

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Neurovědy



UNIVERZITA KARLOVA
I. lékařská fakulta

Kpt. MUDr. Norbert Svoboda

Stenóza karotidy

Carotid Artery Stenosis

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Vladimír Beneš, DrSc

Praha 2023

Prohlášení

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

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

V Praze, 24.5.2023

Norbert Svoboda

Identifikační záznam:

SVOBODA, Norbert, Stenóza karotidy [*Carotid Artery Stenosis*]. Praha 2023,
Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Neurochirurgická a
neuroonkologická klinika 1. LF a ÚVN Praha. Vedoucí práce Beneš, Vladimír.

Poděkování

Úvodem této práce bych rád vyjádřil neskonalý dík všem mým spoluautorům a spolupracovníkům. Jmenovitě mému školiteli prof. MUDr. Vladimíru Benešovi, DrSc, přednostovi prof. MUDr. Davidu Netukovi, PhD, dále prof. MUDr. RNDr. Ondřeji Bradáčovi, PhD, prof. MUDr. Václavu Mandysovi CSc, prof. MUDr. Davidu Školoudíkovi, PhD, FESO, FEAN, MUDr. Petře Kešnerové, MUDr. Martinu Roubcovi, PhD, MUDr. Tomáši Hrbáčovi PhD, doc. MUDr. Martinu Malému PhD., MUDr. Karolíně Kočí, ing. Jiřímu Suttnarovi, CSc, ing. Alžbětě Hlaváčkové, PhD, MUDr. Ondřeji Kučerkovi, MUDr. Richardu Voldřichovi a MUDr. Anně Seidlové

V neposlední řadě bych rád poděkoval za podporu a výpomoc mé rodině, která mi poskytla nevídaně vlídné a inspirující prostředí po celou dobu mých postgraduálních studií.

Abstrakt

Podkladem disertační práce jsou tři studie, které se zaměřují na diagnostiku stenózy karotidy. První studie se zabývá histologickou strukturou karotických plátů a jejich vztahem ke klinickým projevům. Do studie bylo zařazeno 269 pacientů s 280 analyzovanými pláty. Mnohonásobnou logistickou regresí byl prokázán významný vztah mezi symptomatickou stenózou a pěnovými buňkami (OR=1.9, $p = 0.03$) a trombózou v plátu (OR=3.5, $p = 0.02$). Byla prokázána i významná korelace mezi symptomatickým plátem a nestabilním plátem dle komplexní klasifikace plátu AHA klasifikací (OR=1.8, $p = 0.03$). Druhá studie se věnuje otázce přesnosti diagnostiky stenózy karotidy pomocí digitální subtrakční angiografie (DSA). Všem 644 pacientům byla změřena stenóza karotidy na DSA a na histologicky zpracovaném plátu odstraněného z karotidy během endarterektomie. Ve studii nebyl prokázán vztah mezi nálezem na histologickém plátu a na DSA (korelační koeficient pro ECST 0.22 a 0.20 pro NASCET). Poslední studie se zabývá analýzou biomarkeru oxidativního stresu (malonyldialdehydu, MDA) jako prediktoru nestabilních karotických plátů. Studie se zúčastnilo 35 pacientů. Pacienti s asymptomatickou stenózou karotidy spolu s pacienty, kteří prodělali amaurosis fugax, měli významně nižší hladinu MDA než pacienti po ischemické mozkové příhodě ($p=0.002$). Tato studie poukazuje na efektivitu MDA jako biomarkeru rizikových karotických plátů.

Klíčová slova: Stenóza karotidy, karotický plát, biomarkery, digitální subtrakční angiografie, histologie

Abstract

The basis of the doctoral thesis consists of three studies focused on the diagnosis of carotid stenosis. The first study examines the histological structure of carotid plaques and their relationship to clinical manifestations. The study included 269 patients with 280 analyzed plaques. Multiple logistic regression demonstrated a significant association between symptomatic stenosis and foam cells (OR=1.9, p=0.03) as well as plaque thrombosis (OR=3.5, p=0.02). A significant correlation was also found between symptomatic plaque and unstable plaque according to the comprehensive AHA plaque classification (OR=1.8, p=0.03). The second study addresses the accuracy of carotid stenosis diagnosis using digital subtraction angiography (DSA). Carotid stenosis was measured on DSA and histologically processed plaques obtained during carotid endarterectomy in 644 patients. The study did not establish a correlation between the findings on the histological plaque and DSA (correlation coefficient of 0.22 for ECST and 0.20 for NASCET). The last study focuses on the analysis of the biomarker of oxidative stress (malondialdehyde, MDA) as a predictor of unstable carotid plaques. The study involved 35 patients. Patients with asymptomatic carotid stenosis and those who experienced amaurosis fugax had significantly lower levels of MDA compared to patients after ischemic stroke (p=0.002). This study highlights the effectiveness of MDA as a biomarker for high-risk carotid plaques.

Key words: Carotid Stenosis, Carotid Artery Plaque, Biomarkers, Digital Subtraction Angiography, Histology

Seznam zkratek

a. -arteria	IM – srdeční infarkt (<i>myocardial infarction</i>)
ACAS - Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study	LDL – low-density lipoprotein
ACST – Asymptomatic Carotid Surgery Trial	m. – musculus
AF – amaurosis fugax	MAP – střední arteriální tlak
AHA – American Heart Association	MDA - malonyldialdehyd
ASA – aspirin, acetylsalicylová kyselina	MRA – magnetická rezonance s tomografií
BMT – adekvátní konzervativní léčba	n. - nervus
CI – interval spolehlivosti (<i>Confidence Interval</i>)	NASCET - The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial
CTA – počítačová tomografie, angiografie	OS – oxidační stres
CNS – centrální nervový systém	ox-LDL – oxidovaný LDL
CMP – cévní mozková příhoda	PCSK9 - proprotein convertase subtilisin/kexin type 9
DAT - duální antiagregační terapie	PVS – peak systolic velocity
DSA – digitální substrakční angiografie	REF – referenční hodnota
ECST - European Carotid Surgery Trial	ROS – reaktivní formy kyslíku
iCMP – ischemická cévní mozková příhoda	SD – směrodatná odchylka
	SSEP – somatosensorické evokované potenciály
	TIA – transitorní ischemická ataka
	TOF – time of light
	v. - vena
	VJI – vena jugularis interna

Obsah

PODĚKOVÁNÍ.....	4
ABSTRAKT.....	5
ABSTRACT.....	6
SEZNAM ZKRATEK.....	7
ÚVOD.....	10
ÚVOD DO PROBLEMATIKY.....	10
OBEČNÁ HISTORIE.....	13
<i>Historie léčby.....</i>	<i>14</i>
EPIDEMIOLOGIE.....	15
ANATOMIE A HISTOLOGIE KAROTID.....	15
PATO FYZIOLOGIE ATERO SKLERÓZY KAROTID.....	18
PATOLOGICKÝ OBRAZ ATERO SKLEROTICKÉHO PLÁTU.....	20
PŘÍZNAKY.....	21
DIAGNOSTICKÉ MOŽNOSTI.....	22
<i>DSA.....</i>	<i>22</i>
<i>Neinvazivní metody.....</i>	<i>23</i>
KONZERVATIVNÍ LÉČBA.....	26
<i>Statiny.....</i>	<i>26</i>
<i>Změna životního stylu, cvičení, dieta.....</i>	<i>27</i>
<i>Léčba hypertenze.....</i>	<i>27</i>
<i>Léčba diabetu, snižování HgA1c.....</i>	<i>28</i>
<i>Protidestičková léčba.....</i>	<i>28</i>
CHIRURGICKÁ LÉČBA.....	29
RADIOINTERVENČNÍ LÉČBA.....	31
CEA vs. CAS.....	33
CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY.....	34
PRÁCE 1: PREDIKCE NESTABILITY PLÁTU V ZÁVISLOSTI NA JEHO HISTOLOGICKÉ STRUKTUŘE.....	34
PRÁCE 2: DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST DIGITÁLNÍ SUBSTRAKČNÍ ANGIOGRAFIE PŘI HODNOCENÍ VÝZNAMNOSTI STENÓZY PLÁTU.....	34
PRÁCE 3: OXIDATIVNÍ STRES JAKO BIOMARKER NESTABILITY PLÁTU.....	35
METODIKA.....	36
PRÁCE 1: PREDIKCE NESTABILITY PLÁTU V ZÁVISLOSTI NA JEHO HISTOLOGICKÉ STRUKTUŘE	36
PRÁCE 2: DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST DIGITÁLNÍ SUBSTRAKČNÍ ANGIOGRAFIE PŘI HODNOCENÍ VÝZNAMNOSTI STENÓZY PLÁTU.....	38
PRÁCE 3: OXIDATIVNÍ STRES JAKO BIOMARKER NESTABILITY PLÁTU.....	40
VÝSLEDKY.....	45
PRÁCE 1: PREDIKCE NESTABILITY PLÁTU V ZÁVISLOSTI NA JEHO HISTOLOGICKÉ STRUKTUŘE	45
PRÁCE 2: DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST DIGITÁLNÍ SUBSTRAKČNÍ ANGIOGRAFIE PŘI HODNOCENÍ VÝZNAMNOSTI STENÓZY PLÁTU.....	47
PRÁCE 3: OXIDATIVNÍ STRES JAKO BIOMARKER NESTABILITY PLÁTU.....	50
DISKUZE.....	56
PRÁCE 1: PREDIKCE NESTABILITY PLÁTU V ZÁVISLOSTI NA JEHO HISTOLOGICKÉ STRUKTUŘE	56
PRÁCE 2: DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST DIGITÁLNÍ SUBSTRAKČNÍ ANGIOGRAFIE PŘI HODNOCENÍ VÝZNAMNOSTI STENÓZY PLÁTU.....	59
PRÁCE 3: OXIDATIVNÍ STRES JAKO BIOMARKER NESTABILITY PLÁTU.....	61
ZÁVĚRY.....	66
PRÁCE 1: PREDIKCE NESTABILITY PLÁTU V ZÁVISLOSTI NA JEHO HISTOLOGICKÉ STRUKTUŘE.....	66
PRÁCE 2: DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST DIGITÁLNÍ SUBSTRAKČNÍ ANGIOGRAFIE PŘI HODNOCENÍ VÝZNAMNOSTI STENÓZY PLÁTU.....	66
PRÁCE 3: STRES JAKO BIOMARKER NESTABILITY PLÁTU.....	66

SOUHRN	68
SUMMARY	70
PŘEHLED LITERATURY	72
PŘEHLED PUBLIKACÍ AUTORA	82
PUBLIKACE, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTAČNÍ PRÁCE.....	82
PUBLIKACE, BEZ VZTAHU K TÉMATU DISERTAČNÍ PRÁCE.....	83

Úvod

Úvod do problematiky

Cévní mozková příhoda je druhou nejčastější příčinou smrti dle Global Health Estimate z roku 2016 ¹. Jedná se též o onemocnění, které vede v žebříčcích dlouhodobé invalidity nesoucí tak významnou zdravotní, ale stejně i tak ekonomickou zátěž pro společnost. Prevence a léčba cévní mozkové příhody jsou proto jedním ze zásadních témat probíhajícího výzkumu v medicíně.

Stenóza karotidy je jednou z hlavních příčin cévní mozkové příhody (CMP). Je příčinou 15-20 % CMP.¹ V globálním pojetí se jedná o onemocnění, které dosahuje epidemických rozměrů a nadále se jeho incidence zvyšuje, a to převážně u mladších jedinců ². V Severní Americe se náklady spojené na léčbu stenózy karotidy a jejích následků se pohybují kolem 30 miliard dolarů ročně ³.

Společná karotida (*arteria carotis communis*) je párová tepna a spolu s tepnami vertebrálními jsou hlavními přívodními tepnami do mozku. Pravá společná karotida odstupuje z hlavopážního kmene (*truncus brachiocephalicus*) a ten spolu s levou společnou karotidou vychází z aortálního oblouku. Obě společné tepny se rozprostírají kraniálně, po vnějším boku je doprovází vnitřní hrdelní žíla (*vena jugularis interna*) a na zadním okraji se nachází bloudivý nerv (*nervus vagus*). Tepny se v úrovni obratle C4-C6 větví na vnitřní a vnější krkavici (*carotis interna et externa*). V místě větvení dochází k tvorbě rozšíření tepny tzv. karotidové tělísko (*glomus carotidum*), ve kterém jsou uloženy tlakové receptory monitorující krevní tlak. Vnitřní krkavice jsou hlavním přívodem krve pro přední a střední části mozkových hemisfér. Právě místo větvení společné karotidy (bifurkace) je nejčastěji postiženo aterosklerotickým plátem, který zužuje tepnu. Typicky tento plát začíná na společné karotidě a dále se rozpíná do vnitřní krkavice. V případě omezení průtoku krví touto tepnou hrozí ischemizace příslušné hemisféry.

Patofyziologickým podkladem pro stenózu karotidy je ateroskleróza, v jejímž důsledku se v tepně formuje plát. Spouštěčem stenózy karotidy je dysfunkce endotelu, kterou doprovází hromadění toxických metabolitů ve vnitřní stěně tepny. Hromadí se

jak oxidované lipidy, tak do prostoru prostupují imunitní buňky, které spouští chronický zánět. Postupně rostoucí aterosklerotický plát zužuje tepnu, což podmiňuje změny průtoku krve (hemodynamiky). V některých případech může být porušena krycí vrstva plátu a tento stav je nazýván ruptura plátu. Ta je krajně riziková, protože rupturou je zahájena koagulační kaskáda vedoucí k formaci trombu, který může embolizovat ve směru proudu krve či tepnu náhle uzavřít.

Počátek vzniku aterosklerotického plátu je asymptomatický. Příznaky se dostavují až později, kdy je dostatečně vytvořena základní struktura plátu. Takový plát může postupně růst a způsobit hemodynamické změny, které mohou snížit cerebrovaskulární rezervu mozkové tkáně, což je často spojeno s kognitivním úpadkem⁴. V případě nestabilního plátu může dojít k ruptuře a embolizaci trombu do tepen mozku či oka. Dochází tak k rozvoji mozkové ischemie (transitorní ischemická ataka (TIA) nebo ischemická cévní mozková příhoda (CMP)) či k poruše zraku (*amaurosis fugax* nebo retinální infarkt).

Během klinického vyšetření může být patrný šelest nad tepnou, který je ale přítomen až v době významné stenózy. Radiologická diagnostika stenózy karotid si prošla dramatickou evolucí. Nejstarší užívanou metodou k detekci zúžení tepny byla angiografie. Tato metoda dala vznik základním doporučením a principům léčby. Později se vyvinuly neinvazivní metody, které angiografii nahradily. Dnes se angiografie používá jen výjimečně v případě nejistoty během diagnostiky.

Jelikož se jedná o civilizační dlouhodobě probíhající onemocnění, léčba stenózy karotidy je komplexní a zasahuje do více lékařských oborů. Důležitou částí je preventivní péče, kterou tvoří úprava diety, odvykání od kouření a pití alkoholu, pravidelná fyzická aktivita, informovanost veřejnosti a jiné. Dále je v prevenci (ale i léčbě aterosklerózy) nutná terapie onemocnění, které jsou příčinou rozvoje aterosklerózy, jmenovitě - hypertenze, diabetes a dyslipidémie. Jelikož je ateroskleróza celotělové onemocnění, často je nezbytné pacientům poskytnout i léčbu dalšími specialisty nejčastěji zaměřenými na periferní cévy a srdce. V případě, kdy stenóza karotidy ohrožuje nositele vznikem CMP, je nutné nabídnout pacientovi adekvátní léčbu. Tato léčba je buď medikamentózní, tj. antiagregační, nebo intervenční, tj. chirurgické odstranění plátu či implantace stentu.

Prognóza pacientů se stenózou karotidy je individuální a je těžké ji paušalizovat. Někteří pacienti mají vyjádřenou aterosklerózu jen lokálně na jedné tepně, jiní jsou postiženi generalizovanou aterosklerózou. Jelikož jsou nejčastěji postiženi polymorbidní pacienti vyššího věku, je zcela esenciální individuální přístup založený na přesné diagnostice, která umožní zacílení vhodné léčby na pacienty s rizikovými pláty.

Obecná historie

Již před více než 2000 lety antičtí Řekové upozorovali, že onemocnění karotických tepen (krkavic) může vést k neurologickým deficitům. V té době byla Hippokratem popsána mrtvice a jejích několik základních příznaků jako kontralaterální hemiparéza, tranzitorní ischemická ataka a prodromální příznaky⁵. Samotné pojmenování tepny má svůj počátek kolem roku 100 a autorství je připisováno Rufusovi z Efezu. Jelikož mu bylo známo, že těsná komprese tepny může vést ke ztrátě vědomí, pojmenoval tepnu názvem odvozeným od řeckého *karos*, což znamená upadnout do hlubokého spánku. Karotidy byly zvány jako *soporaes*, tj. spánkové tepny⁶.

Navzdory časnému rozpoznání neurofyziologického významu karotid, jejich přesný anatomický popis byl ozřejměn až po 1500 letech. Švýcarský patolog Johann Wepfer ve svém díle *Treatise de Apoplexiae* z roku 1658 popsal cévní zásobení mozkových hemisfér. V této knize předložil tvrzení o vztahu mezi patologickým nálezem na karotidě a příznaky z nedostatečné funkce tepny. Navíc zde i poprvé popsal trombózu karotidy. Jeho současníkem a neuroanatomem byl Thomas Willis z Británie. Ten ve své knize *Cerebri Anatome* popisuje cévní okruh (současně nazýván Willisův okruh), nekonsistentní tepenný spoj mezi hlavními přívodnými tepnami na bazi lební. Dále zdůrazňuje významnost cévních patologií a jejich vliv na klinické projevy. Na základě pitev, při kterých zjistil, že mnoho pacientů má uzavřenou krkavici, dospěl k závěru, že jednostranný uzávěr tepny je slučitelný se životem^{7,8}. První známou hypotézu o příčině uzávěru karotidy přinesl van Swieten v polovině 18. století. Domníval se, že příčina spočívá v embolizaci materiálu ze srdce nebo z velkých tepen a že tento vmetek se zapříčí ve vnitřní tepně a tu uzavře. V 19. století publikoval Virchow svou *Gesammelte abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin*. V této práci popsal trombózu karotidy spojenou s ipsilaterální slepotou, a jako první užil pojem trombóza, ischemie a embolus. Virchow spolu s Rokitanským zjistili přítomnost zánětu s atherosklerózou. Neshodli se však na přítomnosti fibrinu. Virchow se domníval, že jde o primární jev, kdežto Rokitansky se přikláněl k názoru, že se jedná o sekundární jev vznikající jako důsledek zánětu a aterosklerózy. Oba zmínění patologové si všimli, že se aterosklerotické pláty nacházejí v predilekčních lokalitách.

Vzhledem k tomu, že se jednalo o větvení tepen, společně usoudili, že příčinou vzniku tvorby plátu jsou síly způsobené prouděním krve⁹.

Jonh Abercrombie si v 19. století povšimnul ztlustělé stěny karotid u pacientů s `měknutím mozku` (*ramollissement*)⁷. Robert Carswell popsal v roce 1838 ve svém textu: *Pathological anatomy: Illustrations of the Elementary Forms of the Disease*, že pokud je karotida uzavřena, může být nalezeno změknutí větší části či přímo celé hemisféry. Spojení mezi patologií karotidy a ischemizací mozku bylo dále a hlouběji zkoumáno ve 20. století. Rakouský patolog Hans Chiari se domníval, že embolizace trombu nebo plátu vede k riziku infarktu. Položil tím základ pro tromboembolizační teorii. Navrhl posmrtnou pitvu zaměřenou na karotidy u pacientů po prodělané mrtvici, aby byl ozřejmen vztah mezi jednotlivými nemocemi. V roce 1950, což je necelých 30 let po objevení angiografie, byl prvním Carl Fisher, jenž pomocí nové diagnostiky prokázal spojení mezi stenózou karotidy a CMP. Carl Fisher navíc identifikoval stupně stenózy karotidy a navrhl potenciální terapii stenózy chirurgickým bypassesem.

Historie léčby

První operace krkavice byly tak zvané ligatury (podvazy). Ambroise Pare byl prvním, kdo popsal ligaturu krkavice v roce 1552. Ačkoliv tento zákrok zachránil francouzskému vojákovu život, ponechal jej po zbytek život hemiplegického s afázií. V průběhu dalších dvou století se několik dalších lékařů pokusilo o podvaz tepny, většinou u traumatického poškození. Výsledky těchto zákroků však byly doprovázeny výraznou morbiditou a mortalitou. Později se podvaz tepny začal užívat pro léčbu jiných patologií, jako byla karotido-kavernózní píštěl (Benjamin Travers, 1809) nebo aneurysmata (Victor Horsley, 1885)^{5,10}. Do začátku 20. století se dále rozšířila indikační kritéria tohoto zákroku pro tumory, arterio-venózní malformace a další. Od té doby však začal být podvaz karotidy chápán jako velmi riziková procedura, a tak od ní bylo upuštěno.

Až ve 30. letech 20. století bylo provedeno vytětí uzávěru tepny s následnou suturou. Tento zákrok měl dobrý klinický úspěch u dvou pacientů operovaných Chaem v roce 1938⁵. Jako poměrně úspěšný typ operace se ujalo i vytvoření arteriovenózního zkratu, poprvé provedeno Sciaronim, mezi karotidou a jugulární žílou. Vývoj

operačních přístupů vyvrcholil 7. srpna 1956, kdy Michael DeBakey provedl první úspěšnou karotickou endarterektomií (CEA) pro symptomatickou stenózu krkavice. Denton Cooley posunul dále bezpečnost zákroku provedením CEA s užitím shuntu, což zabezpečilo průtok krve do mozku po dobu operace. V roce 1994 se s rozvojem angiografie a intervenčních metod konečně podařilo implantovat první stent Marksovi a jeho kolegům ve Standfortu ⁵. Další zdokonalování jednotlivých metod probíhá dodnes spolu s velkým pokrokem v konzervativní terapii.

Epidemiologie

Jako první v žebříčku příčin dlouhodobé invalidity se dlouhodobě vyskytuje CMP. Ve Spojených státech je při počtu 795 000 cévních mozkových příhod za rok 5. nejčastější příčinou úmrtí ¹¹. Podle statistického úřadu Evropské Unie se u lidí nad 65 let věku jedná o první nejčastější úmrtí u žen a druhé nejčastější u mužů (na prvním místě je Covid 19) za rok 2020. Incidence stenózy karotidy u pacientů s ischemickou CMP dosahuje 13 případů na 100 000 (¹¹). U pacientů s ischemickou cévní příhodou je příčinou ateroskleróza karotidy v 15-20 % ¹. Ateroskleróza je onemocnění projevující se především ve starším věku a může postihovat různé tepny těla (krkavice, koronární tepny, tepny končetin a další). Infarkt myokardu a CMP jako následky aterosklerotického procesu se typicky vyskytují u pacientů starších 55 let ¹².

Jako rizikové faktory pro rozvoj aterosklerózy byly prokázány následující: hypertenze ¹³, diabetes ¹⁴, dyslipidémie ¹⁵, environmentální rizikové faktory ¹⁶, rasa (častější u afroameričanů a asiátů než u kavkazské rasy) ¹⁷, nezdravé stravování ^{16,18}, nedostatek fyzické aktivity ¹⁹, nedostatek spánku ²⁰, kouření ¹⁶, znečištěné ovzduší ¹⁶, nevhodný střevní mikrobiom ²¹, požívání alkoholu ²² a bakteriální a virové infekce ²³.

