου συνδρόμου. Όσον αφορά τις καρωτίδες, έχει αναφερθεί ότι τα χαρακτηριστικά αυτά ίσως δε διαδραματίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο, λόγω της μεγαλύτερης διαμέτρου και των διαφορετικών αιμοδυναμικών συνθηκών που επικρατούν. Επιπλέον, οι στεφανιαίες αρτηρίες τυπικά προκαλούν συμπτώματα λόγω της ρήξης της αθηρωματικής πλάκας και του επακόλουθου θρομβωτικού αποκλεισμού του αγγειακού αυλού, ενώ στην περίπτωση των καρωτίδων τα συμπτώματα προκαλούνται χαρακτηριστικά λόγω της περιφερικής εμβολής θρομβωτικού και αθηρωματικού υλικού, χωρίς συνήθως να υπάρχει τοπικός αγγειακός αποκλεισμός. Παρόλ'αυτά, όλο και περισσότερα στοιχεία υποδεικνύουν ότι οι ασταθείς αθηρωματικές πλάκες των καρωτίδων είναι περισσότερο επιρρεπείς για ρήξη και περιφερική εμβολή, ανεξαρτήτως του βαθμού της αγγειακής στένωσης που προκαλούν. Η ανεπάρκεια του περιορισμού της καρωτιδικής εκτίμησης στο βαθμό στένωσης αυτής από την αθηρωματική πλάκα είναι εμφανής επίσης και από κλινικά στοιχεία. Το κρυπτογενές εγκεφαλικό επεισόδιο, δηλαδή αυτό για το οποίο δεν αποκαλύπτεται οριστικό αίτιο παρά την ενδελεχή του διερεύνηση, παρατηρείται έως και το 30% των ασθενών με ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Έως και το ένα τρίτο των ασθενών με κρυπτογενές εγκεφαλικό επεισόδιο εμφανίζουν μη στενωτικές (ή ελάχιστα στενωτικές) αθηρωματικές πλάκες ομοπλευρώς του εγκεφαλικού επεισοδίου (156). Κατά την εκτίμησή τους με μαγνητική τομογραφία, οι αθηρωματικές αυτές πλάκες παρουσιάζουν διάφορα χαρακτηριστικά αντιπροσωπευτικά του ευάλωτου χαρακτήρα τους, όπως είναι η αιμορραγία εντός της αθηρωματικής πλάκας, η ρήξη αυτής και η παρουσία ενδοαυλικού θρόμβου, με αποτέλεσμα να

είναι εμφανές ότι ένα υψηλό ποσοστό των ισχαιμικών εγκεφαλικών αυτών επεισοδίων να οφείλονται σε ρήξη ή σε διάβρωση των πλακών αυτών υψηλού κινδύνου. Επιπλέον, αρκετοί ασθενείς με αθηρωματικές βλάβες που προκαλούν σημαντική στένωση εμφανίζουν σταθερές πλάκες, οι οποίες πιστεύεται ότι έχουν χαμηλό κίνδυνο για ρήξη (157). Λόγω των ευρημάτων αυτών, την τελευταία δεκαετία παρατηρείται μεταβολή στην ταξινόμηση του κινδύνου που εμφανίζουν οι καρωτιδικές αθηρωματικές βλάβες, όπως αυτός εκτιμάται με τις διάφορες απεικονιστικές μεθόδους, από τη στατική μέτρηση της καρωτιδικής στένωσης προς τις περισσότερο δυναμικές βιολογικές διαδικασίες που παρατηρούνται εντός της αθηρωματικής πλάκας. Η μεταβολή αυτή στον τρόπο της εκτίμησης του ευάλωτου χαρακτήρα της αθηρωματικής πλάκας επιτρέπει τη βελτίωση του καθορισμού του κινδύνου για πρόκληση νευρολογικών συμπτωμάτων τόσο σε ασθενείς με σημαντικές, όσο και σε αυτούς με ήπια στενωτικές βλάβες.

### **5.1. Ιστοπαθολογία της αθηρωματικής πλάκας**

Η απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας είναι άμεσα εξαρτημένη από την κατανόηση των ιστοπαθολογικών χαρακτηριστικών της προχωρημένης αθηρωματικής νόσου. Το 1995, η Αμερικάνικη Καρδιολογική Εταιρία εξέδωσε τα επικυρωμένα κριτήρια για την ιστολογική ταξινόμηση των αθηρωματικών πλακών (158). Η αρχική φάση της δημιουργίας της αθηρωματικής πλάκας περιλαμβάνει την εναπόθεση μακροφάγων και αφρώδων κυττάρων (Τύπου I), ακολουθείται από βλάβες που εμπεριέχουν λιπώδεις κηλίδες με ενδοκυττάρια εναπόθεση λιπιδίων κατά κύριο λόγο (Τύπου II), ενώ στη συνέχεια επικρατεί κυρίως η εξωκυττάρια εναπόθεση λιπιδίων εντός της αθηρωματικής πλάκας (Τύπου III). Η διεργασία αυτές εξελίσσονται κατά τις τρεις πρώτες δεκαετίες της ζωής και είναι κλινικά σιωπηρές (159). Οι Τύπου IV βλάβες, επίσης γνωστές ως αθηρώματα, αποτελούν την πρώτη εκδήλωση της προχωρημένης αθηρωματικής νόσου και χαρακτηρίζονται από πυκνή εναπόθεση εξωκυττάρων λιπιδίων, κυρίως στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος, γνωστή επίσης και ως λιπιδικός πυρήνας. Στη φάση αυτή της αθηρωματικής νόσου δεν παρατηρείται δημιουργία ινώδους ιστού εντός της πλάκας, ούτε υπάρχουν ανωμαλίες της ενδοαυλικής επιφάνειας ή θρόμβωση. Τα μακροφάγα, τα λεία μυικά και τα φλεγμονώδη κύτταρα (λεμφοκύτταρα και μαστοκύτταρα) μπορούν να παρατηρηθούν στο όριο μεταξύ έσω χιτώνα και λιπιδικού πυρήνα, ενώ μικροαγγεία, μακροφάγα, αφρώδη κύτταρα και λεμφοκύτταρα είναι δυνατό να παρατηρηθούν κατά μήκος της ενδοαυλικής επιφάνειας της αθηρωματικής πλάκας (89). Οι αθηρωματικές βλάβες Τύπου IV θεωρούνται κλινικά σημαντικές, καθώς η ενδοαυλική επιφάνεια της πλάκας δεν εμφανίζει ινώδες περίβλημα, εκθέτοντας τις πρωτεογλυκάνες και τα αφρώδη κύτταρα στην αιματική

κυκλοφορία. Επιπλέον, η πληθώρα των μακροφάγων που εντοπίζονται στην ενδοαυλική επιφάνεια κατά τη φάση αυτή της εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας την καθιστούν επιρρεπή στη δημιουργία σχισμών και την ταχεία εξέλιξή της σε Τύπου VI βλάβες (158). Οι Τύπου V αθηρωματικές βλάβες χαρακτηρίζονται από τη δημιουργία ενός ινώδους περιβλήματος το οποίο επικαλύπτει το λιπιδικό πυρήνα. Το ινοαθήρωμα (Τύπου Va) χαρακτηρίζεται από τον λιπιδικό πυρήνα που καλύπτεται από το ινώδες περίβλημα, οι Τύπου Vb βλάβες χαρακτηρίζονται από τη μερική ασβεστοποίηση του λιπιδικού πυρήνα και άλλων τμημάτων της αθηρωματικής πλάκας, ενώ οι πλάκες οι οποίες εμφανίζουν μικρή περιεκτικότητα σε λιπίδια έχουν ταξινομηθεί ως Τύπου Vc. Σε αυτή τη φάση της εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας παρατηρείται και η έναρξη της στένωσης του αγγειακού αυλού. Από ιστολογικής άποψης, οι Τύπου V βλάβες εμφανίζουν αυξημένο πολλαπλασιασμό των τριχοειδών αγγείων γύρω από τον λιπιδικό πυρήνα και χαρακτηρίζονται από την παρουσία λεμφοκυττάρων, μακροφάγων, πλασματοκυττάρων, καθώς και μικροαιμορραγιών. Επιπλέον, φλεγμονώδης αντίδραση παρατηρείται κατά μήκος των τριχοειδών του έξω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος. Οι αθηρωματικές αυτές πλάκες χαρακτηρίζονται ως κλινικά ενεργείς λόγω της επιρρέπειάς τους για δημιουργία σχισμών, ανάπτυξη αιματωμάτων και δημιουργία θρόμβων, με αποτέλεσμα την εξέλιξή τους σε Τύπου VI βλάβες.

Το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο λόγω της εξωκράνιας καρωτιδικής αθηρωμάτωσης πιστεύεται ότι οφείλεται στην εξέλιξη των αθηρωματικών πλακών Τύπου IV και V σε Τύπου VI. Οι πλάκες Τύπου VI χαρακτηρίζονται από την παρουσία σχισμών στην ενδοαυλική επιφάνειά τους, καθώς και από την αιμορραγία και την εναπόθεση θρομβιδίων στο εσωτερικό τους. Η διαταραχή της δομής της πλάκας λόγω των επιδράσεων της φλεγμονής και των αιμοδυναμικών πιέσεων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία εξελκώσεων (160). Οι εξελκώσεις αυτές, καθώς και οι σχισμές που επεκτείνονται προς τον πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας, έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια της φυσιολογικής ενδοθηλιακής επιφάνειας και την επαφή του νεκρωτικού λιπιδικού πυρήνα στην αιματική κυκλοφορία. Η αιμορραγία επίσης οφείλεται σε διάσπαση των νεοσχηματισμένων, ανώριμων τριχοειδών, τα οποία εντοπίζονται εντός της πλάκας (161). Τα φαινόμενα αυτά είναι εξαιρετικά προθρομβωτικά, με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά ο κίνδυνος για επικείμενα ισχαιμικά επεισόδια. Οι πλάκες με εξελκώσεις και σχισμές είναι δυνατό να στεγανοποιηθούν γύρω από τις θέσεις αιμορραγίας και θρόμβωσης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία αιματωμάτων και θρόμβων παγιδευμένων εντός αυτών (162). Καθώς η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται, η αθηρωματική πλάκα αυξάνεται σε διαστάσεις και κατ'επέκταση αυξάνεται και η ενδοαυλική στένωση που προκαλεί, καθώς και η επίπτωση των περιφερικών θρομβοεμβολικών επεισοδίων. Τα ευρήματα αυτά, έχουν πολλαπλώς επικυρωθεί από ιστοπαθολογικές μελέτες των καρωτιδικών πλακών. Οι μελέτες αυτές σε αθηρωματικές πλάκες

από συμπτωματικούς ασθενείς έχουν αναδείξει υψηλές συγκεντρώσεις φλεγμονωδών κυττάρων, όπως μακροφάγα και λεμφοκύτταρα, καθώς και θέσεις απώλειας του ινώδους περιβλήματος της πλάκας (163). Οι συμπτωματικές καρωτιδικές πλάκες εμφανίζουν επίσης υψηλότερη συχνότητα αιμορραγιών, μεγαλύτερους νεκρωτικούς λιπιδικούς πυρήνες, εντονότερη νεοαγγείωση, λεπτότερο ινώδες περίβλημα, καθώς και συχνότερη παρουσία θρόμβων (164). Αντίθετα, οι σταθερές καρωτιδικές πλάκες χαρακτηρίζονται από παχύτερο ινώδες περίβλημα και απουσία λιπιδικού πυρήνα. Με βάση τα στοιχεία αυτά, ο στόχος της απεικόνισης της αθηρωματικής πλάκας είναι η διάκρισή της σε συνάρτηση με τα βιολογικά της χαρακτηριστικά (165).

## 5.2. Μαγνητική τομογραφία

Η μαγνητική τομογραφία αποτελεί την περισσότερο καθιερωμένη απεικονιστική εξέταση για τον καθορισμό της σύστασης της αθηρωματικής πλάκας. Κατά τη μαγνητική τομογραφία υπάρχουν διάφορες εφαρμοζόμενες συχνότητες που χρησιμοποιούνται για να χαρακτηρίσουν την αθηρωματική πλάκα. Οι λήψεις ταχείας περιστροφής (fast spin echo) είναι μία ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική, η οποία επιτρέπει τις T1 και T2 απεικονίσεις, καθώς και την απεικόνιση πρωτονιακής πυκνότητας. Η τεχνική αυτή μαγνητικής τομογραφίας επιτρέπει την εξαιρετική ανάλυση και διαχωρισμό σήματος, αλλά εμφανίζει το σημαντικό μειονέκτημα του παρατεταμένου χρόνου λήψης, με αποτέλεσμα την αλλοίωση του λαμβανομένου αποτελέσματος λόγω της παλμικής κίνησης των ανατομικών δομών (motion artifact). Για την αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού, υπάρχουν τεχνικές με μικρότερο χρόνο λήψης (166,167). Η διαβαθμιζόμενη απεικόνιση με ή χωρίς παλμική αναστροφή (inversion recovery preparatory pulse) είναι μία τεχνική που επιτρέπει την ταχεία λήψη εικόνων και είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί με αξιοπιστία για την ανίχνευση της αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας και του πλούσιου σε λιπίδια νεκρωτικού πυρήνα στις T1 συχνότητες (168). Μία άλλη ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος μαγνητικής τομογραφίας για την απεικόνιση της καρωτιδικής αθηρωματικής πλάκας είναι η τεχνική του μαύρου αίματος (black-blood technique). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί συχνότητες οι οποίες έχουν ως απεικονιστικό αποτέλεσμα την πρόκληση υψηλής αντίθεσης μεταξύ του σκοτεινού αγγειακού αυλού και του τοιχώματος της αρτηρίας. Η υψηλή αναλογία σήματος προς θόρυβο (signal-to noise ratio) κατά την τεχνική αυτή έχει ως αποτέλεσμα την παράταση του χρόνου της διαγνωστικής εξέτασης. Παρόλ'αυτά, με βάση τη μέθοδο αυτή, αναπτύσσονται τεχνικές που αποσκοπούν στη μείωση του χρόνου λήψης διατηρώντας την υψηλή αναλογία σήματος προς θόρυβο ως πλεονέκτημά τους, προκειμένου να είναι δυνατή η απλή και ταχεία εκτίμηση της αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας στις T1 εικόνες (169). Επιπλέον, η καταστολή της απεικόνισης του λιπώδους ιστού αποτελεί

απαραίτητη προϋπόθεση για τον αποτελεσματικό χαρακτηρισμό της μορφολογίας της αθηρωματικής πλάκας. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται σε όλες τις συχνότητες για την καταστολή του σήματος που λαμβάνεται από το υποδόριο λίπος, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της αντίθεσης μεταξύ των διαφόρων συστατικών της πλάκας, καθώς και μεταξύ του καρωτιδικού τοιχώματος και των περιβάλλοντων ιστών. Επίσης, η καταστολή της απεικόνισης του λίπους στις T1 απεικονίσεις είναι βοηθητική για το διαχωρισμό μεταξύ του υψηλού T1 σήματος του λίπους και αυτού της αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας (170). Τέλος, οι εικόνες που λαμβάνονται με τη χρήση σκιαγραφικού μέσου συμβάλλουν στη διάκριση μεταξύ των διαφόρων συστατικών της πλάκας. Η απεικόνιση με τη χρήση γαδολίνιου είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας, καθώς και για το διαχωρισμό του νεκρωτικού πυρήνα από τον ινώδη ιστό στις T1 εικόνες. Ο πλούσιος σε λιπίδια νεκρωτικός πυρήνας και η αιμορραγία εντός της πλάκας δεν προσλαμβάνουν το σκιαγραφικό αυτό, καθώς τα στοιχεία αυτά είναι ανάγεια, ενώ το ινώδες περίβλημα του νεκρωτικού πυρήνα το προσλαμβάνει με αποτέλεσμα να σκιαγραφείται κατά την απεικόνιση. Αυξημένη σκιαγράφιση με γαδολίνιο σχετίζεται επίσης με νεοαγγείωση και φλεγμονή της αθηρωματικής πλάκας. Τα σωματίδια του μικροσκοπικού υπερπαραμαγνητικού οξειδίου του σιδήρου επίσης χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της πλάκας με τη μαγνητική τομογραφία όπου και υπόκεινται σε μαγνητισμό στις T2 εικόνες (171).

### **5.3. Χαρακτηριστικά της ασταθούς αθηρωματικής πλάκας στη μαγνητική τομογραφία**

Μελέτες που έχουν συγκρίνει τα απεικονιστικά ευρήματα της μαγνητικής τομογραφίας με τα αποτελέσματα της ιστοπαθολογικής ανάλυσης αθηρωματικών πλακών έχουν αναδείξει ότι η μαγνητική τομογραφία είναι δυνατό να διακρίνει με ακρίβεια μεταξύ της ασβεστοποίησης της πλάκας, του ινώδους περιβλήματος, της αιμορραγίας εντός της πλάκας και του πλούσιου σε λιπίδια νεκρωτικού πυρήνα (172). Συνεπώς, η μαγνητική τομογραφία αποτελεί μία άριστη μέθοδο για την ανίχνευση και τη διάκριση μεταξύ της αιμορραγίας εντός της πλάκας και του πλούσιου σε λιπίδια νεκρωτικού πυρήνα. Η αιμορραγία παρατηρείται διαχύτως εντός της πλάκας και συνήθως εντοπίζεται εντός του νεκρωτικού πυρήνα αυτής. Δεδομένου του υψηλού T1 σήματος στο λιπιδικό πυρήνα της πλάκας και σε αυτό που οφείλεται στην αιμορραγία, αρκετές μελέτες έχουν προτείνει τεχνικές για τη διάκριση των δύο αυτών στοιχείων της αθηρωματικής πλάκας. Για παράδειγμα, πρωτόκολλα με τη χρήση πολλαπλών συχνοτήτων είναι δυνατό να επιτύχουν τη διάκριση των δύο αυτών χαρακτηριστικών της ασταθούς πλάκας (172). Κατά το συνδυασμό T1 συχνοτήτων με τις εικόνες που λαμβάνονται από την τεχνική TOF (time of flight), η αιμορραγία απεικονίζεται ως υπερέντονη και στις δύο τεχνικές, ενώ ο πλούσιος σε

λιπιδία νεκρωτικός πυρήνας απεικονίζεται υπερέντονος μόνο στις T1 εικόνες και ισοέντονος στην τεχνική TOF (173). Η προσθήκη T2 και PDW συχνότητων συμβάλλει περαιτέρω στη διάκριση της αιμορραγίας εντός της πλάκας. Στις συχνότητες αυτές, η πρόσφατη αιμορραγία απεικονίζεται ως υπερέντονη και ως υποέντονη/ισοέντονη, αντιστοίχως. Επιπλέον, η πρόσφατη αιμορραγία (1-6 εβδομάδες) απεικονίζεται υπερεντόνως σε όλες τις απεικονίσεις με σκιαγραφικό, ενώ η παλαια αιμορραγία (> 6 εβδομάδες) είναι υποέντονη (174). Η περαιτέρω διευκόλυνση της διάκρισης της αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας είναι δυνατό να επιτευχθεί με λήψεις ταχείας περιστροφής με αποτέλεσμα τον κορεσμό του λίπους του νεκρωτικού πυρήνα. Με βάση τα στοιχεία αυτά, η συσχέτιση μεταξύ μαγνητικής τομογραφίας και των ιστολογικών ευρημάτων του νεκρωτικού πυρήνα και της αιμορραγίας εντός της πλάκας είναι πολύ ισχυρή, ενώ η ευαισθησία και η ειδικότητα για την ανίχνευση των δύο αυτών χαρακτηριστικών της πλάκας είναι πολύ υψηλές και η συμφωνία μεταξύ των παρατηρητών για τη διάκριση και το διαχωρισμό τους είναι άριστη (175).

Η σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας στις T1 εικόνες μετά τη χορήγηση σκιαγραφικού σχετίζεται με τον ευάλωτο χαρακτήρα της πλάκας, τη νεοαγγείωσή της και τη διείσδυση μακροφάγων. Παλαιότερες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει δυναμική μαγνητική τομογραφία με σκιαγραφικό μέσο για την ποσοτικοποίηση της σκιαγράφησης της αθηρωματικής πλάκας και κατά συνέπεια για τον καθορισμό του βαθμού νεοαγγείωσης και φλεγμονής εντός αυτής. Στο πλαίσιο αυτό, έχει αναφερθεί ότι ο συντελεστής μεταφοράς όγκου του έξω χιτώνα του καρωτιδικού αγγειακού τοιχώματος κατά τη δυναμική μαγνητική τομογραφία με σκιαγραφικό εμφανίζει υψηλή συσχέτιση με τη νεοαγγείωση και τη φλεγμονή εντός της αθηρωματικής πλάκας (176). Η τεχνική αυτή έχει αναφερθεί ότι είναι αναπαραγωγίσιμη και αξιόπιστη (177). Μία μελέτη ανέφερε ότι η νεοαγγείωση ήταν παρούσα έως και στο 97% της επιφάνειας της αθηρωματικής πλάκας που σκιαγραφήθηκε με γαδολίνιο, ενώ η διείσδυση των μακροφάγων ήταν παρούσα στο 87% της αντίστοιχης επιφάνειας (178). Η σκιαγράφιση της πλάκας με άλλα σκιαγραφικά μέσα έχει βρεθεί ότι σχετίζεται ισχυρά με την τοπική φλεγμονή και τη διείσδυση μακροφάγων κατά την ιστοπαθολογική ανάλυση της αθηρωματικής πλάκας, καθώς αρκετά από τα σκιαγραφικά αυτά προσλαμβάνονται από τα μακροφάγα (170). Η μαγνητική τομογραφία αποτελεί επίσης μία εξαιρετικά ευαίσθητη απεικονιστική μέθοδο για την ανίχνευση των εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας. Κατά τη μαγνητική αγγειογραφία, το ινώδες περίβλημα της πλάκας απεικονίζεται ως μία σκοτεινή λωρίδα μεταξύ του φωτεινού καρωτιδικού αυλού και τις γκρίζας αθηρωματικής πλάκας. Η απουσία της σκοτεινής αυτής λωρίδας αντιπροσωπεύει την παρουσία εξέλκωσης. Η συμφωνία μεταξύ των παρατηρητών με τη χρήση της τεχνικής αυτής είναι καλή με τιμές κάππα που κυμαίνονται από 0,74 έως 0,85 (172). Επιπλέον, η ασβεστοποίηση της αθηρωματικής πλάκας ανιχνεύεται με τη χρήση της μαγνητικής



τομογραφίας με πολύ καλή ευαισθησία και ειδικότητα (179) και απεικονίζεται υποεντόνως σε όλες τις αλληλουχίες με σκιαγραφικό.

Ο χαρακτηρισμός της καρωτιδικής πλάκας με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας έχει βρεθεί ότι αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο για την πρόβλεψη επικείμενων ισχαιμικών συμβαμάτων. Σε μία συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας βρέθηκε ότι η αιμορραγία εντός της αθηρωματικής πλάκας, ο πλούσιος σε λιπίδια νεκρωτικός πυρήνας και η λέπτυνση και ρήξη του ινώδους περιβλήματος, όπως αυτά χαρακτηρίστηκαν με τη μαγνητική τομογραφία, σχετιζόνταν με υψηλό κίνδυνο ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου (180). Περαιτέρω, τα χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας κατά την απεικόνισή τους με τη μαγνητική τομογραφία εμφανίζουν ισχυρότερη συσχέτιση με τη συμπτωματική κατάσταση του ασθενούς, συγκριτικά με το βαθμό στένωσης του καρωτιδικού αυλού. Σε μία μελέτη 97 ασθενών που εμφάνιζαν καρωτιδικές στενώσεις 50-99%, η παρουσία πλούσιου σε λιπίδια νεκρωτικού πυρήνα και ρήξης του ινώδους περιβλήματος σχετιζόνταν με την παρουσία συμπτωμάτων, ενώ ο βαθμός αθηρωματικής στένωσης δε σχετιζόταν με αυτά. Επιπλέον, το μέγεθος του νεκρωτικού πυρήνα και η παρουσία εξελκώσεων αναφέρθηκαν στη μελέτη αυτή ως προγνωστικοί παράγοντες πρόκλησης ισχαιμικών επεισοδίων (174). Εκτός από τα χαρακτηριστικά αυτά της αθηρωματικής πλάκας, η αιμορραγία εντός αυτής έχει αναφερθεί ότι εμφανίζει πολύ ισχυρή συσχέτιση με την παρουσία συμπτωμάτων, ανεξαρτήτως και πάλι του βαθμού στένωσης. Μελέτες τόσο ασυμπτωματικών, όσο και συμπτωματικών ασθενών που εμφανίζουν μετρίου βαθμού στενώσεις (< 70%) αναφέρουν ότι η ανεύρεση αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας με τη μαγνητική τομογραφία σχετίζεται με υψηλότερο μελλοντικό κίνδυνο για ομόπλευρα ισχαιμικά συμβάματα (181,182), ενώ μία μετα-ανάλυση 8 μελετών ανέφερε ότι η αιμορραγία εντός της πλάκας σχετιζόταν με ετήσιο κίνδυνο 17,7% για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (183). Η σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας, ως δείκτης τοπικής νεοαγγείωσης και φλεγμονής, σχετίζεται επίσης με την παρουσία συμπτωμάτων ή αυξημένο κίνδυνο για επικείμενη πρόκλησή τους. Στο πλαίσιο αυτό, έχει αναφερθεί ότι η σκιαγράφιση της πλάκας κατά τη δυναμική μαγνητική τομογραφία με σκιαγραφικό εμφανίζει σημαντική συσχέτιση με ομόπλευρα ισχαιμικά συμβάματα, ανεξαρτήτως του βαθμού στένωσης του καρωτιδικού αυλού (184). Το εύρημα αυτό, είναι συμβατό με προηγούμενες αναφορές, σύμφωνα με τις οποίες παρατηρείται αυξημένη έκφραση της αγγειογενετικής οδού στις ασταθείς αθηρωματικές πλάκες, υπογραμμίζοντας τον ουσιαστικό ρόλο της νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας στον ευάλωτο χαρακτήρα της.

Η μαγνητική τομογραφία έχει χρησιμοποιηθεί επίσης για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της φαρμακευτικής θεραπείας όσον αφορά την αύξηση της σταθερότητας της αθηρωματικής πλάκας. Μία τυχαίοποιημένη μελέτη συνέκρινε την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με στατίνη με αυτήν της θεραπείας με στατίνη και νιασίνη και χρησιμοποιώντας

απεικόνιση της αθηρωματικής πλάκας με μαγνητική τομογραφία ανέφερε ότι και με τις δύο θεραπείες παρατηρήθηκε εξίσου σημαντική μείωση του όγκου της πλάκας (185). Μία άλλη μελέτη, ανέφερε ότι η θεραπεία με υψηλές δόσεις ατορβαστατίνης είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική ελάττωση του όγκου του πλούσιου σε λιπίδια νεκρωτικού πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τη χρήση της μαγνητικής τομογραφίας (186). Περαιτέρω, η θεραπεία με ροσουβαστατίνη σχετιζόταν με σημαντική, έως και 60% μείωση του όγκου του νεκρωτικού πυρήνα (187). Στο πλαίσιο της θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενών με αθηρωματική καρωτιδική στένωση, η μαγνητική τομογραφία έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση υποψηφίων για χειρουργική επαναιμάτωση. Έτσι, ασθενείς με χαμηλόβαθμες καρωτιδικές στενώσεις και εμφανή αιμορραγία εντός της πλάκας στη μαγνητική τομογραφία εμφάνιζαν υψηλό κίνδυνο για επικείμενα ισχαιμικά επεισόδια, ακόμα και κατά τη διάρκεια της λήψης αντιπηκτικών και θεραπείας με στατίνες. Οι ασθενείς αυτοί με αιμορραγία εντός της πλάκας, καθώς δεν οφελούνταν από τη φαρμακευτική θεραπεία, αντιμετωπίστηκαν με καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, η οποία είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του κινδύνου ισχαιμικών επεισοδίων (188). Επιπλέον, η μελέτη της καρωτιδικής πλάκας με μαγνητική τομογραφία έχει σημαντική χρησιμότητα για την αναγνώριση ασθενών, οι οποίοι θα ήταν καλύτεροι υποψήφιοι για καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, συγκριτικά με την τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης, καθώς στην τελευταία περίπτωση, η ελάττωση του κινδύνου ισχαιμικών επεισοδίων είναι σαφώς μικρότερη σε αυτούς με απεικονιστικά χαρακτηριστικά της ευάλωτης πλάκας κατά τη μαγνητική τομογραφία (189,190).

#### **5.4. Αξονική τομογραφία**

Οι δύο βασικές τεχνικές αξονικής τομογραφίας για το χαρακτηρισμό της αθηρωματικής πλάκας είναι η αξονική τομογραφία με πολλαπλούς αισθητήρες (MDCT) και η διπλής πηγής αξονική τομογραφία (DSCT). Η τεχνική MDCT επιτρέπει την πολυδιάστατη ανακατασκευή των λαμβανομένων εικόνων στο εγκάρσιο, οβελιαίο και στεφανιαίο επίπεδο, καθώς και εικόνες υψηλής ανάλυσης, έως και υποχιλιοστομετρικού επιπέδου, παρόμοια με τη μαγνητική τομογραφία (191). Οι αθηρωματικές πλάκες είναι δυνατό να απεικονισθούν με τη χρήση σκιαγραφικού μέσου κατά την αξονική αγγειογραφία, ενώ η ασβεστοποίηση της πλάκας, το πάχος του ινώδους περιβλήματός της, η αιμορραγία εντός αυτής και ο πλούσιος σε λιπίδια νεκρωτικός πυρήνας μπορούν να χαρακτηρισθούν με την τεχνική MDCT με βάση την ανάλυση των μονάδων Hounsfield (192). Επιπλέον, η υψηλή ανάλυση που προσφέρει η τεχνική MDCT επιτρέπει την ακριβή αναγνώριση εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας μεγέθους έως και 1mm. Η σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας μετά από χορήγηση σκιαγραφικού μέσου

αποτελεί μία εξίσου αποτελεσματική απεικονιστική παράμετρο. Οι βασικοί περιορισμοί της τεχνικής MDCT είναι οι αδυναμία αποτελεσματικής απεικόνισης σε θέσεις με βαρεία εναπόθεση αλάτων ασβεστίου, η χρήση ιωδιωμένων σκιαγραφικών μέσων και η έκθεση στην ακτινοβολία.

Η τεχνική DSCT χρησιμοποιεί δύο πηγές ακτινοβολίας με διαφορετικά επίπεδα εκπεμπόμενης ενέργειας, με αποτέλεσμα να προκύπτουν δύο διαφορετικές τιμές μονάδων Hounsfield στον ίδιο ιστό. Η τεχνική αυτή επιτρέπει την καλύτερη ιστική διάκριση, καθώς και προσφέρει τη δυνατότητα επεξεργασίας των εικόνων μετά τη λήψη τους (postprocessing) (193). Η τεχνική DSCT προσφέρει επίσης υψηλή ανάλυση εικόνας και μπορεί να συνδυαστεί με αλγόριθμους επεξεργασίας των οστικών δομών, προσφέροντας κατ'αυτόν τον τρόπο βέλτιστη απεικόνιση του αγγειακού δικτύου και τη δυνατότητα ανακατασκευής σε πολλαπλά επίπεδα. Τα πλεονεκτήματα της τεχνικής DSCT συγκριτικά με αυτά της MDCT, περιλαμβάνουν τη δυνατότητα διάκρισης της ασβεστοποιημένης αθηρωματικής πλάκας από το ιωδιωμένο σκιαγραφικό μέσο, επιτρέποντας έτσι την ακριβή εκτίμηση του όγκου της ασβεστοποιημένης πλάκας, καθώς και την εύκολη αφαίρεση των οστικών δομών. Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν μελέτες οι οποίες να συγκρίνουν την ευαισθησία και την ειδικότητα των τεχνικών DSCT και MDCT για το χαρακτηρισμό της καρωτιδικής πλάκας (194).

