

Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta

Studijní program: Doktorské studium biomedicíny 1. LF UK
Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Štěpán Jeřábek

Vliv aterosklerózy a polymorfismu vybraných genů (endoteliální NO syntázy a hemoxygenázy - 1) na vasodilataci koronárních tepen

Impact of atherosclerosis and polymorphism of selected genes (endothelial NO synthase and heme oxygenase-1) on coronary artery dilatation

Disertační práce

Školitel: Doc. MUDr. Tomáš Kovárník, Ph.D.

Praha 2022

Prohlášení:

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

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

V Praze, 7.7.2022

MUDr. Štěpán Jeřábek

Identifikační záznam:

JEŘÁBEK, Štěpán. *Vliv aterosklerózy a polymorfismu vybraných genů (endoteliální NO syntázy a hemoxygenázy - 1) na vasodilataci koronárních tepen. [Impact of atherosclerosis and polymorphism of selected genes (endothelial NO synthase and heme oxygenase-1) on coronary artery dilatation].* Praha, 2022. Počet stran 109, přílohy 3. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, II. interní klinika Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Školitel doc. MUDr. Tomáš Kovárník, Ph.D.

Obsah

1.	Úvod	9
2.	Koronární fyziologie a její aplikace v klinické praxi	12
2.1	Koncept frakční průtokové rezervy	12
2.2	Klinická data, přehled randomizovaných studií	16
2.3	Praktické aspekty měření frakční průtokové rezervy	17
2.4	Klidové nehyperemické indexy	20
2.5	Klinická validace indexu iFR	21
2.6	Praktické aspekty měření iFR	22
2.7	Přehled ostatních klidových indexů	23
2.7.1	DFR (diastolic hyperemia-free ratio)	23
2.7.2	RFR (resting full cycle ratio)	23
2.7.3	dPR (diastolic pressure ratio)	23
2.7.4	DPR (diastolic pressure ratio)	24
2.8	Technické aspekty ovlivňující měření tlakových indexů	26
2.8.1	Posun tlakových křivek	26
2.8.2	Problematika měření aortálního tlaku	27
2.9	Index koronární průtokové rezervy	28
2.10	Index myokardiální rezistence	30
2.11	Korelace indexů FFR, iFR, CFR	31
2.12	Diskrepance mezi FFR a iFR	32
2.13	Morfologie koronárního plátu ve vztahu k hemodynamice	33
2.14	Genetické vlivy	34

3.	Hypotézy a cíle vědecké práce	36
3.1	Hypotézy	36
3.2	Cíle vědecké práce	37
4.	Metodika	38
4.1	Klinický soubor	38
4.2	Měření FFR, iFR, CFR	39
4.3	Optická koherenční tomografie	39
4.4	Genetická analýza	39
4.5	Statistická analýza	40
5.	Výsledky	42
5.1	Hypotéza č. 1	46
5.2	Hypotéza č. 2	51
6.	Diskuze	60
6.1	Diskrepance typu FFRp/iFRn	60
6.2	Diskrepance typu FFRn/iFRp	62
6.3	Srovnání diskrepancí typu FFRp/iFRn a FFRn/iFRp	64
7.	Závěr	65
7.1	Limitace	65
8.	Souhrn	67
8.1	Souhrn	67
8.2	Summary	68
9.	Vlastní publikace	69
10.	Seznam použité literatury	72

11.	Příloha I	84
12.	Příloha II	96
13.	Příloha III	104

Abstrakt

Základním předpokladem k provedení koronární angioplastiky je určení léze, která způsobuje myokardiální ischemii. Koronární angiografie selhává v diagnostice hemodynamické významnosti u hraničních lézí – stenóz omezující průsvit tepny v rozsahu 40-70%. Tuto limitaci je možné překonat změřením tlakového gradientu přítomného na stenóze. V současné klinické praxi k tomuto využíváme dvě metody: frakční průtokovou rezervu (FFR), která měří tlakový gradient při hyperemii a v průběhu celého srdečního cyklu; a tzv. klidové indexy (z nichž nejznámější je index iFR – instantaneous wave-free ratio), které hodnotí tlakový gradient bez farmakologicky navozené hyperemie v průběhu diastoly. Dostupnost hyperemických a klidových indexů přináší některé problémy. Za základě provedených studií víme, že korelace mezi FFR a iFR je kolem 80% a že je tato korelace výrazně nižší v oblasti prahových hodnot.

V naší studii jsme analyzovali léze a pacienty s diskordantními měření FFR a iFR na základě klinických, angiografických a laboratorních nálezů. Cílem bylo zjistit i dosud nezkoumaný vliv polymorfismu genů uplatňující se v endoteliálně-vázané vazodilataci na sníženou odpověď endoteliálních buněk na podání vazoaktivních farmak. Endoteliální NO syntáza (ENOS) a hemoxygenáza-1 (HO-1) jsou enzymy klíčové pro cévní homeostázu a porucha jejich funkce hraje roli v endoteliální dysfunkci a rozvoji aterosklerózy. Časté varianty obou genů jsou spojené s alterací enzymatické funkce. Protože jsou k dispozici pouze limitovaná data týkající se genetických determinant koronární odpovědi na hyperemické stimuly, rozhodli jsme se zkoumat, zda Glu298Asp polymorfismus v exonu 7 genu ENOS a (GT)_n polymorfismus promotoru genu HO-1 ovlivňují koronární tlakové indexy a jestli se tyto varianty podílí na výskytu FFR/iFR diskrepancí.

Klíčová slova: frakční průtoková rezerva, instantaneous wave-free ratio, koronární průtoková rezerva

Abstract

An essential part of an indication for coronary revascularization is recognition of the lesion causing the myocardial ischemia. Coronary angiography fails in the diagnosis of lesions causing ischemia, primarily in so-called “borderline” lesions (lesions with a 40%–70% reduction in the lumen diameter). This problem is overcome by measuring the pressure gradient across the stenosis. In contemporary practice, we use 2 methods to measure such gradients: fractional flow reserve (FFR), which measures the pressure gradient during hyperemia and across the entire cardiac cycle; and the so-called resting indices (the most well-known of which is instantaneous wave-free ratio - iFR), which measure the pressure gradient without drug-induced hyperemia during mid-diastole. Unfortunately, having both hyperemic and resting indices also opens new problems. Based on previous trials, it is known that the correlation between FFR and iFR is around 80% and that this correlation is much lower when we compare only measurements at or near cutoff points.

Our trial was designed to analyze lesions and patients with discordant FFR and iFR findings using clinical, angiographic, and laboratory examinations. Moreover, one of the potential and so far untested reasons for the impaired reaction of endothelial cells to vasoactive drugs could be a genetic polymorphism in genes that play a role in endothelial-based vasodilatation. Endothelial nitric oxide synthase (ENOS) and heme oxygenase-1 (HO-1) are enzymes that are crucial for vascular homeostasis, and alterations in their functions are implicated in endothelial dysfunction and development of atherosclerosis. Also, common variants in both genes have been shown to alter enzyme function. Because there are only limited data available concerning the genetic determinants of coronary artery response to hyperemic stimuli, we sought to investigate whether the Glu298Asp polymorphism—in exon 7 of the ENOS gene—and the (GT)_n polymorphism in the HO-1 gene promoter influence coronary pressure-derived indexes and whether these variants contribute to the occurrence of iFR/FFR discordance.

Key words: fractional flow reserve, instantaneous wave-free ratio, coronary flow reserve

1. Úvod

Indikace k provedení koronární intervence je v současné době primárně založena na znalosti hemodynamického dopadu té konkrétní léze, u které je angioplastika zvažována. Pouze ošetření hemodynamicky významné koronární stenózy vede ke zlepšení prognózy pacienta a nezatěžuje jej riziky vyplývajících z možných periprocedurálních komplikací, z trombózy či restenózy ve stentu a z nutnosti následné duální antiagregační léčby (*Boden et al., 2007, Pijls et al., 2007*).

Selektivní koronarografie poskytuje optimální časové a prostorové rozlišení, má ale pouze omezenou výpovědní hodnotu v širokém pásmu tzv. hraničních lézí – tj. stenóz omezujících průsvit koronární tepny o 40-70%. Morfologický nález tedy nemůže být jediným kritériem k provedení angioplastiky a je nezbytné zhodnotit, zda koronární stenóza vede k myokardiální ischemii (*White et al., 1984*). Současně je nutné brát v potaz, že neexistuje korelace mezi klinickými symptomy a rozsahem ischemie. Tíže symptomů, typicky v podobě stenokardií, nereflektuje nutně velikost ischemického teritoria a jeho prognostickou závažnost, a ani při absenci obtíží nelze vyloučit tzv. němou ischemii myokardu. Ta je přitom spojená se stejně negativními dopady jako klinicky manifestní ischemická choroba srdeční.

Elektrokardiografie si zachovala zásadní roli v diagnostice akutních koronárních syndromů, limitovaný je ale přínos EKG v diagnostice chronické ischemické choroby srdeční. Klidový záznam velmi často nevykazuje známky patologie a zátěžové vyšetření je zatíženo velmi nízkou senzitivitou (45-50%) (*Montalescot, 2013*). Přesnější než zátěžová elektrokardiografie jsou metody nukleární kardiologie. Perfúzní scintigrafie myokardu (SPECT – jednofotonová emisní výpočetní tomografie) zobrazuje buněčnou perfúzi myokardu v klidové fázi a při zátěži. Senzitivita této metody dosahuje 85-90% a specificita 75-80% (*Al Moudi et al., 2011*). Za fyziologických podmínek je perfúze myokardu rovnoměrná, bez ložiskových defektů, intravenózně podané radiofarmakum emitující gama (nejčastěji Technecium-99m) záření rovnoměrně proniká do kardiomyocytů. V případě významné koronární stenózy dochází za stenózou ke snížení perfúze a na scintilační kameře je detekováno ischemické teritorium. SPECT srovnává perfúzi jednotlivých segmentů myokardu, limitací metody je tak možné podhodnocení

závažného koronárního nálezu, pokud je perfúze rovnoměrně snižená (i distribuce radiofarmaka je v tomto případě rovnoměrně snižená). Jde o tzv. balancovanou ischemii, se kterou se setkáváme např. u těžkého vícečetného koronárního postižení. Perfúzní defekt může být přítomný pouze při zátěži, tj. defekt je reverzibilní nebo není radiofarmakum akumulováno ani v klidové fázi vyšetření. Takový defekt označujeme jako fixní a bývá nejčastěji projevem myokardiální jizvy. V odlišení jizvy od hibernovaného myokardu lze využít nukleární magnetickou rezonanci, pozitronovou emisní tomografii nebo perfúzní scintigrafii s použitím Thalia-201. Z hlediska indikace koronární intervence je důležitý zejm. průkaz reverzibilní ischemie, ošetření tepny v povodí neviabilního myokardu není indikováno.

Zátěžová echokardiografie je další neinvazivní metodou, která umožňuje detekovat poruchy kontraktility, které se objevují během zátěže navozené farmakologicky (infúzí dobutaminu) nebo fyzickou aktivitou. Metoda dosahuje podobné specifity a senzitivity jako SPECT myokardu (*Marwick, 2003*), kvalita a výpovědní hodnota vyšetření je však vysoce dependentní na erudici vyšetřujícího. Nejvyšší senzitivita a specifita bývá ve studiích opakovaně potvrzena u zátěžového vyšetření pomocí pozitronové emisní tomografie (PET) (*Al Moudi et al., 2011*), pro nízkou dostupnost je tato metoda, v kardiologii používána ale spíše jen okrajově.

Obě, v současnosti nejvíce využívané, neinvazivní metody – zátěžová echokardiografie i perfúzní scintigrafie, přes svoje nesporné výhody a nezastupitelnost, selhávají v bližším určení konkrétní koronární léze, přesnost diagnostiky je omezeno pouze na ischemické teritorium. Identifikace stenózy zodpovědné za myokardiální ischemii je přitom klíčové s ohledem na důsledky zmíněné v úvodu.

Koncept koronární fyziologie je historicky datován do stejného období jako první koronární intervence. Andreas Grüntzig již v 70. letech zkonstruoval balonkový katetr vybavený lumen pro měření proximálních a distálních tlaků (*Grüntzig et al., 1979*). Vzhledem k technickým komplikacím daných zejména velikostí instrumentaria ale metoda nenašla větší klinické uplatnění a k dalšímu rozvoji došlo až s příchodem intravaskulárních manometrů v 90. letech. Týmy kolem Pijlse a de Bryuna definovali index frakční průtokové rezervy (FFR), simplifikovaný surogátní ukazatel koronárního průtoku odvozený ze stanovení tlakového gradientu na koronární stenóze (*Pijls et al., 1993, De Bruyne et al., 1994, Pijls et al., 1995, Pijls et al., 1996*), který se díky výsledkům

klinických studií (*Bech et al., 2001, Tonino et al., 2009, De Bruyne et al., 2012*) postupně stal referenčním standardem a rutinní klinickou metodou užívanou v hodnocení hemodynamické významnosti koronárních stenóz. Ve stejné době je vyvíjen i dopplerovský senzor umožňující přímé stanovení koronárního průtoku, pro horší reproducibilitu a technickou náročnost zůstalo ale měření průtoku vyhrazeno téměř výhradně pro výzkumné účely a nikdy nedošlo k jeho většímu uplatnění v klinické praxi. Až využití termodiluce vedlo v posledních letech k revizi klinických postupů a opětovnému, byť zatím omezenému, měření koronárního průtoku a z něho odvozeného indexu mikrocirkulární rezistence (IMR) i při rutinních vyšetřeních.

2. Koronární fyziologie a její aplikace v klinické praxi

2.1 Koncept frakční průtokové rezervy

Frakční průtoková rezerva (FFR, fractional flow reserve) je definována jako poměr maximálního myokardiálního průtoku krve distálně za stenózou (Q) a normálního průtoku ve stejném povodí při hypotetické absenci průtok-limitující stenózy (Q_n). Analogicky Ohmovu zákonu je průtok roven podílu tlakového gradientu mezi středním tlakem distálně za stenózou (P_d) a centrálním žilním tlakem (P_v) a myokardiální rezistencí (R) pro Q_s , a podílu tlakového gradientu mezi středním aortální tlakem (P_a) a centrální žilním tlakem (P_v) a myokardiální rezistencí pro Q_n

$$1) FFR = \frac{Q}{Q_n} \quad 2) Q = \frac{P_d - P_v}{R} \quad 3) Q_n = \frac{P_a - P_v}{R}$$

Myokardiální rezistenci nelze pouze s využitím tlakového senzoru, bez kvantifikace vlastního průtoku, stanovit a další odvození konceptu FFR, resp. jeho praktické využití, je tak postaveno na teoretickém předpokladu minimální a stabilní rezistence přítomné při stavu maximální koronární hyperemie, která je farmakologicky indukovaná během vyšetření.

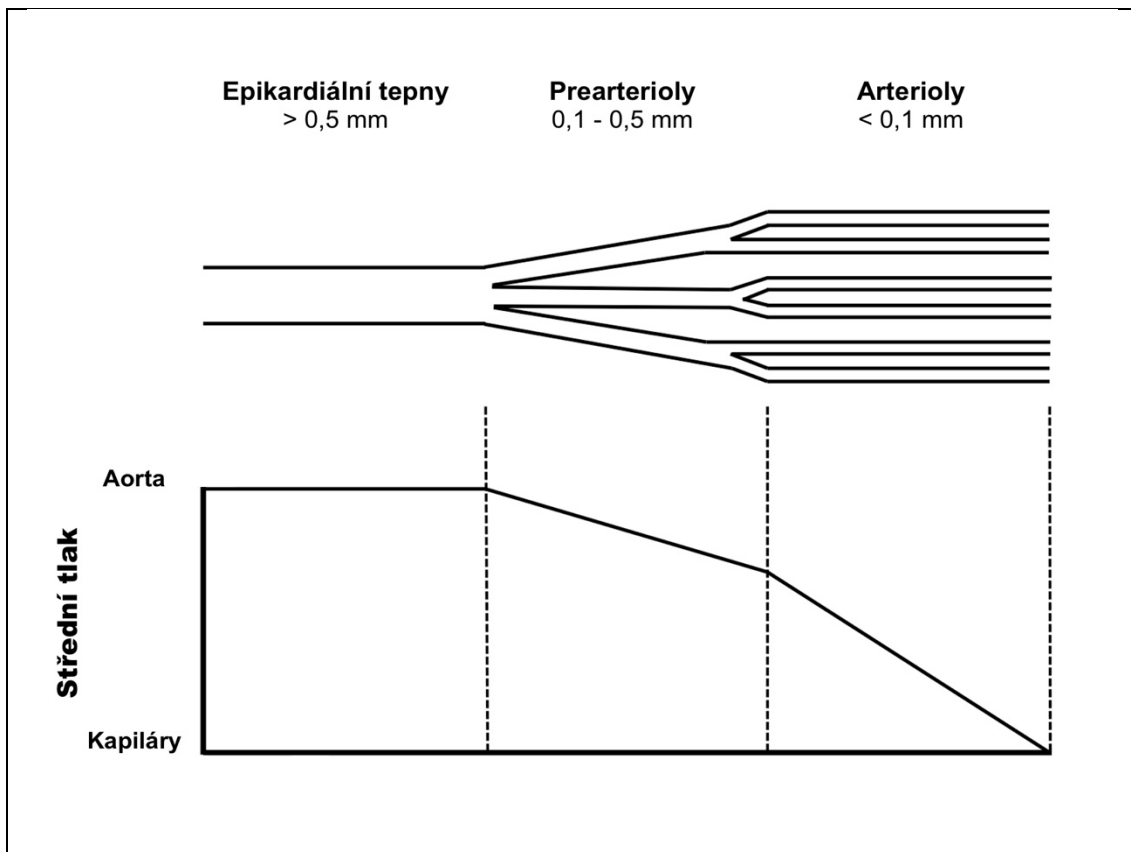
Pro pochopení problematiky maximální koronární hyperemie a minimální myokardiální rezistence, tedy stavu, jehož dosažení je klíčové k potvrzení platnosti zjednodušeného vztahu (5,6) a tím k validnímu zhodnocení hemodynamické významnosti koronární stenózy, je vhodné blíže popsat regulační mechanismy koronárního řečiště:

Koronární řečiště disponuje komplexní schopností regulovat vaskulární tonus pomocí neurohumorální a metabolické regulace, změnou myogenního tonu a endoteliální buněčnou signalizací – jedná se o mechanismy v souhrnu označované jako koronární autoregulace. Konstrikcí a dilatací arteriol je zajišťován v pásmu fyziologických

hodnot krevního tlaku, při neměnné metabolické potřebě myokardu, stacionární koronární průtok. Při vyšších či nižších nárocích myokardu je udržována za konstantního koronárního perfúzního tlaku adekvátní perfúze, tento mechanismus bývá označován jako metabolická adaptace (*Van De Hoef et al., 2013, Tiefenbacher, Cilian, 1998, Mosher et al., 1964, Spaan, 1985, Di Mario et al., 1994*).

Arbitrárně členíme koronární řečiště do 3 kompartmentů: 1) epikardiální tepny o průměru > 0,5mm, 2) prearterioly o průměru 100-500um a 3) arterioly o průměru < 100um a kapilární řečiště (obrázek 1). Velké tepny probíhají v epikardu, resp. v interventrikulárním septu v případě septálních větví, a nedochází v nich při absenci obstrukce průtoku k prakticky žádnému poklesu tlaku, hovoříme o nich jako o konduktivních cévách. Střední a distální kompartment tvoří mikrocirkulaci, která je zodpovědná za koronární rezistenci (*Camici, Crea, 2007, Lanza, Crea, 2010*).

Konduktivní řečiště reaguje omezeně na průtokem navozenou dilataci, nejvíce je ale odpověď na průtok patrná v proximální části středního kompartmentu. Distální prearterioly jsou z celého řečiště nejvíce vnímavé na změny perfúzního tlaku a patrně hrají dominantní roli v koronární autoregulaci. Distální kompartment reaguje na změny intramyokardiální koncentrace metabolitů a nejvíce zodpovídá za metabolickou regulaci koronárního průtoku.



Obrázek 1. Kompartmentový model koronárního řečiště (upraveno dle Camici et al., 2007).

Výše uvedené ilustruje komplexnost regulace koronárního řečiště, které je schopno udržovat konstantní průtok v pásmu fyziologických hodnot tlaku, resp. při konstantním perfúzním tlaku zajistit adekvátní perfúzi myokardu. Teoretickým podkladem konceptu FFR je lineární vztah mezi tlakem a průtokem, který za běžných podmínek nenastává. K navození přímé závislosti tlaku na průtoku je třeba eliminovat koronární regulační mechanismy a to je dosaženo navozením maximální dilatace koronárního řečiště, resp. maximální hyperemie v něm, v klinické praxi nejčastěji podáním adenosinu ve formě intrakoronárního bolusu nebo kontinuální intravenózní infuzí.

Při potlačení regulační schopnosti je koronární průtok přímo závislý na perfúzním tlaku, pouze ale v pásmu fyziologických hodnot tlaku, při nižších hodnotách nabývá závislost konkávního tvaru a křivka neprotíná osy x a y v nulovém bodě. Vztah mezi

tlakem a průtokem při maximální hyperemii je možné nejpřesněji označit jako inkrementálně-lineární (Van De Hoef et al., 2013).

Vrátíme-li se k odvození výpočtu FFR, za předpokladu, že je myokardiální rezistence po dosažení maximální hyperemie minimální a stabilní, je možné vztah (4) upravit na (5). Centrální žilní tlak je zpravidla nízký, resp. jeho hodnota významněji neovlivňuje výslednou hodnotu FFR, čímž se dostáváme k finálnímu vztahu pro výpočet FFR (6). Vztah (6) proti (5) je simplifikován zejména z praktických důvodů, kdy není zohledňován centrální žilní tlak, pro jehož kvantifikaci by bylo nutné zavedení centrální žilního katétru - to je spojeno s určitým rizikem komplikací, zejména se tím ale prodlužuje délka výkonu (pozn.: komerční systémy užívané k měření FFR nicméně umožňují hodnoty P_v zadat. Opodstatněné je změření hodnot P_v a užití vztahu (5) v klinické situaci, ve které lze očekávat hodnotu centrální žilního tlaku výrazněji zvýšenou nad normu, jistě v případě, že je P_v více než 15mmHg).

$$4) FFR = \frac{\frac{Pd - Pv}{R}}{\frac{Pa - Pv}{R}} \quad 5) FFR = \frac{Pd - Pv}{Pa - Pv} \quad 6) FFR = \frac{Pd}{Pa}$$

V původní validační studii byla deklarována frakční průtoková rezerva myokardiální (FFR_{myo}) a koronární (FFR_{cor}). Koronární FFR je definována jako podíl maximálního průtoku v koronární tepně v přítomnosti stenózy (Q_s) a normálního průtoku v koronární tepně, tj. průtoku při hypotetické absenci stenózy (Q_{sn})(7). Celkový myokardiální průtok je roven součtu průtoku ve stenotické tepně a průtoku z kolaterálního řečiště (Q_c) (8). Předpokladem platnosti vztahu (7) je stav maximální vazodilatace.

$$7) FFR_{cor} = \frac{Q_s}{Q_{sn}} = \frac{Pd - P_w}{Pa - P_w} \quad 8) Q = Q_s + Q_c$$

Tlak v zaklínění (Pw) je měřený v obturované tepně distálně za stenózou a jeho hodnota tak není při diagnostickém vyšetření dostupná. Z klinického hlediska je rozhodující index FFR_{myo} reflektující antegrádní i kolaterální složku maximální myokardiální perfúze – hodnotí, do jaké míry je maximální myokardiální perfúze ovlivněna přítomností epikardiální koronární stenózy (Pijls et al., 1995). V klinické praxi, stejně jako v tomto textu, je pod frakční průtokovou rezervou (FFR) rozuměna frakční myokardiální průtoková rezerva (FFR_{myo}).

2.2 Klinická data, přehled randomizovaných studií

Výsledky randomizovaných studií, zejm. DEFER a FAME, upevnily klinické použití metody FFR v recentních doporučení Evropské kardiologické společnosti na úroveň IA (Neumann et al., 2019).

325 pacientů se stabilní ischemickou chorobou srdeční a angiograficky hraniční stenózou jedné tepny ve studii DEFER (Bech et al., 2001) podstoupilo koronární intervenci při hodnotě $FFR < 0,75$, při hodnotě $FFR \geq 0,75$ byli rozděleni do skupiny, u které byla koronární léze invazivně ošetřena, nebo do konzervativní větve léčené pouze farmakologicky, koronární stenóza byla ponechána u této skupiny bez angioplastiky. 5leté sledování prokázalo bezpečnost odložení koronární intervence u hemodynamicky nevýznamné léze, tj. při $FFR \geq 0,75$ (Pijls et al., 2007), shodně tak po 15letém sledování nebyl shledán přínos invazivního přístupu u nevýznamné stenózy, mortalita v intervenované a konzervativní větvi dosáhla 31,1 vs. 33 % ($p = 0,79$) (Zimmermann et al., 2015).

Studie FAME (Tonino et al., 2009) randomizovala 1005 pacientů se stabilní ischemickou chorobou srdeční a s postižením více než jedné koronární tepny do skupiny, u které byly intervenovány všechny léze s hodnotou $FFR \leq 0,80$, nebo do skupiny, kde bylo o provedení angioplastiky rozhodnuto pouze na základě angiograficky hodnoceného morfologického nálezu. Incidence primárního cíle (úmrť, nefatální infarkt myokardu, opakovaná revaskularizace) v prvním roce sledování dosáhla 18.3% v angiograficky vedené skupině a 13.2% v FFR větvi ($p = 0,02$). Po 5 letech již nebyl rozdíl mezi oběma skupinami statisticky signifikantní (výskyt primárního cíle dosáhl 31 vs. 28%;

$p = 0,31$), potvrzena ale byla dlouhodobá bezpečnost při odložení intervence u hemodynamicky nevýznamné léze, ve skupině FFR byla i významně nižší spotřeba stentů (1,9 vs. 2,7; $p < 0,0001$) (Van Nunen et al., 2015).

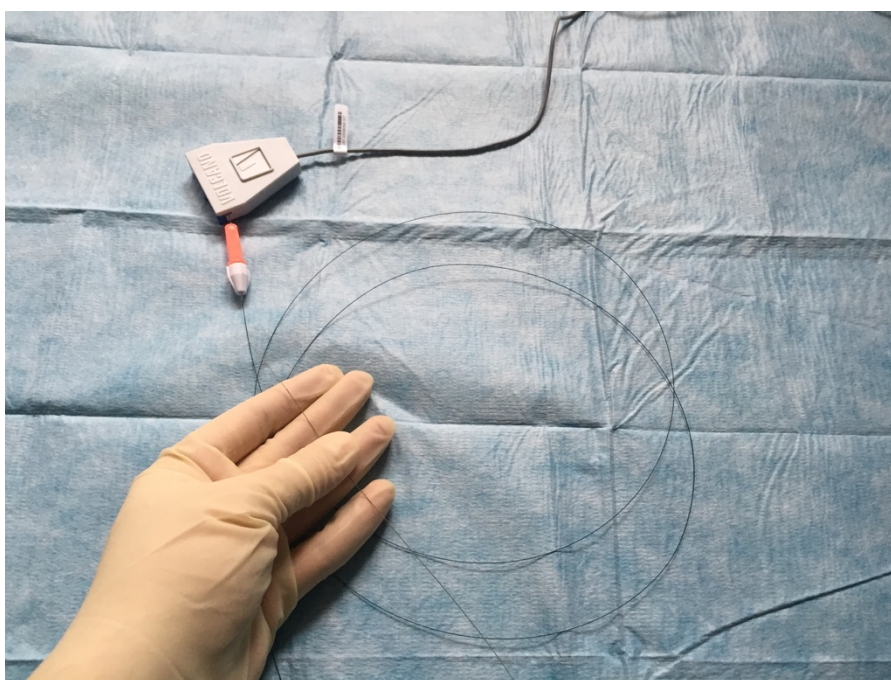
Studie FAME-2 (De Bruyne et al., 2012) se zaměřila na pacienty se stabilní chorobou jedné nebo více koronárních tepen. Celkem 888 pacientů bylo na základě výsledku měření FFR (přítomnost minimálně jedné koronární stenózy s $FFR \leq 0,80$) randomizováno do invazivní větve s ošetřením všech hemodynamicky významných lézí nebo do konzervativní větve, která byla léčena pouze farmakologicky. Nábor do studie byl předčasně ukončen pro signifikantně vyšší incidenci primárního kombinovaného cíle, zahrnujícího úmrtí, infarkt myokardu a nutnost urgentní revaskularizace, v konzervativně léčené skupině (12,7% vs. 4,3%; $p < 0,001$). V dalším sledování byly výsledky obdobné ve prospěch invazivně léčené skupiny (po 2 letech výskyt primárního cíle u 19,5% pacientů v konzervativní větvi vs. 8,1% u intervenované, po 5 letech 27,0% vs. 13,9%; $p < 0,001$), přičemž rozhodujícím ve všech případech byla potřeba urgentní revaskularizace, signifikantní rozdíl ve výskytu úmrtí nebo infarktu myokardu mezi oběma skupinami nebyl zaznamenán (De Bruyne et al., 2014, Xaplanteris et al., 2018).

2.3 Praktické aspekty měření frakční průtokové rezervy

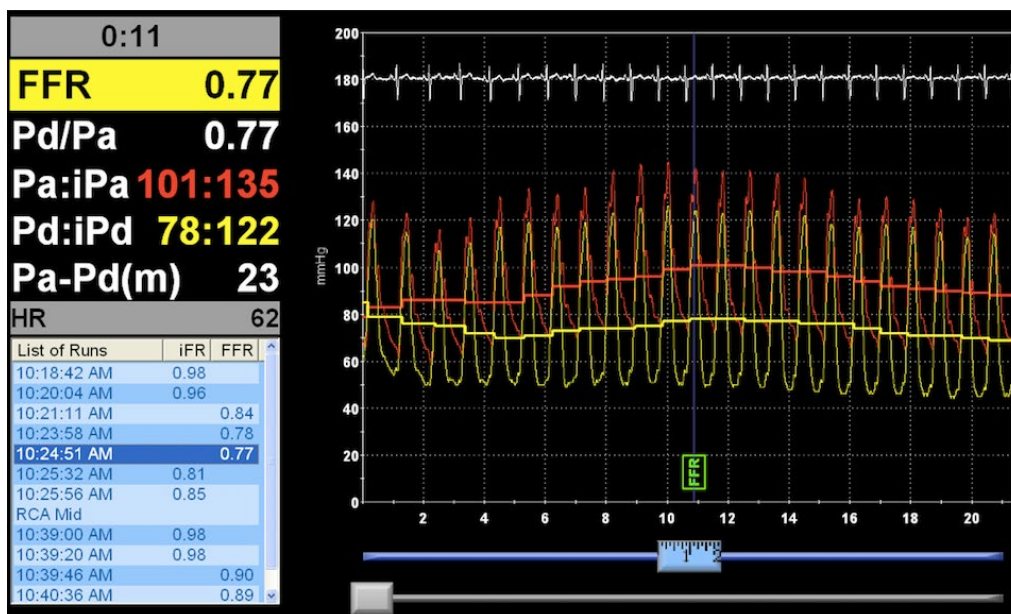
Distální tlak za stenózou (P_d) je snímám přes tlakový senzor koronárního vodiče, proximální tlak (P_a) je měřen přes vodní sloupec vodícího katetru intubovaného v ostii koronární tepny. Obě hodnoty jsou simultánně zobrazeny spolu s momentální hodnotou FFR (jako podíl středních tlaků P_d/P_a z jednoho cyklu, nebo z průměru 3-5 cyklů).

Před začátkem měření je intrakoronárně aplikován nitrát k prevenci vasospasmů. Vodicí drát s tlakový senzorem je následně zaveden přes vodící katétr do koronární tepny a umístěn distálně za stenózu. Vazodilatace mikrocirkulace je dosaženo podáním adenosinu, a to kontinuální infuzí do centrální žíly (rychlostí 140ug/kg/min), příp. intrakoronárním bolusem (80ug do levé věnčité tepny, 40ug do pravé věnčité tepny, dle zvyklostí je na některých pracovištích podáván i.c. bolus až 240ug do obou koronárních tepen). Záznam proximální i distální tlakové křivky je v reálném čase zobrazován. Po aplikaci adenosinu je manuálně spuštěno hodnocení FFR a systémem je automaticky označena nejnižší hodnota P_d/P_a (obrázek 3).

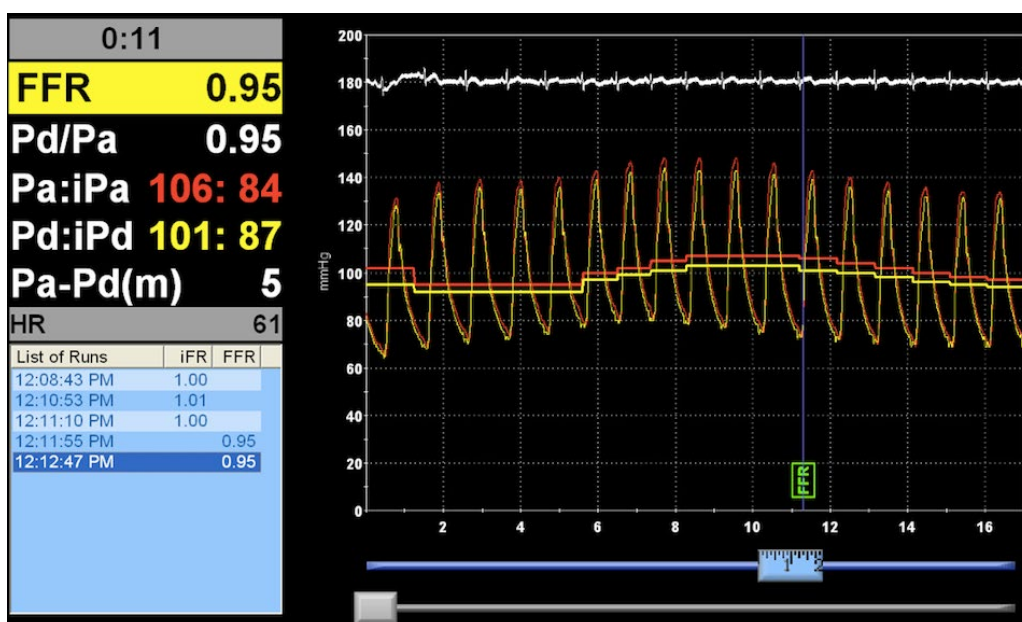
Ustanovení maximální hyperemie je verifikováno konstantní stabilní hodnotou FFR, při bolusovém podání nesmí být odchylky mezi měřeními větší než 0,02. Z validačních studií je za průkaz ischemie brána hodnota $FFR < 0,75$, v praxi je prahovou hodnotou pro provedení koronární intervence $FFR \leq 0,80$. Tato hodnota byla arbitrárně stanovena jako indikační kritérium ve studiích FAME a FAME-2 na základě kterých bylo měření frakční průtokové rezervy zakomponováno do klinických doporučení. Úzká šedá zóna je v pásmu $FFR 0,75-0,80$. V epikardiálním průběhu koronární tepny nevzniká při absenci stenózy tlakový gradient a hodnota FFR bude v této tepně vždy rovná 1,0. Výjimkou je situace, kdy je vlastní tlakový senzor signifikantně posunut proti původní nulové hladině, typicky toto nastává v distálních segmentech ACD a RCx, a vlivem působení hydrostatických sil dochází k nadhodnocení FFR. Ve zdravé tepně pak poměr klidového P_d/P_a dosahuje nepřírozeně hodnot vyšších než 1.0 (v tomto případě jde ale o chybu měření).



Obrázek 2. Intrakoronární vodič připravený k zavedení do katétru. Tlakový senzor je umístěn 3 cm od hrotu. Snímač funguje na principu piezorezistivního jevu, změna krevního tlaku indukuje změnu odporu. Tato změna je pak v zapojení přes tzv. Wheatstoneův můstek registrována přes tlakový převodník a převedena na hodnotu tlaku. Některé novější intrakoronární vodiče využívají optické senzory. U těchto změna tlaku vede ke změně vlnové délky odraženého paprsku světla uvnitř optického vlákna.



Obrázek 3. Záznam z vyšetření FFR. Červeně je vyznačena křivka proximálního tlaku (Pa), žlutě distálního tlaku měřeného za stenózou (Pd), horizontální průběh značí hodnotu středních tlaků. Po podání adenosinu se zvyšuje průtok koronárním řečištěm (stav maximální hyperemie), klesá perfúzní tlak distálně za stenózou - patrný je rozestup obou křivek. Nejnižší hodnota FFR, vyznačená zeleně, zde činí 0,77. Jedná se tedy o funkčně významnou stenózu. *FFR – frakční průtoková rezerva*



Obrázek 4. Záznam vyšetření nevýznamné koronární stenózy (hodnota FFR 0,95).

2.4 Klidové nehyperemické indexy

Funkční hodnocení za použití frakční průtokové rezervy bylo, až do nedávné doby, jedinou klinicky validovanou metodou invazivní identifikace významnosti koronárních stenóz. V posledních letech došlo k rozvoji tzv. klidových indexů, které ačkoliv vycházejí z podobného fyzikálního principu a využívají stejné instrumentarium jako FFR, nevyžadují indukci maximální hyperemie v koronárním řečišti. Tím nejen zjednodušují celý proces měření, ale teoreticky přinášejí i některé další výhody, zejména ve vztahu k fyziologii koronárního průtoku.