Anatomie a histologie karotid

Levá společná karotida (*arteria carotis communis*, ACC) vychází z aortálního oblouku, kdežto pravá se odděluje z hlavopážního kmene (*truncus brachiocephalicus*). ACC je uložena v nervově-cévním svazku spolu s *vena jugularis interna* (VJI), *n. vagus* a *ramus superior ansae cervicalis*. Tento svazek je obalen vazivovou karotickou

pochvou (*vagina carotica*), což je pokračování hluboké krční fascie (*lamina pretrachealis faciae cervicalis*). V průměru má tepna průsvit 6.5 mm u mužů a 6.1 mm u žen ²⁴. Společná karotida je uložena mediálně a dorzálně od *musculus sternocleidomastoideus*. Laterálně od ACC je uložena vnitřní hrdelní žíla (*vena jugularis interna*, VJI). Několik významných nervů běží v blízkosti ACC a jejím větvením. Nejčastěji postižené nervy během CEA jsou *nervus facialis (dolní větev)*, *nervus hypoglossus* a *vagus (n. laryngeus recurrens)*. *Nervus facialis* opouští lebku skrze *foramen stylomastoideum*, vstupuje zezadu do *glandula parotis* a vytváří *plexus parotideus*. Dělí se na horní a dolní větev pro mimické svaly horní a dolní poloviny obličeje. *Nervus hypoglossus* (XII.) vystupuje z kalvy skrze *canalis nervi hypoglossi* a přechází většinou nad větvením ACC přes ACI ke svým cílovým svalům. *Nervus vagus* (X.), který vychází z *foramen jugularis* putuje poté v karotické pochvě mediálně a dorzálně od VJI paralelně s ACC. Z nervu odstupuje větev, tzv. *nervus laryngeus recurrens*, který vpravo podbíhá a. subclavia a vlevo arcus aortae a vrací se zpět do hrtanu, který motoricky i senzitivně inervuje. ACC se dělí nejčastěji v úrovni obratle C4 (místo větvení je však variabilní, může se vyskytovat od T2 po C1) na vnitřní a vnější karotidu. V karotické pochvě se nacházejí dvě důležité struktury a to karotidové tělísko (*glomus caroticum*) a karotický sinus. Karotidové tělísko, inervované sensorickou větví *n. glossopharyngeus* (IX.), má specifickou schopnost chemorecepce, kterou užívá k monitoraci krve. Jsou zde uloženy dva typy buněk – typ I jsou buňky (buňky glomu), které vznikají diferenciací z neurální lišty a jsou schopny produkovat acetylcholin, adenosin trifosfát a dopamin; typ II jsou buňky, které slouží jako podpůrné. Buňky karotidového tělíska jsou schopny monitorovat pH krve, pCO₂ a pO₂ a jsou aktivovány acidémií, hyperkapnií a hypoxií. Buňky glomu jsou schopny aktivovat sympatikus a tím zvýšit tlak, zrychlit puls a ventilaci. Většinou rozměr karotidového tělíska nepřesahuje 6 mm, pokud se jedná o větší nález, pak je nutné pomyslet na paragangliom. V rozšířené části vnitřní karotidy se nachází karotický sinus, který je zásadním baroreceptorem. Podráždění či masáž lokality karotické bifurkace může způsobit významnou bradykardii s hypotensí, někdy i synkopu. Úmrtí na stimulaci karotidového tělíska (*carotid sinus reflex death*) jsou vzácná a většinou se vyskytují v souvislosti s jinými patologickými procesy jako je onemocnění srdce či

intoxikace drogami. Za tělískem se větví karotida na vnější a vnitřní krkavici (*a. carotis externa ACE et interna ACI*). ACI je většinou uložena postero-laterálně, ale v 10 % případů může být toto postavení obráceně. Výš nad bifurkací dochází k rozšíření tepen.

Vnější karotida pokračuje ventrálním směrem a odstupuje z ní několik větví – *a. thyroidea superior*, *a. lingualis*, *a. facialis*, *a. occipitalis*, *a. auricularis posterior*, *a. pharyngea ascendens*, *a. maxillaris* a *a. temporalis superficialis*. Tyto větve mohou mít anastomózy s intrakraniálním řečištěm a intervenčními radiology jsou zvány nebezpečné anastomózy protože skrze tyto spoje může dojít k neúmyslné embolizaci v průběhu intervence na ECA²⁵. Vnitřní karotida se dělí na sedm částí dle Fischera. První část C1, cervikální (*cervicalis*), se rozpíná od větvení společné karotidy a pokračuje do počátku karotického kanálu uvnitř temporální kosti. Zde začíná druhá část, C2, takzvaná petrósní (*petrosus*), která končí před zakřivením tepny a vstupem do foramen lacerum. V průchodu tímto otvorem se jedná o segment C3, lacerózní (*lacerum*). Segment C3 končí prostupem do kavernosního splavu (*sinus cavernosus*). Zde se již jedná o čtvrtý segment (C4), neboli kavernósní, který dosahuje k otvoru v duře. Po průchodu durou mluvíme o pátém segmentu (C5), tedy klinoidálním (*clinoideus*). Další dva segmenty se nazývají podle odstupujících tepen, tj. C6 oftalmický (*ophtalmicus*), C7 komunikující (*communicans*). Následně se tepna dělí na své hlavní dvě větve *a. cerebri anterior* a *a. cerebri media*. Tyto větve se dominantním způsobem podílejí na zásobení mozkových hemisfér.

Stěna krkavice se skládá ze tří vrstev – *tunica intima* (nejvnitřnější), *tunica media* a *tunica adventitia*. *Tunica intima* je tvořena buňkami endotelu a vrstvou subendoteliálního vaziva. Endotel je pokryt souvislou vrstvou glykokalyx (až 500 nm), což zabezpečuje negativní náboj stěny a její selektivní permeabilitu. Vazivo pod endotelem je složeno z glykosaminoglykanů a kolagenu. *Tunica media* je nejsilnější vrstva tvořená svalovými buňkami a mezibuněčnou hmotou (proteoglykany, kolagen, elastin). Nejsvrchnější vrstva z vaziva se jmenuje *tunica adventitia*. Jsou v ní uloženy fibroblasty a proteoglykany a zároveň tepnu vyživující malé tepny, *vasa vasorum*, a nervové zásobení především zprostředkované ze sympatiku, které ovlivňuje vazokonstrikci tepny.

Patofyziologie aterosklerózy karotid

Zcela nejčastější příčinou stenózy karotidy je onemocnění zvané ateroskleróza (kornatění tepen). Jedná se o nejčastější kardiovaskulární onemocnění postihující velké a středně velké tepny v těle. Mezi nejčastěji postižené patří koronární tepny, periferní tepny končetin, krkavice, renální tepny a vertebrální a mezenterické tepny. Výskyt aterosklerotických plátů vzniká převážně v místě bifurkací tepen, tedy v místech, kde se laminární proudění mění v turbulentní. Aterosklerotický proces postihuje převážně acelulární vrstvu tepny pod jednovrstevným endotelem ²⁶.

Jedním z hlavních patofyziologických spouštěčů vzniku aterosklerózy je doposud ne plně objasněná aktivace endotelu. Jednotlivé buňky endotelu jsou spojeny pomocí *tight junction*. Zřejmě působením zvýšeného stříhového napětí v místě turbulentního proudění dochází ke zvýšené propustnosti endotelu pro molekuly o větší velikosti. Tento proces vede k akumulaci lipoproteinů včetně low-density lipoproteinů (LDL) a zbytků lipoproteinů bohatých na triglyceridy v intimě. Některé z těchto lipoproteinů interagují s přítomnými glykosaminoglykany ²⁷. Nahromaděné LDL a další lipoproteiny se shlukují a podléhají oxidaci v rámci působení oxidačního stresu. Oxidační stres vzniká akumulací reaktivních forem kyslíku (ROS) a dusíku (RNS), které nejsou kompenzovány dostatečnou antioxidační ochranou. ROS a RNS hrají významnou roli v rozvoji zánětu, v apoptóze, buněčném růstu, tonu stěny tepny a v oxidaci lipidů ²⁸. Vznikají tak prozánětlivé oxidované lipidy, které indukují chemotaxi a expresi adhezivních molekul na endotelu. Monocyty v krvi jsou atrahovány a vázány k endotelu, vstupují do intimy, kde vyžívají v makrofágy. Makrofágy pohlcují přítomné oxidované lipoproteiny (nativní lipoproteiny fagocytóze nepodléhají) a postupně se proměňují v pěnové buňky. Zdá se, že v počáteční fázi tvorby plátu pocházejí makrofágy z krve, kdežto v pozdějším stadiu dochází k lokální proliferaci makrofágů ²⁹.

Jakmile vznikne tato primární léze, lipidy a pěnové buňky se hromadí a další leukocyty, převážně T-lymfocyty, prostupují endotelem a hromadí se v intimě (pokročilá aterosklerotická léze). Během času pěnové buňky zanikají (jak apoptózou tak nekrotózou), a vzniká z nich nekrotické jádro plátu, které se skládá z buněčné debris,

esterů a z krystalů cholesterolu. Zároveň hladké svalové buňky z arteriální medie ztrácí svou kontraktilitu, množí se a vstupují do intimy těsně pod endoteliální buňky, a tím vytváří tzv. fibrózní čepičku. Tato fibrózní čepička chrání plát před rupturou. Hladké svalové buňky se též mohou dělit v pěnové buňky a v buňky podobné kostním, ve kterých se ukládá kalcium fosfát. Většina plátů se klinicky projeví svou rupturou. Ukázalo se několik faktorů, které ovlivňují míru vulnerability plátu. Fibrózní léze s tlustou fibrózní čepičkou jsou obecně stabilnější než měkké pláty vyplněné lipidy. Dále bylo prokázáno, že velké množství makrofágů podporuje zánětlivou reakci a sekreci proteáz destruujiících fibrózní čepičku, což podmiňuje destabilizaci plátu.

Zajímavým nálezem je výrazná heterogenita buněk, které se nalézají v plátu, jejichž původ nebyl zcela jasný. Dnes díky analýze RNA buněk víme, že jednotlivé buňky v plátu oplývají významnou plasticitou. Jak již bylo nastíněno v případě hladkých svalových buněk ukázalo se, že se SMC dokáží diferencovat jak v buňky s multipotentním diferenciacním potenciálem (takové buňky mohou dát vzniknout proaterogenním buňkám *macrophage-like* a *fibrochondrocyte-like cells*), tak reverzně v ateroprotektivní SMCs³⁰.

Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím tvorbu plátu je proces stárnutí. Ve stáří dochází k poruše krvetvorby, která může vyústit v klonální hematopoetu, která je s aterosklerózou významně spjata³¹. Vliv na stabilitu plátu má i stárnutí endotelu a hladkých svalových buněk³². Stárnutí buněk je podmíněno oxidačním stresem, poničením DNA a vyčerpáním proliferační kapacity. Zestárlé buňky produkují prozánětlivé cytokiny, proteázy a modulátory imunitní obrany (hromadně nazývané *senescence-associated secretory phenotype*). Toto ničení DNA je možné ovlivnit kupříkladu histon deacetylázou SIRT6 z rodiny sirtuinů, která inhibuje poranění telomer³².

Nezanedbatelnou úlohu pro rozvoj aterosklerózy má genetický podklad. Specifické dědičné genetické variace jsou pozorovány až u 40 % pacientů. Jen několik z těchto variant podléhá Mendelovým zákonům dědičnosti jako například familiární hypercholesterolemie, mutace PCSK9 a další³³. Většina dědičných variant je založena na kombinaci několika genů, které ač jednotlivě mají pouze malý vliv mohou dohromady zesílit svůj účinek, a mít tak významný vliv na biologický efekt. Dodnes je

identifikováno přes několik set genů, které se podílí na rozvoji aterosklerózy, ale stále odhalují asi polovinu z dědičných forem³⁴. Nejčastější genetickou dědičnou variantou tvoří exprese dlouhých nekódujících RNA (ANRIL). Jako další významné geny ovlivňující aterosklerózu jsou ty, které způsobují primární onemocnění jako hypertensi, diabetes a dyslipidémii³⁵.

Patologický obraz aterosklerotického plátu

V případě ischemické CMP se dříve hodnotila tíže stenózy karotidy. Jako původce CMP se považovala karotida se stenózou přesahující 50 %. Nyní se ale ukazuje, že prediktivnější než velikost stenózy se zdá být histologické složení plátu. Komplexní pláty, tedy pláty s hypoechogenním signálem, ulcerací, neovaskularizací či trombózou uvnitř plátu, mají 4 krát větší riziko ruptury než jiné pláty³⁶.

Navzdory obdobnému základnímu patofyziologickému mechanismu vzniku aterosklerotického plátu mají pláty jednotlivých pacientů odlišné histologické složení. Zajímavé je, že ačkoliv je ateroskleróza celotělové onemocnění, přesto se pláty z různých tepen jednoho pacienta liší mezi sebou a to i pokud jsou porovnány pláty obou karotid³⁷. Rozdílná histologie plátu má zásadní vztah k různému biologickému chování plátu. Během sledování pacientů s aterosklerotickým postižením karotid bylo prokázáno, že existují pláty, které své nositele neohrožují vznikem cévní mozkové příhody. Tyto pláty jsou nyní charakterizovány jako stabilní. Na opačném konci spektra jsou pláty, které i při málo významné stenóze krkavice mohou časně prasknout a způsobit CMP. Pláty, které jsou příčinou CMP, jsou zvány nestabilní.

Vzhledem k tomuto zjištění byly provedeny studie, které se zaměřily na vyhodnocování histologického nálezu na aterosklerotických plátech, jež byly získány během operace. Pláty, které byly odebrány pacientům se symptomatickou stenózou, byly hodnoceny jako nestabilní a pláty, jež byly odstraněny pacientům s asymptomatickou stenózou, byly hodnoceny jako stabilní. Výzkumníci se zaměřili na různé parametry jako excentricita plátu, převaha fibrózní či ateromatózní složky, přítomnost kalcifikací, krvácení uvnitř plátu, přítomnost trombózy, zánětu, neovaskularizaci a další. Analýza jednotlivých parametrů dosahovala jen v některých případech statistické významnosti a závěry jednotlivých studií se často lišily³⁸. Jako

lepší řešení se ukázalo pohlížet na plát jako na celek a hodnotit jej komplexně. Vzniklo tak hodnocení pomocí AHA klasifikace³⁹ (Tabulka 1).

V nedávno uveřejněných studiích bylo zjištěno, že histologická struktura karotického plátu není ovlivněna pouze procesem aterosklerózy ale i dalšími faktory jako je věk a pohlaví^{12,38}.

Příznaky

Jelikož se jedná o onemocnění chronické, progredující v řádu několika let, mnozí pacienti jsou dnes v rámci preventivních prohlídek diagnostikováni s tzv. asymptomatickou stenózou karotidy. Pokud ale dojde k protržení plátu a k embolizaci, projeví se tato událost jako ipsilaterální monokulární slepota či hemisferální infarkt – označováno jako tranzitorní ischemická ataka (TIA) nebo ischemická CMP (iCMP). Projeví-li se stenóza karotidy jedním z popsaných příznaků a není-li příznak starší než 180 dní (tento časový údaj je arbitrážní, vznikl při tvorbě definice v prvních randomizovaných studiích NASCET a ECST), jedná se o symptomatickou stenózu. Ipsilaterální monokulární slepota může být dočasná, tzv. amaurosis fugax (plachá slepota), nebo trvalá, tj. retinální infarkt. Amaurosis fugax má dva základní typy – embolický, připomínající stahování závěsu trvající 1-2 minuty, a hypoperfuzní, projevující se desaturací a šedivým zabarvením obrazu. Hemisférické infarkty mají obdobné příznaky, liší se ale v délce trvání (TIA do 24 hodin odezní) a v nálezů na grafických zobrazeních (TIA má negativní nález). Vzhledem k tomu, že dominantním projevem stenózy karotidy je porucha toku ve střední mozkové tepně, projevuje se hemisferální infarkt motorickým či sensitivním zánikem kontralaterální ruky a tváře, který je významnější než zánik na noze. Jedná-li se o dominantní hemisféru, může být infarkt doprovázen poruchou fatických funkcí. Při postižení nedominantní hemisféry může být přítomen neglect syndrom či vizuospaciální postižení. Dojde-li k postižení optické radiace, projevuje se CMP homonymní hemianopsií či kvadrantanopsií. Při fyzickém vyšetření může být přítomen šelest nad karotidou. Tato metoda má jen omezenou sensitivitu (53 %) a specificitu (83 %) pro stenózu přesahující 70 %⁴⁰. Dalším nespecifickým nálezem může být šelest nad zavřeným okem, který ale může doprovázet i intrakraniální

stenózu či arteriovenózní zkrat. Často je slyšet nad ipsilaterálním okem, ale může být výraznější kontralaterálně při významné ipsilaterální stenóze či okluzi.

Diagnostické možnosti

V základním principu existují čtyři radiologické metody, které jsou užívány k detekci karotidy. Jsou jimi digitální substrakční angiografie (DSA), počítačová tomografie s angiografií (CTA), magnetická rezonance s angiografií (MRA) a ultrazvuk (UZ).

DSA

Jako první metoda pro diagnostiku stenózy krkavice se užívala invazivní angiografie a z ní odvozená digitální substrakční angiografie (DSA). Angiografie byla vynalezena Portugalcem a nositelem Nobelovy ceny za objev prefrontální leukotomie (lobotomie) Antoniem Egasem Monizem v roce 1927. Od tohoto roku sloužila k diagnostice nejen cévních patologií, ale i intrakraniálních lézí ⁴¹. Klasická DSA k diagnostice stenózy karotidy je užívána od sedmdesátých let. DSA využívá distribuce kontrastní látky vpravené do cévního řečiště, která je dále distribuována ve směru toku krve. Jedná se o metodu s výborným rozlišením a s dynamickým zobrazením cévního zásobení. Pro tyto své kvality dodnes nachází významné uplatnění v diagnostice cévních patologií a je základním vyšetřením pro intervenční radioterapii.

Vzhledem k tomu, že metoda zobrazovala pouze vnitřní stěnu tepny, využívala se převážně k ohodnocení tíže stenózy karotidy. Koncem osmdesátých a začátkem devadesátých let dvacátého století byly provedeny dvě randomizované multicentrické studie – The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial ⁴² (NASCET) a European Carotid Surgery Trial ⁴³ (ECST). Tyto studie měly za cíl stanovit indikační kritéria pro karotickou endarterektomii (CEA) v závislosti na tíži stenózy na DSA. Jak NASCET, tak ECST porovnávaly efektivitu konservativní a chirurgické léčby (CEA). Obě studie prokázaly, že CEA snižuje výskyt CMP u pacientů, kteří mají symptomatickou stenózu přesahující 50 %. Studie položily základní pilíře pro všechny budoucí mezinárodní doporučení. Od té doby až dodnes je

tíže stenózy měřená v procentech základní charakteristikou, která rozhoduje o dalším terapeutickém postupu.

Neinvazivní metody

Od doby publikace zmíněných studií, došlo k extensivnímu rozvoji nových diagnostických metod, které nazýváme neinvazivní. V základním principu se jedná o tři metody – počítačovou tomografii s angiografií (CTA), ultrazvuk a magnetickou rezonanci s angiografií (MRA). Tyto metody mají výhodu, že kromě vnitřního průměru tepny jsou schopny ohodnotit i stěnu tepen a částečně i složení plátu. Jsou neinvazivní, což je pro pacienty jak bezpečnější, tak komfortnější. Jedná se též o metody lépe dostupné, zejména v případě ultrazvuku. Tyto metody se proto staly základem pro dennodenní praxi při diagnostice stenózy krkavic. Jelikož se jednalo o pozvolný přechod z invazivní DSA na neinvazivní metody, závěry a doporučení stran významnosti stenózy krkavic ze studií založených na DSA, byly převedeny i na neinvazivní metody. Bohužel v té době nebyla korelace jednotlivých metod věrohodně ověřena ⁴⁴. V guidelineech proto zůstalo doporučení, že pokud se jednotlivé diagnostické metody neshodují, DSA má rozhodující význam.

Počítačová tomografie s angiografií

Jedná se o metodu, která je založena na rentgenovém principu při injekci jodové kontrastní látky. Pomocí CT skenu se zobrazí naplněné krkavice kontrastní látkou v mnoha řezech, tzv. helikální (spirální) CTA. Současná CT je schopna vytvořit tenké řezy s velmi dobrým rozlišením, ze kterých je poté možné zobrazit tepnu ve všech rovinách (axiální, koronární a sagitální). V zobrazení krkavic se využívá *maximum intensity projection* (MIP) a 3D rekonstrukce, což zvyšuje výtěžnost CTA.

Výhodou CTA je, že kromě standardních parametrů procentuálního zúžení tepny je možné získat i informaci o základním složení plátu. Na CT jsou velmi dobře patrné kalcifikace a je možné rozeznat rizikový měkký plát. V některých případech je patrná ulcerace, nitroplátový trombus či šíře plátu. Vzácně může být detekován velmi rizikový intraluminální trombus (*vlažící trombus, smoking gun, donut sign*) často spojený s akutní ischemickou CMP. CTA nám poskytuje velmi spolehlivé znázornění

okolní anatomie, výšce bifurkace, uložení úhlu mandibuly, ischemie v CNS a případných dalších patologií cévy. Tyto prvky mají velký význam při indikaci chirurgické intervence. Navíc CTA je dobře dostupné vyšetření s okamžitým výsledkem a proto má své uplatnění i v urgentních případech. CTA je pro mnohá pracoviště základním vyšetřením, podle kterého se stanovuje další terapeutický postup. U této vyšetřovací metody je však třeba dát pozor na zavádějící výsledek, kdy při velmi významné stenóze karotidy může být na CTA falešně detekován uzávěr (okluse) tepny. Objemnější kalcifikace jsou hypertenzní a mohou tak ztížit přehlednost lumen tepny. V těchto případech je leckdy přesná detekce míry stenózy svízelná. CTA je navíc metodou, která pacienty zatěžuje radiačním zářením. Dávka CTA odpovídá cca 16.4 mSV, což je asi 6 krát více než při nativní CT⁴⁵. Podle Brennera et al. je asi 1.5-2 % ze všech rakovin v Americe způsobeno radiací z CT vyšetření. CTA proto není vhodným vyšetřením v rámci preventivních prohlídek k detekci asymptomatických stenóz karotid a indikaci k tomuto vyšetření je třeba důsledně zvážit.

Ultrazvuk

Při vyšetření ultrazvukem se využívá tzv. B-módu, který vytváří obraz tkáně v odstínech šedi a tzv. Dopplerova ultrazvuku, jenž zaznamenává tok krve. Díky obojímu zobrazení je možné ohodnotit detailní strukturu stěny tepny a tok krve včetně jeho rychlosti. Hodnotí se maximální průtoková rychlost (*peak systolic velocity*, PSV) a stenóza tepny se pak nepřímou vypočítá z porovnání PVC v ACI vůči ACC (ACI/ACC ratio). V B-módu lze dobře detekovat měkký hypoechogenní plát, který je rizikový stran ruptury. V dalším průběhu aterosklerózy může UZ zachytit kalcifikace, nekrotické jádro bohaté na lipidy i krvácení do plátu.

Ultrazvuk je díky své ceně, dostupnosti a absenci radiačního záření nejčastěji užívaným radiologickým vyšetřením pro detekci stenózy karotidy v rámci preventivního zachytu asymptomatických stenóz karotid. Nevýhodou ultrazvuku je, že nemůže ohodnotit intrakraniální cévní zásobení a při významné kalcifikaci je zobrazení UZ těžko hodnotitelné. Kvalita ultrazvukového zobrazení též významně závisí na schopnostech vyšetřujícího. Ultrazvukem je těžké ohodnotit komplexní

anatomii, výši bifurkace vzhledem k úhlu mandibuly a ke krčním obratlům. Je proto nevhodným pro chirurgické plánování.

Magnetická rezonance s angiografií

Magnetická rezonance využívá statického magnetického pole a opakovaných radiofrekvenčních impulsů. Tyto impulsy manipulují s protony v těle, které následně vysílají signál, jenž je závislý na složení tkáně. MRA je možné provést jak s využitím kontrastní látky (Gadolinium), tak bez této látky. Nekontrastní MRA využívá *time of flight* (TOF), která je založena na pohybu protonů v tepně vůči okolí. Výhoda MRA s využitím kontrastní látky spočívá v tom, že má lepší obraz zvýrazněných tepen a méně artefaktů ve srovnání s TOF, přitom však ztrácí schopnost rozlišení směru toku.

MRA má v mnohém podobné vlastnosti jako CTA. V plátu je možné zachytit ulceraci či trombus. Lépe než CTA, je však MRA vhodná k ohodnocení měkkých tkání v okolí tepny či ischemie CNS. MRA je schopna detekovat nitroplátové krvácení, které je často spojeno s CMP⁴⁶. Nevýhodou MRA oproti CTA je horší zvýraznění kalcifikací, významně vyšší cena, horší dostupnost a k tomu i časová náročnost vyšetření. MRA může být kontraindikováno u pacientů s feromagnetickými či elektrickými implantáty.