### **5.5. Χαρακτηριστικά της ασταθούς αθηρωματικής πλάκας στην αξονική τομογραφία**

Παλαιότερες μελέτες για το χαρακτηρισμό των στοιχείων των ασταθών αθηρωματικών πλακών έχουν αναδείξει ότι οι μονάδες Hounsfield είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση του πλούσιου σε λιπίδια νεκρωτικό πυρήνα, του συνδετικού ιστού, της αιμορραγίας εντός της πλάκας, καθώς της ασβεστοποίησης αυτής. Η ασβεστοποίηση αναγνωρίζεται εύκολα από την υψηλή της πυκνότητα (μέση πυκνότητα περίπου 250 μονάδες Hounsfield), παρόλ'αυτά, υπάρχει σημαντική αλληλεπικάλυψη μεταξύ της απεικονιζόμενης πυκνότητας του νεκρωτικού πυρήνα, του συνδετικού ιστού και της αιμορραγίας εντός της αθηρωματικής πλάκας (μέσες πυκνότητες περίπου 30, 45 και 100 μονάδες Hounsfield, αντιστοίχως). Για το λόγο αυτό, η αξιοπιστία της εκτίμησης των συστατικών της πλάκας είναι ελαττωμένη κατά την μεμονωμένη ανάλυση των εικόνων. Εντούτοις, οι μακροσκοπικές μεταβολές, περιλαμβανομένων των εκτεταμένων αιμορραγιών και των ευμεγέθων νεκρωτικών πυρήνων είναι πολύ εύκολο να αναγνωρισθούν με τη χρήση της τεχνικής MDCT, κατά την οποία παρατηρείται υψηλή συμφωνία ανάμεσα σε διαφορετικούς παρατηρητές (195). Ως γενικός κανόνας, όσο χαμηλότερη η απεικονιζόμενη πυκνότητα της αθηρωματικής πλάκας, τόσο περισσότερο αυξημένες είναι οι πιθανότητες αυτή να είναι ευάλωτη. Η τεχνική MDCT είναι επίσης πολύ αποτελεσματική για την ανίχνευση εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας, καθώς και νεοαγγείωσης εντός αυτής, με

ευαισθησία και ειδικότητα αρκετά πάνω από 90%, συγκεκριμένα κατά τις απεικονίσεις σε πολλαπλά επίπεδα (196). Επιπλέον, κατά την τεχνική αυτή παρατηρείται ιδιαίτερα υψηλή συμφωνία μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών στην ανίχνευση των εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας και της σκιαγράφησης της. Παρόλ'αυτά, η μαγνητική αγγειογραφία εμφανίζει ακόμα υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα όσον αφορά την αναγνώριση των χαρακτηριστικών της αθηρωματικής πλάκας που την καθιστούν ευάλωτη (197).

Τα ευρήματα της αγγειογραφίας με την τεχνική MDCT εμφανίζουν υψηλή συσχέτιση με την παρουσία συμπτωμάτων στους ασθενείς με καρωτιδική στένωση. Σε μία μελέτη 97 τέτοιων ασθενών αναφέρθηκε ότι οι συμπτωματικές αθηρωματικές πλάκες εμφάνιζαν σημαντικά υψηλότερο βαθμό σκιαγράφησης μετά τη χορήγηση ενδοφλεβίου σκιαγραφικού μέσου συγκριτικά με τις ασυμπτωματικές πλάκες. Στο πλαίσιο αυτό, μία βασική σκιαγράφιση της τάξης των 15 μονάδων Hounsfield εμφάνιζε ειδικότητα 83% και ευαισθησία 76% (191). Επιπλέον, οι απεικονίσεις καθυστερημένης φάσης εμφανίζουν επίσης ισχυρή συσχέτιση με τη συμπτωματολογία, καθώς οι ασθενείς με σταθερές καρωτιδικές πλάκες εμφανίζουν προοδευτική σκιαγράφιση της πλάκας κατά τις καθυστερημένες λήψεις, ενώ αντίθετα, οι ασταθείς αθηρωματικές πλάκες παρουσιάζουν λιγότερο γραμμική σκιαγράφιση. Το φαινόμενο αυτό πιθανότατα σχετίζεται με την παρουσία εντονότερου βαθμού νεοαγγείωσης στις ασταθείς αθηρωματικές πλάκες, με αποτέλεσμα την εξαγγείωση σκιαγραφικού μέσου από τα ανώριμα νεοαγγεία και την κατακράτησή του στον εξωαγγειακό χώρο της πλάκας (157). Άλλα ευρήματα της MDCT αγγειογραφίας που σχετίζονται με τη νευρολογική συμπτωματολογία περιλαμβάνουν τις διασχίσεις του ινώδους περιβλήματος της αθηρωματικής πλάκας και τον πλούσιο σε λιπίδια νεκρωτικό πυρήνα.

Κάποιες μελέτες έχουν επίσης ερευνήσει τη χρησιμότητα της MDCT αγγειογραφίας ως μέσο παρακολούθησης της ανταπόκρισης στη φαρμακευτική θεραπεία. Σε μία από αυτές, η οποία περιελάμβανε 109 ασθενείς με ιστορικό ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου, πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές MDCT αγγειογραφίες των καρωτίδων σε χρονικό εύρος 5 ετών. Κατά τη μελέτη αυτή, αναφέρθηκε ότι η MDCT αγγειογραφία αποτελεί μία αξιόπιστη απεικονιστική μέθοδο για την παρακολούθηση της προόδου της αθηρωματικής πλάκας και της ανταπόκρισής της στη φαρμακευτική θεραπεία, ενώ η συμφωνία μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών στην αξιολόγηση των λαμβανομένων εικόνων ήταν υψηλή. Περαιτέρω, η μελέτη αυτή ανέδειξε ότι περίπου το ένα τρίτο των ασθενών που βρίσκονταν σε θεραπεία με στατίνες μετά από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο εμφάνισαν ελάττωση του μεγέθους της αθηρωματικής πλάκας με την πάροδο του χρόνου (198). Καμία μελέτη προς το παρόν, δεν έχει χρησιμοποιήσει την MDCT αγγειογραφία ως μέσο επιλογής των ασθενών με καρωτιδική στένωση για επαναιμάτωση.

## 5.6. Η υπερηχογραφία στην απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας

Η δισδιάστατη υπερηχογραφία (B-mode) και η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο αποτελούν τις δύο συχνότερα χρησιμοποιούμενες τεχνικές για την εκτίμηση της καρωτιδικής πλάκας. Η δισδιάστατη υπερηχογραφία τυπικά πραγματοποιείται με γραμμικό μετατροπέα 4 έως 7 MHz και οι εικόνες λαμβάνονται στον επιμήκη άξονα προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η απεικόνιση της αθηρωματικής πλάκας. Έγχρωμες και δυναμικές Doppler απεικονίσεις μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την περαιτέρω διάκριση των ορίων της πλάκας. Η δισδιάστατες υπερηχογραφικές εικόνες χρησιμοποιούνται κυρίως για την εκτίμηση της ηχογένειας της αθηρωματικής πλάκας, ενώ στα σημαντικότερα μειονεκτήματα της τεχνικής αυτής περιλαμβάνονται η απουσία υψηλού βαθμού συμφωνίας μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών, καθώς και η πτωχή αναλογία υπερηχογραφικού σήματος προς τον περιβάλλοντα θόρυβο (199). Τα μειονεκτήματα αυτά είναι δυνατό να αντιμετωπισθούν μερικώς κατά το συνδυασμό απεικονίσεων από διαφορετικές γωνίες λήψης και την εφαρμογή ειδικών αλγορίθμων (200). Επιπλέον, τεχνικές επεξεργασίας των λαμβανομένων εικόνων εφαρμόζονται για τη βέλτιστη εκτίμηση της ηχογένειας της αθηρωματικής πλάκας. Παρόλ'αυτά, αρκετές υπερηχογραφικές μελέτες χρησιμοποιούν την ηχογένεια του υπερκείμενου στερνοκλειδομαστοειδούς μυός ως σημείο αναφοράς βάσει της οποίας συγκρίνεται η ηχογένεια της αθηρωματικής πλάκας. Στους περιορισμούς της δισδιάστατης υπερηχογραφίας περιλαμβάνεται και η διακύμανση των αποτελεσμάτων αυτής αναλόγως της ικανότητας του χειριστή της συσκευής.

Περισσότερο πρόσφατες εξελίξεις στον χαρακτηρισμό της αθηρωματικής πλάκας έχουν πραγματοποιηθεί στον τομέα της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό, κατά την οποία χρησιμοποιείται ένα ενδοφλέβιο σκιαγραφικό μέσο με μικροφουσαλλίδες. Οι μικροφουσαλλίδες αυτές δε διαχέονται στους περιβάλλοντες ιστούς όπως συμβαίνει με άλλα ενδοφλέβια σκιαγραφικά, με αποτέλεσμα τα υπερηχογραφικά σήματα που λαμβάνονται να αντιπροσωπεύουν την ενδαγγειακή πορεία τους. Το φαινόμενο αυτό επιτρέπει την αποτελεσματική μελέτη τόσο του καρωτιδικού αυλού, όσο και των νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας. Όσον αφορά την καρωτιδική στένωση, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μπορεί να εφαρμοσθεί για τη διάκριση της πλήρους απόφραξης από την υψηλόβαθμη στένωση, για την αναγνώριση εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας και για την εκτίμηση της νεοαγγειώσής της (201). Για την πραγματοποίηση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό απαιτούνται ειδικές συχνότητες, οι οποίες καταστέλλουν το σήμα από τους περιβάλλοντες ιστούς και ενισχύουν το σήμα από τις ενδαγγειακές μικροφουσαλλίδες. Επιπλέον, έχουν εξελιχθεί μέθοδοι ποσοτικοποίησης για τη μέτρηση της έντασης του υπερηχογραφικού σήματος και για τη βελτίωση της αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου {TenKate:2013co}.

Παρόλ'αυτά, υπάρχουν περιορισμοί στην εφαρμογή της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό, ενώ στις αντενδείξεις της μεθόδου περιλαμβάνονται αλλεργικές αντιδράσεις στις μικροφουσαλλίδες, η οξεία καρδιακή ανεπάρκεια, η ενδοκαρδίτις, η ασταθής στηθάγχη και η διαφυγή από τις δεξιές προς τις αριστερές καρδιακές κοιλότητες. Η τεχνική αυτή είναι περισσότερο εξαρτώμενη από την ικανότητα του χειριστή και εμφανίζει μεγαλύτερες διακυμάνσεις στα αναφερόμενα αποτελέσματα μεταξύ των διαφορετικών παρατηρητών (202). Περαιτέρω, κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό παρατηρείται το φαινόμενο της ψευδοενίσχυσης, κατά το οποίο τα υπερηχογραφικά κύματα διαχέονται διαμέσω των μικροφουσαλλίδων και αντανακλούν στο αγγειακό τοίχωμα περιφερικά αυτών, με αποτέλεσμα την υπερεκτίμηση της σκιαγράφησης του (203).

Πολλαπλές μελέτες έχουν αναδείξει την ύπαρξη ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των υπερηχογραφικών και των ιστολογικών χαρακτηριστικών της καρωτιδικής πλάκας κατά τη συμβατική δισδιάστατη υπερηχογραφία (204). Η δισδιάστατη καρωτιδική υπερηχογραφία εμφανίζει υψηλή ειδικότητα, αλλά μέτρια ευαισθησία για την αναγνώριση των εξελκώσεων της επιφάνειας της αθηρωματικής πλάκας. Με την απεικονιστική αυτή μέθοδο, η απουσία ινώδους περιβλήματος και η λέπτυνση ή η ρήξη αυτού αποτελούν παράγοντες κινδύνου για οξύ ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Ευμεγέθεις εξελκώσεις της αθηρωματικής πλάκας αναγνωρίζονται ως εμφανείς κρατήρες εντός αυτής με συνοδό αναστροφή ή στάση της αιματικής ροής. Υπάρχει σημαντική διακύμανση στην επίπτωση της εξέλκωσης στις συμπτωματικές αθηρωματικές πλάκες όταν αυτές εκτιμώνται με τη συμβατική δισδιάστατη υπερηχογραφία, που κυμαίνεται από 5% έως 40% (205). Παρόλ'αυτά, η συμβατική υπερηχογραφία εμφανίζει χαμηλή ευαισθησία για την αναγνώριση των εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας συγκριτικά με την αξονική και τη μαγνητική τομογραφία, καθώς και με την ιστοπαθολογική ανάλυση (206). Η ευαισθησία αυτή είναι πολύ χαμηλή κατά την εκτίμηση ασθενών με μετρίου βαθμού στενωτικές βλάβες, στους οποίους ο καθορισμός της ύπαρξης εξέλκωσης είναι σημαντικός, καθώς θα μεταβάλλει τη θεραπευτική τους προσέγγιση (207). Ορισμένοι συγγραφείς έχουν προτείνει ότι η χαμηλή αυτή ευαισθησία είναι δυνατό να βελτιωθεί μεταβάλλοντας τα διαγνωστικά κριτήρια αναγνώρισης της εξέλκωσης της πλάκας (208). Τα συμβατικά κριτήρια καθορίζουν την ύπαρξη κοιλότητας μεγαλύτερης των 2mm, καθώς και την παρουσία υπερηχογραφικού σήματος Doppler εντός της κοιλότητας. Παρόλ'αυτά, έχει προταθεί ότι η αναγνώριση ως εξέλκωση οποιασδήποτε κοιλότητας με συνοδό υπερηχογραφική διαγράμμιση στη βάση της αθηρωματικής πλάκας εμφανίζει σημαντικά υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα. Η απουσία ηχογένειας της αθηρωματικής πλάκας αποτελεί έναν επιπλέον παράγοντα που καταδεικνύει τον ευάλωτο χαρακτήρα της. Η απουσία ηχογένειας αντιπροσωπεύει τον πλούσιο σε λιπίδια νεκρωτικό πυρήνα και παρατηρείται έως και στο 50%

των προσφάτως συμπτωματικών πλακών, συγκριτικά με το 5% των ασυμπτωματικών πλακών (209). Ο κίνδυνος ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου μεταξύ των ασθενών με απουσία ηχογένειας της αθηρωματικής πλάκας, ανεξαρτήτως του βαθμού στένωσης που αυτή προκαλεί, φθάνει το 13%, ο οποίος είναι υψηλότερος από τον αντίστοιχο κίνδυνο μεταξύ των ασθενών οι οποίοι εμφανίζουν απλώς υψηλόβαθμη στένωση. Επιπλέον, το μέγεθος της υπόηχης περιοχής της πλάκας πλησίον του καρωτιδικού αυλού εμφανίζει υψηλή συσχέτιση με τον κίνδυνο ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου (210).

Η υπερηχογραφία με μικροφουσαλλίδες χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο για την αναγνώριση της νεοαγγείωσης εντός της αθηρωματικής πλάκας. Ιστολογικές εκτιμήσεις έχουν αναδείξει ότι η σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας εμφανίζει υψηλή συσχέτιση με την ύπαρξη νεοαγγείων και συνθηκών φλεγμονής εντός αυτής (211). Διάφοροι φλεγμονώδεις δείκτες, συμπεριλαμβανομένης της μεταλλοπρωτεϊνάσης του εξωκυτταρίου στρώματος MMP-9, υπερεκφράζονται στις σκιαγραφούμενες αθηρωματικές πλάκες (212). Μελέτες, οι οποίες συγκρίνουν τη σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας σε συμπτωματικούς και ασυμπτωματικούς ασθενείς, έχουν αναδείξει ότι αυτή είναι σημαντικά αυξημένη στην πρώτη κατηγορία, ενώ επίσης η αυξημένη σκιαγράφιση σχετίζεται με μία γενικότερη αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων (213). Η κατακράτηση μικροφουσαλλίδων στην επιφάνεια της πλάκας κατά τη λήψη καθυστερημένων εικόνων σχετίζεται με την αστάθειά της και την ύπαρξη τοπικής φλεγμονής, καθώς είναι γνωστό ότι τα μακροφάγα φαγοκυτταρώνουν τις μικροφουσαλλίδες (214). Ο συνδυασμός της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό με τη συμβατική δισδιάστατη υπερηχογραφία παρέχει περαιτέρω λεπτομέρειες στο χαρακτηρισμό της αθηρωματικής πλάκας. Στο πλαίσιο αυτό, περισσότερο από το 90% των υπόηχων βλαβών εμφανίζουν σκιαγράφιση με μικροφουσαλλίδες, οι οποίες επίσης χρησιμοποιούνται για το χαρακτηρισμό της επιφάνειας της αθηρωματικής πλάκας και περισσότερο συγκεκριμένα για τις διασχίσεις που απεικονίζονται ως διακοπή της συνέχειας μεταξύ του καρωτιδικού αυλού και του χείλους της πλάκας (215). Συγκριτικά με τη συμβατική δισδιάστατη και την έγχρωμη Doppler υπερηχογραφία, η χρήση σκιαγραφικού στην υπερηχογραφική μελέτη της καρωτιδικής πλάκας, εμφανίζει υψηλότερη συμφωνία μεταξύ των διαφορετικών παρατηρητών, ευαισθησία, ειδικότητα και ακρίβεια όσον αφορά την αναγνώριση εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας (216).

Η υπερηχογραφία της καρωτιδικής αθηρωματικής πλάκας παρουσιάζει όλο και μεγαλύτερη εφαρμογή ως διαγνωστικό μέσο παρακολούθησης των ασθενών που λαμβάνουν αντιλιπιδαιμική αγωγή. Μία μελέτη ανέφερε ότι 80mg ημερήσιας δόσης ατορβαστατίνης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της απουσίας ηχογένειας της καρωτιδικής πλάκας εντός μόλις 30 ημερών (217). Άλλοι συγγραφείς έχουν αναφέρει ότι ασθενείς με μετρίου βαθμού καρωτιδική στένωση

και επιθετική θεραπεία με ατορβαστατίνη παρουσιάζουν σημαντική αύξηση της ηχογένειας της αθηρωματικής πλάκας μετά από 12 μήνες θεραπείας (218). Η νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας όπως αυτή απεικονίζεται κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο επίσης ελαττώνεται μετά από θεραπεία με στατίνες. Τα ευρήματα αυτά υπογραμμίζουν τη σημασία της λεπτομερούς υπερηχογραφικής μελέτης της καρωτιδικής πλάκας στην παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία με στατίνες (219). Επιπλέον, η υπερηχογραφική απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας χρησιμοποιείται ευρέως για την επιλογή των ασθενών που θα υποβληθούν σε επαναγγείωση της καρωτίδας. Μία μελέτη χρησιμοποίησε την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό για την επιλογή των ασθενών με ήπια (< 50%) καρωτιδική στένωση. Στα κριτήρια για επαναγγείωση περιλαμβάνονταν η σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας, η απουσία ηχογένειας, η ετερογένεια της αθηρωματικής πλάκας, οι ανωμαλίες της ενδοαυλικής επιφάνειας και η εξέλκωση της πλάκας ή η ρήξη αυτής, με αποτέλεσμα οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε επεμβατική θεραπεία με βάση τα κριτήρια αυτά ήταν ελεύθεροι σε ποσοστό 98% από ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια για ένα έτος (207). Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για να καθορισθεί εάν τα χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτά εκτιμώνται με την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό και τη συμβατική δισδιάστατη υπερηχογραφία, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν με αξιοπιστία για την επιλογή ασθενών με μικρού βαθμού στενώσεις για χειρουργική επαναγγείωση.

### **5.7. Διακράνιος Doppler υπερηχογραφία**

Η διακράνιος Doppler υπερηχογραφία αποτελεί μία φορητή και μη επεμβατική τεχνική, η οποία χρησιμοποιείται για την απεικόνιση του ενδοκράνιου αγγειακού δικτύου. Γενικά, η απεικόνιση πραγματοποιείται με τη χρήση μεταδότη χαμηλών συχνοτήτων (2MHz), προκειμένου τα υπερηχογραφικά κύματα να διεισδύσουν το θόλο του κρανίου. Τα ακουστικά παράθυρα που χρησιμοποιούνται κοινώς περιλαμβάνουν το διακροταφικό, το διατρηματικό και το διαστοματικό (220). Μία δυνητική παρενέργεια της μεθόδου αυτής είναι η θερμική κάκωση, ειδικότερα κατά τη χρήση του διαστοματικού παραθύρου, η οποία όμως είναι προβληματική μόνο κατά την περίπτωση που χρησιμοποιούνται υψηλότερες συχνότητες. Ο κύριος ρόλος της διακράνιου Doppler υπερηχογραφίας κατά την καρωτιδική απεικόνιση είναι η εκτίμηση των εγκεφαλικών μικροεμβολικών σημάτων (221), ενώ η αρτηρία που προτιμάται για την εκτίμησή τους είναι η μέση εγκεφαλική. Αρκετές μελέτες έχουν συστήσει ότι τα εγκεφαλικά μικροεμβολικά σήματα τα οποία ανιχνεύονται στους ασθενείς με καρωτιδική αθηρωμάτωση οφείλονται στην αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας. Το γεγονός αυτό ενισχύεται από το εύρημα ότι τα μικροεμβολικά σήματα υποστρέφονται ταχέως μετά από καρωτιδική



ενδαρτηρεκτομή (222).

Τα εγκεφαλικά μικροεμβολικά σήματα αποτελούν ισχυρό δείκτη παρουσίας ασταθούς αθηρωματικής πλάκας. Σε μία βιβλιογραφική ανασκόπηση βρέθηκε ότι το 43% των ασθενών με συμπτωματική καρωτιδική στένωση εμφάνιζαν μικροεμβολικά σήματα κατά τη διακράνιο Doppler υπερηχογραφία, συγκριτικά με το 10% των ασυμπτωματικών ασθενών οι οποίοι εμφάνιζαν τα ευρήματα αυτά (223). Επιπλέον, η παρουσία ενός μόνο εγκεφαλικού μικροεμβολικού σήματος σχετιζόταν με αύξηση του κινδύνου κατά 7,5 φορές για μελλοντικά ισχαιμικά επεισόδια σε ήδη συμπτωματικούς ασθενείς και αύξηση κατά 13,4 φορές του κινδύνου για εμβολικό επεισόδιο σε ασυμπτωματικούς ασθενείς (224). Η διακράνιος Doppler υπερηχογραφία εμφανίζει σημαντική συμβολή όταν συνδυάζεται και με άλλες απεικονιστικές μεθόδους. Συγκεκριμένα, ο συνδυασμός της απουσίας ηχογένειας στη συμβατική δισδιάστατη υπερηχογραφία και της παρουσίας εγκεφαλικών μικροεμβολικών σημάτων στη διακράνιο Doppler υπερηχογραφία σχετιζόνταν με αύξηση του κινδύνου για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο κατά 10 φορές στους ασθενείς με ασυμπτωματική καρωτιδική στένωση. Οι ασθενείς αυτοί εμφάνιζαν ετήσιο κίνδυνο 8%, συγκριτικά με τους αντίστοιχους ασθενείς με απουσία των ευρημάτων αυτών, στους οποίους ο ετήσιος κίνδυνος ήταν < 1% (225). Τέλος, ο συνδυασμός νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτή απεικονίζεται στην υπερηχογραφία με σκιαγραφικό και της παρουσίας εγκεφαλικών μικροεμβολικών σημάτων στη διακράνιο Doppler υπερηχογραφία αποτελεί έναν ανερχόμενο ισχυρό προγνωστικό δείκτη για επικείμενο οξύ ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο στους ασθενείς με καρωτιδική αθηρωμάτωση (226).

## 5.8. Μοριακή απεικόνιση

Η κύρια μοριακή απεικονιστική τεχνική που εφαρμόζεται για την εκτίμηση της καρωτιδικής αθηρωματικής πλάκας είναι η 18F-φλουοροδοξυγλυκόζη (FDG) PET/CT. Η FDG μεταβολίζεται μερικώς μέσω γλυκόλυσης εντός της αθηρωματικής πλάκας και αποτελεί δείκτη τοπικής φλεγμονής και υποξίας (227). Η FDG εγχέεται ενδοφλεβίως και η απεικόνιση πραγματοποιείται 60-180 λεπτά μετά την έγχυση, ενώ οι λαμβανόμενες εικόνες ανακατασκευάζονται σε εγκάρσιο, στεφανιαίο και οβελιαίο επίπεδο. Μετά το τέλος της εξέτασης πραγματοποιείται αξονική τομογραφία χαμηλής δόσης ακτινοβολίας, τόσο για τον ανατομικό καθορισμό, όσο και για τη διόρθωση των λαμβανομένων εικόνων (228). Διάφορες παράμετροι θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τον χαρακτηρισμό της αθηρωματικής πλάκας με τη χρήση της ποζιτρονιακής τομογραφίας. Αμέσως μετά την έγχυση της FDG, η συγκέντρωσή της στο αίμα μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την πτωχή ανάλυση, στην περίπτωση της εκτίμησης μίας μικρής ανατομικής περιοχής όπως είναι η καρωτιδική πλάκα. Για το λόγο

αυτό, αρκετή συζήτηση γίνεται όσον αφορά τον ιδανικό χρόνο λήψης των εικόνων μετά την έγχυση της FDG. Τυπικά, όταν η απεικόνιση πραγματοποιείται για τη σταδιοποίηση κακοήθειας, οι εικόνες λαμβάνονται μία ώρα μετά την έγχυση της FDG. Παρόλ'αυτά, είναι γνωστό ότι η λήψη τόσο πρόωρων εικόνων μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη χαμηλή ανάλυσή τους. Με την πάροδο του χρόνου η δραστηριότητα της FDG στο αίμα μειώνεται, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της ανάλυσης. Σε μία μελέτη ασθενών που υποβλήθηκαν σε απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας αναφέρθηκε ότι η λήψη των εικόνων 180 λεπτά μετά την έγχυση είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική βελτίωση της ποσοτικοποίησης του βαθμού φλεγμονής της αθηρωματικής πλάκας, συγκριτικά με την απεικόνιση στα 90 λεπτά. Επιπλέον, η μέγιστη πρόσληψη στα 180 λεπτά σχετιζόταν ισχυρότερα με το 10ετή κίνδυνο για θανατηφόρα καρδιαγγειακά συμβάματα, συγκριτικά με τη μέγιστη πρόσληψη στα 90 λεπτά (229). Μία άλλη σημαντική παράμετρος κατά τη μοριακή απεικόνιση της αθηρωματικής πλάκας είναι ο μεταβολισμός της. Οι δύο βασικές ποσοτικές μέθοδοι για την εκτίμηση της παραμέτρου αυτής είναι ο μεταβολισμός του στόχου συγκριτικά με τους περιβάλλοντες ιστούς και η μέγιστη πρόσληψη της FDG κατά την ποζιτρονική τομογραφία. Οι τιμές αυτές είναι δυνατό να διαιρεθούν περαιτέρω στη μέγιστη και τη μέση τιμή τους. Σύμφωνα με μία μελέτη, η μέγιστη πρόσληψη της FDG αποτελεί από τους περισσότερο αξιόπιστους δείκτες που αντιπροσωπεύει τον ευάλωτο χαρακτήρα της (229). Παρόλ'αυτά, άλλοι συγγραφείς αναφέρουν ότι η μέγιστη και η μέση τιμή της πρόσληψης της FDG του στόχου προς τους περιβάλλοντες ιστούς αποτελούν περισσότερο αξιόπιστους δείκτες για την αναγνώριση της φλεγμονής εντός της αθηρωματικής πλάκας (230). Ένα από τα σημαντικά πλεονεκτήματα της ποζιτρονικής τομογραφίας της καρωτιδικής πλάκας είναι η υψηλή αναπαραγωγικότητα των τεχνικών μέτρησης. Διάφορες μελέτες έχουν αναφέρει ότι κατά τη διαγνωστική αυτή τεχνική η συμφωνία μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών είναι άριστη (231,232).

Αρκετές μελέτες έχουν επίσης πραγματοποιηθεί για τη συσχέτιση των ευρημάτων της ποζιτρονικής τομογραφίας με τα αποτελέσματα της ιστολογικής εξέτασης της αθηρωματικής πλάκας. Σύμφωνα με μία από αυτές, η υψηλή FDG δραστηριότητα στις καρωτιδικές πλάκες παρατηρείται στις θέσεις διείσδυσης των μακροφάγων (233). Σε μία άλλη μελέτη 21 ασθενών που υποβλήθηκαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή μετά από μελέτη της καρωτιδικής πλάκας με ποζιτρονική τομογραφία, η μέγιστη πρόσληψη της FDG σχετιζόταν με αυξημένη χρώση έναντι του αντιγόνου CD68 που αποτελεί δείκτη δραστηριότητας των μακροφάγων (234). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η χρώση με αντισώματα έναντι των αντιγόνων CD68 είναι υψηλότερη στις αθηρωματικές πλάκες με υψηλότερη παρά με χαμηλότερη πρόσληψη FDG (235). Άλλες μελέτες έχουν συσχετίσει τα ευρήματα της ποζιτρονικής τομογραφίας με αυτά της απεικόνισης της καρωτιδικής πλάκας με μαγνητική τομογραφία και αναφέρουν ότι η πρόσληψη της FDG είναι

υψηλότερη στις πλάκες πλούσιες σε λιπίδια συγκριτικά με αυτές πλούσιες σε κολλαγόνο (236). Παρά το γεγονός ότι η πρόσληψη της FDG σχετίζεται με την τοπική παρουσία φλεγμονής, η συσχέτιση με τη νεοαγγείωση της καρωτιδικής πλάκας είναι στην καλύτερη περίπτωση ασθενής (198). Συνεπώς, η απεικονιστική αυτή μέθοδος πιθανώς δεν είναι ιδανική για την εκτίμηση του ευάλωτου χαρακτήρα της αθηρωματικής πλάκας και της προόδου της. Άλλες μελέτες έχουν αναφέρει ότι η αυξημένη πρόσληψη της FDG από την καρωτιδική πλάκα σχετίζεται με την παρουσία κλινικών συμπτωμάτων, καθώς οι πλάκες που προσλαμβάνουν την FDG είναι σημαντικά περισσότερο πιθανό να εντοπισθούν σε συμπτωματικούς ασθενείς, καθώς και να σχετίζονται με μελλοντικά ισχαιμικά επεισόδια (237). Η απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας με τη χρήση της FDG, αποτελεί μία εξαιρετικά αξιόπιστη μέθοδο όταν συνδυάζεται με άλλες απεικονιστικές τεχνικές και ειδικότερα με τη μαγνητική τομογραφία. Διάφοροι ερευνητές έχουν εξετάσει την αξία του συνδυασμού της ποζιτρονιακής τομογραφίας για την αναγνώριση ενεργού φλεγμονής με τη μαγνητική τομογραφία για την εντόπιση ανησυχητικών μορφολογικών χαρακτηριστικών, προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η ποσοτικοποίηση του κινδύνου για μελλοντικά ισχαιμικά συμβάματα. Στο πλαίσιο αυτό, μία μελέτη σε 49 ασθενείς ανέφερε την ύπαρξη ασθενούς συσχέτισης μεταξύ της φλεγμονής εντός της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τη χρήση ποζιτρονιακής τομογραφίας και της νεοαγγείωσης που παρατηρήθηκε με την χρήση δυναμικής μαγνητικής τομογραφίας (238). Το εύρημα αυτό συνιστά ότι οι δύο αυτές απεικονιστικές τεχνικές είναι συμπληρωματικές η μία της άλλης. Περαιτέρω, έχει αναφερθεί η ύπαρξη ασθενούς αντίστροφης συσχέτισης μεταξύ της νεοαγγείωσης κατά τη δυναμική μαγνητική τομογραφία και της φλεγμονής κατά την ποζιτρονιακή τομογραφία (239). Παρομοίως, η πρόσληψη της FDG δε συσχετίζεται με την αιμορραγία εντός της πλάκας, όπως αυτή απεικονίζεται κατά τη μαγνητική τομογραφία. Είναι σαφές ότι απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την ανάπτυξη προτύπων ολοκλήρωσης των ευρημάτων της ποζιτρονιακής και της μαγνητικής τομογραφίας, όσον αφορά την εκτίμηση του κινδύνου που εμφανίζουν οι ασθενείς με καρωτιδική αθηρωματική νόσο.

Επιπλέον, η ποζιτρονιακή απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας έχει χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο παρακολούθησης της ανταπόκρισης στη φαρμακευτική αγωγή των ασθενών με καρωτιδική στένωση. Σε μία μελέτη 43 ασθενών, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν στη λήψη συμβαστατίνης ή καθόλου χορήγησής της αναφέρθηκε ότι η θεραπεία με στατίνη είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική ελάττωση της πρόσληψης της FDG από την καρωτιδική πλάκα (240). Μία παρόμοια μελέτη ανέφερε ότι η θεραπεία με υψηλές δόσεις στατίνης είχε ως αποτέλεσμα τη δόσοεξαρτώμενη ελάττωση της πρόσληψης της FDG μετά από μόλις 4 εβδομάδες θεραπείας (241). Επίσης, μία άλλη μελέτη ανέφερε ότι η χορήγηση πιογλιταζόνης είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της πρόσληψης της FDG και συνεπώς της τοπικής φλεγμονής εντός της καρωτιδικής

πλάκας σε διαβητικούς ασθενείς με καρωτιδική αθηρωμάτωση (242). Με βάση τις προαναφερθείσες μελέτες είναι σαφές ότι η ποζιτρονική τομογραφία με τη χρήση της FDG αποτελεί μία ανερχόμενη και υποσχόμενη διαγνωστική μέθοδο για τη μέτρηση της ανταπόκρισης στη φαρμακευτική θεραπεία στους ασθενείς με καρωτιδικές αθηρωματικές βλάβες. Επί του παρόντος, δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες με ποζιτρονική τομογραφία για την αναγνώριση υποψηφίων ασθενών για καρωτιδική επαναγγείωση.

