

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

DISERTAČNÍ PRÁCE

Praha 2011

MUDr. Tomáš Kovárník

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Doktorský studijní program v biomedicině

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Tomáš Kovárník

Regrese koronární aterosklerózy při hypolipidemické terapii

*The coronary atherosclerosis regression during hypolipidemic
therapy*

Doktorandská disertační práce

Školitel

prof. MUDr. Michael Aschermann, DrSc.

Praha 2011

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, 01. 08. 2011

MUDr. Tomáš Kovárník

Poděkování

Rád bych poděkoval svému školiteli, prof. MUDr. Michaeli Aschermannovi, DrSc. za jeho podporu, odbornou pomoc a v neposlední řadě za nasměrování do tak inspirující části kardiologie, jakou je výzkum aterosklerózy a možností jejího ovlivnění. Rovněž mu vděčím za možnost seznámení s prof. Milanem Šonkou, vedoucím laboratoře medicínského zobrazení na University of Iowa, USA, se kterou nyní intenzivně spolupracuji na pokračování naší studie.

Velmi rád bych také poděkoval as. MUDr. Janu Horákovi, CSc. za velkou pomoc při plánování a provádění studie.

Velký dík patří rovněž prof. MUDr. Aleši Linhartovi, DrSc., přednostovi II. interní kliniky angiologie a kardiologie, za podporu a pomoc v mé vědecké práci.

Identifikační záznam:

KOVÁRNÍK, Tomáš. *Regrese koronární aterosklerózy při hypolipidemické terapii* [*The coronary atherosclerosis regression during hypolipidemic therapy*]. Praha, 2011, 70 stran. Doktorandská disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, II. interní klinika kardiologie a angiologie. Školitel prof. MUDr. Michael Aschermann, DrSc.

OBSAH

| | | |
|---------|--|----|
| 1. | ÚVOD..... | 8 |
| 1.1. | Přehled vývoje aterosklerózy..... | 9 |
| 1.2. | Vývojová stádia aterosklerózy..... | 9 |
| 1.2.1. | Typ I..... | 10 |
| 1.2.2. | Typ II..... | 10 |
| 1.2.3. | Typ III..... | 11 |
| 1.2.4. | Typ IV..... | 11 |
| 1.2.5. | Typ V..... | 11 |
| 1.2.6. | Typ VI..... | 12 |
| 1.2.7. | Typ VII a VIII..... | 12 |
| 1.3. | LDL..... | 13 |
| 1.4. | Zánět a ateroskleróza..... | 14 |
| 1.5. | Mechanické vlivy a rozvoj aterosklerózy..... | 15 |
| 1.6. | Genové polymorfizmy a koronární ateroskleróza..... | 16 |
| 1.7. | Ovlivnění aterosklerotického procesu statiny..... | 17 |
| 1.8. | Regrese aterosklerózy..... | 18 |
| 1.9. | Metody hodnocení aterosklerotického poškození koronárních tepen..... | 20 |
| 1.9.1. | Intravaskulární ultrazvuk (IVUS)..... | 20 |
| 1.9.2. | Virtuální histologie VH..... | 21 |
| 1.9.3. | Hodnocení napětí v cévní stěně (wall shear stress, WSS)..... | 23 |
| 1.10. | Analýza polymorfismů genů..... | 24 |
| 1.10.1. | ENOS..... | 24 |
| 1.10.2. | HO-1..... | 24 |
| 1.11. | Východiska vlastní vědecké práce..... | 25 |
| 1.12. | Metodika vlastní vědecké práce..... | 26 |
| 1.12.1. | Pacienti..... | 26 |
| 1.12.2. | IVUS..... | 26 |
| 1.12.3. | Virtuální histologie..... | 27 |
| 1.12.4. | Laboratorní vyšetření..... | 28 |
| 2. | CÍLE..... | 29 |
| 2.1. | Primární cíl..... | 29 |
| 2.2. | Sekundární cíle..... | 29 |