Základním předpokladem platnosti konceptu FFR, jak již bylo zmíněno, je navození stavu maximální vazodilatace, ve kterém dochází k lineární závislosti tlaku a průtoku a pokles tlaku na stenóze tak přímo reflektuje pokles průtoku, potažmo tím významnost této stenózy. Jedná se současně o největší limitaci metody: 1) neexistuje ukazatel, který by verifikoval, že bylo maximální hyperemie dosaženo, 2) i při farmakologicky indukované hyperemii není intrakoronární rezistence stacionární, ale fázicky kolísá. To je dáno interakcí mezi myokardem a mikrovaskulárním řečištěm v různých fázích srdečního cyklu - vysoká rezistence je přítomná při kompresi mikrovaskulárního řečiště v systole, nízká při dekompresi v diastole (*Sen et al., 2012*).

Tým Justina Daviese navrhl v roce 2012 nový index iFR (instantaneous wave-free ratio) založený na principu existence periody v diastole, ve které nejsou zachytitelné dopředné ani zpětné vlny (jak kompresní, tak expanzní) – odtud její název „wave free“ a ve které je koronární rezistence, jak bylo prokázáno v jejich práci, přirozeně minimální a konstantní. Intrakoronární tlak a průtok jsou v této části diastoly proporční a tlakový gradient na stenóze odpovídá významnosti této léze (*Sen et al., 2012*).

Pomocí vlnové analýzy získané simultánním měřením dopplerovské rychlosti toku krve a tlaku v koronárním řečišti bylo identifikováno 6 dominujících vln, z nichž dvě – dopředná/kompresní vyvolaná kontrakcí myokardu a zpětná/expanzní (nebo též sukční), která následuje po uvolnění komprese mikrocirkulace – zodpovídají za 94% dopředného koronárního průtoku. Zpětná vlna, spadající do diastolické fáze, dosahuje větší intenzity než dopředná/kompresní vlna generovaná v systole, což je v souladu s akceptovaným modelem koronárního průtoku, který se z větší části odehrává během diastoly (zhruba v poměru 2:1) (*Davies et al., 2006*). Dominantně diastolický koronární

průtok, který byl potvrzen již v minulosti dopplerovským měřením (*Kajiya et al., 1993*), je platný v povodí levé koronární tepny. V pravé věnčité tepně nacházíme stejně jako v levé identický obraz 6 vln, liší se ale amplituda a zpětná/expanzní vlna dosahuje významně nižší intenzity než v levé koronární tepně, poměr systolického a diastolického průtoku je zde zhruba 1:1. Rozdíl je vysvětlován odlišnou elastancí a rozdílným tlakem generovaným v pravé a levé komoře (*Hadjiloizou et al., 2008*).

Hodnota myokardiální rezistence v části diastoly následované po zpětné dekompresní vlně je minimální a stabilní a odpovídá hodnotě rezistence měřené při adenosinem indukované hyperemii. Ve vztahu k FFR je iFR v těsné korelaci ($r = 0.9$, $p < 0,001$) se specificitou 91% a senzitivitou 85%, klinická shoda při užití prahových hodnot $FFR \leq 0,80$, $iFR \leq 0,89$ je 80% (*Petraco et al., 2014*).

2.5 Klinická validace indexu iFR

V roce 2018 byla metoda iFR uvedena díky příznivým výsledkům randomizovaných studií DEFINE-FLAIR (*Davies et al., 2017*) a iFR-SWEDEHEART (*Götberg et al., 2017*) v aktualizovaných doporučeních evropské kardiologické společnosti jako klinicky ekvivalentní k FFR (*Neumann et al., 2019*).

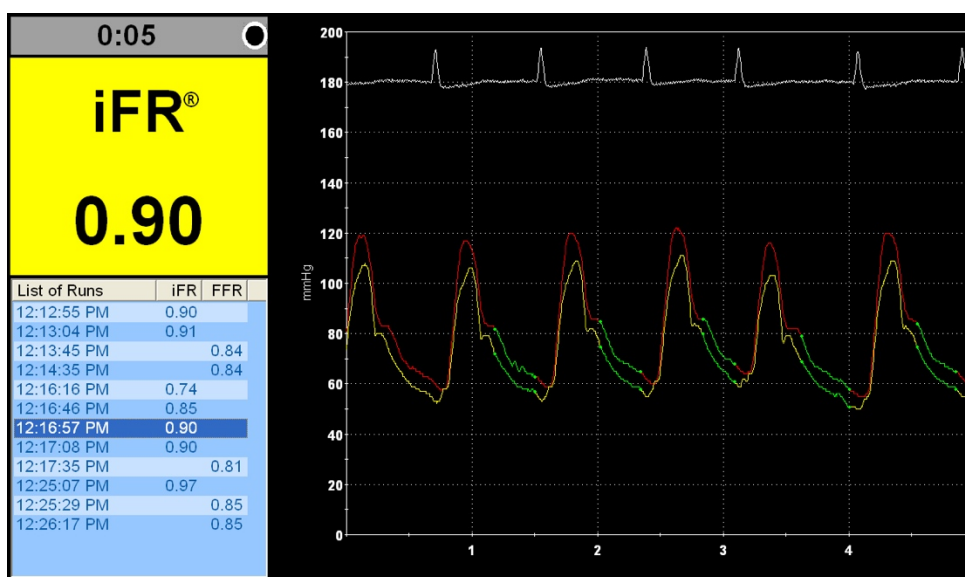
Ve studii DEFINE-FLAIR bylo 2492 pacientů se stabilní anginou nebo akutním koronárním syndromem randomizováno v poměru 1:1 k provedení revaskularizace na základě výsledku FFR nebo iFR. S ohledem na výskyt závažných kardiálních příhod (úmrť, nefatální infarkt myokardu, neplánovaná revaskularizace) potvrdila studie non-inferioritu iFR k FFR a současně prokázala nižší výskyt vážných periprocedurálních symptomů a klinických příznaků u iFR-vedené PCI, celková doba výkonu byla u iFR signifikantně kratší.

Stejného výsledku bylo dosaženo i v podobně koncipované studii iFR-SWEDEHEART. I zde byla ve skupině 2037 pacientů prokázána non-inferiorita iFR.

2.6 Praktické aspekty měření iFR

Vlastní vyšetření iFR je prováděno stejným instrumentariem jako FFR, postup měření je až na nutnost farmakologické indukce hyperemie shodný. Odlišné jsou prahové hodnoty, za hemodynamicky významnou je považovaná stenóza s $iFR \leq 0,89$. Pro potřeby výpočtu je „wave-free“ perioda definovaná úsekem začínajícím uvnitř diastoly na 25% jejího trvání a ukončeným 5ms před koncem diastolické fáze srdečního cyklu. Hodnota iFR je analogicky k FFR vypočtena jako poměr středních tlaků distálních (P_d) a proximálních (P_a)(9).

$$9) iFR = \frac{P_d (wave - free)}{P_a (wave - free)}$$



Obrázek 5. Záznam měření iFR (instantaneous wave-free ratio). Kalkulace probíhá ve stejném softwarovém prostředí jako měření frakční průtokové rezervy. Zeleně je vyznačena vlastní perioda iFR, detekována systémem automaticky. Výsledná hodnota je vypočtena z průměru 5 cyklů.

Před zahájením měření iFR je nutné brát patrnost fakt, že i podání kontrastní látky indukuje submaximální vasodilataci koronárního řečiště (*Johnson et al., 2016*). Po proplachu katetru fyziologickým roztokem je nutné vyčkat minimálně 20 vteřin, než efekt odplavené kontrastní látky odezní, jinak hrozí podhodnocení iFR, resp. nadhodnocení významnosti koronární stenózy.

2.7 Přehled ostatních klidových indexů

Mimo iFR disponujeme některými dalšími indexy odvozenými z teoretického konceptu iFR, vůči kterému byly všechny numericky validované. Jedná se zejména o:

2.7.1 DFR (diastolic hyperemia-free ratio)

Index DFR je vypočten z poměru středních hodnot distálních a proximálních tlaků v části diastoly, definované dvěma kritérii: momentální Pa je nižší než střední hodnota Pa a momentální Pa se současně nachází v sestupné fázi křivky (*Johnson et al., 2019*).

2.7.2 RFR (resting full cycle ratio)

Na rozdíl od ostatních zde uvedených klidových indexů vychází RFR z celého srdečního cyklu. Hodnocen je největší aktuální pokles tlaku, teoreticky tedy může nejnižší poměr Pd/Pa (tj. maximální tlakový gradient na stenóze) nastat i ve fázi systoly. Reálně ale k této situaci nedochází a nejnižší hodnoty indexu budou prakticky výlučně vždy spadat do průběhu diastoly (*Svanerud et al., 2018*).

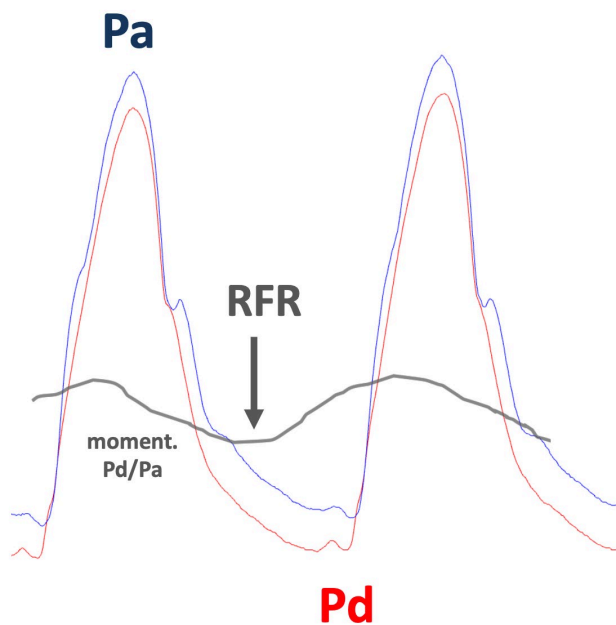
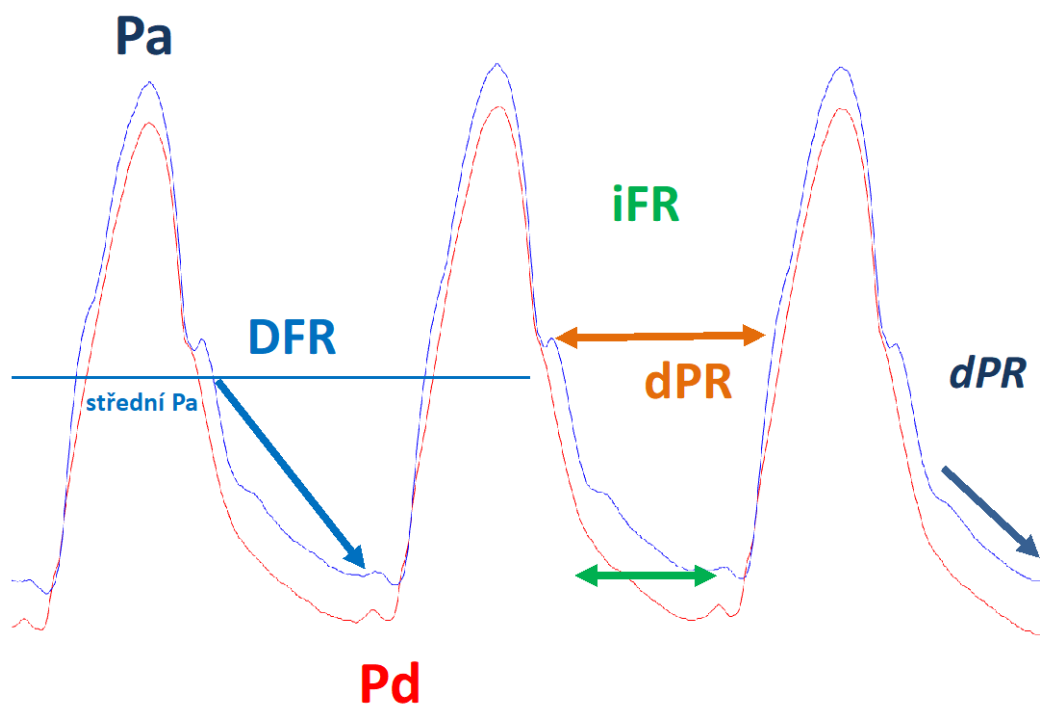
2.7.3 DPR (diastolic pressure ratio)

Index je poměrem středních hodnot Pd a Pa z průběhu celé diastoly.

2.7.4 *dPR* (diastolic pressure ratio)

Index *dPR* (nezaměňovat s předchozím indexem, jedná se o dva rozdílné ukazatele různých výrobců), je definicí měřeného úseku podobný iFR. Vlastní interval, ze kterého je vypočten poměr P_d/P_a , je určen konstantní hodnotou dP/dT (tj. plochou fází dP/dT křivky). Měříme tak napřímo část cyklu s minimální a ustálenou rezistencí - „wave-free“ periodu, na rozdíl od iFR, kde je tato část diastoly předpokládána v předem určeném fixním časovém úseku (*Lighthart et al., 2018*).

Jistá nepřehlednost na poli nehyperemických indexů je dána především existencí ochranné známky indexu iFR, ostatní komerční výrobci tak byli nuceni přijít s vlastním řešením, resp. s definicí a označením vlastního klidového indexu. Přes zdánlivě odlišnou metodiku výpočtu lze čistě z praktického hlediska zkráceně konstatovat, že všechny nehyperemické indexy jsou numericky ekvivalentní, se stejnými prahovými hodnotami pro identifikaci významné koronární stenózy a tím v praxi volně zaměnitelné. Žádný z nich nepřináší, v porovnání s ostatními, jakoukoliv signifikantní výhodu (*Van't Veer et al., 2017*). Shrnutí odlišností jednotlivých indexů je znázorněno na obrázku 6.



Obrázek 6. Schéma analýzy tlakového gradientu u různých klidových indexů, bližší rozbor je uveden v textu. P_a – proximální tlak měřený v aortě, P_d – distální tlak za stenózou, dPR - diastolic pressure ratio, DFR – diastolic hyperemia-free ratio, RFR – resting full cycle ratio, iFR – instantaneous wave-free ratio

2.8 Technické aspekty ovlivňující měření tlakových indexů

Přes svoji relativní jednoduchost je měření tlakových indexů zatíženo řadou potenciálních artefaktů, které, při nedodržení technického postupu, mohou ve výsledku ovlivnit validitu měření. Problematika technických faktorů ovlivňující měření tlakových indexů byla podrobněji rozebrána v samostatné impaktované publikaci (Jerabek, Kovarnik, 2019), zde uvádím pouze nejčastější z nich.

2.8.1 Posun tlakových křivek

Posun tlakové křivky, tzv. drift, je často pozorovaným, ale snadno přehlédnutelným jevem. Dochází při něm k odchýlení tlakové křivky od reálné hodnoty tlaku a to jedním či druhým směrem. Distální tlak za stenózou (P_d) je snímán přes tlakové čidlo umístěné na intrakoronárním vodiči (obrázek 2). Inherentní vlastností takových mikrosenzorů a jednou z hlavních příčin driftu, je elektrická a termální instabilita. Malé změny teploty působí na piezorezistivní materiál čidla, mění se měrný odpor a tím charakteristika mikromanometru. Mimo teplotní vlivy dochází současně k degradaci výstupního signálu v čase, čímž je vnášena další nepřesnost do měření. Obě tyto vlastnosti jsou fyzikálně dané a nelze je zcela eliminovat. Obecně je přijímán jako maximálně tolerovaný posun snímaného tlaku 5 mmHg/10 minut. Výrobci nejčastěji využívaných vodičů udávají hodnoty driftu pod 7 mmHg/1 hodinu, ještě nižší hodnoty, ve srovnání s piezorezistivními snímači, vykazují optické senzory (Menon et al., 2015).

Z praktického hlediska je dobrým indikátorem možného driftu morfologie tlakové křivky. Falešně pozitivní tlakový gradient je charakteristický stejným tvarem obou křivek, kdy na distálně měřeném tlaku (P_d) přetrvává přítomný dikrotický zářez, zatímco u významné stenózy, která se chová jako vysokofrekvenční filtr, bývá vyhlazen. Posun vyloučíme, pokud se po stažení vodiče zpět do zaváděcího katetru hodnota P_d/P_a rovná 1.0 a obě křivky mají stejný tvar. Za maximální tolerovanou odchylku na konci měření arbitrárně považujeme posun o ± 2 mmHg. V případě vyšších hodnot nebo při pochybnostech je nutné měření opakovat.

2.8.2 Problematika měření aortálního tlaku

Měření tlaku v aortě je zajišťováno přenosem tlakové vlny přes sloupec fyziologického roztoku (tím je vyplněn vodící katetr intubovaný v ostiu koronární tepny) do převodníku, který konvertuje mechanický impuls na elektrický signál, ten je zesílen, digitalizován a dále zpracováván.

Měřicí systém, tvořený mimo převodníku i katetrem a tlakovými hadičkami, má svou přirozenou frekvenci, při jejímž dosažení začíná rezonovat. Za této situace dochází ke zkreslení přenášeného signálu a výsledná křivka neodpovídá reálným tlakům v aortě. Přirozenou frekvenci měřicího systému určují vlastnosti jednotlivých komponent. Vyšších frekvencí dosahujeme použitím krátkých, rigidních tlakových hadiček, s jejich délkou a poddajností naopak přirozená frekvence klesá. Stejný efekt na snížení má i přítomnost krve nebo vzduchových bublin. Je žádoucí, aby přirozená frekvence měřicí soustavy byla dostatečně vysoká.

V každém systému existuje tlumení ("damping") dané zejména frikcí a viskozitou kapaliny obsažené v katetru. Určitá míra tlumení je výhodná, protože zamezuje nechtěným oscilacím. Neadekvátní tlumení, na druhou stranu, zkresluje reprodukováný aortální tlak. Nedostatečné tlumení ("underdamping") vede k nadměrné rezonanci systému a tím k nadhodnocení systolického, resp. podhodnocení diastolického tlaku. Opačně, při nadměrném tlumení ("overdamping") dochází k nadhodnocení diastolického a podhodnocení systolického tlaku. V obou případech je v menší míře ovlivněn střední tlak, takže i za ne zcela optimálních podmínek lze s relativně dostatečnou přesností využít jeho hodnotu např. při monitoraci pacientů na jednotkách intenzivní péče. Kritická je správná kalibrace při měření klidového indexu iFR, který je kalkulován pouze v části diastoly, kdy jakákoliv nepřesnost významně ovlivní výslednou hodnotu. Měření frakční průtokové rezervy, počítané ze středního tlaku, je méně závislé na nastavení systému, nicméně i zde při nevhodném tlumení dochází k signifikantnímu posunu hodnoty FFR.

Rezonanční charakteristiku celé soustavy můžeme ověřit rychlým krátkým proplachem fyziologickým roztokem a zhodnocením počtu kmitů, které se objeví bezprostředně po uzavření kohoutu. Při optimálním tlumení následují po proplachu, kdy

intrakoronární tlak odpovídá tlaku v přetlakové manžetě (300 mmHg), 1-2 oscilace a opětovně ustálení. Průběh tlaku při proplachu opisuje čtverec, odtud anglosaské označení "*square wave test*". Absence oscilací nebo vícečetné oscilace svědčí pro nadměrné, resp. nedostatečné tlumení.

2.9 Index koronární průtokové rezervy

Frakční průtoková rezerva i nehyperemické indexy jsou surogátními ukazateli koronárního průtoku, který jinak nelze ze samotného tlakového gradientu na stenóze stanovit. Vychází z teoretických modelů a experimentálních měření, z hlediska úspěšného uvedení do praxe pak byly rozhodující výsledky klinických studií a zejména relativní jednoduchost (a spolehlivost) vlastního vyšetření v porovnání s měřením průtoku.

Přímé stanovení koronárního průtoku je možné dvěma metodami – dopplerovsky a pomocí termodiluce. Dopplerovská technika využívá piezoelektrický krystal, integrovaný do intrakoronárního vodiče, který zastává roli vysílače i přijímače ultrazvukového signálu. Na základě Dopplerova jevu, je-li ultrazvuková vlna emitována rovnoběžně s proudícími erytrocyty, odpovídá rychlost jejich pohybu přímo úměrně velikosti dopplerovského posunu. Výraznou slabinou dostupných systému je náchylnost k četným artefaktům a požadavek na precizní provedení vlastního měření.

Termodiluční stanovení koronárního průtoku je metodou, při které je do koronární tepny aplikován chlazený fyziologický roztok ve formě bolusu nebo kontinuální infuzí (*Candrea et al., 2021*). Distálním termistorem je registrována změna teploty a z času (tzv. středního tranzitní času - T_{mn}), po který byla změna teploty zaznamenána, odvozujeme průtok (Q). Čím kratší je tato doba, tím vyšší je koronární průtok. Při bolusovém intrakoronárním podání chlazeného fyziologického roztoku nelze přesné množství aplikovaného media kontrolovat, část z něho uniká do aorty. V této situaci lze průtok vypočítat pomocí vzorce (10), kde V je vaskulární objem v ml. Hodnota V není známa, lze ale předpokládat, že je v průběhu měření konstantní a T_{mn} je pak inverzně proporční průtoku (vzorec 12).

$$10) \text{ průtok} = \frac{V}{T_{mn}}$$

Tímto způsobem tedy není možné stanovit absolutní průtok (na rozdíl např. od stanovení srdečního výdeje při pravostranné katetrizaci s použitím Swan-Ganzova katetru). K měření absolutního koronárního průtoku je nutné kontinuální podání chlazeného fyziologického roztoku a pro výpočet musí být známa jeho teplota a rychlost infuze (vzorec 11). K posouzení koronární průtokové rezervy, která bude probrána dále, je postačující bolusové podání chlazeného media, při výpočtu vycházíme ze vztahu (12).

$$11) Q = 1.08 \left[\frac{T_i}{T} \right] Q_i$$

Q - koronární průtok, T_i – teplota aplikovaného media, T – teplota registrovaná distálním termistorem, Q_i – rychlost infuze media, 1.08 je konstanta zohledňující hustotu a měrnou tepelnou kapacitu krve a fyziologického roztoku (*Weisse, Regan, 1974*)

Obě metody – dopplerovskou techniku i termodilucí, lze využít ke stanovení koronární průtokové rezervy (CFR – coronary flow reserve). V nepostížené tepně dochází při zvýšených nárocích myokardu (např. při fyzické zátěži) k 4-6násobnému navýšení průtoku, za normální jsou tak považované hodnoty CFR 4,0-6,0. S narůstající významností stenózy jsou stále více zapojovány kompenzační mechanismy koronární cirkulace, především relaxace mikrocirkulace tak, aby bylo dosaženo maximálního snížení periferní rezistence a tím zachování koronárního průtoku i přes přítomnost stenózy. Proto i u poměrně těsných stenóz je zachován klidový průtok v koronární tepně. Ovšem s vyčerpáním kapacity regulačních mechanismů již není možno při zvýšení metabolických nároků pracujícího myokardu dále koronární průtok navyšovat. Proto u významných stenóz koronární mikrocirkulace již jen velmi omezeně reaguje na podání vasodilatancia a CFR se zvyšuje jen minimálně. Za průkaz hemodynamicky významné stenózy se považuje hodnota CFR menší než 2,0.

Při vlastním měření je průtok v koronární cévě je nejprve zhodnocen v klidovém stavu a následně při maximální hyperemii, stejně jako u metody FFR, indukované

podáním adenosinu. Hodnota CFR je vypočtena jako poměr maximálního a klidového průtoku (Gould et al., 1990). Nízké hodnoty CFR jsou asociovány se zvýšenou mortalitou a se závažnými kardiovaskulárními komplikacemi (Kelshiker et al., 2022).

2.10 Index mikrocirkulární rezistence

Index mikrocirkulární rezistence (IMR) je jedním z novějších indexů, umožňující invazivní zhodnocení koronární mikrocirkulace. Analogicky Ohmovu zákonu je vypočten jako podíl rozdílu tlaků a koronárního průtoku. Koronární průtok je stanoven termodiluční metodou (intrakoronární vodiče některých výrobců jsou kromě tlakového čidla vybaveny i termistorem) výpočtem ze středního tranzitní času (T_{mn}) chlazeného fyziologického roztoku podaného do koronární tepny. Vlastní IMR je rovna součinu distálního tlaku a T_{mn} . Odvození vztahu je patrné ze vzorců (12-14). Předpokladem platnosti vztahu (14) je stav maximální koronární vazodilatace (Fearon et al., 2003). Měření IMR probíhá současně se stanovením indexu FFR.

$$12) \text{ průtok} \approx \frac{1}{T_{mn}} \quad 13) \text{ IMR} = \frac{Pd - Pv}{\left(\frac{1}{T_{mn}}\right)} \quad 14) \text{ IMR} = Pd \times T_{mn}$$

Index IMR je podobně jako index koronární průtokové rezervy (CFR) v současné době měřen především v rámci výzkumu, užití v klinické praxi je relativně nízké. Vlastní klinický přínos metody je zejména u pacientů se symptomy ischemické choroby srdeční, u kterých nebylo prokázáno obstrukční koronární postižení (Lee et al., 2015). U těchto pacientů jsou vyšší hodnoty IMR (≥ 32), spolu s nízkou koronární rezervou (CFR ≥ 2), spojeny s horší prognózou (Lee et al., 2016). Další oblastí je riziková stratifikace pacientů s akutním infarktem myokardu s ST elevacemi, u kterých byla prokázána korelace IMR s rozsahem infarktového ložiska na základě měření sérových kardiomarkerů (Fearon et al. 2008) i s myokardiální viabilitou (Lim et al., 2009).

V naší studii nebyl index IMR hodnocen.

2.11 Korelace indexů FFR, iFR, CFR

Koncepce klidové indexu byla iniciálně proponovaná zejména jako technické zjednodušení celého diagnostického procesu (*Sen et al., 2012*). Utilizace koronární fyziologie v rutinní praxi katetrizační laboratoře je relativně nízká (např. v USA bylo měření FFR použito dle *Wijnse (Wijns et al., 2010)* pouze u asi 6% všech provedených intervencí). Podávání adenosinu je bezpečné, příp. převodní poruchy, které se objevují nejčastěji, při velmi krátkém poločasu léku rychle odeznívají, vlastní podání je ale periprocedurálně doprovázeno i pacientem subjektivně nepříjemně vnímanými symptomy, zejm. bolestmi na hrudi. Vysoká cena adenosinu a jeho nedostupnost v některých zemích jsou dalšími důvody, které byly s nízkým využitím FFR spojovány (*Kleiman, 2011*). Odstranění nutnosti indukovat adenosinem hyperemii tak dle autorů konceptu iFR mělo vést k většímu rozšíření metod funkčně vedené revaskularizace myokardu.

Užití nového indexu iFR v rutinní praxi bylo legitimizováno na základě klinických dat, resp. průkazem non-inferiority vůči etablovanému indexu FFR. Výsledek klinické studie nemusí ale nutně reflektovat koronární fyziologii a neodpovídá na otázku, jestli jeden nebo druhý model přesněji popisuje vliv koronární stenózy na ischemii myokardu. Hlavní limitací studií srovnávajících FFR a iFR je pak zejména neexistence „zlatého standardu“, se kterým by bylo možné obě měření srovnat.

Indexy FFR a iFR hodnotí závažnost epikardiálního postižení, zatímco výsledek CFR je sumací vlivu epikardiální stenózy a postižení mikrocirkulace. Diskrepance mezi FFR a CFR (FFR_{poz}/CFR_{neg} a FFR_{neg}/CFR_{poz}) dosahuje 30-40%, zejména v pásmu hraničních hodnot FFR (*Johnson et al., 2012, Van De Hoef, 2014*). FFR_{poz}/CFR_{neg} diskrepance je vysvětlována dominantně fokálním epikardiálním postižením, bez přítomné mikrovaskulární dysfunkce. Stenóza neovlivňuje průtok, současně není ovlivněna odpověď na vazodilatační podnět, vysoký trans-stenotický průtok následně generuje signifikantní tlakový gradient. FFR_{neg}/CFR_{poz} diskrepance může být způsobena: 1) izolovaným postižením mikrocirkulace, 2) difusním epikardiálním postižením nebo 3) kombinací mikrovaskulární dysfunkce a epikardiální stenózy, na které ale při nízkém koronárním průtoku nedochází ke vzniku významného tlakového gradientu. Tento typ

diskrepance je asociován s významně vyšším výskytem závažných kardiovaskulárních příhod (*Van De Hoef, 2014*).

Rovněž diskrepance mezi FFR a iFR je častá – vyskytuje se u 20% měření. V této souvislosti je zajímavé zjištění, že hodnoty iFR korelují s hodnotami CFR lépe než FFR s CFR (*Cook et al., 2017*). Diskrepance mezi FFR a CFR bývá některými autory hodnocena jako nepřesnost CFR. Nesouhlasná vyšetření lze přitom vysvětlit fyziologickým modelem a obě metody tak můžeme považovat spíše jako komplementární.

Příznivý klinický benefit vyplývající z výsledků randomizovaných studií nutně nepotvrzuje platnost teoretického modelu FFR, který tak při současném stavu poznání nelze považovat za zlatý standard pro určení rozsahu myokardiální ischemie, přestože je v tomto kontextu v literatuře velmi často, až nekriticky, zmiňován.

2.12 Diskrepance mezi iFR a FFR

Dosud publikované práce prokázaly korelaci mezi oběma metodami v rozsahu 63-90% (*Sen et al., 2012, Hennigan et al., 2016, Cook et al., 2017, Matsushita et al., 2018, Jeřábek et al., 2019*). Příčiny diskrepantních nálezů mezi iFR a FFR byly zkoumány v několika studiích provedených na různých populacích, částečně s konfliktními závěry (*Cook et al., 2017, Lee et al., 2017, Dérimay et al., 2018*).

iFR_{neg}/FFR_{poz} diskordance byla pozorována častěji u mladších pacientů, u mužů, u pacientů bez anamnézy diabetes mellitus a u pacientů s pomalejší tepovou frekvencí, opačně pacienti s iFR_{poz}/FFR_{neg} diskrepancí byli starší, častěji ženy a diabetici a typický u nich byl nález difuzního koronárního postižení (*Cook et al., 2017, Lee et al., 2017, Dérimay et al., 2018*).

Studie zabývající se vztahem závažnosti koronárního nálezu k iFR/FFR diskordanci přinesly zcela kontradiktorní výsledky neumožňující stanovení jasného závěru (*Lee et al., 2017, Cook et al., 2017, Derimay et al., 2018*). Léze lokalizované v kmeni levé věnčité tepny a v proximálním úseku ramus interventricularis anterior byly častěji asociované s iFR_{neg}/FFR_{poz} diskordancí (*Kobayashi et al., 2016, Dérimay et al., 2018*), stejný typ diskrepance byl častější i u fokálního postižení, zatímco difuzní forma koronární aterosklerózy byla asociována s iFR_{neg}/FFR_{poz} diskordancí (*Warisawa et al., 2019*).

Řada studií se zabývala korelací parametrů odvozených z nálezů intravaskulárního ultrazvuku (IVUS) a optické koherenční tomografie (OCT) a FFR. Kromě postižení v oblasti kmene levé věnčité tepny byla korelace těchto parametrů pouze středně významná, což vedlo k suboptimální diagnostické přesnosti v detekci FFR pozitivních lézí (*D'Ascenzo et al., 2015*). Jedna studie demonstrovala střední korelaci obou fyziologických indexů s IVUS a OCT (*Matsushita et al., 2018*).

Studiem parametrů získaných pomocí intravaskulárních zobrazovacích metod, které by byly možným prediktorem iFR/FFR diskordance, se dosud nezabývala žádná práce.

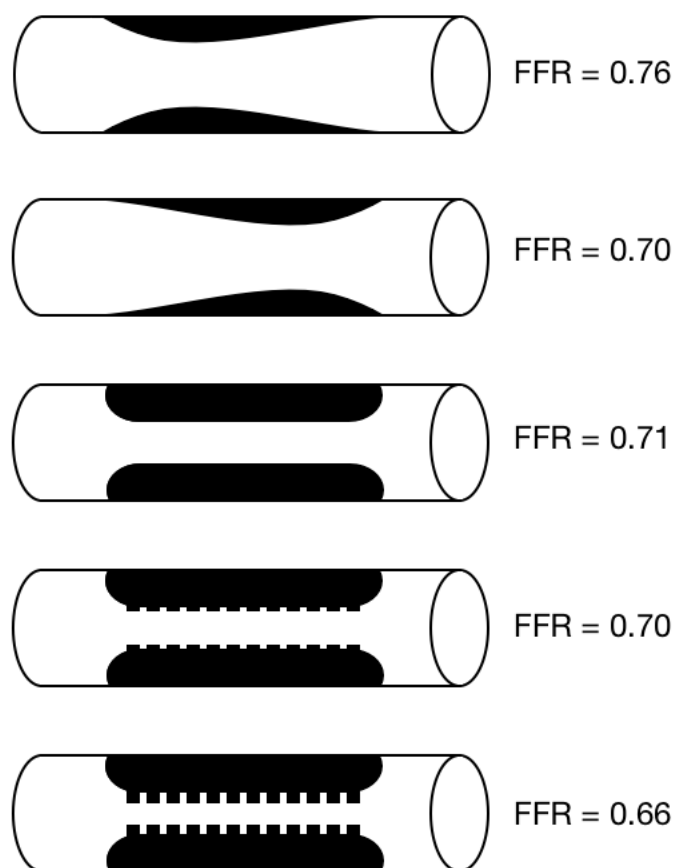
2.13 Morfologie koronárního plátu ve vztahu k hemodynamice

Na stenóze dochází působením vnitřního tření a vlivem akcelerace a separace toku ke ztrátě tlaku. Pokles tlaku vlivem viskózního tření je přímo úměrný průtoku přes stenózu a vzniká jako důsledek překonání zvýšeného tření uvnitř zúžené cévy (Poiseuilleův zákon). Akcelerace toku, způsobená rovněž omezeným průsvitem tepny, vede k přeměně tlakové potenciální energie na kinetickou dle Bernoulliho rovnice. Separace toku při vyústění stenózy je příčinou tvorby vírů a je zodpovědná za ztrátu kinetické energie, která není v úseku distálně za stenózou plně transformována zpět do potenciální tlakové energie. Tlaková ztráta je charakteristická pro každou danou stenózu (*Van De Hoef et al., 2012, Stegehuis et al., 2018*).

Tento vztah je hypoteticky významnější pro měření hyperemických indexů než pro měření indexů klidových. V průběhu hyperemie dochází k nárůstu rychlosti proudění krve a výše popsany mechanismus ztráty tlakové energie je zvýrazněn. Tímto způsobem tak dochází výraznějšímu poklesu tlaku za stenózou – tj. nárůstu tlakového gradientu – u hyperemických indexů než u klidových (*Uren et al., 1994*).

To je rovněž důvodem mnohem komplikovanějšího vztahu při FFR hodnocení dvou a více lézí přítomných v jedné koronární tepně. V průběhu hyperemie dochází k významnému ovlivňování jednotlivých stenóz navzájem a je poté velmi obtížně odlišit příspěvek každé z nich na celkovém nárůstu gradientu (*Kang et al., 2018*). Naopak vzhledem k tomu, že klidový koronární průtok zůstává nezměněn až k hranici těsné

stenózy, mohou klidové indexy dobře odlišit příspěvek jednotlivých stenóz a tím velmi pomoci při plánování strategie koronární intervence.



Obrázek 7. Vliv morfologie koronární léze na frakční průtokovou rezervu na základě simulace dynamiky kapalin (*upraveno dle Kang et al., 2018*).

2.14 Genetické vlivy

Jednou z potenciálních a pouze minimálně zkoumaných příčin neadekvátní reakce endoteliálních buněk na podání vazoaktivních farmak může být polymorfismus genů uplatňujících se v endoteliálně řízené vazodilataci.

Endoteliální NO-syntáza (eNOS) a hem oxygenáza-1 (HO-1) jsou enzymy s důležitou rolí v cévní regulaci, u kterých alterace jejich funkce může vést k endoteliální

dysfunkci a rozvoji aterosklerózy (*Daiber et al., 2019, Kishimoto et al., 2019*). Změna funkce zmíněných enzymů je popisována u genových polymorfismů často zastoupených v populaci (*Balligand et al., 2009, Kishimoto et al., 2019*).

U polymorfismu ENOS G894T (substituce Glu za Asp na kodonu 298) byla prokázána snížená produkce oxidu dusnatého (NO) v endoteliálních buňkách za bazálního stavu a v reakci na smykové tření (*Joshi 2007*). Adenosinem indukovaná vazodilatace je alespoň částečně NO-dependentní - adenosin zvyšuje uvolňování NO z endoteliálních buněk přes adenosinový 2A receptor (*Li et al., 1998*).

HO-1 je považována za jeden z hlavních celulárních protektivních mechanismů proti oxidativnímu stresu, který hraje klíčovou roli v rozvoji endoteliální dysfunkce a aterosklerózy. HO-1 je inducibilní enzym a jeho stimulace je primárně řízena na úrovni transkripce. Počet opakování dinukleotidu GT v promotoru HO-1 genu ovlivňuje úroveň genové transkripce (*Kishimoto et al., 2019*). Alely s ≥ 25 GT opakováními vedou ke snížené inducibilitě HO-1, zatímco krátké alely vykazují adekvátní expresi HO-1 při stimulaci. Studie prokázaly významný vliv tohoto polymorfismu na patologické stavy způsobené oxidativním stresem včetně aterosklerózy (*Chen et al., 2012, Kishimoto et al., 2019*).

Vaskuloprotektivní efekt HO-1 je částečně uskutečněn jejím efektem na eNOS. Rozpojení eNOS, jeden z klíčových mechanismů rozvoje endoteliální dysfunkce, je charakterizován sníženou tvorbou NO a zvýšenou produkcí superoxidových radikálů. HO-1 zesiluje aktivaci eNOS a zamezuje rozpojení eNOS, čímž zachovává adekvátní produkci NO a tím i funkci endotelu (*Wu et al., 2018, Daiber et al., 2019*).