Διάφοροι άλλοι μοριακοί δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί για την απεικόνιση της αθηρωματικής πλάκας. Ανάμεσα σε αυτούς, το φθοριούχο νάτριο αποτελεί ένα δείκτη για την αναγνώριση ενεργών μικροαβεστώσεων στις αθηρωματικές πλάκες. Οι μικροσκοπικές αυτές εναποθέσεις ασβεστίου πιστεύεται ότι σηματοδοτούν την πρόοδο, τη φλεγμονή και τελικά τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας (243). Η ποζιτρονική τομογραφία με τη χρήση του φθοριούχου νατρίου έχει αναφερθεί ως περισσότερο αξιόπιστη διαγνωστική εξέταση για την αναγνώριση ευάλωτων στεφανιαίων αθηρωματικών βλαβών. Σε ότι αφορά τις καρωτιδικές πλάκες, έχει αναφερθεί ότι η πρόσληψη του φθοριούχου νατρίου παρατηρείται σε όλες τις θέσεις ρήξης της καρωτιδικής πλάκας και σχετίζεται ισχυρά με την ενεργό ασβεστοποίηση, τη διήθηση των μακροφάγων την απόπτωση και τη νέκρωση (244). Επιπλέον, διάφοροι άλλοι παράγοντες οι οποίοι στοχεύουν μόρια που εκφράζονται σε σημαντικό βαθμό στις ευάλωτες αθηρωματικές πλάκες έχουν προταθεί για την απεικόνιση και την εκτίμηση των καρωτιδικών αθηρωματικών βλαβών. Μεταξύ αυτών, η στόχευση της ανβ3 ιντεγκρίνης που εκφράζεται στα αγγειογενετικά κύτταρα και τα μακροφάγα και η στόχευση του φυλλικού οξέως που υπερεκφράζεται στα μακροφάγα αποτελούν υποσχόμενες μοριακές μεθόδους για τη μελέτη της καρωτιδικής πλάκας (245). Στο ίδιο πλαίσιο, η απεικόνιση των μεταλλοπρωτεϊνών του εξωκυτταρίου στρώματος της καρωτιδικής πλάκας εμφανίζουν υποσχόμενα αποτελέσματα σε προκλινικές μελέτες (246). Παρόλ'αυτά, κανένας από τους μοριακούς αυτούς δείκτες δεν έχει επικυρωθεί από μεγάλες κλινικές μελέτες.

Οι σύγχρονες απεικονιστικές τεχνικές για το χαρακτηρισμό της καρωτιδικής πλάκας και του ευάλωτου χαρακτήρα της εμφανίζουν σημαντική χρησιμότητα για την εκτίμηση του κινδύνου επικείμενου ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου. Η χρήση του βαθμού στένωσης της καρωτιδίας εμφανίζει σαφείς περιορισμούς, οι οποίοι είναι δυνατό να ξεπεραστούν με την εφαρμογή των απεικονιστικών αυτών τεχνικών. Αντιπροσωπευτικά κλινικά παραδείγματα αποτελούν η εκτίμηση του κινδύνου ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου στους ασυμπτωματικούς ασθενείς με υψηλού βαθμού καρωτιδική στένωση, καθώς και σε συμπτωματικούς ασθενείς με ήπια ή μέτρια στένωση της καρωτιδίας ομοπλεύρως της συμπτωματικής περιοχής. Στις περιπτώσεις αυτές, οι σύγχρονες απεικονιστικές τεχνικές για το χαρακτηρισμό της αθηρωματικής πλάκας είναι δυνατό να συμβάλλουν στο καθορισμό του κινδύνου για

εγκεφαλικό επεισόδιο, καθώς και στην εξατομίκευση της θεραπευτικής αντιμετώπισης. Μελλοντικές μελέτες οι οποίες θα συγκρίνουν διαφορετικές απεικονιστικές τεχνικές για την εκτίμηση της καρωτιδικής πλάκας θα είναι εξαιρετικά χρήσιμες, αλλά είναι αρκετά πιθανό ότι μία διαγνωστική στρατηγική η οποία θα συνδυάζει περισσότερες από μία απεικονιστικές τεχνικές στην προσέγγιση της καρωτιδικής αθηρωματικής νόσου θα αποδειχθεί περισσότερο αξιόπιστη, καθώς θα συνδυάζει συμπληρωματικά στοιχεία των διαφορετικών απεικονιστικών προσεγγίσεων. Στο πλαίσιο αυτό, θα πρέπει επίσης να πραγματοποιηθούν και αναλύσεις κόστους για την αποτελεσματικότητα των διαφόρων διαγνωστικών προσεγγίσεων. Αρκετές μικρές κλινικές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει σύγχρονες απεικονιστικές τεχνικές χαρακτηρισμού της καρωτιδικής πλάκας για τον περαιτέρω καθορισμό της θεραπευτικής προσέγγισης αυτών των ασθενών, περιλαμβανομένων της επιλογής υποψηφίων για φαρμακευτική ή χειρουργική θεραπεία, καθώς και της παρακολούθησης της εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας σε συνάρτηση με την εφαρμοζόμενη φαρμακευτική θεραπεία. Είναι σαφές ότι απαιτούνται μεγαλύτερες πολυκεντρικές μελέτες για να καθορίσουν εάν η απεικόνιση της αθηρωματικής πλάκας είναι αποτελεσματικότερη από την απλούστερη εκτίμηση του βαθμού καρωτιδικής στένωσης για την επιλογή των ασθενών εκείνων που θα επωφεληθούν από τη χειρουργική επαναγγείωση της καρωτίδας.

## 6. ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΑ ΜΕ ΣΚΙΑΓΡΑΦΙΚΟ ΜΕΣΟ

Η αθηροσκληρυντική νόσος που προκαλεί στένωση της καρωτίδας αποτελεί μία από τις βασικότερες αιτίες πρόκλησης εγκεφαλικών ισχαιμικών επεισοδίων. Σημαντικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στις Ηνωμένες Πολιτείες (247) και στην Ευρώπη (248) έχουν συσχετίσει το βαθμό στένωσης της καρωτίδας και τον κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου σε συμπτωματικούς ασθενείς. Οι υπάρχουσες κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν την αντιμετώπιση της καρωτιδικής στένωσης με καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή στους συμπτωματικούς ασθενείς (οι οποίοι ορίζονται ως οι ασθενείς εκείνοι που έχουν προσβληθεί είτε από παροδικό ισχαιμικό, είτε από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο που δεν προκαλεί όμως μόνιμη αναπηρία), η οποία θεωρείται μικρού ή μέτριου χειρουργικού κινδύνου με ομόπλευρη καρωτιδική στένωση μεγαλύτερη ή ίση με 70% στη μη επεμβατική απεικόνιση ή μεγαλύτερη ή ίση με 50% στην αγγειογραφία, εφόσον ο προεγχειρητικά υπολογιζόμενος κίνδυνος είναι μικρότερος από 6%. Η σύσταση αυτή είναι συμβατή με τα κλινικά δεδομένα σύμφωνα με τα οποία οι συμπτωματικοί ασθενείς που υποβάλλονται σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή εμφανίζουν 5-ετή επιβίωση 93% χωρίς να προσβληθούν από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (249). Παρόλ' αυτά, στους ασθενείς με μετρίου βαθμού καρωτιδική στένωση (οριζόμενη ως στένωση 50-69%), καθώς και στους ασυμπτωματικούς ασθενείς με υψηλού βαθμού στένωση (>70%), ο ρόλος της επαναγγείωσης είτε με καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, είτε με διαδερμική τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης είναι λιγότερο σαφής. Επί του παρόντος, οι θεραπευτικές αποφάσεις βασίζονται μόνο στη σοβαρότητα της στένωσης σε σχέση με την παρουσία ή απουσία νευρολογικών συμπτωμάτων. Η χρήση της αγγειακής στένωσης ως δείκτη για την εκτίμηση της έκτασης της καρωτιδικής αθηροσκληρυνσης δεν είναι παρόλ' αυτά πλήρως αξιόπιστη, καθώς αυτή είναι δυνατό να μην αντιπροσωπεύει πλήρως την αθηρωματική πλάκα λόγω της επίδρασης της θετικής αναδιαμόρφωσης του αγγειακού τοιχώματος (positive arterial wall remodeling). Οι παρούσες κατευθυντήριες οδηγίες επίσης δε λαμβάνουν υπόψη άλλα χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας, περιλαμβανομένης της νεοαγγειογένεσης εντός αυτής. Με τη χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο είναι δυνατό πλέον να καθιερωθεί ένα περισσότερο αναλυτικό και προγνωστικό μοντέλο του ευάλωτου χαρακτήρα της αθηρωματικής πλάκας, με την αναγνώριση της νεοαγγείωσης εντός αυτής, σε συνδυασμό με προϋπάρχοντες ανατομικούς δείκτες της καρωτιδικής στένωσης. Συνεπώς, η προσθήκη της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό στο διαγνωστικό αλγόριθμο της καρωτιδικής αθηρωμάτωσης είναι δυνατό να συμβάλλει στην εκτίμηση του κινδύνου περαιτέρω από τα δεδομένα που λαμβάνονται από τη μελέτη της στένωσης του αγγειακού αυλού, ειδικότερα στους ασυμπτωματικούς και στους συμπτωματικούς ασθενείς με μικρότερες στενώσεις.

Η υπερηχογραφία χωρίς σκιαγραφικό η οποία μελετάει τα χαρακτηριστικά της αιματικής ροής (duplex unenhanced ultrasonography) παραμένει το βασικό μέσο για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της προόδου της καρωτιδικής στένωσης. Σε γενικές γραμμές, ο διαγνωστικός αλγόριθμος στηρίζεται στα κριτήρια κατά NASCET (247) για τον καθορισμό του βαθμού στένωσης της έσω καρωτίδας με βάση τις μετρήσεις της ταχύτητας της αιματικής ροής με την εφαρμογή της Doppler υπερηχογραφίας. Παρόλ'αυτά, ουσιαστικές διακυμάνσεις περιορίζουν την αποτελεσματικότητα της απεικονιστικής αυτής τεχνικής, περιλαμβανομένων των αγγειακών ανατομικών παραλλαγών, το σωματότυπο του ασθενούς και την παρουσία ασβεστοποιημένου αγγειακού τοιχώματος. Η ιδανική δισδιάστατη υπερηχογραφική απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας καθιστά απαραίτητο τον έλεγχο των εφαπτομένων απεικονιστικών επιπέδων που οφείλονται σε παραλλαγές της καρωτιδικής ανατομίας και κατ'αυτά τον τρόπο είναι εξαρτώμενη από την ικανότητα του χειριστή. Η ποιότητα της εξέτασης βασίζεται επίσης στην ικανότητα του χειριστή να επιβεβαιώνει ότι οι διαδοχικές λήψεις του καρωτιδικού αυλού βρίσκονται εντός σταθερού απεικονιστικού επιπέδου. Επιπλέον, οι μετρήσεις της ροής εξαρτώνται από τη γωνία λήψης, με αποτέλεσμα η απουσία ευθυγράμμισης να προκαλεί σημαντικά λάθη στον καθορισμό της στένωσης του αγγειακού αυλού χρησιμοποιώντας τα κριτήρια κατά NASCET. Άλλες μη επεμβατικές απεικονιστικές μέθοδοι συγκρίσιμες με τη συμβατική υπερηχογραφία, περιλαμβάνουν τη μαγνητική, την αξονική και την ποζιτρονική τομογραφία. Οι διαγνωστικές αυτές μέθοδοι εκτιμούν το βαθμό της καρωτιδικής στένωσης, με αυξημένο όμως κόστος, έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία και παρατεταμένους χρόνους λήψης και ανάλυσης των εικόνων. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η τρισδιάστατη καρωτιδική υπερηχογραφία είναι δυνατό να παρακάμψει τους περιορισμούς που σχετίζονται με την αντίστοιχη συμβατική δισδιάστατη τεχνική. Σε μία συγκριτική μελέτη των διαφόρων απεικονιστικών τεχνικών κατά την προεγχειρητική εκτίμηση των ασθενών με καρωτιδική στένωση βρέθηκε ότι η τρισδιάστατη υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο εμφάνισε την υψηλότερη συσχέτιση με τη χειρουργική εκτίμηση της στένωσης της έσω καρωτίδας (250). Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία για την εκτίμηση της νεοαγγείωσης της καρωτιδικής πλάκας με τη χρήση τρισδιάστατης υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι μόνο η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο παρέχει τη δυνατότητα άμεσης απεικόνισης των νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας σε πραγματικό χρόνο και παρά την κλίση του ασθενούς. Συνολικά, η συμβατική υπερηχογραφία και η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο αποτελούν διαγνωστικά μέσα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με ευκολία για την ταχεία εκτίμηση της καρωτιδικής αθηρωματικής νόσου.

Οι μικροφουσαλλίδες που περιέχουν αέριο αποτελούν ιδανικό σκιαγραφικό μέσο για την υπερηχογραφική αγγειακή απεικόνιση, καθώς βασίζονται στην έντονη ακουστική αντίθεση που

προκαλείται κατά την ενδοαγγειακή τους κυκλοφορία. Η διάμετρός των μικροφουσαλλίδων κυμαίνεται από 2 έως 8μm εξασφαλίζοντας την παραμονή τους στον ενδοαγγειακό χώρο αμέσως μετά την ενδοφλέβια έγχυσή τους. Για την ενίσχυση του υπερηχογραφικής αντίθεσης μεταξύ των μικροφουσαλλίδων και των περιβάλλοντων ιστών, οι σύγχρονες υπερηχογραφικές συσκευές χρησιμοποιούν συγκεκριμένες συχνότητες (διαμόρφωση εύρους και αναστροφή παλμικού υπερηχογραφικού κύματος) (251). Η συχνότητα αντανάκλασης (η συχνότητα κατά την οποία παρατηρείται η εντονότερη συστολή και διαστολή τους κατά την επίδραση των υπερήχων) βρίσκεται εντός του εύρους που χρησιμοποιείται κατά την καθημερινή κλινική πράξη. Η ακουστική ενέργεια χρησιμοποιεί μία μεταδιδόμενη συχνότητα η οποία είναι συμβατή με τη συχνότητα ανάκλασης από τις μικροφουσαλλίδες, με αποτέλεσμα την παραγωγή αρμονικού σήματος από αυτές. Αντιθέτως, οι περιβάλλοντες ιστοί δεν παράγουν ουσιαστική ακουστική απόκριση από τη μεταδιδόμενη ακουστική ενέργεια. Λόγω του ενισχυμένου λόγου μεταξύ σήματος και περιβάλλοντος θορύβου που παράγεται κατά την αρμονική απεικόνιση, είναι δυνατή η χρήση χαμηλών μηχανικών δεικτών (mechanical indices). Ο μηχανικός δείκτης ορίζεται ως η μέγιστη αρνητική πίεση προς την τετραγωνική ρίζα της συχνότητας του υπερηχογραφικού πομπού. Συνεπώς, η αλληλεπίδραση μεταξύ της μεταδιδόμενης υπερηχογραφικής ενέργειας με τις κυκλοφορούσες μικροφουσαλλίδες έχει ως αποτέλεσμα την εξαιρετική εκτίμηση της χωρικής και χρονικής ανομοιογένειας που οφείλεται στη μικροαγγειακή άρδευση του υπό εξέταση ιστού. Σε αντίθεση με την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό, η αξονική και η μαγνητική αγγειογραφία χρησιμοποιούν σκιαγραφικά μέσα τα οποία δεν παραμένουν αυστηρά εντός του ενδοαγγειακού χώρου και για το λόγο αυτό χρήζουν ειδικών χρονικών αλληλουχιών για την ακριβή απεικόνιση αγγειακών δομών.

Η υπερηχογραφία των καρωτίδων με σκιαγραφικό μέσο συνδυάζει την άριστη απεικονιστική ανάλυση της αθηρωματικής πλάκας με την ποσοτικοποίηση του βαθμού ενδοαυλικής στένωσης. Αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει τη διαγνωστική ακριβεία της μεθόδου αυτής για την εκτίμηση της καρωτιδικής στένωσης (252,253). Με την εφαρμογή της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό είναι δυνατή η αναγνώριση επιπλέον χαρακτηριστικών της αθηρωματικής πλάκας περιλαμβανομένων των τριχοειδών αγγείων εντός αυτής, χαρακτηριζόμενων ως νεοαγγεία. Όλο και περισσότερες μελέτες ανέφεραν ότι η νεοαγγειογένεση διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην έναρξη, την εξέλιξη και τη ρήξη της καρωτιδικής πλάκας και συνεπώς μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο προγνωστικό δείκτη εκτίμησης του ασταθούς χαρακτήρα της αθηρωματικής πλάκας και του κινδύνου για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Επιπλέον, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό επιτρέπει την απεικόνιση των εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας, οι οποίες συχνά δεν απεικονίζονται αποτελεσματικά στις συμβατικές υπερηχογραφικές εικόνες.



## 6.1. Παθοφυσιολογική βάση για τη χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό στην καρωτιδική αθηρωμάτωση

Τα φυσιολογικά αγγεία μεσαίου και μεγάλου μεγέθους (περιλαμβανομένης της καρωτίδας) περιέχουν στο τοίχωμά τους μικρότερα αγγεία (*vasa vasorum*), τα οποία βρίσκονται στον έξω χιτώνα και στην εξωτερική επιφάνεια του μυϊκού μέσου χιτώνα και χρησιμεύουν για την παροχή θρεπτικών συστατικών στο αγγειακό τοίχωμα. Προέκταση των τριχοειδών αγγείων αυτών εντός της αθηρωματικής πλάκας έχει παρατηρηθεί από τα τέλη της δεκαετίας του 1870 (254). Εκτός από τη λειτουργία τους στην παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στην αναπτυσσόμενη αθηρωματική πλάκα, τα τριχοειδή αυτά αποτελούν το δίκτυο διαμέσω του οποίου τα λευκοκύτταρα της αιματικής κυκλοφορίας εισέρχονται στην πλάκα και εκφράζουν μόρια προσκόλλησης και αντίστοιχους αυξητικούς παράγοντες. Η πολύπλοκη αυτή συσχέτιση συμβάλλει στην πρόοδο και την επέκταση της αθηρωματικής πλάκας. Λόγω της ταχείας δημιουργίας των τριχοειδών αγγείων εντός του αρτηριακού τοιχώματος και της αθηρωματικής πλάκας, τα νεοαγγεία αυτά στερούνται περικυττάρων και δομικής στήριξης, με αποτέλεσμα να είναι ιδιαίτερα επιρρεπή στη ρήξη και την πρόκληση αιμορραγίας εντός της πλάκας. Τα επεισόδια αυτά αιμορραγίας εντός του αθηρώματος έχουν ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση μεσολαβητών της φλεγμονής, καθώς και αγγειογενετικών και αυξητικών παραγόντων, οι οποίοι διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων, τη συσσώρευση συστατικών του εξωκυτταρίου στρώματος και συμβάλλουν στη λέπτυνση του ινώδους περιβλήματος της αθηρωματικής πλάκας. Η αιμορραγία εντός της πλάκας αποτελεί συνεπώς έναν σημαντικό παράγοντα που συμβάλλει στην εξέλιξη της πλάκας και οδηγεί σε υψηλού κινδύνου, ασταθείς βλάβες μέσω πολλαπλών μοριακών μηχανισμών (255). Η ιστική υποξία αποτελεί ένα σημαντικό ερέθισμα για τη διείσδυση των μικροαγγείων εντός της αθηρωματικής πλάκας μέσω της τοπικής απελευθέρωσης αυξητικών παραγόντων (όπως είναι ο HIF-1a), οι οποίοι με τη σειρά τους προκαλούν την απελευθέρωση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) από τα μακροφάγα, τα T-λεμφοκύτταρα και τα μαστοκύτταρα. Ο VEGF αποτελεί ένα σημαντικό χημειοτακτικό και αυξητικό παράγοντα, ο οποίος προάγει τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της νεοαγγειογένεσης εντός της αθηρωματικής πλάκας (256,257).

Από τις πρωιμότερες αναφορές, διάφοροι μελετητές ανέφεραν την άμεση σχέση μεταξύ των αυξημένων νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας και των συχνών καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Μικρογραφικές μελέτες εντός του στεφανιαίου δικτύου ανέδειξαν την έντονη παρουσία νεοαγγείων εντός των αθηρωματικών πλακών που ανευρίσκονται στα στεφανιαία αγγεία (258). Οι μελετητές αυτοί συνέστησαν το σημαντικό ρόλο των νεοαγγείων αυτών στην

παθογένεση της στεφανιαίας αθηροσκλήρυνσης και των επακολούθων αυτής, περιλαμβανομένων της αιμορραγίας εντός του αγγειακού τοιχώματος και του αγγειακού σπασμού. Μία μελέτη σε υλικό αυτοψιών ανέφερε ότι ασθενείς των οποίων ο θάνατος αποδιδόταν σε καρδιαγγειακά αίτια εμφάνιζαν πυκνότερα μικροαγγειακά δίκτυα στις καρωτίδες, τις νεφρικές και τις λαγόνιες αρτηρίες, συγκριτικά με ασθενείς των οποίων ο θάνατος αποδιδόταν σε μη καρδιαγγειακά αίτια. Επιπλέον, στη μελέτη αυτή, αναφερόταν ότι η υπερπλασία των τριχοειδών του έξω χιτώνα των αρτηριών αποτελούσε πρώιμο σημείο συμπτωματικής αθηροσκλήρυνσης (134). Επίσης, οι αθηρωματικές πλάκες από ασθενείς με συμπτωματική καρωτιδική στένωση περιέχουν υψηλότερη αναλογία δυσμορφικών και ανώριμων νεοαγγείων, παρόμοια με αυτά που ανευρίσκονται σε νεοπλασματικούς ιστούς και τραύματα που βρίσκονται στη φάση της επούλωσης (259). Τα νεοαγγεία αυτά φαίνεται ότι συμβάλλουν στην αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας, δρώντας ως θέσεις διαρροής και επιστράτευσης φλεγμονωδών κυττάρων. Σε μία άλλη μελέτη, τα παρασκευάσματα καρωτιδικής ενδαρτηρεκτομής που ελήφθησαν από 91 καρωτίδες, κυρίως από ασθενείς με συμπτωματική καρωτιδική στένωση, ανέδειξαν υψηλότερη επίπτωση νεοαγγείωσης (78%) και αιμορραγίας εντός της πλάκας σε περισσότερο από 50% της έκτασής της, συνιστώντας ότι η αγγειοβριθής φύση των βλαβών αυτών, η πτωχή στήριξη των νεοαγγείων από τον περιβάλλοντα διάμεσο ιστό και η ίνωση του αγγειακού τοιχώματος αποτελούν σημαντικά ερεθίσματα για τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας (260). Σε μία παρόμοια μελέτη, αναφέρθηκε ότι ασταθείς αθηρωματικές πλάκες που αφαιρέθηκαν με καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή από συμπτωματικούς μόνο ασθενείς, περιείχαν υψηλή πυκνότητα νεοαγγείων και μεγάλη έκταση αιμορραγίας εντός της πλάκας (261). Με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας βρέθηκε επιπλέον ότι η συνολική πυκνότητα των νεοαγγείων αθηρωματικών πλακών που αφαιρέθηκαν με καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή ήταν σημαντικά υψηλότερη σε πλάκες που είχαν υποστεί ρήξη, πλάκες με εκσεσημασμένη διήθηση μακροφάγων, πλάκες με αιμορραγία και ινοαθηρώματα με λεπτό ινώδες περίβλημα. Στη μελέτη αυτή αναφέρθηκε επίσης ότι η πυκνότητα των νεοαγγείων στη βάση της αθηρωματικής πλάκας αποτελούσε ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη για τη ρήξη της πλάκας (262).

Σε μία πρόσφατη μελέτη μελετήθηκαν οι αθηρωματικές πλάκες που εξαιρέθηκαν με καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή από 818 ασθενείς, οι οποίοι παρακολούθηθηκαν προοπτικά για καρδιαγγειακά συμβάματα για μέσο χρονικό διάστημα 2,3 ετών. Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι η πυκνότητα των νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας και η αιμορραγία εντός αυτής αποτελούσαν ανεξάρτητους παράγοντες σχετιζόμενους με καρδιαγγειακά συμβάματα (περιλαμβανομένων του θανάτου από καρδιαγγειακά αίτια, έμφραγμα του μυοκαρδίου και ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια), ενώ, αντίθετα με την κοινή πεποίθηση, άλλα χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας, όπως η περιεκτικότητα σε λιπίδια και η παρουσία λείων μυικών

κυττάρων, κολλαγόνου και ασβεστοποίησης δε σχετίζονταν με καρδιαγγειακά κλινικά συμβάματα (263). Παρομοίως, σε μία άλλη πρόσφατη ανάλυση 1640 καρωτιδικών πλακών από συμπτωματικούς ασθενείς αναφέρθηκε η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των ιστολογικών χαρακτηριστικών της αθηρωματικής πλάκας και του κινδύνου για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο στο 1 και τα 5 έτη μετά την καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή. Επιπλέον, η αυξημένη πυκνότητα νεοαγγείων εντός της πλάκας, όπως αυτή εκτιμήθηκε κατά την ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση των παρασκευασμάτων ενδαρτηρεκτομής σχετιζόταν με αυξημένο 5-ετή κίνδυνο για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (264). Συνεπώς, η παρουσία νεοαγγείων στην αθηρωματική βλάβη σχετίζεται με την παρουσία χαρακτηριστικών υψηλού κινδύνου της πλάκας, όπως είναι η αιμορραγία εντός αυτής, καθώς και με αυξημένο κίνδυνο για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα.

## **6.2. Η απεικόνιση της καρωτιδικής αθηρωμάτωσης με τη χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο**

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, αρκετές μελέτες (252,253) έχουν δείξει ότι η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο εμφανίζει αυξημένη διαγνωστική ακρίβεια κατά την εκτίμηση της καρωτιδικής στένωσης, συγκριτικά με τη συμβατική υπερηχογραφία (265), την αξονική τομογραφία εγκεφάλου (266) και τη μαγνητική αγγειογραφία (267). Επιπλέον, η απεικόνιση με τη χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο παρέχει περαιτέρω πληροφορίες όσον αφορά εστιακές, μη αποφρακτικές καρωτιδικές βλάβες, οι οποίες είναι δυνατό να παραμείνουν απαρατήρητες με τη χρήση άλλων απεικονιστικών τεχνικών, περιλαμβανομένης της συμβατικής υπερηχογραφίας (268).

Ο Feinstein ήταν ο πρώτος που ανέφερε τη χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο το 2004 για την άμεση απεικόνιση των νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας και των τριχοειδών αγγείων του έξω χιτώνα του καρωτιδικού τοιχώματος (269). Την αρχική αυτή δημοσίευση διαδέχθηκε η αναφορά της υποστροφής της υπερπλασίας των τριχοειδών του έξω χιτώνα σε διαβητικό ασθενή με καρωτιδική στένωση ο οποίος έλαβε θεραπεία με στατίνη (270). Στη συνέχεια, ο Vicenzini πραγματοποίησε υπερηχογραφικές μελέτες με και χωρίς σκιαγραφικό μέσο σε 23 ασυμπτωματικούς ασθενείς με ποικίλους βαθμούς καρωτιδικής στένωσης και ανέφερε την παρουσία νεοαγγείων εντός του ινώδους και ινολιπώδους ιστού γύρω από τις καρωτιδικές πλάκες, ανεξαρτήτως της σοβαρότητας της καρωτιδικής στένωσης (271). Σε μία παρόμοια μελέτη, ο Coli μελέτησε με τη χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό τις καρωτίδες 32 ασθενών που εισήχθησαν σε μονάδα στεφανιαίας νόσου ή αγγειοχειρουργική κλινική. Στη μελέτη αυτή, από τις 52 καρωτιδικές πλάκες που αναλύθηκαν παρατηρήθηκε νεοαγγειογένεση

περίπου στο ένα-τρίτο των ασθενών, η οποία χαρακτηρίστηκε ως εκτεταμένη ή έφθανε έως την εσωτερική επιφάνεια της αθηρωματικής πλάκας, ενώ τα αποτελέσματα ήταν παρεμφερή στις χειρουργικές βλάβες, δηλαδή αυτές των συμπτωματικών ασθενών ή αυτές που προκαλούσαν σημαντική στένωση της καρωτίδας (211). Ο Van den Oord μελέτησε μία νέα μέθοδο για την ποσοτικοποίηση της πυκνότητας των νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας με τη χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο σε 45 καρωτιδικές πλάκες από 25 ασθενείς και ανέφερε ότι η επιφάνεια της περιοχής με νεοαγγεία, καθώς και ο αριθμός αυτών όπως μετρήθηκε κατά την ιστολογική εκτίμηση παρουσίαζαν πολύ καλή συσχέτιση με την οπτική εκτίμησή τους κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό, με άριστη συμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών (272). Σε μία άλλη μελέτη από τον Saito, πραγματοποιήθηκε μελέτη καρωτιδικών βλαβών με τη χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό σε 50 ασθενείς που στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή. Η αυξημένη ένταση της υπερηχογραφικής αντίθεσης της αθηρωματικής πλάκας συσχετίστηκε με υψηλότερη πυκνότητα νεοαγγείων εντός αυτής, ενώ η ένταση της σκιαγράφησης ήταν σημαντικά υψηλότερη σε συμπτωματικούς ασθενείς με ρήξη της αθηρωματικής πλάκας (273). Προσφάτως, ο Ventura ανέφερε ότι η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό ήταν σημαντικά αποτελεσματικότερη από την Doppler υπερηχογραφία και εξίσου αποτελεσματική με την αξονική αγγειογραφία όσον αφορά τη διαφορική διάγνωση μεταξύ της καρωτιδικής απόφραξης και ψευδοαπόφραξης σε 72 ασθενείς οι οποίοι παραπέμφθηκαν για αγγειοχειρουργική αντιμετώπιση καρωτιδικής αθηρωμάτωσης (274). Επιπλέον, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο δίνει τη δυνατότητα για ανίχνευση εξελκώσεων της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτό αναφέρθηκε από μία μελέτη 39 καρωτιδικών πλακών από 20 ασθενείς με συμπτωματική καρωτιδική στένωση, κατά την οποία η ευαισθησία, η ειδικότητα, η ακρίβεια, η θετική και η αρνητική προγνωστική αξία της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό για την ανίχνευση εξελκώσεων ήταν 88%, 59%, 72%, 63% και 87%, αντιστοίχως, χρησιμοποιώντας την αξονική αγγειογραφία ως σημείο αναφοράς (216). Τέλος, ο Hjelmgren ανέφερε ότι η νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τη χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό, εμφάνισε σημαντική θετική συσχέτιση με τον ιστικό δείκτη, όπως αυτός εκτιμήθηκε με τη χρήση PET/CT σε μία ομάδα 13 ασθενών (275).