| | | |
|------|--|----|
| 3. | HYPOTÉZY | 29 |
| 4. | VÝSLEDKY | 30 |
| 4.1. | Pacienti..... | 30 |
| 4.2. | Laboratorní výsledky | 31 |
| 4.3. | Dosažení cílových hodnot..... | 32 |
| 4.4. | IVUS hodnocení..... | 33 |
| 4.5. | Změny ve složení plátů hodnocené pomocí virtuální histologie | 38 |
| 4.6. | Hodnocení napětí cévní stěny | 40 |
| 4.7. | Genetická analýza ENOS polymorfismu | 41 |
| 4.8. | Genetická analýza HO-1 polymorfismu | 41 |
| 4.9. | Bezpečnost agresivní hypolipidemické terapie..... | 42 |
| 5. | DISKUZE | 43 |
| 5.1. | Progrese a regrese aterosklerózy..... | 43 |
| 5.2. | Změny ve složení plátů | 45 |
| 5.3. | Změny prozánětlivých markerů | 46 |
| 5.4. | Polymorfismus v genu pro HO-1 | 47 |
| 5.5. | Polymorfismus v genu pro ENOS..... | 47 |
| 5.6. | Agresivní hypolipidemická terapie | 48 |
| 6. | LIMITACE | 49 |
| 7. | ZÁVĚR | 50 |
| | LITERATURA | 52 |
| | SEZNAM ZKRATEK | 59 |
| | SEZNAM OBRÁZKŮ..... | 60 |
| | SEZNAM TABULEK | 60 |
| | SEZNAM GRAFŮ | 60 |
| | SEZNAM PUBLIKACÍ..... | 61 |
| | PUBLIKACE S IF IN EXTENSO, KTERÉ JSOU PODKLADEM | |
| | DISERTACE | 61 |
| | PUBLIKACE V ČASOPISECH BEZ IF, KTERÉ JSOU PODKLADEM | |
| | DISERTACE | 61 |
| | PUBLIKACE BEZ VZTAHU K TÉMATU DISERTACE S IF..... | 62 |
| | PUBLIKACE BEZ VZTAHU K TÉMATU DISERTACE BEZ IF | 63 |

1. ÚVOD

Ateroskleróza a její komplikace (ischemická choroba srdeční, ischemická choroba dolních končetin, ischemická choroba mozku a ledvin) jsou nejčastější příčinou úmrtí a nemocnosti v průmyslově vyspělých zemích. Náklady na léčbu následků aterosklerózy dosahují astronomické výše. Výzkum aterosklerózy dosáhl výrazných úspěchů při objasňování patofyziologie, kdy jsou velmi přesně popsána jednotlivá stádia vývoje aterosklerózy. Mnohem méně je však prozkoumána regrese aterosklerózy, která byla dlouhou dobu považována za nemožnou. Řada klinických studií s pacienty léčenými statiny prokázala jednoznačný benefit z této léčby ve smyslu snížení mortality a snížení výskytu kardiovaskulárních příhod. Důvody tohoto příznivého ovlivnění klinických důsledků aterosklerózy však nejsou dosud plně vysvětleny. Zjištěné změny velikosti aterosklerotických plátů jsou malé a údajů o změně složení aterosklerotických plátů je jen velmi málo. Studie, která by komplexně hodnotila změny koronární aterosklerózy co do objemu plátů, složení plátů a jejich mechanických vlastností (napětí v plátu) nebyla zatím publikována.

Předkládaná práce je jednoduše zaslepená studie hodnotící změny objemu, složení a mechanických vlastností aterosklerotických plátů hodnocení pomocí nejmodernějších zobrazovacích metod (intravaskulární ultrazvuk – IVUS, virtuální histologie – VH, hodnocení napětí v plátu - WSS) při agresivní duální hypolipidemické léčbě v podobě atorvastatin (80 mg denně) a inhibitor absorpce cholesterolu ezetimib (10 mg denně).

Vedle hodnocení koronární aterosklerózy je ve studii sledován vliv této léčby na hladiny lipidů a prozánětlivých markerů. Dále je ve studii sledován vliv polymorfismů v genech pro endoteliální NO syntázu (ENOS) a hemoxygenázu 1 (HO-1). Jedná se o geny, které hrají významnou roli v aterogenezi a jejich polymorfismus může mít vliv na rozvoj aterosklerózy jako takové, ale zejména na rozvoj destabilizace aterosklerotických plátů s následným rozvojem akutního koronárního syndromu (AKS).

1.1. Přehled vývoje aterosklerózy

Ateroskleróza je chronické cévní onemocnění, které je dnes nejčastější příčinou úmrtí v průmyslově vyspělých zemích. Cévní postižení zasahuje typicky koronární, karotické, pánevní a renální tepny, ale může postihnout jakoukoliv jinou tepnu v těle. Dříve byla ateroskleróza považována za prostou akumulaci lipidů. V současné době je však ateroskleróza vnímána jako zánětlivý proces, který je odpovědí na poškození intimy a následnou endoteliální dysfunkci¹. Ta je způsobena kombinací působení zevních faktorů (arteriální hypertenze, kouření, diabetes mellitus, obezita) a genetické vnímavosti k nim. Sled dějů, který vede k významnému aterosklerotickému postižení je následující:

- 1) endoteliální dysfunkce
- 2) časně, potenciálně reverzibilní, aterosklerotické postižení (typ I-III)
- 3) rozvinuté aterosklerotické postižení (typ IV, V)
- 4) komplikované léze (typ VI)
- 5) chronické léze (typ VII-VIII)

Rozdělení aterosklerózy do jednotlivých morfologických typů je podle klasifikace AHA (American Heart Association)².