Možný vliv často zastoupených genetických variant zmíněných enzymů na schopnost dosažení adekvátní koronární hyperemie indukované adenosinem nebyl dosud studován.

3. Hypotézy a cíle vědecké práce

3.1 Hypotézy

V koronární tepně dochází distálně za stenózou ke změně laminárního proudění na turbulentní. Turbulentní proudění je akcelerováno při hyperemii indukované podáním adenosinu, tím dochází ke ztrátě energie a možnému nadhodnocení tlakového gradientu, který tak nemusí být proporcionální významnosti stenózy – hodnota FFR může za této situace nabývat falešně pozitivních hodnot.

Hypotéza č. 1: Morfologie aterosklerotického plátu ovlivňuje koronární hemodynamiku ve vztahu k výskytu iFR/FFR diskordancí.

Endoteliální dysfunkce způsobená alterovanou funkcí eNOS může vést ke snížené reakci na podání adenosinu. Následkem toho nedochází v koronárním řečišti k adekvátnímu hyperemickému průtoku nezbytnému pro validní stanovení FFR. Zachovalá endoteliální funkce může být častější u pacientů s pozitivním výsledkem FFR při negativním iFR. Neadekvátní vazodilatace po podání adenosinu může vést k negativnímu výsledku FFR při pozitivním iFR.

Hypotéza č. 2: Polymorfismy Glu298Asp v exonu 7 genu eNOS a (GT)_n v promotoru genu HO-1 jsou příčinou neadekvátní reakce na adenosin a vedou k výskytu FFR_{neg}/iFR_{poz} diskrepance.

3.2 Cíle vědecké práce

- 1.** Použitím optické koherenční tomografie identifikovat morfologické ukazatele aterosklerotického plátu (určením jeho plochy, excentricity, tvaru a objemu lumen) a analyzovat endoteliálního smykové tření u pacientů s diskrepantním měřením iFR/FFR.
- 2.** Genetickou analýzou identifikovat polymorfismy Glu298Asp a (GT)_n u pacientů s diskrepantním měřením iFR/FFR.

4. Metodika

4.1 Klinický soubor

Do studie byli zařazeni pacienti indikovaní k selektivní koronarografii pro stabilní anginu pectoris nebo akutní koronární syndrom a kteří současně podstoupili měření hemodynamické významnosti koronární stenózy metodou FFR a iFR. Zařazování pacientů probíhalo v pěti českých centrech (Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Nemocnice Na Homolce v Praze, Fakultní nemocnice Brno, Univerzitní nemocnice Ostrava, Nemocnice Třinec), v jednom japonském centru (Gifu Heart Center) a v jednom v Argentině (Fundacion Favaloro, Buenos Aires). U pacientů s akutním koronárním syndromem bylo měření provedeno na lézi nezodpovídající za akutní ischemii. Zodpovědná léze byla identifikována podle přítomnosti trombu a/nebo u tepny zásobující ischemické teritorium podle EKG změn.

U některých pacientů byla funkčně hodnocena více než jedna léze. Všechna FFR/iFR měření byla zahrnuta do analýzy “podle léze” (“per-lesion”) za účelem identifikace specifických vlastností těchto lézí (lokalizace, hodnota CFR). Analýza “podle pacienta” (“per-patient”) byla užita pro vlastnosti vztahující se k pacientovi (demografie a typ polymorfismu). Do této analýzy bylo použito měření s nejvíce signifikantním nálezem (v případě že byla všechna měření FFR a iFR konkordantní) nebo diskrepantní měření (v případě že byla měření FFR a iFR konkordantní i diskordantní u měření více než jedné léze). V případě nálezu dvou různých typů diskrepance (situace která nastala pouze u 3 pacientů), byla zvolena diskrepance s nejvýznamnějším rozdílem mezi FFR a iFR.

Kritérií vylučujícími zařazení do studie byly hemodynamická nestabilita, kardiopulmonální resuscitace v den vyšetření, trombóza ve vyšetřované koronární tepně, pacient po aorto-koronárním bypassu, těžké asthma bronchiale, významná chlopenní vada a/nebo AV blokáda vyšší než I. stupně.

Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas se studií a studie byla schválena lokální etickou komisí v každém participujícím centru.

4.2 Měření FFR, iFR, CFR

Měření FFR/iFR bylo provedeno systémem Philips-Volcano s koronárním vodičem Verrata Plus. CFR bylo analyzováno přes vodič s dopplerovským senzorem Combo Wire a systém Combo Map (obojí Philips-Volcano). Měření koronární rezervy nebylo mandatorní, jeho provedení záviselo na rozhodnutí operátora.

Před zahájením měření byl aplikován intrakoronární bolus nitroglycerinu (200ug) jako prevence vasospasmů, pro každé vlastní měření byl aplikován intrakoronární bolus adenosinu v dávce 240ug, a to jak pro měření FFR, tak i CFR. Index iFR byl stanoven třikrát, index FFR dvakrát, do analýzy pak byly zahrnuty průměrné hodnoty těchto měření. Pro určení hemodynamické významnosti koronární léze byly použity prahové hodnoty pro iFR ≤ 0.89 a pro FFR ≤ 0.80 . V případě, že bylo provedeno měření CFR, hodnotila se průměrná hodnota ze tří měření s prahovou hodnotou < 2.0 .

4.3 Optická koherenční tomografie

U vybraných pacientů s diskrepancí byla po diagnostické angiografii a funkčním měření FFR/iFR provedena optická koherenční tomografie (OCT). Katétr Dragonfly (Abbott-St.Jude Medical, Saint Paul, MN) byl umístěn distálně za vyšetřovanou lézi. Podáním kontrastní látky (14-16ml) bylo spuštěno automatické stahování (pull-back) směrem od distální části k proximální (v intervalu 5 snímků/mm). Všechny OCT studie byly analyzovány na systému Ilumien (Abbott-St.Jude Medical, Saint Paul, MN) nezávislým hodnotitelem.

4.4 Genetická analýza

DNA byla izolována z leukocytů periferní krve standardním postupem. Polymerázová řetězová reakce (PCR) byla provedena s použitím oligonukleotidových sond (primerů) navržených k amplifikaci exonu 7 genu pro ENOS. Amplifikace vzorků proběhla v termálním cyklu MJ Research DYAD 220 (Conquer Scientific, San Diego, CA) s primery ENOS7-sense, 5'-GAG ATG AAG GCA GGA GAC AGT-3' a reverzní ENOS7-anti, 5'-TCC ATC

CCA CCC AGT CAA T-3'. Směs o objemu 25 μ l byla inkubována o teplotě 94°C po dobu 3 minut, následováno 30 cykly (každý 25s na 94°C, 40s na 59°C a 40s na 72°C) s finální extenzí na 72°C po dobu 10 minut. Restrikční analýza byla provedena inkubací 3 jednotek Mbol restrikčního enzymu (Promega, Madison, WI) s amplifikovanou DNA po dobu 12 hodin o teplotě 37°C. Produkty restrikce byly separovány elektroforézou na 3.8% agarózovém gelu, k analýze PCR produktů byl přidán ethidium bromid.

Oblast promotoru HO-1 genu obsahující (GT) n opakování byla amplifikována PCR s fluorescenčně značenými primery (HMOX1_S 5-AGAGCCTGCAGCTTCTCAGA-3 a HMOX1_AS 5-ACAAAGTCTGGCCATAGG AC-3). Všechny PCR produkty byly generovány v 25 μ l objemech obsahujících Plain Combi PP Master Mix (Top-Bio, Prague, Czech Republic), 1.6pmol primeru, 1.6pmol reverzního primeru a 25ng templátové DNA. Amplifikace proběhla v termálním cykleru (BIORAD, Hercules, CA) s následujícím protokolem: 5minutová denaturace na 95°C následovaná 30 cykly (každý 30s na 95°C, 30s na 66°C a 30s na 72°C) s finální extenzí na 72°C po dobu 5 minut. PCR produkty byly určeny DNA sekvencery Li-cor 4200 (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE) a ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Carlsbad, CA). Primery značené IR700 byly použity pro Li-cor analýzu, primery značené 6-FAM pro ABI analýzu. Určení délky fragmentů proběhlo v SagaGT (LI-COR Biosciences) a Peak Scanner™ Software (Applied Biosystems).

Vybrané vzorky byly sekvenovány v ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) a poté použity jako velikostní standard v každém běhu elektroforézy. Alely jsme rozdělili podle počtu GT opakování do dvou tříd: S (short) s méně než 25 (GT) n a L (long) s 25 a více GT(n). Homozygotní a heterozygotní třídy S (protektivní varianty) byly porovnány s homozygotní třídou L (riziková varianta).

4.5 Statistická analýza

Hodnoty FFR a iFR byly analyzovány jako spojité proměnné a jako kategorické proměnné (pozitivní a negativní) s ohledem na klinické prahové hodnoty obou metod.

Identifikovali jsme tři skupiny vyšetření: 1) FFR/iFR konkordantní, 2) FFRp/iFRn typ diskrepance a 3) FFRn/iFRp diskrepance. Analýza byla provedena ve třech kategoriích:

1) FFR/iFR konkordance vs. FFRp/iFRn diskrepance, 2) FFR/iFR konkordance vs. FFRn/iFRp diskrepance a 3) FFRp/iFRn diskrepance vs. FFRp/iFRn diskrepance.

Střední hodnoty se standardní odchylkou byly vypočteny pro všechny spojité proměnné. Rozdíly mezi spojitými proměnnými byly testovány pomocí Studentova t-testu. Pro kategorické proměnné, kontingenční tabulky byly použity k zobrazení frekvenční distribuce. Statistická významnost byla vypočtena pomocí Fisherova exaktního testu. Hodnota $p=0.05$ určila práh statistické významnosti.

Prediktory s hodnotou $p \leq 0.2$ byly zařazeny do multivariační regresní analýzy s cílem stanovení nezávislých prediktorů diskrepance mezi FFR a iFR na bázi demografických a biomedicinských proměnných. Pokusili jsme se identifikovat nejlepší prediktivní model pro oba typy FFR/iFR diskrepancí.

K statistické analýze byl použit SPSS® software, verze 24 (SPSS Inc., Chicago, IL, US).

5. Výsledky

Mezi listopadem 2015 a březnem 2020 bylo do studie zařazeno 1970 párů FFR a iFR vyšetření, které byly provedeny na následujících pracovištích:

- 1/ II. Interní klinika kardiologie a angiologie VFN a 1. LF UK v Praze
- 2/ Gifu Heart Center, Gifu, Japonsko
- 3/ Kardiologické oddělení nemocnice Třinec Podlesí, Třinec
- 4/ Kardiovaskulární oddělení Fakultní nemocnice Ostrava
- 5/ Fakultní nemocnice Brno Bohunice, Masarykova Univerzita Brno
- 6/ Kardiologické oddělení Městské nemocnice Ostrava
- 7/ Fundacion Favalaro, Buenos Aires, Argentina
- 8/ Kardiologické oddělení Nemocnice Na Homolce Praha

Do finální analýzy bylo zařazeno 1884 párů od 1564 pacientů (201 nemocných – 12.9% - mělo akutní koronární syndrom). Celkem 86 párů vyšetření nebylo do studie zařazeno pro nedostatečnou technickou kvalitu křivek.

Poměr vyšetřovaných tepen byl následující: 1102 (58.5%) *ramus interventricularis anterior* (RIA), 395 (21%) *ramus circumflexus* (RCx), 362 (19.2%) *arteria coronaria dextra* (ACD) a 25 (1.3%) kmen levé věnčité tepny (LM). Demografické údaje zařazených pacientů jsou shrnuty v tabulce 1.

	FFR/iFR shoda 1185 pac.	FFRp/iFRn 259 pac.	FFRn/FFRp 120 pac.	p¹	p²	p³
Věk [v letech]	69.0 ± 9.7	66.8 ± 9.9	70.9 ± 10.5	0.001	0.05	0.0003
Ženy	346 (29.3%)	40 (15.4%)	44 (36.7%)	<0.0001*	0.08	<0.0001*
BMI [kg/m ²]	29.6 ± 5.2	29.5 ± 5.0	28.4 ± 4.9	0.63	0.05	0.24
Infarkt myokardu v anamn.	157 (27.7%)	30 (11.6%)	20 (16.7%)	0.28	0.93	0.48
Diabetes mellitus	451 (38.5%)	86 (33.2%)	54 (45%)	0.12	0.09	0.015
Arteriální hypertenze	895 (76.5%)	197 (76.1%)	91 (75.8%)	0.88	0.63	0.75
Hyperlipidemie	716 (61.3%)	155 (59.8%)	67 (55.8%)	0.83	0.46	0.61
Chronická renální insufic.	43 (8.7%)	4 (1.5%)	15 (12.5%)	0.44	0.0005	0.006
Aktiv. nikotinismus	265 (22.7%)	75 (29%)	36 (30%)	0.028	0.04	0.7
Beta-blokátory	513 (43.9%)	97 (37.5%)	58 (48.3%)	0.08	0.2	0.03
Kalciové blokátory	490 (42%)	112 (43.2%)	46 (38.3%)	0.55	0.62	0.42
Nitráty	220 (18.9%)	46 (17.8%)	15 (12.5%)	0.78	0.12	0.2
Diuretika	2175 (38.3%)	29 (11.2%)	42 (35%)	0.38	0.0007	0.001
ACEi / ARB	684 (58.6%)	153 (59.1%)	72 (60%)	0.63	0.47	0.74
Statiny	644 (62.3%)	142 (54.8%)	59 (49.2%)	0.31	0.93	0.58
Akutní koronární syndrom	150 (13.1%)	36 (13.9%)	15 (12.5%)	0.61	0.95	0.71
Ejekční frakce [%]	57.2% ± 12.2	58.4 ± 11.8	57.2 ± 11.9	0.19	0.97	0.41
Hemoglobin [g/l]	136.7 ± 21.8	137.0 ± 19.7	131.3 ± 17.7	0.82	0.01	0.009
Kreatinin [μmol/l]	107.2 ± 113.2	99.2 ± 112.2	140.6 ± 169.6	0.31	0.005	0.006
eGFR [ml/min]	64.7 ± 21.4	67.6 ± 19.2	60.1 ± 25.0	0.04	0.04	0.002

Tabulka 1. Demografické parametry pacientů se shodným FFR/iFR měřením a FFR/iFR diskrepancemi.

Byla použita Bonferroniho korekce pro násobné testování hypotézy, čímž byla snížena hladina významnosti z 0.05 na 0.00013. Významné výsledky po této korekci jsou označeny ““.*

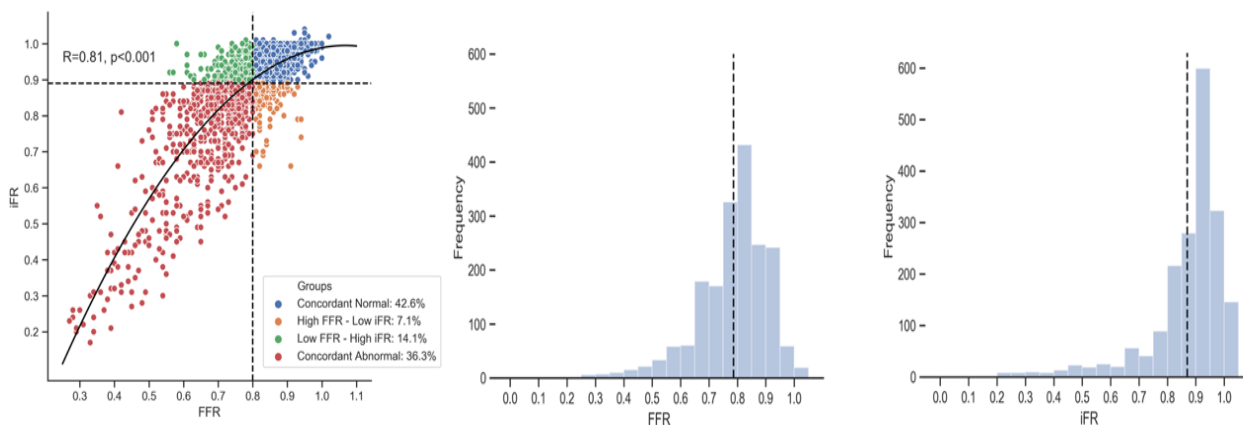
FFR - frakční průtoková rezerva, iFR - instantaneous wave-free ratio, n – negativní, p - pozitivní, ACEi – inhibitory angiotensin-konvertujícího enzymu, ATR – blokátory receptoru pro angiotensin, BMI – body mass index, eGFR – odhad glomerulární filtrace

p 1: FFR/iFR shoda vs. FFRp/iFRn diskrepance

p 2: FFR/iFR shoda vs. FFRn/iFRp diskrepance

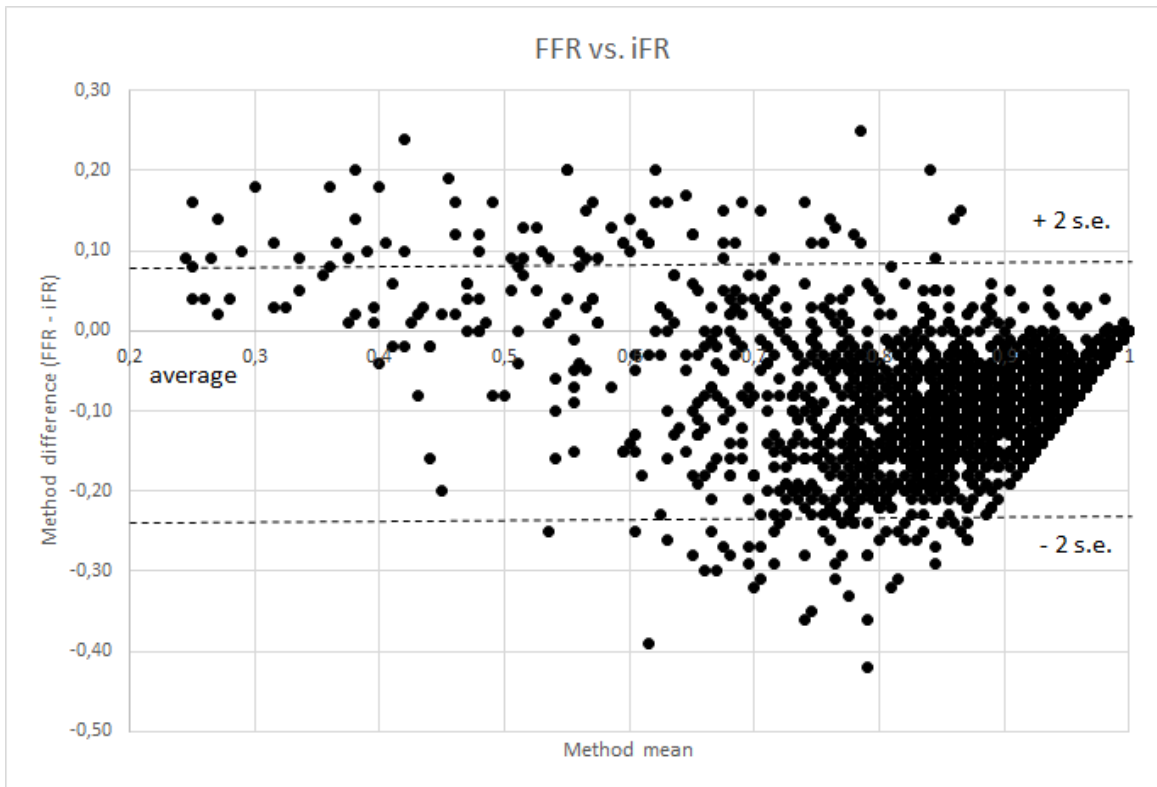
p 3: FFRp/iFRn vs. FFRn/iFRp

Z celkového počtu 1884 párů FFR/iFR vyšetření bylo 393 (20.9%) diskrepantních. Z nich bylo 264 lézí (14%) diskrepantních typu FFRp/iFRn (FFR pozitivní a iFR negativní) a 129 lézí (6.8%) typu FFRn/iFRp (FFR negativní a iFR pozitivní). Obě vyšetření byla pozitivní u 683 lézí (36.3%) a obě byla negativní u 808 lézí (42.9%). Průměrná hodnota FFR byla 0.79 ± 0.12 a iFR 0.87 ± 0.14 . Celková korelace mezi FFR a iFR byla vysoká: $R=0.81$, $p<0.001$. Nicméně v oblasti blízké hraniční hodnotě pro iFR (0.85-0.95) byla korelace s FFR horší: $R=0.45$, $p<0.0001$ a v oblasti blízké hraniční hodnotě pro FFR (0.75-0.85) byla korelace s iFR nejnižší: $R=0.33$, $p<0.0001$. Korelace mezi FFR a iFR jsou uvedeny v grafech na obrázku 8.



Obrázek 8. Korelace mezi hodnotami FFR a iFR and histogramy pro FFR a iFR hodnoty.
FFR - frakční průtoková rezerva, iFR - instantaneous wave-free ratio

Hodnota FFR byla vyšší u žen (0.8 ± 0.12) než u mužů (0.78 ± 0.12), $p<0.0001$. Hodnota iFR se na druhou stranu mezi pohlavími významně nelišila (0.87 ± 0.14 u žen vs. 0.87 ± 0.13 u mužů), $p=0.48$. Pokud budeme srovnávat FFR a iFR dichotomicky (pozitivní vs. negativní), tak FFR bylo častěji pozitivní u mužů než u žen (54.8% vs. 42.4%, $p<0.0001$) a iFR bylo opět bez významného rozdílu mezi muži a ženami (42.6% vs. 43.3, $p=0.74$). Rozdíly v hodnotách mezi FFR a iFR jsou na obrázku 9.



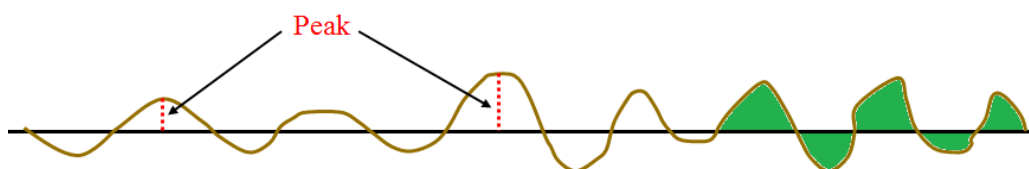
Obrázek 9. Bland-Altmanův graf pro rozdíl mezi FFR a iFR.

FFR - frakční průtoková rezerva, iFR - instantaneous wave-free ratio

5.1 Hypotéza č. 1

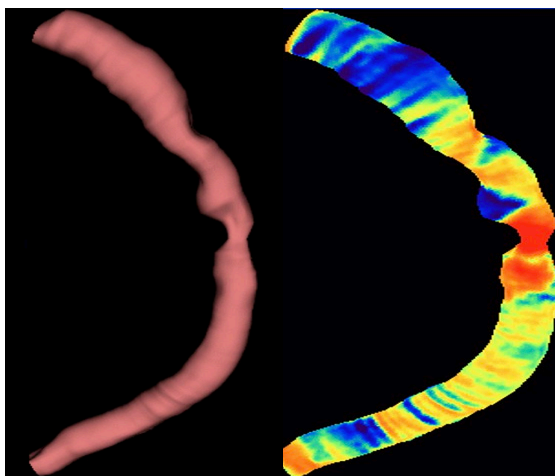
Ruptura plátu, eroze na povrchu plátu a nepravidelnosti v geometrii plátu a lokalizace plátu v blízkosti bifurkace vedou k turbulentnímu proudění, akcelerovanému v průběhu hyperemie, což povede k častějšímu výskytu falešně pozitivního FFR nálezu.

Analýza byla prováděna z obrazu optické koherentní tomografie. Základním parametrem byla nepravidelnost v povrchu plátu definovaná jako vzdálenost intimy od středu tepny hodnocená automatickým softwarem po celém obvodu každého příčného řezu. Příklad analýzy je zobrazen na obrázku č. 10.



Obráek 10. Analýza nepravidelnosti povrchu plátu.

Další sledovaným parametrem byla síla plátu analyzovaná v celém zobrazeném segmentu tepny. Příklad tohoto hodnocení je na obrázku číslo 11.



Obráek 11. 3D rekonstrukce tvaru lumen (vlevo) a korespondující síly plátu (vpravo).

Nicméně, po analýze čtyřiceti pacientů (dvaceti ve skupině se souhlasnými a dvaceti s diskrepantními FFR/iFR nálezy nebyl nalezen žádný významný rozdíl. Pro jen malou šanci nalézt významný rozdíl při této velmi pracné a finančně nákladné analýze jsme se rozhodli v hodnocení této hypotézy dále nepokračovat. Důvodem pro nízké rozdíly ve sledovaných parametrech byla skutečnost, že pláty byly velmi podobné v obou skupinách, což je dáno zřejmě malým zastoupením nemocných s akutním koronárním syndromem, u kterých je mnohem větší četnost nálezu nepravidelných plátů.

Ovšem zkušenosti z tohoto typu analýzy byly využity při tvorbě semi-automatického softwaru pro hodnocení OCT vyšetření, jehož popis byl publikován (*Chen et al., 2018*) a byl rovněž použit v analýze rozsahu kalcifikací v plátech srovnávající nálezy pacientů s diabetem a chronickou renální insuficiencí (*Weber et al., 2020*).

Jediným prediktorem výskytu FFR/iR diskrepancí z pohledu lokalizace plátů, byla jejich přítomnost v pravé koronární tepně (ACD), kde se diskrepance vyskytovaly ve 26.5%, v levé koronární tepně bylo diskrepantní měření zaznamenáno v 19.4%, $p=0.003$. Zajímavým nálezem je, že v ACD se častěji vyskytovali diskrepance typu FFR_p/iFR_n (23.4% vs. 13.1%, $p<0.001$) a naopak diskrepance typu FFR_n/iFR_p se v ACD vyskytovaly méně často, než v levé koronární tepně (5% vs. 8.6%, $p=0.043$). Přičemž v levé koronární tepně šlo častěji o *ramus interventricularis anterior* než *ramus circumflexus* (9.9% vs 5.1%, $p=0.006$). Častější výskyt FFR/iFR diskrepance v ACD byl rovněž potvrzen v multivariační regresní analýze (tabulka 2).

Parametry zahrnuté do analýzy	Koeficient B	SE	Wald	P
Proximální lokalizace	-0.09	0.183	0.23	0.63
Průměr stenózy	0.005	0.008	0.36	0.55
Lokalizace v pravé věnčité tepně	0.75	0.195	14.7	0.0001
Tandemová léze	0.153	0.21	0.51	0.48

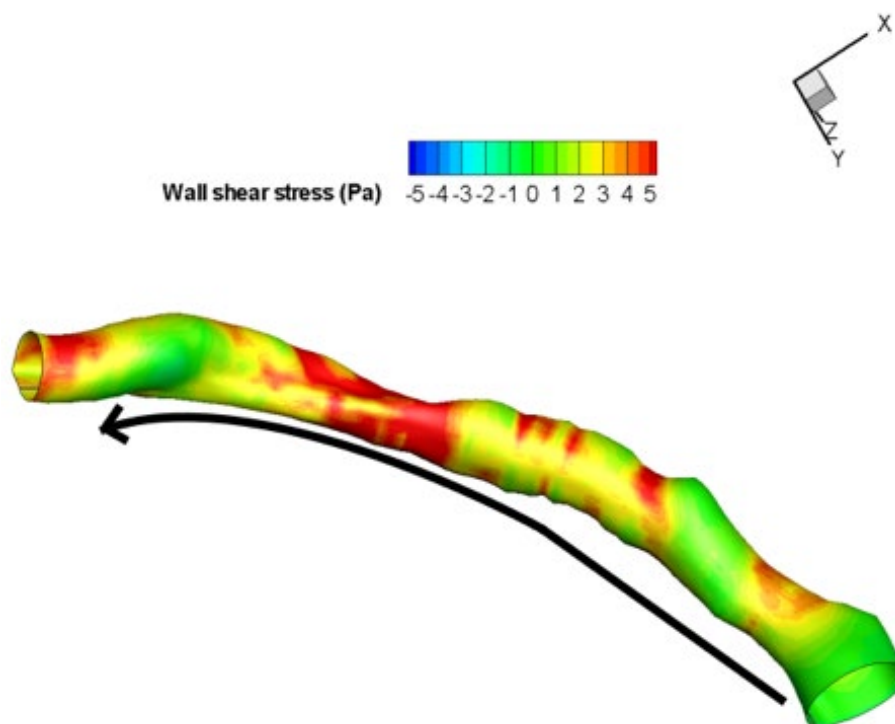
Tabulka 2. Prediktory výskytu FFRp/iFRn diskrepance podle angiografických parametrů. Model pro predikci FFRp/iFRn diskrepance. Nagelkerke R Square 0.029. Hosmer-Lemeshowův test: chi-square 9673, P hodnota 0.289.

FFR - frakční průtoková rezerva, iFR - instantaneous wave-free ratio, n – negativní, p – pozitivní

Dalším potenciálním prediktorem pro výskyt FFR/iFR diskrepancí je velikost smykového tření, tzv. wall shear stress (WSS). Jedná se o sílu, kterou proudící krev tangenciálně vyvíjí na endotelie. Buněčná membrána endotelií je vybavena řadou mechanoreceptorů, které citlivě reagují na charakter proudění krve. Změna fyziologického laminárního průtoku na turbulentní vede ke změně fenotypu endoteliálních buněk z vasodilatačního, anti agregačního a protizánětlivého na vasokonstrikční, pro agregační a prozánětlivý. Tato změna se významně podílí na rozvoji nestabilního aterosklerotického plátu (Wentzel et al., 2012). Ve vztahu k výskytu FFR/iFR může docházet k tomu, že v místech s vysokou hodnotou WSS dochází ke ztrátě energie proudící krve a k výraznějšímu poklesu tlaku za stenózou (tedy nárůstu gradientu), než by odpovídalo samotnému rozměru stenózy. Děj je akcentován při hyperemii a lze tedy hypoteticky očekávat, že místa s vysokou úrovní WSS budou častěji generovat diskrepanci typu FFRp/iFRn.

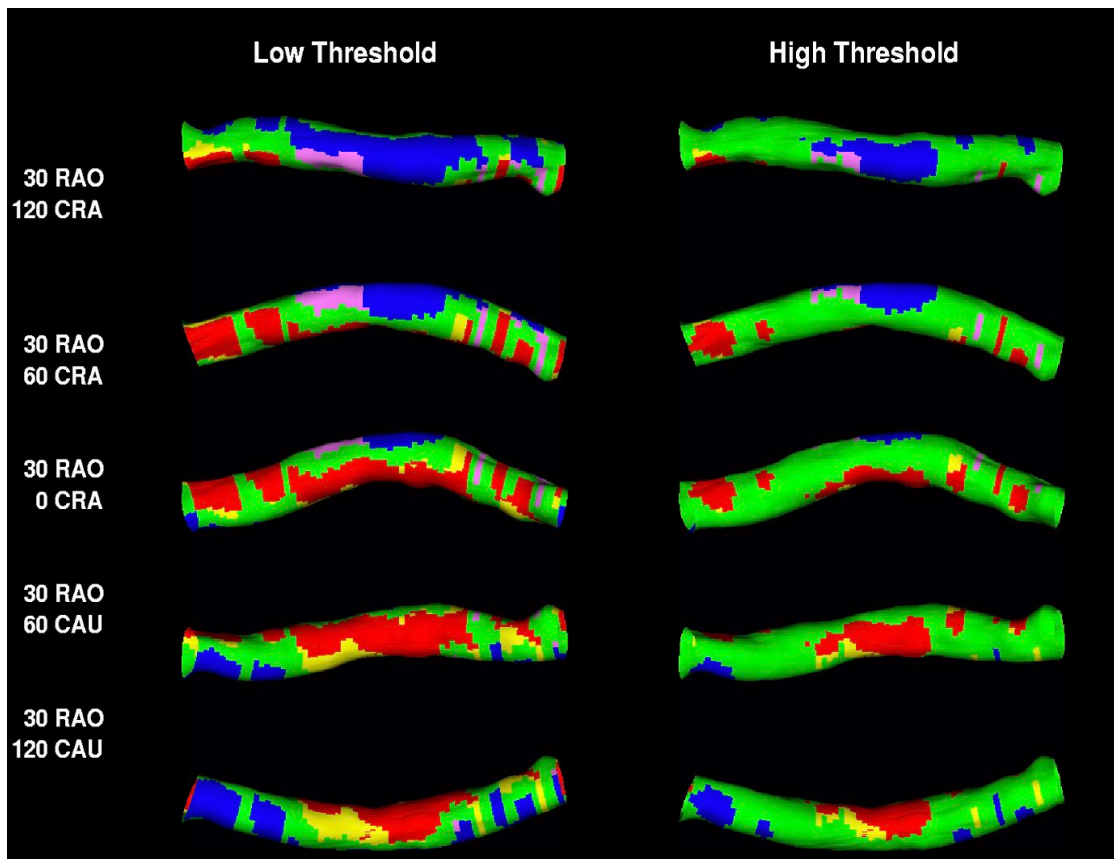
Smykové tření bylo analyzováno pomocí dynamiky proudění kapalin (computational fluid dynamics - CFD), což je technika vysoce náročná na matematický popis charakteru proudění krve v koronární tepně. Jedním z důležitých parametrů pro jeho výpočet je znalost velikosti průtoku v koronární tepně, který jsme v naší studii neměřili a pro účely hodnocení jsme použili v literatuře uváděnou hodnotu 100 ml/min. Jedná se o způsob použitý i v jiných studiích. Dalším parametrem nutným pro výpočet

WSS je viskozita krve. Zde jsme, ve shodě s jinými studiemi, opět použili v literatuře uváděnou hodnotu $4 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$. Příklad hodnocení smykové tření na obrázku č. 12.



Obrázek 12. Příklad analýzy smykového tření v koronární tepně.

Významnou limitací možnosti hodnocení WSS ovšem v naší studii byla absence užití dvou-rovinové angiografie, která umožňuje přesnou prostorovou informaci tvaru tepny. Analýza dvou projekcí nebyla dostatečně přesná k vytvoření správného 3D geometrického tvaru tepny, což vnáší do hodnocení WSS nezanedbatelnou chybu. Rovněž se nepodařilo koregistrací OCT a angiografického vyšetření vyřešit problém orientace tepny ve smyslu správné fúze prostorové orientace angiografického a OCT obrazu ve smyslu 360stupňové orientace v příčném řezu. Získaná WSS hodnota tak nemusí být prostorově správná. Pro tyto limitace jsme nezískali spolehlivou hodnotu WSS, která by byla s dostatečnou přesností použitelná pro výše uvedenou analýzu. Příklad hodnocení zakřivení tepny při 3D analýze je uveden na obrázku 13.



Obrázek 13. Příklad hodnocení zakřivení tepny.

5.2 Hypotéza č. 2

Polymorfismy Glu298Asp v exonu 7 genu eNOS a (GT)n v promotoru genu HO-1 jsou příčinou neadekvátní reakce na adenosin a vedou k výskytu FFR_{neg}/iFR_{poz} diskrepance.

Měření FFR je velmi závislé na funkci endotelu, neboť základním předpokladem je relaxace prekapilárních sfinkterů (jedná se o endoteliálně dependentní relaxaci) a navození stavu maximální hyperemie v koronárním řečišti, umožňující odhadovat velikost koronární perfúze na základě tlakové gradientu (analogie Ohmova zákona). Metoda iFR je na endoteliálních funkcích závislá méně, neboť k měření se používá klidové stavu, kdy jsou na funkce endotelu kladeny menší nároky než na dosažení maximální hyperemie po podání adenosinu při měření FFR.

V prvním kroku jsem se zaměřili na testování, zda se endoteliální dysfunkce vyskytuje častěji u pacientů s nalezenou FFR/iFR diskrepancí než u nemocných s konkordantními výsledky. Pro testování endoteliálních funkcí jsme použili digitální pletysmografii, která registruje změny periferní tlakové křivky na prstech horní končetiny, na které je nejprve inflací tlakové manžety navozená ischemie a po jejím uvolnění nastává hyperemie, jejíž velikost je závislá na funkci endotelu. Při jejím porušení dochází k menšímu rozsahu hyperemií indukované vasodilatace a tím i k menším změnám v amplitudě periferní tlakové křivky. Odpověď na reaktivní hyperemii je vypočtena automaticky, porovnána s končetinou, která nebyla vystavena ischemii, a je vyjádřena jako tzv. reaktivní hyperemický index (RHI).

Oproti očekávání byl RHI index u pacientů s FFR/iFR diskrepancí vyšší, než u pacientů s konkordantními výsledky (1.73 ± 0.79 vs. 1.48 ± 0.50 , $p=0.025$). Tento fakt je dán tím, že převažujícím typem diskrepance byl FFR_p/iFR_n, který je spojen s vysokým zvýšením průtoku v koronárních tepnách po podání adenosinu a svědčí pro velmi dobré endoteliální funkce. Vysoký průtok vede, ale k nárůstu gradientu a tím dochází ke vzniku pozitivního nálezu FFR, kdežto index iFR – měřený za klidových podmínek – není touto reakcí ovlivněn a zůstává negativní. Tyto výsledky jsme publikovali v samostatné impaktované publikaci (*Jeřábek et al., 2019*).