Biomarkery

Navzdory významnému pokračujícímu vývoji radiodiagnostických metod, zůstává i nadále rozlišení stabilních plátů od nestabilních nepřesné. Je proto žádoucí objevit podpůrnou metodu, která by diagnostiku zpřesnila. Právě proto se v současnosti rozvíjí studium biomarkerů nejčastěji odebraných ze séra pacienta. Vztah jednotlivých studovaných biomarkerů k procesu aterosklerózy je však různý. Objemnou skupinu tvoří biomarkery zánětu (C-reaktivní protein, interleukin 6, Pentraxin 3, tumor necrosis factor alfa...), které se sice vyskytují v celé řadě jiných patologických procesů, byl ale prokázán vztah s výskytem symptomatických karotických plátů. Nevýhodou je nespecificita biomarkerů zánětu, na druhou stranu se zdají být efektivní při sledování chování plátu v čase a u diagnostiky stenózy karotidy

u pacientů středního věku.^{47,48} Existují i specifitější biomarkery zánětu, z nichž jsou do samostatné kategorie vyčleněny biomarkery oxidačního stresu (např. malondialdehyd MDA). Jde však doposud o málo prostudovanou entitu a závěry studií nejsou jednoznačné.

Další významnou skupinu tvoří biomarkery lipidové a lipoproteinové. Mezi tyto biomarkery patří oxidovaný LDL, high density lipoprotein cholesterol, lipoproteiny bohaté na triglyceridy, very low density lipoproteins, jednotlivé apolipoproteiny (apo B 100, apo E, C-II, AI) a další. Jednotlivé studie ukazují, že biomarkery lipidů mají významný vztah k aterosklerotickému procesu a k vulnerabilitě plátu.⁴⁹⁻⁵¹

Mezi dalšími studovanými potencionálními biomarkery jsou endoteliální a biomarkery adhesivních molekul (intracelulární a vaskulární adhesivní molekuly), proteolýzy a degradace matrix (metaloproteinázy 1, 7, 9) a metabolických procesů (chemerin, leptin, resisitín). Nicméně doposud nebyl stanoven vhodný biomarker s dostatečnou sensitivitou a specificitou.⁵²

Konzervativní léčba

Léčba stenózy karotidy je rozmanitá počínajíc konzervativní terapií a končíc intervenčním zákrokem. Adekvátní konzervativní léčba (Best Medical Treatment, BMT) je zcela esenciální součástí kvalitní péče. BMT zahrnuje preventivní opatření (odvykání od kouření, odvykání od alkoholu, dieta, pravidelná fyzická aktivita aj.) a léčbu přidružených nemocí, které mají vliv na progresi aterosklerózy, jako jsou zejména hypertenze, diabetes a dyslipidémie. Nelze opomenout antitrombotickou terapii, a to jako monoterapii či jako duální antiagregaci s cílem prevence vzniku trombu. Z intervenčních zákroků je možné zvolit chirurgickou endarterektomii nebo implantaci stentu.

Statiny

HGM-CoA je zcela zásadním enzymem pro syntézu cholesterolu. Statiny účinkují kompetitivní inhibicí HGM-CoA, a tím snižují hladinu cholesterolu. Mnohé randomizované kontrolované studie prokázaly významný efekt statinů na snížení hladiny lipidů a jejich znatelný protizánětlivý efekt⁵³. Zajímavým zjištěním byl i fakt,

že užívání statinů vede ke stabilizaci plátu, v některých případech dokonce ke zmenšení plátu⁵⁴. Užívání statinů snižuje riziko cévní mozkové příhody u pacientů se symptomatickou stenózou karotid v pětiletém období⁵⁵. Nejčastějšími nežádoucími účinky farmakoterapie statiny jsou elevace jaterních enzymů, myopatie a kožní vyrážka. Cílem léčby je snížení plazmatické hladiny LDL pod 100 mg/dl⁵⁵ či agresivněji až pod 70 mg/dl⁵⁶. Současně jsou dostupné i monoklonální protilátky, které snižují hladinu cholesterolu. Jsou to takzvané *proprotein convertase subtilisin/kexin type 9* (PCSK9). Tyto protilátky se zdají být slibnými, dramaticky snižují plazmatické hladiny LDL, a mají tak významný efekt na snížení rizika CMP či infarktu myokardu⁵⁷. Jejich nevýhodou však zůstává velmi vysoká cena.

Změna životního stylu, cvičení, dieta

Ateroskleróza je civilizační onemocnění, jehož příčinou je mimo jiné nezdravý životní styl. Zaměnit nezdravé životní návyky za zdraví prospěšné se zdá být intuitivní, skutečný vliv na progresi aterosklerózy však není zcela jasný. V doporučeních *American Heart Association* (AHA) z roku 2014 je uvedeno, že pacienti by měli snížit tělesnou hmotnost, preferovat nízkotučnou dietu a jíst ovoce a zeleninu, příležitostně ryby a drůbež. Nicméně síla tohoto doporučení odpovídá úrovni C⁵⁸. Při nejmenším však bylo prokázáno, že cvičení a změny životního stylu mají vliv na snížení aktivity metaloproteáz, hodnoty systolického a diastolického tlaku, redukci hmotnosti, hladiny LDL a triglyceridů a na zvýšení VO₂⁵⁹⁻⁶¹.

Léčba hypertenze

Hypertenze je diagnostikována u 90 % pacientů se symptomatickou stenózou karotidy⁶². Dle AHA doporučení by měli být léčeni pacienti s hypertensí s cílovými hodnotami systolického tlaku pod 140 mmHg (úroveň evidence B)⁵⁸. Vhodná časová prodleva od CMP po nastavení adekvátní antihypertenzní léčby není přesně určena. V době ischemické CMP je vhodné ponechat vyšší krevní tlak s cílem udržet dostatečnou perfuzi mozkovou tkání a penumbrou. Ve většině případů je zahájena antihypertenzní terapie během dvou týdnů od CMP. Korekce hypertenze ACE

inhibitory a blokátory kalciového kanálu má příznivý vliv na snížení tloušťky stěny karotidy ⁶³.

Léčba diabetu, snižování HgA1c

Všichni pacienti, kteří prodělají CMP, by měli mít vyšetřenou hladinu cukru v krvi, jelikož se jedná o jeden z ovlivnitelných rizikových faktorů pro rozvoj CMP (skupina IIa, hladina evidence C) ⁵⁸. Bylo pozorováno ztenčení stěny karotidy u pacientů s aterosklerózou při normalizaci hladiny glykémie ⁶⁴. Dle doporučení AHA má snížení hladiny HgA1c pod 7 význam v léčbě stenózy karotidy, doposud ale nebyl definován přesný vliv na redukci výskytu CMP ⁵⁸.

Protidestičková léčba

Ve studii zhotovené v roce 1995 Cote s kolegy ⁶⁵ hodnotili výsledky pacientů s asymptomatickou stenózou karotidy nad 50 %. Rozdělili pacienty do dvou větví. Jedna skupina užívala 325 mg/den aspirinu a druhá užívala pouze placebo. Po necelých dvou letech nezaznamenali rozdíl ve výskytu CMP mezi větvemi. Přesto je v dnešních doporučeních zapsáno, že pacienti s asymptomatickou stenózou by měli užívat monoantiagregační léčbu jako prevenci CMP ⁶⁶. Stejně tak je doporučeno užívat antiagregační léčbu perioperačně před karotickou endarterektomií či stentem. Síla doporučení v obou případech dosahuje úrovně C.

V případě symptomatické stenózy karotidy je doporučena preventivní antiagregace ⁵⁸. V roce 2005 byla publikována studie, která se zaměřila na bezpečnost a efektivitu duální antiagregační terapie (DAT) u pacientů se symptomatickou stenózou karotidy. Zaznamenávali mikroembolizace pomocí UZ a zjistili, že pacienti s DAT mají snížený výskyt mikroembolů a zároveň mezi nimi bylo přítomno méně klinicky vyjádřených CMP. V nedávno uveřejněné meta-analýze, jež se zabývá efektem časné nasazené DAT (aspirin + ticagrelor) po CMP či TIA na 3 měsíce, dochází k významnému snížení rizika CMP oproti monoantiagregaci aspirinem ⁶⁷. Proto DAT zůstává alternativou pro léčbu symptomatické stenózy karotidy, zvláště u opakujících se příhod. Užívání DAT není doporučeno jako dlouhodobá léčba a

těž v případě, že jsou pacienti indikováni k CEA. Zcela jasně je ale v prevenci CMP preferována antiagregace proti antikoagulaci.

Před CEA se doporučuje užívat 81-325 mg aspirinu denně jako prevence perioperační CMP ⁵⁶. Studie ACE porovnávala výsledky pacientů, kteří před operací užívali různou dávku aspirinu (ASA) – 81 mg, 325 mg, 650 mg a 1300 mg. Skupiny s nižším dávkováním (81 a 325 mg) měly nižší výskyt CMP, srdečního infarktu či úmrtí oproti skupinám s dávkováním ASA 650 mg a více (5,4 vs. 7,0). Existují i menší série, kde autoři doporučují duální antiagregaci ⁶⁸, nicméně v doporučeních je navrženo užívání monoantiagregace aspirinem do 325 mg/den ⁵⁶.

Chirurgická léčba

Pro vhodně nasazenou a individualizovanou terapii je nezbytná přesná a věrohodná diagnostika. Je nutné odlišit stabilní plát, který pacienta v průběhu času neohrožuje, od nestabilního. Doposud není užívaná diagnostika dostatečně přesná a jsou tak intervenčně léčeni i pacienti se stabilními pláty. Ti jsou pak zbytečně vystaveni rizikům s léčbou spojených. Naopak mnozí pacienti s méně významnou stenózou a s nestabilním plátem endarterektomií nepodstoupí, načež jsou postiženi CMP. Dnes se díky neinvazivním radiologickým metodám výběr rizikových pacientů zpřesnil, ale predikce stability plátu u jednotlivých pacientů zůstává často svízelná. Přes významný pokrok v porozumění patofyziologie ruptury plátu a i přes rozvoj neinvazivní diagnostiky, aktuálně platná mezinárodní doporučení léčby stenózy karotidy nadále vycházejí ze závěrů studií, které byly založeny na DSA ⁶⁹. Hlavním kritériem pro léčbu tak zůstává míra stenózy vyjádřená v procentech a zda se jedná o asymptomatickou či symptomatickou stenózu. U symptomatických stenóz přesahujících 50 % je doporučena CEA. U asymptomatických stenóz je doporučena CEA až v případě, že stenóza přesahuje 60 % ⁵⁸.

Karotická endarterektomie, tedy chirurgické vynětí aterosklerotického plátu z karotidy, je jednou z nejčastěji prováděných chirurgických operací. Má proto mnoho modifikací dle zvyklostí pracoviště. Je možné ji provádět jak v celkové, tak v lokální anestezii. V případě lokální anestezie lze snadno sledovat rozvoj neurologického deficitu, kdežto u uspaných pacientů se spoléhá chirurg na neuromonitoraci

elektrofyzikologem. Některá pracoviště preferují příčný řez kůží v úrovni bifurkace, jiné šikmý řez těsně před *m. sternocleidomastoideus*. Preparací před svalem se chirurg dostává ke karotidě, která je s bifurkací uložena v karotickém trojúhelníku (*trigonum caroticum*). Před bifurkací je často uložena *v. facialis* ležící na bifurkaci, někdy též zvaná brána k bifurkaci. Tuto žílu je nutné před vyústěním do VJI přerušit, aby bylo možné obnažit celou bifurkaci s odstupujícími větvemi. Po aplikaci intravenózního heparinu v dávce 5000 jednotek jsou jednotlivé větve uzavřeny svorkami – ACE, a. thyroidea superior (případně a. lingualis a a. pharyngea ascendens), ACC a ACI. Podélným řezem chirurg otevírá tepnu a preparuje aterosklerotický plát, který je uložen v intimě a někdy agresivně prostupuje do medie. Plát lze ve většině případů uvolnit od zbývající stěny tepny a v kuse z cévy odstranit. Tepna je vyčištěna od případných zbývajících vláknitých částí plátu a sešita. Někteří pacienti jsou značně závislí na tepenném zásobení CNS a i krátkodobé uzavření tepny může vést k ischemizaci CNS. V těchto případech se užívá zkratu (shuntu), což je trubicovitý systém, který zabezpečuje průtok krve během operace. Někteří chirurgové preferují implantaci záplaty (*patch*), která zvětší průsvit tepny a tím i průtok krve.⁷⁰

Nejčastější komplikace CEA je hematoma v ráně. Ve většině případů se jedná o asymptomatický nálezní a během několika dní se krvácení vstřebá, ale v 1-3 % případů může dojít k utlačení trachey s nutností re-intubace a revize rány. Hodnotí-li se přítomnost hematoma s útlakem dechových cest radiologicky, je krvácení přítomno až ve 26 %⁷¹. Další častou komplikací jsou parézy hlavových nervů, i když jsou většinou pouze dočasné, jejich výskyt není zanedbatelný, dosahuje 3-27 %⁷². Mezi postiženými nervy může být *n. hypoglossus*, *n. vagus*, *n. laryngeus recurrens*, *n. laryngeus superior*, *ramus mandibularis nervi facialis*, a vzácně *n. glossopharyngeus*.

Ačkoli CEA je operace, která slouží jako prevence CMP, jedním z největších rizik CEA zůstává právě CMP. Již zmíněné randomizované multicentrické studie NASCET a ECST hodnotily rizika CMP v souvislosti s CEA a porovnávaly je s výsledky neoperovaných pacientů. Studie NASCET prve hodnotila výsledky pacientů s mírou stenózy přes 70 % a musela být ukončena předčasně pro významně lepší prospívání pacientů po CEA. Risk iCMP po CEA po 2 letech byl u 9 % operovaných a u 26 % neoperovaných pacientů. U pacientů se stenózou mezi 50-69 % sledovala studie

podobný trend, riziko vzniku iCMP do pěti let bylo u 15.7 % operovaných a 22.2 % neoperovaných. ECST zaznamenala podobné výsledky u těžkých stenóz nad 70 %, u míry stenóz 50-69 % nezpozorovaly významný rozdíl. Na problematiku asymptomatických stenóz se prvně zaměřily randomizované studie Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study (ACAS) ⁷³ a Asymptomatic Carotid Artery Trial (ACST) ⁷⁴. Ve studii ACAS bylo sledováno 1662 pacientů a po 2.7 letech musela být předčasně ukončena pro významný rozdíl mezi pacienty, kteří podstoupili CEA (riziko CMP, IM či smrti u nich dosahovalo 5,1 % a pacienty na konservativní terapii (s rizikem 11 %). Mnohem vyšší vzorek (3120 pacientů) byl sledován ve studii ACST. Autoři zaznamenali statisticky významný rozdíl mezi pacienty po CEA, kteří měli po pěti letech riziko CMP či smrti 6.4 % proti 11.7 % u pacientů na konzervativní terapii.

S odstupem po operaci může dojít k opětovnému výskytu stenózy operované karotidy takzvaná re-stenóza. Je definována zúžením karotidy o více než 50 % a vyskytuje se v rozmezí mezi 1–37 %. Pacienti postižení re-stenózou mají riziko nové CMP 5.5 % ⁷⁵. Dle času výskytu se dělí na re-stenózu časnou (do 2 let od operace) a pozdní (více než dva roky). V případě časné re-stenózy se jedná o proliferaci fibroblastů a SMC v rámci průběhu zánětlivého onemocnění tzv. myointimální hyperplazie. Pozdní re-stenóza se objevuje u pacientů progredující aterosklerózou. Navzdory předpokladům se zdá, že dyslipidémie, pokračování v kouření ani pohlaví nejsou rizikovými faktory pro re-stenózu. Významným rizikovým faktorem pro re-stenózu se však zdá být přítomnost iCMP v rodinné anamnéze ⁷⁶. Restenóza se léčí v případě asymptomatického nálezu přesahujícího 80 % a nebo pokud se jedná o symptomatický nález nad 60 % ⁷⁷. Jak CEA tak implantace stentu mohou být indikovány za účelem rekanalizace tepny.

Radiointervenční léčba

Radiointervenční léčba představuje další metodu, kterou lze zprůchodnit zúženou tepnu pomocí intraarteriální implantace stentu. Ačkoliv zavedení stentu je metoda s historií delší než 30 let, přesná indikační kritéria pro implantaci stentu doposud nejsou definitivně objasněna. Primárně jsou stentem ošetřeni ti pacienti, u nichž je nemožné provést CEA – zejména pro nevhodné anatomické podmínky či neschopnost

podstoupit celkovou anestezii. V doporučeních jsou zpracovány závěry ze studií pro CEA. Dle výsledků ACST 2 jsou obě metody – CEA a stent porovnatelné ⁶². Skupiny pacientů, které těžší z CEA a které více z implantace stentu, ještě musí být upřesněny. V meta-analýzách bylo opakovaně prokázáno, že starší pacienti (nad 70 let) mají nižší perioperační riziko iCMP či smrti po CEA ⁷⁸. Jelikož se jedná o metodu s nižší invazivitou není překvapením, že pacienti se závažnými komorbiditami mají nižší výskyt kardiovaskulárních komplikací po zákroku, tento benefit je však vyvážen vyšším rizikem iCMP ⁷⁹.

Stent může být implantován jak v celkové, tak v lokální anestezii, dle preference operátora. Pacienti mají před procedurou nasazenou duální antiagregaci. V případě, že nejsou pacienti připraveni, je možné podat den před zákrokem 650 mg ASA a 600 mg clopidogrelu (případně ticagrerolu). Pacient leží na zádech a v lokální anestezii se zavádí katetr skrze tříslu do a. femoralis communis Seldingerovou metodou. V některých situacích, například při nepříznivé anatomii aortálního oblouku, může radiolog přikročit k ošetření z radiální tepny nebo vzácně přímo zavedením katetru do ACC. Do společné karotidy je zaveden katetr 0.035“ vodič a 6 F katetr. Je pořízen předozadní a boční snímek stenózy a následně je změřena délka stenotického úseku a šíře ACI. Podle daných parametrů může radiolog vybrat vhodný stent. Před vložením stentu je pacient heparinizován. Stent je vložen do místa stenózy, dalšími snímky je ověřeno položení stentu. Po zákroku jsou pacienti ponecháni na duální antiagregační terapii po dobu 4 týdnů a celoživotně užívají ASA.

Zákrok je většinou dobře tolerován, ale přesto může dojít k iCMP s výskytem těžké invalidity ve 4.8 % a smrtnosti 1.9 % ⁷⁹. Po zákroku se může objevit hypotense či bradykardie, tyto klinické projevy jsou ale většinou dočasné a samy odezní. Vzácně může během zákroku dojít k perforaci tepny. Ojedinele může dojít k akutní okluzi tepny s případnými fatálními následky. Rizikovými faktory jsou pacienti, kteří neobdrželi dostatečnou antiagregační terapii či jsou k této terapii resistantní. Incidence není věrohodně zaznamenána, odhaduje se ale, že dosahuje méně než 1 % ⁸⁰. V případě vzniku této okluze je nutné co nejdříve opět zabezpečit průtok tepnou. K tomu může posloužit trombolýza, mechanická trombektomie, aspirace trombu, opakovaná angioplastika či chirurgická trombektomie.

Během zavádění stentu může dojít i k embolizaci. Proti této komplikaci byly sestrojeny distální protekční systémy (Distal Protection Devices). Jejich efekt ve snížení mikroembolizací byl prokázán v několika studiích⁸¹. Nicméně v randomizované studii porovnávající efektivitu protekčních systémů vůči stentingu bez protekce nebyl prokázán rozdíl v četnosti iCMP mezi skupinami⁸².

V dlouhodobém sledování (5-10 let) je možné zaznamenat re-stenózu v míře nad 50 % u 40 % pacientů a stenózu o velikosti nad 70 % u 10 % pacientů⁸³. Potvrzenými rizikovými faktory jsou kouření, diabetes, ženské pohlaví a hyperlipidémie⁸⁴. Jakým způsobem přistupovat k opětovným stenózám zůstává nezodpovězeno. Dle studie International Carotid Stenting Study⁸⁵ mají opětovné stenózy karotidy po implantaci větší riziko iCMP ve srovnání s běžnou populací. Nicméně doporučení, jak přistupovat k pacientům s náhodně nalezenou re-stenózou karotidy, nejsou dostupná. Rozhodnutí tak závisí na vybavení a zkušenostech pracoviště.

CEA vs. CAS

Výsledky randomizovaných studií, které hodnotily rozdíly morbidity a mortality mezi pacienty ošetřenými stentem a endarterektomií, ukazují na podobný efekt obou metod^{79,86}. Dle CREST⁷⁹ studie sice není rozdíl mezi celkovým výskytem CMP, infarktu myokardu a smrti v obou větvích, nicméně autoři pozorovali častější výskyt CMP po stentingu a infarktu myokardu po CEA. V doporučených postupech je kladen důraz především na prevenci CMP, která má významnější dopad na kvalitu života ve srovnání s infarktem myokardu. Karotická endarterektomie je dodnes metoda první volby u pacientů s nízkými perioperačními riziky⁸⁷. Definitivní indikace záleží ale na mnoha dalších faktorech, mezi kontraindikace CEA patří vysoce uložená bifurkace, předchozí operace /radiace tkání krku, stav po CEA, kontralaterální poranění hlasivek, imobilní/kyfotický/obézní krk, významná polymorbidita pacienta.

Cíle práce a hypotézy

Práce 1: Predikce nestability plátu v závislosti na jeho histologické struktuře

Během studia plátů získaných během karotických endarterektomií bylo zjištěno, že jednotlivé pláty se významně liší mezi sebou. Neliší se jen pláty mezi jednotlivými pacienty, ale rozdílné jsou i pláty získané od jednoho pacienta. Je prokázáno, že různá histologická struktura plátu odpovídá za jeho biologické chování. Nicméně studie, které se těmito histologickými preparáty zabývají, mají různé závěry, jež jsou často v rozporu s jinými. Jako přesvědčivá metoda se ukázala komplexní charakteristika plátu dle AHA klasifikace (tabulka 1) ³⁹.

Zjištění rizikových histologických parametrů je zcela zásadní pro stanovení adekvátní diagnózy za účelem individualizované a přesné terapie. Cílem této studie je identifikovat epidemiologické, morfologické a histologické faktory ovlivňující stabilitu plátu.

Práce 2: Diagnostická přesnost digitální substrakční angiografie při hodnocení významnosti stenózy plátu

Současná doporučení pro léčbu stenózy karotidy jsou doposud založena na studiích, které vznikaly na přelomu osmdesátých a devadesátých let dvacátého století. Jako diagnostická metoda se v té době užívala DSA. Tato metoda je však dnes jen málokdy užívána pro diagnózu karotické stenózy. Rutinně je nyní využíváno neinvazivních metod jako je UZ, CTA či MRA. Přesto se doporučení nijak nezměnila a kritéria, která dříve platila pro DSA, byla převzata i pro neinvazivní metody. Nicméně přesná korelace mezi DSA a plátem nebyla nikdy věrohodně zodpovězena. Přitom znalost přesné korelace DSA vůči plátu je nezbytná, aby doporučení založená na DSA mohla být dále užívána i pro další modalitty.

Cílem této studie je porovnání stenózy změřené na DSA a porovnání nálezu s plátem vyňatým během karotické endarterektomie.

Práce 3: Oxidativní stres jako biomarker nestability plátu

Predikce nestability karotického plátu stále zůstává předmětem výzkumu. Doposud byly nejčastěji zkoumány radiodiagnostické metody, jejichž nálezy nejsou zcela spolehlivé. Proto se dnes pozornost zaměřila na další možné znaky nestability plátu. Jako slibná se zdá být detekce sérových biomarkerů k hodnocení vulnerability plátu. Jedná se o poměrně novou laboratornědiagnostickou metodu. V současné době je zkoumáno velké množství sérových biomarkerů, které se vztahují k zánětu, metabolismu lipidů, proteolýze, adhezi k endotelu a k dalším. Jako jeden ze slibných patologických procesů s početnými biomarkery se zdá být oxidativní stres, jenž je jedním ze základních patofyziologických podkladů aterosklerózy.