1.2. Vývojová stádia aterosklerózy

Od vlastní aterosklerózy je nejprve nutno odlišit adaptivní ztlustění intimy. Lidské koronární artérie fyziologicky obsahují střídavě různě silné segmenty intimy, tyto rozdíly jsou přítomny už od dětství u každého člověka. Zřejmě se vyvíjejí už ve fetálním období jako reakce na různý stupeň napětí cévní stěny v koronárních artériích. Zesílená intima je patrna zejména v blízkosti odstupu větví (naproti odstupující větvi). Tato místa jsou nazývána adaptivní intimální ztlustění, které je složeno ze dvou vrstev. Vnitřní vrstva, přiléhající k endoteliím, obsahuje velké množství proteoglykanu, nacházejí se zde rovněž buňky hladké svaloviny obou typů, jak syntetický typ (bohatý na granulární endoplazmatické retikulum) tak kontrakční typ (bohatý na myofilamenta) a vyskytují se zde také nečetné izolované makrofágy. Zevní vrstva je mnohem silnější, nazývá se muskuloelastická, neboť obsahuje velké množství buněk hladkého svalstva (převážně kontrakčního typu) a elastických vláken. Tato vrstva také obsahuje více kolagenu. Adaptivní ztlustění intimy nikdy samo o sobě neobturuje lumen. Po smrti

dojde ke kolapsu koronárních artérií a tato intimální ztluštění prominují do lumen mnohem více až mohou budít dojem obstrukce. Proto musí být koronární tepny redistendovány na in vivo rozměr, aby nedošlo k záměně těchto fyziologicky přítomných ztluštění intimy a počínající aterosklerózy. Adaptivní intimální ztluštění není ani příčinou ani predispozicí pro ukládání lipidů a rozvoj aterosklerózy v těchto fyziologicky odlišných oblastech intimy³.

1.2.1. Typ I

Tento počáteční typ aterosklerotických lézí nerozšiřuje cévní stěnu. Skládá se jen z mikroskopicky nebo chemicky detekovatelných depozit lipidů v intimě. Nalézáme je u dětí, ale též u dospělých zejména tam, kde je málo zastoupena ateroskleróza nebo v místech, která jsou více odolná proti významnějšímu aterosklerotickému postižení. V histologickém obraze jsou tyto léze složeny z izolovaných skupin makrofágů obsahujících lipidové inkluze (pěnovité buňky), které jsou známkou patologické akumulace LDL lipoproteinů⁴.

1.2.2. Typ II

Tyto léze jsou též označovány jako *tukové proužky*. Jsou viditelné na vnitřním povrchu artérie jako relativně ploché, žluté proužky nebo plošky, které se zbarvují do červena při barvení Sudanem III nebo IV. Typ II již zvyšuje tloušťku intimy, a to méně než o jeden milimetr. Nikdy ale nezmenšuje lumen tepny. Mikroskopicky jsou léze II. typu složeny z pěnovitých buněk, které již vytvářejí vrstvu buněk spíše než jen izolované skupinky, jako je tomu u typu I. Nacházejí se zde také T lymfocyty, ale v menší míře než makrofágy. Je zde také malé množství žírných buněk⁵. Většina lipidů je v této fázi aterosklerózy lokalizovaná intracelulárně: v makrofázích, které se transformují do pěnovitých buněk a v buňkách hladké svaloviny. Malá část lipidů však může být lokalizována v intercelulárních prostorech. Chemicky se jedná především o estery cholesterolu (estery s kyselinou oleovou a linolenovou), neesterifikovaný cholesterol a fosfolipidy. Zda mohou být léze II. typu příčinou symptomů není ještě zcela jasné.

Mezi lézemi II. typu rozlišujeme ještě dvě podskupiny. Léze IIa, které jsou označovány jako léze s tendencí k progresi. Vyskytují se u lidí s rizikovými faktory pro

aterosklerózu a jsou charakterizovány velkým zastoupením pěnovitých buněk v oblastech adaptivního ztluštění intimy. Větší část lézí II. typu je hodnocena jako léze IIb, které neprogredují nebo mají jen malou tendenci k progresi. Tyto léze jsou nazývány jako léze rezistentní k progresi. Zda se budou rozvíjet léze IIa nebo IIb závisí vedle rozsahu rizikových faktorů na působení mechanických sil na cévní stěnu.