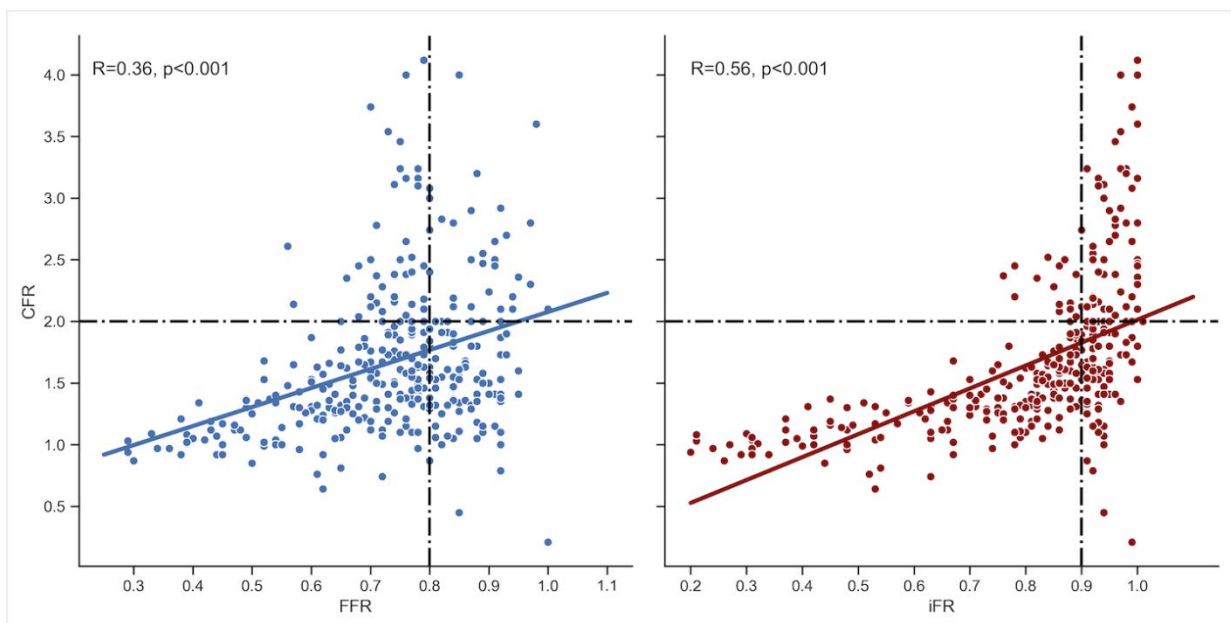
Prostřednictvím měření velikosti koronární průtokové rezervy – CFR (pomocí introkoronárního měření dopplerovskou sondou), která se počítá jako poměr mezi koronárním průtokem po podání adenosinu a klidovým průtokem jsme skutečně zjistili, že u pacientů s FFRp/iFRn typem diskrepance můžeme nalézt vyšší CFR (tabulka 3). V této podstudii jsme měřili hodnotu CFR u 343 lézí.

Type lézí podle FFR a iFR	CFR1	CFR2	p
1/ FFRp/iFRn vs. 2/ FFRp/iFRp	2.24 ± 0.70	1.39 ± 0.36	<0,0001
1/ FFRp/iFRn vs. 2/ FFRn/iFRn	2.24 ± 0.70	1.8 ± 0.64	<0,0001
1/ FFRn/iFRp vs. 2/ FFRp/iFRp	1.41 ± 0.37	1.39 ± 0.36	0,85
1/ FFRn/iFRp vs. 2/ FFRn/iFRn	1.41 ± 0.37	1.8 ± 0.64	0,011

Tabulka č. 3. Hodnoty CFR podle vztahu FFR a iFR

CFR - koronární průtoková rezerva, FFR - frakční průtoková rezerva, iFR - instantaneous wave-free ratio, n - negativní, p - pozitivní

Ve shodě s již dříve publikovanými údaji ve studii JUSTIFY (Petrao *et al.*, 2014) je korelace mezi iFR a CFR ($R=0.56$, $p<0.0001$) vyšší, než mezi CFR a FFR ($R=0.36$, $p<0.0001$), viz. obrázek 14.



Obrázek 14. Korelace mezi CFR/FFR a CFR/iFR.

CFR – koronární průtoková rezerva, FFR - frakční průtoková rezerva, iFR - instantaneous wave-free ratio

Vyšší hodnota CFR u lézí s FFRp/iFRn typem diskrepance může být vysvětlena faktem, že k podstatnému zvýšení koronárního průtoku po podání adenosinu může dojít pouze u lézí, které nejsou hemodynamicky příliš významné. U lézí, které významně snižují koronární průtok dochází ke kompenzatorní vasodilataci, která snížením mikrovaskulární resistance kompenzuje snížení perfúzního tlaku a tím udržuje koronární průtok dlouho konstantní. U významných lézí tedy už nemůže dojít k podstatnému zvýšené koronárního průtoku, neboť možnosti této kompenzační reakce jsou již vyčerpány.

V naší studii byla diskrepance FFRp/iFRn častěji nalezena u mladších pacientů a ti mají obvykle lepší koronární průtokovou rezervu. Dále byla nalezena častěji u mužů, což zřejmě souvisí s tím, že u žen byla hodnota FFR v průměru vyšší než u mužů a hodnota iFR přitom byla stejná, z toho logicky vyplývá vyšší pravděpodobnost diskrepance typu FFRp/iFRn u mužů. Tyto rozdíly byly potvrzeny v multivariační regresní analýze uvedené v tabulce 4.

Parametry zahrnuté do analýzy	Koefficient B	SE	Wald	p
Pohlaví	0.66	0.22	9.4	0.002
Věk	-0.02	0.009	7.1	0.008
Užívání betablokátorů	-0.21	0.17	1.43	0.23
Ejekční frakce LK	0.01	0.008	2.27	0.13

Tabulka 4. Prediktory výskytu FFRp/iFRn diskrepance.

Model pro predikci FFRp/iFRn diskrepance. Nagelkerke R Square 0.037. Hosmer-Lemeshowův test: chi-square 14 923, P hodnota 0.061.

FFR - frakční průtoková rezerva; iFR - instantaneous wave-free ratio, n – negativní, p - pozitivní

Dalším důvodem častějšího výskytu FFRp/iFRn u lézí s vyšším CFR je skutečnost, že tlakový gradient na stenóze je závislý na průtoku. Čím vyšší je průtok danou tepnou, tím vyšší je i gradient. V případě, že daný pacient má dobře zachovanou koronární rezervu a je tedy schopen výrazně zvýšit svůj koronární průtok, může léze, která generuje jen nevýznamný gradient, po zásadním zvýšení průtoku generovat již gradient významný.

Snížení endoteliálních funkcí způsobené kouřením, či chronickou renální insuficiencí (CHRI) vede zřejmě ke zhoršení reakce na adenosin při ještě zachovaných bazálních funkcích, což pak vede k častějšímu výskytu FFRn/iFRp u těchto pacientů, což bylo v naší práci prokázáno při použití multivariační regresní analýze uvedené v tabulce č. 3.

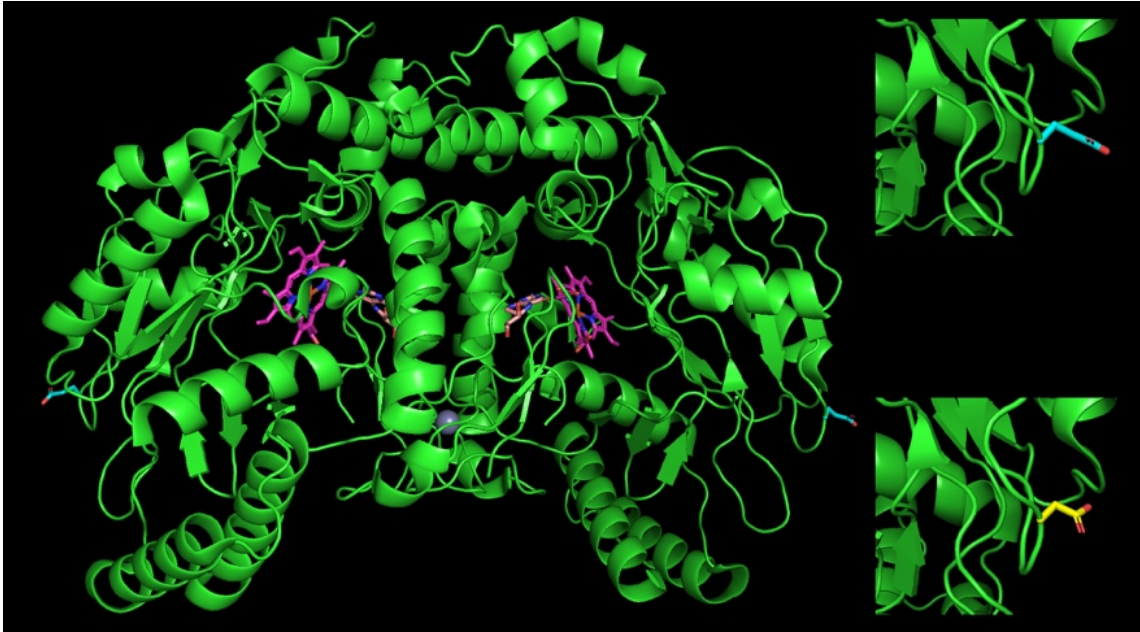
Parametry zahrnuté do analýzy	Koeficient B	SE	Wald	p
Váha	-0.01	0.008	3.16	0.08
Užívání diuretik	0.5	0.29	2.9	0.09
Hemoglobin (g/l)	-0.01	0.007	3.9	0.05
Kouření	0.67	0.29	5.4	0.02
Chronická renální insuficience	0.89	0.37	5.8	0.02

Tabulka č. 3. Prediktory FFRn/iFRp typu diskrepance.

Model pro predikci FFRn/iFRp diskrepance. Nagelkerke R Square 0.098. Hosmer-Lemeshowův test: chi-square 3549, P hodnota 0.895.

FFR - frakční průtoková rezerva, iFR - instantaneous wave-free ratio, n – negativní, p - pozitivní

Právě tato příčiny pro FFR/iFR diskrepance, tedy nižší schopnost odpovídat na podání adenosinu je podstatou hypotézy č. 2. Tedy, že u nositelů rizikových polymorfismů v genech pro endoteliální syntázu oxidu dusnatého (ENOS) a pro hemoxygenázu 1 (HO-1) bude nalezen častěji FFRn/iFRp typ polymorfismu. Struktura polymorfismu v genu pro ENOS je zobrazena na obrázku 15.



Obrázek 15. Trojrozměrný obraz polymorfismu v genu pro ENOS.

Genetické vyšetření bylo provedeno u 224 pacientů z ČR. Data od pěti nemocných nebyla zařazena do hodnocení pro nízkou kvalitu tlakových křivek. Pacienti byli rozděleni proto typu genového polymorfismu na skupiny nemocných s rizikovým (ENOSr) a protektivním typem (ENOSp) polymorfismu v genu pro ENOS a na skupiny s rizikovým (HO-1r) a protektivní polymorfismem genu pro HO-1 (HO-1p). Mezi skupinami s rizikový a protektivním polymorfismem nebyl statistický rozdíl v anamnestických datech až na vyšší výskyt HO-1r u žen a nižší výskyt HO-1r u pacientů s chronickou renální insuficiencí (tabulka č. 4).

Typ genu	ENOS			HO-1		
	rizikový	protektivní	p	rizikový	protektivní	p
Věk	67.0 ± 9.3	67.3 ± 10.4	0.81	67.9 ± 8.8	66.8 ± 10.2	0.48
Ženy	26 (24.4%)	31 (27.0%)	0.33	23 (38.3)	34 (21.4%)	0.01
AKS	6 (5.7%)	10 (9.7%)	0.28	4 (7.0%)	12 (8.0%)	0.82
Stav po IM	37 (33.6%)	29 (27.4%)	0.32	15 (25.4%)	51 (32.5%)	0.31
Diabetes mellitus	48 (43.6%)	43 (40.6%)	0.65	20 (33.9%)	71 (45.2%)	0.13
Arteriální hypertenze	82 (74.6%)	83 (78.3%)	0.52	44 (74.6%)	121 (77.1%)	0.70
Dyslipidemie	73 (66.4%)	64 (60.4%)	0.36	33 (55.9%)	104 (66.2%)	0.16
CHRI	14 (12.7%)	13 (12.4%)	0.94	3 (5.1%)	24 (15.4%)	0.03
Aktivní kouření	44 (40.4%)	35 (33.0%)	0.26	23 (39.0%)	56 (35.9%)	0.68
Beta blokátory	79 (72.5%)	69 (65.7%)	0.28	41 (71.3%)	107 (68.2%)	0.59
BVK	32 (29.6%)	31 (29.5%)	0.97	15 (26.3%)	48 (30.8%)	0.53
ACEi/ATR blokátory	75 (68.8%)	72 (68.6%)	0.97	35 (61.4%)	112 (71.3%)	0.17
Nitráty	7 (6.4%)	7 (6.7%)	0.94	5 (8.8%)	9 (5.7%)	0.44
Diuretika	46 (42.2%)	38 (36.2%)	0.37	22 (38.6%)	62 (39.5%)	0.91
Statiny	46 (76.7%)	41 (70.7%)	0.46	28 (77.8%)	59 (72.0%)	0.5
EF LK	54.8 ± 12.9	54.5 ± 11.3	0.83	53.4 ± 13.0	55.1 ± 11.7	0.35

Tabulka č. 4: Demografická data pacientů s genetickou analýzou.

AKS – akutní koronární syndrom, IM – infarkt myokardu, CHRI – chronická renální insuficience, BVL – blokátory vápníkového kanálu, ACEi – inhibitory angiotensin-konvertujícího enzymu, ATR – blokátory receptoru pro angiotensin, EF LK – ejekční frakce levé komory srdeční, ENOS – endoteliální NO syntáza, HO-1 – hemoxygenáza-1

Rizikový polymorfismus v genu pro ENOS byl nalezen u 112 pacientů (51.1%), u 60 nemocných (27.4%) v genu pro HO-1. Počet pacientů s oběma rizikovými polymorfismy byl 28 (12.8%) a počet pacientů bez jakéhokoliv rizikového polymorfismu pak 75 (34.2%). Z celkového počtu 219 pacientů zařazených do genetické analýzy bylo u 67 (30.6%) nalezena FFR/iFR diskrepance a to u 34 pacientů (15.5%) typu FFRp/iFRn, u 33 nemocných (15.1%) FFRn/iFRp. U pacientů s FFRn/iFRp typem diskrepance více než u pacientů s FFRp/iFRn diskrepancí byli nalezeni – ovšem pouze nesignifikantně – jedinci s rizikovým typem polymorfismu jak pro ENOS: 19 (57.6%) vs. 18 pacientů (52.9%), $p=0.7$, tak pro HO-1: 12 (36.4%) vs. 9 nemocných (26.5%), $p=0.38$. Již významný rozdíl

jsme pro pacienty s FFR_n/iFR_p diskrepancí ve srovnání s FFR_p/iFR_n zaznamenali pro vyšší výskyt rizikového polymorfismu v obou genech: 8 pacientů (24.2%) vs. 2 pacienti (5.9%), $p=0.03$.

Výskyt rizikových polymorfismů u pacientů s FFR/iFR diskrepancí je uveden v tabulce 5.

	FFR/iFR discrepance	FFR/iFR shoda	p
ENOS _r	37 (55.2%)	75 (49.3%)	0.42
HO-1 _r	21 (31.3%)	39 (25.6%)	0.39
ENOS _r and HO-1 _r	10 (14.9 %)	18 (11.8%)	0.53
ENOS _p and HO-1 _p	19 (28.4%)	56 (36.8%)	0.22

Tabulka 5. Výskyt rizikových polymorfismů vzhledem k FFR/iFR diskrepanci

ENOS: endoteliální NO syntáza; HO-1: hem oxygenáza-1; FFR: frakční průtoková rezerva; iFR: instantaneous wave-free ratio; r: rizikový typ polymorfismu; p: protektivní typ polymorfismu

Jak hodnoty pro FFR tak pro iFR se nelišily pro nemocného s ENOS_r a HO-1_r ve srovnání s ENOS_p a HO-1_p. Pro FFR to byly hodnoty (ENOS_r vs. ENOS_p) 0.81 ± 0.09 vs. 0.82 ± 0.09 , $p=0.23$ a pro iFR 0.89 ± 0.1 vs. 0.89 ± 0.09 , $p=0.83$, FFR hodnoty pro HO-1_r vs- HO-1_p 0.82 ± 0.09 vs. 0.81 ± 0.09 , $p=0.56$ a pro iFR 0.89 ± 0.08 vs. 0.89 ± 0.1 , $p=0.98$. Nicméně zaznamenali jsme trend pro vyšší FFR hodnoty u pacientů s rizikovým polymorfismem v obou genech ve srovnání s pacienty s jedním nebo žádným rizikovým polymorfismem (0.84 ± 0.06 vs. 0.81 ± 0.09 , $p=0.066$). Na rozdíl od FFR se hodnoty iFR při tomto typu srovnání nelišily (0.90 ± 0.06 vs. 0.89 ± 0.1 , $p=0.58$).

Dále jsme analyzovali numerický rozdíl mezi iFR a FFR u pacientů s FFR/iFR diskrepancí. Důvodem této analýzy byl předpoklad, že pacienti s rizikovým typem polymorfismu nebudou schopni dosahovat vysoké vasodilatace po podání adenosinu

a z tohoto důvodu pak budou obtížněji dosahovat nižších hodnot FFR. Rozdíl mezi iFR a FFR tak u nich bude nižší. Při hodnocení typu polymorfismu v genu pro ENOS byl tento rozdíl nesignifikantně vyšší pro pacienty s ENOSr ve srovnání s ENOSp (0.085 ± 0.07 vs. 0.072 ± 0.07 , $p=0.19$) a prakticky bez rozdílu pro pacienty s HO-1r ve srovnání s HO-1p (0.074 ± 0.07 vs. 0.08 ± 0.07 , $p=0.51$). Zaznamenali jsme pouze trend pro nižší FFR/FFR rozdíl u pacientů s oběma typy rizikových polymorfismů ve srovnání s pacienty s jedním nebo žádným rizikovým polymorfismem (0.059 ± 0.05 vs. 0.082 ± 0.07 , $p=0.09$).

6. Diskuze

Analýzou dat z 1884 FFR/iFR měření u 1564 pacientů jsme shledali 79.1% shodu v diagnostické klasifikaci obou metod, což je výsledek dobře korelující se závěry obdobných studií (*Jeremias et al., 2014, Rosa et al., 2018*).

6.1 Diskrepance typu FFRp/iFRn

Hodnota CFR u FFRp/iFRn lézí byla významně vyšší ve srovnání s FFRp/iFRp i FFRn/iFRn lézemi. CFR blíže korelovalo s iFR než s FFR. Podobný výsledek byl zjištěn v práci Cooka (*Cook et al., 2017*) kde byla analyzována podobná skupina pacientů (301 pacientů, průměrný věk 60 let, 4% pacientů s akutním koronárním syndromem). Autoři prokázali vyšší hodnotu CFR u FFRp/iFRn lézí v porovnání s CFR u FFR/iFRp lézí. Na rozdíl od našich výsledků, zjistili shodnou hodnotu CFR u FFRp/iFRn a FFRn/iFRn lézí. Tento nesoulad může být způsoben nižší hodnotou CFR u FFRn/iFRn lézí v našem souboru ve srovnání s prací Cooka (1.8 vs. 2.41).

Nižší CFR u pacientů v naší studii může být vysvětleno vyšším věkem (68 vs. 60 let), vyšším výskytem diabetu (38.9% vs. 22%) a vyšším zastoupením pacientů s akutním koronárním syndromem (13.3% vs. 4%) než v souboru studie Cooka et al. Když jsme porovnali pacienty s negativním výsledkem FFR i iFR s pacienty s FFRp/iFRn typem diskrepance, zjistili jsme nižší věk (70.6 ± 9.7 vs. 66.9 ± 9.6 , $P < 0.001$), vyšší zastoupení akutního koronárního syndromu (127, 19.8% vs. 5, 1.9%, $P < 0.001$) a trend k vyšší incidenci diabetu (254, 39.6% vs. 86, 33.2%, $P = 0.07$) v diskrepantní skupině. Všechny tyto faktory zvyšují mikrovaskulární rezistenci a ve výsledku snižují CFR.

Vyšší koronární průtok u FFRp/iFRn diskrepance byl rovněž zjištěn ve studii JUSTIFY-CFR (*Petraco et al., 2014*), kde Petraco et al. demonstrovali na analýze dat z 216 koronárních lézí bližší korelaci iFR a CFR oproti FFR a CFR. Hwang et al. (*Hwang et al., 2019*) zjistili vyšší senzitivitu a specifitu iFR proti FFR ve srovnání se „zlatým standardem“ ^{13}N -amonium PET CFR.

Vyšší hodnoty CFR u FFRp/iFRn lézí mohou být vysvětleny stavem, kdy je koronární průtok po podání adenosinu významně zvýšen pouze o stenóz, které nelimitují

průtok (*Uren et al., 1994, Sen et al., 2013*). CFR bere v potaz významnost epikardiální stenózy i funkci mikrovaskulárního řečiště. Dobře zachovalé mikrovaskulární funkce jsou zásadní pro adekvátní odpověď na vasodilatační léky. Tlakový gradient na stenóze je závislý na velikosti koronárního průtoku a i nevýznamný tlakový gradient se může stát významným při velmi vysokém průtoku. Čím vyššího koronárního průtoku je dosaženo, tím větší tlakový gradient na stenóze je zjištěn.

Věk, mužské pohlaví a lokalizace léze v pravé věnčité tepně byly spojeny s FFRp/iFRn diskrepancí u modelů predikující tento typ diskrepance. Vyšší výskyt FFR/iFR diskrepance v pravé koronární tepně byl zjištěn i v jiných studiích (*Gore et al., 2018, Svanerud et al., 2018*). Vysvětlením může být odlišný mechanismus koronárního průtoku v pravé věnčité tepně. Maximum koronárního průtoku zde nastává v pozdní fázi systoly a časné diastole, zatímco iFR je měřeno v mid-diastole. Toto zjištění zatím nebylo blíže vysvětleno. Kobayashi et al. publikovali studii ukazující vyšší výskyt FFR/iFR diskrepancí v kmeni levé věnčité tepny a v proximální části ramus interventricularis anterior (*Kobayashi et al., 2016*).

Nižší věk – v porovnání se skupinou se souhlasnými měřeními – u pacientů s FFRp/iFRn typem diskrepance byl rovněž zjištěn v studiích Leehe (*Lee et al., 2017*) a Derimaye (*Derimay et al., 2019*). Toto je pravděpodobně spojeno s vyšším CFR u mladších jedinců. Derimay (*Derimay et al., 2019*) též prokázal častější výskyt FFRp/iFRn diskrepance u proximálních lézí, což jsme my nepotvrdili.

Diskrepance FFRp/iFRn byla častěji zjištěna u mužů. Vyšší hodnoty FFR u žen, spolu s podobnými hodnotami iFR a CFR u obou pohlaví, byly shledány ve studii Yonetsu et al. (*Yonetsu et al., 2020*). Autoři zjistili, že pozitivní FFR s negativním výsledkem měření diastolického gradientu (dPR) je méně časté u žen než u mužů (dPR – diastolic pressure gradient – je ekvivalentem iFR) (*Van't et al., 2017*). Naše zjištění častějšího výskytu FFRp/iFRn typu diskrepance u mužů též koreluje s výsledkem studie provedené skupinou Leehe (*Lee et al., 2017*). Vyšší hodnoty FFR u žen a podobné hodnoty iFR u žen i u mužů byly rovněž ukázány i v dalších studiích (*Kim CH et al., 2019, Kim HS et al., 2012, Hirata et al., 2001*).

6.2 Diskrepance typu FFRn/iFRp

FFRn/iFRp léze vykazovaly nižší hodnoty CFR než FFRn/iFRn léze a stejné hodnoty CFR jako léze, které měly konkordantní měření FFR a iFR. K podobnému zjištění dospěli i Cook et al. (Cook et al., 2017).

Zvýšená mikrovaskulární rezistence, která může identifikována nižší hodnotou CFR, vedla k relativně vyššímu FFR než iFR pro nižší odpověď na podaný adenosin. Tato skutečnost vedla k častějšímu nálezu FFRn/iFRp diskrepance u těchto pacientů (Ge et al., 2020).

Na rozdíl od FFRp/iFRn typu diskrepance, FFRn/iFRp diskrepance byla méně častá v pravé koronární tepně (18 lézí, 5.0%) než v levé koronární tepně (115 lézí, 8.6%), $P=0.043$, a současně byl tento typ diskrepance častěji nalezen v povodí ramus interventricularis anterior (RIA) ve srovnání s ostatními tepnami (97 lézí, 9.9% vs. 32 lézí, 5.1%, $P=0.0006$). Dominance RIA u FFRn/iFRp typu diskrepance byla zjištěna i ve studii provedené Derimayem (Derimay et al., 2019).

Multivariační regresní analýza potvrdila asociaci mezi hladinou hemoglobinu, kouřením a přítomností chronického onemocnění ledvin u FFRn/iFRp typu diskrepance.

Možným vysvětlením FFRn/iFRp diskrepance u pacientů s nižší hladinou hemoglobinu je zvýšený krevní průtok, který bývá zaznamenán u nemocných s chronickou anémií. Tento zvýšený průtok způsobuje větší pokles tlaku na stenóze (zejména v diastole) a vede k více pozitivnímu iFR (Muroya et al., 2020). Ve studii provedené Östlund-Papadogeorgosem (Östlund-Papadogeorgos et al., 2020), byla u pacientů s nižší hladinou hemoglobinu shledána nižší intramyokardiální rezistence. Ve studiích publikovaných Katoem (Kato et al., 2021) a Muroyaou (Muroya et al., 2020) byl u těchto pacientů popsán častější výskyt FFRn/iFRp diskrepance.

Zjistili jsme vyšší výskyt FFRn/iFRp diskrepance u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. Tato skupina pacientů se vyznačuje zhoršenou endoteliální funkcí, vyšším indexem mikrocirkulární rezistence a nižšími hodnotami FFR ve srovnání s pacienty s normálními renálními funkcemi (Tebaldi et al., 2016, Sumida et al., 2017). Horší korelace mezi FFR a myokardiální perfúzní scintigrafií byla zjištěna u pacientů s onemocněním ledvin (Hirose et al., 2018). Bazální koronární průtok pravděpodobně není ovlivněn do takové míry jako hyperemický průtok, což může být jednou z příčin

výskytu FFRn/iFRp diskrepance u pacientů s renální insuficiencí. Toto bylo zjištěno i v dalších studiích (*Östlund-Papadogeorgos et al., 2020, Arashi et al., 2019*).

Nikotinismus je známým faktorem, který významně přispívá k endoteliální dysfunkci zejména přes sníženou dostupnost oxidu dusného (NO) (*Powel, Higman 1994*). Není tedy překvapivým zjištěním, že je nikotinismus asociován s FFRn/iFRp diskrepancí, která je primárně způsobena endoteliální dysfunkcí. Ve studiích provedených Leem (*Lee et al., 2017*) a Derimayem (*Derimay et al., 2019*) se nicméně zastoupení kuřáků ve skupinách s FFR/iFR shodou a FFR/iFR diskrepancí významně nelišilo. Vztah mezi kouřením a FFRn/iFRp tedy zůstává neobjasněn.

Četnost FFR/iFR diskrepance se nelišila u pacientů s rizikovým nebo protektivním typem polymorfismu ENOS/HO-1 genu. Zjistili jsme ale častější výskyt FFRn/iFRp typu diskrepance ve srovnání s FFRp/iFRn typem u pacientů s rizikovým typem polymorfismu v obou genech. Rozdíl byl způsoben vyššími hodnotami FFR a následným nižším rozdílem iFR/FFR u pacientů s ENOS_r a HO-1_r ve srovnání s pacienty s protektivním polymorfismem jednoho či obou genů. Nižší rozdíl iFR/FFR u pacientů s rizikovým typem polymorfismu byl pravděpodobně způsoben zhoršenými endoteliálními funkcemi v této skupině pacientů.

U polymorfismu ENOS G894T byla prokázána asociace se sníženou produkcí oxidu dusného v endoteliálních buňkách za bazálních podmínek a při reakci na smykové tření (*Joshi et al 2007*). Naší hypotézou je, že endoteliální dysfunkce způsobená poruchou funkce ENOS vede ke snížené odpovědi na podání adenosinu.

Adenosinem indukovaná vazodilatace je, alespoň částečně, závislá na NO (*Jones et al., 1995*). Adenosin podporuje uvolnění NO z endoteliálních buněk přes 2A adenosinový receptor (*Li et al., 1998*). Naber et al. (*Naber et al., 2001*) zjistili dopplerovským měřením nesignifikantně nižší bazální a hyperemický průtok u pacientů s rizikovým polymorfismem genu ENOS. Nižší hyperemický průtok u pacientů s nižší aktivitou genu ENOS může snižovat endoteliální odpověď na podaný adenosin. HO-1 podporuje aktivaci ENOS a zabraňuje jeho rozpojování, čímž se podílí na zachování adekvátní produkce NO a tím i endoteliální funkce (*Wu et al., 2019, Daiber et al., 2019*). Toto je možným vysvětlením častějšího výskytu FFRn/iFRp diskrepance u pacientů s oběma polymorfismy.

Než bude možné učinit klinické závěry, musí být tato zjištění potvrzena dalšími studii. V případě potvrzení je možné otevřít otázku preference iFR před FFR u pacientů s rizikovým typem polymorfismu ENOS genu. Více než implikace pro klinickou praxi ale tato zjištění ukazují komplexitu koronární cirkulace a podílejících se faktorů.

6.3 Srovnání diskrepancí typu FFRp/iFRn a FFRn/iFRp

Při srovnání pacientů s diskrepancí typu FFRp/iFRn s pacienty s FFRn/iFRp diskrepancí jsme zjistili rozdíly podobné těm, které byly prokázány u srovnání skupiny s FFRn/iFRp diskrepancí se souhlasnou skupinou. Další rozdíly byly: častější výskyt diabetu a vyšší počet pacientů užívajících betablokátor. Toto nicméně nebylo potvrzeno v multivariační regresní analýze.

Podle očekávání, diabetes mellitus – známý faktor spojený s mikrovaskulární dysfunkcí – byl častější u pacientů s FFRn/iFRn typem diskrepance. Derimay (*Derimay et al., 2019*) et al. i Arashi (*Arashi et al., 2019*) dospěli ke stejnému zjištění.

Častější užívání betablokátorů ve skupině s FFRn/iFRp diskrepancí v porovnání s pacienty s FFRp/iFRn diskrepancí je zajímavým nálezem. Ebihara (*Ebihara et al., 2020*) ukázali ve své práci negativní korelaci mezi kardiovaskulárním produktem (vypočteným jako součin systolického krevního tlaku a srdeční frekvence) a iFR, ale nikoliv s FFR. Znamená to, že pacienti s vysokým kardiovaskulárním produktem mají relativně nižší iFR ve srovnání s hodnotou FFR. Toto může být nepřímým ukazatelem diskrepance typu FFRn/iFRp. Vyšší frekvence u pacientů s FFRn/iFRp diskrepancí než u pacientů s diskrepancí FFRp/iFRn byla potvrzena ve studii Arashiho (*Arashi et al., 2019*). Pacienti zpravidla neužívají betablokátor v den výkonu. Při vysazení betablokátoru může dojít k mírnému rebound fenoménu, a tak tito pacienti mohou mít vyšší relativní krevní tlak a srdeční frekvenci ve srovnání s pacienty, kteří betablokátor chronicky neužívají. Bohužel, v naší studii jsme systolický krevní tlak a srdeční frekvenci neanalyzovali, takže tuto hypotézu nemůžeme potvrdit.

7. Závěr

7.1 Závěr

Hlavním zjištěním studie je 21% neshoda mezi FFR a iFR měřením. Příčinou těchto neshod je zachovalá endoteliální funkce, která umožňuje významné zvýšení průtoku přes koronární stenózu ve skupině s FFRp/iFRn typem diskrepance a nedostatečná vazodilatace po podání hyperemických farmak ve skupině s FFRn/iFRp typem diskrepance. Diskrepance typu FFRp/iFRn je nacházena u lézí lokalizovaných v pravé koronární tepně, v koronárním teritoriu se zachovalou koronární průtokovou rezervou (CFR), u mladších pacientů a častěji u mužů než u žen.

Diskrepance typu FFRn/iFRp je pravděpodobně způsobena neadekvátní odpovědí endotelu na vazodilatační farmaka a je nacházena u nositelů rizikového typu polymorfismu genů ENOS a HO-1, u kuřáků a u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. Tyto výsledky by měly být brány v potaz při hodnocení koronární fyziologie, zejména v případě nesouhlasných měření FFR a iFR.

7.1 Limitace

Hlavní limitací studie je nízký počet pacientů zahrnutých do genetické subanalýzy. Vztah mezi FFRn/iFRp typem diskrepance a genetickým polymorfismem genů ENOS a HO-1 je zjištěním, které musí být potvrzeno ve větší studii. Relativně nízký počet měření koronárního průtoku (v porovnání s celkovým počtem měření FFR/iFR) je srovnatelný s obdobnými studiemi. Hodnota CFR byla překvapivě nízká ve skupině s FFRn/iFRn typem diskrepance. Tato skupina pacientů vykazuje poměrně často mikrovaskulární dysfunkci a toto zjištění pravděpodobně reflektuje klinickou realitu pacientů s koronárním postižením.

Limitací je možný vliv tlakového posunu („driftu“). Přestože testování na posun tlakových křivek bylo doporučeno všem operátorům (opakování měření bylo požadováno v případě, že posun dosáhl hodnoty 0.05 a více), tento krok nebyl ve studii hlášen.

Ke zjištění vlivů na FFR/iFR diskrepanci byli v jedné kohortě analyzováni pacienti jak s chronickým koronárním postižením, tak s akutním koronárním syndromem. Tento přístup byl nicméně zvolen i u dalších studií porovnávajících FFR/iFR. (*Davies et al., 2017, Götberg et al., 2017, Lee et al., 2017, Derimay et al., 2019*). Další limitací je přítomnost 2 typů FFR/iFR diskrepance u 2 odlišných koronárních tepen. Takovéto léze byly analyzovány odděleně „podle léze“ („per-lesion“). Pro analýzu podle pacienta („per-patient“) jsme v takovém případě zvolili významnější diskrepanci, tato situace ale nastala pouze u 3 pacientů v celé kohortě.

8. Souhrn

8.1 Souhrn

V naší studii jsme zaměřili na určení prediktorů diskrepancí u měření frakční průtokové rezervy (FFR) a klidového indexu „instantaneous wave-free ratio“ (iFR).

FFR/iFR byly analyzovány systémem Verrata, koronární průtoková rezerva byla analyzována systémem Combomap (obojí Philip-Volcano). Byly identifikovány rizikové polymorfismy pro endoteliální NO-syntázu (ENOS) a hem-oxygenázu-1 (HO-1) Celkově bylo provedeno 1884 kombinovaných FFR/iFR měření u 1564 pacientů. Diskrepance FFR/iFR byla zjištěna u 393 měření (20.9%): typ FFRp (pozitivní) / iFRn (negativní) – 264 lézí, 14.0%, typ FFRn/iFRp – 129 lézí, 6.8%. Koronární průtoková rezerva byla analyzována u 343 lézí a lépe korelovala s iFR ($R=0.56$, $P<0.0001$) než s FFR ($R=0.36$, $P<0.0001$). Hodnoty koronární průtokové rezervy u FFRp/iFRn lézí (2.24 ± 0.7) byla významně vyšší v porovnání s lézemi typu FFRp/iFRp (1.39 ± 0.36) i FFRn/iFRn (1.8 ± 0.64 , $P<0.0001$). Multivariační regresní analýza potvrdila (1) pohlaví, věk a lokalizaci léze v pravé věnčité tepně jako prediktory diskrepance typu FFRp/iFRn; a (2) hladinu hemoglobinu, nikotinismus a renální insuficienci jako prediktory diskrepance typu FFRn/iFRp. Diskrepance FFRn/iFRp byla významně četnější u pacientů s oběma typy rizikových polymorfismů (ENOS_r, HO-1_r): 8 pacientů (24.2%) v porovnání s FFRp/iFRn typem diskrepance: 2 pacienti (5.9%), $P=0.03$.

Prediktory pro FFRp/iFRn typ diskrepance byly pohlaví, věk a lokalizace v pravé věnčité tepně. Prediktory pro FFRp/iFRp byly hladina hemoglobinu, nikotinismus a renální insuficience. Rizikový typ polymorfismu endoteliální NO-syntázy a hem-oxygenázy-1 byl častěji nalezen u pacientů s FFRn/iFRp typem diskrepance.

8.2 Summary

In our trial we searched for predictors of fractional flow reserve/instantaneous wave-free ratio (FFR/iFR) discrepancy.

FFR/iFR were analyzed using a Verrata wire, and coronary flow reserve was analyzed using a Combomap machine (both Philips-Volcano). The risk polymorphisms for endothelial nitric oxide synthase and for heme oxygenase-1 were analyzed. In total, 1884 FFR/iFR measurements from 1564 patients were included. The FFR/iFR discrepancy occurred in 393 measurements (20.9%): FFRp (positive)/iFRn (negative) type (264 lesions, 14.0%) and FFRn/iFRp (129 lesions, 6.8%) type. Coronary flow reserve was measured in 343 lesions, correlating better with iFR ($R=0.56$, $P<0.0001$) than FFR ($R=0.36$, $P<0.0001$). The coronary flow reserve value in FFRp/iFRn lesions (2.24 ± 0.7) was significantly higher compared with both FFRp/iFRp (1.39 ± 0.36), and FFRn/iFRn lesions (1.8 ± 0.64 , $P<0.0001$). Multivariable logistic regression analysis confirmed (1) sex, age, and lesion location in the right coronary artery as predictors for FFRp/iFRn discrepancy; and (2) hemoglobin level, smoking, and renal insufficiency as predictors for FFRn/iFRp discrepancy. The FFRn/iFRp type of discrepancy was significantly more frequent in patients with both risk types of polymorphisms (endothelial nitric oxide synthase+heme oxygenase-1r): 8 patients (24.2%) compared with FFRp/iFRn type of discrepancy: 2 patients (5.9%), $P=0.03$.