V naší studii se zabýváme detekcí sérových hladin malondialdehydu a jeho vztahu k vulnerabilitě plátu. Jeho významnost z hlediska biomarkeru ke stenóze karotidy je doposud neznámá.

Metodika

Práce 1: Predikce nestability plátu v závislosti na jeho histologické struktuře

- Výběr pacientů

Do této studie byli zahrnuti pacienti, kteří měli diagnostikovanou symptomatickou stenózu $ACI > 50 \%$ či asymptomatickou stenózu $> 60 \%$ a kteří splňovali kritéria dle současných doporučení⁸⁸. Dalším inklusním kritériem byl věk od 18 do 90 let. Demografická data byla analyzována a zobrazena v Tabulce 2.

Studie byla navržena v souladu s Helsinskou deklarací z roku 1975 (s následnými revizemi v roce 2004 a 2008). Etická komise Ústřední vojenské nemocnice vydala souhlas s provedením studie. Všichni pacienti, kteří byli do studie začleněni, podepsali písemný informovaný souhlas.

- Diagnostika

Stenóza karotid byla ohodnocena pomocí neinvazivních radiodiagnostických metod. Pacienti, kteří byli diagnostikováni pomocí UZ, podstoupili vyšetření CTA za účelem potvrzení tíže nálezu a předoperačního ohodnocení lokálních anatomických poměrů. V případě, že byla významná diskrepance mezi nálezy (více než 10 %), pacienti podstoupili rozhodující DSA. Hodnocení tíže stenózy bylo stanoveno pomocí metody NASCET (Obrázek 1). Stenóza byla definována jako symptomatická v případě, že pacient prodělal TIA/iCMP/AF/retinální infarkt na odpovídající straně v průběhu 6 měsíců před operací.

- Chirurgický přístup

Všichni pacienti indikovaní k CEA podstoupili operaci v celkové anestezii. Během operace probíhala monitorace neurologických funkcí pod dohledem elektrofyziologa. V případě významného poklesu ($> 50 \%$) somatosensorických evokovaných potenciálů (SSEP), který nereagoval na elevaci středního arteriálního tlaku (MAP), byla operace provedena za inserce shuntu.

Operace byla zahájena řezem před *m. sternocleidomastoideus*. Poté neurochirurg tupou preparací obnažil ACC a její větve a naložil svorky, čímž zamezil průtoku krve v operovaném segmentu. Arteriotomie byla vedena v podélně, neurochirurg

vypreparoval vrstvu mezi plátem a medií, a poté jemnou separací plát oddělil a v kuse odstranil. Pláty, které se nepodařilo odstranit v jednom celku, byly vyřazeny ze studie. V případě vlajících zbytků plátu na stěně tepny je neurochirurg odstranil s velkým důrazem na vyčištění distálního lumina tepny. Tepna byla sešita ve dvou vrstvách, byl vložen drén na sání pod *m. platysma*, a jednotlivé vrstvy byly adaptovány stehem.

- Histologie

Všechny karotické pláty odstraněné z tepen v jednom kuse byly okamžitě po vynětí vloženy do 10 % formaldehydu. Po proběhlé fixaci byly pláty zmenšeny na části asi 4 mm široké. Vzorky byly dekalifikovány naředěnou kyselinou chlorovodíkovou a parafinizovány. Parafinizované vzorky byly nakrájeny na 5 mikronů široké řezy. Takto připravené řezy byly deparafinizovány xylenem a hydratovány v alkoholu. Řezy byly obarveny hematoxylinem a eosinem a van Giesonovou/orceinovou metodou. Makrofágy byly detekovány nepřímou imunohistologickou metodou (marker CD68, primární myši *anti-human* monoklonální protilátka, klon PG-M1) a podobně i endoteliální buňky (marker CD31, primární myši *antihuman* monoklonální protilátka, klon JC70A). Veškerá histologická analýza plátů byla provedena jedním zkušeným patologem (VM) pomocí světelného mikroskopu (Nikon Eclipse E 400).

Jednotlivé histologické rysy plátu ve vztahu k nestabilitě plátu byly histologicky analyzovány a jsou znázorněny v Tabulce 1. Veškeré pláty byly ohodnoceny pomocí AHA klasifikace. Pláty byly rozděleny do 3 skupin: AHA typ IV a V; AHA typ VI; AHA typ VIII. Podobně jako jednotlivé histologické rysy, byly vztahy těchto skupin k nestabilitě plátu statisticky analyzovány.

Typ	Histologický popis
IV/V	Plát s lipidovým nebo nekrotickým jádrem s možným krvácením obklopen fibrózní tkání či kalcifikací (stabilní)
VI	Komplexní plát s možným poraněním povrchu, krvácením, trombózou či kalcifikací (vulnerabilní)
VII	Fibrózní plát s lipidovým jádrem a případně kalcifikací (stabilní)

Tabulka 1: Modifikovaná AHA klasifikace dle Stary a spol.

- Statistická analýza

Shapiro-Eilkův test normality byl proveden k ohodnocení distribuce dat. Demografická data jsou vyjádřena pomocí průměrných hodnot, směrodatné odchylky a v procentech.

Proměnné byly porovnány pomocí Studentova T-testu. Jednotlivé veličiny byly porovnány pomocí Fisherova exaktního testu pro dvě kategorické proměnné veličiny, v jiných případech byl proveden Mann-Whitneyův U test. Univariantní a mnohonásobná logistická regrese byla užita pro získání nezávislých rizikových faktorů pro symptomatickou stenózu karotidy. Pouze faktory s *p-hodnotou* <0.1 v univariantní analýze byly dále analyzovány v mnohonásobné logistické regresi.

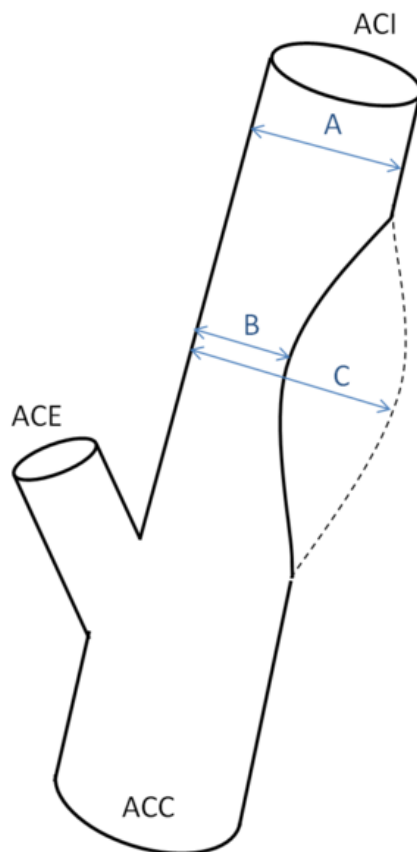
Veškeré statistické testy byly provedeny s hladinou významnosti 95 % ($p \leq 0.05$). Veškerá statistická analýza byla provedena na softwaru IBM SPSS Statistics 22 (SPSS, Chicago, IL, USA).

Práce 2: Diagnostická přesnost digitální substrakční angiografie při hodnocení významnosti stenózy plátu

- Diagnostika karotické stenózy

Diagnostika stenózy karotidy byla založena na DSA. Ta byla provedena ve dvou projekcích, a to v předozadní a boční. Minimálně dva radiologové nezávisle hodnotili tíži stenózy zjištěné na DSA. Užívali jak metody NASCET, tak ECST (obrázek 1). V případě, že se oba lišili o více než 5 %, byla stenóza přeměřena třetím radiologem.

Kritéria pro endarterektomii odpovídala současným doporučením^{68,88}. CEA byla provedena pacientům se symptomatickou stenózou přesahující 70 % dle ECST metody. K CEA byli indikováni pacienti se symptomatickou stenózou karotidy mezi 50–69 % dle ECST a nízkým perioperačním rizikem. Výše operačního rizika byla stanovena dle věku pacientů, komorbidit, vaskulární anatomie a předpokládané délky dožití přesahující 5 let. Pacienti s hraniční stenózou pohybující se mezi 40-50 % dle ECST, s jednoznačnou ipsilaterální symptomatologií, s nálezem měkkého fragilního plátu dle UZ a bez jiné známé příčiny CMP byli indikováni k CEA. V případě asymptomatických stenóz podstoupili operaci pacienti se stenózou přesahující 60 % dle ECST.



Obrázek 1: *Princip měření ECST a NASCET.*

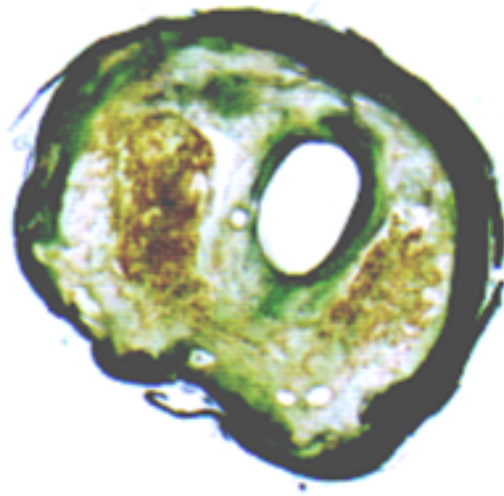
ACC-společná krkavice, ACE-zevní krkavice, ACI-vnitřní krkavice

(A Trush, Vascular Ultrasound: How, Why and When, Elsevier, 2011, page 101)

- Endarterektomie a laboratorní zpracování

Od roku 1998 do roku 2015 bylo zařazeno do studie 644 pacientů. Všichni pacienti podstoupili operaci do dvou týdnů od provedení DSA. Všechny zařazené pláty byly odstraněny v kuse. Pouze nepoškozené a kompaktní pláty podstoupily další analýzu. Preparáty byly fixovány 10% formaldehydem okamžitě po vynětí z tepny. Po fixaci byly provedeny 4 mm široké příčné řezy, jež následně podstoupili proces dekalifikace kyselinou chlorovodíkovou a parafinizace. Parafinizované preparáty byly nařezány na

5 mikronů široké řezy, poté deparafinizovány xylénem, a hydratovány v alkoholu. Preparáty byly obarveny hematoxylinem a eosinem, van Giesonovou/orceinovou a Unna-Tanzerovou metodou, a trichromovým barvením podle Malloryho. Zobrazení preparátů světelným mikroskopem byla naskenována a skeny nejvýznamnější stenózy byly měřeny dvěma pozorovateli (Obrázek 2). Pozorovatelé pro měření stenóz užíli software Scion Image Beta 4.02 (Scion Corporation Frederick, MD, USA).



Obrázek 2: *Příčný řez histologickým preparátem karotického plátu*

- Třídění a statistika

Pacienti byli rozřazeni do tří skupin podle tíže stenózy dle NASCET: mírná stenóza 3049 %, střední stenóza 5069 % a těžká stenóza 7099 %. T-testy pro normální rozdělení byly vypočteny pro každou skupinu a pro celou kohortu pacientů. Korelace mezi měřením na histologickém preparátu a na DSA byla ohodnocena pomocí Pearsonova korelačního koeficientu. Statistické testy byly provedeny s hladinou významnosti 95 % ($p < 0.05$). Statistická analýza byla zhotovena na software Statistica 13.5 (TIBCO software, Palo Alto, CA).

Práce 3: Oxidativní stres jako biomarker nestability plátu

- Charakteristika studie:

Jedná se o observační studii případů, které byla provedeny v jedné nemocnici. Do studie byli zařazeni ti pacienti, kteří podepsali informovaný souhlas se studií a kterým byla změřena plasmatická hladina MDA, a následně podstoupili karotickou endarterektomii v rozmezí let 2019-2020. Studie byla schválena etickou komisí Ústřední vojenské nemocnice.

Pacienti byli vzhledem k rozdílné definici symptomatické stenózy rozděleni do čtyř skupin. První dvě skupiny byly definovány dle studií NASCET a ECST^{42,43}. Podle těchto studií byla stenóza hodnocena jako symptomatická za podmínek, že pacient prodělal ischemickou cévní mozkovou příhodu (včetně TIA nebo AF) v průběhu předešlých 6 měsíců před stanovením diagnózy stenózy karotidy. Pacienti, kteří splňovali tato kritéria, byli zařazeni do skupiny „symptomatické.“ Pacienti, kteří neměli žádné příznaky nebo prodělali ischemickou cévní mozkovou příhodu před více než 6 měsíci, byli zařazeni do skupiny „asymptomatické.“ Další kategorizace pacientů byla založena na znalosti faktu, že pláty pacientů, kteří prodělali AF, mají odlišné chování, než pláty pacientů po iCMP či TIA (hemisferickém iktu). Dle Verhoevena a jeho kolektivu⁸⁹ jsou pláty, které jsou podkladem vzniku AF, podobného histologického vzhledu a biologického chování jako pláty asymptomatických pacientů, a z toho důvodu je řadí mezi pláty stabilní. Proto jsme zařadili pacienty s AF mezi pacienty asymptomatické, a vznikla nám tak další skupina „pacientů bez iCMP“ a naproti tomu skupina pacientů, kteří prodělali iCMP či TIA, tj. „pacienti s hemisferickou iCMP.“

Každý pacient podstoupil vyšetření ultrazvukem a následně byla diagnóza potvrzena CTAg. Všichni zařazení pacienti splňovali kritéria pro karotickou endarterektomii⁸⁸. Během endarterektomie neurochirurg odstranil karotický plát v jednom kuse (*in toto*), aniž by poškodil vnější stěnu plátu. Poškozené pláty byly vyřazeny ze studie.

- Histochemická analýza

Plát byl okamžitě po vyjmutí z operované krkavice ponořen do formaldehydu. Reprezentativní části plátu byly nakrájeny na 4 mm široké histologické preparáty. Dále byly pláty dekalifikovány roztokem chlorovodíkové kyseliny a ponořeny do parafínu. Tyto preparáty byly opět zmenšeny, a to na řezy o tloušťce 5 mikronů. Jako deparafinizační činidlo byl užit xylen a k hybridizaci byl využit ethanol. Barvení řezů bylo provedeno hematoxylinem a eosinem a van Giesonovou/orceinovou metodou. Nepřímá imunohistologická metoda byla použita k detekci endoteliálních buněk (CD31, primární myši *anti-human* monoklonální protilátka, klon JC70A) a makrofágů (CD68, primární myši *anti-human* protilátka a PF-M1). Veškerá histologická analýza byla provedena jedním zkušeným patologem za užití světelného mikroskopu Nikon Eclipse E 400.

V histologické analýze bylo studováno několik znaků: geometrie plátu (excentrický vs. koncentrický plát), přítomnost ateromatózní a fibrózní složky, kalcifikace, myxoidní změny, krvácení, trombóza a přítomnost zánětu, pěnových buněk, obrovskobuněčné reakce, hemosiderinu, neovaskularizace či ossifikace (Tabulka 4). Všechny preparáty byly kategorizovány podle AHA klasifikace IV/V, VIII nebo VI⁹⁰, tabula 1. Pláty ve skupině VI dle AHA klasifikace byly hodnoceny jako nestabilní pláty.

- MDA analýza

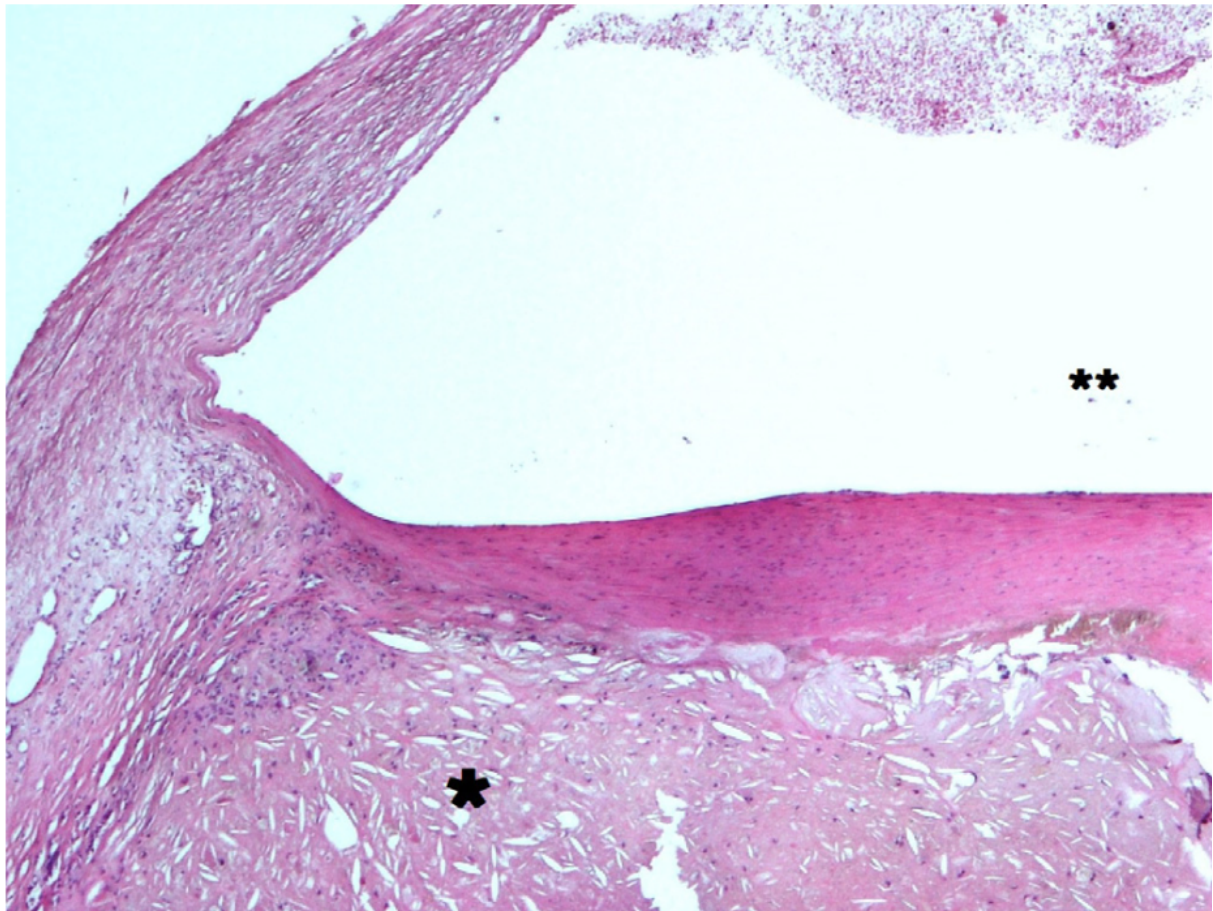
Všem studovaným pacientům byla před provedením endarterektomie odebrána krev. Tato krev byla skladována v plastových zkumavkách (Vacutainer) s kyselinou ethylendiamintetraoctovou. Centrifugace vzorků byla provedena okamžitě po odběru (4000 x g po 5 minutách při 4 °C). Po dobu dalšího laboratorního zpracování byly vzorky uchovány v temném chladícím boxu s teplotou -80 °C.

Analýza MDA byla provedena podle studie vedené Bechynskou a jejím kolektivem spoluautorů⁹¹. Nejprve bylo přidáno 10 ml MDA-D2 (10 mmol) do 100 ml centrifugované plasmy s ethylendiamintetraoctovou kyselinou. Tento vzniklý vzorek byl hydrolyzován s využitím NaOH (1 mol) po 30 minut ve 30 °C. Přidáním 3 molů HClO₄ do tohoto hydrolyzátu bylo dosaženo precipitace proteinů. Tyto vzorky byly opět centrifugovány. Supernatant byl derivatizován pomocí 5 mmol

2,4dinitrophenylhydrazinem (Bradyovým činidlem) a promíchán ve vibračním přístroji Vibrax v temné místnosti při pokojové teplotě. Následně byla reakční směs centrifugována a 20 ml směsi bylo přidáno do analytické HPLC (high-performance liquid chromatography) kolony Nucleosil C18 ec (125 x 3 mm, 5 μm) (Macherey-Nage, Düren, Germany) při 40 °C. K isokratické eluci byla užitá mobilní fáze obsahující 0.1% kyselinu mravenčí s 50 % acetonitrilu (v/v). Průtok dosahoval 400 μl/min. HPLC systém byl propojen s hmotnostním spektrometrem QTRAP 4000 (Sciex, Prague, Czech Republic). MDA a MDA-D2 deriváty s Bradyovým činidlem (MDADNPH a MDAD2DNPH) byly detekovány pomocí MRM módu (positive multiple reaction monitoring). MDADNPH byla hodnocena při rozsahu poměru m/z 235189 a MDAD2DNPH při m/z 237191. K získání a analýze dat byl využit analyzátor v.1.6 Sciex.

- Statistická analýza

Pacienti byly zařazeni do skupin, které byly mezi sebou porovnány následovně: skupina „asymptomatická“ se skupinou „symptomatickou a skupina „pacientů bez iCMP“ se skupinou „pacientů s hemisférickou iCMP.“ Vztah mezi skupinami, jednotlivými histologickými rysy a klasifikací dle AHA byl ohodnocen pomocí testu chisquare. Neparametrický test (Wilcoxonův rank sum test) byl využit pro analýzu plazmatických hladin MDA. Veškeré statistické testy byly zpracovány s hladinou významnosti 95 % ($p < 0.05$). JASP 0.16.4 software byl využit pro statistické zpracování dat.



Obrázek 3: *Převážně ateromatózní plát (hematoxilin – eosin, originální zvětšení 40x). * nekrotické jádro obsahující smíšenou debris ze zaniklých buněk, lipidů, cholesterolu s fibrózní čepičkou. ** průsvit cévy*

Výsledky

Práce 1: Predikce nestability plátu v závislosti na jeho histologické struktuře

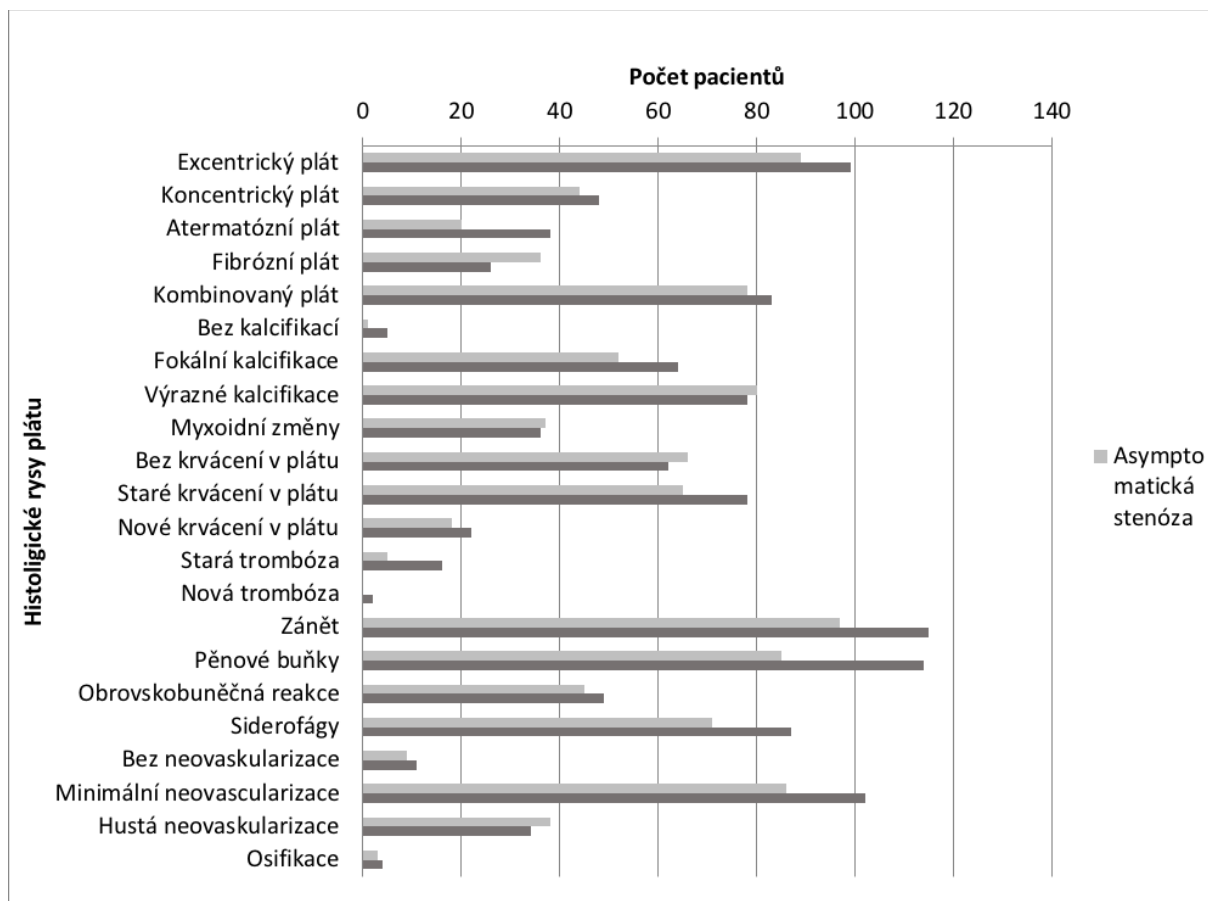
V letech mezi 2015 a 2017 byla odebrána data a vzorky od 269 pacientů, ze zmíněného množství pacientů však nebyla začleněna data 39 pacientů pro poškození plátu během chirurgické preparace. Celkem bylo zpracováno 280 karotických plátů, 11 pacientů totiž podstoupilo oboustrannou operaci karotidy. Průměrný věk pacientů byl 69 ± 8.5 let. Demografická data jsou zobrazena v Tabulce 2. Zastoupení jednotlivých histologických rysů je shrnuto v Tabulce 3 a Grafu 1. Univariantní logistická regrese identifikovala tři statisticky významné prediktory symptomatické stenózy karotidy: převážně ateromový plát (OR=1.970, $p=0.026$), vyobrazen na obrázku 3; trombóza v plátu (OR=3.721, $p=0.01$) a přítomnost pěnových buněk (OR=1.951, $p=0.012$). Aterosklerotické pláty typu VI dle AHA klasifikace jsou významnými prediktory významné stenózy karotidy (OR=1.820, $p=0.032$) ve srovnání s pláty typu IV, V a VIII (Graf 2). Mnohonásobná logistická regrese prokázala, že přítomnost pěnových buněk (OR=1.943, $p=0.032$) a trombózy (OR=3.510, $p=0.017$) je významný prediktivní faktor pro symptomatickou stenózu karotidy.