Πολλαπλές μελέτες έχουν αναφέρει την ύπαρξη σημαντικής συσχέτισης μεταξύ της νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας όπως αυτή απεικονίζεται με τη χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο και της άμεσης αναγνώρισής της κατά την ιστολογική εκτίμηση των παρασκευασμάτων καρωτιδικής ενδαρτηρεκτομής. Ο Shah μελέτησε τις καρωτιδικές στενώσεις 15 ασθενών με υπερηχογραφία με σκιαγραφικό και ανέφερε ότι η νεοαγγείωση των αθηρωματικών πλακών παρουσίαζε στενή συσχέτιση με αυτή κατά την

ιστολογική και ανοσοϊστοχημική εκτίμηση με τη χρήση χρώσης με CD31 των παρασκευασμάτων καρωτιδικής ενδαρτηρεκτομής (276). Σε μία άλλη μελέτη 17 ασθενών που υποβλήθηκαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, ο Coli ανέφερε ότι οι αθηρωματικές πλάκες με έντονη σκιαγράφιση κατά την υπερηχογραφία εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερη πυκνότητα νεοαγγείων κατά την ιστολογική εκτίμηση των παρασκευασμάτων (μέση πυκνότητα νεοαγγείων, 3,24 ανά mm<sup>2</sup>), συγκριτικά με αυτές με λιγότερο έντονη σκιαγράφιση (μέση πυκνότητα νεοαγγείων, 1,82mm<sup>2</sup>), διαφορά η οποία ήταν στατιστικά σημαντική (211). Ο Giannoni πραγματοποίησε υπερηχογραφία με και χωρίς σκιαγραφικό μέσο σε 73 ασθενείς, οι οποίοι στη συνέχεια υπεβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή. Στη μελέτη αυτή, μεταξύ των 64 ασυμπτωματικών ασθενών που υπεβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό ανέδειξε ασθενή, διακριτή σκιαγράφιση, με ανεξάρτητα αναγνωρίσιμα νεοαγγεία να πορεύονται από τον έξω χιτώνα προς τον καρωτιδικό αυλό. Αντίθετα, οι αθηρωματικές πλάκες 9 συμπτωματικών ασθενών εμφάνισαν περισσότερο έντονη και διάχυτη σκιαγράφιση κατά την υπερηχογραφία, η οποία οφειλόταν σε πολλαπλά, μικρής διαμέτρου νεοαγγεία που βρίσκονταν κυρίως στη βάση της αθηρωματικής πλάκας. Επιπλέον, στη μελέτη αυτή, η ιστολογική εκτίμηση των αθηρωματικών πλακών που εξαιρέθηκαν από τους συμπτωματικούς ασθενείς ανέδειξε πολλαπλά, μικρά (διαμέτρου 20-30μm) και ανώριμα νεοαγγεία κατά μήκος της βάσης της πλάκας, τα οποία σχετίζονταν με έντονη χρώση με αντισώματα έναντι των υποδοχέων VEGF και μεταλλοπρωτεϊνάσης του στρώματος (MMP-3), εύρημα συμβατό με έντονη αγγειογενετική δραστηριότητα (277). Στο ίδιο πλαίσιο, ο Varetto ανέφερε ότι σε μία ομάδα 51 ασθενών (12 συμπτωματικοί και 39 ασυμπτωματικοί) οι οποίοι υπεβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, οι αθηρωματικές πλάκες με εντονότερη σκιαγράφιση κατά την υπερηχογραφία εμφάνισαν αυξημένους αριθμούς νεοσχηματισμένων μικροαγγείων κατά την ιστολογική εξέταση, ενώ οι πλάκες με χαμηλότερη ηχογένεια σχετίζονταν επίσης με εντονότερη νεοαγγείωση (278). Επιπλέον, ο Shalhoub πραγματοποίησε υπερηχογραφία καθυστερημένης φάσης με σκιαγραφικό μέσο σε 31 ασθενείς με συμπτωματική αθηρωμάτωση της καρωτίδας, οι οποίοι στη συνέχεια υπεβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή. Στη μελέτη αυτή αναφέρθηκε ότι οι αθηρωματικές πλάκες με εντονότερη καθυστερημένη σκιαγράφιση σχετίζονταν με αυξημένη φλεγμονώδη και αγγειογενετική δραστηριότητα και αποδόμηση του εξωκυτταρίου στρώματος (όπως αυτά αναδείχθηκαν με χρώσεις έναντι των CD68, ιντερλευκίνη-6, CD31, MMP-1 και MMP-3), συγκριτικά με τις αθηρωματικές πλάκες με λιγότερο έντονη καθυστερημένη σκιαγράφιση κατά την υπερηχογραφία (279). Ο Hoogi χρησιμοποίησε αρμονική απεικόνιση με παλμική αναστροφή και χαμηλό μηχανικό δείκτη για την πραγματοποίηση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό σε 27 ασθενείς με σημαντικού βαθμού καρωτιδική στένωση πριν αυτοί υποβληθούν σε καρωτιδική

ενδαρτηρεκτομή και εξέλιξε έναν αλγόριθμο αυτόματης ποσοτικοποίησης των νεοαγγείων εντός της αθηρωματικής πλάκας. Με εξαίρεση 5 ασθενείς στη μελέτη αυτή, οι οποίοι εμφάνιζαν σημαντική ασβεστοποίηση της αθηρωματικής πλάκας με αποτέλεσμα να δυσχεραίνεται η αποτελεσματική απεικόνιση των νεοαγγείων, ο λόγος της επιφάνειας νεοαγγείωσης (επιφάνεια νεοαγγείωσης προς συνολική επιφάνεια της αθηρωματικής πλάκας) κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό εμφάνιζε υψηλή συσχέτιση με τον ανοσοϊστοχημικό λόγο νεοαγγείωσης (όπως αυτός καθοριζόταν με τη χρώση έναντι του αντιγόνου CD31), καθώς επίσης και με τον αριθμό φλεγμονωδών κυττάρων (όπως αυτός καθοριζόταν με τις χρώσεις έναντι των αντιγόνων CD3 και CD68) εντός της αθηρωματικής πλάκας (280). Ο Βαβουρανάκης ανέφερε ότι η ένταση της σκιαγράφησης της αθηρωματικής πλάκας κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό ήταν σημαντικά αυξημένη τόσο στις σταθερές, όσο και στις ασταθείς αθηρωματικές πλάκες, όπως αυτή μελετήθηκε σε μία ομάδα 14 ασθενών με καρωτιδική στένωση, αλλά ο αριθμός των νεοαγγείων, όπως αυτά εκτιμήθηκαν με χρώση έναντι του αντιγόνου CD34, ήταν σημαντικά αυξημένος στις ασταθείς, συγκριτικά με τις σταθερές αθηρωματικές πλάκες (281). Σε μία άλλη μελέτη, ο Li ανέφερε ότι σε μία ομάδα 17 ασθενών που υπεβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, τα αποτελέσματα της προεγχειρητικής ημιποσοτικής υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό σχετίζονταν με τον αριθμό των νεοαγγείων, όπως αυτά εκτιμήθηκαν κατά την ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση των παρασκευασμάτων. Επιπλέον, οι ημιποσοτικές και ποσοτικές μετρήσεις εμφάνιζαν υψηλή συσχέτιση μεταξύ τους, συνιστώντας ότι και οι δύο μέθοδοι είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση νεοαγγείων εντός της αθηρωματικής πλάκας (282). Ο Muller πραγματοποίησε υπερηχογραφία με σκιαγραφικό σε 33 ασθενείς με μέτρια προς σοβαρή καρωτιδική στένωση, οι οποίοι στη συνέχεια υπεβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή και παρατήρησε την παρουσία νεοαγγείων εντός της αθηρωματικής πλάκας με την εφαρμογή μίας οπτικής κλίμακας διαβάθμισής. Τα αποτελέσματα εμφάνιζαν σημαντική συσχέτιση με την ποσοτικοποίηση των νεοαγγείων με τη χρήση καμπύλης έντασης σκιαγράφησης σε συνάρτηση με το χρόνο, ενώ η ιστολογική εκτίμηση ανέδειξε ευρύτερες επιφάνειες θετικές στη χρώση με αντισώματα έναντι του CD34 στους ασθενείς με εντονότερη, συγκριτικά με αυτούς με λιγότερο έντονη οπτική διαβάθμιση της σκιαγράφησης κατά την υπερηχογραφία (283). Τέλος, ο Iezzi επίσης ανέφερε ότι σε μία ομάδα 50 ασθενών που υπεβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, η ένταση της σκιαγράφησης κατά την προεγχειρητική υπερηχογραφία εμφάνιζε στενή συσχέτιση με την ανοσοϊστοχημική ανάδειξη νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας, με σημαντική ευαισθησία (94%), ειδικότητα (68%), θετική (87%) και αρνητική προγνωστική αξία (85%), καθώς και διαγνωστική ακρίβεια (86%). Επιπλέον, κατά την εκτίμηση μόνο ασυμπτωματικών ασθενών παρατηρήθηκε ακόμα υψηλότερη αρνητική προγνωστική αξία (91%) (284).

### **6.3. Η κλινική εφαρμογή της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό σε ασθενείς με καρωτιδική αθηρωμάτωση**

Ο Zhou, σε μία μελέτη που περιελάμβανε 46 ασθενείς με καρωτιδική στένωση (>50%), συνέκρινε την αποτελεσματικότητα της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό με αυτήν της συμβατικής Doppler υπερηχογραφίας για την εκτίμηση του ευάλωτου χαρακτήρα της αθηρωματικής πλάκας με τη χρήση διακράνιας Doppler υπερηχογραφίας για την εντόπιση μικροεμβολικών σημάτων. Κατά την πραγματοποίηση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό, οι συγγραφείς ανέφεραν ότι μικροεμβολικά σήματα ήταν δυνατό να ανιχνευθούν σε 2 ασθενείς με τάξης 1 νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας, συγκριτικά με την ανεύρεση των σημάτων αυτών σε 15 ασθενείς με τάξης 2 νεοαγγείωση της πλάκας, ενώ η ηχογένεια της αθηρωματικής πλάκας κατά τη συμβατική υπερηχογραφία δεν ήταν αποτελεσματική για τη διάκριση των ασθενών με και χωρίς μικροεμβολικά σήματα (285). Ο Shao μελέτησε τη χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό για τη θεραπευτική προσέγγιση της σοβαρής καρωτιδικής στένωσης ως μέσο επιλογής για καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή ή τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής ανέδειξαν ότι η εντονότερη σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας σχετιζόταν με υψηλότερο κίνδυνο για επιλοκές και επαναστένωση μετά από τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης. Επιπλέον, στους ασθενείς με αθηρωματικές πλάκες με έντονη σκιαγράφιση κατά την υπερηχογραφία ο κίνδυνος επιλοκών ήταν σημαντικά υψηλότερος μετά από τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης σε σύγκριση με την καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή (286). Ο Varetto μελέτησε επίσης τη συσχέτιση μεταξύ της έντασης της σκιαγράφισης της αθηρωματικής πλάκας κατά την υπερηχογραφία και της συχνότητας εγκεφαλικών μικροεμβολών, όπως αυτές αναδεικνύονταν με τη μαγνητική τομογραφία, σε μία ομάδα 35 ασθενών που υποβλήθηκαν σε τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης. Η αυξημένη σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας στη μελέτη αυτή σχετιζόταν με την ανίχνευση μικροεμβολών κατά τη μαγνητική τομογραφία μετά την τοποθέτηση της ενδοπρόθεσης (287). Οι μελέτες αυτές συνιστούν ότι αθηρωματικές πλάκες με υψηλότερη πυκνότητα νεοαγγείων εμφανίζουν υψηλότερο κίνδυνο για ρήξη και περιφερική εμβολή αθηρωματικού υλικού στην εγκεφαλική κυκλοφορία, συγκριτικά με τις πλάκες εκείνες που δεν εμφανίζουν καθόλου ή εμφανίζουν χαμηλότερη νεοαγγειογενετική δραστηριότητα. Επιπλέον, τα δεδομένα αυτά συνιστούν ότι οι ασθενείς με ευάλωτες καρωτιδικές πλάκες μπορεί να είναι υποψήφιοι για καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή και όχι για τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης. Ως μέσο παρακολούθησης των ασθενών που υποβάλλονται σε τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο αποτελεί μία περισσότερο αξιόπιστη, μη επεμβατική μέθοδο για την εκτίμηση της επαναστένωσης μετά την τοποθέτηση της ενδοπρόθεσης στην έσω

καρωτίδα, συγκριτικά με τη συμβατική υπερηχογραφία (288).

Προσφάτως εκτιμήθηκε η συσχέτιση της νεοαγγειώσης της αθηρωματικής καρωτιδικής πλάκας, όπως αυτή απεικονίσθηκε με την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό, με το πάχος του έσω και μέσου χιτώνα (intima-media thickness) του αρτηριακού τοιχώματος σε μία ομάδα 465 ασθενών (324 με σακχαρώδη διαβήτη και 141 χωρίς σακχαρώδη διαβήτη) χωρίς ιστορικό ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου. Οι διαβητικοί ασθενείς εμφάνισαν σημαντικά εντονότερη νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας συγκριτικά με τη μη-διαβητικούς, με τους διαβητικούς να εμφανίζουν κατά μέσο όρο 36% περισσότερα νεοαγγεία, όπως αυτά εκτιμήθηκαν κατά την ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση, ενώ δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της πυκνότητας των νεοαγγείων με το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα του αρτηριακού τοιχώματος, τα επίπεδα χοληστερόλης και τη συστολική αρτηριακή πίεση (289). Σε μία ομάδα 104 ασθενών με καρωτιδικές πλάκες μεγαλύτερες από 2mm, όπως απεικονίζονταν στη συμβατική δισδιάστατη υπερηχογραφία, η χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό ανέδειξε ότι η ένταση της απεικονιζόμενης σκιαγράφησης στους διαβητικούς ασθενείς ήταν σημαντικά αυξημένη συγκριτικά με αυτή στους μη διαβητικούς ασθενείς. Το εύρημα αυτό συνιστά ότι οι αθηρωματικές πλάκες των διαβητικών ασθενών μπορεί να περιέχουν περισσότερα νεοαγγεία και για το λόγο αυτό να είναι περισσότερο ευάλωτες για ρήξη και περιφερική εμβολή (290). Σε μία άλλη μελέτη αναφέρθηκε ότι η τεχνική της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό χρησιμοποιήθηκε για την αναγνώριση υποκλινικής καρωτιδικής αθηρωμάτωσης σε 90% περίπου των ασυμπτωματικών ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη (291). Η ίδια ομάδα συγγραφέων ανέφερε ότι η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό ανέδειξε σε 90% ασυμπτωματικών ασθενών με οικογενή υπερχοληστερολαιμία και χωρίς γνωστή αθηρωματική νόσο αθηρωματικές καρωτιδικές πλάκες. Το 86% των ασθενών αυτών εμφάνιζε νεοαγγείωση των αθηρωματικών πλακών, ενώ οι αθηρωματικές πλάκες με ανώμαλες και εξελκωμένες επιφάνειες εμφάνιζαν σημαντικά εντονότερη νεοαγγείωση συγκριτικά με τις πλάκες με ομαλές επιφάνειες (292).

Ο Arcidiacono πραγματοποίησε συμβατική υπερηχογραφία σε 65 υγιή άτομα χωρίς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου για την εκτίμηση του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα του καρωτιδικού τοιχώματος, καθώς και υπερηχογραφία με σκιαγραφικό για την απεικόνιση των τριχοειδών του έξω χιτώνα της αρτηρίας. Στα ευρήματα της μελέτης αυτής, αναφέρθηκε ότι μόνο στην αριστερή πλευρά παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα και του μικροαγγειακού δικτύου του έξω χιτώνα, ενώ στη δεξιά πλευρά δεν παρατηρήθηκε ανάλογο εύρημα. Επιπλέον, η ηλικία αλλά κανένα άλλο ανθρωπομετρικό ή βιοχημικό χαρακτηριστικό σχετιζόταν με τον αριθμό των τριχοειδών στον έξω χιτώνα της αριστερής καρωτίδας. Σύμφωνα με τους μελετητές, τα ευρήματα αυτά συνιστούν ότι η αθηρωμάτωση μπορεί να εκδηλώνεται νωρίτερα στην αριστερή καρωτίδα, ενώ η μέτρηση της



πυκνότητας των νεοαγγείων του έξω χιτώνα με τη χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό είναι δυνατό να αποτελέσει ευαίσθητο δείκτη υποκλινικής αθηρωμάτωσης σε άτομα χαμηλού κινδύνου (293). Σε μία παρόμοια μελέτη 100 ασυμπτωματικών ασθενών χαμηλού καρδιαγγειακού κινδύνου για αθηρωματική νόσο, 21 ασθενείς εμφάνισαν αύξηση του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα, 77 ασθενείς εμφάνισαν αθηρωματικές πλάκες στη συμβατική υπερηχογραφία των καρωτίδων, ενώ 88 ασθενείς εμφάνισαν αθηρωματικές πλάκες όταν μελετήθηκαν με συνδυασμό υπερηχογραφίας με και χωρίς σκιαγραφικό. Το συμπέρασμα της μελέτης αυτής ήταν ότι η προσθήκη της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό στον έλεγχο των ασθενών οδήγησε στην αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου (294). Παρόλ'αυτά, χρειάζονται περισσότερες μελέτες για την περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης μεταξύ της νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας με άλλους παράγοντες κινδύνου σε ασθενείς χαμηλού κινδύνου, καθώς και της σημασίας των ευρημάτων της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό στην αντιμετώπιση του καρδιαγγειακού κινδύνου στους ασθενείς αυτούς.

Η αναγνώριση νεοαγγείων στην καρωτιδική πλάκα με τη χρήση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό έχει συσχετισθεί με την συχνότητα καρδιαγγειακών επεισοδίων. Σε μία αναδρομική μελέτη 147 ασθενών οι οποίοι παραπέμφθηκαν για συμβατική υπερηχογραφική μελέτη των καρωτίδων, αναγνωρίστηκαν νεοαγγεία εντός της αθηρωματικής πλάκας (σαφής παρουσία υπερηχογραφικών σημάτων που μετακινούνται από τον έξω χιτώνα ή τη βάση της πλάκας προς τον πυρήνα αυτής), τα οποία συσχετιζόνταν σημαντικά με ιστορικό καρδιαγγειακών συμβαμάτων (έμφραγμα μυοκαρδίου, παροδικό και ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο) (295). Ο Huang συνέκρινε τη μορφολογία της αθηρωματικής πλάκας και τη νεοαγγείωση εντός αυτής με τη χρήση συμβατικής υπερηχογραφίας και υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό σε 81 ασθενείς με πρόσφατο ιστορικό ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου και σε 95 υγιή άτομα. Στη μελέτη αυτή αναφέρθηκε ότι οι ασθενείς με αθηρωματικές πλάκες που εμφάνιζαν σκιαγράφιση λόγω της παρουσίας νεοαγγείων εντός αυτών εμφάνιζαν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Επιπλέον, οι ασθενείς με ιστορικό ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου είχαν σημαντικά εντονότερη σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας, συγκριτικά με αυτούς με ελεύθερο ιστορικό (296). Ο Zhu πραγματοποίησε υπερηχογραφία με σκιαγραφικό για την εκτίμηση καρωτιδικής αθηρωμάτωσης σε 312 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και τουλάχιστον μία καρωτιδική πλάκα μεγαλύτερη από 2mm στην απεικόνιση με συμβατική υπερηχογραφία. Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι η σκιαγράφιση της καρωτιδικής πλάκας ήταν συνηθέστερη στους ασθενείς με ιστορικό οξέως στεφανιαίου συνδρόμου, συγκριτικά με αυτούς με σταθερή στεφανιαία νόσο, ενώ αποτελούσε και ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη μελλοντικού στεφανιαίου επεισοδίου στους ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο. Στεφανιαίο σύμβαμα κατά την παρακολούθηση των ασθενών αυτών

καταγράφηκε σε 24 από τους 111 ασθενείς με σκιαγράφιση της καρωτιδικής πλάκας και σε μόνο 7 από τους 137 ασθενείς στους οποίους η καρωτιδική πλάκα δεν εμφάνιζε σημαντική σκιαγράφιση κατά την υπερηχογραφία (213). Πρόσφατα, ο Deyama πραγματοποίησε μία προοπτική μελέτη σε 304 ασθενείς με στεφανιαία νόσο οι οποίοι υπεβλήθησαν σε στεφανιογραφία, duplex υπερηχογραφία και υπερηχογραφία με σκιαγραφικό. Σε 270 ασθενείς χωρίς προηγούμενη διαδερμική στεφανιαία παρέμβαση, η νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτή εκτιμήθηκε με την πραγματοποίηση υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό, σχετιζόταν στενά με τον αριθμό των πασχόντων στεφανιαίων αρτηριών, καθώς και τον αριθμό των πολύπλοκων βλαβών, όπως αυτές αναδείχθηκαν κατά τη στεφανιογραφία. Επιπλέον, μεταξύ των 84 ασθενών που εμφάνιζαν οξύ στεφανιαίο σύνδρομο κατά την καταγραφή τους, η παρουσία σημαντικής νεοαγγείωσης της καρωτιδικής πλάκας κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό, αποτελούσε σημαντικό προγνωστικό δείκτη μελλοντικού στεφανιαίου συμβάματος. Σε μία ανάλυση σε 40 από τους ασθενείς αυτούς, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε επαναληπτική duplex υπερηχογραφία και υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μετά από 6 μήνες, η νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό παρουσίασε υποχώρηση που σχετιζόταν με την μείωση των επιπέδων LDL χοληστερόλης σε 46% των ασθενών που λάμβαναν στατίνες, συγκριτικά με το 14% των ασθενών που δε βρίσκονταν σε θεραπεία με στατίνες (219).

#### **6.4. Περιορισμοί της χρήσης της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό σε ασθενείς με καρωτιδική αθηρωμάτωση**

Παρά το γεγονός ότι η χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό για την αναγνώριση και τον χαρακτηρισμό της καρωτιδικής αθηρωμάτωσης έχει σημαντικές εφαρμογές, υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί. Συγκεκριμένα, ενώ δεν είναι σύνηθες λόγω της εφαρμογής χαμηλού μηχανικού δείκτη, δυνητικά ένας μικρός αριθμός μικροφυσαλλίδων μπορεί να υποστούν ρήξη από την επίδραση του υπερηχογραφικού κύματος, με αποτέλεσμα την ενδοθηλιακή βλάβη και την επιστράτευση φλεγμονωδών κυττάρων που απελευθερώνουν τον αυξητικό παράγοντα VEGF και τη διέγερση της τοπικής νεοαγγειογένεσης (297). Ένας άλλος περιορισμός της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό είναι η ψευδοενίσχυση του αρτηριακού τοιχώματος που οφείλεται στη μη-γραμμική απόκριση των μικροφυσαλλίδων και τη διάδοση των υπερηχογραφικών κυμάτων, με αποτέλεσμα τη σκιαγράφιση του περιφερικού αρτηριακού τοιχώματος (203). Για την καταστολή του φαινομένου αυτού χρησιμοποιούνται νεότερες υπερηχογραφικές παλμικές συχνότητες. Όσον αφορά τις ανεπιθύμητες ενέργειες της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό, οι συχνότερα αναφερόμενες περιλαμβάνουν τις κεφαλαλγίες,

τη ναυτία και τον έμετο, τη ζάλη και την ερυθρότητα του προσώπου. Ο κίνδυνος αναφυλακτοειδών αντιδράσεων, καθώς και καρδιοαναπνευστικών επιπλοκών είναι εξαιρετικά χαμηλός. Επιπλέον, αρκετές μελέτες πραγματοποιούνται προκειμένου να ποσοτικοποιηθεί η κυκλοφορία των μικροφουσαλλίδων στα τριχοειδή του έξω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος, καθώς και στα νεοαγγεία της αθηρωματικής πλάκας. Αρκετοί ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει οπτικές κλίμακες διαβάθμισης για την εκτίμηση της έκτασης της νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας, ενώ επί του παρόντος δεν υπάρχει κάποια κοινά αποδεκτή και ευρέως εφαρμοζόμενη κλίμακα για την εκτίμηση της έκτασης της νεοαγγείωσης. Στο πλαίσιο αυτό, είναι σαφές ότι η εξέλιξη και ανάπτυξη μίας τυποποιημένης κλίμακας για την ογκομετρική ανάλυση της νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας είναι απαραίτητη προκειμένου να υπάρξει ομοιομορφία στην αναφορά των αποτελεσμάτων από τις επικείμενες μελέτες. Τέλος, καμία μελέτη δεν έχει πραγματοποιήσει ανάλυση κόστους-όφελους της εφαρμογής της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό για την απεικόνιση της καρωτιδικής αθηρωματικής πλάκας, συγκριτικά με τις καθιερωμένες μεθόδους απεικόνισής της.

## Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αθηροσκλήρωση αποτελεί συστηματική φλεγμονώδη νόσο του αρτηριακού τοιχώματος και αποτελεί παγκοσμίως την κύρια αιτία θνησιμότητας και θνητότητας (298). Συγκεκριμένα, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο αποτελεί την τρίτη πιο συχνή αιτία θανάτου στο δυτικό κόσμο, καθώς και ένα από τα κυριότερα αίτια χρόνιας αναπηρίας (299). Η αθηρωμάτωση του καρωτιδικού διχασμού έχει αποδεδειγμένο ρόλο στην παθογένεση των εγκεφαλικών επεισοδίων (300) και αποτελεί την αιτία του ενός τρίτου έως ενός πέμπτου του συνόλου των ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων (5,301). Ο βασικός μηχανισμός που εμπλέκεται στην πρόκληση των εγκεφαλικών αυτών επεισοδίων είναι η ρήξη της καρωτιδικής πλάκας με απώλεια της συνέχειας του ινώδους περιβλήματός της, με αποτέλεσμα τη δημιουργία επικοινωνίας της αιματικής ροής του αγγειακού αυλού με το θρομβογόνο πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας, τη δημιουργία θρόμβου και στη συνέχεια τον περιφερικό εμβολισμό αυτού (302,303). Στην προσπάθεια βελτίωσης της προγνωστικής ικανότητας μελλοντικών εγκεφαλικών επεισοδίων, διάφοροι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει τον όρο ευάλωτη (vulnerable) αθηρωματική πλάκα για να περιγράψουν τις βλάβες εκείνες οι οποίες είναι επιρρεπείς για ρήξη και τους ασθενείς που βρίσκονται σε κίνδυνο για οξεία θρομβωτικά επεισόδια (304,305). Στο ίδιο πλαίσιο, ο όρος ασταθής αθηρωματική πλάκα προτάθηκε αρχικά για τη στεφανιαία νόσο και αναφέρεται στις πλάκες εκείνες που περιέχουν λεπτό ινώδες περίβλημα το οποίο καλύπτει ένα εκτεταμένο λιπιδιακής φύσης νεκρωτικό πυρήνα υπό ενεργό φλεγμονή, χαρακτηριστικά τα οποία θέτουν την πλάκα σε υψηλό κίνδυνο για ρήξη (306). Ουσιαστικά, ο διαχωρισμός αυτός χρησιμοποιείται για την αναγνώριση εκείνων των ασθενών οι οποίοι θα επωφεληθούν περισσότερο από την επεμβατική θεραπεία της καρωτιδικής αθηρωμάτωσης και περισσότερο συγκεκριμένα από την καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή.

Η νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας έχει προσφάτως χαρακτηριστεί ως δείκτης της επικινδυνότητας ρήξης της πλάκας (plaque vulnerability) (134). Σύμφωνα με παθολογοανατομικές μελέτες η προέλευση των δικτύων νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας προέρχεται σε μεγαλύτερο βαθμό από τα φυσιολογικά τροφοφόρα αγγεία του έξω χιτώνα των μεγάλων αρτηριών (vasa vasorum) και σε μικρότερο βαθμό απευθείας από τον αρτηριακό αυλό (307). Τα νεοαγγεία αυτά εμφανίζουν σημαντικές διαρροές δια μέσω των τοιχωμάτων τους, λόγω των ευρέων διασυνδέσεων που παρουσιάζουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα μεταξύ τους και την απουσία συμπαγούς δικτύου λείων μυικών κυττάρων στο τοίχωμά τους, με αποτέλεσμα να εξέρχονται από τον αγγειακό αυλό προς το διάμεσο χώρο της αθηρωματικής πλάκας φλεγμονώδη κύτταρα (ενεργοποιημένα μακροφάγα, μαστοκύτταρα και T λεμφοκύτταρα), λιπίδια καθώς και ερυθρά αιμοσφαίρια τα οποία συμβάλλουν στην αύξηση των

διαστάσεων της αθηρωματικής πλάκας. Η φλεγμονώδης αντίδραση που αναπτύσσεται τοπικά εντός της αθηρωματικής πλάκας έχει ως αποτέλεσμα την προσέλκυση περισσότερων φλεγμονωδών κυττάρων διαμέσω της νεοαγγείωσης της πλάκας, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός φαύλου κύκλου που οδηγεί στη δημιουργία ενός νεκρωτικού πυρήνα μεταξύ του έξω και του έσω χιτώνα της έσω καρωτίδας. Οι κρύσταλλοι χοληστερόλης που αναπτύσσονται στην περιοχή αυτή, λόγω της δομής τους είναι δυνατό να τραυματίσουν και να προκαλέσουν ρήξη του λεπτού ινώδους χιτώνα της αθηρωματικής πλάκας, με αποτέλεσμα τη ρήξη αυτής εντός του αρτηριακού αυλού και την πρόκληση τοπικής θρόμβωσης, η οποία με τη σειρά της οδηγεί είτε σε απόφραξη της αρτηρίας, είτε σε περιφερικό εμβολισμό και την συνεπακόλουθη ισχαιμική αγγειακή εγκεφαλική νόσο (308). Επιπλέον, τα νεοαγγεία της αθηρωματικής πλάκας, λόγω της ανωριμότητάς τους βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο ρήξης και πρόκλησης αιμορραγίας εντός της πλάκας, προκαλώντας αύξηση των διαστάσεών της και συνεπακόλουθη αύξηση του βαθμού στένωσης του καρωτιδικού αυλού, με αποτέλεσμα την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης σε συμπτωματική αγγειακή εγκεφαλική νόσο (133).

Τα υπερηχογραφικά σκιαγραφικά μέσα έχουν χρησιμοποιηθεί για την απεικόνιση των καρωτιδικών αθηρωματικών βλαβών προκειμένου να σκιαγραφηθεί με ακρίβεια το τοίχωμα του αγγείου και να μετρηθεί το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα (intima-media thickness, IMT) (309), καθώς και να καθορισθεί ο βαθμός της στένωσης του αγγειακού αυλού (265). Επιπλέον, η υπερηχογραφική μελέτη με σκιαγραφικό έχει την ικανότητα απεικόνισης των αγγείων του έξω χιτώνα (vasa vasorum) των μεγάλων αρτηριών, όπως είναι η έσω καρωτίδα, καθώς και της νεοαγγείωσης που έχει αναπτυχθεί εντός της αθηρωματικής πλάκας (211). Ενώ η παρουσία της αγγείωσης του έξω χιτώνα των αρτηριών αποτελεί φυσιολογικό χαρακτηριστικό, η παρουσία διατιτραίνοντων κλάδων οι οποίοι εισέρχονται εντός της αθηρωματικής πλάκας και σχηματίζουν δίκτυα νεοαγγείωσης αποτελεί παθολογικό χαρακτηριστικό της αθηρωμάτωσης που έχει συσχετισθεί με την εξέλιξη και τη ρήξη της πλάκας και την πρόκληση συμπτωματικής αγγειακής εγκεφαλικής νόσου (303). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι καρωτιδικές αθηρωματικές πλάκες που εμφανίζουν παραμέτρους επικινδυνότητας για ρήξη, όπως φλεγμονή, αιμορραγία και λιπιδιακά φορτία σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα νεοαγγειογένεσης (310), ενώ η πρόοδος της αθηρωμάτωσης είναι δυνατό να ελαττωθεί εφόσον ανασταλεί η διαδικασία της νεοαγγειογένεσης με τη χορήγηση αγγειοστατίνης (311).

Η χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό έχει κατατάξει τις αθηρωματικές καρωτιδικές πλάκες σε μαλακές ή μεικτές, οι οποίες εμφανίζουν νεοαγγείωση, ενώ οι σκληρές ή ασβεστοποιημένες πλάκες δεν εμπεριέχουν νεόπλαστα αγγεία (271). Επιπλέον, διάφορα χαρακτηριστικά της καρωτιδικής αθηρωμάτωσης, όπως είναι ο βαθμός της στένωσης του αγγειακού αυλού και το πάχος της αθηρωματικής πλάκας, απεικονιζόμενα με τη συμβατική

δισδιάστατη υπερηχογραφική μελέτη (B-mode), εμφανίζουν αδύναμη συσχέτιση, τόσο με την ένταση της σκιαγράφησης (312), όσο και με την εκδήλωση νευρολογικών συμπτωμάτων. Αντιθέτως, όσον αφορά την εκδήλωση συμπτωμάτων ισχαιμικής αγγειακής εγκεφαλικής νόσου, έχει βρεθεί ότι οι συμπτωματικοί ασθενείς (παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και αμαύρωση) εμφανίζουν σημαντικά αυξημένη σκιαγράφηση της καρωτιδικής πλάκας σε σύγκριση με τους ασυμπτωματικούς ασθενείς που εμφανίζουν παρόμοιο πάχος της αθηρωματικής πλάκας και βαθμό στένωσης του καρωτιδικού αυλού (313). Οι τεχνικές ποσοτικοποίησης της έντασης της σκιαγράφησης έχουν αναδείξει ότι όσο εντονότερο είναι το υπερηχογραφικό σήμα που λαμβάνεται από την καρωτιδική πλάκα, τόσο περισσότερο αυξημένος είναι ο κίνδυνος εμφάνισης νευρολογικών επιπλοκών λόγω ρήξης της αθηρωματικής πλάκας (314). Περαιτέρω, η συσχέτιση της υπερηχογραφικής σκιαγράφησης της καρωτιδικής πλάκας με το βαθμό νεοαγγείωσης αυτής είναι σε συμφωνία με παλιότερες μελέτες σκιαγράφησης της αθηρωματικής πλάκας και νεοαγγείωσης αυτής που έχουν πραγματοποιηθεί με μαγνητικό συντονισμό (315). Τα στοιχεία αυτά συνηγορούν στο γεγονός ότι η παρουσία και ο βαθμός σκιαγράφησης της καρωτιδικής πλάκας κατά τη διάρκεια της υπερηχογραφικής μελέτης είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες επικινδυνότητας για τη ρήξη της πλάκας και την εμφάνιση νευρολογικών επιπλοκών. Ως αποτέλεσμα, η σκιαγράφηση της καρωτιδικής πλάκας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση των ασθενών εκείνων οι οποίοι βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη επιπλοκών της καρωτιδικής αθηρωματικής νόσου και να καθοδηγήσει την κατάλληλη θεραπευτική προσέγγισή τους.