Predictors for FFRp/iFRn discrepancy were sex, age, and location in the right coronary artery. Predictors for FFRn/iFRp were hemoglobin level, smoking, and renal insufficiency. The risk type of polymorphism in endothelial nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 genes was more frequently found in patients with FFRn/iFRp type of discrepancy.

Vlastní publikace (chronologicky)

V impaktovaných časopisech

Kovarnik T, **Jerabek S**, Chen Z, Wahle A, Zhang L, Dostalova G, et al. Non-invasive endothelial function assessment using digital reactive hyperaemia correlates with three-dimensional intravascular ultrasound and virtual histology-derived plaque volume and plaque phenotype. *Kardiol Pol.* 2016;74(12):1485-1491. (IF 3.108)

Jerabek S, Kovarnik T. Technical aspects and limitations of fractional flow reserve measurement. *Acta Cardiol.* 2019 Feb;74(1):9-16. (IF 1.718)

Jerabek S, Zemanek D, Pudil J, Bayerova K, Kral A, Kopriva K, et al. Endothelial dysfunction assessed by digital tonometry and discrepancy between fraction flow reserve and instantaneous wave free ratio. *Acta Cardiol.* 2020 Aug;75(4):323-328. (IF 1.718)

Kovarnik T, Hitoshi M, Kral A, **Jerabek S**, Zemanek D, Kawase Y, et al. Fractional Flow Reserve Versus Instantaneous Wave-Free Ratio in Assessment of Lesion Hemodynamic Significance and Explanation of their Discrepancies. International, Multicenter and Prospective Trial: The FiGARO Study. *J Am Heart Assoc.* 2022 May 3;11(9):e021490. (IF 5.501)

V recenzovaných časopisech

Kovárník T, Horák J, **Jeřábek Š**. Stabilní formy ischemické choroby srdeční. Patofyziologie, diagnostika a léčba. *Medicína po promoci*, 2015, vol. 16, s. 205-213. ISSN 1212-9445.

Jeřábek Š, Kovárník T. Functional assessment of coronary stenosis by fractional flow reserve. *Cas Lek Cesk.* 2016;155(4):17-21.

Kovárník T, Kopřiva K, **Jeřábek Š**. Suboptimální apozice stentu-korigovat, nebo ponechat? *Interv Akut Kardiol*, 2016; 15(3): 135-139.

Rucklova Z, Marek J, Palecek T, **Jerabek S**, Grus T, Linhart A, Korinek J. A complicated diagnosis of constrictive pericarditis in a patient with atrial fibrillation -The importance of temporary pacing inducing regular heart rhythm during invasive hemodynamic study. *Cor et Vasa*, 2017, vol. 59(5), s. 460-464.

Kovarnik T, Navratil M, Belohlavek J, Mlcek M, Chval M, Chen Z, **Jerabek S**, Kittnar O, Linhart A. Validation of new marker of fluid responsiveness based on Doppler assessment of blood flow velocity in superior vena cava in mechanically ventilated pigs. *Intensive Care Med Exp.* 2018; 24;6(1):36.

Kovárník T, **Jeřábek Š**, Kala P. Funkčně vedená revaskularizace myokardu. *Intervenční a akutní kardiologie*, 2020, vol. 19, s. 39-46.

Kovárník T, **Jeřábek Š**, Kopřiva K, Pudil J. Příčiny a možné dopady recentních negativních studií s frakční průtokovou rezervou. *Interv Akut Kardiol* 2022; 21(2): 101-107.

Abstrakta

Kovarnik T, Matsuo H, **Jerabek S**, et al. Coronary flow reserve can explain some of FFR and iFR discrepancies. Results from international, multicenter and prospective trial, *European Heart Journal*, Volume 41, Issue Supplement_2, 2020, ehaa946.2489

Kovarnik T, **Jerabek S**, Chen Z et al. TCT-604 Non-invasive endothelial function assessment using digital reactive hyperemia correlates with 3D intravascular

ultrasound and virtual histology derived plaque volume and plaque phenotype. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016. 68. B245-B246.

Wahle A., Chen Z., Wilk M., Downe R., Masiarova T., Skalicka H., Kral A., **Jerabek S.**, Sonka M., Lopez J, Kovarnik T. Vessel-based Binary classification of coronary remodeling as positive or non-positive does not fully reflect vessel behavior: a longitudinal 3-D IVUS/angiography study with three remodeling groups. *J Am Coll Cardiol*. 2014, 63 (12_Supplement) A1603.

Kovarnik T, Chen Z, Wahle A, Skalicka H, Kral A, **Jerabek S**, Sonka M, Horak J, Linhart A. Pathologic Intimal Thickening Plaque Phenotype -Not As Innocent As We Thought. Study With 3D Intravascular Ultrasound And Virtual Histology. TCT-353. *J Am Coll Cardiol* 64(11), 2014. B103.

Spoluautor monografií

Linhart A a kol. Vyšetřovací postupy u kardiovaskulárních onemocnění. Praha: Maxdorf, 2021, 690 stran. ISBN 978-80-7345-640-5.

Kapitola: Invazivní vyšetřovací metody koronárních tepen (str. 415-433)

Seznam použité literatury

Aarnoudse W, van den Berg P, van de Vosse F, et al. Myocardial resistance assessed by guidewire-based pressure-temperature measurement: in vitro validation. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2004;62(1):56-63.

Al Moudi M, Sun Z, Lenzo N. Diagnostic value of SPECT, PET and PET/CT in the diagnosis of coronary artery disease: A systematic review. *Biomed Imaging Interv J.* 2011;7(2):e9.

Arashi H, Satomi N, Ishida I, et al. Hemodynamic and Lesion Characteristics Associated with Discordance between the Instantaneous Wave-Free Ratio and Fractional Flow Reserve. *J Interv Cardiol.* 2019;2019:3765282.

Balligand JL, Feron O, Dessy C. eNOS activation by physical forces: from short-term regulation of contraction to chronic remodeling of cardiovascular tissues. *Physiol Rev.* 2009;89(2):481-534.

Bech GJ, De Bruyne B, Pijls NH, et al. Fractional flow reserve to determine the appropriateness of angioplasty in moderate coronary stenosis: a randomized trial. *Circulation.* 2001;103(24):2928-2934.

Camici PG, Crea F. Coronary microvascular dysfunction. *N Engl J Med.* 2007;356(8):830-840.

Candrea A, Gallinoro E, van 't Veer M, et al. Basics of Coronary Thermodilution. *JACC Cardiovasc Interv.* 2021;14(6):595-605. doi:10.1016/j.jcin.2020.12.037

Cook CM, Jeremias A, Petraco R, et al. Fractional Flow Reserve/Instantaneous Wave-Free Ratio Discordance in Angiographically Intermediate Coronary Stenoses: An Analysis Using Doppler-Derived Coronary Flow Measurements. *JACC Cardiovasc Interv.* 2017;10(24):2514-2524.

Daiber A, Xia N, Steven S, et al. New Therapeutic Implications of Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Function/Dysfunction in Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci*. 2019;20(1):187.

Davies, J. E. *et al.* Use of the Instantaneous Wave-free Ratio or Fractional Flow Reserve in PCI. *N. Engl. J. Med.* 376, 1824–1834 (2017).

Davies JE, Sen S, Dehbi HM, et al. Use of the Instantaneous Wave-free Ratio or Fractional Flow Reserve in PCI. *N Engl J Med*. 2017;376(19):1824-1834.

D'Ascenzo F, Barbero U, Cerrato E, et al. Accuracy of intravascular ultrasound and optical coherence tomography in identifying functionally significant coronary stenosis according to vessel diameter: A meta-analysis of 2,581 patients and 2,807 lesions. *Am Heart J*. 2015;169(5):663-673.

De Bruyne B, Baudhuin T, Melin JA, et al. Coronary flow reserve calculated from pressure measurements in humans. Validation with positron emission tomography. *Circulation*. 1994;89(3):1013-1022.

De Bruyne B, Fearon WF, Pijls NH, et al. Fractional flow reserve-guided PCI for stable coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2014;371(13):1208-1217.

De Bruyne B, Pijls NH, Kalesan B, et al. Fractional flow reserve-guided PCI versus medical therapy in stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2012;367(11):991-1001.

Dérimay F, Johnson NP, Zimmermann FM, et al. Predictive factors of discordance between the instantaneous wave-free ratio and fractional flow reserve. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2019;94(3):356-363.

Di Mario C, Krams R, Gil R, Serruys PW. Slope of the instantaneous hyperemic diastolic coronary flow velocity-pressure relation. A new index for assessment of the physiological significance of coronary stenosis in humans. *Circulation*. 1994;90(3):1215-1224.

Ebihara S, Otsuki H, Arashi H, Yamaguchi J, Hagiwara N. Rate Pressure Products Affect the Relationship between the Fractional Flow Reserve and Instantaneous Wave-Free Ratio. *J Interv Cardiol.* 2020;2020:6230153.

Fearon WF, Balsam LB, Farouque HM, et al. Novel index for invasively assessing the coronary microcirculation. *Circulation.* 2003;107(25):3129-3132.

Fearon WF, Shah M, Ng M, et al. Predictive value of the index of microcirculatory resistance in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(5):560-565.

Ge X, Liu Y, Yin Z, et al. Comparison of Instantaneous Wave-Free Ratio (iFR) and Fractional Flow Reserve (FFR) with respect to Their Sensitivities to Cardiovascular Factors: A Computational Model-Based Study. *J Interv Cardiol.* 2020;2020:4094121.

Gore A, Ahn J, Veer M, et al. TCT-154 Diagnostic Accuracy of iFR Versus FFR in the Left Versus Right Coronary Artery. *J Am Coll Cardiol.* 2018 Sep, 72 (13_Supplement) B66.

Götberg M, Christiansen EH, Gudmundsdottir IJ, et al. Instantaneous Wave-free Ratio versus Fractional Flow Reserve to Guide PCI. *N Engl J Med.* 2017;376(19):1813-1823.

Gould KL, Kirkeeide RL, Buchi M. Coronary flow reserve as a physiologic measure of stenosis severity. *J Am Coll Cardiol.* 1990;15(2):459-474.

Grüntzig AR, Senning A, Siegenthaler WE. Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med.* 1979;301(2):61-68.

Hadjiloizou N, Davies JE, Malik IS, et al. Differences in cardiac microcirculatory wave patterns between the proximal left mainstem and proximal right coronary artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;295(3):H1198-H1205.

Hirata K, Shimada K, Watanabe H, et al. Modulation of coronary flow velocity reserve by gender, menstrual cycle and hormone replacement therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38(7):1879-1884.

Hirose K, Chikamori T, Hida S, et al. Application of pressure-derived myocardial fractional flow reserve in chronic hemodialysis patients. *J Cardiol*. 2018;71(1):52-58.

Hwang D, Jeon KH, Lee JM, et al. Diagnostic Performance of Resting and Hyperemic Invasive Physiological Indices to Define Myocardial Ischemia: Validation With ¹³N-Ammonia Positron Emission Tomography. *JACC Cardiovasc Interv*. 2017;10(8):751-760.

Chen M, Zhou L, Ding H, et al. Short (GT) (n) repeats in heme oxygenase-1 gene promoter are associated with lower risk of coronary heart disease in subjects with high levels of oxidative stress. *Cell Stress Chaperones*. 2012;17(3):329-338.

Chen Z, Pazdernik M, Zhang H, et al. Quantitative 3D Analysis of Coronary Wall Morphology in Heart Transplant Patients: OCT-Assessed Cardiac Allograft Vasculopathy Progression. *Med Image Anal*. 2018;50:95-105.

Chilian WM, Eastham CL, Marcus ML. Microvascular distribution of coronary vascular resistance in beating left ventricle. *Am J Physiol*. 1986;251(4 Pt 2):H779-H788.

Jerabek S, Kovarnik T. Technical aspects and limitations of fractional flow reserve measurement. *Acta Cardiol*. 2019;74(1):9-16.

Jerabek S, Zemanek D, Pudil J, et al. Endothelial dysfunction assessed by digital tonometry and discrepancy between fraction flow reserve and instantaneous wave free ratio. *Acta Cardiol*. 2020;75(4):323-328.

Jeremias A, Maehara A, Génèreux P, et al. Multicenter core laboratory comparison of the instantaneous wave-free ratio and resting Pd/Pa with fractional flow reserve: the RESOLVE study. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(13):1253-1261.

Johnson NP, Kirkeeide RL, Gould KL. Is discordance of coronary flow reserve and fractional flow reserve due to methodology or clinically relevant coronary pathophysiology?. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2012;5(2):193-202.

Johnson NP, Jeremias A, Zimmermann FM, et al. Continuum of Vasodilator Stress From Rest to Contrast Medium to Adenosine Hyperemia for Fractional Flow Reserve Assessment. *JACC Cardiovasc Interv* 2016; 9(8): 757-767.

Jones CJ, Kuo L, Davis MJ, DeFily DV, Chilian WM. Role of nitric oxide in the coronary microvascular responses to adenosine and increased metabolic demand. *Circulation*. 1995;91(6):1807-1813.

Joshi MS, Mineo C, Shaul PW, Bauer JA. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear. *FASEB J*. 2007;21(11):2655-2663.

Kajiya F, Matsuoka S, Ogasawara Y, et al. Velocity profiles and phasic flow patterns in the non-stenotic human left anterior descending coronary artery during cardiac surgery. *Cardiovasc Res*. 1993;27(5):845-850.

Kelshiker MA, Seligman H, Howard JP, et al. Coronary flow reserve and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J*. 2022;43(16):1582-1593.

Kang DY, Ahn JM, Kim YW, et al. Impact of Coronary Lesion Geometry on Fractional Flow Reserve: Data From Interventional Cardiology Research In-Cooperation Society-Fractional Flow Reserve and Intravascular Ultrasound Registry. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2018;11(6):e007087.

Kato Y, Dohi T, Chikata Y, et al. Predictors of discordance between fractional flow reserve and resting full-cycle ratio in patients with coronary artery disease: Evidence from clinical practice. *J Cardiol*. 2021;77(3):313-319.

Kim CH, Koo BK, Dehbi HM, et al. Sex Differences in Instantaneous Wave-Free Ratio or Fractional Flow Reserve-Guided Revascularization Strategy. *JACC Cardiovasc Interv*. 2019;12(20):2035-2046.

Kim HS, Tonino PA, De Bruyne B, et al. The impact of sex differences on fractional flow reserve-guided percutaneous coronary intervention: a FAME (Fractional Flow Reserve

Versus Angiography for Multivessel Evaluation) substudy. *JACC Cardiovasc Interv.* 2012;5(10):1037-1042.

Kishimoto Y, Kondo K, Momiyama Y. The Protective Role of Heme Oxygenase-1 in Atherosclerotic Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20(15):3628.

Kleiman NS. Bringing it all together: integration of physiology with anatomy during cardiac catheterization. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58(12):1219-1221.

Knaapen P, Camici PG, Marques KM, et al. Coronary microvascular resistance: methods for its quantification in humans. *Basic Res Cardiol.* 2009;104(5):485-498.

Kobayashi Y, Johnson NP, Berry C, et al. The Influence of Lesion Location on the Diagnostic Accuracy of Adenosine-Free Coronary Pressure Wire Measurements. *JACC Cardiovasc Interv.* 2016;9(23):2390-2399.

Lanza GA, Crea F. Primary coronary microvascular dysfunction: clinical presentation, pathophysiology, and management. *Circulation.* 2010;121(21):2317-2325.

Lee BK, Lim HS, Fearon WF, et al. Invasive evaluation of patients with angina in the absence of obstructive coronary artery disease. *Circulation.* 2015;131(12):1054-1060.

Lee JM, Jung JH, Hwang D, et al. Coronary Flow Reserve and Microcirculatory Resistance in Patients With Intermediate Coronary Stenosis. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67(10):1158-1169.

Lee JM, Shin ES, Nam CW, et al. Discrepancy between fractional flow reserve and instantaneous wave-free ratio: Clinical and angiographic characteristics. *Int J Cardiol.* 2017;245:63-68.

Li Jm, Fenton RA, Wheeler HB, et al. Adenosine A2a receptors increase arterial endothelial cell nitric oxide. *J Surg Res.* 1998;80(2):357-364.

Lim HS, Yoon MH, Tahk SJ, et al. Usefulness of the index of microcirculatory resistance for invasively assessing myocardial viability immediately after primary angioplasty for anterior myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2009;30(23):2854-2860.

Marwick TH. Stress echocardiography. *Heart*. 2003;89(1):113-118.

Menon M, Jaffe W, Watson T, Webster M. Assessment of coronary fractional flow reserve using a monorail pressure catheter: the first-in-human ACCESS-NZ trial. *EuroIntervention*. 2015;11(3):257-263.

Montalescot G, Sechtem U, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2013;34(38):2949-3003.

Mosher P, Ross J Jr, McFate PA, Shaw RF. Control of coronary blood flow by an autoregulatory mechanism. *Circ Res*. 1964;14:250-259.

Muroya T, Kawano H, Hata S, et al. Relationship between resting full-cycle ratio and fractional flow reserve in assessments of coronary stenosis severity. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2020;96(4):E432-E438.

Naber CK, Baumgart D, Altmann C, Siffert W, Erbel R, Heusch G. eNOS 894T allele and coronary blood flow at rest and during adenosine-induced hyperemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;281(5):H1908-H1912.

Neumann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J*. 2019;40(2):87-165.

Östlund-Papadogeorgos N, Ekenbäck CH, Jokhaji F, et al. Blood haemoglobin, renal insufficiency, fractional flow reserve and plasma NT-proBNP is associated with index of microcirculatory resistance in chronic coronary syndrome. *Int J Cardiol*. 2020;317:1-6.

Petraco R, Al-Lamee R, Gotberg M, et al. Real-time use of instantaneous wave-free ratio: results of the ADVISE in-practice: an international, multicenter evaluation of instantaneous wave-free ratio in clinical practice. *Am Heart J*. 2014;168(5):739-748.

Petraco R, van de Hoef TP, Nijjer S, et al. Baseline instantaneous wave-free ratio as a pressure-only estimation of underlying coronary flow reserve: results of the JUSTIFY-CFR Study (Joined Coronary Pressure and Flow Analysis to Determine Diagnostic Characteristics of Basal and Hyperemic Indices of Functional Lesion Severity-Coronary Flow Reserve). *Circ Cardiovasc Interv.* 2014;7(4):492-502.

Pijls NH, De Bruyne B, Peels K, et al. Measurement of fractional flow reserve to assess the functional severity of coronary-artery stenoses. *N Engl J Med.* 1996;334(26):1703-1708.

Pijls NH, van Schaardenburgh P, Manoharan G, et al. Percutaneous coronary intervention of functionally nonsignificant stenosis: 5-year follow-up of the DEFER Study. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49(21):2105-2111.

Pijls NH, van Son JA, Kirkeeide RL, De Bruyne B, Gould KL. Experimental basis of determining maximum coronary, myocardial, and collateral blood flow by pressure measurements for assessing functional stenosis severity before and after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Circulation.* 1993;87(4):1354-1367.

Powell JT, Higman DJ. Smoking, nitric oxide and the endothelium. *Br J Surg.* 1994;81(6):785-787.

Rosa S, Polimeni A, Petraco R, Davies JE, Indolfi C. Diagnostic Performance of the Instantaneous Wave-Free Ratio: Comparison With Fractional Flow Reserve. *Circ Cardiovasc Interv.* 2018;11(1):e004613.

Sen S, Escaned J, Malik IS, et al. Development and validation of a new adenosine-independent index of stenosis severity from coronary wave-intensity analysis: results of the ADVISE (ADenosine Vasodilator Independent Stenosis Evaluation) study. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59(15):1392-1402.

Sen S, Asrress KN, Nijjer S, et al. Diagnostic classification of the instantaneous wave-free ratio is equivalent to fractional flow reserve and is not improved with adenosine

administration. Results of CLARIFY (Classification Accuracy of Pressure-Only Ratios Against Indices Using Flow Study). *J Am Coll Cardiol*. 2013;61(13):1409-1420.

Spaan JA. Coronary diastolic pressure-flow relation and zero flow pressure explained on the basis of intramyocardial compliance. *Circ Res*. 1985;56(3):293-309.

Stegehuis VE, Wijntjens GW, Piek JJ, van de Hoef TP. Fractional Flow Reserve or Coronary Flow Reserve for the Assessment of Myocardial Perfusion : Implications of FFR as an Imperfect Reference Standard for Myocardial Ischemia. *Curr Cardiol Rep*. 2018;20(9):77.

Sumida H, Matsuzawa Y, Sugiyama S, et al. Pre-procedural peripheral endothelial function is associated with increased serum creatinine following percutaneous coronary procedure in stable patients with a preserved estimated glomerular filtration rate. *J Cardiol*. 2017;70(5):461-469.

Svanerud J, Ahn JM, Jeremias A, et al. Validation of a novel non-hyperaemic index of coronary artery stenosis severity: the Resting Full-cycle Ratio (VALIDATE RFR) study. *EuroIntervention*. 2018;14(7):806-814.

Tebaldi M, Biscaglia S, Fineschi M, et al. Fractional Flow Reserve Evaluation and Chronic Kidney Disease: Analysis From a Multicenter Italian Registry (the FREAK Study). *Catheter Cardiovasc Interv*. 2016;88(4):555-562.

Tiefenbacher CP, Chilian WM. Heterogeneity of coronary vasomotion. *Basic Res Cardiol*. 1998;93(6):446-454.

Tillmanns H, Steinhausen M, Leinberger H, Thederan H, Kübler W. Pressure measurements in the terminal vascular bed of the epimyocardium of rats and cats. *Circ Res*. 1981;49(5):1202-1211.

Tonino PA, De Bruyne B, Pijls NH, et al. Fractional flow reserve versus angiography for guiding percutaneous coronary intervention. *N Engl J Med*. 2009;360(3):213-224.

Uren NG, Melin JA, De Bruyne B, Wijns W, Baudhuin T, Camici PG. Relation between myocardial blood flow and the severity of coronary-artery stenosis. *N Engl J Med*. 1994;330(25):1782-1788.

van de Hoef TP, Nolte F, Rolandi MC, et al. Coronary pressure-flow relations as basis for the understanding of coronary physiology. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;52(4):786-793.

van de Hoef TP, Meuwissen M, Escaned J, et al. Fractional flow reserve as a surrogate for inducible myocardial ischaemia. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10(8):439-452.

van de Hoef TP, van Lavieren MA, Damman P, et al. Physiological basis and long-term clinical outcome of discordance between fractional flow reserve and coronary flow velocity reserve in coronary stenoses of intermediate severity. *Circ Cardiovasc Interv*. 2014;7(3):301-311.

Van't Veer M, Pijls NHJ, Hennigan B, et al. Comparison of Different Diastolic Resting Indexes to iFR: Are They All Equal?. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(25):3088-3096.

van Nunen LX, Zimmermann FM, Tonino PA, et al. Fractional flow reserve versus angiography for guidance of PCI in patients with multivessel coronary artery disease (FAME): 5-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet*. 2015;386(10006):1853-1860.

Warisawa T, Cook CM, Howard JP, et al. Physiological Pattern of Disease Assessed by Pressure-Wire Pullback Has an Influence on Fractional Flow Reserve/Instantaneous Wave-Free Ratio Discordance. *Circ Cardiovasc Interv*. 2019;12(5):e007494.

Weber JR, Martin B, Kassis N, et al. An optical coherence tomography comparison of coronary arterial plaque calcification in patients with end-stage renal disease and diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res*. 2020;17(5):1479164120958425.

Weisse AB, Regan TJ. A comparison of thermodilution coronary sinus blood flows and krypton myocardial blood flows in the intact dog. *Cardiovasc Res*. 1974;8(4):526-533.

Wentzel JJ, Chatzizisis YS, Gijzen FJ, Giannoglou GD, Feldman CL, Stone PH. Endothelial shear stress in the evolution of coronary atherosclerotic plaque and vascular remodelling: current understanding and remaining questions. *Cardiovasc Res*. 2012;96(2):234-243.

White CW, Wright CB, Doty DB, et al. Does visual interpretation of the coronary arteriogram predict the physiologic importance of a coronary stenosis?. *N Engl J Med*. 1984;310(13):819-824.

Wijns W, et al. Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J*. 2010;31(20):2501-2555.

Wu W, Geng P, Zhu J, et al. KLF2 regulates eNOS uncoupling via Nrf2/HO-1 in endothelial cells under hypoxia and reoxygenation. *Chem Biol Interact*. 2019;305:105-111.

Xaplanteris P, Fournier S, Pijls NHJ, et al. Five-Year Outcomes with PCI Guided by Fractional Flow Reserve. *N Engl J Med*. 2018;379(3):250-259.

Yonetsu T, Hoshino M, Lee T, et al. Impact of Sex Difference on the Discordance of Revascularization Decision Making Between Fractional Flow Reserve and Diastolic Pressure Ratio During the Wave-Free Period. *J Am Heart Assoc*. 2020;9(5):e014790.

Zimmermann FM, Ferrara A, Johnson NP, et al. Deferral vs. performance of percutaneous coronary intervention of functionally non-significant coronary stenosis: 15-year follow-up of the DEFER trial. *Eur Heart J*. 2015;36(45):3182-3188.

Příloha I

Kovarnik T, Hitoshi M, Kral A, **Jerabek S**, et al. Fractional Flow Reserve Versus Instantaneous Wave-Free Ratio in Assessment of Lesion Hemodynamic Significance and Explanation of their Discrepancies. International, Multicenter and Prospective Trial: The FiGARO Study. J Am Heart Assoc. 2022 May 3;11(9):e021490. doi: 10.1161/JAHA.121.021490. Epub 2022 May 3.

Příloha II

Jerabek S, Kovarnik T. Technical aspects and limitations of fractional flow reserve measurement. Acta Cardiol. 2019 Feb;74(1):9-16.

Příloha III

Jerabek S, Zemanek D, Pudil J, et al. Endothelial dysfunction assessed by digital tonometry and discrepancy between fraction flow reserve and instantaneous wave free ratio. Acta Cardiol. 2019 Apr 4:1-6.

ORIGINAL RESEARCH

Fractional Flow Reserve Versus Instantaneous Wave-Free Ratio in Assessment of Lesion Hemodynamic Significance and Explanation of their Discrepancies. International, Multicenter and Prospective Trial: The FiGARo Study

Tomas Kovarnik , MD, PhD; Matsuo Hitoshi , MD, PhD; Ales Kral, MD, PhD; Stepan Jerabek, MD; David Zemanek, MD, PhD; Yoshiaki Kawase, MD; Hiroyuki Omori, MD; Toru Tanigaki, MD; Jan Pudil, MD; Alexandra Vodzinska, MD; Marian Branny, MD, PhD; Roman Stipal, MD; Petr Kala, MD, PhD; Jan Mrozek, MD, PhD; Martin Porzer, MD; Tomas Grezl, MD; Kamil Novobilsky, MD; Oscar Mendiz , MD; Karel Kopriva, MD; Martin Mates , MD, PhD; Martin Chval, MS; Zhi Chen, MS; Pavel Martasek, MD, PhD; Ales Linhart, MD, PhD; FiGARo trial investigators

BACKGROUND: The FiGARo (FFR versus iFR in Assessment of Hemodynamic Lesion Significance, and an Explanation of Their Discrepancies) trial is a prospective registry searching for predictors of fractional flow reserve/instantaneous wave-free ratio (FFR/iFR) discrepancy.

METHODS AND RESULTS: FFR/iFR were analyzed using a Verrata wire, and coronary flow reserve was analyzed using a Combomap machine (both Philips-Volcano). The risk polymorphisms for endothelial nitric oxide synthase and for heme oxygenase-1 were analyzed. In total, 1884 FFR/iFR measurements from 1564 patients were included. The FFR/iFR discrepancy occurred in 393 measurements (20.9%): FFRp (positive)/iFRn (negative) type (264 lesions, 14.0%) and FFRn/iFRp (129 lesions, 6.8%) type. Coronary flow reserve was measured in 343 lesions, correlating better with iFR ($R=0.56$, $P<0.0001$) than FFR ($R=0.36$, $P<0.0001$). The coronary flow reserve value in FFRp/iFRn lesions (2.24 ± 0.7) was significantly higher compared with both FFRp/iFRp (1.39 ± 0.36), and FFRn/iFRn lesions (1.8 ± 0.64 , $P<0.0001$). Multivariable logistic regression analysis confirmed (1) sex, age, and lesion location in the right coronary artery as predictors for FFRp/iFRn discrepancy; and (2) hemoglobin level, smoking, and renal insufficiency as predictors for FFRn/iFRp discrepancy. The FFRn/iFRp type of discrepancy was significantly more frequent in patients with both risk types of polymorphisms (endothelial nitric oxide synthase,+heme oxygenase-1,); 8 patients (24.2%) compared with FFRp/iFRn type of discrepancy: 2 patients (5.9%), $P=0.03$.

CONCLUSIONS: Predictors for FFRp/iFRn discrepancy were sex, age, and location in the right coronary artery. Predictors for FFRn/iFRp were hemoglobin level, smoking, and renal insufficiency. The risk type of polymorphism in endothelial nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 genes was more frequently found in patients with FFRn/iFRp type of discrepancy.

REGISTRATION: URL: <https://clinicaltrials.gov>; Unique identifier: NCT03033810.

Key Words: coronary flow reserve ■ fractional flow reserve ■ instantaneous wave-free ratio

Correspondence to: Tomas Kovarnik, MD, PhD, Internal Medicine, Charles University in Prague, Head of Interventional Cardiology Department, Charles University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic. Email: tomas.kovarnik@vfn.cz

This manuscript was sent to Ik-Kyung Jang, Guest Editor, for review by expert referees, editorial decision, and final disposition.

Supplemental Material for this article is available at <https://www.ahajournals.org/doi/suppl/10.1161/JAHA.121.021490>

For Sources of Funding and Disclosures, see page 11.

© 2022 The Authors. Published on behalf of the American Heart Association, Inc., by Wiley. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

JAHA is available at: www.ahajournals.org/journal/jaha

CLINICAL PERSPECTIVE

What Is New?

- Polymorphism in genes for endothelial synthase and hemoglobin oxygenase can play a role in fractional flow reserve negative/instantaneous wave-free ratio positive (FFR_n/iFR_p) discrepancy because of nonmaximal vasodilatation after adenosine administration.
- Further predictors for FFR_n/iFR_p discrepancy that are also related to submaximal vasodilatation capacity are smoking and chronic kidney disease; further predictors for FFR_{positive}/iFR_{negative} discrepancy are lesions located in the right coronary artery and coronary territory with a preserved coronary flow.
- The FFR_{positive}/iFR_{negative} can be found in situations with well-preserved endothelial function enabling a substantial increase of flow across a stenosis mainly in younger patients and more frequently in men than in women.

What Are the Clinical Implications?

- The FFR/iFR disagreement can be found in roughly 20% of examinations.
- This disagreement can be quite confusing during routine clinical practice.
- The aforementioned reasons for FFR/iFR discrepancies can help to underline either FFR or iFR results in these specific circumstances.

Nonstandard Abbreviations and Acronyms

CFR	coronary flow reserve
ENOS	endothelial nitric oxide synthase
FFR	fractional flow reserve
HO-1	heme oxygenase-1
iFR	instantaneous wave-free ratio
NO	nitric oxide

An essential part of an indication for coronary revascularization is recognition of the lesion causing the myocardial ischemia. Coronary angiography fails in the diagnosis of lesions causing ischemia, primarily in so-called “borderline” lesions (lesions with a 40%–70% reduction in the lumen diameter¹). This problem is overcome by measuring the pressure gradient across the stenosis. In contemporary practice, we use 2 methods to measure such gradients: fractional flow reserve (FFR), which measures the pressure gradient during hyperemia and across the entire cardiac cycle; and the so-called resting indices (the most well known of which is instantaneous wave-free ratio—iFR),

which measure the pressure gradient without drug-induced hyperemia during mid-diastole. Based on 2 recently published trials comparing FFR and iFR in routine practice,^{2,3} both methods are considered equal.

Unfortunately, having both hyperemic and resting indices also opens new problems. Based on previous trials, it is known that the correlation between FFR and iFR is around 80% and that this correlation is much lower when we compare only measurements at or near cutoff points.⁴ The FIGARO trial (FFR versus iFR in the Assessment of Lesions of Hemodynamic Significance, and an Explanation of Their Discrepancies) was designed to analyze lesions and patients with discordant FFR and iFR findings using clinical, angiographic, and laboratory examinations. Moreover, one of the potential, and, so far, untested reasons for the impaired reaction of endothelial cells to vasoactive drugs could be a genetic polymorphism in genes that play a role in endothelial-based vasodilatation. Endothelial nitric oxide synthase (ENOS) and heme oxygenase-1 (HO-1) are enzymes that are crucial for vascular homeostasis, and alterations in their functions are implicated in endothelial dysfunction and development of atherosclerosis.^{5,6} Also, common variants in both genes have been shown to alter enzyme function.^{6,7} Because there are only limited data available concerning the genetic determinants of coronary artery response to hyperemic stimuli,⁸ we sought to investigate whether the Glu298Asp polymorphism—in exon 7 of the ENOS gene—and the (GT)_n polymorphism in the HO-1 gene promoter influence coronary pressure-derived indexes and whether these variants contribute to the occurrence of iFR/FFR discordance.

METHODS

Anonymized data and materials have been made publicly available at the web pages of Charles University Hospital in Prague and can be accessed at following addresses: https://int2.lf1.cuni.cz/1LFIK-26-version1-db_figaro_genes.xlsx; https://int2.lf1.cuni.cz/1LFIK-26-version1-db_figaro_patient_based.xlsx

Patients

We included patients indicated for coronary angiography for both chronic coronary syndromes and acute coronary syndromes (ACS), who underwent an assessment of the hemodynamic significance of coronary stenoses by FFR and iFR in 5 Czech centers (Charles University Hospital in Prague, Hospital Na Homolce in Prague, Masaryk University Hospital in Brno, University Hospital Ostrava, Hospital Trinec), 1 center from Japan (Gifu Heart Center), and 1 center in Argentina (Fundacion Favalaro, Buenos Aires). Patients with ACS underwent nonculprit artery examination during either

the primary or staged procedures. Lesions containing a thrombus, or stenoses supplying a myocardial wall with ECG signs of ischemia, were identified as culprit lesions.

In some patients, we performed measurements in more than 1 coronary artery. We used all FFR/iFR measurements for *per-lesion analysis* to identify whether lesion-specific features (lesion location, coronary flow reserve [CFR] value) potentially influence iFR/FFR analyses.

The *per-patient analysis* was used for patient-related features (demography and type of polymorphism). For such analysis, we included the vessel with the most significant findings (in case all FFR and iFR measurements were concordant) or vessels with discrepancies in measurements (in case of discrepant and concordant FFR and iFR measurements in more than 1 examined vessel). In cases with 2 different discrepancies in 1 patient (this situation was found in only 3 patients), we chose the type of discrepancy with the more significant difference between FFR and iFR. Exclusion criteria were: hemodynamic instability; cardiopulmonary resuscitation in the same day, thrombosis in the target coronary artery, patients after coronary artery bypass grafting, severe bronchial asthma, significant valvular disease, or an atrioventricular block higher than the first degree.

FFR/iFR/CFR Measurements

The Philips-Volcano system with Verrata Plus wires was used for FFR/iFR measurements. The CFR value was analyzed by Doppler sensor-tipped wire using the Combo map console with Combo wire (both produced by Philips Volcano). CFR analysis was not obligatory and was left to the discretion of individual investigators.

Intracoronary nitroglycerin (200 µg) was routinely administered intracoronary before the FFR and iFR measurements to control vasomotor tone. Intracoronary adenosine, in a dose of 240 µg, was used in all cases for both pressure and flow measurements. The iFR was measured 3 times, FFR twice, and the mean measured value was used for analysis. An iFR cutoff value of ≤ 0.89 and FFR of ≤ 0.80 were used. The CFR value was measured 3 times, and for analysis the mean value was used, with a cutoff value < 2.0 .

Genetic Analysis

Patient DNA was isolated from peripheral blood leukocytes using standard techniques. Polymerase chain reaction was used for both the Glu298Asp polymorphism—in exon 7 of the ENOS gene—and the (GT)_n polymorphism in the HO-1 gene promoter. The long alleles, with ≥ 25 GT repeats, lead to decreased HO-1 inducibility, whereas the short alleles demonstrate adequate HO-1 expression upon stimulation. A detailed

description of the genetic analysis can be found in Data S1. A 3-dimensional picture of the ENOS gene is shown in Figure 1.

The FIGARO trial is registered in ClinicalTrials.gov with identifier NCT03033810. All patients signed an informed consent, and the study was approved by the local ethics committees.

Statistical Analysis

The FFR and iFR examinations were analyzed first as continuous variables and then as categorical variables (positive and negative) according to cutoff point. We identified 3 groups of examinations: FFR/iFR concordant, FFRp/iFRn discrepancy, and FFRn/iFRp discrepancy. We performed 3 types of comparisons: FFR/iFR agreement versus FFRp/iFRn discrepancy, FFR/iFR agreement versus FFRn/iFRp type of discrepancy, and FFRp/iFRn versus FFRn/iFRp types of discrepancy.

Mean values \pm SDs (or percentages) were calculated for all continuous variables. Differences between continuous variables were examined using the Student's *t*-test. For categorical variables, contingency tables were used to display frequency distributions. Statistical significance was calculated by Fisher's exact test. R environment was employed for statistical computation. A *P* value of 0.05 denoted the threshold of statistical significance.