Charakteristika	Asymptomatická stenóza	Symptomatická stenóza	Hodnota p	
Pacienti; n (%)	133 (47)	147 (53)	NA	
Muži; n (%)	90 (68)	95 (65)	0.591	
Věk; průměr ± SD	69.6±8.1	68.5±8.8	0.287	
Procento stenózy; průměr ± SD (%)	73.1±15.2	72.1±17.1	0.597	
Komorbidity				
Alkohol	abstinenti; n (%)	14 (11)	8 (5)	REF
	pravidelný příjem; n (%)	119 (90)	139 (95)	0.120
Kouření	nekuřáci; n (%)	86 (65)	93 (63)	REF
	odnaučení; n(%)	6 (5)	11 (8)	0.318
	kuřáci; n (%)	41 (31)	43 (29)	0.908
Arteriální hypertenze; n (%)	116 (87)	128 (87)	0.971	
Hypercholesterolemie; n (%)	111 (84)	126 (86)	0.601	
Diabetes mellitus; n (%)	46 (35)	60 (41)	0.284	
Nemoci koronárních tepen; n (%)	82 (62)	81 (55)	0.392	
Onemocnění periferních tepen; n (%)	12 (9)	13 (9)	0.958	
Relevantní farmakologická anamnéza				
Statiny; n (%)	96 (72)	117 (80)	0.148	
Protidestičková terapie; n (%)	122 (92)	147 (100)	0.209	
Antikoagulace; n (%)	13 (11)	7 (5)	0.074	
Anti-diabetika, perorální; n (%)	30 (23)	43 (29)	0.217	
Insulin; n (%)	15 (11)	20 (14)	0.558	

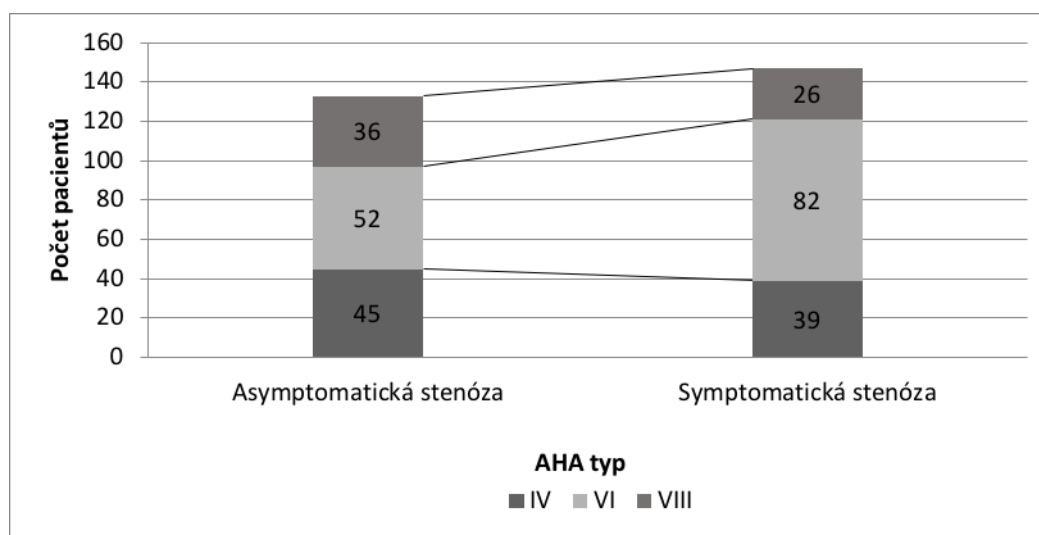
Tabulka 2: Demografická data pacientů. SD – směrodatná odchylka, REF-
referenční hodnota

Histologický rys	Stenóza		Odds Ratio (CI=95%)	Hodnota p
	A (n = 133)	S (n = 147)		
Pravostranná stenóza; n (%)	71 (53.4)	73 (49.7)	0.861 (0.539-1.378)	0.534
Excentrický plát; n (%)	89 (67)	99 (67)	1.020 (0.619-1.680)	0.939
Koncentrický plát; n (%)	44(33)	48 (33)	0.981 (0.595-1.616)	0.939
Ateromatózní plát; n (%)	20(15)	38 (26)	1.970 (1.079 - 3.596)	0.027
Fibrózní plát; n (%)	36 (21)	26 (18)	0.579 (0.327-1.025)	0.061
Kombinovaný plát; n (%)	78 (59)	83 (57)	0.914 (0.569-1.470)	0.712
Bez kalcifikací; n (%)	1 (1)	5 (3)	4.648 (0.536-40.305)	0.163
Fokální kalcifikace; n (%)	52 (39)	64 (44)	1.201 (0.745-1.935)	0.452
Výrazné kalcifikace; n (%)	80 (60)	78 (53)	0.841 (0.493-1.435)	0.526
Myxoidní změny; n (%)	37 (28)	36 (25)	0.749 (0.466-1.204)	0.233
Bez krvácení v plátu; n (%)	66 (50)	62 (42)	0.740 (0.462-1.187)	0.212
Staré krvácení v plátu; n (%)	65 (49)	78 (53)	1.183 (0.739-1.891)	0.484
Nové krvácení v plátu; n (%)	18 (14)	22 (15)	1.124 (0.574-2.203)	0.732
Trombóza; n (%)	5 (4)	18 (12)	3.572 (1.287-9.911)	0.014
Záněť; n (%)	97 (73)	115 (78)	1.334 (0.771-2.306)	0.303
Pěnové buňky; n (%)	85 (64)	114 (78)	1.951 (1.154-3.297)	0.012
Obrovskobuněčná reakce; n (%)	45 (34)	49 (33)	0.978 (0.595-1.607)	0.929
Siderofágy; n (%)	71 (53)	87 (59)	1.266 (0.789 -2.033)	0.329
Bez neovaskularizace; n (%)	9 (7)	11 (8)	1.114 (0.447-2.779)	0.816
Minimální neovaskularizace; n (%)	86 (65)	102 (69)	1.239 (0.752-2.041)	0.401
Hustá neovaskularizace; n (%)	38 (29)	34 (23)	0.752 (0.440-1.287)	0.299
Osifikace; n (%)	3 (2)	4 (3)	1.212 (0.266-5.518)	0.804

Tabulka 3: Charakteristika plátů a histologické prediktory symptomatického plátu. A – asymptomatická stenóza, S -symptomatická stenóza, CI – Confidence Interval, n. – počet, zvýrazněné hodnoty dosahují statistické významnosti.



Graf 1: Zastoupení jednotlivých histologických rysů v závislosti na typu stenózy (asymptomatická/symptomatická)



Graf 2: Výskyt plátů dle komplexního hodnocení pomocí AHA klasifikace v závislosti na typu plátu (symptomatický/asymptomatický)

Práce 2: Diagnostická přesnost digitální substrakční angiografie při hodnocení významnosti stenózy plátu

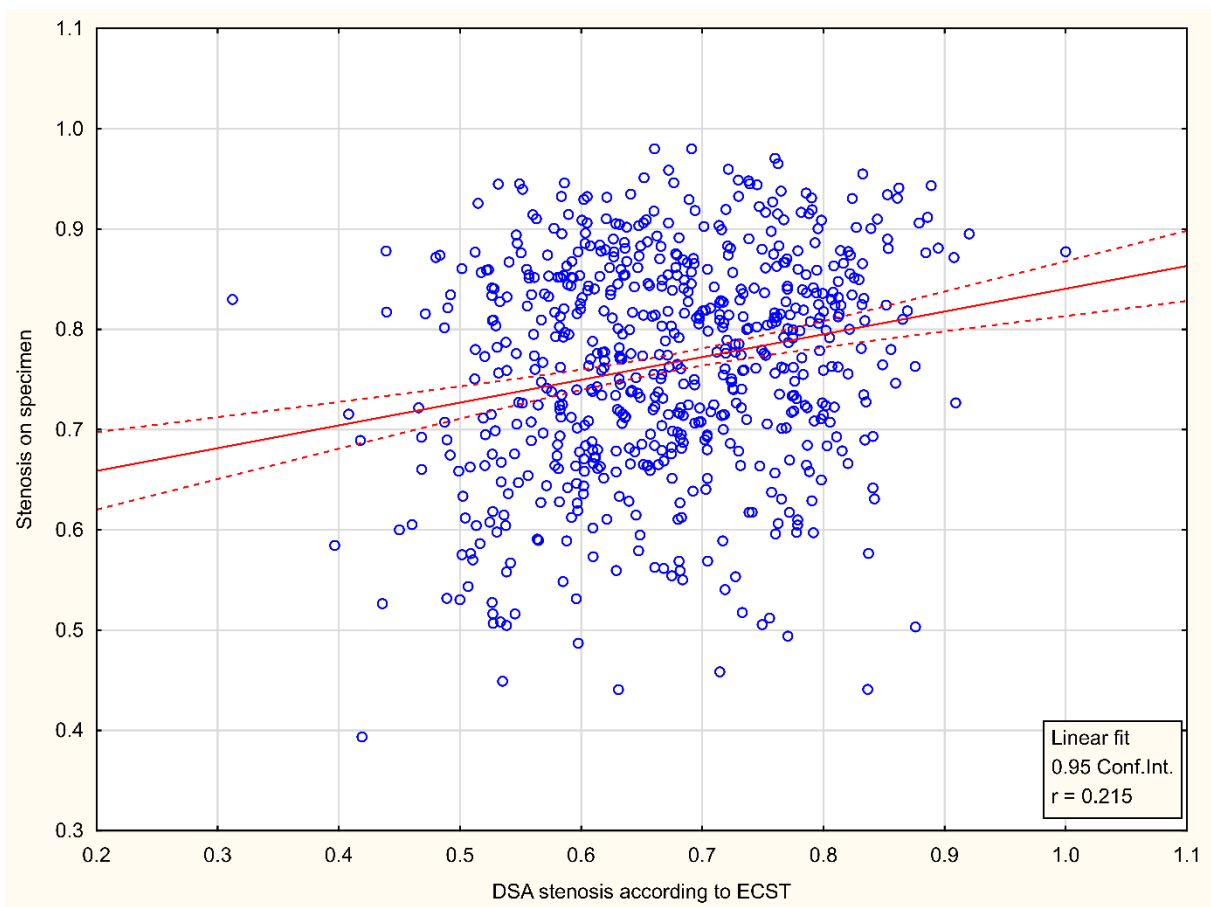
Průměrný věk pacientů byl 69 let (od 43 do 90 let). Průměrná hodnota stenózy dosahovala 77 % na histologickém preparátu, 67 % dle ECST metody a 60 % dle metody NASCET. Průměrný rozdíl mezi ECST a NASCET dosahoval 7 %. U 51 pacientů se jednalo o oboustrannou stenózu karotidy.

Do skupiny mírné stenózy (30-49 %) bylo zařazeno 128 pacientů. Průměrná stenóza ve skupině činila 72 % na histologickém preparátu, 54 % dle metody ECST a 40 % dle metody NASCET. Rozdíl mezi stenózou změřenou na histologickém preparátu a ECST činil 18 % a rozdíl mezi stenózou na preparátu a dle NASCET dosahoval 32 %. Průměrný rozdíl mezi ECST a NASCET metodou dosahoval 14 %.

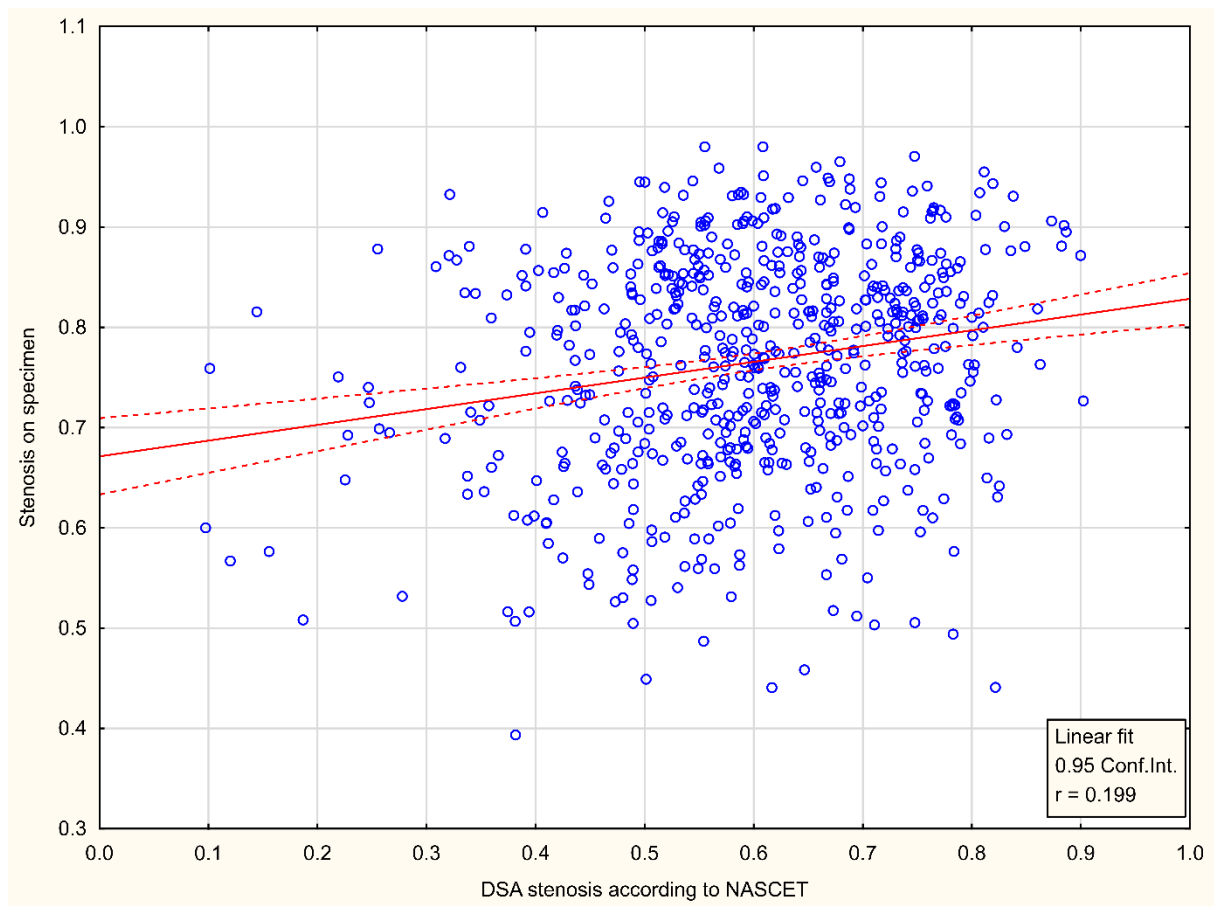
Do skupiny střední stenózy (50-69 %) bylo zařazeno 347 pacientů. Průměrná stenóza ve skupině činila 77 % na histologickém preparátu, 66 % dle metody ECST a 60 % dle metody NASCET. Rozdíl mezi stenózou změřenou na histologickém preparátu a ECST činil 11 % a rozdíl mezi stenózou na preparátu a dle NASCET byl 17 %. Průměrný rozdíl mezi ECST a NASCET metodou dosahoval 6 %.

Do skupiny těžké stenózy (70-99 %) bylo zařazeno 169 pacientů. Průměrná stenóza ve skupině činila 79 % na histologickém preparátu, 80 % dle metody ECST a 76 % dle metody NASCET. Rozdíl mezi stenózou změřenou na histologickém preparátu a ECST činil 1 % a rozdíl mezi stenózou na preparátu a dle NASCET dělal 2 %. Průměrný rozdíl mezi ECST a NASCET metodou dosahoval 3 %.

V tabulce 1 jsou znázorněny výsledky T-testu pro každou skupinu a pro celou kohortu při užití metod ECST a NASCET. Významná korelace mezi měřeními na histologickém preparátu a s využitím DSA (při užití obou metod – ECST a NASCET) nebyla pozorována. Ve skupině s mírnou stenózou dosahoval korelační koeficient 0.16 pro ECST a 0.14 pro NASCET. Ve skupině s mírnou stenózou byl korelační koeficient 0.05 pro ECST a 0.01 pro NASCET. Ve skupině s těžkou stenózou měl korelační koeficient hodnotu 0.23 pro ECST a 0.10 pro NASCET. V případě analýzy korelace celé kohorty dosahoval korelační koeficient 0.22 pro ECST a 0.20 pro NASCET (Graf 3 a 4)



Graf 3: *Korelace stenózy na histologické preparátu a stenózou na DSA pomocí ECST metody. r – korelační koeficient, Conf. Int. – interval spolehlivosti*



Graf 4: Korelace stenózy na histologické preparátu a stenózou na DSA pomocí NASCET metody. r – korelační koeficient, Conf. Int. – interval spolehlivosti

Práce 3: Oxidativní stres jako biomarker nestability plátu

Do této studie bylo celkem zahrnuto 35 pacientů. Nejvíce karotických plátů bylo získáno od mužů ($n=31$, 89 %), významně méně od žen ($n=4$, 11 %). Průměrná stenóza dosahovala 76 % u asymptomatických pacientů a 83 % u symptomatických případů. Průměrný věk pacientů dosahoval 76 let (55-92 let). Nejčastěji byly přítomni pacienti se symptomatickou stenózou karotidy ($n=22$, 63 %), méně často asymptomatické ($n=9$, 26 %) a nejméně často pacienti s *amaurosis fugax* ($n=4$, 11 %). Nebyl přítomen žádný pacient, který by prodělal transitorní ischemickou ataku. Základní charakteristika souboru pacientů je znázorněna v tabulce 4.

	Asymptomatické stenózy (n=22)	Symptomatické stenózy (n=13)	Hodnota p
Pohlaví (ženy/muži)	4/18	5/8	0.185
Věk	69±7.7	71±6.9	0.561
Klinická charakteristika			
Arteriální hypertenze	20 (91%)	10 (77%)	0.253
Diabetes mellitus	5 (23%)	5 (38%)	0.319
Kuřáci	13 (59%)	4 (31%)	0.105
Body mass index	29.16±3.9	28.45±3.8	0.596
Laboratorní hodnoty			
Creatinin (μmol/l)	91.62±15.43	84.5±16.63	0.295
CKD-EPI (ml/min/1.73m ²)	75.43±15.06	78.83±16.85	0.640
Cholesterol (mmol/L)	4.56±1.20	4.27±1.01	0.587
Triacylglycerol (mmol/L)	1.95±1.04	1.65±0.47	0.549
LDL cholesterol (mmol/l)	2.51±1.09	2.29±0.99	0.922
HDL cholesterol (mmol/L)	1.15±0.32	1.23±0.30	0.525
Anamnéza			
Infarkt myokardu	5 (23%)	1 (8%)	0.254
Cévní mozková příhoda	5 (23%)	0 (0%)	0.063
Onemocnění periferních tepen	2 (9%)	1(8%)	0.593

Tabulka 4: Základní charakteristika souboru

Do skupiny „asymptomatických“ pacientů bylo zařazeno 22 pacientů (63 %) a do skupiny „symptomatických“ 13 pacientů (37 %). Některé histologické rysy korelovaly se symptomatologií plátu významně a to: ateromatosní typy plátu ($p=0.03$) a pláty se starým krvácením ($p=0.05$) se častěji vyskytovaly ve skupině symptomatických pacientů, kdežto fibrózní typy plátů ($p=0.04$), myxoidní změny ($p=0.02$), pláty bez hematomu ($p=0.04$) a výrazné neovaskularizace ($p=0.04$) se hojněji vyskytovaly ve skupině asymptomatických pacientů. Byla prokázána statisticky významná korelace mezi AHA klasifikací a stabilitou plátu ($p=0.06$).

Dohromady 26 pacientů (74 %) bylo zařazeno do skupiny „pacienti bez iCMP“ a 9 pacientů (26 %) do skupiny „pacienti s hemisférickou iCMP“. I zde některé histologické rysy korelovaly se symptomatologií plátu významně a to: fibrosní typ plátů ($p=0.03$) a pláty bez krvácení ($p=0.02$) byly hojněji zastoupeny ve skupině „pacienti bez iCMP“. Na druhé straně ateromatosní typy plátů ($p=0.02$), pláty se

starým krvácením ($p=0.05$) a pláty bez neovaskularizace ($p=0.02$) se častěji vyskytovaly ve skupině „pacienti s hemisférickou iCMP“. Opět byla prokázána statisticky významná korelace mezi AHA klasifikací a stabilitou plátu ($p=0.01$).

Detailní analýza zastoupení histologických rysů a komplexního vzhledu plátu (jenž byl hodnocen pomocí AHA klasifikace) v rámci jednotlivých skupin pacientů je k nahlédnutí v tabulce 5 a 6.

Porovnání plazmatické hladiny MDA mezi skupinou asymptomatických a symptomatických pacientů nepřekročila hladinu statistické významnosti ($p=0.232$). Nicméně byla prokázána statisticky významná korelace mezi skupinou „pacienti bez iCMP“ a „pacienti s hemisférickou iCMP“ ($p=0.002$). Tento jev je zobrazen na grafu 5.