## 2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή επικεντρώνεται στη μελέτη των υπερηχογραφικών χαρακτηριστικών της καρωτιδικής αθηρωματικής πλάκας με τη χρήση ενδοφλεβίου σκιαγραφικού και τη συσχέτιση των απεικονιστικών ευρημάτων με συγκεκριμένα παθολογοανατομικά και ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά της εκμηθείσας αθηρωματικής πλάκας. Συγκεκριμένα, ελέγχθηκε η υπόθεση εάν υφίσταται συσχέτιση ανάμεσα στη νεοαγγειογένεση που απεικονίζεται με την υπερηχογραφική μελέτη με σκιαγραφικό μέσο και στην νεοαγγειογένεση που αποκαλύπτεται κατά τον ιστολογικό και ανοσοϊστοχημικό έλεγχο των παρασκευασμάτων της αθηρωματικής πλάκας, σύμφωνα με προκαθορισμένα απεικονιστικά και παθολογοανατομικά κριτήρια. Συμπεριλήφθηκαν ασθενείς με αθηρωματική νόσο της έσω καρωτίδας αρτηρίας για τους οποίους κρίθηκε απαραίτητη η καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή. Στη μελέτη περιλήφθηκαν μόνο οι ασθενείς για τους οποίους χρειάστηκε η πραγματοποίηση συμβατικής υπερηχογραφίας και επιπλέον υπερηχογραφίας με χορήγηση σκιαγραφικού μέσου, δηλαδή αυτοί στους οποίους η συμβατική υπερηχογραφία δεν ήταν δυνατό να αναδείξει με σαφήνεια το όριο μεταξύ αγγειακού αυλού και καρωτιδικής αθηρωματικής πλάκας. Οι ασθενείς αυτοί είχαν παραπεμφθεί για υπερηχογραφικό έλεγχο των καρωτίδων με βάση κλινικές ενδείξεις που περιελάμβαναν είτε νευρολογική συμπτωματολογία (αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο και αμαύρωση), είτε προληπτικό έλεγχο λόγω καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου (στεφανιαία νόσο, οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακών νοσημάτων, παχυσαρκία, υπέρταση, υπερλιπιδαιμία, σακχαρώδης διαβήτης, κάπνισμα). Στα κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη περιλαμβάνονταν το ιστορικό υπερευαισθησίας στην αλβουμίνη, τα παράγωγα του αίματος και το χρησιμοποιούμενο ενδοφλέβιο σκιαγραφικό, πιθανή κύηση, ιστορικό χειρουργικής επέμβασης ή αγγειοπλαστικής στην υπό εξέταση καρωτίδα αρτηρία, καθώς και πτωχή ποιότητα της πραγματοποιούμενης υπερηχογραφικής μελέτης. Σύμφωνα με τις ενδείξεις για την καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, στη μελέτη περιλήφθηκαν ασυμπτωματικοί ασθενείς με στένωση > 60% του αυλού της έσω καρωτίδας αρτηρίας και συμπτωματικοί ασθενείς με στένωση > 70% του αυλού του αγγείου (316). Οι ασθενείς αυτοί υποβλήθηκαν προεγχειρητικά σε συμβατική δισδιάστατη (B-mode) υπερηχογραφική μελέτη της έσω καρωτίδας αρτηρίας για τον καθορισμό του βαθμού στένωσης αυτής, καθώς και σε υπερηχογραφική μελέτη με χρήση σκιαγραφικού μέσου, η οποία σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία αποτελεί μέτρο ποσοτικοποίησης του βαθμού νεοαγγείωσης της αθηρωματικής πλάκας. Επιπλέον, στους συμπτωματικούς ασθενείς πραγματοποιήθηκε ψηφιακή αφαιρετική αγγειογραφία ως απεικονιστική μέθοδος δεύτερης γραμμής. Στη συνέχεια, υποβλήθηκαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή και το ιστολογικό παρασκεύασμα της εκμηθείσας αθηρωματικής



πλάκας απεστάλει για παθολογοανατομική και ανοσοϊστοχημική μελέτη. Το ερευνητικό πρωτόκολλο της μελέτης υπεβλήθει και εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο» (αριθμός απόφασης 24/19-7-2011), ενώ βασική προϋπόθεση για τη συμμετοχή ενός ασθενούς στη μελέτη αυτή ήταν η λεπτομερής περιγραφή του πρωτοκόλλου, η κατανόησή του από την πλευρά του ασθενούς και η έγκρισή του με ενυπόγραφη δήλωση αποδοχής.

Όλες οι υπερηχογραφικές μελέτες πραγματοποιήθηκαν με την ίδια υπερηχογραφική συσκευή (VIVID 7, GE Healthcare). Η διενέργεια της υπερηχογραφικής μελέτης με σκιαγραφικό μέσο αποτελεί μία σχετικά απλή διαδικασία επαρκώς περιγεγραμμένη (317). Ο ασθενής υποβάλλεται σε συμβατική υπερηχογραφική δισδιάστατη μελέτη προκειμένου να καθορισθεί ο βαθμός της στένωσης του αγγειακού αυλού σύμφωνα με καθορισμένα κριτήρια (153) και στη συνέχεια αφού έχει ρυθμιστεί η συσκευή υπερηχογραφίας για εφαρμογή με σκιαγράφιση, εγχέονται 2,5ml σκιαγραφικού μέσου (SONOVUE, BRACCO, DE) αραιωμένου σε φυσιολογικό ορό συνολικού όγκου 10ml από έναν περιφερικό ενδοφλέβιο καθετήρα και ακολουθεί έγχυση φυσιολογικού ορού (2,5 ml). Οι υπερηχογραφικές ρυθμίσεις περιελάμβαναν την εκπομπή χαμηλού μηχανικού δείκτη (0,1-0,2 MI) υπερηχογραφικών παλμών προκειμένου να αποφευχθεί η καταστροφή των μικροφυσαλλίδων, σε αντίθεση με τη συμβατική υπερηχογραφία κατά την οποία χρησιμοποιείται υψηλότερος μηχανικός δείκτης (0,3-0,5 MI) επιτυγχάνοντας υψηλότερη ευκρίνεια. Αρχικά, τα όρια της καρωτιδικής πλάκας καθορίστηκαν με την απεικόνιση της αιματικής ροής. Στη συνέχεια, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο πραγματοποιήθηκε με εστίαση στην ήδη αναγνωρισμένη αθηρωματική βλάβη με μηχανικό δείκτη 0,1, συχνότητα 4,0/8,0Mhz και ροή (frame rate) 37 εικόνες ανά δευτερόλεπτο. Η σκιαγράφιση επιτυγχάνεται 10-30 δευτερόλεπτα μετά την έγχυση του σκιαγραφικού και περιλαμβάνει μία αρχική φάση σκιαγράφησης του καρωτιδικού αυλού και μία ακόλουθη φάση σκιαγράφησης του τοιχώματος του αγγείου. Η σκιαγράφιση του αγγειακού αυλού και του τοιχώματός του διαρκούσε 3-4 λεπτά συνολικά, οπότε και το σκιαγραφικό μέσο καθαίροταν. Εφόσον κρίθηκε απαραίτητο, η σκιαγράφιση ήταν δυνατό να επαναληφθεί προκειμένου να καταγραφεί με μεγαλύτερη ευκρίνεια και να καθορισθεί με αξιοπιστία τόσο η αιματική ροή στον αυλό του αγγείου, όσο και η σκιαγράφιση της αθηρωματικής πλάκας ως αντιπροσωπευτικό μέσο της νεοαγγείωσης αυτής. Το σύνολο της διαδικασίας καταγράφηκε σε ψηφιακή μορφή (Digital Imaging and Communications in Medicine, DICOM) για μετέπειτα ανάλυση της έντασης σκιαγράφησης της αθηρωματικής πλάκας. Η ανάλυση της εικόνας που λήφθηκε με την τεχνική αυτή πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μίας ημιαυτοματοποιημένης μεθόδου. Η ψηφιακή μορφή των λαμβανομένου υλικού μεταφέρθηκε σε εφαρμογή ηλεκτρονικού υπολογιστή όπου επιλέχθηκαν υπερηχογραφικές εικόνες από την ίδια φάση του καρδιακού κύκλου προ και κατά τη διάρκεια της σκιαγράφησης της καρωτιδικής πλάκας που ανταποκρίνονταν τόσο στην

αθηρωματική πλάκα, όσο και στον καρωτιδικό αυλό. Στις εικόνες αυτές καθορίστηκαν οι περιοχές ενδιαφέροντος (regions of interest, ROIs) στις οποίες υπολογίστηκε η μέση ένταση της φωτεινότητας του υπερηχογραφικού σήματος (mean gray-level, GL), καθώς και η ποσοστιαία μεταβολή της κατά τη διάρκεια χορήγησης του σκιαγραφικού μέσου (314).

Στη συνέχεια όλοι οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, η οποία πραγματοποιήθηκε με επιμήκη τομή κατά μήκος του τοιχώματος της κοινής και της έσω καρωτίδας αρτηρίας. Η αθηρωματική πλάκα αφαιρέθηκε ενιαία με κάθε προσπάθεια να διατηρηθεί καθαρός και χωρίς υπολείματα ο μέσος χιτώνας του αγγείου περιβαλλόμενος από τον άθικτο έξω χιτώνα. Με τον τρόπο αυτό, ήταν δυνατή η μελέτη της πλάκας και η αναγνώριση διαφόρων σημείων ενδιαφέροντος που είχαν σημειωθεί με τη δισδιάστατη υπερηχογραφία. Τα εκτιμηθέντα δείγματα της καρωτιδικής πλάκας μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα φορμαλδεΐδης 4% για 24 ώρες και στη συνέχεια, αφού εμβαπτίστηκαν σε παραφίνη κόπηκαν σε τμήματα πάχους 5μm προκειμένου να εκτιμηθούν ιστολογικά, καθώς και ανοσοϊστοχημικά. Πραγματοποιήθηκαν χρώσεις αιματοξυλίνης και ηοσίνης και τα δείγματα εξετάστηκαν από δύο παθολογοανατόμους, οι οποίοι αγνοούσαν τα αποτελέσματα της υπερηχογραφίας και τις κλινικές παραμέτρους του κάθε ασθενούς. Οι αθηρωματικές πλάκες ταξινομήθηκαν σύμφωνα με τα προκαθορισμένα κριτήρια κατά AHA (American Heart Association) (158) σε ινοαθηρωματικές (τάξη V) και επιπλεγμένες (τάξη VI), οι οποίες περιελάμβαναν πλάκες με αιμορραγία, εξέλκωση ή θρόμβωση και θεωρούνταν ασταθείς με υψηλό κίνδυνο για ρήξη. Ο αριθμός των κυττάρων θετικών στη χρώση εκφράστηκε ως ποσοστό του συνόλου των κυττάρων με και άνευ παρατήρησης χρώσης σε μεγέθυνση x 200 και η ταξινόμησή τους ήταν ως εξής: 0 για απουσία οποιασδήποτε χρώσης, 1 για ασθενή χρώση (< 20% των κυττάρων), 2 για μέτρια χρώση (20-50% των κυττάρων) και 3 για ισχυρή χρώση (> 50% των κυττάρων). Για την πραγματοποίηση ανοσοϊστοχημικής μελέτης των πλακών προκειμένου να καθορισθεί ο βαθμός νεοαγγείωσης και φλεγμονής χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα μονοκλωνικά αντισώματα: VEGF (κλώνος G153-694), CD68 (κλώνος PG-M1) για την αναγνώριση μακροφάγων και ιστιοκυττάρων, CD34 (κλώνος QBE nd/10) για την αναγνώριση ενδοθηλιακών κυττάρων και CD3 (κλώνος LN10) για την αναγνώριση T λεμφοκυττάρων. Η ανοσοϊστοχημική χρώση θεωρήθηκε ως θετική στην περίπτωση μόνο χρώσης του κυτταροπλάσματος. Επιπλέον μετρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 200x) ο αριθμός των νεοαγγείων κατά οπτικό πεδίο από συγκεκριμένες και προκαθορισμένες θέσεις της αθηρωματικής πλάκας.

### 3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση  $\pm$  σταθερή απόκλιση εκτός αν καθορίζονται στα αποτελέσματα διαφορετικά. Η U δοκιμασία Mann-Whitney ανεξαρτήτων δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των διαφορών μεταξύ των συνεχών μεταβλητών των αθηρωματικών πλακών τάξης V και VI. Κατ'αντίστοιχο τρόπο, η ακριβής δοκιμασία κατά Fisher χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των διαφορών μεταξύ των κατηγορικών ή ποιοτικών μεταβλητών των δύο αυτών τύπων αθηρωματικών πλακών. Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν πριν και μετά την έγχυση των μικροφουσαλλίδων εκτιμήθηκαν με τη δοκιμασία Wilcoxon Signed Rank. Όλες οι συσχετίσεις εξετάστηκαν με τη μη παραμετρική δοκιμασία κατά Spearman. Η αναπαραγωγικότητα των αποτελεσμάτων μεταξύ των διαφορετικών παρατηρητών εκτιμήθηκε σύμφωνα με προκαθορισμένα κριτήρια με την ανάλυση της συσχέτισης μεταξύ δύο μετρήσεων, του συντελεστή παρέκλισης (coefficient of variation), του συντελεστή συσχέτισης (intraclass correlation coefficient), καθώς και με διαγράμματα κατά Bland-Altman (318). Αμφίδρομες τιμές του  $p < 0,05$  θεωρήθηκαν ότι αντιστοιχούσαν σε στατιστική σημαντικότητα των αποτελεσμάτων. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού SPSS 19 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA).

#### 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά στη μελέτη περιλήφθηκαν 21 ασθενείς μέσης ηλικίας  $67,6 \pm 10,2$  έτη και με μέση καρωτιδική στένωση  $86,9 \pm 11,5\%$ . Από τους ασθενείς αυτούς, 13 ήταν συμπτωματικοί πριν την καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, και από αυτούς, σε 8 αναγνωρίστηκε έμφρακτο στο σύστοιχο εγκεφαλικό ημισφαίριο κατά την απεικόνιση με αξονική τομογραφία εγκεφάλου. Επιπλέον, στον έναν από τους υπόλοιπους 7 ασυμπτωματικούς ασθενείς παρατηρήθηκαν θετικά ευρήματα στην αξονική τομογραφία εγκεφάλου. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε επιτυχή καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή (σε ποσοστό 33,3% στην αριστερή καρωτίδα και σε ποσοστό 66,7% στη δεξιά καρωτίδα αρτηρία). Τα κλινικά χαρακτηριστικά, οι παράγοντες κινδύνου και η φαρμακευτική αγωγή των ασθενών απεικονίζονται στον Πίνακα 1.

Όλες οι καρωτιδικές αθηρωματικές πλάκες εκτιμήθηκαν ιστολογικά. Το 47,6% (10) ήταν ίνοαθηρωματικές (τάξη V) και οι υπόλοιπες (11, 53,4%) ήταν επιπλεγμένες αθηρωματικές πλάκες (τάξη VI). Στις πέντε από τις επιπλεγμένες πλάκες (45,5%) παρατηρήθηκε εξέλκωση. Όλες οι επιπλεγμένες καρωτιδικές πλάκες εντοπιζόνταν στο οπίσθιο τοίχωμα της αρτηρίας, ενώ από τις σταθερές πλάκες (ίνοαθηρωματικές), η μία εντοπιζόταν στο πρόσθιο και οι υπόλοιπες στο οπίσθιο τοίχωμα του αγγείου.

Σε όλους τους ασθενείς η χορήγηση του σκιαγραφικού με μικροφουσαλλίδες είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της φωτεινότητας της καρωτιδικής πλάκας (φωτεινότητα προ:  $69,7 \pm 46,7$ , φωτεινότητα μετά:  $86,1 \pm 50,9$ ,  $p = 0,001$ ). Η ίδια σημαντική αύξηση στη φωτεινότητα του υπερηχογραφικού σήματος ως αποτέλεσμα της έγχυσης του σκιαγραφικού μέσου παρατηρήθηκε και στον καρωτιδικό αυλό (φωτεινότητα προ:  $67,4 \pm 40,5$ , φωτεινότητα μετά:  $131,3 \pm 53,6$ ,  $p = 0,001$ ).

Οι δύο κατηγορίες πλακών (V και VI) εμφάνισαν συγκρίσιμη βασική ηχογένεια (V:  $59,3 \pm 37,4$ , VI:  $80,2 \pm 55,6$ ,  $p = 0,383$ ). Στην κατηγορία V των αθηρωματικών πλακών παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της φωτεινότητάς τους μετά την έγχυση του σκιαγραφικού (φωτεινότητα προ:  $59,3 \pm 37,4$ , φωτεινότητα μετά:  $84,0 \pm 48,2$ ,  $p = 0,018$ ). Παρόμοια σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε και στις αθηρωματικές πλάκες κατηγορίας VI (φωτεινότητα προ:  $80,2 \pm 55,6$ , φωτεινότητα μετά:  $88,1 \pm 57,3$ ,  $p = 0,018$ ). Η υπερηχογραφική φωτεινότητα μεταξύ των δύο κατηγοριών αθηρωματικών πλακών δε διέφερε σημαντικά μετά την έγχυση του σκιαγραφικού μέσου (V:  $84,0 \pm 48,2$ , VI:  $88,1 \pm 57,3$ ,  $p = 0,848$ ). Επιπλέον, όπως ήταν αναμενόμενο, λόγω της ροής του σκιαγραφικού εντός του καρωτιδικού αυλού παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της υπερηχογραφικής φωτεινότητας τόσο για τις πλάκες κατηγορίας V, όσο και για αυτές κατηγορίας VI (Πίνακας 2). Επιπλέον, σε 11 ασθενείς παρατηρήθηκαν υπερηχογραφικά ξεχωριστά σημεία φωτεινότητας εντός της καρωτιδικής πλάκας κατά την

έγχυση του σκιαγραφικού μέσου. Τα σημεία αυτά, πιθανώς αντιπροσωπεύουν συσσωρεύσεις μικροφουσαλλίδων εντός της αθηρωματικής πλάκας. Ο μέσος αριθμός των σημείων αυτών που αναγνωρίστηκαν δε διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο κατηγοριών αθηρωματικών πλακών ( $p = 0,456$ ).

Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση ανέδειξε ότι ο συνολικός αριθμός της νεοαγγείων της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτά ανιχνεύθηκαν με χρώση με αντισώματα CD34, ήταν  $24,8 \pm 17,7$  (εύρος 5-65). Η χρώση με αντισώματα VEGF ανέδειξε ότι 7 πλάκες (33,3%) εμφάνισαν ασθενή και 14 πλάκες (66,7%) μέτρια/ισχυρή έκφραση. Η χρώση με αντισώματα CD3 ανέδειξε ότι 11 πλάκες (52,4%) εμφάνισαν ασθενή και 10 πλάκες (47,6%) μέτρια/ισχυρή έκφραση. Αντιστοίχως, η χρώση με αντισώματα CD68 ανέδειξε ότι 7 πλάκες (33,3%) εμφάνισαν ασθενή και 14 πλάκες (66,7%) μέτρια/ισχυρή έκφραση. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ποσοστιαίας μεταβολής της φωτεινότητας της πλάκας, ή του λόγου της φωτεινότητας της πλάκας προς τη φωτεινότητα του αγγειακού αυλού και των ανεξαρτήτων χρώσεων με αντισώματα CD34, VEGF, CD3 και CD68 (Πίνακας 3).

Ο αριθμός των νεοαγγείων της καρωτιδικής πλάκας, όπως αυτά ανιχνεύθηκαν με χρώση με αντισώματα CD34, ήταν σημαντικά υψηλότερος στις αθηρωματικές πλάκες τάξης VI (επιπλεγμένες) ( $36,6 \pm 17,4$ ) σε σύγκριση με τις αθηρωματικές πλάκες τάξης V (ινοαθηρωματικές) ( $13,0 \pm 7,2$ ) ( $p = 0,002$ ). Επίσης η έκφραση των αντισωμάτων VEGF και CD68 ήταν σημαντικά υψηλότερη στις επιπλεγμένες πλάκες τάξης VI σε σύγκριση με τις πλάκες τάξης V ( $p = 0,021$  και για τις δύο κατηγορίες), ενώ η έκφραση των αντισωμάτων CD3 δε διέφερε μεταξύ των δύο κατηγοριών πλακών ( $p = 0,103$ ).

Στις αθηρωματικές πλάκες κατηγορίας V παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ισχυρή συσχέτιση της φωτεινότητας της αθηρωματικής πλάκας κατά τη ροή των μικροφουσαλλίδων (όπως αυτή εκτιμήθηκε από την ποσοστιαία μεταβολή της φωτεινότητας της πλάκας προς τη μεταβολή της φωτεινότητας του αγγειακού αυλού) με την έκφραση των αντισωμάτων CD34 ( $r=0,800$ ,  $p=0,031$ ) και CD68 ( $r=0,791$ ,  $p=0,034$ ) (Πίνακας 4). Παρόλ'αυτά, παρά την παρουσία μεγαλύτερου αριθμού νεοαγγείων στις επιπλεγμένες πλάκες τάξης VI, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της ενίσχυσης της φωτεινότητας της πλάκας και των ανοσοϊστοχημικών δεικτών (CD34, VEGF, CD3, CD68).

Οι δείκτες αναπαραγωγιμότητας των αποτελεσμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 5. Όλοι οι δείκτες αυτοί όσον αφορά τις μετρήσεις της φωτεινότητας τόσο της πλάκας, όσο και του αυλού εμφανίζουν τιμές άνω του 0,90 που αντιπροσωπεύουν πολύ καλή αναπαραγωγιμότητα. Δεν παρατηρήθηκαν στοιχεία συστηματικής προκατάληψης (systemic bias), η τάσης της επαναληψιμότητας των μετρήσεων να ποικίλει αναλόγως της υποκείμενης μέσης τιμής.

<b>Πίνακας 1: Κλινικά χαρακτηριστικά, παράγοντες κινδύνου και φαρμακευτική αγωγή των ασθενών</b>				
	Σύνολο	Κατηγορία αθηρωματικής πλάκας		Τιμή p
		V	VI	
Ασθενείς: σύνολο (άνδρες/γυναίκες)	21 (16/5)	10 (5/5)	11 (11/0)	0,070
Ηλικία (ετή)	67,6 ± 10,2	67,7 ± 10,6	67,4 ± 10,6	0,902
Ποσοστό καρωτιδικής στένωσης	86,9 ± 11,5	84,3 ± 15,7	89,5 ± 5,2	0,902
Ενδαρτηρεκτομή: αριστερά/δεξιά (%)	7(33,3) / 14 (66,7)	5 (50,0) / 5 (50,0)	2 (18,2) / 9 (81,8)	0,559
Ύπαρξη συμπτωμάτων (%)	13 (61,9)	2 (20,0)	11 (100)	0,005
Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (%)	6 (28,6)	0 (0)	6 (54,5)	0,070
Παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο (%)	5 (23,8)	1(10,0)	4 (36,4)	0,559
Αμαύρωση (%)	2 (9,5)	1 (10,0)	1 (9,1)	1,000
Θετική CT εγκεφάλου (%)	8 (38,1)	2 (20,0)	6 (54,5)	0,592
Υπέρταση (%)	13 (61,9)	7 (70,0)	6 (54,5)	1,000
Σακχαρώδης διαβήτης (%)	8 (38,1)	3 (30,0)	5 (45,5)	1,000
Δυσλιπιδαιμία (%)	16 (76,2)	6 (60,0)	10 (90,9)	1,000
Κάπνισμα (%)	15 (71,4)	7 (70,0)	8 (72,7)	1,000
Στεφανιαία νόσος (%)	6 (28,6)	1(10,0)	5 (45,5)	0,559
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου (%)	7 (33,3)	3 (30,0)	4 (36,4)	1,000
<b>Φαρμακευτική αγωγή</b>				
Ασπιρίνη (%)	9 (42,6)	3 (30,0)	6 (54,5)	0,592
Κλοπιδογρέλη (%)	3 (14,9)	1(10,0)	2 (18,2)	1,000
Αναστολείς GPIIb/IIIa (%)	0 (0)	0(0)	0 (0)	-
Βήτα-αναστολείς (%)	6 (28,6)	3 (30,0)	3 (27,3)	1,000
Νιτρώδη (%)	0 (0)	0(0)	0 (0)	-
Στατίνες (%)	9 (42,6)	7 (70,0)	2 (18,2)	0,103
Διουρητικά (%)	3 (14,3)	2 (20,0)	1 (9,1)	1,000
Αναστολείς μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης (%)	13 (61,9)	7 (70,0)	6 (54,5)	1,000
Αναστολείς αντλίας ασβεστίου (%)	6 (28,6)	5 (50,0)	1 (9,1)	0,559

<b>Πίνακας 2:</b> Μεταβολές της φωτεινότητας του υπερηχογραφικού σήματος κατά την έγχυση του σκιαγραφικού μέσου			
	Προ	Μετά	Τιμή p
Συνολικός πληθυσμός			
Πλάκα	69,7 ± 46,7	86,1 ± 50,9	0,001
Αυλός	67,4 ± 40,5	131,3 ± 53,6	0,001
Αθηρωματικές πλάκες κατηγορίας V (ινοαθηρωματικές) <sup>1</sup>			
Πλάκα	59,3 ± 37,3	84,0 ± 48,2	0,018
Αυλός	55,8 ± 23,9	112,2 ± 51,6	0,018
Αθηρωματικές πλάκες κατηγορίας VI (επιπλεγμένες) <sup>1</sup>			
Πλάκα	80,2 ± 55,6	88,1 ± 57,3	0,018
Αυλός	79,0 ± 51,6	150,5 ± 51,9	0,018
<p>Η φωτεινότητα εκφράζεται στην κλίμακα του γκρι (gray scale) (το 0 αναφέρεται στο μαύρο και το 255 αναφέρεται στο λευκό).</p> <p><sup>1</sup>. Σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά AHA (American Heart Association)</p>			

<b>Πίνακας 3:</b> Ανοσοϊστοχημική ανάλυση			
Τύπος πλάκας*	Έκφραση		p
	Απούσα/ασθενής	Μέτρια/ισχυρή	
VEGF			
Κατηγορία V	7	3	0,021
Κατηγορία VI	0	11	
CD3			
Κατηγορία V	8	2	0,103
Κατηγορία VI	3	8	
CD68 (PGM1)			
Κατηγορία V	7	3	0,021
Κατηγορία VI	0	11	
* Σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά AHA (American Heart Association)			



Πίνακας 4: Συσχετίσεις					
		CD34	VEGF	CD3	CD68
Συνολικός πληθυσμός					
% μεταβολή της φωτεινότητας της πλάκας	r	0,022	0,043	0,063	0,002
	(p)	(0,940)	(0,883)	(0,832)	(0,994)
% μεταβολή του λόγου Π-Α*	r	-0,225	0,130	-0,245	0,105
	(p)	(0,439)	(0,657)	(0,398)	(0,721)
NSS	r	0,008	0,128	0,023	0,076
	(p)	(0,978)	(0,662)	(0,938)	(0,795)
Αθηρωματικές πλάκες κατηγορίας V (ινοαθηρωματικές) <sup>1</sup>					
% μεταβολή της φωτεινότητας της πλάκας	r	0,655	0,158	0,204	0,632
	(p)	(0,111)	(0,735)	(0,661)	(0,127)
% μεταβολή του λόγου Π-Α*	r	0,800	0,316	0,408	0,791
	(p)	(0,031)	(0,490)	(0,363)	(0,034)
NSS	r	0,171	-0,087	-0,338	-0,523
	(p)	(0,715)	(0,852)	(0,459)	(0,228)
Αθηρωματικές πλάκες κατηγορίας VI (επιπλεγμένες) <sup>1</sup>					
% μεταβολή της φωτεινότητας της πλάκας	r	-0,162	0,158	0,159	-0,433
	(p)	(0,728)	(0,735)	(0,733)	(0,332)
% μεταβολή του λόγου Π-Α*	r	-0,631	0,474	-0,438	0,000
	(p)	(0,129)	(0,282)	(0,325)	(1,000)
NSS	r	-0,548	0,000	-0,073	0,151
	(p)	(0,203)	(1,000)	(0,876)	(0,746)
<sup>1</sup> Σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά AHA (American Heart Association) NSS: αριθμός συγκεκριμένων σημείων με αυξημένη ηχογένεια μετά τη χορήγηση μικροφουσαλλίδων; * ποσοστιαία μεταβολή του λόγου της φωτεινότητας της πλάκας προς τη φωτεινότητα του αυλού					

<b>Πίνακας 5: Δείκτες αναπαραγωγιμότητας</b>				
	r (p)	CV±SD (range)	ICC (95% C.I.)	B-A %
<b>Φωτεινότητα προ της χορήγησης των μικροφουσαλλίδων</b>				
Πλάκα	0,978	8,28±11,33	0,997	96,67
	(<0,001)	(0,28-43,24)	(0,990-0,999)	
Αυλός	0,991	6,83±8,31	0,995	96,67
	(<0,001)	(0,39-30,48)	(0,984-0,998)	
<b>Φωτεινότητα μετά τη χορήγηση των μικροφουσαλλίδων</b>				
Πλάκα	0,833	10,76±20,21	0,901	96,67
	(<0,001)	(0,07-76,02)	(0,692-0,928)	
Αυλός	0,855	10,41±18,28	0,927	96,67
	(0,001)	(0,26-70,71)	(0,773-0,977)	
CV: coefficient of variance; ICC: intercorrelation coefficient; B-A: Bland-Altman				

## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι υπάρχει σημαντική ανάγκη για την αναγνώριση των ασθενών οι οποίοι βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αγγειακού επεισοδίου. Ιστολογικές μελέτες έχουν καταδείξει ότι η νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας σχετίζεται με τον κίνδυνο που αυτή διατρέχει για ρήξη (262,263). Επιπλέον, η αναγνώριση των νεοαγγείων στον πυρήνα της πλάκας έχει περιγραφεί και από άλλους μελετητές (211,276,277,319). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης καταδεικνύουν ότι η χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο είναι δυνατό να οδηγήσει στο χαρακτηρισμό της νεοαγγειογένεσης εντός του αθηρώματος και στην αναγνώριση των παραγόντων εκείνων που θα ήταν ικανοί να προβλέψουν ποιες πλάκες βρίσκονται σε κίνδυνο για ρήξη. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της φωτεινότητας στις καρωτιδικές πλάκες κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο βρέθηκε ότι συσχετίζεται με την ύπαρξη και τον αριθμό των νεοαγγείων κατά την ιστολογική ανάλυση των σταθερών πλακών τάξης V. Αντιθέτως, στις ασταθείς πλάκες (τάξη VI), η σημαντική ενίσχυση της ηχογένειας της πλάκας αμέσως μετά την πλήρωση του καρωτιδικού αυλού με μικροφουσαλλίδες, δε συσχετιζόταν με τα αποτελέσματα της ιστολογικής και ανοσοϊστοχημικής ανάλυσης. Πιθανώς το εύρημα αυτό να καταδεικνύει μία επιπρόσθετη και περισσότερο σταθερή οδό διόδου των μικροφουσαλλίδων στην αθηρωματική πλάκα, συγκριτικά με το μικροαγγειακό δίκτυο. Η οδός αυτή θα μπορούσε να αποτελείται από ρωγμές στην επιφάνεια της αθηρωματικής πλάκας προς τον αγγειακό αυλό, απ'όπου οι μικροφουσαλλίδες εισέρχονται εντός της πλάκας. Το αναμενόμενο αποτέλεσμα θα ήταν η συσχέτιση αυτή να ήταν παρούσα τουλάχιστον και για τις πλάκες τις τελευταίας κατηγορίας, αντανακλώντας μία περισσότερο έντονη νεοαγγείωση στις ασταθείς πλάκες. Η σημαντική συσχέτιση παρόλ'αυτά, μεταξύ της ενίσχυσης της φωτεινότητας (όπως αυτή εκτιμάται από την ποσοστιαία μεταβολή της φωτεινότητας της πλάκας προς τη μεταβολή της φωτεινότητας του αγγειακού αυλού) και των ανοσοϊστοχημικών δεικτών που αντιπροσωπεύουν τη νεοαγγείωση στις πλάκες τάξης V, καταδεικνύει ότι οι μικροφουσαλλίδες που παρατηρούνται στον αγγειακό αυλό, πιθανώς μέσω των μικροαγγείων που εισέρχονται εντός της αθηρωματικής πλάκας από τον έξω χιτώνα του αγγείου, μεταφέρονται εντός της πλάκας και προκαλούν υπερηχογραφικά ανιχνεύσιμη ενίσχυση της σκιαγράφησης της πλάκας.