Those predictors with a *P* value ≤ 0.2 were included in multivariable logistic regression analyses. These were performed to evaluate independent predictors of the discrepancy between FFR and iFR results on the basis of demographic and biomedical variables. We tried to find the best predictive models for both types of FFR/iFR discrepancy. All analyses used SPSS® software, version 24 (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTS

From November 2015 to March 2020, we performed 1970 pairs of FFR and iFR measurements. We included 1884 pairs from 1564 patients (201 patients—12.9%—with ACS), with 86 pairs excluded owing to low quality of tracings. The coronary arteries examined were as follows: 1102 left anterior descending arteries—LAD (58.5%); 395 left circumflex arteries (21.0%); 362 right coronary arteries—RCA (19.2%); and, 25 left main coronary arteries (1.3%). Demography parameters for per-patient analysis are summarized in Table 1.

Per-Lesion Analysis

We analyzed 1884 lesions using FFR/iFR. The total number of FFR/iFR discrepancies was 393 (20.9%) from all FFR/iFR examinations. The mean value for FFR was 0.79 ± 0.12 , and for iFR 0.87 ± 0.14 . The overall correlation between FFR and iFR was high: $R = 0.81$,

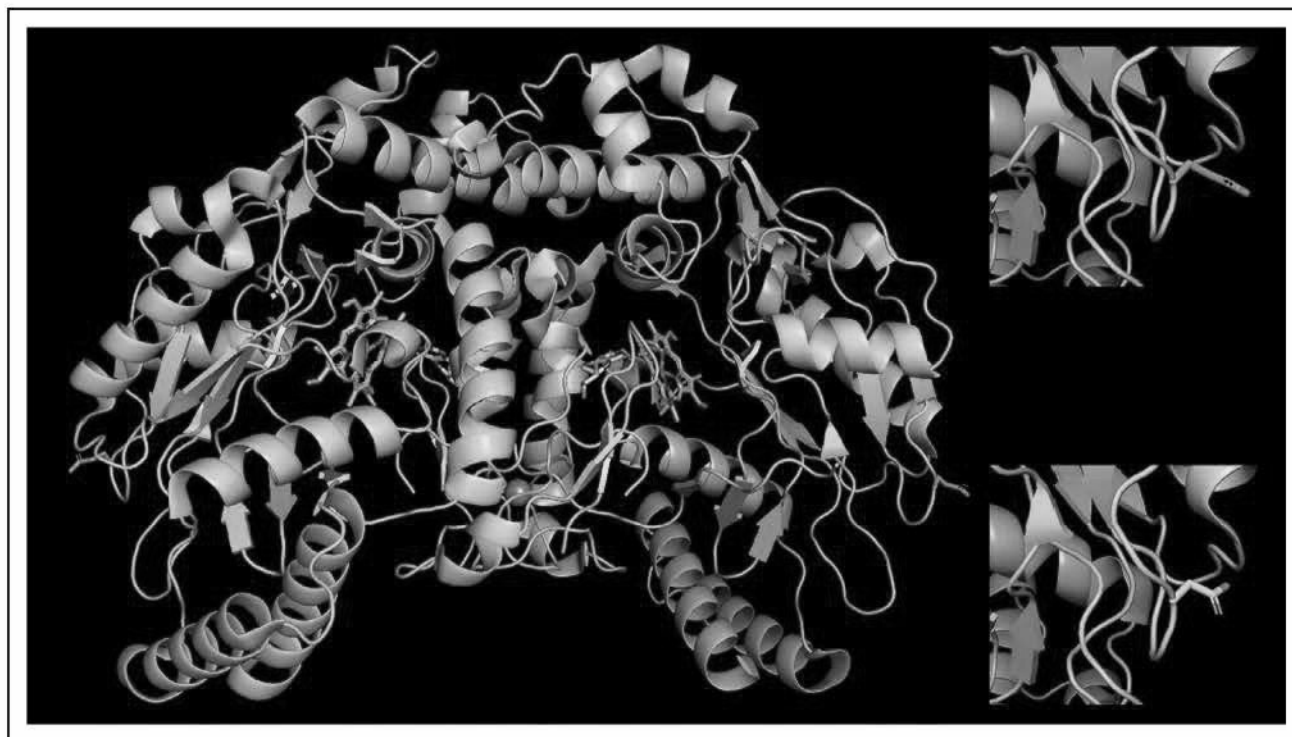


Figure 1. A 3-dimensional image of the ENOS heme domains.

Left panel: the homodimeric structure, alongside heme (pink) and the structural zinc atom (grey). Right panel: the Glu298 (blue) and Asp298 (yellow) represent amino acid residues corresponding to the polymorphic change. ENOS indicates endothelial nitric oxide synthase.

$P < 0.0001$. However, in the area surrounding the cutoff point for iFR (0.85–0.95), the correlation with FFR was worse ($R = 0.45$, $P < 0.0001$). In the area close to the cutoff point for FFR (0.75–0.85), the correlation with iFR was even worse ($R = 0.33$, $P < 0.0001$). The correlation between FFR and iFR values, difference between them, and histograms for FFR and iFR are shown in Figures 2 and 3.

Taking FFR and iFR dichotomously, the FFRp/iFRn discrepancy was found in 264 lesions (14.0%), and the FFRn/iFRp discrepancy in 129 (6.8%). Matched positive results were found in 683 lesions (36.3%) and matched negative in 808 lesions (42.9%).

Correlation Between Coronary Flow Measurement and Pressure-Based Indices

Coronary flow was measured in 343 lesions with a mean CFR value of 1.66 ± 0.61 . CFR correlated more closely with iFR ($R = 0.56$, $P < 0.0001$) than with FFR ($R = 0.36$, $P < 0.0001$) (Figure 4). The CFR values are summarized in Table 2. The CFR value in FFRp/iFRn lesions was significantly higher compared with both FFRp/iFRp and FFRn/iFRn lesions. The CFR values in FFRn/iFRp lesions did not differ from FFRp/iFRp lesions, but it was lower compared with FFRn/iFRn lesions.

Correlations Between FFR/iFR Discrepancies from Angiographic Patterns

During the analysis of angiographic features, we found that discrepancies were more frequently located in RCA than left coronary artery—95 (26.5%) versus 293 (19.4%), $P = 0.003$. This difference was caused by the FFRp/iFRn type of discrepancy, which was located in RCA in 81 lesions (23.4%) versus 184 lesions in left coronary artery (13.1%), $P < 0.0001$. On the contrary, the FFRn/iFRp type of discrepancy was less frequent in RCA (18 lesions, 5.0%) versus left coronary artery (115 lesions, 8.6%), $P = 0.043$, and this type of discrepancy was found more often in LAD than in non-LAD territory—97 lesions (9.9%) versus 32 lesions (5.1%), $P = 0.0006$.

We did not find any significant difference—in terms of the proximal, mid, or distal part of the coronary artery—in the occurrence of FFR/iFR discrepancies in lesion location. The lesion location in RCA was the only predictor for the FFRp/iFRn type of discrepancy found in multivariable logistic regression analysis (Table 3).

Per-Patient Analysis

Out of 1564 patients included in per-patient analysis, we found 379 discrepant FFR/iFR pairs (24.2%). They were FFRp/iFRn in 259 patients (16.6%), and FFRn/iFRp in 120 patients (7.7%).

Table 1. Demography Parameters in Patients With FFR/iFR Agreement and FFR/iFR Discrepancy

	FFR/iFR agreement 1185 pts	FFRp/iFRn 259 pts	FFRn/FFRp 120 pts	P value ¹	P value ²	P value ³
Age, y	69.0±9.7	66.8±9.9	70.9±10.5	0.001 [†]	0.05 [†]	0.0003 [†]
Female sex	346 (29.3%)	40 (15.4%)	44 (36.7%)	<0.0001 ^{††}	0.08	<0.0001 ^{††}
Body mass index, kg/m ²	29.6±5.2	29.5±5.0	28.4±4.9	0.63	0.05	0.24
Myocardial infarction in past	157 (27.7%)	30 (11.6%)	20 (16.7%)	0.28	0.93	0.48
Diabetes	451 (38.5%)	86 (33.2%)	54 (45%)	0.12	0.09	0.015 [†]
Arterial hypertension	895 (76.5%)	197 (76.1%)	91 (75.8%)	0.88	0.63	0.75
Hyperlipidemia	716 (61.3%)	155 (59.8%)	67 (55.8%)	0.83	0.46	0.61
Chronic kidney disease	43 (8.7%)	4 (1.5%)	15 (12.5%)	0.44	0.0005 [†]	0.006 [†]
Active smoking	265 (22.7%)	75 (29%)	36 (30%)	0.028 [†]	0.04 [†]	0.7
Beta blockers	513 (43.9%)	97 (37.5%)	58 (48.3%)	0.08	0.2	0.03 [†]
Calcium channel blockers	490 (42%)	112 (43.2%)	46 (38.3%)	0.55	0.62	0.42
Nitrates	220 (18.9%)	46 (17.8%)	15 (12.5%)	0.78	0.12	0.2
Diuretics	2175 (38.3%)	29 (11.2%)	42 (35%)	0.38	0.0007 [†]	0.001 [†]
Angiotensin-converting enzyme inhibitors/angiotensin receptor blockers	684 (58.6%)	153 (59.1%)	72 (60%)	0.63	0.47	0.74
Statins	644 (62.3%)	142 (54.8%)	59 (49.2%)	0.31	0.93	0.58
Acute coronary syndromes	150 (13.1%)	36 (13.9%)	15 (12.5%)	0.61	0.95	0.71
Ejection fraction, %	57.2%±12.2	58.4±11.8	57.2±11.9	0.19	0.97	0.41
Hemoglobin, g/L	136.7±21.8	137.0±19.7	131.3±17.7	0.82	0.01 [†]	0.009 [†]
Creatinine, μmol/L	107.2±113.2	99.2±112.2	140.6±169.6	0.31	0.005 [†]	0.006 [†]
Estimated glomerular filtration rate, mL/min	64.7±21.4	67.6±19.2	60.1±25.0	0.04 [†]	0.04 [†]	0.002 [†]

We used Bonferroni corrections for multiple comparison, which decreased the level of significance from 0.05 to 0.00013. The significant results after this corrections are marked using a *** symbol.

FFR indicates fractional flow reserve; iFR, instantaneous wave-free ratio; n, negative; and p, positive.

P value¹: FFR/iFR agreement vs FFRp/iFRn discrepancy.

P value²: FFR/iFR agreement vs FFRn/iFRp discrepancy.

P value³: FFRp/iFRn vs FFRn/iFRp discrepancies.

† P < 0.0001.

The FFR value was higher in female (0.8±0.12) than in male patients (0.78±0.12), $P < 0.0001$. The iFR, on the contrary, did not differ according to sex: female (0.87±0.14), male (0.87±0.13), $P = 0.48$. Using dichotomous analysis, female patients had positive FFR less frequently than male patients (42.4% versus 54.8%, $P < 0.0001$), but the number of positive iFR findings was

the same for both men and women (42.6% versus 43.3%, $P = 0.74$). There was no difference between women and men in CFR value (1.6±0.59 versus 1.71±0.63, $P = 0.17$).

Patients with the FFRp/iFRn type of discrepancy were younger, taller (174.8 cm±7.7 versus 171.54 cm±9.5, $P = 0.007$), less often female than male, and had higher estimated glomerular filtration rate

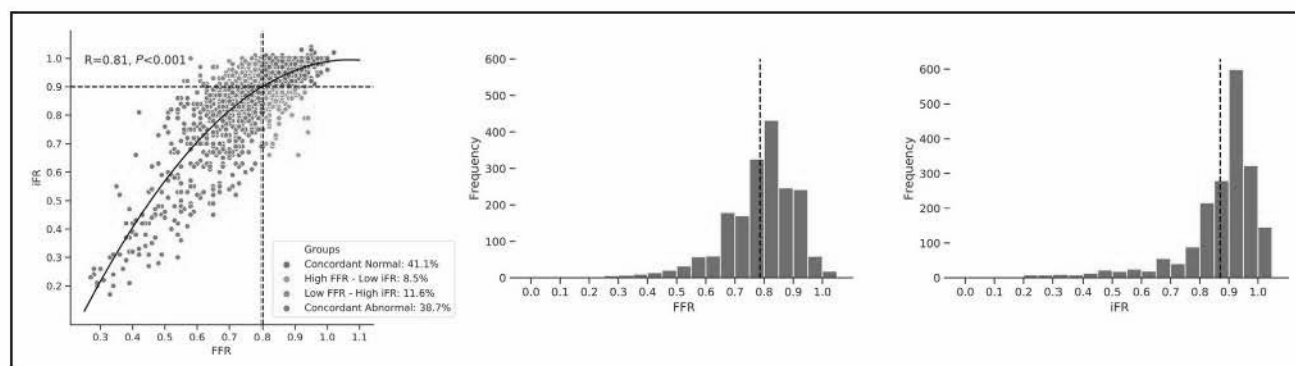


Figure 2. Correlation between FFR and iFR values and histograms for FFR and iFR values. FFR indicates fractional flow reserve; and iFR, instantaneous wave-free ratio.

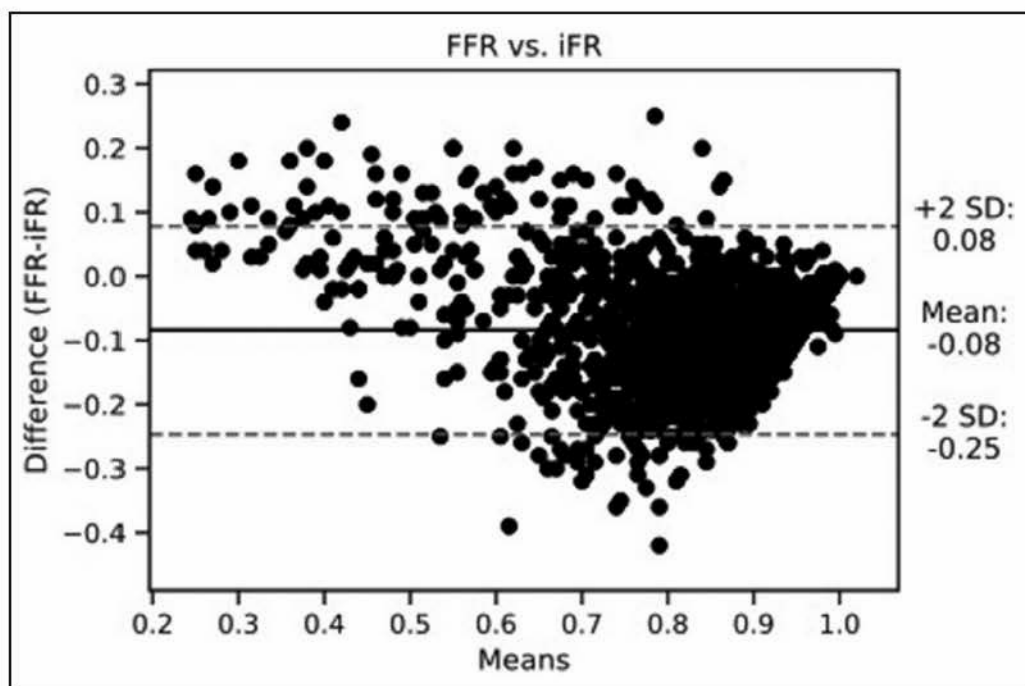


Figure 3. Bland-Altman plot of difference between FFR and iFR.
FFR indicates fractional flow reserve; and iFR, instantaneous wave-free ratio.

compared with patients without an FFR/iFR discrepancy. Multivariable logistic regression analysis confirmed sex and age as predictors for the FFR_p/iFR_n type of discrepancy (Table 4).

Patients with the FFR_n/iFR_p type of discrepancy were older; had lower body mass index; more frequently suffered from chronic kidney disease (CKD); were more

often smokers; were more frequently treated by diuretics; and had lower levels of hemoglobin, higher levels of creatinine, and lower estimated glomerular filtration rate.

Multivariable logistic regression analysis confirmed hemoglobin level, smoking, and CKD as predictors for the FFR_n/iFR_p type of discrepancy (Table 5).

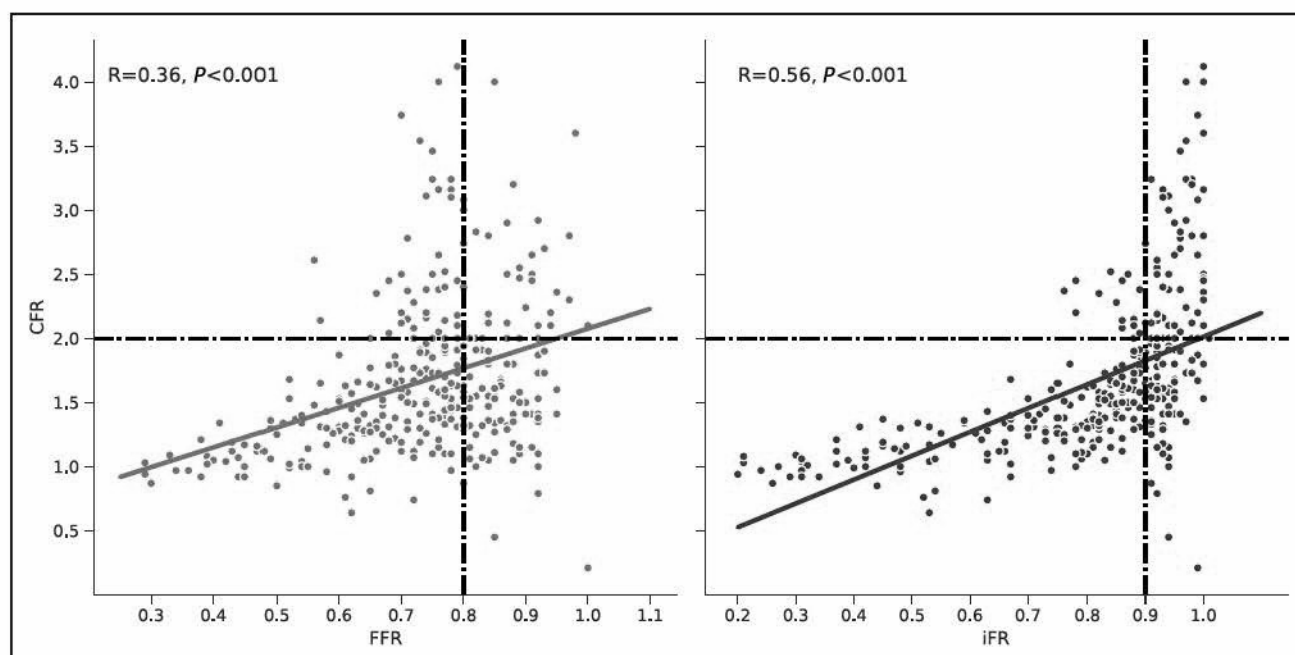


Figure 4. Correlation between CFR and FFR, and between CFR and iFR.
CFR indicates coronary flow reserve; FFR, fractional flow reserve; and iFR, instantaneous wave-free ratio.

Table 2. CFR Values in Lesions With and Without FFR/iFR Discrepancy

Type of lesions	CFR1	CFR2	P value
1/FFRp/iFRn vs 2/FFRp/iFRp	2.24±0.70	1.39±0.36	<0.0001
1/FFRp/iFRn vs 2/FFRn/iFRn	2.24±0.70	1.8±0.64	<0.0001
1/FFRn/iFRp vs 2/FFRp/iFRp	1.41±0.37	1.39±0.36	0.85
1/FFRn/iFRp vs 2/FFRn/iFRn	1.41±0.37	1.8±0.64	0.011

CFR indicates coronary flow reserve; FFR indicates fractional flow reserve; iFR, instantaneous wave-free ratio; n, negative; and p, positive.

When comparing patients with the FFRp/iFRn discrepancy to patients with the FFRn/iFRp types of discrepancy, those with FFRp/iFRn were younger and less frequently were women, diabetics, patients with CKD, users of beta blockers, or users of diuretics. Also, they had a higher level of hemoglobin, lower level of creatinine, and higher glomerular filtration. Diuretics and CKD were identified as predictors for the FFRn/iFRp type of discrepancy using multivariable logistic regression analysis (Table 6).

Genetic Analysis

Genetic analysis was performed for a total of 224 patients, originating only from Czech centers. Out of these, 5 patients were not included in the analysis for low quality of FFR/iFR tracings. There were no significant differences in the demographic parameters between ENOS risk (ENOS_r) and protective carriers (ENOS_p). Patients with risk type of polymorphism in gene for HO-1 (HO-1_r) were more frequently women and suffered less frequently from CKD compared with those with protective phenotype (HO-1_p). Demographic data of patients with genetic analyses are listed in Table S1.

The types of polymorphism associated with risk were found in 112 patients (51.1%) in the gene for ENOS, and in 60 patients (27.4%) in the gene for HO-1. The number of patients with both types of risk polymorphism was 28 (12.8%), and the number of patients without any risk polymorphism was 75 (34.2%). The occurrence of risk polymorphism in the genes for

ENOS and HO-1 in patients with the FFR/iFR discrepancy is summarized in Table 7.

Out of 219 FFR/iFR examination pairs, 67 (30.6%) discrepancies were found: FFRp/iFRn in 34 patients (15.5%) and FFRn/iFRp in 33 patients (15.1%). Risk types of polymorphisms were found nonsignificantly more frequent in patients with FFRn/iFRp compared with those with FFRp/iFRn: for ENOS, 19 (57.6%) versus 18 (52.9%), $P=0.7$ and for HO-1, 12 (36.4%) versus 9 (26.5%), $P=0.38$. The FFRn/iFRp type of discrepancy was significantly more frequent in patients with both risk type of polymorphisms (ENOS_r+HO-1_r): 8 patients (24.2%) compared with FFRp/iFRn type of discrepancy: 2 patients (5.9%), $P=0.03$.

Patients with ENOS_r and HO-1_r did not differ in FFR or iFR values compared with those with ENOS_p and HO-1_p: for ENOS, FFR was 0.81±0.09 versus 0.82±0.09, $P=0.23$, and iFR was 0.89±0.1 versus 0.89±0.09, $P=0.83$; and, for HO-1 the FFR value was 0.82±0.09 versus 0.81±0.09, $P=0.56$, and iFR was 0.89±0.08 versus 0.89±0.1, $P=0.98$. However, there was a trend for higher FFR values in patients with risk type of polymorphism in both gene types compared with patients with no/or one type of risk polymorphism (0.84±0.06 versus 0.81±0.09, $P=0.066$). Unlike the FFR values, the iFR values did not differ between those 2 types of patients (0.90±0.06 versus 0.89±0.1, $P=0.58$).

Furthermore we analyzed a numerical difference between iFR and FFR in patients with FFR/iFR discrepancy. The iFR/FFR difference was 0.085±0.07 in ENOS_r, and 0.072±0.07 in ENOS_p, $P=0.19$, in patients with HO-1_r 0.074±0.07 and in those with HO-1_p 0.08±0.07, $P=0.51$. There was a trend for lower iFR/FFR difference in patients with risk types of polymorphisms in both genes compared with patients with either both protective polymorphisms or with only 1 type of risk polymorphism (0.059±0.05 versus 0.082±0.07, $P=0.09$).

DISCUSSION

Using data from 1884 FFR/iFR pairs of examinations from 1564 patients, we found 79.1% agreement in diagnostic classification between FFR and iFR, which correlates well with similar trials.^{4,9}

Table 3. Predictors for FFRp/iFRn According to Angiographic Parameters

Parameters included in model	Unstandardized coefficient B	SE	Wald	P value for significance
Proximal location	-0.09	0.183	0.23	0.63
Diameter stenosis	0.005	0.008	0.36	0.55
Lesion location in Right coronary artery	0.75	0.195	14.7	0.0001
Tandem lesion	0.153	0.21	0.51	0.48

Model for prediction of FFRp/iFRn type of discrepancy. Nagelkerke R Square 0.029. Hosmer-Lemeshow test: chi-square 9673, P value 0.289. CFR indicates coronary flow reserve; FFR indicates fractional flow reserve; iFR, instantaneous wave-free ratio; n, negative; and p, positive.

Table 4. Predictors for the FFRp/iFRn Type of Discrepancy

Parameters included in model	Unstandardized coefficient B	SE	Wald	Significance
Sex	0.66	0.22	9.4	0.002
Age	-0.02	0.009	7.1	0.008
Using beta blockers	-0.21	0.17	1.43	0.23
Ejection fraction of left ventricle	0.01	0.008	2.27	0.13

Model for prediction of FFRp/iFRn type of discrepancy. Nagelkerke R Square 0.037. Hosmer-Lemeshow test: chi-square 14 923, *P* value 0.061. FFR indicates fractional flow reserve; iFR, instantaneous wave-free ratio; n, negative; and p, positive.

The FFRp/iFRn Type of Discrepancy

The CFR value in FFRp/iFRn lesions was significantly higher compared with both FFRp/iFRp and FFRn/iFRn lesions. CFR correlated more closely with iFR than with FFR. Very similar results were found in a study done by Cook et al, who analyzed a similar group of patients (301 patients, mean age 60 years, 4% of patients with ACS).¹⁰ They found a higher CFR value in FFRp/iFRn when compared with CFR in FFRp/iFRp lesions. Unlike our results, they found the same CFR values in FFRp/iFRn and FFRn/iFRn. This difference can be caused by lower CFR values in FFRn/iFRn lesions in our data set as compared with Cook et al (1.8 versus 2.41). Reasons for lower CFR in our population can be explained by the greater age of patients (68 versus 60 years), the higher occurrence of diabetes (38.9% versus 22%), and the higher proportion of patients with ACS (13.3% versus 4%) compared with the population in the study done by Cook et al. When we compared patients with negative results for both FFR and iFR with the FFRp/iFRn type of discrepancy, we found a lower age (70.6±9.7 versus 66.9±9.6, *P*<0.001), a higher proportion of ACS (127, 19.8% versus 5, 1.9%, *P*<0.001), and a trend toward a higher occurrence of diabetes (254, 39.6% versus 86, 33.2%, *P*=0.07) in the discrepancy group. All of these factors increase microvascular resistance and, as a result, decrease CFR.

Higher coronary flow in the FFRp/iFRn type of discrepancy was also found in the JUSTIFY-CFR (Joined Coronary Pressure and Flow Analysis to Determine Diagnostic Characteristics of Basal and Hyperemic Indices of Functional Lesion Severity-Coronary Flow Reserve) study,¹¹ where Petraco et al demonstrated a closer correlation between iFR and CFR compared with FFR and CFR, using data from an analysis of 216 stenoses. Hwang

et al,¹² found higher sensitivity and specificity of iFR over FFR when compared with the “gold standard” of ¹³N-ammonia positron emission tomography CFR.

The higher CFR values found in FFRp/iFRn lesions can be explained by the known fact that coronary flow can be substantially increased—during adenosine administration—only in nonflow limiting lesions.^{13,14} CFR reflects both epicardial stenosis severity and microvascular functions. Well-preserved microvascular functions are essential for an adequate response to drugs causing vasodilatation. Pressure gradient across stenosis is related to the level of coronary flow. Even a nonsignificant pressure gradient can become significant in a case of high flow. The higher the level of flow achieved, the higher the pressure gradient found.

Age, sex (male), and location of a lesion in the RCA were found to be associated with the FFRp/iFRn discrepancy in models predicting this type of discrepancy. A higher occurrence of the FFR/iFR discrepancy in the RCA was also found in other studies.^{15,16} Explanation could be a different type of coronary flow in RCA, where maximum coronary flow can occur during late systole or early diastole, instead of mid-diastole where iFR is measured. However, this problem has not been solved yet. Kobayashi et al published a study showing a higher rate of FFR/iFR discrepancy in the left main and proximal left anterior descending artery.¹⁷

A younger age—compared with the agreement group—in patients with the FFRp/iFRn type of discrepancy was also found in studies by Lee¹⁸ and Derimay,¹⁹ which is probably related to a higher CFR in younger people. Derimay¹⁹ also revealed the FFRp/iFRn discrepancy to be more frequent in proximal lesions, which we did not confirm.

Table 5. Predictors for FFRn/iFRp Type of Discrepancy

Parameters included in model	Unstandardized coefficient B	SE	Wald	Significance
Weight	-0.01	0.008	3.16	0.08
Using diuretics	0.5	0.29	2.9	0.09
Hemoglobin, g/L	-0.01	0.007	3.9	0.05
Smoking	0.67	0.29	5.4	0.02
Chronic kidney disease	0.89	0.37	5.8	0.02

Model for prediction of FFRn/iFRp type of discrepancy. Nagelkerke R Square 0.098. Hosmer-Lemeshow test: chi-square 3549, *P* value 0.895. FFR indicates fractional flow reserve; iFR, instantaneous wave-free ratio; n, negative; and p, positive.

Table 6. Predictors for FFRp/iFRn Type Discrepancy Among Patients With any Type of Discrepancy

Parameters included in model	Unstandardized coefficient B	SE	Wald	Significance
Sex	1.033	0.44	5.4	0.07
Beta blockers	-0.15	0.43	0.13	0.73
Diuretics	-0.87	0.39	4.9	0.03
Chronic kidney disease	-1.38	0.63	4.8	0.03

Model for prediction of FFRn/iFRp type of discrepancy. Nagelkerke *R* Square 0.18. Hosmer-Lemeshow test: chi-square 2517, *P* value 0.867. FFR indicates fractional flow reserve; iFR, instantaneous wave-free ratio; n, negative; and p, positive.

The FFRp/iFRn type of discrepancy was found to be more frequent in men. Higher FFR values in women, along with similar iFR and CFR values in both sexes, were also found in a study recently published by Yonetsu et al.²⁰ They found the FFRp/diastolic pressure ratio with negative finding discrepancy to be less frequent in women than in men (diastolic pressure ratio is equivalent to iFR²¹). Our finding of a higher occurrence of the FFRp/iFRn type of disagreement in men also correlates with a study done by Lee et al.¹⁸ Moreover, higher FFR values in women, and similar iFR values in women and men, have also been found in other trials.^{22–24}

The FFRn/iFRp Type of Discrepancy

The FFRn/iFRp lesions exhibited lower CFR values compared with FFRn/iFRn lesions, and the same CFR values as lesions with both positive FFR and iFR examinations. Similar results were found by Cook et al.¹⁰

Increased microvascular resistance, which can be identified by a lower CFR value, caused a relatively higher FFR than iFR for lower reaction to administered adenosine. This fact leads to more frequent finding of FFRn/iFRp discrepancy in such patients.²⁵

Unlike the FFRp/iFRn type of discrepancy, the FFRn/iFRp type was less frequent in RCA (18 lesions, 5.0%) versus left coronary artery (115 lesions, 8.6%), *P*=0.043, and this type of discrepancy was found more often in LAD territory, compared with other coronary arteries (97 lesions, 9.9% versus 32 lesions 5.1%, *P*=0.0006). LAD dominance in the FFRn/iFRp type of discrepancy was also found in a study done by Derimay.¹⁹

Table 7. FFR/iFR Discrepancy and Type of Polymorphism in Genes for ENOS and HO-1

	FFR/iFR discrepancy	FFR/iFR agreement	<i>P</i> value
ENOS _r	37 (55.2%)	75 (49.3%)	0.42
HO-1 _r	21 (31.3%)	39 (25.6%)	0.39
ENOS _r and HO-1 _r	10 (14.9%)	18 (11.8%)	0.53
ENOS _p and HO-1 _p	19 (28.4%)	56 (36.8%)	0.22

ENOS indicates endothelial nitric oxide synthase; FFR, fractional flow reserve; HO-1, heme oxygenase-1; and iFR, instantaneous wave-free ratio. Indexes "r" and "p" represents risk and protective type of gene polymorphisms.

Multivariable logistic regression analysis confirmed associations between hemoglobin level, smoking, and the presence of CKD and the FFRn/iFRp type of discrepancy.

One possible explanation for the lower hemoglobin level in patients with the FFRn/iFRp type of discrepancy may be increased blood flow in patients with chronic anemia. This increased blood flow causes a greater loss of translesional pressure, (especially in diastole) and leads to more positive iFR.²⁶ In a study done by Östlund-Papadogeorgos et al.,²⁷ lower intramyocardial resistance was found in patients with lower hemoglobin levels, and a higher occurrence of the FFRn/iFRp discrepancy in patients with lower hemoglobin level was found in studies published by Kato et al.²⁸ and Muroya et al.²⁶

We found a higher occurrence of the FFRn/iFRp type of polymorphism in patients with CKD. This type of patient is known to have a higher index of microcirculatory resistance, worse endothelial function, and lower FFR values compared with patients with preserved renal function.^{29,30} A worse correlation between FFR and myocardial perfusion scintigraphy³¹ was found in patients with CKD. Basal coronary flow is probably not affected as much as hyperemic, which could be one of the reasons for the FFRn/iFRp type of discrepancy in patients with CKD. This finding has also been found in other trials.^{27,32}

It is very well known that smoking is a factor that strongly contributes to endothelial dysfunction, mainly through a decrease in the availability of nitric oxide (NO).³³ So, it is not surprising to find that smoking is associated with the FFRn/iFRp discrepancy, which is primarily caused by endothelial dysfunction. However, the number of smokers did not significantly differ between the FFR/iFR agreement and the FFR/iFR discrepancy groups in studies by Lee¹⁸ and Derimay.¹⁹ Therefore, the relationship between smoking and the FFRn/iFRp discrepancy remains unclear.

The rate of FFR/iFR discrepancy did not differ in patients with either risk or protective type of polymorphisms in ENOS/HO-1 genes. However, we found significantly more frequent FFRn/iFRp type of discrepancy, compared with FFRp/iFRn one, in patients with risk type of polymorphism in both genes. This difference was caused by higher FFR values and subsequently lower iFR/FFR difference in patients with ENOS_r and HO-1_r, compared with those with both protective polymorphisms or with risk

polymorphism in only 1 gene. Lower iFR/FFR difference in patients with risk types of polymorphisms was probably caused by worse endothelial functions in such patients.

The ENOS G894T polymorphism has been shown to be associated with decreased NO production in endothelial cells, under basal conditions and in response to shear stress.³⁴ We hypothesize that endothelial dysfunction, caused by impaired ENOS function, can lead to a decreased reaction to adenosine administration.

Adenosine-induced vasodilation is, at least partly, NO dependent.³⁵ Adenosine enhances the release of NO from endothelial cells via the adenosine 2A receptor.³⁶ Naber et al.⁸ found nonsignificant lower basal and hyperemic flow in patients with the risk type of polymorphism in the ENOS gene, in a study assessing coronary flow by Doppler measurement in 97 patients. Lower hyperemic flow in patients with a lower level of ENOS gene activity could decrease endothelial reaction to administered adenosine. HO-1 enhances ENOS activation and prevents ENOS uncoupling, thereby acting to preserve adequate NO production, and thus endothelial function.^{37,38} Under these conditions, HO-1 enhances eNOS activation and prevents eNOS uncoupling, thereby acting to preserve adequate NO production and thus endothelial function.³⁷ This can be a possible explanation for the higher occurrence of the FFRn/iFRp discrepancy among patients with both genetic polymorphisms.

Before any clinical implications are assumed, these results must first be confirmed in other trials. In the event of confirmation, the possibility to prefer iFR measurement over FFR, in patients with the risk type of polymorphism in the gene for ENOS, could be opened. But, more than implications for clinical practice, these findings show the complexity of coronary circulation and contributing factors.

The Comparison of FFRp/iFR and FFRn/iFRp Type of Discrepancies

In a comparison of patients with FFRp/iFRn and patients with FFRn/iFRp, we found differences similar to those in comparisons between patients with FFRn/iFRp and the agreement group. Additional differences were found: a higher occurrence of diabetes and a higher number of patients treated with beta blockers. However, they were not confirmed in multivariable regression analysis.

It is not surprising that diabetes—a known factor for impaired microvascular function—was found more frequently in patients with the FFRn/iFRp type of discrepancy. Both Derimay¹⁹ and his group and Arashi et al.³² found this difference, too.

A higher occurrence of treatment with beta blockers in patients with the FFRn/iFRp discrepancy, compared with patients with the FFRp/iFRn discrepancy is interesting. Ebihara et al.³⁹ showed a negative correlation

between rate pressure product (calculated as systolic blood pressure multiplied by heart rate) and iFR, but not with FFR. This means that patients with a high rate pressure product had relatively lower iFR compared with FFR value. This can be an indirect marker of the FFRn/iFRp type of discrepancy. A higher heart rate in patients with FFRn/iFRp compared with patients with FFRp/iFRn was confirmed in a study by Arashi et al. Patients usually do not take peroral medication on the day of the procedure, so patients who have not taken their beta blockers might have a higher relative blood pressure and heart rate (as a result of small rebound phenomenon), compared with patients without this kind of medication. Unfortunately, we did not analyze systolic blood pressure and heart rate in our study, so we cannot prove this hypothesis.

CONCLUSIONS

The main finding of the FIGARO trial is a 21% disagreement between FFR and iFR measurements. This was caused by well-preserved endothelial function enabling a substantial increase of flow across a stenosis in the FFRp/iFRn discrepancy and inadequate vasodilation after the administration of hyperemic drugs, leading to the FFRn/iFRp discrepancy. The FFRp/iFRn discrepancy can be found in lesions located in the RCA, coronary territory with a preserved CFR, in younger patients, and more frequently in men than in women. The FFRn/iFRp discrepancy type is probably caused by nonadequate endothelial reaction to vasodilatation drugs and can be found in carriers of the risk type of polymorphism in the gene for ENOS and HO-1, in smokers, and in patients with CKD. These results should be taken into consideration during the assessment of coronary physiology, especially in cases with FFR/iFR discrepant measurements.