Histologický rys	Asymptomatická stenóza (n=22)	Symptomatická stenoóza (n=13)	Hodnota P
<i>Stabilní plát dle AHA (AHA IV,V,VIII)</i>	14	2	0.006
<i>Vulnerabilní plát dle AHA (AHA VI)</i>	8	11	0.006
<i>Excentrický</i>	18	12	0.392
<i>Koncentrický</i>	4	1	0.392
<i>Převážně ateromový plát</i>	3	6	0.033
<i>Převážně fibrózní plát</i>	9	1	0.036
<i>Kombinovaný plát</i>	10	6	0.968
<i>Bez kalcifikací</i>	4	2	0.832
<i>Mikrokalcifikace</i>	8	9	0.060
<i>Rozsáhlé kalcifikace</i>	10	2	0.070
<i>Myxoidní změny</i>	7	0	0.023
<i>Staré krvácení do plátu</i>	6	9	0.015
<i>Nové krvácení do plátu</i>	3	4	0.221
<i>Bez krvácení do plátu</i>	13	3	0.039
<i>Trombóza nad plátem</i>	0	1	0.187
<i>Záněť</i>	19	12	0.593
<i>Pěnové buňky</i>	11	6	0.826
<i>Obrovskobuněčná reakce</i>	4	3	0.726
<i>Hemosiderin</i>	12	6	0.631
<i>Bez neovaskularizace</i>	4	5	0.185
<i>Řídká neovaskularizace</i>	9	7	0.458
<i>Hustá neovascularizace</i>	9	1	0.036
<i>Osifikace</i>	1	0	0.435

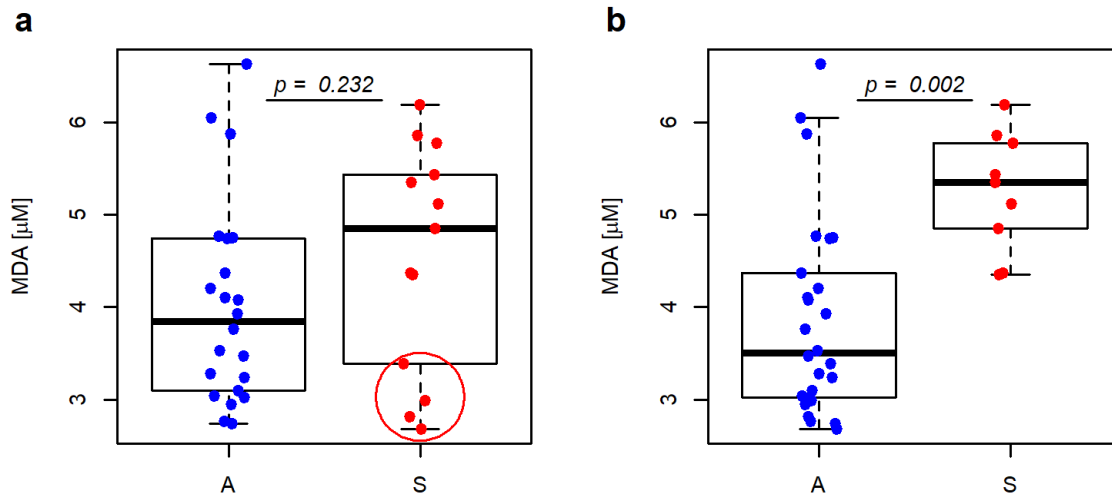
Tabulka 5: Histologické rysy karotických plátů, kategorizováno dle příznaků pomocí definice ze studií ECST a NASCET. Zvýrazněné dosahují statistické významnosti

Histologický rys	Asy+AF (n=26)	iCMP (n=9)	p-value
Stabilní plat dle AHA (AHA IV,V,VIII)	15	1	0.016
Vulnerabilní plat dle AHA (AHA VI)	11	8	0.016
Excentrický	22	8	0.752
Koncentrický	4	1	0.752
Převážně ateromový plát	4	5	0.017
Převážně fibrózní plát	10	0	0.028
Kombinovaný plát	12	4	0.929
Bez kalcifikací	5	1	0.577
Mikrokalcifikace	11	6	0.208
Rozsáhlé kalcifikace	10	2	0.376
Myxoidní změny	7	0	0.082
Staré krvácení do plátu	8	7	0.014
Nové krvácení do plátu	4	3	0.246
Bez krvácení do plátu	15	1	0.016
Trombóza nad plátem	1	0	0.551
Zánět	22	9	0.211
Pěnové buňky	13	4	0.774
Obrovskobuněčná reakce	6	1	0.439
Hemosiderin	15	3	0.208
Bez neovaskularizace	4	5	0.017
Řídká neovaskularizace	13	3	0.387
Hustá neovascularizace	9	1	0.179
Osifikace	1	0	0.551

Tabulka 6: Histologické rysy karotických plátů, kategorizováno do 2 skupin:

Asy+AF – „pacienti bez iCMP“ a iCMP - „pacienti s hemisférickou iCMP“.

Zvýrazněné dosahují statistické významnosti



Graf 5: Sérové hladiny MDA jsou znázorněny v krabicovém grafu. **(a)** asymptomatické pacienti (A, modré tečky), symptomatické pacienti (S, červené tečky), **(b)** pacienti bez iCMP (A, modré tečky) a „pacienti s hemisférickou iCMP“ (S, červené tečky)

Diskuze

Práce 1: Predikce nestability plátu v závislosti na jeho histologické struktuře

Doposud je léčba stenózy karotidy založena primárně na významnosti stenózy. Ukazuje se ale, dle údajů získaných z histologické analýzy ^{36,38,46}, že významným prediktorem rizika iCMP je nejen tíže stenózy, ale i struktura složení plátu. Tento závěr navíc potvrzují i neinvazivní radiodiagnostické metody, které jsou dnes nejčastěji užívány pro detekci stenózy karotidy, jako UZ, CTA a MRA. Struktura plátu rozhoduje o vulnerabilitě plátu ^{36,39,46}. Proto je porozumění histologické struktury plátu zcela esenciální pro stanovení vhodné diagnostiky, a tím i léčby.

V naší studii jsme neprokázali vztah mezi epidemiologickými faktory a neurologickými příznaky. Nicméně pěnové makrofágy, trombóza v plátu a pokročilé ateromatózní změny plátu (skupina VI v AHA klasifikaci) byly prokázány jako rizikové faktory nestabilní stenózy karotidy. Jednotlivé histologické rysy jsou diskutovány níže.

- Epidemiologická data

V doposud publikované literatuře se zdají být nejvýznamnějšími epidemiologickými faktory, které mají vztah k vulnerabilitě plátu, věk a pohlaví ³⁸. V naší studii však nebyl prokázán vliv žádného epidemiologického faktoru vzhledem k symptomatologii.

- Histologické rysy

- Koncentrický a excentrický plát

Se symptomatickými stenózami jsou často spojovány excentrické pláty karotid^{92,93}. Ohara se svými kolegy ⁹² zjistil, že pacienti s excentrickými pláty mají ve srovnání s koncentrickými pláty vyšší riziko ipsilaterální iCMP (13.5 % vs. 5.5 %). Podobné nálezy byly zaznamenány v kardiologických studiích na plátech koronárních tepen ⁹⁴⁻⁹⁷. Nicméně tento závěr je v rozporu se závěrem Carra et al., který nenalezl vztah mezi geometrií aterosklerotického plátu a příznaky ⁹⁸. Ani u námi studovaném souboru nebyla nalezena významná shoda mezi excentrickým plátem a symptomatickou

stenózou. Jak ve skupině symptomatických plátů, tak ve skupině asymptomatických plátů byly koncentrické pláty přítomny ve dvou třetinách případů.

- Ateromatózní a fibrózní plát

Histologická struktura plátu se mění v čase a je závislá na věku a pohlaví⁹⁹. Van Oostrom s kolegy studovali pláty získané během CEA u 383 pacientů. Zjistili, že s věkem přibývá ateromatózní složky a ubývá množství SMC. Ateromatózní složení plátu hodnotili ve své studii Verhoeven et al.⁸⁹ a shledali, že se jedná o rizikový faktor často spojený se symptomatickou stenózou karotidy. Podobně i v naší studii byl ateromatózní plát hodnocen jako rizikový v univariantsní logistické regresi. Nicméně v mnohonásobné logistické regresi nebyl tento histologický rys prokázán jako statisticky významný. Převážně ateromatózní plát je znázorněn na obrázku 2.

- Kalcifikace

Bylo prokázáno, že množství kalcifikací a tíže stenózy jsou závislé na věku⁹⁰. Doposud nebyla otázka vztahu kalcifikací ke stabilitě plátu věrohodně zodpovězena. Někteří autoři se domnívají, že pro to, že kalcifikovaný plát je tuhý a rigidní, ruptura plátu je méně pravděpodobná než u měkčích plátů. Jinými slovy, že míra kalcifikací je nepřímě úměrná vulnerabilitě plátu^{100,101}. Na rozdíl od jejich tvrzení, mnohé studie neprokázali vztah mezi symptomatickým plátem a mírou kalcifikace^{89,102-104}. Ani my jsme nezaznamenali statisticky významný vztah mezi symptomatickou stenózou a mírou kalcifikací.

- Krvácení

Krvácení do plátu je jednou z charakteristik nestabilního plátu dle klasifikace AHA. Toto tvrzení je hojně podpořeno závěry studií, které zakládají svou metodiku na radiodiagnostických metodách, zejména na MR^{46,105-107}. V případě histologické analýzy plátů, které byly získány během CEA, nejsou závěry jednoznačné. V rámci 21 studií, které studovaly krvácení do plátu jako rizikový faktor pro nestabilní plát, autoři poukázali, že přítomnost hematomu v plátech je poměrně častá v obou případech (48 % u symptomatických plátů a 50 % u asymptomatických plátů). V naší studii jsme se proto zaměřili na rozlišení čerstvého od starého hematomu s cílem přesnější analýzy. Nicméně ani přesto se nám nepodařilo prokázat, že by krvácení do plátu (a to i různého stáří) bylo prediktivním faktorem pro vulnerabilní plát.

- Neovaskularizace

Nově vzniklé arterioly jsou fragilní, a mají tak tendenci k prasknutí a ke krvácení, navíc mají větší propustnost. Zakládaje na těchto poznatcích je předpokládáno, že takové cévy jsou zdrojem zánětlivého infiltrátu a krvácení do plátu, což jsou znaky nestabilního plátu. Howard a spol. se domnívají, že 5leté riziko iCMP je závislé na hustotě této neovaskularizace ¹⁰². Naopak Wendorff et al. prokázali, že neovaskularizace je častější u asymptomatických pacientů ³⁸. V naší studii jsme neprokázali vztah mezi nestabilním plátem a neovaskularizací.

- Trombóza

Trombóza plátu se vyskytuje u pokročilých forem aterosklerotického plátu. V některých případech může dojít k zúžení tepny či i k embolizaci. Oba mechanismy mohou způsobit nedostatečné prokrvení CNS a vyústit v iCMP. Navzdory předpokladům histologické studie neprokázaly významný vztah mezi symptomatickými stenózami a trombózami plátu ^{89,104,108}. V naší studii jsme však prokázali vztah mezi trombózou v plátu a jeho vulnerabilitou. V mnohonásobné logistické regresi se trombóza plátu ukázala jako nezávislý prediktor iCMP ($p=0.017$)

- Záněť

Záněť v plátu vede ke tvorbě nekrotického jádra, podporuje neovaskularizaci a mimo jiné způsobuje i destrukci fibrózní čepi

ky produkcí metaloproteináz, které destrukují kolagen. Jelikož záněť jako takový je velmi rozsáhlý proces, v naší studii jsme jej definovali přítomností lymfocytů. Akumulace lymfocytů v plátu se v našem souboru neprokázala jako prediktivní faktor.

- Pěnové buňky

Pěnové buňky podléhají apoptóze a nekróze, a vytváří tak zárodek pro nekrotické jádro plátu. Zároveň produkují proteolytické enzymy (metaloproteinázy a kathepsiny), které ničí proteiny extracelulární matrix včetně kolagenu. Oba mechanismy vedou ke snížení stability plátu. Tato souvislost byla prokázána i několika studiemi ¹⁰⁹⁻¹¹². Wadén a spol.¹¹³ shledávají pěnové makrofágy jedním ze základních charakteristik rizikového plátu. I v naší studii jsme zaznamenali statisticky významný vztah mezi přítomností pěnových buněk a symptomatickým plátem.

- Další

Histologické rysy jako myxoidní zmeny, obrovskobuněčná reakce, siderofágy (tj. makrofágy obsahující hemosiderin) ani osifikace (přítomnost kostěné tkáně) doposud nebyly v endarterektomických preparátech studovány. V naší práci jsme nicméně nezaznamenali významný vztah mezi těmito histologickými rysy a symptomatickou stenózou karotidy.

- AHA klasifikace

Stary a spol. publikovali v letech 1992-2000 několik studií^{90,114,115}, které se zaměřily na morfologickou a histologickou strukturu aterosklerotického plátu. Skupina hodnotila karotický plát komplexně, charakterizovala jednotlivé stavy plátu v procesu aterosklerózy. Vznikla tak AHA klasifikace, jejíž modifikace je zobrazena v tabulce 1. Histologické rysy pokročilého aterosklerotického plátu (klasifikace VI dle AHA) jako například krvácení či neovaskularizace nebyly jednotlivě asociovány se symptomatickým plátem. Nicméně v případě komplexní charakteristiky plátu se AHA klasifikace ukázala jako významný prediktor nestability plátu.

- Přednosti a limitace prezentované studie

Do souboru studovaných pacientů je zařazeno velké množství minimálně selektovaných jedinců. Zároveň tato studie poskytuje jednu z nejobsáhlejších histologických a morfologických analýz karotických plátů, která kdy byla publikována. Přesto je nutné zmínit některé nedostatky.

Prve, příčným řezem o tloušťce 4 mm je možné minout histologický rys, který je jen velmi diskrétně vyjádřen v plátu. Domníváme se ale, že jde-li o významný histologický rys pro stabilitu plátu, je nutné, aby se vyskytoval v hojném množství, a proto je nepravděpodobné, že by nebyl na histologických řezech zachycen.

Naše studie nenabízí porovnání s nálezy na neinvazivních metodách, takže je obtížné současné závěry implementovat do klinické praxe.

Práce 2: Diagnostická přesnost digitální substrakční angiografie při hodnocení významnosti stenózy plátu

Analýza karotického plátu, který byl odstraněn během endarterektomie, je spolehlivou metodou. Ačkoli se jedná o současně opomíjenou metodu, tato metoda je vhodná k prověření detailní histologické struktury a tíže stenózy karotidy. Validita metody byla prověřena několika studiemi ¹¹⁶⁻¹¹⁸. Schenk s kolegy ¹¹⁸ studovali změnu karotického plátu po fixaci a dekalifikaci u 289 pacientů. Zjistili, že u většiny plátů nedochází k významným geometrickým změnám během laboratorní preparace. V případech, kdy došlo ke změně v rozměrech plátu, byly tyto změny proporcionálně vyrovnané. Podobně Alexandrov se svými kolegy ¹¹⁷ hodnotili zmenšování karotického plátu během laboratorního zpracování. Ze studia 45 karotických plátů dospěli k závěru, že dochází k uniformnímu zmenšení v řádu 13 % (± 1.5 %), které nemá vliv na velikost stenózy vyjádřené v procentech. Netuka et al. ¹¹⁶ publikovali dobrou korelaci stenózy naměřené na CTA a karotickém plátu (Pearsonův korelační koeficient 0.70). Jejich závěry podporují hypotézu, že nedochází k významným změnám v procentu stenózy karotidy během laboratorního zpracování.

Zakládaje na výsledcích této studie, která je založena na histologické analýze karotických plátů, se zdá, že korelace DSA s tíží stenózy je nepřesná. Již dříve několik studií shledalo, že měření na DSA neodpovídá stenóze zjištěné na histologickém preparátu. Například Schenk a kolektiv ¹¹⁸ zaznamenali rozdíl mezi DSA a histologickým preparátem překračující 1 mm u 81 % z 289 plátů. Ve studii Alexandrov a spol. ¹¹⁷ zjistili, že NASCET a ECST metody pro měření stenózy karotidy konzistentně podhodnocují tíži stenózy zjištěné na histologickém preparátu karotického plátu. Nepřesnost DSA byla též studována v případě periferních cév. Kashyap s kolegy ¹¹⁹ analyzovali stenózy zjištěné pomocí DSA s histologickými preparáty *a. tibialis* a *a. poplitea* získané po amputacích končetin. Dospěli k závěru, že DSA podhodnocuje tíži stenózy, a to i u zdravě vypadajících tepen. Podobně Isner a kolektiv ¹²⁰ studovali angiografické nálezy koronárních tepen s nálezy během pitev. Zjistili, že angiografie podhodnocuje tíži stenózy u 39 % případů. Tyto nálezy podněcují diskuzi ohledně přesnosti DSA při diagnostice stenózy tepen. Objemný

soubor našich pacientů posouvá tvrzení předchozích studií o stupeň dále. Naše statistická analýza prokázala, že neexistuje vztah mezi tíží stenózy a nálezem na DSA.

Navzdory faktu, že DSA je metoda, která již dnes nemá uplatnění v dennodenní praxi při diagnostice stenózy karotid, má tento závěr velký klinický dopad. Doposud platné doporučené postupy jsou založené na nálezech studií NASCET a ECST, které svou metodologii opřely o nález na DSA. V době, kdy vznikaly, ještě nebyla obecně přijata hypotéza o embolizační příčině iCMP a hodnotila se pouze tíže stenózy. Ačkoliv došlo k významnému pokroku v porozumění patofyziologických mechanismů v průběhu aterosklerózy a v pochopení principu stabilního a nestabilního plátu, doporučení pro intervenční léčbu stenózy jsou dodnes závislá na procentu stenózy a na závěrech studií NASCET a ECST. Tyto výsledky byly převedeny bez úpravy pro nově vznikající neinvazivní metody typu CTA_g, UZ, MRA. Tento krok chápeme jako chybný, zvláště pokud přihlídneme k výsledkům této studie, které odhalily absenci korelace DSA se skutečnou stenózou. Nové doporučené postupy by se proto měly odpoutat od dřívějších studií založených na DSA a stanovit nová kritéria s oporou o studie užívající neinvazivních metod.

- Limitace:

Skladba pacientů má charakteristickou podobu. Pacienti, kteří byli začleněni do naší studie, byli před zhotovením DSA diagnostikováni nejprve pomocí UZ nebo jinou neinvazivní metodou. To znamená, že pouze pacienti, kteří měli významnou stenózu dle neinvazivních radiodiagnostických metod, podstoupili DSA. Tato charakteristická skupina pacientů měla průměrnou stenózu plátu na histologickém preparátu dosahující 77 %.

Další nevýhodou této studie je, že pouze nepřímo napadá indikační kritéria stanovená pro neinvazivní radiodiagnostické metody. Studie postrádá korelaci nálezu na histologických preparátech a na neinvazivních metodách.

Práce 3: Oxidativní stres jako biomarker nestability plátu

Pátrání po diagnostické metodě, která by byla schopna rozhodnout, zda jsou pacienti se stenózou karotidy ohroženi cévní mozkovou příhodou, má dlouhou historii. Jako první metoda k ozřejmění stenózy karotidy byla užívána DSA, a tak i první multicentrické randomizované studie byly založeny na principu diagnostiky pomocí DSA. Závěry těchto studií jsou dodnes platné a pacientům je indikována lékařská intervence dle tíže stenózy vyjádřené v procentech. Nicméně studie, které byly založeny na histologické struktuře plátu, prokázaly, že biologické chování jednotlivých plátů je rozdílné a že znalost histologického složení plátu může přesněji predikovat rizikovost plátu. Analýza histologických plátů má též podstatný význam v ozřejmění jednotlivých patofyziologických pochodů v plátu, což je znalost, která vede ke zpřesnění detekce nestabilních plátů i ke zlepšení léčby aterosklerózy. Nicméně závěry jednotlivých studií, které se zaměřily na vztah mezi symptomatickým plátem a jednotlivými histologickými rysy, se liší a jejich závěry se často rozcházejí. Některé studie tvrdí, že excentricita plátu^{92,93}, kalcifikace¹⁰¹, krvácení^{105,107} a neovaskularizace¹⁰² se častěji vyskytují u symptomatických plátů. Jiné studie tyto závěry rozporují^{38,44,89,102,104,108,121}. Existuje nicméně obecná shoda, že komplexní vzhled plátu má významný prediktivní význam. Vznikla tak AHA klasifikace, která se prokázala být citlivým způsobem, jak rozlišit stabilní plát od nestabilního^{90,121,122}. Současná studie odhalila několik jednotlivých histologických rysů, které korelovaly s nestabilním plátem. Nicméně nejvýznamnější korelace ($p=0.006$) byla prokázána ve vztahu s komplexním vzhledem plátu dle AHA klasifikace se skupinami asymptomatických a symptomatických pacientů. Zajímavý závěr byl odhalen Verhoevenem a kol.⁸⁹. Ti provedli analýzu 404 karotických plátů a porovnávali jejich histologickou strukturu vzhledem k příznakům, které pacienti před operací prodělali. Ukázalo se, že pláty pacientů s asymptomatickou stenózou a těch, kteří prodělali *amaurosis fugax*, mají podobnou strukturu. Tato struktura je navíc odlišná od plátů pacientů, kteří prodělali hemisferální iktus. Doporučují proto řadit pláty, které se projeví příznakem typu *amaurosis fugax*, do skupiny stabilních plátů. Při vyhodnocování vztahu mezi komplexním vzhledem plátu dle AHA klasifikace

a skupinou „pacientů bez iCMP“ a „pacientů s hemisférickou iCMP“ v našem souboru bylo zjištěno, že korelace dosahuje statistické významnosti, ale hladina je nižší než mezi skupinami symptomatických a asymptomatických pacientů ($p=0.001$). Ačkoliv se prokázala histologická analýza aterosklerotických plátů jako efektivní, její hlavní nevýhodou zůstává fakt, že se může hodnotit pouze po chirurgické excisi, a není proto možné tyto závěry využít v předoperační rozvaze. Částečně se využívá korelace histologické struktury a nálezu na neinvazivních radiologických metodách k predikci stability plátu^{102,105,121}. Žádná z těchto metod ale není doposud dostatečně přesná^{36,44}.

Proto i nadále probíhá výzkum hledající vhodnou (tj. přesnou a dostupnou) metodu k ohodnocení stability karotického plátu. Perspektivní možností se zdají být biomarkery^{52,123}. Myšlenka je založena na znalosti, že hladiny studovaných biomarkerů v krvi mají vztah s biologickým chováním plátu⁵². V současné době je k dispozici několik různých biomarkerů a jejich vztah k aterosklerotickému procesu je různý. Některé jsou příčinou rozvoje aterosklerotického plátu – lipoproteinové a „lipid-related“ biomarkery⁵² a biomarkery oxidačního stresu jako je např. MDA¹²⁴, a jiné jsou vylučovány z nestabilních plátů – apolipoprotein J,E a microRNA⁵². Doposud ale pátrání po dostatečně věrohodném biomarkeru selhává. Je tomu mimo jiné i proto, že jednotlivé studie, které se daným problémem zabývají, mají odlišnou metodologii, pročež je porovnání jejich výsledků svízelné.