Πρόσφατες μελέτες έχουν εστιάσει στο ρόλο των ανοσολογικών μεσολαβητών και της φλεγμονώδους διαδικασίας στην αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας (261,320). Η νεοαγγειογένεση στον έσω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος αποτελεί ένα καλά αναγνωρισμένο χαρακτηριστικό των αθηρωματικών βλαβών. Πράγματι, η νεοαγγειογένεση εμπλέκεται στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και έχει συσχετισθεί με κλινικά σύνδρομα στη στεφανιαία κυκλοφορία, καθώς και στο πλαίσιο της συμπτωματικής στενωτικής καρωτιδικής νόσου (321).

Έχει προταθεί ότι τα νέα αυτά αγγεία αποτελούν εύθραστες δομές, και για το λόγο αυτό, πιθανώς ευθύνονται για αιμορραγία εντός της πλάκας προκαλώντας την απότομη αύξηση του όγκου αυτής, με αποτέλεσμα την αποσταθεροποίησή της.

Επιπλέον, η φλεγμονώδης διήθηση και η νεοαγγείωση φαίνεται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας. Ο παράγοντας VEGF προκαλεί αύξηση της μικροαγγειακής διαπερατότητας (322), η οποία προωθεί τη διήθηση της πλάκας από φλεγμονώδη κύτταρα. Έχει αναφερθεί ότι η αυξημένη έκφραση των VEGF και MMP-9 στις προχωρημένες αθηρωματικές βλάβες συμπτωματικών ασθενών, καταδεικνύει τον κυριαρχικό ρόλο των παραγόντων αυτών στη νεοαγγειογένεση που οφείλεται στις τοπικές φλεγμονώδεις συνθήκες και στην αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας, με αποτέλεσμα την πρόκληση συμπτωματικής καρωτιδικής νόσου (323). Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήθηκε ένας σημαντικός αριθμός φλεγμονωδών κυττάρων (μακροφάγα και λεμφοκύτταρα), καθώς και λείων μυικών κυττάρων στις περιοχές της αθηρωματικής πλάκας που εμφάνιζαν σημαντική νεοαγγειογενετική δραστηριότητα. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης των CD34 και VEGF κατά τις αντίστοιχες χρώσεις και τόσο των ιστολογικών χαρακτηριστικών των αθηρωματικών πλακών, όσο και της κλινικής κατάστασης των ασθενών.

Η πρόωρη αναγνώριση των αθηρωματικών βλαβών, οι οποίες βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για πρόκληση καρδιαγγειακών και εγκεφαλικών επεισοδίων αποτελεί μία πρόκληση. Τα χαρακτηριστικά της σύστασης της αθηρωματικής πλάκας σε μεγαλύτερο βαθμό συγκριτικά με τη στένωση του καρωτιδικού αυλού φαίνεται ότι συμβάλλουν στην αναγνώριση της ευάλωτης πλάκας (vulnerable plaque) (324). Η μελέτη αυτή υπογραμμίζει την ανάγκη για την εκτίμηση των ευρημάτων της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο, καθώς τα διάφορα χαρακτηριστικά των νεοαγγειακών δικτύων είναι δυνατό να σχετίζονται με διαφορετικού τύπου αθηρωματικές πλάκες. Σε ένα ευρύτερο πλαίσιο, πιστεύουμε ότι η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο αποτελεί μία νέα τεχνική για τη μη επεμβατική απεικόνιση της αθηρωματικής πλάκας κατά τη διάρκεια προγραμματισμένων παρεμβάσεων στην καρωτίδα αρτηρία. Η αναγνώριση ενδοαυλικών ανωμαλιών και διαχωρισμών θα μπορούσε εύκολα να ταυτοποιηθεί και να καθοδηγήσει τις θεραπευτικές παρεμβάσεις και την παρακολούθηση των ασθενών που βρίσκονται σε κίνδυνο για ανεπιθύμητα συμβάματα (325). Πράγματι, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο έχει αναφερθεί ότι μπορεί να αναγνωρίσει τις επαναστενώσεις μετά την τοποθέτηση καρωτιδικής ενδοπρόθεσης (288). Παρόλ' αυτά, η απεικόνιση της νεοαγγείωσης στο πλαίσιο της παρουσίας προσθετικού υλικού σε ενδοαυλική θέση (καρωτιδική ενδοπρόθεση) αποτελεί μία πρόκληση η οποία πιθανώς θα αντιμετωπισθεί με το σχεδιασμό και την πραγματοποίηση μελλοντικών πρωτοκόλλων.

Ένας υπάρχων περιορισμός της υπερηχογραφικής τεχνικής παρατηρείται όταν η αθηρωματική πλάκα βρίσκεται στο οπίσθιο τοίχωμα του αγγείου και η παρουσία του σκιαγραφικού με μικροφουσαλλίδες μπορεί να οδηγήσει σε ακουστικές σκιές και να επηρεάσει κατά συνέπεια τη φωτεινή ένταση της λαμβανόμενης εικόνας. Όπως αναφέρθηκε, στον πληθυσμό που μελετήθηκε στην παρούσα μελέτη όλες οι αθηρωματικές πλάκες εκτός από μία βρισκόνταν στο οπίσθιο τοίχωμα του αγγείου. Η ομοιογένεια αυτή είχε ως αποτέλεσμα να θεωρηθεί ότι η ακουστική σκιά είχε την ίδια επίδραση στη φωτεινότητα του υπερηχογραφικού σήματος σε όλες τις πλάκες. Παρόλ'αυτά, η επίδραση αυτή στη φωτεινότητα και η συσχέτισή της με το δίκτυο των νεοαγγείων είναι τεχνικά αδύνατο να εκτιμηθεί λεπτομερώς. Επιπλέον, η ψευδοενίσχυση που παρατηρείται στο απομακρυσμένο τοίχωμα του αγγείου με την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο είναι δυνατό να επηρεάσει σημαντικά τα ευρήματα. Το στοιχείο αυτό παρατηρείται και στις δύο κατηγορίες αθηρωματικών πλακών (σταθερές και ασταθείς), με αποτέλεσμα στις μεταξύ τους συσχετίσεις να αλληλοαναιρούνται.

Ένα ακόμα χαρακτηριστικό είναι ότι κατά τη διάρκεια της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό η αθηρωματική πλάκα και ο αυλός του αγγείου φυσιολογικά απεικονίζονται σκοτεινά, χωρίς καμία φωτεινότητα πριν τη χορήγηση του σκιαγραφικού μέσου. Η φωτεινότητα της καρωτιδικής πλάκας και του αγγειακού αυλού στην ομάδα που μελετήθηκε ήταν ήδη αυξημένη πριν τη χορήγηση του σκιαγραφικού μέσου, τόσο στις σταθερές όσο και στις ασταθείς πλάκες (υψηλός θόρυβος περιβάλλοντος). Προκειμένου να καλυφθούν τα θέματα αυτά, πριν την επιλογή των σημείων ενδιαφέροντος, η απεικόνιση που πραγματοποιήθηκε στην κάθε εξέταση ξεχωριστά εκτιμήθηκε λεπτομερώς προκειμένου να ληφθούν εικόνες της αθηρωματικής πλάκας και του καρωτιδικού αυλού σε πραγματικό χρόνο. Επιπλέον, η ημιποσοτική ανάλυση της νεοαγγείωσης της καρωτιδικής πλάκας θα μπορούσε επίσης να πραγματοποιηθεί εστιάζοντας στην κίνηση των μικροφουσαλλίδων εντός της πλάκας. Με τον τρόπο αυτό, ο οποίος όμως είναι εξαρτώμενος από τον παρατηρητή, θα μπορούσε επίσης να εξαλειφθεί και το πρόβλημα της ψευδοενίσχυσης του απομακρυσμένου αγγειακού τοιχώματος. Παρόλ'αυτά, στη μελέτη που πραγματοποιήσαμε στοχεύσαμε στην παροχή μίας περισσότερο αντικειμενικής προσέγγισης στην ποσοτικοποίηση των μεταβολών της ηχογένειας της αθηρωματικής πλάκας κατά τη διάρκεια της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό μέσο. Τέλος, ένας ακόμα περιορισμός είναι ότι χρησιμοποιήθηκαν μόνο δύο καρδιακοί κύκλοι για την ανάλυση της υπερηχογραφικής απεικόνισης για κάθε στάδιο πριν και μετά την έγχυση του σκιαγραφικού μέσου, ενώ θα ήταν φυσικά επιθυμητό να αναλυθούν περισσότερες εικόνες. Η επιλογή της συγκεκριμένης τεχνικής πραγματοποιήθηκε προκειμένου να αναλυθεί η απεικόνιση της καρωτιδικής πλάκας τη στιγμή της μέγιστης συγκέντρωσης του σκιαγραφικού παράγοντα στον καρωτιδικό αυλό.

Συμπερασματικά, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό αποτελεί μία διαγνωστική μέθοδο, η οποία εξελίχθηκε βασιζόμενη σε δύο αρχές: την ικανότητα των μικροφουσαλλίδων να κυκλοφορούν ελεύθερα εντός των αγγειακών και μικροαγγειακών δικτύων εντός ενός συγκεκριμένου χρονικού πλαισίου πριν απομακρυνθούν από την κυκλοφορία, καθώς και στην ιδιότητά τους να αντανακλούν υπερηχογραφικά κύματα στις συχνότητες εκείνες που χρησιμοποιούνται στην κλινική υπερηχογραφία. Με τον τρόπο αυτό, η υπερηχογραφική ανίχνευση των μικροφουσαλλίδων, με την εξαίρεση της εξέτασης καθυστερημένης φάσης, ανταποκρίνεται στην κυκλοφορία τους εντός του αγγειακού δικτύου. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι όταν η ανίχνευσή τους παρατηρείται εντός της αθηρωματικής πλάκας, το εύρημα αντιπροσωπεύει τη νεοαγγείωση της πλάκας, ενώ η απεικόνισή τους εντός του καρωτιδικού αυλού οδηγεί στη λήψη αγγειογραφικών εικόνων, οι οποίες επιτρέπουν έναν καλύτερο χαρακτηρισμό των δομικών χαρακτηριστικών της πλάκας. Η μελέτη αυτή, ανέδειξε και μία πιθανή εναλλακτική δίοδο των μικροφουσαλλίδων στην αθηρωματική πλάκα μέσω ρωγμών που υπάρχουν στην επιφάνεια αυτής προς τον αγγειακό αυλό. Με τον τρόπο αυτό, η υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο δύναται να αναγνωρίσει ευάλωτες καρωτιδικές πλάκες, οι οποίες εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο ρήξης και περιφερικού εμβολισμού, καθώς τα ευρήματα της εξέτασης αυτής έχουν συσχετισθεί με τις περισσότερες κλινικές εκφράσεις της αποσταθεροποίησης της αθηρωματικής πλάκας. Δεδομένης της αβεβαιότητας που υπάρχει σχετικά με το όφελος της καρωτιδικής ενδαρτηρεκτομής σε σοβαρές στενωτικές βλάβες σε ασυμπτωματικούς ασθενείς, η ανίχνευση νεοαγγειογενετικής δραστηριότητας και άλλων παραγόντων κινδύνου στις βλάβες αυτές και ο χαρακτηρισμός τους ως ευάλωτες, πιθανώς να συμβάλλει στη βελτίωση των αποφάσεων σχετικά με την επεμβατική αντιμετώπισή τους. Η επαλήθευση των ευρημάτων των υπαρχόντων αναδρομικών μελετών από μεγαλύτερου εύρους προοπτικές μελέτες και η υιοθέτηση διεθνών σταθερών αναφοράς των τεχνικών λεπτομερειών και των αποτελεσμάτων της μεθόδου, θα σταθεροποιήσει τη χρήση της υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό για τη διάγνωση αθηρωματικών βλαβών υψηλού κινδύνου και θα την καθιερώσει στην καθημερινή κλινική πράξη.

## Γ. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

## 1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

**Σκοπός:** Η καρωτιδική αθηροσκλήρυνση αποτελεί βασική αιτία ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων και η σύγχρονη αντιμετώπισή της περιλαμβάνει τη χειρουργική επαναγγείωση για τις μέτρια και σοβαρές συμπτωματικές στενωτικές βλάβες. Η νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας και ο πολλαπλασιασμός των τριχοειδών του έξω χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος συμβάλλουν στην πρόοδο και τη ρήξη των αθηροσκληρυντικών βλαβών. Η υπερηχογραφία της καρωτίδας με σκιαγραφικό μέσο αποτελεί μία σχετικά νέα διαγνωστική μέθοδο, η οποία εκμεταλλεύεται την ανάκλαση των υπερηχογραφικών κυμάτων από τις κυκλοφορούσες μικροφουσαλλίδες, ενώ έχει αναφερθεί ότι τα ευρήματά της σχετίζονται με τη νεοαγγείωση της αθηρωματικής πλάκας. Παρόλ'αυτά, κατά πόσο η ανίχνευση των μικροφουσαλλίδων με την υπερηχογραφία ανταποκρίνεται αληθώς στα νεοαγγεία της πλάκας αποτελεί αντικείμενο συζήτησης. Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην εκτίμηση των νεοαγγείων σταθερών και ασταθών καρωτιδικών βλαβών με την εφαρμογή υπερηχογραφίας με σκιαγραφικό και στη συσχέτιση των ευρημάτων της με ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά δεδομένα.

**Ασθενείς και μέθοδοι:** Στη μελέτη αυτή συμπεριλήφθηκαν ασθενείς συμπτωματικοί ή με γνωστούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου και καρωτιδικές αθηρωματικές πλάκες οι οποίοι προγραμματίζονταν για καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή. Οι καρωτιδικές πλάκες αρχικά αναγνωρίστηκαν κατά τον έλεγχο με συμβατική δισδιάστατη υπερηχογραφία και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε υπερηχογραφία με σκιαγραφικό μέσο. Οι καταγεγραμμένες εικόνες εκτιμήθηκαν με τη χρήση μίας ημιαυτοματοποιημένης μεθόδου, καθορισμό της φωτεινότητας προκαθορισμένων περιοχών ενδιαφέροντος και αναδρομική ανάλυση. Μετά την καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, τα παρασκευάσματα των αθηρωματικών πλακών ταξινομήθηκαν είτε ως ινοαθηρώματα (τάξης V), είτε ως επιπλεγμένες πλάκες (τάξης VI) και υπεβλήθησαν σε ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση. Η ανοσοϊστοχημεία πραγματοποιήθηκε με αντισώματα έναντι του VEGF (για τη χρώση νεοαγγείων) και έναντι των CD3, CD34 και CD68 για την αναγνώριση φλεγμονωδών και ενδοθηλιακών κυττάρων. Με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου (x200) καθορίστηκε ο αριθμός των νεοαγγείων κατ'οπτικό πεδίο, ενώ η ποσοτικοποίησή τους πραγματοποιήθηκε με εξειδικευμένο λογισμικό.

**Αποτελέσματα:** Εκτιμήθηκαν είκοσι ένας ασθενείς ( $67,6 \pm 10,2$  έτη, 16 άνδρες) με μέσο βαθμό καρωτιδικής στένωσης  $86,9 \pm 11,5\%$ . Η ιστολογική ανάλυση ανέδειξε ότι 11 πλάκες ήταν τάξης VI ή επιπλεγμένες και 10 ήταν ινοαθηρώματα. Η φωτεινότητα της αθηρωματικής πλάκας και του καρωτιδικού αυλού κατά την υπερηχογραφία παρουσίασαν σημαντική αύξηση μετά τη χορήγηση του σκιαγραφικού μέσου ( $p = 0,001$ , και στις δύο περιπτώσεις). Περαιτέρω, η φωτεινότητα της πλάκας παρουσίασε σημαντική αύξηση τόσο για τις σταθερές, όσο και για τις



ασταθείς βλάβες ( $p = 0,018$ , και στις δύο περιπτώσεις). Η ανοσοϊστοχημεία ανέδειξε ότι τα νεοαγγεία, όπως εκτιμήθηκαν με αντισώματα έναντι του CD34, ήταν σημαντικά περισσότερα στις ασταθείς (τάξης VI), συγκριτικά με τις σταθερές (τάξης V) βλάβες ( $36,6 \pm 17,4$  έναντι  $13,0 \pm 7,2$  αντιστοίχως,  $p = 0,002$ ). Επιπλέον, η έκφραση των αντισωμάτων VEGF και CD68 ήταν υψηλότερη στις ασταθείς πλάκες ( $p = 0,021$ ), ενώ η έκφραση των αντισωμάτων CD3 ήταν συγκρίσιμη στις δύο κατηγορίες αθηρωματικών πλακών ( $p = 0,103$ ). Η συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της φωτεινότητας της πλάκας προς τον αγγειακό αυλό κατά την υπερηχογραφία, της πυκνότητας των νεοαγγείων και της παρουσίας φλεγμονωδών κυττάρων ήταν σημαντική μόνο για τις σταθερές αθηρωματικές βλάβες, όπως αυτή εκτιμήθηκε με χρώσεις με αντισώματα έναντι του CD34 ( $r = 0,800$ ,  $p = 0,031$ ) και του CD68 ( $r = 0,791$ ,  $p = 0,034$ ).

**Συμπεράσματα:** Ενώ τα νεοαγγεία της αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτά εκτιμήθηκαν κατά την ιστολογική και ανοσοϊστοχημική ανάλυση ήταν περισσότερα για τις επιπλεγμένες τάξης VI βλάβες, η φωτεινότητα της πλάκας κατά την υπερηχογραφία με σκιαγραφικό ήταν εντονότερη στις σταθερές τάξης V βλάβες. Επιπλέον, η σκιαγράφιση της πλάκας με μικροφουσαλλίδες σχετιζόταν στενά με τον αριθμό των νεοαγγείων των σταθερών, αλλά όχι των επιπλεγμένων βλαβών. Η απουσία αυτή συσχέτισης για τις τάξης VI αθηρωματικές πλάκες υποδεικνύει ότι η είσοδος των μικροφουσαλλίδων στις βλάβες αυτές είναι δυνατό να πραγματοποιείται μέσω οδών διαφορετικών από τα νεοαγγεία της πλάκας, όπως είναι οι διασχίσεις αυτής.

## 2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

**Purpose:** Carotid atherosclerosis represents a primary cause for cerebrovascular ischemic events and its contemporary management includes surgical revascularization for moderate to severe symptomatic stenoses. Intraplaque neovascularization and vasa vasorum (VV) proliferation contribute to the progression and rupture of atherosclerotic lesions. Contrast Enhanced Ultrasonography (CEUS) of the carotid artery is a relatively novel diagnostic tool that exploits resonated ultrasound waves from circulating microbubbles and has been reported to attain data regarding intraplaque neovessels and VV. However, whether the detection of microbubbles by CEUS within atherosclerotic plaques truly represents microvessels is a point of concern. We aimed to evaluate stable and unstable carotid artery plaque VV pattern by CEUS and its correlation with histology and immunochemistry.

**Patients and methods:** Patients either symptomatic or with known cardiovascular risk factors and carotid artery plaques scheduled for plaque endarterectomy were enrolled in this study. Carotid artery plaques were initially identified by conventional ultrasonography and subsequently CEUS (harmonic ultrasound imaging with simultaneous intravenous contrast agent injection) was performed. The recorded image loops were evaluated by a semi-automated method with region of interest brightness determination and image post-processing. Following carotid endarterectomy, plaque specimens were classified as either fibroatheromas (class V) or complicated atherosclerotic plaques (class VI) and underwent histological and immunochemical analysis. Immunochemistry was performed with VEGF antibodies (for neovessel staining) and CD3, CD34 and CD68 antibodies to identify inflammatory and endothelial cells. Using optical microscopy (x200) the number of microvessels per optical field was determined, while their quantification took place with specialised software.

**Results:** Twenty one patients ( $67.6 \pm 10.2$  years, 16 males) with a  $86.9 \pm 11.5$  % degree of carotid artery stenosis were evaluated. Histology showed that 11 plaques were class VI or complicated and 10 plaques were fibroatheromas. Enhancement of plaque and lumen brightness on CEUS was significantly increased following contrast administration ( $p = 0.001$ , for both). Furthermore, plaque brightness showed a significant increase for both stable and unstable plaque subgroups ( $p=0.018$ , for both). Immunochemistry showed that microvessels, as assessed by CD34 antibody, were more dense in unstable (class VI) vs. stable plaques (class V) ( $36.6 \pm 17.4$  vs.  $13.0 \pm 7.2$  respectively,  $p = 0.002$ ). In addition, expression of VEGF and CD68 antibodies was higher for unstable plaques ( $p=0.021$ ), while expression of CD3 antibody was comparable between the two plaque categories ( $p=0.103$ ). Correlation between plaque-to-lumen brightness enhancement on CEUS, microvessel density and the local presence of inflammatory cells was

significant only for stable plaques, as assessed with CD34 ( $r=0.800$ ,  $p=0.031$ ) and CD68 ( $r=0.791$ ,  $p=0.034$ ) antibody staining.

**Conclusions:** While plaque microvessels as identified with histology and immunochemistry were more dense in complicated class VI carotid atheromas, plaque enhancement during CEUS was more intense in stable class V plaques. Furthermore, plaque enhancement with microbubbles closely correlated with the density of plaque neovessels in stable lesions but not in unstable ones. This lack of correlation in class VI plaques indicates that microbubble entry into unstable lesions might take place through routes other than the plaque neovasculature, such as plaque fissures.

## Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2012 Jan 3;125(1):e2–e220.
2. Alberts MJ, Bhatt DL, Mas J-L, Ohman EM, Hirsch AT, Röther J, et al. Three-year follow-up and event rates in the international REduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry. *Eur Heart J*. The Oxford University Press; 2009 Oct;30(19):2318–26.
3. Moran AE, Roth GA, Narula J, Mensah GA. 1990-2010 global cardiovascular disease atlas. *Glob Heart*. 2014 Mar;9(1):3–16.
4. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115–26.
5. Grau AJ, Weimar C, Buggle F, Heinrich A, Goertler M, Neumaier S, et al. Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke: the German stroke data bank. *Stroke*. 2001 Nov;32(11):2559–66.
6. Halliday A, Harrison M, Hayter E, Kong X, Mansfield A, Marro J, et al. 10-year stroke prevention after successful carotid endarterectomy for asymptomatic stenosis (ACST-1): a multicentre randomised trial. *Lancet*. Elsevier; 2010 Sep 25;376(9746):1074–84.
7. Nicolaides AN, Kakkos SK, Kyriacou E, Griffin M, Sabetai M, Thomas DJ, et al. Asymptomatic internal carotid artery stenosis and cerebrovascular risk stratification. *J Vasc Surg*. Elsevier; 2010 Dec;52(6):1486–1496.e1–5.
8. Finn AV, Nakano M, Narula J, Kolodgie FD, Virmani R. Concept of vulnerable/unstable plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Lippincott Williams & Wilkins; 2010 Jul;30(7):1282–92.
9. Lovett JK, Dennis MS, Sandercock PAG, Bamford J, Warlow CP, Rothwell PM. Very early risk of stroke after a first transient ischemic attack. *Stroke*. Lippincott Williams & Wilkins; 2003 Aug;34(8):e138–40.
10. Alonso A, Artemis D, Hennerici MG. Molecular imaging of carotid plaque vulnerability. *Cerebrovasc Dis*. 2015;39(1):5–12.
11. Rather LJ. Disturbance of function (functio laesa): the legendary fifth cardinal sign of inflammation, added by Galen to the four cardinal signs of Celsus. *Bull N Y Acad Med*. New York Academy of Medicine; 1971 Mar;47(3):303–22.
12. Rayer P. Mémoire sur l'ossification morbide, considérée comme une terminaison des phlegmasies. *Arch Gén Méd J*; 1823.
13. Hodgson J. A treatise on the diseases of arteries and veins, containing the pathology and treatment of aneurisms and wounded arteries. 1815.
14. Virchow R. Cellular pathology as based upon physiological and pathological histology London. England: Churchill; 1860.
15. Anitschkow N, Chaladow S, Müller C. Ueber experimentelle Cholesterinsteatose und ihre Bedeutung einiger pathologischer Prozesse. *Centrbl Allg Pathol Pathol ...*; 1913.
16. Bailey CH. ATHEROMA AND OTHER LESIONS PRODUCED IN RABBITS BY CHOLESTEROL FEEDING. *J Exp Med*. Rockefeller Univ Press; 1916 Jan 1;23(1):69–84.

17. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis--an update. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society; 1986 Feb 20;314(8):488–500.
18. Tamminen M, Mottino G, Qiao JH, Breslow JL, Frank JS. Ultrastructure of early lipid accumulation in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Apr;19(4):847–53.
19. Libby P. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med*. 2000 Mar;247(3):349–58.
20. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med*. Medknow Publications; 2014 Aug;5(8):927–46.
21. Mehrabian M, Wen PZ, Fisler J, Davis RC, Lusis AJ. Genetic loci controlling body fat, lipoprotein metabolism, and insulin levels in a multifactorial mouse model. *J Clin Invest*. American Society for Clinical Investigation; 1998 Jun 1;101(11):2485–96.
22. Tabas I, Williams KJ, Borén J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation*. American Heart Association Journals; 2007 Oct 16;116(16):1832–44.
23. Gimbrone MA, García-Cardeña G. Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol*. 2013 Jan;22(1):9–15.
24. van den Berg BM, Spaan JAE, Vink H. Impaired glycocalyx barrier properties contribute to enhanced intimal low-density lipoprotein accumulation at the carotid artery bifurcation in mice. *Pflugers Arch*. Springer-Verlag; 2009 Apr;457(6):1199–206.
25. Zeng L, Zampetaki A, Margariti A, Pepe AE, Alam S, Martin D, et al. Sustained activation of XBP1 splicing leads to endothelial apoptosis and atherosclerosis development in response to disturbed flow. *Proc Natl Acad Sci USA*. National Acad Sciences; 2009 May 19;106(20):8326–31.
26. Atkins GB, Simon DI. Interplay between NF- $\kappa$ B and Kruppel-like factors in vascular inflammation and atherosclerosis: location, location, location. *J Am Heart Assoc*. Lippincott Williams & Wilkins; 2013 Jun;2(3):e000290–0.
27. Lingrel JB, Pilcher-Roberts R, Basford JE, Manoharan P, Neumann J, Konanah ES, et al. Myeloid-specific Krüppel-like factor 2 inactivation increases macrophage and neutrophil adhesion and promotes atherosclerosis. *Circ Res*. 2012 May 11;110(10):1294–302.
28. Zhou G, Hamik A, Nayak L, Tian H, Shi H, Lu Y, et al. Endothelial Kruppel-like factor 4 protects against atherothrombosis in mice. *J Clin Invest*. American Society for Clinical Investigation; 2012 Dec;122(12):4727–31.
29. Mullick AE, Soldau K, Kiosses WB, Bell TA, Tobias PS, Curtiss LK. Increased endothelial expression of Toll-like receptor 2 at sites of disturbed blood flow exacerbates early atherogenic events. *J Exp Med*. Rockefeller Univ Press; 2008 Feb 18;205(2):373–83.
30. Kumar S, Kim CW, Simmons RD, Jo H. Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Lippincott Williams & Wilkins; 2014 Oct;34(10):2206–16.

31. Jiang Y-Z, Jiménez JM, Ou K, McCormick ME, Zhang L-D, Davies PF. Hemodynamic disturbed flow induces differential DNA methylation of endothelial Kruppel-Like Factor 4 promoter in vitro and in vivo. *Circ Res*. Lippincott Williams & Wilkins; 2014 Jun 20;115(1):32–43.
32. Murphy PA, Hynes RO. Alternative splicing of endothelial fibronectin is induced by disturbed hemodynamics and protects against hemorrhage of the vessel wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Lippincott Williams & Wilkins; 2014 Sep;34(9):2042–50.
33. Conway DE, Schwartz MA. Flow-dependent cellular mechanotransduction in atherosclerosis. *J Cell Sci*. The Company of Biologists Ltd; 2013 Nov 15;126(Pt 22):5101–9.
34. Li J, Hou B, Tumova S, Muraki K, Bruns A, Ludlow MJ, et al. Piezo1 integration of vascular architecture with physiological force. *Nature*. 2014 Nov 13;515(7526):279–82.
35. Baeyens N, Mulligan-Kehoe MJ, Corti F, Simon DD, Ross TD, Rhodes JM, et al. Syndecan 4 is required for endothelial alignment in flow and atheroprotective signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*. National Acad Sciences; 2014 Dec 2;111(48):17308–13.
36. Dutta P, Courties G, Wei Y, Leuschner F, Gorbатов R, Robbins CS, et al. Myocardial infarction accelerates atherosclerosis. *Nature*. 2012 Jul 19;487(7407):325–9.
37. Murphy AJ, Dragoljevic D, Tall AR. Cholesterol efflux pathways regulate myelopoiesis: a potential link to altered macrophage function in atherosclerosis. *Front Immunol*. Frontiers; 2014;5(5):490.
38. Peled M, Fisher EA. Dynamic Aspects of Macrophage Polarization during Atherosclerosis Progression and Regression. *Front Immunol*. Frontiers; 2014;5(5):579.
39. Wang Y, Wang GZ, Rabinovitch PS, Tabas I. Macrophage mitochondrial oxidative stress promotes atherosclerosis and nuclear factor- $\kappa$ B-mediated inflammation in macrophages. *Circ Res*. Lippincott Williams & Wilkins; 2014 Jan 31;114(3):421–33.
40. Lu X, Kakkar V. Inflammasome and atherogenesis. *Curr Pharm Des*. 2014;20(1):108–24.
41. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*. 2010 Apr 29;464(7293):1357–61.
42. Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nat Rev Immunol*. 2010 Jan;10(1):36–46.
43. Spann NJ, Garmire LX, McDonald JG, Myers DS, Milne SB, Shibata N, et al. Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses. *Cell*. 2012 Sep 28;151(1):138–52.
44. Kanters E, Pasparakis M, Gijbels MJJ, Vergouwe MN, Partouns-Hendriks I, Fijneman RJA, et al. Inhibition of NF- $\kappa$ B activation in macrophages increases atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest*. American Society for Clinical Investigation; 2003 Oct;112(8):1176–85.
45. Tabas I, Glass CK. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science*. American Association for the Advancement of Science; 2013 Jan 11;339(6116):166–72.