Limitations

One of the main study limitations is the low number of patients included in genetic subanalysis. Therefore, the relationship between the FFRn/iFRp discrepancy and genetic polymorphisms in the genes for ENOS and HO-1 is only an interesting association, which must be confirmed in a larger trial. The relatively low value of flow measurements (compared with total FFR/iFR examinations) is comparable to other, similar trials. The CFR value was surprisingly low in the FFRn/iFRn group, which shows quite frequent microvascular dysfunction in such patients, but this finding probably reflects the clinical reality in patients with coronary artery disease.

Another limitation is the possible influence of pressure drift. Although testing of pressure drift (and a repeat of the measurement if the pressure drift exceeds 0.05) was strongly recommended, this step was not reported. Analysis of both patients with chronic coronary syndromes and ACS in 1 cohort was used to

analyze possible contributors for the FFR/iFR discrepancy in a whole spectrum of clinical scenarios. It is one of the study limitations. However, this approach was also used in other trials comparing FFR/iFR.^{2,3,18,19}

Another limitation is the presence of 2 different types of FFR/iFR discrepancy in 2 different vessels. Such lesions were analyzed separately in *per-lesion* analysis. For *per-patient* analysis, we chose the more significant of the discrepancies. However, this situation occurred in only 3 patients out of the whole cohort.

ARTICLE INFORMATION

Received March 2, 2021; accepted February 10, 2022.

Affiliations

2nd Department of Medicine, Department of Cardiovascular Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic (T.K., A.K., S.J., D.Z., J.P., A.L.); Gifu Heart Center, Gifu, Japan (M.H., Y.K., H.O., T.T.); Cardiology Department of Trinec Podlesi Hospital, Trinec, Czech Republic (A.V.); Cardiovascular Department, University Hospital Ostrava, Ostrava, Czech Republic (M.B., J.M., M.P., T.G.); Department of Internal Medicine and Cardiology, University Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, Brno, Czech Republic (R.S., P.K.); Cardiology Department, Municipal Hospital Ostrava, Ostrava, Czech Republic (K.N.); Fundacion Favalaro, Buenos Aires, Argentina (O.M.); Cardiology Department, Homolka Hospital, Prague, Czech Republic (K.K., M.M.); Institute for Research and Development of Education, Faculty of Education, Charles University, Prague, Czech Republic (M.C.); Department of Electrical & Computer Engineering, Iowa Institute for Biomedical Imaging, The University of Iowa, IA (Z.C.); and Department of Paediatrics and Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University, General University Hospital, Prague, Czech Republic (P.M.).

APPENDIX

List of FIGARO Investigators

2nd Department of Medicine - Department of Cardiovascular Medicine, First Faculty of Medicine, Prague Czech Republic:

-Tomas Kovarnik, Ales Kral, Stepan Jerabek, David Zemanek, Jan Pudil, Jiri Humhal, Karel Gorican, Michael Padour, Stanislav Šimek, Jan Belohlavek, Daniel Rob, Michaela Hronova, Ales Kral

Gifu Heart Center, Gifu, Japan

-Matsuo Hitoshi, Yoshiaki Kawase, Hiroyuki Omori, Toru Tanigaki

Cardiology Dpt. of Trinec Podlesi Hospital, Trinec, Czech Republic

-Alexandra Vodzinska, Jindrich Cerny, Jan Indrak, Miroslav Hudec

Cardiovascular Department, University Hospital Ostrava, Czech Republic

-Marian Branny, Jan Mrozek, Martin Porzer, Tomas Grezl

Department of Internal Medicine and Cardiology, University Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University Brno, Czech Republic

-Roman Stipal, Petr Kala, Jan Kanovsky, Otakar Bocek, Martin Poloczek, Petr Jerabek

Cardiology Department, Municipal Hospital Ostrava, Czech Republic

-Kamil Novobilsky, Tomas Kolomaznik
Fundacion Favalaro, Buenos Aires, Argentina

-Oscar Mendiz

Cardiology Department, Homolka Hospital, Prague, Czech Republic

-Karel Kopriva, Martin Mates, Frantisek Holy
Institute for Research and Development of Education,
Faculty of Education, Charles University, Czech Republic

-Martin Chval

Dept. of Electrical & Computer Engineering and Iowa
Institute for Biomedical Imaging, The University of
Iowa, Iowa City IA, USA

-Zhi Chen

Department of Paediatrics and Inherited Metabolic
Disorders, First Faculty of Medicine, Charles
University, and General University Hospital, Prague,
Czech Republic

-Pavel Martasek, Lubomir Kralik

Sources of Funding

This study was supported, in part, by the Czech Health Research Council (AZV 16-28525A), and by a grant from Charles University, in Prague, project GA UK No. 191415. P.M. and A.L. were also supported by Technology Agency of the Czech Republic No. TN01000013.

Disclosures

None.

Supplemental Material

Data S1


Table S1

REFERENCES

- Park S-J, Kang S-J, Ahn J-M, Shim EB, Kim Y-T, Yun S-C, Song H, Lee J-Y, Kim W-J, Park D-W, et al. Visual-functional mismatch between coronary angiography and fractional flow reserve. *JACC*. 2012;5:1029–1036. doi: 10.1016/j.jcin.2012.07.007
- Davies JE, Sen S, Dehbi H-M, Al-Lamee R, Petraco R, Nijjer SS, Bhandi R, Lehman SJ, Walters D, Sapontis J, et al. Use of the instantaneous wave-free ratio or fractional flow reserve in PCI. *N Engl J Med*. 2017;376:1824–1834. doi: 10.1056/NEJMoa1700445
- Götberg M, Christiansen EH, Gudmundsdottir IJ, Sandhall L, Danielewicz M, Jakobsen L, Olsson S-E, Öhagen P, Olsson H, Omerovic E, et al.; for the iFR-SWEDEHEART Investigators. Instantaneous wave-free ratio versus fractional flow reserve to guide PCI. *N Engl J Med*. 2017;376:1813–1823. doi: 10.1056/NEJMoa1616540
- Jeremias A, Maehara A, Généreux P, Asrress KN, Berry C, De Bruyne B, Davies J, Escaned J, Fearon W, Gould L, et al. Multicenter core laboratory comparison of the instantaneous wave-free ratio and resting PD/PA with fractional flow reserve: the RESOLVE study. *JACC*. 2014;63:1253–1261. doi: 10.1016/j.jacc.2013.09.060
- Daiber A, Xia N, Steven S, Oelze M, Hanf A, Krölller-Schön S, Münzel T, Li H. New therapeutic implications of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease. *Int J Mol Sci*. 2019;20:E187. doi: 10.3390/ijms20010187
- Kishimoto Y, Kondo K, Momiyama Y. The protective role of heme oxygenase-1 in atherosclerotic diseases. *Int J Mol Sci*. 2019;20:E3628. doi: 10.3390/ijms20153628
- Balligand JL, Feron O, Dessy C. eNOS activation by physical forces: from short-term regulation of contraction to chronic remodeling of cardiovascular tissues. *Physiol Rev*. 2009;89:481–534. doi: 10.1152/physrev.00042.2007

8. Naber CK, Baumgart D, Altmann C, Siffert W, Erbel R, Heusch G. eNOS 894T allele and coronary blood flow at rest and during adenosine-induced hyperemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;281:H1908–H1912. doi: 10.1152/ajpheart.2001.281.5.H1908
9. Rosa S, Polimeni A, Petraco R, Davies JE, Indolfi C. Diagnostic performance of the instantaneous wave-free ratio comparison with fractional flow reserve. *Circ Cardiovasc Interv*. 2018;11:e004613. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.116.004613
10. Cook CH, Jeremias A, Petraco R, Sen S, Nijjer S, Shun-Shin M, Ahmad Y, de Waard G, van de Hoef T, Echavarría-Pinto M, et al. Fractional flow reserve/instantaneous wave-free ratio discordance in angiographically intermediate coronary stenoses: an analysis using Doppler-derived coronary flow measurements. *JACC*. 2017;10:2514–2524. doi: 10.1016/j.jcin.2017.09.021
11. Petraco R, van de Hoef TP, Nijjer S, Sen S, van Lavieren MA, Foale RA, Meuwissen M, Broyd C, Echavarría-Pinto M, Foin N, et al. Baseline instantaneous wave-free ratio as a pressure-only estimation of underlying coronary flow reserve: results of the JUSTIFY-CFR Study. *Circ Cardiovasc Interv*. 2014;7:492–502. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.113.000926
12. Hwang D, Jeon K-H, Lee JM, Park J, Kim CH, Tong Y, Zhang J, Bang J-I, Suh M, Paeng JC, et al. Diagnostic performance of resting and hyperemic invasive physiological indices to define myocardial ischemia. Validation with ¹³N-ammonia positron emission tomography. *JACC*. 2017;10:751–760. doi: 10.1016/j.jcin.2016.12.015
13. Uren NG, Melin JA, De Bruyne B, Wijns W, Baudhuin T, Camici PG. Relation between myocardial blood flow and the severity of coronary artery stenosis. *N Engl J Med*. 1994;330:1782–1788. doi: 10.1056/NEJM199406233302503
14. Sen S, Asrress KN, Nijjer S, Petraco R, Malik IS, Foale RA, Mikhail GW, Foin N, Broyd C, Hadjiiozou N, et al. Diagnostic classification of the instantaneous wave-free ratio is equivalent to fractional flow reserve and is not improved with adenosine administration. Results of CLARIFY (Classification Accuracy of Pressure-Only Ratios Against Indices Using Flow Study). *JACC*. 2013;61:1409–1420. doi: 10.1016/j.jacc.2013.01.034
15. Gore A, Ahn JM, van 't Veer M, Jeremias A, Watkins S, Berry C, Oldroyd K, Hennigan B, Crowley A, Maehara A, et al. Diagnostic accuracy of iFR versus FFR in the left versus right coronary artery. *JACC*. 2018;72(Suppl B), B66,TCT-154. doi: 10.1016/j.jacc.2013.09.060
16. Svaneerud J, Ahn J-M, Jeremias A, van 't Veer M, Gore A, Maehara A, Crowley A, Pijls NHJ, De Bruyne B, Johnson NP, et al. Validation of a novel non-hyperaemic index of coronary artery stenosis severity: the Resting Full-cycle Ratio (VALIDATE RFR) study. *EuroIntervention*. 2018;14:806–814. doi: 10.4244/EIJ-D-18-00342
17. Kobayashi Y, Johnson N, Berry C, De Bruyne B, Gould L, Jeremias A, Oldroyd K, Pijls N, Fearon W; CONTRAST Study Investigators. The influence of lesion location on the diagnostic accuracy of adenosine-free coronary pressure wire measurements. *JACC CV Interv*. 2016;9:2390–2399. doi: 10.1016/j.jcin.2016.08.041
18. Lee JM, Shin ES, Nam CHW, Doh JH, Hwang D, Park J, Kim KJ, Zhang J, Ahn CH, Koo BK. Discrepancy between fractional flow reserve and instantaneous wave-free ratio: clinical and angiographic characteristics. *Int J Cardiol*. 2017;245:63–68. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.07.099
19. Dérimey F, Johnson NP, Zimmermann FM, Adjedj J, Witt N, Hennigan B, Koo B-K, Barbato E, Esposito G, Trimarco B, et al. Predictive factors of discordance between the instantaneous wave-free ratio and fractional flow reserve. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2019;94:356–363. doi: 10.1002/ccd.28116
20. Yonetsu T, Hoshino M, Lee T, Murai T, Sumino Y, Hada M, Yamaguchi M, Kanaji Y, Sugiyama T, Niida T, et al. Impact of sex difference on the discordance of revascularization decision making between fractional flow reserve and diastolic pressure ratio during the wave-free period. *J Am Heart Assoc*. 2020;9:e014790. doi: 10.1161/JAHA.119.014790
21. Van't Veer M, Pijls NHJ, Hennigan B, Watkins S, Ali ZA, De Bruyne B, Zimmermann FM, van Nunen LX, Barbato E, Berry C, Oldroyd KG. Comparison of different diastolic resting indexes to iFR: are they all equal? *JACC*. 2017;70:3088–3096. doi: 10.1016/j.jacc.2017.10.066
22. Kim CH, Koo BK, Dehbi HM, Lee JM, Doh JH, Nam CW, Shin ES, Cook CM, Al-Lamee R, Petraco R, et al. Sex differences in instantaneous wave-free ratio or fractional flow reserve-guided revascularization strategy. *JACC*. 2019;12:2035–2046. doi: 10.1016/j.jcin.2019.06.035
23. Kim HS, Tonino PA, De Bruyne B, Yong AS, Tremmel JA, Pijls NH, Fearon WF; FAME Study Investigators. The impact of sex differences on fractional flow reserve-guided percutaneous coronary intervention: a FAME (Fractional Flow Reserve Versus Angiography or Multivessel Evaluation) substudy. *JACC*. 2012;5:1037–1042. doi: 10.1016/j.jcin.2012.06.016
24. Hirata K, Shimada K, Watanabe H, Muro T, Yoshiyama M, Takeuchi K, Hozumi T, Yoshikawa J. Modulation of coronary flow velocity reserve by gender, menstrual cycle and hormone replacement therapy. *JACC*. 2001;38:1879–1884. doi: 10.1016/S0735-1097(01)01658-8
25. Ge X, Liu Y, Yin Z, Tu S, Fan Y, Vassilevski Y, Simakov S, Liang Y. Comparison of Instantaneous Wave-Free Ratio (iFR) and Fractional Flow Reserve (FFR) with respect to their sensitivities to cardiovascular factors: a computational model-based study. *J Invasive Cardiol*. 2020;2020:4094121. doi: 10.1155/2020/4094121
26. Muroya T, Kawano H, Hata S, Shinboku H, Sonoda K, Kusumoto S, Eto R, Otsuka K, Maemura K. Relationship between resting full-cycle ratio and fractional flow reserve in assessments of coronary stenosis severity. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2020;96:E432–E438. doi: 10.1002/ccd.28835
27. Östlund-Papadogeorgos N, Ekenbäck CH, Jokhaji F, Mir-Akbari H, Witt N, Jernberg T, Wallén H, Linder R, Törnerud M, Samad B, et al. Blood haemoglobin, renal insufficiency, fractional flow reserve and plasma NT-proBNP is associated with index of microcirculatory resistance in chronic coronary syndrome. *Int J Cardiol*. 2020;317:1–6. doi: 10.1016/j.ijcard.2020.05.037
28. Kato Y, Dohi T, Chikata Y, Fukase T, Takeuchi M, Takahashi N, Endo H, Nishiyama H, Doi S, Okai I, et al. Predictors of discordance between fractional flow reserve and resting full-cycle ratio in patients with coronary artery disease: evidence from clinical practice. *J Cardiol*. 2021;77(3):313–319. doi: 10.1016/j.jcc.2020.10.014
29. Tebaldi M, Biscaglia S, Fineschi M, Manari A, Menozzi M, Secco GG, Di Lorenzo E, D'Ascenzo F, Fabbian F, Tumscitz C, et al. Fractional flow reserve evaluation and chronic kidney disease: analysis from a multicenter Italian registry (the FREAK Study). *Catheter Cardiovasc Interv*. 2016;88:555–562. doi: 10.1002/ccd.26364
30. Sumida H, Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sugamura K, Nozaki T, Akiyama E, Ohba K, Konishi M, Matsubara J, Fujisue K, et al. Pre-procedural peripheral endothelial function is associated with increased serum creatinine following percutaneous coronary procedure in stable patients with a preserved estimated glomerular filtration rate. *J Cardiol*. 2017;70:461–469. doi: 10.1016/j.jcc.2017.03.004
31. Hirose K, Chikamori T, Hida S, Tanaka N, Yamashita J, Igarashi Y, Saitoh T, Tanaka H, Yamashina A. Application of pressure-derived myocardial fractional flow reserve in chronic hemodialysis patients. *J Cardiol*. 2018;71:52–58. doi: 10.1016/j.jcc.2017.05.007
32. Arashi H, Satomi N, Ishida I, Soontomdhada K, Ebihara S, Tanaka K, Otsuki H, Nakao M, Jujo K, Yamaguchi J, et al. Hemodynamic and lesion characteristics associated with discordance between the instantaneous wave-free ratio and fraction flow reserve. *J Interv Cardiol*. 2019;2019:3765282. doi: 10.1155/2019/3765282
33. Powel J, Higman D. Smoking, nitric oxide and the endothelium. *Br J Surg*. 1994;81:785–787. doi: 10.1002/bjs.1800810602
34. Joshi MS, Mineo C, Shaul PW, Bauer JA. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear. *FASEB J*. 2007;21:2655–2663. doi: 10.1096/fj.06-7088com
35. Jones CJ, Kuo L, Davis MJ, DeFily DV, Chilian WM. Role of nitric oxide in the coronary microvascular responses to adenosine and increased metabolic demand. *Circulation*. 1995;9:1807–1813. doi: 10.1161/01.CIR.91.6.1807
36. Li J, Fenton RA, Wheeler HB, Powell CC, Peyton BD, Cutler BS, Dobson JG Jr. Adenosine A2a receptors increase arterial endothelial cell nitric oxide. *J Surg Res*. 1998;80:357–364. doi: 10.1006/jsre.1998.5439
37. Wu W, Geng P, Zhu J, Li J, Zhang L, Chen W, Zhang D, Lu Y, Xu X. KLF2 regulates eNOS uncoupling via Nrf2/HO-1 in endothelial cells under hypoxia and reoxygenation. *Chem Biol Interact*. 2019;305:105–111. doi: 10.1016/j.cbi.2019.03.010
38. Daiber A, Xia N, Steven S, Oelze M, Hanf A, Kröller-Schön S, Münzel T, Li H. New therapeutic implication of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease. *Int J Mol Sci*. 2019;20:E187. doi: 10.3390/ijms20010187
39. Ebihara S, Otsuki H, Arashi H, Yamaguchi J, Hagiwara N. Rate Pressure products affect the relationship between the fractional flow reserve and instantaneous wave-free ratio. *J Interv Cardiol*. 2020;2020:6230153. doi: 10.1155/2020/6230153

Technical aspects and limitations of fractional flow reserve measurement

Stepan Jerabek and Tomas Kovarnik 

2nd Department of Cardiovascular Medicine, 1st Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Praha, Czech Republic

ABSTRACT

Background: The only indication for coronary revascularization is elimination of ischaemia. Invasive hemodynamic methods (fractional flow reserve – FFR and instantaneous wave-free ratio (iFR)) are superior to coronary angiography in detection of lesions causing myocardial ischaemia. Current European guidelines for myocardial revascularization recommend using of FFR for detection of functional assessment of lesions severity in category IA and number of these procedures increases. However, routine usage of these methods requires knowledge of technical requirements and limitations.

Aim: The aim of the study is to summarise good clinical practice for FFR and iFR measurements with explanation of possible technical challenges, that are necessary for increasing of measurement accuracy.

Conclusions: Authors describe frequent technical mistakes and malpractice during invasive assessment of lesion severity in coronary arteries.

ARTICLE HISTORY

Received 16 January 2018
Accepted 20 February 2018

KEYWORDS

Fractional flow reserve; instantaneous wave-free ratio; coronary artery disease

“Everything should be made as simple as possible, but not simpler” A. Einstein

Background

Fractional flow reserve received category IA in current European guidelines [1] for identification of hemodynamically relevant coronary lesions in stable patients when evidence of ischaemia is not available. Although this technique looks simple, it can be affected by many technical aspects, which must be fully understood and respected to obtain correct results.

Surprisingly, it was Andreas Grüntzig – the father of coronary angioplasty – who first performed a hemodynamic assessment of lesion severity, in the early 1970s. He demonstrated a decrease in the pressure gradient across the stenosis, both before and after balloon dilation [2]. This method fell into oblivion because of technical difficulties with the transmission of intracoronary blood pressure. It was re-discovered by teams lead by Bernard de Bruyne and Nico Pijls, who together developed the concept of fractional flow reserve in 1993 [3–5]. Technical improvements in intracoronary pressure conductors, together with results from many studies, helped the fractional flow reserve become the gold standard for invasive evaluation of the functional significance of coronary stenosis [6–10].

This was confirmed in the 2014 European guidelines for myocardial revascularization, where the FFR assessment of coronary stenosis received a ‘IA’ level of evidence, and FFR guidance of PCI, a IIA level of evidence [1]. In recent years, the iFR (instantaneous wave-free ratio) method has begun to be used together with FFR. This type of examination uses measurement of a static gradient during the stage of physiologically present low level microvascular resistance. Therefore it does not require the administration of a hyperaemic stimulus. The iFR examination evaluates the difference between proximal and distal pressures in only the middle part of the diastole, and not the mean pressure throughout the course of the heart cycle, as in the FFR. Recently, two large studies have been published demonstrating identical patient outcomes from the use of both FFR and iFR [11,12]. The aim of this paper is to highlight some of the technical aspects of the FFR/iFR methods, and the most common errors that can occur during their routine clinical use.

Measurement methodology

The measurement of pressure gradients is performed using an intracoronary wire, equipped with a pressure sensor located 3 cm proximal to the end of the wire.

This wire is introduced into the coronary artery through a guiding catheter.

At the beginning of the measurement, anticoagulants (Heparin i.v. at 100 IU/kg) and nitrate – to prevent spasms of the epicardial vessel (Isosorbide dinitrate 200–300 µg i.c.) – are given. Prior to the introduction of the wire, the guiding catheter and the pressure transducer are reset to atmospheric pressure. A pressure wire is then introduced into the guiding catheter with the sensor of pressure wire located at its distal end. After removing the introduction needle and flushing the catheter with a sufficient quantity of saline, the values of the proximal pressure P_a and the distal pressure P_d are equalised. The pressure wire sensor is advanced distally to the stenosis and, prior to the start of the measurement, the insertion needle is carefully removed and flushed with normal saline.

The proximal (intra-aortic) pressure must be carefully checked, to avoid dumping pressure by introducing the guiding catheter to the ostial stenosis. In such cases, both proximal and distal (intracoronary) pressure may be significantly reduced and lead to an incorrect interpretation of the stenosis. In the event an ostial lesion is present, the guiding catheter must be placed outside the ostium, and hyperaemia must be induced by intravenous adenosine [13].

Hyperaemia is induced by intracoronary administered adenosine. Originally recommended i.c. bolus doses are 80 µg administered to the left coronary artery, 40–80 µg to the right coronary artery, or continuous intravenous infusion (140 µg/kg/min i.v.). Today, higher doses are often administered, up to 240 µg to both the coronary arteries. Maximum hyperaemia is indicated by achievement of a steady state by the FFR value, and, when the bolus is administered, by the deviation between the individual measurements not being greater than 0.01. Higher deviations may mean either a technical measurement error or, more frequently, non-uniform vasodilation of microcirculation.

At the end of the measurement, the operator should check for the presence of pressure drift by withdrawing the pressure wire back to the guiding catheter. In the absence of pressure drift, both pressure readings are equal, i.e. resting P_d/P_a equal to 1.0, whereby a maximum deviation of ± 2 mmHg is tolerated. The individual steps of the measurement are summarised in Table 1.

Problems associated with arterial pressure measurement

Some basic physical principles need to be elucidated to better understand possible artefacts and errors in

Table 1. FFR methodology.

Measurement methodology
1. Calibrate the pressure transducer and FFR wire, zero to atmospheric pressure.
2. Administer heparin 100 IU/kg i.v., Isosorbide dinitrate 200–300 µg i.c.
3. Insert the pressure wire into the guide catheter.
4. Remove the insertion needle, tighten the Y-connector and flush catheter with saline.
5. Match the aortic and distal pressure, confirm that P_d/P_a equals 1.0.
6. Advance the wire across the lesion so its tip is 3 cm distal to the lesion.
7. Induce hyperaemia with i.c. or i.v. adenosine.
8. Repeated FFR/IFR measurements.
9. Withdraw the pressure wire back into the catheter and check for pressure drift.

the measurement of aortic pressure (P_a). The aortic pressure wave is transferred through a saline column to the converter, which changes the mechanical energy into an electrical signal, which is amplified, digitised and further processed.

The complex course of the arterial waveform can be decomposed into a series of sinusoidal waves using the Fourier transformation. The sinus wave, with basic frequency, corresponds to the heart rate; other waves are its multiple and are referred to as harmonic ones. At a heart rate of 60/min, the base frequency is 1 Hz, and the frequency of the harmonic waves 2 Hz, 3 Hz, 4 Hz, etc. (Figure 1).

The measuring system – comprising a converter, catheter and pressure tubing – has a natural frequency at which it begins to resonate. In this situation, the transmitted signal is distorted and results in a waveform that does not correspond to the real aortic pressure. For this reason, the natural frequency of the measuring system must sufficiently exceed the harmonic frequency to maintain accuracy at higher heart rates. The pressure waveform is usually reproduced from six to eight harmonic waves. For example, in case of heart rate 180/min, the natural frequency must be at least $(180/\text{min} \times 8 \text{ harmonic waves})/60 \text{ s} = 24 \text{ Hz}$. The natural frequency of the measuring system is determined by the properties of each component. Higher frequencies are achieved by using short, rigid, pressure tubing. On the other hand, the natural frequency is decreased by using compliant tubing of higher length, or by presence of blood clots and air bubbles within the system.

Wave damping is caused by the friction and viscosity of the liquid contained in the catheter. A certain amount of damping is advantageous, as it prevents unwanted oscillations. Inadequate damping, on the other hand, distorts the reproduced aortic pressure. Underdamping leads to excessive system resonance which, in turn, results in overestimation of the systolic, and underestimation of the diastolic, pressures

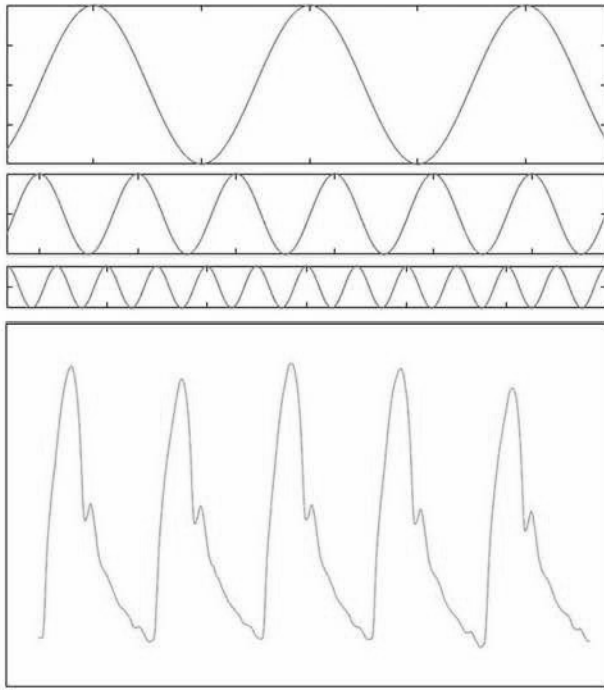


Figure 1. Each complex waveform, for example, a course of aortic pressure, can be composed of a series of sinusoidal waves.

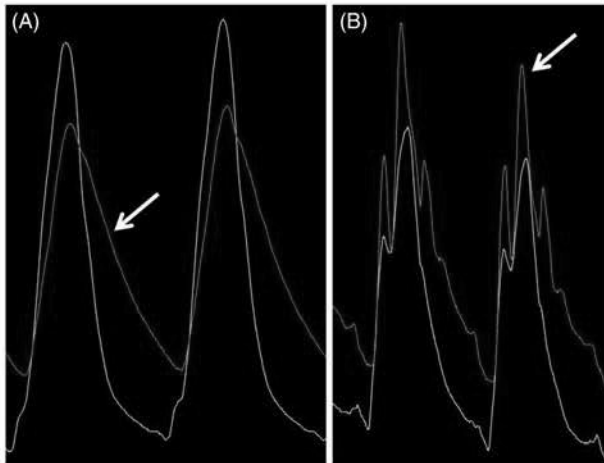


Figure 2. (A) Excessive damping of the aortic pressure waveform due to the presence of a contrast agent in the introduced catheter. P_a achieves unrealistic values lower than P_d . (B) Insufficiently damped waveform with an overstated systolic pressure; opposite, diastolic pressure is underestimated.

In contrast, excessive overdamping leads to the overestimation of the diastolic, and underestimation of the systolic, pressures (Figure 2). In both cases, the mean pressure is influenced to a lesser extent. The critical point is represented by the correct calibration when measuring the iFR rest index, which is calculated only in part of the diastole, where any inaccuracy will have a significant impact on the resulting value.

The fractional flow reserve measurement, calculated from the mean pressure, is less dependent on the system setting, but even here a significant shift in the FFR value appears when the damping is inadequate.

The resonance characteristics of the whole system can be verified by a rapid, short flush with saline and a subsequent evaluation of the number of vibrations that occur immediately after closing the tap. The level of damping is optimal when 1–2 oscillation(s) are seen after a flush from overpressure cuff (300 mmHg). The flush pressure pattern can be described as a square, hence the designation “square wave test”. The absence of oscillations or presence of multiple oscillations is indicative of either excessive or insufficient damping (Figure 3).

As throughout the whole process, it is important here to systematically follow the individual steps of the protocol. Before calibration, it is necessary to rinse the system with saline and perform a visual inspection for the presence of air bubbles. Then to open a tap for zeroing to atmospheric pressure. Due to the different physical properties, it is not acceptable to calibrate the system filled by contrast medium.

The pressure transducer should be placed 5 cm below the sternoclavicular joint. The use of automatic injectors (e.g. Acist CVi) with integrated pressure transducer leads to inappropriate pressure measurement, because this system is placed in a fixed position relative to the table. This means that, for a stand-alone console, the position of the converter must be adjusted manually for every vertical movement of the table. Otherwise, a significant measurement error will occur (Figure 4). For a better understanding, 1 cm of the water column is equivalent to about 0.8 mm of a mercury column. This implies, on the basis of a rough conversion, that a 1 cm change in the reference level (the mutual change of table and pressure transducer) will induce a change in the FFR/iFR of approximately 0.01.

A similar phenomenon may occur in the distal segments of ACD and LCx due to the effects of hydrostatic forces. The position of the pressure sensor changes significantly relative to the heart and FFR is overestimated. In the healthy artery, the ratio of resting P_d/P_a reaches theoretical values higher than 1.0.

Pressure drift

The displacement of the pressure waveform, the so-called pressure drift, is another frequent observation, which has the potential to be easily overlooked. Inherent instabilities in the electrical and thermal properties of the pressure sensors are two main causes of pressure drift. Small temperature changes affect the

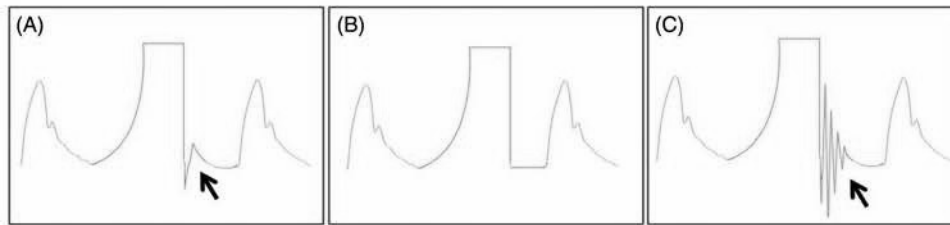


Figure 3. (A) Optimally damped waveform. After opening and immediate closure of the tap, 1–2 oscillation(s) follow before stabilisation. (B) Overdamped waveform. (C) Multiple oscillations indicate insufficient damping.



Figure 4. When using stand-alone (i.e. not mounted to the table) contrast medium injector, such as Acist CVI, pressure transducer must be recalibrated each time the patient is moved up or down so the transducer stays at the level of patient's heart.

resistivity of the piezo-resistive sensor, and therefore the characteristics of the micromanometer. Similar effect has electrical instability of the pressure sensor. Both these properties are physically defined and cannot be eliminated completely. According to US FDA requirements, the inherent drifting of the pressures

must not be more than 5 mmHg/10 min. The most commonly used wire manufacturers (Certus – Abbott, Verrata – Philips-Volcano) report drift values below 7 mmHg/1 h, with optical sensors (e.g. Navvus Microcatheter by Acist company or Comet Conductor by Boston Scientific) providing even lower values

compared to piezo-resistive sensors [14]. Another reason for pressure drift is the accumulation of microscopic air bubbles in the sensor cavity. For this reason it is recommended to wait for 20 to 30 s after pressure equalisation until the bubbles are washed out and re-equalize in case the signal changes [15].

Not removing the insertion needle, or leaving the Y connector open, can also cause an inappropriate pressure measurement. These situations artificially reduce P_a by 5–10 mmHg [16]. The aortic pressure can also be underestimated if the guiding catheter is wedged in the coronary ostium. A higher than real aortic pressure, on the other hand, can be obtained using a side-hole catheter. This is a consequence of the pressure gradient that occurs under certain conditions between the lateral openings and the end of the catheter [17]. The presence of a contrast medium in the catheter leads to significant damping. Therefore, in each phase of calibration or measurement the catheter should be flushed thoroughly with saline. It is also important to ensure that the level of the pressure transducer in relation to the patient does not change during the test.

From a practical point of view, the morphology of the pressure waveform is always a good indicator of the pressure drift. The false positive pressure gradient is characterised by both waveforms having the same shape. The aortic notch persists at the distally measured pressure (P_d), whereas it is erased at the significant stenosis, which acts as a high frequency filter (Figure 5).

The displacement can be excluded if the P_d/P_a value, following the withdrawal of the pressure wire back into the guiding catheter, is 1.0 and both waveforms are of the same shape. The drift by ± 2 mmHg is arbitrarily considered as the maximum deviation tolerance at the end of the measurement. In case of higher values, or doubts, it is necessary to perform re-equalisation and repeat the measurement.

Effect of contrast medium on hyperaemia

Fractional flow reserve requires maximum coronary hyperaemia, which is reached by decreasing microvascular resistance. This situation is induced pharmacologically, most often by adenosine. It is also possible to use a small volume of contrast medium, which induces only submaximal coronary hyperaemia [18]. This must be taken into account when evaluating the iFR resting index. Therefore, after flushing the catheter with saline – to remove all contrast medium – it is necessary to wait for at least 20 s until the effect of the flushed contrast medium fully disappears

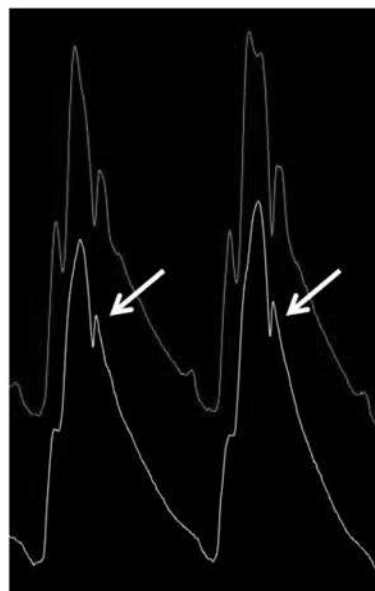


Figure 5. Similar morphology of both waveforms at a pressure drift; the aortic notch persists on the distal pressure waveform.

(Figure 6). Similarly, at the end of the measurement, while checking for possible displacement of the pressure waveforms, it is necessary to wait until the potential pressure gradient induced by contrast hyperaemia – which could be mistakenly assessed as drift – disappears.

Setting of mean pressure calculation

The iFR value is calculated using the mean pressure gradient in the middle part of the diastole of five cardiac cycles. The FFR is calculated from the mean pressure difference. The number of cycles is variable, and can be customised in the control software, most frequently at one, three or five. The displayed result is the lowest measured value. In other words, it is the average if a calculation is made from more than one complex.

If hyperaemia is induced by a short-acting agent such as an intra-coronary bolus of adenosine, the mean distal pressure waveform may be delayed when calculating mean pressures of five or more cycles. The P_d value will falsely be low, and the significance of stenosis overestimated. At an average value of three complexes, this effect is not so striking. Calculation errors from mean P_d delay do not occur under the continuous administration of adenosine because steady hyperaemia is achieved.

From our view it is optimal to set the lowest P_d/P_a value for one cycle. However, it remains necessary to perform an inspection of the pressure waveforms,

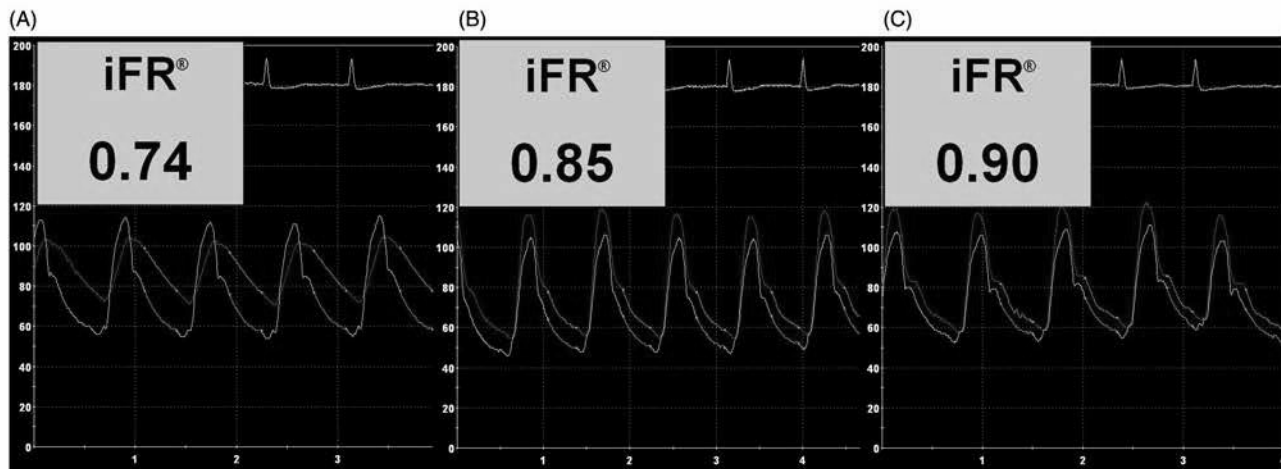


Figure 6. (A) Aortic pressure waveform damped by the contrast agent in the guiding catheter. (B) The iFR value measured in the same patient shortly after flushing the catheter with saline. As a result of contrast hyperaemia, the stenosis is considered to be falsely significant. (C) The iFR 0.90 value, measured after another 30 s, indicates an insignificant lesion.