Biomarkery oxidačního stresu (OS), jakožto příčinného faktoru aterosklerózy, se zdají být smysluplnými cíli výzkumu. OS je charakterizován zvýšenou produkcí reaktivních forem kyslíku a reaktivních forem dusíku¹²⁵. Tato nadbytečná produkce není dostatečně kompenzována antioxidačními mechanismy, a to vede k poškození okolních tkání. Tímto způsobem je OS spojen s rozvojem aterosklerotického nestabilního plátu¹²⁶⁻¹²⁹. Oxidativní stres způsobuje dysfunkci endotelu, aktivaci destiček, agregaci destiček s leukocyty a formaci trombu pomocí modifikace fibrinogenu¹³⁰⁻¹³². Přítomnost oxidačního stresu je možné monitorovat různými metodami. Využívají se především LC-MS/MS technika (*ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometry*) k měření karbonylovaných proteinů, MDA, 4hydroxy2nonenal a F2 isoprostanu¹³³. MDA patří do třídy biomarkerů peroxidace lipidů a jedná se o standardní biomarker OS. MDA se navíc zdá být

citlivým biomarkerem prodělané ischemické CMP¹³⁴, neboť byla zaznamenána zvýšená hladina MDA v plasmě i ve slinách u pacientů po čerstvě prodělané iCMP¹³⁵. Cano a kol.¹³⁵ kontrolovali skupinu 15 pacientů, kteří prodělali akutní ischemickou CMP. Hladina MDA v séru byla u pacientů analyzována do 24 hodin od příhody. Ukázalo se, že v porovnání s kontrolní skupinou byla hladina MDA významně zvýšena a hladina NO naopak snížena. Re a kol.¹³⁶ analyzovali aktivitu metaloproteinasy a koncentraci MDA a 4hydroxynonenalu před zahájením léčby u 50 pacientů po iCMP. Autoři prokázali zvýšenou hladinu produktů peroxidace lipidů a metaloproteinasy. Ve studii vedené Hajslem¹³⁷ bylo zjištěno, že hladina MDA v plasmě byla významně vyšší u skupiny pacientů s významnou stenózou karotidy a s akutním koronárním syndromem ve srovnání zdravými jedinci. Pravidelnými kontrolami hladin MDA v plasmě pacientů po akutním koronárním syndromu byl popsán dynamický proces elevace MDA po příhodě a následný pokles během hospitalizace¹³⁸. Další vědecká skupina¹³⁹ sledovala hladiny MDA v plasmě u pacientů s chronickým renálním selháním, s kardiometabolickým syndromem a s různým stupněm aterosklerotického plátu dle Mannheimského konsensu (klasifikace založená na diagnostice pomocí UZ dělící se do 4 stupňů). Ve studii zaznamenali pozitivní korelaci mezi plazmatickou hladinou MDA a stupněm aterosklerotického plátu. MDA je nejen biomarkerem, ale má i své metabolické efekty. Zvýšená hladina MDA například modifikuje ApoB100 protein, který je součástí oxidovaného LDL, a tato změna zvyšuje jeho aterogenní potenciál¹⁴⁰. Byla též zaznamenána zvýšená agregace destiček u pacientů, jejichž izolované LDL z plazmy byly modifikovány přidáním MDA¹⁴¹. Podle Sigaly a kol.¹²⁴ je zvýšená hladina MDA v plávu spojena s výskytem karotického plátu, nepodařilo se jim ale prokázat významný vztah mezi symptomatickými a asymptomatickými pláty. Domnívám se, že tento výsledek nesouhlasí se závěrem této studie proto, že se jednalo o hodnocení hladiny MDA v plávu, nikoliv plazmatické hladiny. Autoři navíc užili jiné laboratorní techniky (kolometrického testu bez HPLC separace MDA obarvených produktů 1-methyl-2-phenylindolenu, k čemuž může dojít z jednoduchých sacharidů)¹⁴². Zajímavé je, že pacienti se znaky rizikového koronárního plátu měli vysoké hladiny MDA a nevýznamné rozdíly ve hladinách LDL ve srovnání se stabilními pláty, a to

navzdory terapii pacientů statiny¹⁴³. MDA je tedy biomarkerem, který má vazbu s OS a s formací aterosklerotického plátu. Otázka vztahu MDA se stabilitou plátu ale doposud nebyla věrohodně zodpovězena.

V této studii byla provedena analýza vztahu mezi hladinou MDA v plazmě a symptomatologií karotického plátu. Symptomatická stenóza byla charakterizována dle aktuálních doporučení¹⁴⁴, jež nazývají stenózu symptomatickou v případě rozvoje příznaků (AF/TIA/iCMP), které vznikly v průběhu 6 měsíců před diagnostikováním karotické stenózy. Tato charakteristika symptomatické stenózy ale vznikla v rámci rozdělení skupin v randomizovaných multicentrických studiích koncem 80. a počátkem 90. let. Až pozdější vědecké poznatky ozřejmily, že stabilita plátu závisí i na typu příznaku. Verhoeven a spol.⁸⁹ prokázali, že pláty, které se projevíly AF, mají histologickou strukturu shodnou se stabilními pláty. Doporučili proto obdobné zacházení s pacienty s asymptomatickou stenózou, stejně jako s pacienty se stenózou projevující se AF. Opíraje se o zmíněné vědomosti byly provedeny dvě korelace. První korelace porovnávala plazmatické hladiny MDA u symptomatických pacientů (AF, TIA, iCMP) s plazmatickými hladinami MDA u asymptomatických pacientů. Tato korelace nedosahovala statistické významnosti s $p=0.232$. Ve druhé analýze byla provedena korelace hladin MDA v plasmě skupiny asymptomatických pacientů a pacientů, jejichž stenóza krkavice se projevila AF, proti skupině symptomatických pacientů (tj. pacientů po TIA či iCMP). Výsledek této korelace dosahoval statistické významnosti s $p=0.002$. Tento nálezní utvrzuje významnost stanovení plazmatické hladiny MDA jako predikci rizika hemisférické iCMP. Dalším pozoruhodným nálezem studie je, že stanovení plazmatické hladiny MDA předoperačně mělo vyšší prediktivní význam než histologická analýza plátu pomocí AHA klasifikace.

- Limitace studie

Hlavní limitací studie je poměrně nízký počet pacientů a absence porovnání dalších biomarkerů stenózy karotidy či srovnání s kontrolními studii. Studie nicméně předkládá významný podklad pro další prospektivní práce a prokázala významnou korelaci MDA se stabilitou plátu v daném souboru.

Závěry

Práce 1: Predikce nestability plátu v závislosti na jeho histologické struktuře

Zahrnutá epidemiologická data nemají statisticky významný vztah k symptomatické stenóze karotidy. Pouze dva histologické rysy korelují s výskytem symptomatické stenózy. Jsou jimi trombóza v plátu a přítomnost pěnových buněk.

Vývoj aterosklerotického plátu je chronický a komplexní proces, který zahrnuje četné patofyziologické mechanismy. Zdá se, že zejména komplexní vzhled plátu je významným prediktivním faktorem vulnerability plátu. AHA klasifikace je smysluplnou metodou k ohodnocení stability plátu.

Práce 2: Diagnostická přesnost digitální substrakční angiografie při hodnocení významnosti stenózy plátu

Ve studii bylo na objemném vzorku pacientů prokázáno, že neexistuje statisticky významný vztah mezi procentem stenózy, které bylo změřeno na histologickém preparátu aterosklerotického plátu karotidy získaného během karotické endarterektomie, a procentem stenózy na DSA. Nález na DSA tedy neodpovídá skutečné tíži stenózy a převedení závěrů studií založených na DSA na jiné diagnostické metody může být zatíženo významnou chybou.

Práce 3: stres jako biomarker nestability plátu.

Ve studii byla provedena histologická analýza 35 karotických plátů odstraněných během karotické endarterektomie a korelace hladin MDA mezi skupinami pacientů tříděných dle příznaků. Byl také studován vztah jednotlivých histologických rysů vzhledem ke stabilitě plátu. Ze studovaných parametrů byl nejvýznamnější vztah prokázán u komplexního hodnocení plátu dle AHA klasifikace. Byly provedeny dvě korelace plazmatických hladin MDA se skupinami pacientů tříděných dle symptomologie. První korelace mezi plazmatickými hladinami MDA asymptomatických a symptomatických pacientů nedosahovala statistické významnosti ($p=0.232$). Ve druhé korelaci skupiny asymptomatických pacientů, ke které byli

přiřazení pacienti po AF, se symptomatickými pacienty (pacienti po TIA či iCMP) byl již prokázán statisticky významný vztah ($p=0.002$). Vzhledem k tomuto nálezu se plazmatická hladina MDA jeví jako významný prediktor stability plátu. Zvýšené hladiny MDA u pacientů s nestabilním plátem mohou být do budoucna podkladem pro stratifikaci pacientů a individualizaci terapeutického přístupu.

Souhrn

Diagnostika a predikce chování karotického plátu jsou nezbytnou součástí adekvátní a individualizované terapie. Dodnes ale odhad chování plátu představuje svízelný úkol. Již dříve bylo prokázáno, že riziko cévní mozkové příhody (CMP) ze stenózy karotidy není dáno pouze těsností stenózy, ale závisí i na dalších faktorech. Přesná diagnostika a predikce rizikových plátů je esenciální pro stanovení vhodného terapeutického postupu. Tato disertační práce se zabývá jednotlivými možnostmi a limity současné diagnostiky.

Na souboru 269 pacientů a 280 karotických plátech byla analyzována korelace mezi jednotlivými histologickými pláty vůči epidemiologickým a klinickým datům. Byl prokázán vztah mezi klinickými projevy a jednotlivými histologickými rysy a komplexním histologickým vzhledem plátu dle AHA klasifikace. Jelikož se ale jedná o rysy, které lze hodnotit až po odstranění plátu, nemají tyto výsledky přímý dopad na indikační kritéria. Lze jich však využít k pochopení patofyziologického procesu rozvoje nestabilního plátu a přeneseně pro analýzu zobrazení karotického plátu radiodiagnostickými metodami.

Diagnostika stenózy karotidy byla primárně založena na studiích, které užívaly digitální substrakční angiografii. Závěry těchto studií byly přeneseny i na novější neinvazivní metody, ale přesná korelace plátu vůči angiografii nebyla do té doby analyzována. Ve skupině 644 pacientů se však ukázal vztah mezi angiografií a stenózou na histologickém preparátu karotického plátu jako nepřesný. Zdá se proto rozumné nezakládat doporučení pro neinvazivní metody na digitální substrakční angiografii a individualizovat doporučení k jednotlivým neinvazivním metodám.

Navzdory rozvíjejícím se možnostem diagnostiky stenózy karotidy doposud není možné přesně predikovat chování karotického plátu. Pátrá se proto po dalších podpůrných vyšetřeních, z nichž se zdají býti perspektivní sérové biomarkery. Ačkoliv existuje velká řada biomarkerů, doposud žádný se neprokázal být dostatečně citlivý a specifický. Na souboru 35 pacientů byl prokázán statisticky významný vztah mezi hladinou malondialdehydu a pacienty se stenózou karotidy, kteří prodělali ischemickou cévní mozkovou příhodu. Ačkoliv se jedná o skupinu

s limitovaným počtem pacientů, výrazná korelace nálezů svědčí pro smysluplnost dalšího studia malondialdehydu jako biomarkeru nestabilního plátu.

Summary

Diagnosis and prediction of carotid plaque behavior are essential components of adequate and individualized therapy. However, estimating plaque behavior has remained a challenging task. It has been previously demonstrated that the risk of cerebrovascular stroke (CVS) resulting from carotid stenosis is not solely determined by the degree of stenosis but also depends on other factors. Precise diagnosis and prediction of high-risk plaques are essential for determining appropriate therapeutic strategies. This dissertation deals with various possibilities and limitations of current diagnostics.

A correlation analysis was conducted on a group of 269 patients and 280 carotid plaques, comparing individual histological characteristics with epidemiological and clinical data. A relationship was found between clinical manifestations and individual histological features, as well as the comprehensive histological appearance of the plaque according to the AHA classification. However, since these features can only be evaluated after plaque removal, these results do not have a direct impact on indication criteria. Nevertheless, they can be utilized to understand the pathophysiological process of unstable plaque development and, in turn, to analyze carotid plaque imaging using radiodiagnostic methods.

The diagnosis of carotid stenosis was primarily based on studies that utilized digital subtraction angiography. The conclusions of these studies were also applied to newer non-invasive methods, but the precise correlation between the plaque and angiography had not been analyzed until then. In a group of 644 patients, the relationship between angiography and stenosis on the histological specimen of the carotid plaque was found to be imprecise. Therefore, it seems reasonable not to base recommendations for non-invasive methods solely on digital subtraction angiography and to individualize recommendations for specific non-invasive methods.

Despite the advancing possibilities in carotid stenosis diagnostics, it is still not possible to accurately predict the behavior of carotid plaques. Therefore, further supportive examinations are being sought, with serum biomarkers appearing promising. Although there is a wide range of biomarkers available, none has yet been

proven to be sufficiently sensitive and specific. A statistically significant relationship was found between the level of malondialdehyde and patients with carotid stenosis who had experienced an ischemic cerebrovascular event in a group of 35 patients. Although this is a limited sample size, the significant correlation of the finding supports the meaningfulness of further studying malondialdehyde as a biomarker of unstable plaque.

Přehled literatury

- 1 Boehme, A. K., Esenwa, C. & Elkind, M. S. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circ Res* **120**, 472-495, doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.308398 (2017).
- 2 Sarikaya, H., Ferro, J. & Arnold, M. Stroke prevention--medical and lifestyle measures. *Eur Neurol* **73**, 150-157, doi:10.1159/000367652 (2015).
- 3 Kastrup, A., Schnaudigel, S., Wasser, K. & Groschel, K. Carotid artery disease: stenting versus endarterectomy. *Curr Atheroscler Rep* **10**, 391-397, doi:10.1007/s11883-008-0061-8 (2008).
- 4 Paraskevas, K. I. *et al.* Asymptomatic carotid stenosis and cognitive impairment. *J Cardiovasc Surg (Torino)*, doi:10.23736/S0021-9509.23.12620-6 (2023).
- 5 Robicsek, F., Roush, T. S., Cook, J. W. & Reames, M. K. From Hippocrates to Palmaz-Schatz, the history of carotid surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **27**, 389-397, doi:10.1016/j.ejvs.2004.01.004 (2004).
- 6 Stevanovic, K. *et al.* A Brief History of Carotid Artery Surgery and Anesthesia. *J Anesth Hist* **2**, 147-150, doi:10.1016/j.janh.2016.09.005 (2016).
- 7 Munster, A. B., Thapar, A. & Davies, A. H. History of Carotid Stroke. *Stroke* **47**, e66-69, doi:10.1161/STROKEAHA.115.012044 (2016).
- 8 Tindall, G. T., Goree, J. A., Lee, J. F. & Odom, G. L. Effect of common carotid ligation on size of internal carotid aneurysms and distal intracarotid and retinal artery pressures. *J Neurosurg* **25**, 503-511, doi:10.3171/jns.1966.25.5.0503 (1966).
- 9 Mayerl, C. *et al.* Atherosclerosis research from past to present--on the track of two pathologists with opposing views, Carl von Rokitansky and Rudolf Virchow. *Virchows Arch* **449**, 96-103, doi:10.1007/s00428-006-0176-7 (2006).
- 10 Drake, C. G. Earlier times in aneurysm surgery. *Clin Neurosurg* **32**, 41-50 (1985).
- 11 Flaherty, M. L. *et al.* Carotid artery stenosis as a cause of stroke. *Neuroepidemiology* **40**, 36-41, doi:10.1159/000341410 (2013).
- 12 Tyrrell, D. J. & Goldstein, D. R. Ageing and atherosclerosis: vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6. *Nat Rev Cardiol* **18**, 58-68, doi:10.1038/s41569-020-0431-7 (2021).
- 13 Giri, A. *et al.* Trans-ethnic association study of blood pressure determinants in over 750,000 individuals. *Nat Genet* **51**, 51-62, doi:10.1038/s41588-018-0303-9 (2019).
- 14 Mahajan, A. *et al.* Fine-mapping type 2 diabetes loci to single-variant resolution using high-density imputation and islet-specific epigenome maps. *Nat Genet* **50**, 1505-1513, doi:10.1038/s41588-018-0241-6 (2018).
- 15 Forstermann, U., Xia, N. & Li, H. Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circ Res* **120**, 713-735, doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.309326 (2017).
- 16 Bhatnagar, A. Environmental Determinants of Cardiovascular Disease. *Circ Res* **121**, 162-180, doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.306458 (2017).
- 17 Kim, J. S., Kang, D. W. & Kwon, S. U. Intracranial atherosclerosis: incidence, diagnosis and treatment. *J Clin Neurol* **1**, 1-7, doi:10.3988/jcn.2005.1.1.1 (2005).
- 18 Benjamin, E. J. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* **137**, e67-e492, doi:10.1161/CIR.0000000000000558 (2018).

- 19 Schloss, M. J., Swirski, F. K. & Nahrendorf, M. Modifiable Cardiovascular Risk, Hematopoiesis, and Innate Immunity. *Circ Res* **126**, 1242-1259, doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.315936 (2020).
- 20 Dominguez, F. *et al.* Association of Sleep Duration and Quality With Subclinical Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* **73**, 134-144, doi:10.1016/j.jacc.2018.10.060 (2019).
- 21 Jie, Z. *et al.* The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Commun* **8**, 845, doi:10.1038/s41467-017-00900-1 (2017).
- 22 Biddinger, K. J. *et al.* Association of Habitual Alcohol Intake With Risk of Cardiovascular Disease. *JAMA Netw Open* **5**, e223849, doi:10.1001/jamanetworkopen.2022.3849 (2022).
- 23 Xie, Y., Xu, E., Bowe, B. & Al-Aly, Z. Long-term cardiovascular outcomes of COVID-19. *Nat Med* **28**, 583-590, doi:10.1038/s41591-022-01689-3 (2022).
- 24 Krejza, J. *et al.* Carotid artery diameter in men and women and the relation to body and neck size. *Stroke* **37**, 1103-1105, doi:10.1161/01.STR.0000206440.48756.f7 (2006).
- 25 Geibprasert, S., Pongpech, S., Armstrong, D. & Krings, T. Dangerous extracranial-intracranial anastomoses and supply to the cranial nerves: vessels the neurointerventionalist needs to know. *AJNR Am J Neuroradiol* **30**, 1459-1468, doi:10.3174/ajnr.A1500 (2009).
- 26 Bjorkegren, J. L. M. & Lusis, A. J. Atherosclerosis: Recent developments. *Cell* **185**, 1630-1645, doi:10.1016/j.cell.2022.04.004 (2022).
- 27 Boren, J. & Williams, K. J. The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein-B-containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity. *Curr Opin Lipidol* **27**, 473-483, doi:10.1097/MOL.0000000000000330 (2016).
- 28 Kattoor, A. J., Pothineni, N. V. K., Palagiri, D. & Mehta, J. L. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* **19**, 42, doi:10.1007/s11883-017-0678-6 (2017).
- 29 Robbins, C. S. *et al.* Local proliferation dominates lesional macrophage accumulation in atherosclerosis. *Nat Med* **19**, 1166-1172, doi:10.1038/nm.3258 (2013).
- 30 Alencar, G. F. *et al.* Stem Cell Pluripotency Genes Klf4 and Oct4 Regulate Complex SMC Phenotypic Changes Critical in Late-Stage Atherosclerotic Lesion Pathogenesis. *Circulation* **142**, 2045-2059, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046672 (2020).
- 31 Bick, A. G. *et al.* Increased prevalence of clonal hematopoiesis of indeterminate potential amongst people living with HIV. *Sci Rep* **12**, 577, doi:10.1038/s41598-021-04308-2 (2022).
- 32 Grootaert, M. O. J., Finigan, A., Figg, N. L., Uryga, A. K. & Bennett, M. R. SIRT6 Protects Smooth Muscle Cells From Senescence and Reduces Atherosclerosis. *Circ Res* **128**, 474-491, doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.318353 (2021).
- 33 Backman, J. D. *et al.* Exome sequencing and analysis of 454,787 UK Biobank participants. *Nature* **599**, 628-634, doi:10.1038/s41586-021-04103-z (2021).
- 34 Koyama, S. *et al.* Population-specific and trans-ancestry genome-wide analyses identify distinct and shared genetic risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet* **52**, 1169-1177, doi:10.1038/s41588-020-0705-3 (2020).
- 35 Graham, S. E. *et al.* The power of genetic diversity in genome-wide association studies of lipids. *Nature* **600**, 675-679, doi:10.1038/s41586-021-04064-3 (2021).

- 36 Brinjikji, W. *et al.* Ultrasound Characteristics of Symptomatic Carotid Plaques: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cerebrovasc Dis* **40**, 165-174, doi:10.1159/000437339 (2015).
- 37 Shao, S. *et al.* Differences in left and right carotid plaque vulnerability in patients with bilateral carotid plaques: a CARE-II study. *Stroke Vasc Neurol*, doi:10.1136/svn-2022-001937 (2023).
- 38 Wendorff, C. *et al.* Carotid Plaque Morphology Is Significantly Associated With Sex, Age, and History of Neurological Symptoms. *Stroke* **46**, 3213-3219, doi:10.1161/STROKEAHA.115.010558 (2015).
- 39 Hetterich, H. *et al.* AHA classification of coronary and carotid atherosclerotic plaques by grating-based phase-contrast computed tomography. *Eur Radiol* **26**, 3223-3233, doi:10.1007/s00330-015-4143-z (2016).
- 40 McColgan, P., Bentley, P., McCarron, M. & Sharma, P. Evaluation of the clinical utility of a carotid bruit. *QJM* **105**, 1171-1177, doi:10.1093/qjmed/hcs140 (2012).
- 41 Moniz, E. [Subsidies for the history of angiography]. *Med Contemp* **73**, 329-346 (1955).
- 42 Ferguson, G. G. *et al.* The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial : surgical results in 1415 patients. *Stroke* **30**, 1751-1758, doi:10.1161/01.str.30.9.1751 (1999).
- 43 Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet* **351**, 1379-1387 (1998).
- 44 Svoboda, N., Bradac, O., Mandys, V., Netuka, D. & Benes, V. Diagnostic accuracy of DSA in carotid artery stenosis: a comparison between stenosis measured on carotid endarterectomy specimens and DSA in 644 cases. *Acta Neurochir (Wien)* **164**, 3197-3202, doi:10.1007/s00701-022-05332-5 (2022).
- 45 Mnyusiwalla, A., Aviv, R. I. & Symons, S. P. Radiation dose from multidetector row CT imaging for acute stroke. *Neuroradiology* **51**, 635-640, doi:10.1007/s00234-009-0543-6 (2009).
- 46 McNally, J. S. *et al.* Magnetic Resonance Imaging Detection of Intraplaque Hemorrhage. *Magn Reson Insights* **10**, 1-8, doi:10.1177/1178623X17694150 (2017).
- 47 Sander, K., Horn, C. S., Briesenick, C., Sander, D. & Group, I. S. High-sensitivity C-reactive protein is independently associated with early carotid artery progression in women but not in men: the INVADE Study. *Stroke* **38**, 2881-2886, doi:10.1161/STROKEAHA.106.481531 (2007).
- 48 Debing, E., Peeters, E., Demanet, C., De Waele, M. & Van den Brande, P. Markers of inflammation in patients with symptomatic and asymptomatic carotid artery stenosis: a case-control study. *Vasc Endovascular Surg* **42**, 122-127, doi:10.1177/1538574407307406 (2008).
- 49 Talayero, B. G. & Sacks, F. M. The role of triglycerides in atherosclerosis. *Curr Cardiol Rep* **13**, 544-552, doi:10.1007/s11886-011-0220-3 (2011).
- 50 Yeh, P. S. *et al.* Low levels of high-density lipoprotein cholesterol in patients with atherosclerotic stroke: a prospective cohort study. *Atherosclerosis* **228**, 472-477, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.03.015 (2013).
- 51 Walsh, K. B. *et al.* Apolipoprotein A-I and Paraoxonase-1 Are Potential Blood Biomarkers for Ischemic Stroke Diagnosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis* **25**, 1360-1365, doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.02.027 (2016).

- 52 Kigka, V. I. *et al.* Serum Biomarkers in Carotid Artery Disease. *Diagnostics (Basel)* **11**, doi:10.3390/diagnostics11112143 (2021).
- 53 Kang, S., Wu, Y. & Li, X. Effects of statin therapy on the progression of carotid atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis* **177**, 433-442, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2004.08.005 (2004).
- 54 Whayne, T. F., Jr. Assessment of Carotid Artery Stenosis and the Use of Statins. *Int J Angiol* **24**, 173-178, doi:10.1055/s-0035-1554910 (2015).
- 55 Amarenco, P. *et al.* Effect of high-dose atorvastatin on renal function in subjects with stroke or transient ischemic attack in the SPARCL trial. *Stroke* **45**, 2974-2982, doi:10.1161/STROKEAHA.114.005832 (2014).
- 56 Brott, T. G. *et al.* 2011 ASA/ACCF/AHA/AANN/AANS/ACR/ASNR/CNS/SAIP/SCAI/SIR/SNIS/SVM/SVS guideline on the management of patients with extracranial carotid and vertebral artery disease. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, and the American Stroke Association, American Association of Neuroscience Nurses, American Association of Neurological Surgeons, American College of Radiology, American Society of Neuroradiology, Congress of Neurological Surgeons, Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of NeuroInterventional Surgery, Society for Vascular Medicine, and Society for Vascular Surgery. *Circulation* **124**, e54-130, doi:10.1161/CIR.0b013e31820d8c98 (2011).
- 57 Ogata, A. *et al.* Stabilization of vulnerable carotid plaques with proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor alirocumab. *Acta Neurochir (Wien)* **161**, 597-600, doi:10.1007/s00701-019-03825-4 (2019).
- 58 Kernan, W. N. *et al.* Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* **45**, 2160-2236, doi:10.1161/STR.0000000000000024 (2014).
- 59 Shon, S. M. *et al.* Cytokine Response to Diet and Exercise Affects Atheromatous Matrix Metalloproteinase-2/9 Activity in Mice. *Circ J* **81**, 1528-1536, doi:10.1253/circj.CJ-16-1196 (2017).
- 60 Weiss, E. P. *et al.* Effects of matched weight loss from calorie restriction, exercise, or both on cardiovascular disease risk factors: a randomized intervention trial. *Am J Clin Nutr* **104**, 576-586, doi:10.3945/ajcn.116.131391 (2016).
- 61 Coffeng, J. K. *et al.* A 30-month worksite-based lifestyle program to promote cardiovascular health in middle-aged bank employees: Design of the TANSNIP-PESA randomized controlled trial. *Am Heart J* **184**, 121-132, doi:10.1016/j.ahj.2016.11.002 (2017).
- 62 Halliday, A. *et al.* Second asymptomatic carotid surgery trial (ACST-2): a randomised comparison of carotid artery stenting versus carotid endarterectomy. *Lancet* **398**, 1065-1073, doi:10.1016/S0140-6736(21)01910-3 (2021).
- 63 Jusufovic, M., Sandset, E. C., Skagen, K. & Skjelland, M. Blood Pressure Lowering Treatment in Patients with Carotid Artery Stenosis. *Curr Hypertens Rev* **12**, 148-155, doi:10.2174/157340211202160525010133 (2016).