46. Libby P. Collagenases and cracks in the plaque. *J Clin Invest*. American Society for Clinical Investigation; 2013 Aug;123(8):3201–3.
47. Bornfeldt KE, Tabas I. Insulin resistance, hyperglycemia, and atherosclerosis. *Cell Metab*. 2011 Nov 2;14(5):575–85.
48. Schrijvers DM, De Meyer GRY, Kockx MM, Herman AG, Martinet W. Phagocytosis of apoptotic cells by macrophages is impaired in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Lippincott Williams & Wilkins; 2005 Jun;25(6):1256–61.
49. Thorp E, Li G, Seimon TA, Kuriakose G, Ron D, Tabas I. Reduced apoptosis and plaque necrosis in advanced atherosclerotic lesions of ApoE<sup>-/-</sup> and Ldlr<sup>-/-</sup> mice lacking CHOP. *Cell Metab*. 2009 May;9(5):474–81.
50. Garbin U, Baggio E, Stranieri C, Pasini A, Manfro S, Mozzini C, et al. Expansion of necrotic core and shedding of Mertk receptor in human carotid plaques: a role for oxidized polyunsaturated fatty acids? *Cardiovasc Res*. The Oxford University Press; 2013 Jan 1;97(1):125–33.
51. Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell*. 2010 Mar 19;140(6):871–82.
52. Buckley CD, Gilroy DW, Serhan CN. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation. *Immunity*. 2014 Mar 20;40(3):315–27.
53. Alexander MR, Owens GK. Epigenetic control of smooth muscle cell differentiation and phenotypic switching in vascular development and disease. *Annu Rev Physiol*. Annual Reviews; 2012;74(1):13–40.
54. Rong JX, Shapiro M, Trogan E, Fisher EA. Transdifferentiation of mouse aortic smooth muscle cells to a macrophage-like state after cholesterol loading. *Proc Natl Acad Sci USA*. National Acad Sciences; 2003 Nov 11;100(23):13531–6.
55. Feil S, Fehrenbacher B, Lukowski R, Essmann F, Schulze-Osthoff K, Schaller M, et al. Transdifferentiation of vascular smooth muscle cells to macrophage-like cells during atherogenesis. *Circ Res*. Lippincott Williams & Wilkins; 2014 Sep 12;115(7):662–7.
56. Iwata H, Manabe I, Fujii K, Yamamoto T, Takeda N, Eguchi K, et al. Bone marrow-derived cells contribute to vascular inflammation but do not differentiate into smooth muscle cell lineages. *Circulation*. American Heart Association Journals; 2010 Nov 16;122(20):2048–57.
57. Bentzon JF, Weile C, Sondergaard CS, Hindkjaer J, Kassem M, Falk E. Smooth muscle cells in atherosclerosis originate from the local vessel wall and not circulating progenitor cells in ApoE knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Lippincott Williams & Wilkins; 2006 Dec;26(12):2696–702.
58. Allahverdian S, Chehroudi AC, McManus BM, Abraham T, Francis GA. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis. *Circulation*. 2014 Apr 15;129(15):1551–9.
59. Vengrenyuk Y, Nishi H, Long X, Ouimet M, Savji N, Martinez FO, et al. Cholesterol loading reprograms the microRNA-143/145-myocardin axis to convert aortic smooth muscle cells to a



- dysfunctional macrophage-like phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* Lippincott Williams & Wilkins; 2015 Mar;35(3):535–46.
60. Yoshida T, Kaestner KH, Owens GK. Conditional deletion of Krüppel-like factor 4 delays downregulation of smooth muscle cell differentiation markers but accelerates neointimal formation following vascular injury. *Circ Res.* Lippincott Williams & Wilkins; 2008 Jun 20;102(12):1548–57.
  61. Gomez D, Owens GK. Smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* The Oxford University Press; 2012 Jul 15;95(2):156–64.
  62. Alexander MR, Moehle CW, Johnson JL, Yang Z, Lee JK, Jackson CL, et al. Genetic inactivation of IL-1 signaling enhances atherosclerotic plaque instability and reduces outward vessel remodeling in advanced atherosclerosis in mice. *J Clin Invest.* American Society for Clinical Investigation; 2012 Jan;122(1):70–9.
  63. Benoist C, Mathis D. Mast cells in autoimmune disease. *Nature.* 2002 Dec;420(6917):875–8.
  64. Mekori YA, Metcalfe DD. Mast cells in innate immunity. *Immunol Rev.* 2000 Feb;173:131–40.
  65. Repka-Ramirez MS, Baraniuk JN. Histamine in health and disease. *Clin Allergy Immunol.* 2002;17:1–25.
  66. Strydom HC. The sequence of cell and matrix changes in atherosclerotic lesions of coronary arteries in the first forty years of life. *Eur Heart J.* 1990 Aug;11 Suppl E:3–19.
  67. Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, Piek JJ, Koch KT, Becker AE, et al. Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *J Am Coll Cardiol.* 1998 Sep;32(3):606–12.
  68. Kelley JL, Chi DS, Abou-Auda W, Smith JK, Krishnaswamy G. The molecular role of mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease. *Mol Med Today.* 2000 Aug;6(8):304–8.
  69. Compton SJ, Cairns JA, Holgate ST, Walls AF. Human mast cell tryptase stimulates the release of an IL-8-dependent neutrophil chemotactic activity from human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). *Clin Exp Immunol.* Wiley-Blackwell; 2000 Jul;121(1):31–6.
  70. Gordon JR. TGFbeta1 and TNFalpha secreted by mast cells stimulated via the FcepsilonRI activate fibroblasts for high-level production of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). *Cell Immunol.* Academic Press; 2000 Apr 10;201(1):42–9.
  71. Kovanen PT. Mast cells in atherogenesis: actions and reactions. *Curr Atheroscler Rep.* 2009 May;11(3):214–9.
  72. Wu NZ, Baldwin AL. Transient venular permeability increase and endothelial gap formation induced by histamine. *Am J Physiol.* 1992 Apr;262(4 Pt 2):H1238–47.
  73. Lindstedt KA, Kokkonen JO, Kovanen PT. Soluble heparin proteoglycans released from stimulated mast cells induce uptake of low density lipoproteins by macrophages via scavenger receptor-mediated phagocytosis. *J Lipid Res.* 1992 Jan;33(1):65–75.
  74. Lindstedt L, Lee M, Castro GR, Fruchart JC, Kovanen PT. Chymase in exocytosed rat mast cell granules effectively proteolyzes apolipoprotein AI-containing lipoproteins, so reducing the

- cholesterol efflux-inducing ability of serum and aortic intimal fluid. *J Clin Invest*. American Society for Clinical Investigation; 1996 May 15;97(10):2174–82.
75. Lee M, Sommerhoff CP, Eckardstein von A, Zettl F, Fritz H, Kovanen PT. Mast cell tryptase degrades HDL and blocks its function as an acceptor of cellular cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Dec 1;22(12):2086–91.
  76. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 May;20(5):1262–75.
  77. Kovanen PT, Kaartinen M, Paavonen T. Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. *Circulation*. 1995 Sep 1;92(5):1084–8.
  78. Wang Y, Kovanen PT. Heparin proteoglycans released from rat serosal mast cells inhibit proliferation of rat aortic smooth muscle cells in culture. *Circ Res*. 1999 Jan;84(1):74–83.
  79. Hara M, Matsumori A, Ono K, Kido H, Hwang MW, Miyamoto T, et al. Mast cells cause apoptosis of cardiomyocytes and proliferation of other intramyocardial cells in vitro. *Circulation*. 1999 Sep 28;100(13):1443–9.
  80. Slowik MR, Min W, Ardito T, Karsan A, Kashgarian M, Pober JS. Evidence that tumor necrosis factor triggers apoptosis in human endothelial cells by interleukin-1-converting enzyme-like protease-dependent and -independent pathways. *Lab Invest*. 1997 Sep;77(3):257–67.
  81. Lijnen HR. Extracellular proteolysis in the development and progression of atherosclerosis. *Biochem Soc Trans*. 2002 Apr;30(2):163–7.
  82. Baram D, Vaday GG, Salamon P, Drucker I, Hershkoviz R, Mekori YA. Human mast cells release metalloproteinase-9 on contact with activated T cells: juxtacrine regulation by TNF-alpha. *J Immunol*. 2001 Oct 1;167(7):4008–16.
  83. Nikkari ST, O'Brien KD, Ferguson M, Hatsukami T, Welgus HG, Alpers CE, et al. Interstitial collagenase (MMP-1) expression in human carotid atherosclerosis. *Circulation*. 1995 Sep 15;92(6):1393–8.
  84. Saarinen J, Kalkkinen N, Welgus HG, Kovanen PT. Activation of human interstitial procollagenase through direct cleavage of the Leu83-Thr84 bond by mast cell chymase. *J Biol Chem*. 1994 Jul 8;269(27):18134–40.
  85. Lohi J, Harvima I, Keski-Oja J. Pericellular substrates of human mast cell tryptase: 72,000 dalton gelatinase and fibronectin. *J Cell Biochem*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 1992 Dec;50(4):337–49.
  86. Schwartz LB, Bradford TR, Littman BH, Wintroub BU. The fibrinolytic activity of purified tryptase from human lung mast cells. *J Immunol*. 1985 Oct;135(4):2762–7.
  87. Lindstedt KA. Inhibition of macrophage-mediated low density lipoprotein oxidation by stimulated rat serosal mast cells. *J Biol Chem*. 1993 Apr 15;268(11):7741–6.
  88. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Dec;21(12):1876–90.

89. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis*. 1986 Mar;6(2):131–8.
90. Song L, Leung C, Schindler C. Lymphocytes are important in early atherosclerosis. *J Clin Invest*. American Society for Clinical Investigation; 2001 Jul;108(2):251–9.
91. Paulsson G, Zhou X, Törnquist E, Hansson GK. Oligoclonal T cell expansions in atherosclerotic lesions of apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jan;20(1):10–7.
92. Stemme S. Plaque T-cell activity: not so specific? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Jul;21(7):1099–101.
93. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today*. 1996 Mar;17(3):138–46.
94. Daugherty A, Rateri DL. T lymphocytes in atherosclerosis: the yin-yang of Th1 and Th2 influence on lesion formation. *Circ Res*. 2002 May 31;90(10):1039–40.
95. Hansson GK, Libby P, Schönbeck U, Yan Z-Q. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res*. 2002 Aug 23;91(4):281–91.
96. Owens GK, Kumar MS, Wamhoff BR. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. *Physiol Rev*. American Physiological Society; 2004 Jul;84(3):767–801.
97. Velican D, Velican C. Atherosclerotic involvement of the coronary arteries of adolescents and young adults. *Atherosclerosis*. 1980 Aug;36(4):449–60.
98. Fuster V, Falk E, Fallon JT, Badimon L, Chesebro JH, Badimon JJ. The three processes leading to post PTCA restenosis: dependence on the lesion substrate. *Thromb Haemost*. 1995 Jul;74(1):552–9.
99. Hansson GK. Cell-mediated immunity in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 1997 Oct;8(5):301–11.
100. Vlassara H. Advanced glycation end-products and atherosclerosis. *Ann Med*. 1996 Oct;28(5):419–26.
101. Barnes MJ, Farndale RW. Collagens and atherosclerosis. *Exp Gerontol*. 1999 Jul;34(4):513–25.
102. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*. American Society for Clinical Investigation; 1994 Dec;94(6):2493–503.
103. Weitkamp B, Cullen P, Plenz G, Robenek H, Rauterberg J. Human macrophages synthesize type VIII collagen in vitro and in the atherosclerotic plaque. *FASEB J*. 1999 Aug;13(11):1445–57.
104. Taylor-Wiedeman J, Sissons P, Sinclair J. Induction of endogenous human cytomegalovirus gene expression after differentiation of monocytes from healthy carriers. *J Virol*. American Society for Microbiology (ASM); 1994 Mar;68(3):1597–604.
105. Epstein SE, Zhou YF, Zhu J. Infection and atherosclerosis: emerging mechanistic paradigms. *Circulation*. 1999 Jul 27;100(4):e20–8.

106. Zhou YF, Guetta E, Yu ZX, Finkel T, Epstein SE. Human cytomegalovirus increases modified low density lipoprotein uptake and scavenger receptor mRNA expression in vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest. American Society for Clinical Investigation*; 1996 Nov 1;98(9):2129–38.
107. Zhou YF, Yu ZX, Wanishawad C, Shou M, Epstein SE. The immediate early gene products of human cytomegalovirus increase vascular smooth muscle cell migration, proliferation, and expression of PDGF beta-receptor. *Biochem Biophys Res Commun. Academic Press*; 1999 Mar 24;256(3):608–13.
108. Kol A, Bourcier T, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages. *J Clin Invest. American Society for Clinical Investigation*; 1999 Feb;103(4):571–7.
109. Rott D, Zhu J, Zhou YF, Burnett MS, Zalles-Ganley A, Epstein SE. IL-6 is produced by splenocytes derived from CMV-infected mice in response to CMV antigens, and induces MCP-1 production by endothelial cells: a new mechanistic paradigm for infection-induced atherogenesis. *Atherosclerosis. 2003 Oct*;170(2):223–8.
110. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med. 2003 Dec 11*;349(24):2316–25.
111. Davies MJ, Thomas A. Thrombosis and acute coronary-artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *N Engl J Med. Massachusetts Medical Society*; 1984 May 3;310(18):1137–40.
112. Kolodgie FD, Virmani R, Burke AP, Farb A, Weber DK, Kutys R, et al. Pathologic assessment of the vulnerable human coronary plaque. *Heart. BMJ Publishing Group Ltd and British Cardiovascular Society*; 2004 Dec;90(12):1385–91.
113. Burke AP, Virmani R, Galis Z, Haudenschild CC, Muller JE. 34th Bethesda Conference: Task force #2--What is the pathologic basis for new atherosclerosis imaging techniques? *J Am Coll Cardiol. 2003 Jun 4*;41(11):1874–86.
114. Kockx MM, De Meyer GR, Muhring J, Jacob W, Bult H, Herman AG. Apoptosis and related proteins in different stages of human atherosclerotic plaques. *Circulation. 1998 Jun 16*;97(23):2307–15.
115. Steinberg D. Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nat Med. 2002 Nov*;8(11):1211–7.
116. Tabas I. Cholesterol and phospholipid metabolism in macrophages. *Biochim Biophys Acta. 2000 Dec 15*;1529(1-3):164–74.
117. Katz SS, Shipley GG, Small DM. Physical chemistry of the lipids of human atherosclerotic lesions. Demonstration of a lesion intermediate between fatty streaks and advanced plaques. *J Clin Invest. American Society for Clinical Investigation*; 1976 Jul;58(1):200–11.
118. Felton CV, Crook D, Davies MJ, Oliver MF. Relation of plaque lipid composition and morphology to the stability of human aortic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1997*

- Jul;17(7):1337–45.
119. Leon ME, Chavez C, Fyfe B, Nagorsky MJ, Garcia FU. Cholesterol granuloma of the maxillary sinus. *Arch Pathol Lab Med.* 2002 Feb;126(2):217–9.
  120. Yeagle PL. Cholesterol and the cell membrane. *Biochim Biophys Acta.* 1985 Dec 9;822(3-4):267–87.
  121. Koter M, Broncel M, Chojnowska-Jeziarska J, Klikczynska K, Franiak I. The effect of atorvastatin on erythrocyte membranes and serum lipids in patients with type-2 hypercholesterolemia. *Eur J Clin Pharmacol.* 2002 Nov;58(8):501–6.
  122. Guyton JR. Phospholipid hydrolytic enzymes in a “cesspool” of arterial intimal lipoproteins: a mechanism for atherogenic lipid accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 Jun;21(6):884–6.
  123. Tulenko TN, Chen M, Mason PE, Mason RP. Physical effects of cholesterol on arterial smooth muscle membranes: evidence of immiscible cholesterol domains and alterations in bilayer width during atherogenesis. *J Lipid Res.* 1998 May;39(5):947–56.
  124. Takaya N, Yuan C, Chu B, Saam T, Polissar NL, Jarvik GP, et al. Presence of intraplaque hemorrhage stimulates progression of carotid atherosclerotic plaques: a high-resolution magnetic resonance imaging study. *Circulation. American Heart Association Journals;* 2005 May 31;111(21):2768–75.
  125. Heistad DD, Marcus ML, Larsen GE, Armstrong ML. Role of vasa vasorum in nourishment of the aortic wall. *Am J Physiol.* 1981 May;240(5):H781–7.
  126. Mulligan-Kehoe MJ. The vasa vasorum in diseased and nondiseased arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol. American Physiological Society;* 2010 Feb;298(2):H295–305.
  127. Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, Lerman A, McKenna C, Virmani R, et al. Adventitial vasa vasorum in balloon-injured coronary arteries: visualization and quantitation by a microscopic three-dimensional computed tomography technique. *J Am Coll Cardiol.* 1998 Dec;32(7):2072–9.
  128. Wolinsky H, Glagov S. Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circ Res.* 1967 Apr;20(4):409–21.
  129. Gössl M, Zamir M, Ritman EL. Vasa vasorum growth in the coronary arteries of newborn pigs. *Anat Embryol. Springer-Verlag;* 2004 Aug;208(5):351–7.
  130. Kwon HM, Sangiorgi G, Ritman EL, McKenna C, Holmes DR, Schwartz RS, et al. Enhanced coronary vasa vasorum neovascularization in experimental hypercholesterolemia. *J Clin Invest. American Society for Clinical Investigation;* 1998 Apr 15;101(8):1551–6.
  131. Gössl M, Rosol M, Malyar NM, Fitzpatrick LA, Beighley PE, Zamir M, et al. Functional anatomy and hemodynamic characteristics of vasa vasorum in the walls of porcine coronary arteries. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2003 Jun;272(2):526–37.
  132. Zamir M. Distributing and delivering vessels of the human heart. *J Gen Physiol. The Rockefeller University Press;* 1988 May;91(5):725–35.
  133. McCarthy MJ, Loftus IM, Thompson MM, Jones L, London NJ, Bell PR, et al. Angiogenesis and

- the atherosclerotic carotid plaque: an association between symptomatology and plaque morphology. *J Vasc Surg.* 1999 Aug;30(2):261–8.
134. Fleiner M, Kummer M, Mirlacher M, Sauter G, Cathomas G, Krapf R, et al. Arterial neovascularization and inflammation in vulnerable patients: early and late signs of symptomatic atherosclerosis. *Circulation.* Lippincott Williams & Wilkins; 2004 Nov 2;110(18):2843–50.
  135. Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring--the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J.* BMJ Group; 1985 Apr;53(4):363–73.
  136. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn AV, Gold HK, Tulenko TN, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* Lippincott Williams & Wilkins; 2005 Oct;25(10):2054–61.
  137. O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, Stewart DK, Hinohara T, Simpson JB, et al. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *Am J Pathol.* American Society for Investigative Pathology; 1994 Oct;145(4):883–94.
  138. Heistad DD, Armstrong ML. Blood flow through vasa vasorum of coronary arteries in atherosclerotic monkeys. *Arteriosclerosis.* 1986 May;6(3):326–31.
  139. Zhang Y, Cliff WJ, Schoefl GI, Higgins G. Immunohistochemical study of intimal microvessels in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol.* American Society for Investigative Pathology; 1993 Jul;143(1):164–72.
  140. Virmani R, Narula J, Farb A. When neoangiogenesis ricochets. *Am Heart J.* 1998 Dec;136(6):937–9.
  141. Galili O, Herrmann J, Woodrum J, Sattler KJ, Lerman LO, Lerman A. Adventitial vasa vasorum heterogeneity among different vascular beds. *J Vasc Surg.* 2004 Sep;40(3):529–35.
  142. Stabile E, Burnett MS, Watkins C, Kinnaird T, Bachis A, la Sala A, et al. Impaired arteriogenic response to acute hindlimb ischemia in CD4-knockout mice. *Circulation.* American Heart Association Journals; 2003 Jul 15;108(2):205–10.
  143. Mach F, Schönbeck U, Fabunmi RP, Murphy C, Atkinson E, Bonnefoy JY, et al. T lymphocytes induce endothelial cell matrix metalloproteinase expression by a CD40L-dependent mechanism: implications for tubule formation. *Am J Pathol.* 1999 Jan;154(1):229–38.
  144. Melter M, Reinders ME, Sho M, Pal S, Geehan C, Denton MD, et al. Ligation of CD40 induces the expression of vascular endothelial growth factor by endothelial cells and monocytes and promotes angiogenesis in vivo. *Blood.* 2000 Dec 1;96(12):3801–8.
  145. Reinders MEJ, Sho M, Robertson SW, Geehan CS, Briscoe DM. Proangiogenic function of CD40 ligand-CD40 interactions. *J Immunol.* 2003 Aug 1;171(3):1534–41.
  146. Andreakos E, Foxwell B, Feldmann M. Is targeting Toll-like receptors and their signaling pathway a useful therapeutic approach to modulating cytokine-driven inflammation? *Immunol Rev.* Munksgaard International Publishers; 2004 Dec;202(1):250–65.
  147. Edfeldt K, Swedenborg J, Hansson GK, Yan Z-Q. Expression of toll-like receptors in human

- atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation. *Circulation*. 2002 Mar 12;105(10):1158–61.
148. Vink A, Schoneveld AH, van der Meer JJ, van Middelaar BJ, Sluijter JPG, Smeets MB, et al. In vivo evidence for a role of toll-like receptor 4 in the development of intimal lesions. *Circulation*. 2002 Oct 8;106(15):1985–90.
149. Michelsen KS, Wong MH, Shah PK, Zhang W, Yano J, Doherty TM, et al. Lack of Toll-like receptor 4 or myeloid differentiation factor 88 reduces atherosclerosis and alters plaque phenotype in mice deficient in apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA*. National Acad Sciences; 2004 Jul 20;101(29):10679–84.
150. Xu XH, Shah PK, Faure E, Equils O, Thomas L, Fishbein MC, et al. Toll-like receptor-4 is expressed by macrophages in murine and human lipid-rich atherosclerotic plaques and upregulated by oxidized LDL. *Circulation*. 2001 Dec 18;104(25):3103–8.
151. Pinhal-Enfield G, Ramanathan M, Hasko G, Vogel SN, Salzman AL, Boons G-J, et al. An angiogenic switch in macrophages involving synergy between Toll-like receptors 2, 4, 7, and 9 and adenosine A(2A) receptors. *Am J Pathol*. 2003 Aug;163(2):711–21.
152. Fairhead JF, Rothwell PM. The need for urgency in identification and treatment of symptomatic carotid stenosis is already established. *Cerebrovasc Dis*. 2005;19(6):355–8.
153. Barnett HJ, Taylor DW, Eliasziw M, Fox AJ, Ferguson GG, Haynes RB, et al. Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med*. 1998 Nov 12;339(20):1415–25.
154. Halliday A, Mansfield A, Marro J, Peto C, Peto R, Potter J, et al. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. *Lancet*. 2004 May 8;363(9420):1491–502.
155. Qureshi AI, Alexandrov AV, Tegeler CH, Hobson RW, Dennis Baker J, Hopkins LN, et al. Guidelines for screening of extracranial carotid artery disease: a statement for healthcare professionals from the multidisciplinary practice guidelines committee of the American Society of Neuroimaging; cosponsored by the Society of Vascular and Interventional Neurology. Vol. 17, *Journal of neuroimaging : official journal of the American Society of Neuroimaging*. Blackwell Publishing Inc; 2007. pp. 19–47.
156. Freilinger TM, Schindler A, Schmidt C, Grimm J, Cyran C, Schwarz F, et al. Prevalence of nonstenosing, complicated atherosclerotic plaques in cryptogenic stroke. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2012 Apr;5(4):397–405.
157. Horie N, Morikawa M, Ishizaka S, Takeshita T, So G, Hayashi K, et al. Assessment of carotid plaque stability based on the dynamic enhancement pattern in plaque components with multidetector CT angiography. *Stroke*. American Heart Association, Inc; 2012 Feb;43(2):393–8.
158. Strydom HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A

- report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995 Sep 1;92(5):1355–74.
159. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Rosenfeld ME, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1994 May;89(5):2462–78.
  160. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherogenesis. Current concepts. *JAMA*. 1990 Dec 19;264(23):3047–52.
  161. Barger AC, Beeuwkes R, Lainey LL, Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med*. 1984 Jan 19;310(3):175–7.
  162. Falk E. Why do plaques rupture? *Circulation*. 1992 Dec;86(6 Suppl):III30–42.
  163. Carr SC, Farb A, Pearce WH, Virmani R, Yao JS. Activated inflammatory cells are associated with plaque rupture in carotid artery stenosis. *Surgery*. 1997 Oct;122(4):757–63–discussion763–4.
  164. Kurata M, Nose M, Shimazu Y, Aoba T, Kohada Y, Yorioka S, et al. Microvasculature of carotid atheromatous plaques: hemorrhagic plaques have dense microvessels with fenestrations to the arterial lumen. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. Elsevier; 2014 Jul;23(6):1440–6.
  165. Mughal MM, Khan MK, DeMarco JK, Majid A, Shamoun F, Abela GS. Symptomatic and asymptomatic carotid artery plaque. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2011 Oct;9(10):1315–30.
  166. Griswold MA, Jakob PM, Heidemann RM, Nittka M, Jellus V, Wang J, et al. Generalized autocalibrating partially parallel acquisitions (GRAPPA). *Magn Reson Med*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2002 Jun;47(6):1202–10.
  167. Heidemann RM, Griswold MA, Haase A, Jakob PM. VD-AUTO-SMASH imaging. *Magn Reson Med*. 2001 Jun;45(6):1066–74.
  168. Cappendijk VC, Cleutjens KBJM, Heeneman S, Schurink GWH, Welten RJTJ, Kessels AGH, et al. In vivo detection of hemorrhage in human atherosclerotic plaques with magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2004 Jul;20(1):105–10.
  169. Saam T, Hatsukami TS, Takaya N, Chu B, Underhill H, Kerwin WS, et al. The vulnerable, or high-risk, atherosclerotic plaque: noninvasive MR imaging for characterization and assessment. *Radiology*. 2007 Jul;244(1):64–77.
  170. Watanabe Y, Nagayama M. MR plaque imaging of the carotid artery. *Neuroradiology*. 2010 Apr;52(4):253–74.
  171. Chan JMS, Monaco C, Wylezinska-Arridge M, Tremoleda JL, Gibbs RGJ. Imaging of the vulnerable carotid plaque: biological targeting of inflammation in atherosclerosis using iron oxide particles and MRI. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. Elsevier; 2014 May;47(5):462–9.
  172. Hartog den AG, Bovens SM, Koning W, Hendrikse J, Luijten PR, Moll FL, et al. Current status



- of clinical magnetic resonance imaging for plaque characterisation in patients with carotid artery stenosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. Elsevier; 2013 Jan;45(1):7–21.
173. Yuan C, Mitsumori LM, Ferguson MS, Polissar NL, Echelard D, Ortiz G, et al. In vivo accuracy of multispectral magnetic resonance imaging for identifying lipid-rich necrotic cores and intraplaque hemorrhage in advanced human carotid plaques. *Circulation*. 2001 Oct 23;104(17):2051–6.
  174. Chu B, Kampschulte A, Ferguson MS, Kerwin WS, Yarnykh VL, O'Brien KD, et al. Hemorrhage in the atherosclerotic carotid plaque: a high-resolution MRI study. *Stroke*. American Heart Association, Inc; 2004 May;35(5):1079–84.
  175. Cappendijk VC, Kessels AGH, Heeneman S, Cleutjens KBJM, Schurink GWH, Welten RJTJ, et al. Comparison of lipid-rich necrotic core size in symptomatic and asymptomatic carotid atherosclerotic plaque: Initial results. *J Magn Reson Imaging*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2008 Jun;27(6):1356–61.
  176. Kerwin WS, Oikawa M, Yuan C, Jarvik GP, Hatsukami TS. MR imaging of adventitial vasa vasorum in carotid atherosclerosis. *Magn Reson Med*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2008 Mar;59(3):507–14.
  177. Gaens ME, Backes WH, Rozel S, Lipperts M, Sanders SN, Jaspers K, et al. Dynamic contrast-enhanced MR imaging of carotid atherosclerotic plaque: model selection, reproducibility, and validation. *Radiology*. Radiological Society of North America, Inc; 2013 Jan;266(1):271–9.
  178. Millon A, Boussel L, Brevet M, Mathevet J-L, Canet-Soulas E, Mory C, et al. Clinical and histological significance of gadolinium enhancement in carotid atherosclerotic plaque. *Stroke*. American Heart Association, Inc; 2012 Nov;43(11):3023–8.
  179. Saam T, Ferguson MS, Yarnykh VL, Takaya N, Xu D, Polissar NL, et al. Quantitative evaluation of carotid plaque composition by in vivo MRI. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. American Heart Association, Inc; 2005 Jan;25(1):234–9.
  180. Gupta A, Baradaran H, Schweitzer AD, Kamel H, Pandya A, Delgado D, et al. Carotid plaque MRI and stroke risk: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*. American Heart Association, Inc; 2013 Nov;44(11):3071–7.
  181. Altaf N, Daniels L, Morgan PS, Auer D, MacSweeney ST, Moody AR, et al. Detection of intraplaque hemorrhage by magnetic resonance imaging in symptomatic patients with mild to moderate carotid stenosis predicts recurrent neurological events. *J Vasc Surg*. 2008 Feb;47(2):337–42.
  182. Singh N, Moody AR, Gladstone DJ, Leung G, Ravikumar R, Zhan J, et al. Moderate carotid artery stenosis: MR imaging-depicted intraplaque hemorrhage predicts risk of cerebrovascular ischemic events in asymptomatic men. *Radiology*. Radiological Society of North America, Inc; 2009 Aug;252(2):502–8.
  183. Saam T, Hetterich H, Hoffmann V, Yuan C, Dichgans M, Poppert H, et al. Meta-analysis and systematic review of the predictive value of carotid plaque hemorrhage on cerebrovascular events

- by magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2013 Sep 17;62(12):1081–91.
184. Qiao Y, Etesami M, Astor BC, Zeiler SR, Trout HH, Wasserman BA. Carotid plaque neovascularization and hemorrhage detected by MR imaging are associated with recent cerebrovascular ischemic events. *AJNR Am J Neuroradiol*. American Society of Neuroradiology; 2012 Apr;33(4):755–60.
185. Sibley CT, Vavere AL, Gottlieb I, Cox C, Matheson M, Spooner A, et al. MRI-measured regression of carotid atherosclerosis induced by statins with and without niacin in a randomised controlled trial: the NIA plaque study. *Heart*. 2013 Nov;99(22):1675–80.
186. Zhao X-Q, Dong L, Hatsukami T, Phan BA, Chu B, Moore A, et al. MR imaging of carotid plaque composition during lipid-lowering therapy a prospective assessment of effect and time course. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011 Sep;4(9):977–86.
187. Underhill HR, Yuan C, Zhao X-Q, Kraiss LW, Parker DL, Saam T, et al. Effect of rosuvastatin therapy on carotid plaque morphology and composition in moderately hypercholesterolemic patients: a high-resolution magnetic resonance imaging trial. *Am Heart J*. Elsevier; 2008 Mar;155(3):584.e1–8.
188. Yoshida K, Sadamasa N, Narumi O, Chin M, Yamagata S, Miyamoto S. Symptomatic low-grade carotid stenosis with intraplaque hemorrhage and expansive arterial remodeling is associated with a high relapse rate refractory to medical treatment. *Neurosurgery*. 2012 May;70(5):1143–50–discussion1150–1.
189. Yoshimura S, Yamada K, Kawasaki M, Asano T, Kanematsu M, Miyai M, et al. Selection of carotid artery stenting or endarterectomy based on magnetic resonance plaque imaging reduced periprocedural adverse events. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. Elsevier; 2013 Oct;22(7):1082–7.
190. Yoshimura S, Yamada K, Kawasaki M, Asano T, Kanematsu M, Takamatsu M, et al. High-intensity signal on time-of-flight magnetic resonance angiography indicates carotid plaques at high risk for cerebral embolism during stenting. *Stroke*. American Heart Association, Inc; 2011 Nov;42(11):3132–7.
191. Saba L, Mallarini G. Carotid plaque enhancement and symptom correlations: an evaluation by using multidetector row CT angiography. *AJNR Am J Neuroradiol*. American Society of Neuroradiology; 2011 Nov;32(10):1919–25.
192. Ajduk M, Pavić L, Bulimbasić S, Sarlija M, Pavić P, Patrlj L, et al. Multidetector-row computed tomography in evaluation of atherosclerotic carotid plaques complicated with intraplaque hemorrhage. *Ann Vasc Surg*. Elsevier; 2009 Mar;23(2):186–93.
193. Leschka S, Scheffel H, Desbiolles L, Plass A, Gaemperli O, Valenta I, et al. Image quality and reconstruction intervals of dual-source CT coronary angiography: recommendations for ECG-pulsing windowing. *Invest Radiol*. 2007 Aug;42(8):543–9.
194. Das M, Braunschweig T, Mühlenbruch G, Mahnken AH, Krings T, Langer S, et al. Carotid plaque analysis: comparison of dual-source computed tomography (CT) findings and histopathological correlation. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. Elsevier; 2009 Jul;38(1):14–9.