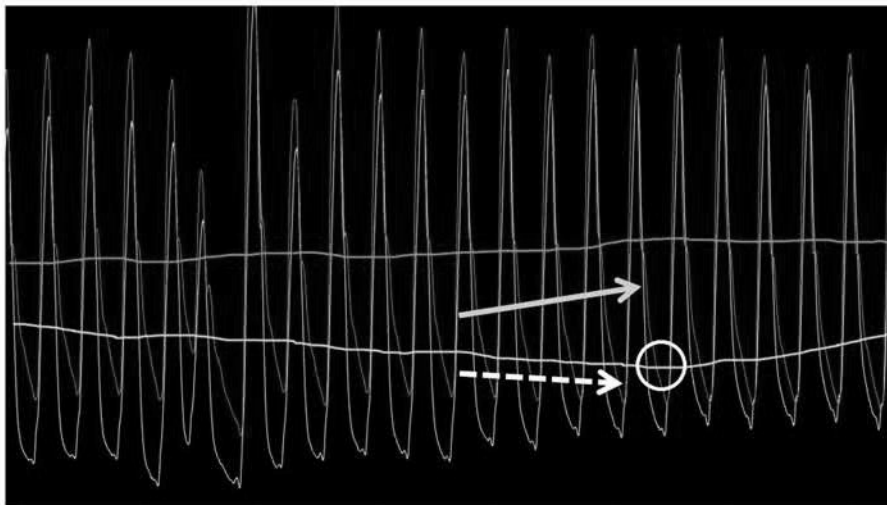


Figure 7. Delay in the course of the mean distal pressure waveform (indicated by the dashed arrow) that does not correspond to the real distal pressure (full arrow); the P_d value will be falsely low and the significance of stenosis overestimated. This phenomenon can occur when the mean pressure values calculation is based on five or more cycles.

especially the mean pressure course, and to check whether, for example, an ectopic contraction has been evaluated.

Examples of artefacts and measurement errors in various settings are shown in Figures 7 and 8.

The influence of systemic hemodynamics

Myocardial fractional flow reserve (FFR_{myo}) is defined as the ratio of maximal blood flow, distal to the stenosis, to resting flow in the same area in the hypothetical absence of stenosis. The more frequently used fractional flow reserve (FFR) is defined as the ratio of maximum blood flow to resting flow in a given artery with a stenosis. In a state of maximum hyperaemia,

the flow rate is directly proportional to the difference between mean arterial pressure and central venous pressure, and inversely proportional to resistance. In practice, the FFR value is calculated according to the simplified formula P_d/P_a which corresponds to FFR_{myo} only if the central venous pressure approaches zero (Figure 9).

The real impact of the increased pressure in the right atrium was dealt with in the work of the Belgian authors, who analysed the data of 1235 patients who underwent both right-sided cardiac catheterisation and FFR measurement in at least one coronary stenosis. The overall classification of the significance of the lesion was changed in 9% of the patients, but values of FFR above 0.80 never yielded FFR_{myo} values ≤ 0.75 .

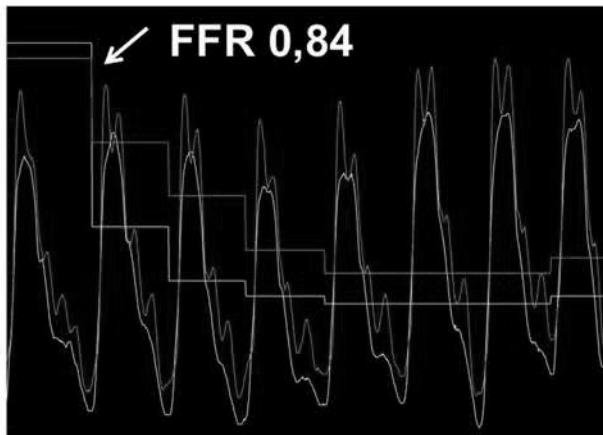


Figure 8. Visual inspection of the average pressure and visualisation of the lowest FFR value is always required. The course of the P_d and P_a waveforms is adequate. However, the mean pressures calculation still remains influenced by the artefact following the administration of adenosine. This was misidentified by the system as the lowest FFR, the real value was 0.91.

1) Fractional flow reserve is defined as the ratio of maximal hyperemic flow across a stenosis (Q_s) compared to maximal hyperemic flow in the same artery without the stenosis (Q_n)

$$FFR = \frac{Q_s}{Q_n}$$

2) Flow equals the perfusion pressure across the myocardium, divided by myocardial resistance

$$Q_s = \frac{P_d - P_v}{R} \quad \text{and} \quad Q_n = \frac{P_a - P_v}{R}$$

P_a ...mean arterial pressure P_d ...distal coronary pressure P_v ...central venous pressure

3) In state of maximal hyperemia the resistance is minimal and constant

$$FFR = \frac{Q_s}{Q_n} = \frac{P_d - P_v}{P_a - P_v}$$

4) Central venous pressure is usually negligible:

$$FFR = \frac{P_d}{P_a}$$

Figure 9. The simplified theoretical derivation of the coronal artery flow calculated from the pressure gradient across the lesion. Maximal hyperaemia must be achieved.

The mean right ventricular pressure in this group was 9 mmHg [19]. For example, in a patient with a central venous pressure of 15 mmHg and a mean arterial pressure P_a of 115 mmHg the value of FFR 0.83 (95/115 mmHg) overestimates the real FFR_{myo} value 0.80 (80/100 mmHg).

The study showed that the influence of increased central venous pressure on the resulting FFR is not

dramatic, but that the risk of underestimation is not negligible either. This is especially true for values close to the FFR cut-off in patients with increased pressure in the right atrium. In this situation, it is necessary to optimally complement right-sided cardiac catheterisation and assess the significance of coronary stenosis according to FFR_{myo} .

Conclusions

Functional examination has become a routine part of invasive coronary artery assessment. It increases the accuracy of detection of myocardial ischaemia, which is essential information, as only the elimination of ischaemia will lead to an improvement in a patient's prognosis [20]. However, in order to correctly detect ischaemia, it is necessary to ensure the correct technical implementation of the diagnostic test. FFR measurement is a simple technique that is subject to the limitations described above. The fact that the incorrect evaluation of this examination method is not rare has been demonstrated in a recently published study, which involved the strict evaluation of FFR tracings by an independently referenced workplace. The authors showed that up to 10% of the measurements were influenced by transfer waveform artefacts, and that in another 17% of cases the pressure waveforms had drifted [21].

Adhering to all the technical recommendations, makes the invasive assessment safe and beneficial for the patients. It is very precise tool for detection of unfavourable ischaemia. Routine use of FFR leads to a change in the treatment strategy in 40–50% of the cases [22]. This method should be used more frequently than it has been used in the past.

Disclosure statement

The authors have nothing to disclose.

Funding

This study was supported, in part, by a grant from the Czech Health Research Council of the Czech Republic, AZV 16-28525A, and by the Charles University in Prague grant, project GA UK No. 191415.

ORCID

Tomas Kovarnik  <http://orcid.org/0000-0001-8308-4657>

References

- [1] Windecker S, Kolh P, Alfonso F, et al. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: the task

- force on myocardial revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur Heart J*. 2014;35:2541–2619.
- [2] Gruentzig A, Senning A, Siegenthaler WE. Nonoperative dilatation of coronary artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med*. 1979;301:61–68.
- [3] Pijls NH, van Son JA, Kirkeeide RL, et al. Experimental basis of determining maximum coronary, myocardial, and collateral blood flow by pressure measurements for assessing functional stenosis severity before and after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Circulation*. 1993;87:1354–1367.
- [4] Pijls NH, Van Gelder B, Van der Voort P, et al. Fractional flow reserve: a useful index to evaluate the influence of an epicardial coronary stenosis on myocardial blood flow. *Circulation*. 1995;92:3183–3193.
- [5] Pijls NH, De Bruyne B, Peels K, et al. Measurement of fractional flow reserve to assess the functional severity of coronary artery stenoses. *N Engl J Med*. 1996;334:1703–1708.
- [6] Zimmermann FM, Ferrara A, Johnson NP, et al. Deferral vs. performance of percutaneous coronary intervention of functionally non-significant coronary stenosis: 15-year follow-up of the DEFER trial. *Eur Heart J*. 2015;36:3182–3188.
- [7] Tonino PA, De Bruyne B, Pijls NH, et al. Fractional flow reserve versus angiography for guiding percutaneous coronary intervention. *N Engl J Med*. 2009;360:213–224.
- [8] van Nunen LX, Zimmermann FM, Tonino PAL, et al. Fractional flow reserve versus angiography for guidance of PCI in patients with multivessel coronary artery disease (FAME): 5-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet*. 2015;386:1853–1860.
- [9] De Bruyne B, Pijls NH, Kalesan B, et al. Fractional flow reserve-guided PCI versus medical therapy in stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2012;367:991–1001.
- [10] De Bruyne B, Fearon WF, Pijls NH, et al. Fractional flow reserve-guided PCI for stable coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2014;371:1208–1217.
- [11] Davies J, Sen S, Dehbi HM, et al. Use of the Instantaneous Wave-free Ratio or Fractional Flow Reserve in PCI. *N Engl J Med*. 2017; 376:1824–1834.
- [12] Götzberg M, Christiansen E, Gudmundsdottir I, et al. Instantaneous wave-free ratio versus fractional flow reserve to guide PCI. *N Engl J Med*. 2017;376:1813–1823.
- [13] Pellicano M, De Bruyne B, Toth G, et al. Fractional flow reserve to guide and to assess coronary artery bypass grafting. *Eur Heart J* 2017;28:1959–1968.
- [14] Menon M, Jaffe W, Watson T, et al. Assessment of coronary fractional flow reserve using a monorail pressure catheter: the first-in-human ACCESS-NZ trial. *EuroIntervention*. 2015;11:257–263.
- [15] Pijls NH, De Bruyne B. Fractional flow reserve, coronary pressure wires, and drift. *Circ J*. 2016;80:1704–1706.
- [16] Pijls NH, Kern MJ, Yock PG, et al. Practice and potential pitfalls of coronary pressure measurement. *Cathet Cardiovasc Intervent*. 2000;49:1–16.
- [17] De Bruyne B, Stockbroeckx J, Demoor D, et al. Role of side holes in guide catheters: observations on coronary pressure and flow. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1994;33:145–152.
- [18] Johnson NP, Jeremias A, Zimmermann FM, et al. Continuum of vasodilator stress from rest to contrast medium to adenosine hyperemia for fractional flow reserve assessment. *JACC Cardiovasc Interv*. 2016;9:757–767.
- [19] Toth GG, De Bruyne B, Rusinaru D, et al. Impact of right atrial pressure on fractional flow reserve measurements. *JACC Cardiovasc Interv*. 2016;9:453–459.
- [20] Hachamovitch R, Rozanski A, Shaw LJ. Impact of ischaemia and scar on the therapeutic benefit derived from myocardial revascularization vs. medical therapy among patients undergoing stress-rest myocardial perfusion scintigraphy. *Eur Heart J*. 2011; 32:1012–1024.
- [21] Matsumuta M, Johnson NP, Fearon WF, et al. Accuracy of fractional flow reserve measurements in clinical practice: observations from a core laboratory analysis. *JACC Cardiovasc Interv*. 2017;10:1392–1401.
- [22] Baptista SB, Raposo L, Santos L, et al. Impact of routine fractional flow reserve evaluation during coronary angiography on management strategy and clinical outcome: one-year results of the POST-IT. *Circ Cardiovasc Interv*. 2016;9:e003288.

ORIGINAL SCIENTIFIC PAPER



Endothelial dysfunction assessed by digital tonometry and discrepancy between fractional flow reserve and instantaneous wave free ratio

Stepan Jerabek^a, David Zemanek^a, Jan Pudil^a, Kristyna Bayerova^a, Ales Kral^a, Karel Kopriva^b, Yoshiaki Kawase^c, Hiroyuki Omori^c, Toru Tanigaki^c, Zhi Chen^d, Alexandra Vodzinska^e, Marian Branny^e, Hitoshi Matsuo^c, Martin Mates^b, Milan Sonka^d and Tomas Kovarnik^a 

^a2nd Department of Medicine – Department of Cardiovascular Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic; ^bCardiology Department, Homolka Hospital, Prague, Czech Republic; ^cGifu Heart Center, Gifu, Japan; ^dDepartment of Electrical & Computer Engineering and Iowa Institute for Biomedical Imaging, The University of Iowa, Iowa City, IA, USA; ^eCardiology Department, Trinec Podlesi Hospital, Trinec, Czech Republic

ABSTRACT

Background: We tested whether the level of endothelial dysfunction assessed by digital tonometry, and expressed as reactive hyperemia index (RHI), is related to occurrences of a discrepancy between fractional flow reserve (FFR) and the instantaneous wave free ratio (iFR) (ClinicalTrials.gov identifier: NCT03033810).

Methods: We examined patients with coronary stenosis in the range of 40–70%, assessed by both FFR and iFR (system Philips-Volcano) for stable angina. We included consecutive patients with FFR and iFR in one native coronary artery, and who had had no previous intervention.

Results: We included 138 patients. Out of those, 24 patients (17.4%) had a negative FFR (with an FFR value >0.8) and positive iFR (with a iFR value ≤ 0.89) – designated the FFRn/iFRp discrepancy group, and 22 patients (15.9%) had a positive FFR (≤ 0.8) and negative iFR (>0.89) – designated the FFRp/iFRn discrepancy. RHI was higher in the discrepancy groups compared the group without discrepancy (1.73 ± 0.79 vs. 1.48 ± 0.50 , $p = 0.025$). However, this finding was not confirmed in multivariate logistic regression analyses. Patients with any type of discrepancy differed from the agreement group by having a higher occurrence of diabetes mellitus [9 patients (21.4%) vs. 36 patients (39.6%), $p = 0.029$], active smoking (23 patients or 54.8% vs. 26 patients or 28.6%, $p = 0.003$) and lower use of calcium channel blockers (9 patients, 21.4%, vs. 43 patients, 46.7%, $p = 0.004$).

Conclusion: The presence of endothelial dysfunction can be associated with a discrepancy in FFR/iFR. However, RHI correlated with risk factors of atherosclerosis, not with FFR or iFR.

ARTICLE HISTORY

Received 7 January 2019
Revised 13 February 2019
Accepted 18 February 2019

KEYWORDS

Coronary disease; fractional flow reserve; endothelial cells

Introduction

Fractional flow reserve (FFR) and instantaneous wave free ratio (iFR) are methods for determining of the hemodynamic significance of a coronary stenosis, which are labeled as IA in current guidelines for revascularization [1]. Both indexes measure the pressure gradient across the stenosis. FFR represents the hyperemic index, because it measures the pressure gradient across the stenosis during hyperemia [2]. Instantaneous wave free ratio is called a resting index and measures the pressure gradient during the resting condition in the middle part of the diastole [3]. The correlation between FFR and iFR was found to be around 80% [4]. However, this correlation is much worse when we compare only measurements close to cut-off points for FFR and iFR examinations [4].

Pressure-based measurements were developed as a surrogate method for measuring flow [5]. Hemodynamic assessment of a coronary stenosis using flow measurement is known as coronary flow reserve (CFR). CFR is calculated as the ratio of maximal to resting flow in the analyzed vessel. However, the measurement of flow (using either the thermodilution technique or Doppler measurement) is not a trivial procedure, and is therefore not suitable for daily practice.

According to Ohm's law, pressure is equal to flow when microvascular resistance is low and constant [2]. The pressure gradient is further influenced by friction and separation forces [5]. These conditions are substantially different during basal and hyperemic conditions. FFR uses the ratio between the mean coronary pressure behind a stenosis and the mean arterial

pressure in the aorta, during a pharmacologically induced lowering of microvascular resistance. Drugs like adenosin, papaverin, and regadenoson are used for this purpose. The iFR analyzes the pressure gradient during mean diastole [3], where microvascular resistance is naturally low and stable.

Petraco et al. showed that there was a closer correlation of CFR to iFR than to FFR [6] in the JUSTIFY trial. The correlation between flow and pressure in a given artery is represented by a line sloping up from left to right. This means that during high flow in the coronary arteries the pressure gradient is increased, even in normal coronary arteries. So, in a situation of high coronary flow reserve, it is possible to measure a significant pressure gradient, which is not present during resting condition, across a non-significant lesion where iFR is taken. Moreover, a study published by Cook et al. [7] found increased CFR in both FFRp/iFRn lesions, and in FFRn/iFRn lesions, and decreased CFR in FFRn/iFRp and FFRp/iFRp lesions.

We aimed to test the hypothesis that preserved endothelial function (measured non-invasively by digital pletysmography) can be associated with an FFR/iFR discrepancy as a marker of high capacity for coronary vasodilatation, and thereby high flow across a stenosis.

Methods

We investigated patients with stable angina who underwent an assessment of the hemodynamic significance of borderline coronary stenoses (40–70% by visual estimation of angiography) by both FFR and iFR (Philips-Volcano system). We included all consecutive patients with stable angina pectoris, who underwent both FFR and iFR examinations to our analysis. In some patients, we performed measurements in more than one coronary arteries. In such situations, we include to our analysis the vessel with the most significant findings (in case of concordant FFR and iFR measurements) or with discrepant measurements (in case of discrepant FFR and iFR measurements).

Intracoronary adenosine in a dose of 240 µg was used in all cases. We measured iFR three times, and FFR twice, and used mean values. This study is a part of the FiGARO trial (ClinicalTrials.gov identifier: NCT03033810), searching for an explanation of the disagreement between FFR and iFR measurements. All patients signed an informed consent, and the study was approved by the local ethics committee.

Endothelial dysfunction was tested non-invasively using digital pletysmography (EndoPAT[®], Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel). EndoPAT uses a

peripheral artery tone signal (PAT) to non-invasively measure arterial tone changes in peripheral arterial beds. The PAT signal is measured from the fingertip by recording finger arterial pulsatile volume changes [8]. The change in finger pulse amplitude (measured by plethysmography) in response to five minutes of ischemia is called a reactive hyperemic index (RHI). To exclude the influence of cardiac catheterization, patients were asked to come for the EndoPAT examination six weeks after hospital discharge, because Serafino et al. showed that endothelial dysfunction after transradial catheterization is completely restored after 30 days [9].

Changes in the PAT signal are measured after ischemia caused by five minutes of compression of the brachial artery by a cuff inflated to 60 mm Hg above the systolic pressure—or 200 mm Hg for 5 min—and then deflated to induce reactive hyperemia. The result is expressed as a ratio between the capillary perfusion in a finger of the compressed arm, over the capillary perfusion in a finger of the non-compressed arm. This ratio is known as the RHI, and a value of <1.67 is usually used as a criterion suggesting endothelial dysfunction. All subjects rested in bed in a quiet room for 15 min before the examination and they were asked to refrain from smoking, alcohol and caffeine intake for 12 h before the procedure.

Statistical analysis

Mean values ± standard deviations (or percentages) were calculated for all numerical variables. Differences between numerical datasets were examined using the Student's *t*-test. For categorical variables, contingency tables were used to display frequency distributions. Statistical significance was calculated by Fisher's exact test. R environment was employed for statistical computation. A '*p*' value of 0.05 denoted the threshold of statistical significance. Multivariate logistic regression analyses on the basis of demographic and biomedical variables were performed to evaluate independent predictors of disagreement between FFR and iFR results.

Results

Between June, 2015, and November, 2017, 138 patients underwent both FFR and iFR measurements in our department. We analyzed 165 vessels, but we used only one stenosis per patient for analysis, as described in the 'Methods' section. Out of those, 24 patients (17.4%) had a negative FFR with an FFR value >0.8 and positive iFR with an iFR value ≤0.89 (FFRn/iFRp).

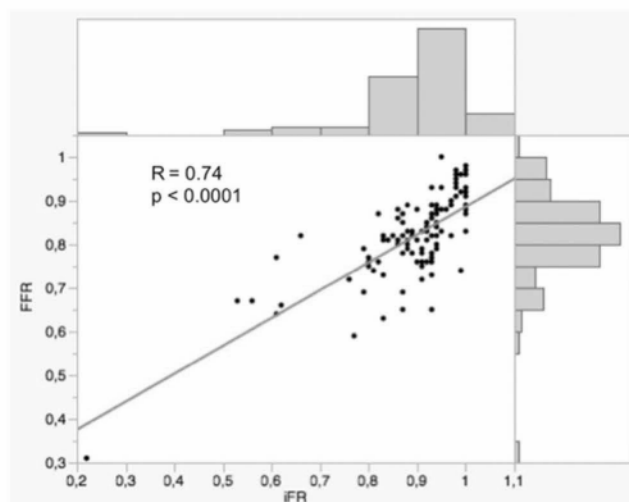


Figure 1. Correlation between FFR and iFR with histograms of measurements.

iFRp discrepancy), and 22 patients (15.9%) had a positive FFR with an FFR value ≤ 0.8 and negative iFR with an iFR value > 0.89 (FFRp/iFRn discrepancy). No patient experienced both types of discrepancy. This means that the rate of disagreement between FFR and iFR was found in 33.8% of measurements. We examined LAD in 80 cases (58%), LCx in 32 cases (23.2%), and RCA in 26 cases (18.8%). Mean values for the whole group of patients were as follows: FFR 0.83 ± 0.09 (median 0.83), iFR 0.90 ± 0.11 (median 0.93), which shows that we focused mainly on borderline lesions. The correlation coefficient between FFR and iFR was 0.74, with a 'p' value < 0.0001 (details are shown in Figure 1). Demography and hemodynamic measurement are summarized in Table 1.

The mean value of RHI was 1.54 ± 0.6 (median 1.47) expressing a high occurrence of endothelial dysfunction, which is not surprising in patients with coronary artery disease. RHI was found to be higher in patients with discrepancies than in patients with concordant measurements (1.73 ± 0.79 vs. 1.48 ± 0.50 , $p = 0.025$). Furthermore, patients in the discrepancy groups were more frequently diabetics, active smokers and were less treated by calcium channel blockers compared to the agreement group.

However, this finding was not confirmed in multivariate logistic regression analyses for predictors of disagreement between FFR and iFR results (Table 2).

We did not find a significant difference in RHI between the FFRn/iFRp discrepancy group and patients with concordant FFR/iFR measurements (1.61 ± 0.62 vs. 1.45 ± 0.49 , $p = 0.2$), nor between FFRp/iFRn and the agreement group (1.63 ± 0.76 vs. 1.48 ± 0.5 , $p = 0.27$). Among patients with any type of discrepancy, RHI was only slightly higher in the FFRp/

iFRn group compared to the FFRn/iFRp group (1.63 ± 0.76 vs. 1.54 ± 0.68 , $p = 0.71$).

Mean RHI in patients with both FFR and iFR positive findings were significantly lower than in patients with both indexes being negative (1.33 ± 0.52 vs. 1.59 ± 0.59 , $p = 0.028$). The reason for this finding is probably more advanced coronary atherosclerosis together with endothelial dysfunction in patients with both hemodynamic indexes being positive.

We found no correlation between FFR and RHI ($R = 0.04$, $p = 0.66$), nor between iFR and RHI ($R = 0.04$, $p = 0.64$). RHI correlated with the ejection fraction of the left ventricle ($R = 0.18$, $p = 0.036$), the level of creatinine ($R = -0.21$, $p = 0.015$), and the body mass index (BMI; $R = -0.25$, $p = 0.005$). RHI was lower in men (1.5 ± 0.52 vs. 1.86 ± 0.7 , $p = 0.003$), DM patients (1.38 ± 0.09 vs. 1.67 ± 0.06 , $p = 0.007$), patients with dyslipidemia (1.7 ± 0.06 vs. 1.77 ± 0.1 , $p = 0.016$), patients with chronic renal insufficiency 1.27 ± 0.58 vs. 1.61 ± 0.58 , $p = 0.037$), and active smokers (1.42 ± 0.4 vs. 1.66 ± 0.66 , $p = 0.023$). RHI was also lower in patients who were treated by calcium channels blockers (1.4 ± 0.3 vs. 1.68 ± 0.68 , $p = 0.006$) and beta blockers (1.48 ± 0.54 vs. 1.75 ± 0.63 , $p = 0.014$).

Discussion

The main findings of our study are:

1. The endothelial function — measured by digital pletysmography — is higher in patients with discrepant FFR and iFR measurements in patients with stable angina pectoris.
2. Patients with any type of discrepancy differed from the agreement group by a higher occurrence of diabetes mellitus, active smoking, and a lower using of calcium channel blockers.

Table 1. Demography and hemodynamic measurements.

	Discrepancy groups (46 patients)	Agreement group (92 patients)	<i>p</i> Value
Age [years]	65.3 ± 11.6	66.9 ± 8.3	0.39
Male	32 (69.6%)	72 (78.3%)	0.46
BMI [kg/m ²]	27.8 ± 4.5	29.24 ± 4.3	0.045
Revascularization in past	20 (43.5%)	51 (55.4%)	0.4
MI in past	17 (37%)	33 (35.9%)	0.61
DM	9 (19.6%)	36 (39.1%)	0.029
AH	31 (67.4%)	75 (81.5%)	0.32
Dyslipidemia	30 (65.2%)	68 (73.9%)	0.77
CHRl	6 (13%)	9 (9.8%)	0.49
Active smoking	23 (50%)	26 (28.3)	0.003
Beta blockers	24 (52.2%)	66 (71.7%)	0.1
CaCh blockers	9 (19.6%)	43 (46.7%)	0.004
ACEI/sartans	27 (58.9%)	68 (73.9%)	0.26
Nitrates	2 (4.3%)	9 (9.8%)	0.3
Aminophylline	2 (4.3%)	6 (6.5%)	0.56
Ejection fraction	59.5% ± 10.4	55.7% ± 11.2	0.06
Hemoglobin [g/l]	135.1 ± 16.6	140.8 ± 18.6	0.09
Creatinine [μmol/l]	86.6 ± 22.2	88.1 ± 25.3	0.75
FFR	0.79 ± 0.06	0.84 ± 0.11	0.013
iFR	0.88 ± 0.06	0.9 ± 0.12	0.14
RHI	1.73 ± 0.79	1.48 ± 0.50	0.025
RHI < 1.67	28 (60.9%)	70 (76.1%)	0.07

ACEI: inhibitors of angiotensin-converting enzyme; AH: arterial hypertension; BMI: body mass index; CaCh: calcium channel; CHRl: chronic renal insufficiency; DM: diabetes mellitus, MI: myocardial infarction; RHI: reactive hyperemia index. Statistically significant values are highlighted in bold.

Table 2. Multivariate logistic regression analyses for predictors of disagreement between FFR and iFR results.

	Estimate	Std. deviation	'z' Value	'p' Value
Intercept	-3.2	1.51	-2.11	0.03
Diabetes mellitus	-0.41	0.54	-0.76	0.45
Active smoking	1.5	0.44	3.43	0.0006
Beta blockers	-0.16	0.51	-0.32	0.75
CCB treatment	-0.96	0.5	-1.91	0.06
CKD	0.93	0.68	1.37	0.17
RHI	0.18	0.39	0.47	0.64
EF	0.03	0.02	1.54	0.12

CCB: calcium channel blockers; CKD: chronic kidney disease; EF: ejection fraction of left ventricle; RHI: reactive hyperemia index.

The pressure gradient across a coronary stenosis is equivalent to flow only under conditions of minimal and constant microvascular resistance. Preserved endothelial function is essential to allowing an increased flow during vasodilatation induced by administration of adenosine, or during mid-diastole. One of the methods for quantifying endothelial dysfunction is ischemia-induced vasodilatation. To measure this reaction, we chose the method of digital pletysmography, expressed in the RHI. The finding of higher RHI in patients with FFR/iFR discrepancy, compared to those with concordant measurements seems to confirm our hypotheses. However, we did not find a correlation between FFR or iFR with RHI index.

Endothelial dysfunction decreases the ability of endothelial cells to appropriately react to the signal for vasodilatation [10]. We presumed that preserved endothelial dysfunction could lead to a higher response to adenosine, and thereby to a higher value of FFR compared to iFR, which does not depend on

endothelial reaction to adenosine. We confirmed a higher RHI in patients with FFR/iFR disagreement. However, there was no difference between FFRp/iFRn and FFRn/iFRp groups in the level of RHI. This finding is contrary to our primary hypothesis of an inappropriate pressure gradient caused by supra-normal high flow during hyperemia in patients with well-preserved endothelial function. We cannot exclude the possibility that the number of examined patients was too low to recognise this difference, since we found RHI in the FFRp/iFRn group that was higher than in the FFRn/iFRp group, although the value was insignificant.

It is known that many factors influence reactive hyperemia. These factors are mainly: nitric oxide, prostacyclin, and endothelial-derived hyperpolarizing factor (EDHF) [11]. The contribution of EDHF to flow-mediated dilatation is greatest at the level of small arteries, and this is particularly evident when NO production is compromised [12]. Furthermore, the other known method for detection of endothelial dysfunction—flow-mediated vasodilatation (FMD)—did not correlate, in some studies, with the measurement of digital hyperemia [13]. This complexity of endothelial functions could be a reason we did not find any difference between the FFRp/iFRn and FFRn/iFRp discrepancy groups.

The reactive hyperemic index correlated with the ejection fraction of the left ventricle, the level of creatinine, and the BMI. RHI was lower in men, DM patients, patients with dyslipidemia, patients with chronic renal insufficiency, and active smokers. These findings are not surprising. Similar results were found

in a study done by Hamburg et al. [14]. A discrepancy between FFR and iFR was more frequently found in active smokers, and patients with diabetes, and less frequently in patients treated by calcium channel blockers.

Smoking is a well-known risk for endothelial dysfunction, mainly through a decrease in the availability of nitric oxide. Smoking increases vascular stiffness and lowers RHI [15]. Interestingly, smokers were more frequently found in both FFR/iFR disagreement groups than in the agreement group. This suggests complex changes at the microcirculatory level play a role in both basal and hyperemic flow.

Higher glucose concentration reduces endothelial-dependent vasodilatation, and compensatory hyperinsulinemia increases production of vasoconstrictors such as endothelin-1 and angiotensin II [16]. These factors can lead to impaired reaction to hyperemic stimuli and increase the chance for FFR/iFR disagreement.

A lower occurrence of FFR/iFR disagreement in patients using calcium channel blockers could be caused by the improvement of endothelial function through the relaxation effect that calcium channel blockers have on smooth muscle cells [17], which improves both basal and hyperemic flow. From these results, we can speculate that risk factors leading to endothelial dysfunction are better predictors for FFR/iFR discrepancy than RHI.

The correlation coefficient between FFR and iFR was 0.74 in our cohort of examinations. This number is lower (but still comparable) than in trials comparing both methods (Lee [18] found $R=0.8$, in RESOLVE trial [4] was R value 0.81). Knowing that iFR correlates with coronary flow reserve better than FFR does [6], and that CFR is strongly related to microvascular resistance, we can presume that a discrepancy between FFR and iFR reflects, to some extent, microvascular dysfunction leading to a lower reaction to hyperemic stimuli [19]. This hypothesis can be supported by our findings of a higher number of active smokers and patients with diabetes in the discrepancy groups.

Conclusion

Ischemia-guided coronary revascularization is strongly recommended as a treatment strategy in patients with ischemic heart disease. Many catheterization laboratories have the possibility to measure both FFR and iFR during one examination. Concordant results of both measurements may assure investigators of the accuracy of these results. On the other hand, FFR/iFR discrepancies can be confusing, and lead to uncertainty during indication for coronary revascularization. It

must be emphasized that coronary physiology is more than just a pressure gradient across stenosis. In the field of coronary physiology, we are faced with a very complex system, where all indices are related to each other. FFR/iFR disagreement does not automatically mean that one of those results is wrong. This finding provides deeper information about the microvascular function, and forces us to think more about each individual patient. We tried to explain this FFR/iFR disagreement by the presence of endothelial dysfunction (assessed by digital pletysmography). We found endothelial function to be in better shape in patients with discrepant FFR/iFR measurements compared to the group with agreement in these two indexes. This finding highlights the crucial role of endothelial function in coronary physiology. However, RHI was only negligibly higher in FFRp/iFRn group compared to the FFRn/iFRp group. We would probably need to include a substantially higher number of patients in our study to prove the hypothesis of better endothelial function in patients with the FFRp/iFRn type of disagreement.

The second important finding is the higher rate of FFR/iFR discrepancy in active smokers and diabetic patients—who also possess worse endothelial function—and the lower rate of discrepancy in patients using calcium channel blockers, which can improve endothelial functions. These findings underline the role of endothelial function in disagreements between FFR and iFR measurements. Further studies are needed to clarify reasons for FFR/iFR discrepancies, and to find the best approach for establishing the clinical relevance of discordant lesions, and clinical outcomes of such findings.

Limitation

The primary limitation was the low number patients in the study, which was probably a reason why we did not prove statistical significance of difference in RHI between discrepancy and agreements groups. On the other hand, this was the first study to try to explain the discrepancy between FFR and iFR by an examination of endothelial dysfunction. A further limitation is the absence of data from coronary flow measurements, which could nicely help to explain the relationship between RHI and FFR/iFR discrepancy. On the other hand, these statistically borderline findings follow rational expectations, and are in close agreement with previous trials.

Yet another limitation was the use of only one measurement of endothelial function per patient. If we had used all possible measurements, the statistical methodology would have been very complicated, with

very little chance for any meaningful result from this small cohort of patients.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

ORCID

Tomas Kovarnik <https://orcid.org/0000-0001-8308-4657>

Funding

This study was supported, in part, by the Czech Health Research Council [AZV 16-28525A], by a grant from Charles University, in Prague, project GA UK No. 191415 and MH CZ – DRO (NHH, 00023884), IG 180501.

ORCID

Tomas Kovarnik  <http://orcid.org/0000-0001-8308-4657>

References

- [1] Neumann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. 2018ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization. *EHJ*. 2018;00:1–96.
- [2] Pijls N, Kern M, Yock P, et al. Practice and potential pitfalls of coronary pressure measurement. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2000;49:1–16.
- [3] Sen S, Escaned J, Malik I, et al. Development and validation of a new adenosine independent index of stenosis severity from coronary wave-intensity analysis: results of the ADVISE (ADenosine Vasodilator Independent Stenosis Evaluation) study. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59:1392–1402.
- [4] Jeremias A, Maehara A, Généreux P, et al. Multicenter core laboratory comparison of the instantaneous wave-free ratio and resting Pd/Pa with fractional flow reserve: the RESOLVE study. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63:1253–1261.
- [5] van de Hoef T, Siebes M, Spaan JA, et al. Fundamentals in clinical coronary physiology: why coronary flow is more important than coronary pressure. *Eur Heart J*. 2015;36:3312–3319.
- [6] Petraco R, van de Hoef T, Nijjer S, et al. Baseline instantaneous wave-free ratio as a pressure-only estimation of underlying coronary flow reserve results of the JUSTIFY-CFR study (Joined coronary pressure and flow analysis to determine diagnostic characteristics of basal and hyperemic indices of functional lesion severity–coronary flow reserve). *Circ Cardiovasc Interv*. 2014;7:492–502.
- [7] Cook C, Jeremias A, Petraco R, et al. Fractional flow reserve/instantaneous wave-free ratio discordance in angiographically intermediate coronary stenosis: an analysis using Doppler-derived coronary flow measurements. *JACC Cardiovasc Interv*. 2017;10:2514–2524.
- [8] Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, et al. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:2137–2141.
- [9] Di Serafino L, Pyxaras S, Mangiacapra F, et al. Influence of transradial versus transfemoral diagnostic heart catheterisation on peripheral vascular endothelial function. *Eurointervention*. 2013;8:1252–1258.
- [10] Venturi E, Pinnola S, Morizzo C, SUMMIT Study Group, et al. Clinical phenotype and microvascular dynamics of subjects with endothelial dysfunction as assessed by peripheral tonometry. *Microcirculation*. 2016;23: 230–239.
- [11] Luksha L, Agewall S, Kublickiene K. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in vascular physiology and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2009;202: 330–344.
- [12] Stoner L, Erickson ML, Young JM, et al. There's more to flow-mediated dilation than nitric oxide. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19:589–600.
- [13] Martin BJ, Gurtu V, Chan S, et al. The relationship between peripheral arterial tonometry and classic measures of endothelial function. *Vasc Med*. 2013;18: 13–18.
- [14] Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham heart study. *Circulation*. 2008;117:2467–2474.
- [15] Xue C, Sun YH, Ding RJ, et al. Impact of acute smoking on artery function in healthy chronic smokers. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2011;39: 410–413.
- [16] Low Wang C, Hess C, Hiatt W, Goldfine A. Clinical update: cardiovascular disease in diabetes mellitus: atherosclerotic cardiovascular disease and heart failure in type 2 diabetes mellitus – mechanisms, management, and clinical considerations. *Circulation*. 2016;133:2459–2502.
- [17] Park T, Park JY, Rha SW, et al. Impact of diltiazem alone versus diltiazem with nitrate on five-year clinical outcomes in patients with significant coronary artery spasm. *Yonsei Med J*. 2017;58:90–98.
- [18] Lee JM, Shin ES, Nam CW, et al. Discrepancy between fractional flow reserve and instantaneous wave-free ratio: clinical and angiographic characteristics. *Int J Cardiol*. 2017;245:63–68.
- [19] Nijjer S, de Waard G, Sen S, et al. Coronary pressure and flow relationships in humans: phasic analysis of normal and pathological vessels and the implications for stenosis assessment: a report from the Iberian-Dutch-English (IDEAL) collaborators. *Eur Heart J*. 2016; 37:2069–2080.