- 64 Yokoyama, H., Katakami, N. & Yamasaki, Y. Recent advances of intervention to inhibit progression of carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Stroke* **37**, 2420-2427, doi:10.1161/01.STR.0000236632.58323.cd (2006).
- 65 Cote, R. *et al.* Lack of effect of aspirin in asymptomatic patients with carotid bruits and substantial carotid narrowing. The Asymptomatic Cervical Bruit Study Group. *Ann Intern Med* **123**, 649-655, doi:10.7326/0003-4819-123-9-199511010-00002 (1995).
- 66 Meschia, J. F. *et al.* Guidelines for the primary prevention of stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* **45**, 3754-3832, doi:10.1161/STR.0000000000000046 (2014).
- 67 Bhatia, K. *et al.* Dual Antiplatelet Therapy Versus Aspirin in Patients With Stroke or Transient Ischemic Attack: Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Stroke* **52**, e217-e223, doi:10.1161/STROKEAHA.120.033033 (2021).
- 68 Naylor, A. R. *et al.* Closing the loop: a 21-year audit of strategies for preventing stroke and death following carotid endarterectomy. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **46**, 161-170, doi:10.1016/j.ejvs.2013.05.005 (2013).
- 69 Bonati, L. H. *et al.* European Stroke Organisation guideline on endarterectomy and stenting for carotid artery stenosis. *Eur Stroke J* **6**, 1, doi:10.1177/23969873211026990 (2021).
- 70 AbuRahma, A. F., Stone, P. A., Flaherty, S. K. & AbuRahma, Z. Prospective randomized trial of ACUSEAL (Gore-Tex) versus Hemashield-Finesse patching during carotid endarterectomy: early results. *J Vasc Surg* **45**, 881-884, doi:10.1016/j.jvs.2007.01.038 (2007).
- 71 Doig, D. *et al.* Predictors of Stroke, Myocardial Infarction or Death within 30 Days of Carotid Artery Stenting: Results from the International Carotid Stenting Study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **51**, 327-334, doi:10.1016/j.ejvs.2015.08.013 (2016).
- 72 Hye, R. J. *et al.* Incidence, outcomes, and effect on quality of life of cranial nerve injury in the Carotid Revascularization Endarterectomy versus Stenting Trial. *J Vasc Surg* **61**, 1208-1214, doi:10.1016/j.jvs.2014.12.039 (2015).
- 73 Endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis. Executive Committee for the Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. *JAMA* **273**, 1421-1428 (1995).
- 74 Halliday, A. *et al.* Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. *Lancet* **363**, 1491-1502, doi:10.1016/S0140-6736(04)16146-1 (2004).
- 75 Bekelis, K., Moses, Z., Missios, S., Desai, A. & Labropoulos, N. Indications for treatment of recurrent carotid stenosis. *Br J Surg* **100**, 440-447, doi:10.1002/bjs.9027 (2013).
- 76 Garzon-Muvdi, T. *et al.* Restenosis After Carotid Endarterectomy: Insight Into Risk Factors and Modification of Postoperative Management. *World Neurosurg* **89**, 159-167, doi:10.1016/j.wneu.2016.01.028 (2016).
- 77 O'Hara, P. J. *et al.* Reoperation for recurrent carotid stenosis: early results and late outcome in 199 patients. *J Vasc Surg* **34**, 5-12, doi:10.1067/mva.2001.115601 (2001).
- 78 Ederle, J. *et al.* Effect of white-matter lesions on the risk of periprocedural stroke after carotid artery stenting versus endarterectomy in the International Carotid Stenting Study (ICSS): a prespecified analysis of data from a randomised trial. *Lancet Neurol* **12**, 866-872, doi:10.1016/S1474-4422(13)70135-2 (2013).

- 79 Brott, T. G. *et al.* Stenting versus endarterectomy for treatment of carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* **363**, 11-23, doi:10.1056/NEJMoa0912321 (2010).
- 80 Moulakakis, K. G. *et al.* Acute Carotid Stent Thrombosis: A Comprehensive Review. *Vasc Endovascular Surg* **50**, 511-521, doi:10.1177/1538574416665986 (2016).
- 81 Schonholz, C. J., Uflacker, R., Parodi, J. C., Hannegan, C. & Selby, B. Is there evidence that cerebral protection is beneficial? Clinical data. *J Cardiovasc Surg (Torino)* **47**, 137-141 (2006).
- 82 Barbato, J. E. *et al.* A randomized trial of carotid artery stenting with and without cerebral protection. *J Vasc Surg* **47**, 760-765, doi:10.1016/j.jvs.2007.11.058 (2008).
- 83 Brott, T. G. *et al.* Long-Term Results of Stenting versus Endarterectomy for Carotid-Artery Stenosis. *N Engl J Med* **374**, 1021-1031, doi:10.1056/NEJMoa1505215 (2016).
- 84 Lal, B. K. *et al.* Restenosis after carotid artery stenting and endarterectomy: a secondary analysis of CREST, a randomised controlled trial. *Lancet Neurol* **11**, 755-763, doi:10.1016/S1474-4422(12)70159-X (2012).
- 85 Bonati, L. H. *et al.* Restenosis and risk of stroke after stenting or endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in the International Carotid Stenting Study (ICSS): secondary analysis of a randomised trial. *Lancet Neurol* **17**, 587-596, doi:10.1016/S1474-4422(18)30195-9 (2018).
- 86 Bonati, L. H. *et al.* Long-term outcomes after stenting versus endarterectomy for treatment of symptomatic carotid stenosis: the International Carotid Stenting Study (ICSS) randomised trial. *Lancet* **385**, 529-538, doi:10.1016/S0140-6736(14)61184-3 (2015).
- 87 AbuRahma, A. F. *et al.* The Society for Vascular Surgery implementation document for management of extracranial cerebrovascular disease. *J Vasc Surg* **75**, 26S-98S, doi:10.1016/j.jvs.2021.04.074 (2022).
- 88 Aboyans, V. *et al.* [2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS)]. *Kardiol Pol* **75**, 1065-1160, doi:10.5603/KP.2017.0216 (2017).
- 89 Verhoeven, B. *et al.* Carotid atherosclerotic plaques in patients with transient ischemic attacks and stroke have unstable characteristics compared with plaques in asymptomatic and amaurosis fugax patients. *J Vasc Surg* **42**, 1075-1081, doi:10.1016/j.jvs.2005.08.009 (2005).
- 90 Sary, H. C. *et al.* A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* **92**, 1355-1374, doi:10.1161/01.cir.92.5.1355 (1995).
- 91 Bechynska, K. *et al.* The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on the liver lipidome, proteome and bile acid profile: parenteral versus enteral administration. *Sci Rep* **9**, 19097, doi:10.1038/s41598-019-54225-8 (2019).
- 92 Ohara, T. *et al.* Eccentric stenosis of the carotid artery associated with ipsilateral cerebrovascular events. *AJNR Am J Neuroradiol* **29**, 1200-1203, doi:10.3174/ajnr.A0997 (2008).
- 93 Saba, L. *et al.* Imaging of the carotid artery vulnerable plaque. *Cardiovasc Intervent Radiol* **37**, 572-585, doi:10.1007/s00270-013-0711-2 (2014).
- 94 Waxman, S. *et al.* Plaque disruption and thrombus in Ambrose's angiographic coronary lesion types. *Am J Cardiol* **92**, 16-20, doi:10.1016/s0002-9149(03)00457-0 (2003).

- 95 Yamagishi, M. *et al.* Morphology of vulnerable coronary plaque: insights from follow-up of patients examined by intravascular ultrasound before an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* **35**, 106-111, doi:10.1016/s0735-1097(99)00533-1 (2000).
- 96 Ambrose, J. A. *et al.* Angiographic morphology and the pathogenesis of unstable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* **5**, 609-616, doi:10.1016/s0735-1097(85)80384-3 (1985).
- 97 Ambrose, J. A. *et al.* Coronary angiographic morphology in myocardial infarction: a link between the pathogenesis of unstable angina and myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* **6**, 1233-1238, doi:10.1016/s0735-1097(85)80207-2 (1985).
- 98 Carr, S., Farb, A., Pearce, W. H., Virmani, R. & Yao, J. S. Atherosclerotic plaque rupture in symptomatic carotid artery stenosis. *J Vasc Surg* **23**, 755-765; discussion 765-756, doi:10.1016/s0741-5214(96)70237-9 (1996).
- 99 van Oostrom, O. *et al.* Age-related changes in plaque composition: a study in patients suffering from carotid artery stenosis. *Cardiovasc Pathol* **14**, 126-134, doi:10.1016/j.carpath.2005.03.002 (2005).
- 100 Kwee, R. M. Systematic review on the association between calcification in carotid plaques and clinical ischemic symptoms. *J Vasc Surg* **51**, 1015-1025, doi:10.1016/j.jvs.2009.08.072 (2010).
- 101 Shaalan, W. E. *et al.* Degree of carotid plaque calcification in relation to symptomatic outcome and plaque inflammation. *J Vasc Surg* **40**, 262-269, doi:10.1016/j.jvs.2004.04.025 (2004).
- 102 Howard, D. P. *et al.* Symptomatic carotid atherosclerotic disease: correlations between plaque composition and ipsilateral stroke risk. *Stroke* **46**, 182-189, doi:10.1161/STROKEAHA.114.007221 (2015).
- 103 Selwaness, M. *et al.* Carotid Atherosclerotic Plaque Characteristics on Magnetic Resonance Imaging Relate With History of Stroke and Coronary Heart Disease. *Stroke* **47**, 1542-1547, doi:10.1161/STROKEAHA.116.012923 (2016).
- 104 Fisher, M. *et al.* Carotid plaque pathology: thrombosis, ulceration, and stroke pathogenesis. *Stroke* **36**, 253-257, doi:10.1161/01.STR.0000152336.71224.21 (2005).
- 105 Takaya, N. *et al.* Association between carotid plaque characteristics and subsequent ischemic cerebrovascular events: a prospective assessment with MRI--initial results. *Stroke* **37**, 818-823, doi:10.1161/01.STR.0000204638.91099.91 (2006).
- 106 Parmar, J. P. *et al.* Magnetic resonance imaging of carotid atherosclerotic plaque in clinically suspected acute transient ischemic attack and acute ischemic stroke. *Circulation* **122**, 2031-2038, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.866053 (2010).
- 107 Turc, G. *et al.* Relationships between recent intraplaque hemorrhage and stroke risk factors in patients with carotid stenosis: the HIRISC study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **32**, 492-499, doi:10.1161/ATVBAHA.111.239335 (2012).
- 108 Golledge, J., Greenhalgh, R. M. & Davies, A. H. The symptomatic carotid plaque. *Stroke* **31**, 774-781, doi:10.1161/01.str.31.3.774 (2000).
- 109 Peeters, W. *et al.* Carotid atherosclerotic plaques stabilize after stroke: insights into the natural process of atherosclerotic plaque stabilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **29**, 128-133, doi:10.1161/ATVBAHA.108.173658 (2009).
- 110 Salem, M. K. *et al.* Features of unstable carotid plaque during and after the hyperacute period following TIA/stroke. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **45**, 114-120, doi:10.1016/j.ejvs.2012.11.023 (2013).

- 111 Kockx, M. M. *et al.* Apoptosis and related proteins in different stages of human atherosclerotic plaques. *Circulation* **97**, 2307-2315, doi:10.1161/01.cir.97.23.2307 (1998).
- 112 Redgrave, J. N., Lovett, J. K. & Rothwell, P. M. Histological features of symptomatic carotid plaques in relation to age and smoking: the oxford plaque study. *Stroke* **41**, 2288-2294, doi:10.1161/STROKEAHA.110.587006 (2010).
- 113 Waden, K. *et al.* Clinical risk scores for stroke correlate with molecular signatures of vulnerability in symptomatic carotid patients. *iScience* **25**, 104219, doi:10.1016/j.isci.2022.104219 (2022).
- 114 Sary, H. C. Changes in components and structure of atherosclerotic lesions developing from childhood to middle age in coronary arteries. *Basic Res Cardiol* **89 Suppl 1**, 17-32, doi:10.1007/978-3-642-85660-0_2 (1994).
- 115 Sary, H. C. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20**, 1177-1178, doi:10.1161/01.atv.20.5.1177 (2000).
- 116 Netuka, D. *et al.* Detection of carotid artery stenosis using histological specimens: a comparison of CT angiography, magnetic resonance angiography, digital subtraction angiography and Doppler ultrasonography. *Acta Neurochir (Wien)* **158**, 1505-1514, doi:10.1007/s00701-016-2842-0 (2016).
- 117 Alexandrov, A. V., Bladin, C. F., Maggiano, R. & Norris, J. W. Measuring carotid stenosis. Time for a reappraisal. *Stroke* **24**, 1292-1296, doi:10.1161/01.str.24.9.1292 (1993).
- 118 Schenk, E. A. *et al.* Multicenter validation study of real-time ultrasonography, arteriography, and pathology: pathologic evaluation of carotid endarterectomy specimens. *Stroke* **19**, 289-296, doi:10.1161/01.str.19.3.289 (1988).
- 119 Kashyap, V. S. *et al.* Angiography underestimates peripheral atherosclerosis: lumenography revisited. *J Endovasc Ther* **15**, 117-125, doi:10.1583/07-2249R.1 (2008).
- 120 Isner, J. M. *et al.* Accuracy of angiographic determination of left main coronary arterial narrowing. Angiographic--histologic correlative analysis in 28 patients. *Circulation* **63**, 1056-1064, doi:10.1161/01.cir.63.5.1056 (1981).
- 121 Svoboda, N. *et al.* Histological Analysis of Carotid Plaques: The Predictors of Stroke Risk. *J Stroke Cerebrovasc Dis* **31**, 106262, doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.106262 (2022).
- 122 Sary, H. C. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* **421**, 277-290, doi:10.1007/BF01660974 (1992).
- 123 Puig, N., Jimenez-Xarrie, E., Camps-Renom, P. & Benitez, S. Search for Reliable Circulating Biomarkers to Predict Carotid Plaque Vulnerability. *Int J Mol Sci* **21**, doi:10.3390/ijms21218236 (2020).
- 124 Sigala, F. *et al.* Oxidized LDL in human carotid plaques is related to symptomatic carotid disease and lesion instability. *J Vasc Surg* **52**, 704-713, doi:10.1016/j.jvs.2010.03.047 (2010).
- 125 Sies, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol* **4**, 180-183, doi:10.1016/j.redox.2015.01.002 (2015).
- 126 Xie, M. *et al.* BMAL1-Downregulation Aggravates Porphyromonas Gingivalis-Induced Atherosclerosis by Encouraging Oxidative Stress. *Circ Res* **126**, e15-e29, doi:10.1161/CIRCRESAHA.119.315502 (2020).

- 127 Wang, Y., Wang, G. Z., Rabinovitch, P. S. & Tabas, I. Macrophage mitochondrial oxidative stress promotes atherosclerosis and nuclear factor-kappaB-mediated inflammation in macrophages. *Circ Res* **114**, 421-433, doi:10.1161/CIRCRESAHA.114.302153 (2014).
- 128 Liu, P. & Pan, Q. Butein Inhibits Oxidative Stress Injury in Rats with Chronic Heart Failure via ERK/Nrf2 Signaling. *Cardiovasc Ther* **2022**, 8684014, doi:10.1155/2022/8684014 (2022).
- 129 Joseph, L. C. *et al.* Mitochondrial oxidative stress during cardiac lipid overload causes intracellular calcium leak and arrhythmia. *Heart Rhythm* **13**, 1699-1706, doi:10.1016/j.hrthm.2016.05.002 (2016).
- 130 Pietraforte, D. *et al.* Redox control of platelet functions in physiology and pathophysiology. *Antioxid Redox Signal* **21**, 177-193, doi:10.1089/ars.2013.5532 (2014).
- 131 Incalza, M. A. *et al.* Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul Pharmacol* **100**, 1-19, doi:10.1016/j.vph.2017.05.005 (2018).
- 132 Kim, K., Li, J., Tseng, A., Andrews, R. K. & Cho, J. NOX2 is critical for heterotypic neutrophil-platelet interactions during vascular inflammation. *Blood* **126**, 1952-1964, doi:10.1182/blood-2014-10-605261 (2015).
- 133 Marrocco, I., Altieri, F. & Peluso, I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev* **2017**, 6501046, doi:10.1155/2017/6501046 (2017).
- 134 Li, Z. *et al.* The Role of Oxidative Stress in Acute Ischemic Stroke-Related Thrombosis. *Oxid Med Cell Longev* **2022**, 8418820, doi:10.1155/2022/8418820 (2022).
- 135 Cano, C. P. *et al.* Increased serum malondialdehyde and decreased nitric oxide within 24 hours of thrombotic stroke onset. *Am J Ther* **10**, 473-476, doi:10.1097/00045391-200311000-00018 (2003).
- 136 Re, G. *et al.* Plasma lipoperoxidative markers in ischaemic stroke suggest brain embolism. *Eur J Emerg Med* **4**, 5-9 (1997).
- 137 Hajsl, M. *et al.* Tryptophan Metabolism, Inflammation, and Oxidative Stress in Patients with Neurovascular Disease. *Metabolites* **10**, doi:10.3390/metabo10050208 (2020).
- 138 Kosek, V. *et al.* Long-Term Effects on the Lipidome of Acute Coronary Syndrome Patients. *Metabolites* **12**, doi:10.3390/metabo12020124 (2022).
- 139 Rasic, S., Rebic, D., Hasic, S., Rasic, I. & Delic Sarac, M. Influence of Malondialdehyde and Matrix Metalloproteinase-9 on Progression of Carotid Atherosclerosis in Chronic Renal Disease with Cardiometabolic Syndrome. *Mediators Inflamm* **2015**, 614357, doi:10.1155/2015/614357 (2015).
- 140 Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K. & Melkumyants, A. M. Malondialdehyde as an Important Key Factor of Molecular Mechanisms of Vascular Wall Damage under Heart Diseases Development. *Int J Mol Sci* **24**, doi:10.3390/ijms24010128 (2022).
- 141 Suttnar, J., Otahalova, E., Cermak, J. & Dyr, J. E. Effects of malondialdehyde content in low density lipoproteins on platelet adhesion. *Platelets* **17**, 92-99, doi:10.1080/09537100500261590 (2006).
- 142 Johnston, J. W., Horne, S., Harding, K. & Benson, E. E. Evaluation of the 1-methyl-2-phenylindole colorimetric assay for aldehydic lipid peroxidation products in plants:

- malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. *Plant Physiol Biochem* **45**, 108-112, doi:10.1016/j.plaphy.2007.01.011 (2007).
- 143 Ichikawa, K., Miyoshi, T., Osawa, K., Miki, T. & Ito, H. Increased Circulating Malondialdehyde-Modified Low-Density Lipoprotein Level Is Associated with High-Risk Plaque in Coronary Computed Tomography Angiography in Patients Receiving Statin Therapy. *J Clin Med* **10**, doi:10.3390/jcm10071480 (2021).
- 144 Aboyans, V. *et al.* 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* **71**, 111, doi:10.1016/j.rec.2017.12.014 (2018).

Přehled publikací autora.

Publikace, které jsou podkladem disertační práce

- 1) Svoboda N, Kočí K, Seidlová A, Mandys V, Suttnar J, Hlaváčková A, Kučerka O, Netuka D, Malý M. Oxidative Stress as a Reliable Biomarker of Carotid Plaque Instability: A Pilot Study. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Feb 17;12(2):506. doi: 10.3390/antiox12020506. PMID: 36830063; PMCID: PMC9952127, **IF 7.68, Q1 (Biochemistry)**

- 2) Svoboda N, Bradac O, Mandys V, Netuka D, Benes V. Diagnostic accuracy of DSA in carotid artery stenosis: a comparison between stenosis measured on carotid endarterectomy specimens and DSA in 644 cases. *Acta Neurochir (Wien)*. 2022 Dec;164(12):3197-3202. doi: 10.1007/s00701-022-05332-5. Epub 2022 Aug 9. PMID: 35945355. **IF 2.82, Q1 (Surgery)**

- 3) Svoboda N, Voldřich R, Mandys V, Hrbáč T, Kešnerová P, Roubec M, Školoudík D, Netuka D. Histological Analysis of Carotid Plaques: The Predictors of Stroke Risk. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2022 Mar;31(3):106262. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.106262. Epub 2021 Dec 23. PMID: 34954598. **IF 2.68, Q1 (Surgery)**

1.

Publikace, bez vztahu k tématu disertační práce

- 1) Svoboda N, Bradac O, de Lacy P, Benes V. Intramedullary ependymoma: long-term outcome after surgery. *Acta Neurochir (Wien)*. 2018 Mar;160(3):439-447. doi: 10.1007/s00701-017-3430-7. Epub 2017 Dec 26. PMID: 29280009. **IF 1.93, Q2**
- 2) Svoboda N, Bradac O, Benes V, Zhodnocení dlouhodobého prospívání pacientů po operaci intramedulárního kavernomu, *Cesk Slov Neurol N* 2017; [80/113\(5\): 564-568](#), **IF 0.68, Q4**
- 3) Svoboda N, Beneš V, Netuka D, Sokol M, Langová K, Majovsky M. Civilní a válečná střelná poranění hlavy (Civilian and military gunshot wounds to the head), [Cesk Slov Neurol N 2019; 82\(6\): 670-676](#), **IF 0.3, Q4**
- 4) Svoboda N, Tyll T, Beneš V, Netuka D. Epidural hematoma - benign or potentially malignant disease? *Rozhl Chir*. 2018 Spring;97(6):267-272. English. PMID: 30442006. **IF 0.22, Q4**
- 5) Dedeciusova M, Svoboda N, Benes V, Astl J, Netuka D. Olfaction in Olfactory Groove Meningiomas. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg*. 2020 Jul;81(4):310-317. doi: 10.1055/s-0040-1709165. Epub 2020 May 3. PMID: 32361982. **IF 1.27, Q2**
- 6) Kaiser R, Svoboda N, Waldauf P, Netuka D. The economic and psychological impact of cancellations of elective spinal surgeries in the COVID-19 era. *Br J Neurosurg*. 2021 Jan 18:1-5. doi: 10.1080/02688697.2020.1868404. Epub ahead of print. PMID: 33459075. **IF 1.12, Q3**

- 7) Májovský M, Häckel M, Svoboda N; Masopust V, Šňupárek Z, Netuka D, Beneš V, Střelná poranění mozku (Gunshot injury of the brain), [Cesk Slov Neurol N 2019; 82\(6\): 600-612](#), **IF 0.3, Q4**

Publikace bez IF

- 8) Svoboda N, Benes V, [Bradác O.](#), Spinal Cavernous Malformations, Cavernomas of the CNS: Basic Science to Clinical Practice, 2020, pp. 215–237, kapitola v knize