195. Wintermark M, Jawadi SS, Rapp JH, Tihan T, Tong E, Glidden DV, et al. High-resolution CT imaging of carotid artery atherosclerotic plaques. *AJNR Am J Neuroradiol. American Society of Neuroradiology*; 2008 May;29(5):875–82.
196. Saba L, Caddeo G, Sanfilippo R, Montisci R, Mallarini G. Efficacy and sensitivity of axial scans and different reconstruction methods in the study of the ulcerated carotid plaque using multidetector-row CT angiography: comparison with surgical results. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2007 Apr;28(4):716–23.
197. Anzidei M, Napoli A, Geiger D, Cavallo Marincola B, Zini C, Zaccagna F, et al. Preliminary experience with MRA in evaluating the degree of carotid stenosis and plaque morphology using high-resolution sequences after gadofosveset trisodium (Vasovist) administration: comparison with CTA and DSA. *Radiol Med. Springer Milan*; 2010 Jun;115(4):634–47.
198. van Gils MJ, Vukadinovic D, van Dijk AC, Dippel DWJ, Niessen WJ, van der Lugt A. Carotid atherosclerotic plaque progression and change in plaque composition over time: a 5-year follow-up study using serial CT angiography. *AJNR Am J Neuroradiol. American Society of Neuroradiology*; 2012 Aug;33(7):1267–73.
199. Arnold JA, Modaresi KB, Thomas N, Taylor PR, Padayachee TS. Carotid plaque characterization by duplex scanning: observer error may undermine current clinical trials. *Stroke*. 1999 Jan;30(1):61–5.
200. Kern R, Szabo K, Hennerici M, Meairs S. Characterization of carotid artery plaques using real-time compound B-mode ultrasound. *Stroke. American Heart Association, Inc*; 2004 Apr;35(4):870–5.
201. Piscaglia F, Nolsøe C, Dietrich CF, Cosgrove DO, Gilja OH, Bachmann Nielsen M, et al. The EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Practice of Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS): update 2011 on non-hepatic applications. © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York; 2012. pp. 33–59.
202. Jaipersad AS, Shantsila A, Silverman S, Lip GYH, Shantsila E. Evaluation of carotid plaque neovascularization using contrast ultrasound. *Angiology. SAGE PublicationsSage CA: Los Angeles, CA*; 2013 Aug;64(6):447–50.
203. Kate ten GL, Renaud GGJ, Akkus Z, van den Oord SCH, Cate ten FJ, Shamdasani V, et al. Far-wall pseudoenhancement during contrast-enhanced ultrasound of the carotid arteries: clinical description and in vitro reproduction. *Ultrasound Med Biol*. 2012 Apr;38(4):593–600.
204. Reiter M, Horvat R, Puchner S, Rinner W, Polterauer P, Lammer J, et al. Plaque imaging of the internal carotid artery - correlation of B-flow imaging with histopathology. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2007 Jan;28(1):122–6.
205. Nakamura T, Tsutsumi Y, Shimizu Y, Uchiyama S. Ulcerated carotid plaques with ultrasonic echolucency are causatively associated with thromboembolic cerebrovascular events. *J Stroke Cerebrovasc Dis. Elsevier*; 2013 Feb;22(2):93–9.
206. Watanabe Y, Nagayama M, Suga T, Yoshida K, Yamagata S, Okumura A, et al. Characterization

- of atherosclerotic plaque of carotid arteries with histopathological correlation: vascular wall MR imaging vs. color Doppler ultrasonography (US). *J Magn Reson Imaging*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2008 Aug;28(2):478–85.
207. Ballotta E, Angelini A, Mazzalai F, Piatto G, Toniato A, Baracchini C. Carotid endarterectomy for symptomatic low-grade carotid stenosis. *J Vasc Surg*. Elsevier; 2014 Jan;59(1):25–31.
  208. Muraki M, Mikami T, Yoshimoto T, Fujimoto S, Tokuda K, Kaneko S, et al. New criteria for the sonographic diagnosis of a plaque ulcer in the extracranial carotid artery. *AJR Am J Roentgenol*. American Roentgen Ray Society; 2012 May;198(5):1161–6.
  209. Singh AS, Atam V, Jain N, Yathish BE, Patil MR, Das L. Association of carotid plaque echogenicity with recurrence of ischemic stroke. *N Am J Med Sci*. 2013 Jun;5(6):371–6.
  210. Mathiesen EB, Bønaa KH, Joakimsen O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis: the tromsø study. *Circulation*. 2001 May 1;103(17):2171–5.
  211. Coli S, Magnoni M, Sangiorgi G, Marrocco-Trischitta MM, Melisurgo G, Mauriello A, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization in carotid arteries: correlation with histology and plaque echogenicity. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Jul 15;52(3):223–30.
  212. Kim HS, Woo JS, Kim BY, Jang HH, Hwang SJ, Kwon SJ, et al. Biochemical and clinical correlation of intraplaque neovascularization using contrast-enhanced ultrasound of the carotid artery. *Atherosclerosis*. Elsevier; 2014 Apr;233(2):579–83.
  213. Zhu Y, Deng Y-B, Liu Y-N, Bi X-J, Sun J, Tang Q-Y, et al. Use of carotid plaque neovascularization at contrast-enhanced US to predict coronary events in patients with coronary artery disease. *Radiology*. Radiological Society of North America, Inc; 2013 Jul;268(1):54–60.
  214. Lindner JR, Dayton PA, Coggins MP, Ley K, Song J, Ferrara K, et al. Noninvasive imaging of inflammation by ultrasound detection of phagocytosed microbubbles. *Circulation*. 2000 Aug 1;102(5):531–8.
  215. Clevert D-A, Sommer WH, Helck A, Saam T, Reiser M. Improved carotid atherosclerotic plaques imaging with contrast-enhanced ultrasound (CEUS). *Clin Hemorheol Microcirc*. IOS Press; 2011;48(1):141–8.
  216. Kate ten GL, van Dijk AC, van den Oord SCH, Hussain B, Verhagen HJM, Sijbrands EJG, et al. Usefulness of contrast-enhanced ultrasound for detection of carotid plaque ulceration in patients with symptomatic carotid atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 2013 Jul 15;112(2):292–8.
  217. Della-Morte D, Moussa I, Elkind MS, Sacco RL, Rundek T. The short-term effect of atorvastatin on carotid plaque morphology assessed by computer-assisted gray-scale densitometry: a pilot study. *Neurol Res*. 2011 Nov;33(9):991–4.
  218. Kadoglou NPE, Sailer N, Moutzouoglou A, Kapelouzou A, Gerasimidis T, Liapis CD. Aggressive lipid-lowering is more effective than moderate lipid-lowering treatment in carotid plaque stabilization. *J Vasc Surg*. Elsevier; 2010 Jan;51(1):114–21.

219. Deyama J, Nakamura T, Takishima I, Fujioka D, Kawabata K-I, Obata J-E, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of carotid plaque neovascularization is useful for identifying high-risk patients with coronary artery disease. *Circ J*. 2013;77(6):1499–507.
220. Kirsch JD, Mathur M, Johnson MH, Gowthaman G, Scoutt LM. Advances in transcranial Doppler US: imaging ahead. *Radiographics*. Radiological Society of North America; 2013 Jan;33(1):E1–E14.
221. Markus HS, Brown MM. Differentiation between different pathological cerebral embolic materials using transcranial Doppler in an in vitro model. *Stroke*. 1993 Jan;24(1):1–5.
222. van Zuilen EV, Moll FL, Vermeulen FE, Mauser HW, van Gijn J, Ackerstaff RG. Detection of cerebral microemboli by means of transcranial Doppler monitoring before and after carotid endarterectomy. *Stroke*. 1995 Feb;26(2):210–3.
223. Ritter MA, Dittrich R, Thoenissen N, Ringelstein EB, Nabavi DG. Prevalence and prognostic impact of microembolic signals in arterial sources of embolism. A systematic review of the literature. *J Neurol*. D. Steinkopff-Verlag; 2008 Jul;255(7):953–61.
224. Spence JD, Tamayo A, Lownie SP, Ng WP, Ferguson GG. Absence of microemboli on transcranial Doppler identifies low-risk patients with asymptomatic carotid stenosis. *Stroke*. American Heart Association, Inc; 2005 Nov;36(11):2373–8.
225. Topakian R, King A, Kwon SU, Schaafsma A, Shipley M, Markus HS, et al. Ultrasonic plaque echolucency and emboli signals predict stroke in asymptomatic carotid stenosis. *Neurology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2011 Aug 23;77(8):751–8.
226. Ritter MA, Theismann K, Schmiedel M, Ringelstein EB, Dittrich R. Vascularization of carotid plaque in recently symptomatic patients is associated with the occurrence of transcranial microembolic signals. *Eur J Neurol*. 2013 Aug;20(8):1218–21.
227. Folco EJ, Sheikine Y, Rocha VZ, Christen T, Shvartz E, Sukhova GK, et al. Hypoxia but not inflammation augments glucose uptake in human macrophages: Implications for imaging atherosclerosis with 18fluorine-labeled 2-deoxy-D-glucose positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Aug 2;58(6):603–14.
228. Sheikine Y, Akram K. FDG-PET imaging of atherosclerosis: Do we know what we see? *Atherosclerosis*. Elsevier; 2010 Aug;211(2):371–80.
229. Blomberg BA, Thomassen A, Takx RAP, Hildebrandt MG, Simonsen JA, Buch-Olsen KM, et al. Delayed <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose PET/CT imaging improves quantitation of atherosclerotic plaque inflammation: results from the CAMONA study. *J Nucl Cardiol*. 2014 Jun;21(3):588–97.
230. Niccoli Asabella A, Ciccone MM, Cortese F, Scicchitano P, Gesualdo M, Zito A, et al. Higher reliability of 18F-FDG target background ratio compared to standardized uptake value in vulnerable carotid plaque detection: a pilot study. *Ann Nucl Med*. Springer Japan; 2014 Jul;28(6):571–9.
231. Rudd JHF, Myers KS, Bansilal S, Machac J, Pinto CA, Tong C, et al. Atherosclerosis inflammation imaging with 18F-FDG PET: carotid, iliac, and femoral uptake reproducibility,

- quantification methods, and recommendations. *J Nucl Med. Society of Nuclear Medicine*; 2008 Jun;49(6):871–8.
232. Rudd JHF, Myers KS, Bansilal S, Machac J, Rafique A, Farkouh M, et al. (18)Fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging of atherosclerotic plaque inflammation is highly reproducible: implications for atherosclerosis therapy trials. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Aug 28;50(9):892–6.
233. Masteling MG, Zeebregts CJ, Tio RA, Breek J-C, Tietge UJF, de Boer JF, et al. High-resolution imaging of human atherosclerotic carotid plaques with micro 18F-FDG PET scanning exploring plaque vulnerability. *J Nucl Cardiol. Springer-Verlag*; 2011 Dec;18(6):1066–75.
234. Menezes LJ, Kotze CW, Agu O, Richards T, Brookes J, Goh VJ, et al. Investigating vulnerable atheroma using combined (18)F-FDG PET/CT angiography of carotid plaque with immunohistochemical validation. *J Nucl Med. Society of Nuclear Medicine*; 2011 Nov;52(11):1698–703.
235. Tawakol A, Migrino RQ, Bashian GG, Bedri S, Vermylen D, Cury RC, et al. In vivo 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging provides a noninvasive measure of carotid plaque inflammation in patients. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Nov 7;48(9):1818–24.
236. Silvera SS, Aidi HE, Rudd JHF, Mani V, Yang L, Farkouh M, et al. Multimodality imaging of atherosclerotic plaque activity and composition using FDG-PET/CT and MRI in carotid and femoral arteries. *Atherosclerosis. Elsevier*; 2009 Nov;207(1):139–43.
237. Kwee RM, Truijman MTB, Mess WH, Teule GJJ, Berg ter JWM, Franke CL, et al. Potential of integrated [18F] fluorodeoxyglucose positron-emission tomography/CT in identifying vulnerable carotid plaques. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011 May;32(5):950–4.
238. Truijman MTB, Kwee RM, van Hoof RHM, Hermeling E, van Oostenbrugge RJ, Mess WH, et al. Combined 18F-FDG PET-CT and DCE-MRI to assess inflammation and microvascularization in atherosclerotic plaques. *Stroke. American Heart Association, Inc*; 2013 Dec;44(12):3568–70.
239. Calcagno C, Ramachandran S, Izquierdo-Garcia D, Mani V, Millon A, Rosenbaum D, et al. The complementary roles of dynamic contrast-enhanced MRI and 18F-fluorodeoxyglucose PET/CT for imaging of carotid atherosclerosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging. Springer Berlin Heidelberg*; 2013 Dec;40(12):1884–93.
240. Tahara N, Kai H, Ishibashi M, Nakaura H, Kaida H, Baba K, et al. Simvastatin attenuates plaque inflammation: evaluation by fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Nov 7;48(9):1825–31.
241. Tawakol A, Fayad ZA, Mogg R, Alon A, Klimas MT, Dansky H, et al. 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 Sep 3;62(10):909–17.
242. Mizoguchi M, Tahara N, Tahara A, Nitta Y, Kodama N, Oba T, et al. Pioglitazone attenuates atherosclerotic plaque inflammation in patients with impaired glucose tolerance or diabetes a

- prospective, randomized, comparator-controlled study using serial FDG PET/CT imaging study of carotid artery and ascending aorta. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011 Oct;4(10):1110–8.
243. Chen W, Dilsizian V. Targeted PET/CT imaging of vulnerable atherosclerotic plaques: microcalcification with sodium fluoride and inflammation with fluorodeoxyglucose. *Curr Cardiol Rep*. Current Science Inc; 2013 Jun;15(6):364.
244. Joshi NV, Vesey AT, Williams MC, Shah ASV, Calvert PA, Craighead FHM, et al. 18F-fluoride positron emission tomography for identification of ruptured and high-risk coronary atherosclerotic plaques: a prospective clinical trial. *Lancet*. Elsevier; 2014 Feb 22;383(9918):705–13.
245. Müller A, Beck K, Rancic Z, Müller C, Fischer CR, Betzel T, et al. Imaging atherosclerotic plaque inflammation via folate receptor targeting using a novel 18F-folate radiotracer. *Mol Imaging*. 2014;13:1–11.
246. Hermann S, Starsichova A, Waschkau B, Kuhlmann M, Wenning C, Schober O, et al. Non-FDG imaging of atherosclerosis: will imaging of MMPs assess plaque vulnerability? *J Nucl Cardiol*. Springer-Verlag; 2012 Jun;19(3):609–17.
247. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society; 1991 Aug 15;325(7):445–53.
248. MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70–99%) or with mild (0–29%) carotid stenosis. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. *Lancet*. 1991 May 25;337(8752):1235–43.
249. Brott TG, Halperin JL, Abbara S, Bacharach JM, Barr JD, Bush RL, et al. 2011 ASA/ACCF/AHA/AANN/AANS/ACR/ASNR/CNS/SAIP/SCAI/SIR/SNIS/SVM/SVS guideline on the management of patients with extracranial carotid and vertebral artery disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, and the American Stroke Association, American Association of Neuroscience Nurses, American Association of Neurological Surgeons, American College of Radiology, American Society of Neuroradiology, Congress of Neurological Surgeons, Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of NeuroInterventional Surgery, Society for Vascular Medicine, and Society for Vascular Surgery. Vol. 57, *Journal of the American College of Cardiology*. 2011. pp. e16–94.
250. Pfister K, Rennert J, Greiner B, Jung W, Stehr A, Gössmann H, et al. Pre-surgical evaluation of ICA-stenosis using 3D power Doppler, 3D color coded Doppler sonography, 3D B-flow and contrast enhanced B-flow in correlation to CTA/MRA: first clinical results. *Clin Hemorheol Microcirc*. IOS Press; 2009;41(2):103–16.
251. Cosgrove D. Ultrasound contrast agents: an overview. *Eur J Radiol*. Elsevier; 2006 Dec;60(3):324–30.

252. Ferrer JM, Samsó JJ, Serrando JR, Valenzuela VF, Montoya SB, Docampo MM. Use of ultrasound contrast in the diagnosis of carotid artery occlusion. *J Vasc Surg.* 2000 Apr;31(4):736–41.
253. Droste DW, Jürgens R, Nabavi DG, Schuierer G, Weber S, Ringelstein EB. Echocontrast-enhanced ultrasound of extracranial internal carotid artery high-grade stenosis and occlusion. *Stroke.* 1999 Nov;30(11):2302–6.
254. Köester W. *Enderarteritis u. arteritis.* Berlin Klin. Wochenschr; 1876.
255. Michel J-B, Martin-Ventura JL, Nicoletti A, Ho-Tin-Noé B. Pathology of human plaque vulnerability: mechanisms and consequences of intraplaque haemorrhages. *Atherosclerosis.* Elsevier; 2014 Jun;234(2):311–9.
256. Moulton KS. Plaque angiogenesis and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2001 May;3(3):225–33.
257. Shemirani B, Crowe DL. Hypoxic induction of HIF-1alpha and VEGF expression in head and neck squamous cell carcinoma lines is mediated by stress activated protein kinases. *Oral Oncol.* 2002 Apr;38(3):251–7.
258. Barger AC, Beeuwkes R. Rupture of coronary vasa vasorum as a trigger of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 1990 Nov 6;66(16):41G–43G.
259. Dunmore BJ, McCarthy MJ, Naylor AR, Brindle NPJ. Carotid plaque instability and ischemic symptoms are linked to immaturity of microvessels within plaques. *J Vasc Surg.* Elsevier; 2007 Jan;45(1):155–9.
260. Fryer JA, Myers PC, Appleberg M. Carotid intraplaque hemorrhage: the significance of neovascularity. *J Vasc Surg.* 1987 Oct;6(4):341–9.
261. Mofidi R, Crotty TB, McCarthy P, Sheehan SJ, Mehigan D, Keaveny TV. Association between plaque instability, angiogenesis and symptomatic carotid occlusive disease. *Br J Surg.* Blackwell Science Ltd; 2001 Jul;88(7):945–50.
262. Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, Echeverri D, Truszczyńska H, Sharma SK, et al. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability. *Circulation.* Lippincott Williams & Wilkins; 2004 Oct 5;110(14):2032–8.
263. Hellings WE, Peeters W, Moll FL, Piers SRD, van Setten J, Van der Spek PJ, et al. Composition of carotid atherosclerotic plaque is associated with cardiovascular outcome: a prognostic study. *Circulation.* American Heart Association, Inc; 2010 May 4;121(17):1941–50.
264. Howard DPJ, van Lammeren GW, Rothwell PM, Redgrave JN, Moll FL, de Vries J-PPM, et al. Symptomatic carotid atherosclerotic disease: correlations between plaque composition and ipsilateral stroke risk. *Stroke.* American Heart Association, Inc; 2015 Jan;46(1):182–9.
265. Kono Y, Pinnell SP, Sirlin CB, Sparks SR, Georgy B, Wong W, et al. Carotid arteries: contrast-enhanced US angiography--preliminary clinical experience. *Radiology.* Radiological Society of North America; 2004 Feb;230(2):561–8.



266. Faggioli GL, Pini R, Mauro R, Pasquinelli G, Fittipaldi S, Freyrie A, et al. Identification of carotid “vulnerable plaque” by contrast-enhanced ultrasonography: correlation with plaque histology, symptoms and cerebral computed tomography. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2011 Feb;41(2):238–48.
267. Hammond CJ, McPherson SJ, Patel JV, Gough MJ. Assessment of apparent internal carotid occlusion on ultrasound: prospective comparison of contrast-enhanced ultrasound, magnetic resonance angiography and digital subtraction angiography. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* Elsevier; 2008 Apr;35(4):405–12.
268. Baud J-M, Becker F, Maurizot A, Pico F. [Contrast enhanced ultrasound can show symptomatic carotid lesions not visualized with magnetic resonance angiography]. *J Mal Vasc.* 2013 Dec;38(6):385–91.
269. Feinstein SB. The powerful microbubble: from bench to bedside, from intravascular indicator to therapeutic delivery system, and beyond. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* American Physiological Society; 2004 Aug;287(2):H450–7.
270. Feinstein SB. Contrast ultrasound imaging of the carotid artery vasa vasorum and atherosclerotic plaque neovascularization. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Jul 18;48(2):236–43.
271. Vicenzini E, Giannoni MF, Puccinelli F, Ricciardi MC, Altieri M, Di Piero V, et al. Detection of carotid adventitial vasa vasorum and plaque vascularization with ultrasound cadence contrast pulse sequencing technique and echo-contrast agent. *Stroke.* Lippincott Williams & Wilkins; 2007 Oct;38(10):2841–3.
272. van den Oord SCH, Akkus Z, Bosch JG, Hoogi A, Kate ten GL, Renaud G, et al. Quantitative contrast-enhanced ultrasound of intraplaque neovascularization in patients with carotid atherosclerosis. *Ultraschall Med.* © Georg Thieme Verlag KG; 2015 Apr;36(2):154–61.
273. Saito K, Nagatsuka K, Ishibashi-Ueda H, Watanabe A, Kannki H, Iihara K. Contrast-enhanced ultrasound for the evaluation of neovascularization in atherosclerotic carotid artery plaques. *Stroke.* Lippincott Williams & Wilkins; 2014 Oct;45(10):3073–5.
274. Ventura CAP, Silva ESD, Cerri GG, Leão PP, Tachibana A, Chammas MC. Can contrast-enhanced ultrasound with second-generation contrast agents replace computed tomography angiography for distinguishing between occlusion and pseudo-occlusion of the internal carotid artery? *Clinics (Sao Paulo).* 2015 Jan;70(1):1–6.
275. Hjelmgren O, Johansson L, Pahl U, Schmidt C, Fredén-Lindqvist J, Bergström GML. A study of plaque vascularization and inflammation using quantitative contrast-enhanced US and PET/CT. *Eur J Radiol.* Elsevier; 2014 Jul;83(7):1184–9.
276. Shah F, Balan P, Weinberg M, Reddy V, Neems R, Feinstein M, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of atherosclerotic carotid plaque neovascularization: a new surrogate marker of atherosclerosis? *Vascular Medicine.* SAGE Publications; 2007 Nov;12(4):291–7.
277. Giannoni MF, Vicenzini E, Citone M, Ricciardi MC, Irace L, Laurito A, et al. Contrast carotid ultrasound for the detection of unstable plaques with neoangiogenesis: a pilot study. *Eur J Vasc*

- Endovasc Surg. 2009 Jun;37(6):722–7.
278. Varetto G, Gibello L, Bergamasco L, Sapino A, Castellano I, Garneri P, et al. Contrast enhanced ultrasound in atherosclerotic carotid artery disease. *Int Angiol.* 2012 Dec;31(6):565–71.
279. Shalhoub J, Monaco C, Owen DRJ, Gauthier T, Thapar A, Leen ELS, et al. Late-phase contrast-enhanced ultrasound reflects biological features of instability in human carotid atherosclerosis. *Stroke.* Lippincott Williams & Wilkins; 2011 Dec;42(12):3634–6.
280. Hoogi A, Adam D, Hoffman A, Kerner H, Reisner S, Gaitini D. Carotid plaque vulnerability: quantification of neovascularization on contrast-enhanced ultrasound with histopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol.* American Roentgen Ray Society; 2011 Feb;196(2):431–6.
281. Vavuranakis M, Sigala F, Vrachatis DA, Papaioannou TG, Filis K, Kavantzias N, et al. Quantitative analysis of carotid plaque vasa vasorum by CEUS and correlation with histology after endarterectomy. *VASA.* Verlag Hans Huber; 2013 May;42(3):184–95.
282. Li C, He W, Guo D, Chen L, Jin X, Wang W, et al. Quantification of carotid plaque neovascularization using contrast-enhanced ultrasound with histopathologic validation. *Ultrasound Med Biol.* 2014 Aug;40(8):1827–33.
283. Müller HFG, Viaccoz A, Kuzmanovic I, Bonvin C, Burkhardt K, Bochaton-Piallat M-L, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of carotid plaque neo-vascularization: accuracy of visual analysis. *Ultrasound Med Biol.* 2014 Jan;40(1):18–24.
284. Iezzi R, Petrone G, Ferrante A, Lauriola L, Vincenzoni C, la Torre MF, et al. The role of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in visualizing atherosclerotic carotid plaque vulnerability: which injection protocol? Which scanning technique? *Eur J Radiol.* 2015 May;84(5):865–71.
285. Zhou Y, Xing Y, Li Y, Bai Y, Chen Y, Sun X, et al. An assessment of the vulnerability of carotid plaques: a comparative study between intraplaque neovascularization and plaque echogenicity. *BMC Med Imaging.* BioMed Central; 2013 Mar 28;13(1):13.
286. Shao A, Dong X, Zhou J, Liu F, Hong Y, Zhang J. Comparison of carotid artery endarterectomy and carotid artery stenting in patients with atherosclerotic carotid stenosis. *J Craniofac Surg.* 2014 Jul;25(4):1441–7.
287. Varetto G, Gibello L, Faletti R, Gattuso A, Garneri P, Castagno C, et al. Contrast-enhanced ultrasound to predict the risk of microembolization during carotid artery stenting. *Radiol Med.* Springer Milan; 2015 Mar 25;:1–6.
288. Clevert D-A, Sommer WH, Helck A, Reiser M. Duplex and contrast enhanced ultrasound (CEUS) in evaluation of in-stent restenosis after carotid stenting. *Clin Hemorheol Microcirc.* IOS Press; 2011;48(1):199–208.
289. Sampson UKA, Harrell FE, Fazio S, Nwosu S, Mercaldo N, Mensah GA, et al. Carotid adventitial vasa vasorum and intima-media thickness in a primary prevention population. *Echocardiography.* 2015 Feb;32(2):264–70.
290. Xiong L, Li P, Zhao B-W. Evaluation of carotid plaque neovascularization in patients with diabetes mellitus by contrast-enhanced ultrasonography. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci.*

- Springer Berlin Heidelberg; 2014 Feb;34(1):29–32.
291. van den Oord SCH, Akkus Z, Renaud G, Bosch JG, van der Steen AFW, Sijbrands EJG, et al. Assessment of carotid atherosclerosis, intraplaque neovascularization, and plaque ulceration using quantitative contrast-enhanced ultrasound in asymptomatic patients with diabetes mellitus. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. Oxford University Press; 2014 Nov;15(11):1213–8.
  292. van den Oord SCH, Akkus Z, Roeters van Lennep JE, Bosch JG, van der Steen AFW, Sijbrands EJG, et al. Assessment of subclinical atherosclerosis and intraplaque neovascularization using quantitative contrast-enhanced ultrasound in patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. Elsevier; 2013 Nov;231(1):107–13.
  293. Arcidiacono MV, Rubinat E, Borrás M, Betriu A, Trujillano J, Vidal T, et al. Left carotid adventitial vasa vasorum signal correlates directly with age and with left carotid intima-media thickness in individuals without atheromatous risk factors. *Cardiovasc Ultrasound*. BioMed Central; 2015 Apr 17;13(1):20.
  294. van den Oord SCH, Kate ten GL, Sijbrands EJG, van der Steen AFW, Schinkel AFL. Effect of carotid plaque screening using contrast-enhanced ultrasound on cardiovascular risk stratification. *Am J Cardiol*. Elsevier; 2013 Mar 1;111(5):754–9.
  295. Staub D, Patel MB, Tibrewala A, Ludden D, Johnson M, Espinosa P, et al. Vasa vasorum and plaque neovascularization on contrast-enhanced carotid ultrasound imaging correlates with cardiovascular disease and past cardiovascular events. *Stroke*. Lippincott Williams & Wilkins; 2010 Jan;41(1):41–7.
  296. Huang P-T, Chen C-C, Aronow WS, Wang X-T, Nair CK, Xue N-Y, et al. Assessment of neovascularization within carotid plaques in patients with ischemic stroke. *World J Cardiol*. 2010 Apr 26;2(4):89–97.
  297. Yoshida J, Ohmori K, Takeuchi H, Shinomiya K, Namba T, Kondo I, et al. Treatment of ischemic limbs based on local recruitment of vascular endothelial growth factor-producing inflammatory cells with ultrasonic microbubble destruction. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Sep 6;46(5):899–905.
  298. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. Lippincott Williams & Wilkins; 2015 Jan 27;131(4):e29–322.
  299. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. Lippincott Williams & Wilkins; 2011 Feb 1;123(4):e18–e209.
  300. Gomez CR. Carotid plaque morphology and risk for stroke. *Stroke*. 1990 Jan;21(1):148–51.
  301. Petty GW, Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, O'Fallon WM, Wiebers DO. Ischemic stroke subtypes: a population-based study of incidence and risk factors. *Stroke*. 1999 Dec;30(12):2513–6.
  302. Kistler JP, Ropper AH, Heros RC. Therapy of ischemic cerebral vascular disease due to

- atherothrombosis (1). *N Engl J Med*. 1984 Jul 5;311(1):27–34.
303. Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Apr 18;47(8 Suppl):C13–8.
304. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*. Lippincott Williams & Wilkins; 2003 Oct 7;108(14):1664–72.
305. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II. Lippincott Williams & Wilkins; 2003. pp. 1772–8.
306. Schaar JA, Muller JE, Falk E, Virmani R, Fuster V, Serruys PW, et al. Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. Report of a meeting on the vulnerable plaque, June 17 and 18, 2003, Santorini, Greece. The Oxford University Press; 2004. pp. 1077–82.
307. Kumamoto M, Nakashima Y, Sueishi K. Intimal neovascularization in human coronary atherosclerosis: its origin and pathophysiological significance. *Hum Pathol*. 1995 Apr;26(4):450–6.
308. Abela GS, Aziz K, Vedre A, Pathak DR, Talbott JD, Dejong J. Effect of cholesterol crystals on plaques and intima in arteries of patients with acute coronary and cerebrovascular syndromes. *Am J Cardiol*. Elsevier; 2009 Apr 1;103(7):959–68.
309. Macioch JE, Katsamakidis CD, Robin J, Liebson PR, Meyer PM, Geohas C, et al. Effect of contrast enhancement on measurement of carotid artery intimal medial thickness. *Vascular Medicine*. 2004 Feb;9(1):7–12.
310. de Boer OJ, van der Wal AC, Teeling P, Becker AE. Leucocyte recruitment in rupture prone regions of lipid-rich plaques: a prominent role for neovascularization? *Cardiovasc Res*. 1999 Feb;41(2):443–9.
311. Moulton KS, Vakili K, Zurakowski D, Soliman M, Butterfield C, Sylvain E, et al. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. National Acad Sciences; 2003 Apr 15;100(8):4736–41.
312. Staub D, Partovi S, Schinkel AFL, Coll B, Uthoff H, Aschwanden M, et al. Correlation of carotid artery atherosclerotic lesion echogenicity and severity at standard US with intraplaque neovascularization detected at contrast-enhanced US. *Radiology*. Radiological Society of North America, Inc; 2011 Feb;258(2):618–26.
313. Xiong L, Deng Y-B, Zhu Y, Liu Y-N, Bi X-J. Correlation of carotid plaque neovascularization detected by using contrast-enhanced US with clinical symptoms. *Radiology*. Radiological Society of North America; 2009 May;251(2):583–9.
314. Papaioannou TG, Vavuranakis M, Androulakis A, Lazaros G, Kakadiaris I, Vlaseros I, et al. In-vivo imaging of carotid plaque neoangiogenesis with contrast-enhanced harmonic ultrasound. *Int J Cardiol*. Elsevier; 2009 May 29;134(3):e110–2.
315. Kerwin W, Hooker A, Spilker M, Vicini P, Ferguson M, Hatsukami T, et al. Quantitative

- magnetic resonance imaging analysis of neovasculature volume in carotid atherosclerotic plaque. *Circulation*. 2003 Feb 18;107(6):851–6.
316. Berkefeld J, Chaturvedi S. The International Carotid Stenting Study and the North American Carotid Revascularization Endarterectomy versus Stenting Trial: fueling the debate about carotid artery stenting. *Stroke*. American Heart Association, Inc; 2010 Nov;41(11):2714–5.
317. Feinstein SB, Coll B, Staub D, Adam D, Schinkel AFL, Cate ten FJ, et al. Contrast enhanced ultrasound imaging. *J Nucl Cardiol*. 2010 Jan;17(1):106–15.
318. Papaioannou TG, Stamatelopoulos KS, Georgiopoulos G, Vlachopoulos C, Georgiou S, Lykka M, et al. Arterial wave reflections during the menstrual cycle of healthy women: a reproducibility study. *Hypertension*. American Heart Association, Inc; 2009 Nov;54(5):1021–7.
319. Staub D, Schinkel AFL, Coll B, Coli S, van der Steen AFW, Reed JD, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of the vasa vasorum: from early atherosclerosis to the identification of unstable plaques. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010 Jul;3(7):761–71.
320. Jander S, Sitzer M, Schumann R, Schroeter M, Siebler M, Steinmetz H, et al. Inflammation in high-grade carotid stenosis: a possible role for macrophages and T cells in plaque destabilization. *Stroke*. 1998 Aug;29(8):1625–30.
321. Jeziorska M, Woolley DE. Local neovascularization and cellular composition within vulnerable regions of atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *J Pathol*. John Wiley & Sons, Ltd; 1999 Jun;188(2):189–96.
322. Fu BM, Shen S. Structural mechanisms of acute VEGF effect on microvessel permeability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. American Physiological Society; 2003 Jun;284(6):H2124–35.
323. Papalambros E, Sigala F, Georgopoulos S, Panou N, Kavatzas N, Agapitos M, et al. Vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase 9 expression in human carotid atherosclerotic plaques: relationship with plaque destabilization via neovascularization. *Cerebrovasc Dis*. 2004;18(2):160–5.
324. Ylä-Herttuala S, Bentzon JF, Daemen M, Falk E, Garcia-Garcia HM, Herrmann J, et al. Stabilisation of atherosclerotic plaques. Position paper of the European Society of Cardiology (ESC) Working Group on atherosclerosis and vascular biology. *Thromb Haemost*. Schattauer Publishers; 2011 Jul;106(1):1–19.
325. Clevert D-A, Sommer WH, Zengel P, Helck A, Reiser M. Imaging of carotid arterial diseases with contrast-enhanced ultrasound (CEUS). *Eur J Radiol*. Elsevier; 2011 Oct;80(1):68–76.