1.2.3. Typ III

Jde o přemostující článek mezi minimálními a pokročilými lézemi. Je nazýván též jako *preaterom* nebo jako intermediální léze. Stejně jako typ II mírně zvyšuje tloušťku intimy a nezmenšuje lumen tepny. Histologicky je zde větší zastoupení extracelulárních lipidů, které ale ještě netvoří konzistentní lipidové jádro. Tyto extracelulární lipidy se nalézají pod vrstvou pěnovitých buněk a nahrazují proteoglykany a vazivová vlákna, která se zde za fyziologického stavu vyskytují. Větší množství extracelulární matrix od sebe odtlačuje buňky hladké svaloviny, což odlišuje tyto léze od typu II. Přítomnost lézí III. typu ukazuje na zvýšenou pravděpodobnost výskytu pokročilých aterosklerotických lézí.

1.2.4. Typ IV

V typu IV dochází k formování extracelulárních lipidů do lipidového jádra, které je často ohraničeno kapilárami (více z jeho laterální strany). Tento typ plátu nazýváme *aterom*. Je to první stupeň v rozvoji pokročilých aterosklerotických lézí, neboť vlivem hromadění extracelulárních, převážně lipidových, hmot dochází k disrupci a dezorganizaci arteriální struktury. Typ IV se opět nejčastěji vyskytuje v místě bifurkace, a to na opačné straně než odstupující větev a bývá i těsně za bifurkací. Intima nad lipidovým jádrem je poměrně slabá, větší množství kolagenu se nachází až u typu V.

1.2.5. Typ V

Pátý typ aterosklerotických lézí má na rozdíl od typu IV větší množství kolagenu nad lipidovým jádrem. Tento typ se proto nazývá *fibroaterom*. Kolagen je syntetizován jako reakce na poškozování tkáně narůstajícím množstvím extracelulárních lipidů. I přes zvýšené množství kolagenu jsou fibroateromy náchylné k ruptuře a tvorbě trombu.

Léze V. typu tak přechází na lézi VI. typu. Tímto mechanismem se může odehrát několik přechodů mezi V. a VI. typem, což postupně vede ke zvyšujícímu se množství kolagenu a tím k zužování lumen tepny. Kolagen je ukládán mezi lipidové jádro a lumen a nahrazuje zde proteoglykanovou matrix. Kolagen je produkován především buňkami hladkého svalstva (sekrečního typu). Kapiláry jsou u fibroateromu častější než u ateromu a mohou zde vznikat mikrohemoragie, které dále zvětšují plát a stimulují produkci kolagenu⁶. Lipidy se rovněž mohou hromadit i v přilehlé médii, což vede k dezorganizaci buněk hladkého svalstva v médii. V přilehlé adventicii se mohou hromadit lymfocyty, makrofágy a pěnivé buňky.

1.2.6. Typ VI

Tento typ se také nazývá komplikovaná léze. Je zodpovědný za většinu morbidity a mortality v důsledku koronární aterosklerózy. Je charakterizován přítomností defektu na povrchu aterosklerotického plátu s následným vznikem fisury, eroze nebo ulcerace plátu a rozvojem trombu. Trombus je na povrchu plátu kolonizován buňkami hladkého svalstva a přeměněn na kolagen. Tato přeměna vrací lézi VI zpět k lézi V s tím rozdílem, že je nyní větší. V jiném případě může narůstající trombus zcela vyplnit lumen a vést k úplnému uzavření tepny. Faktory, které přispívají k ruptuře plátu jsou zejména slabá kolagenní „čepička“ přes lipidové jádro, zvýšené napětí cévní stěny, spasmus, proteolytické enzymy uvolňované z makrofágů v plátu⁷ či krvácení do plátu⁶. Vytvoření trombu není ovšem vázáno pouze na rupturu aterosklerotického plátu. Trombus se může vytvořit i na lézích bez povrchového defektu. Rizikové faktory vzniku intraarteriální trombózy jsou zejména: vysoká hladina fibrinogenu⁸ a lipoprotein Lp(a), který inhibuje fibrinolýzu pro svou podobnost s plasminogenem⁹.

1.2.7. Typ VII a VIII

Tyto pokročilé léze neobsahují lipidové jádro ani jiný druh akumulovaných lipidů. Typ VII obsahuje převážně kalcium a léze VIII kolagen. Oba typy lézí reprezentují konečná stádia aterosklerotického procesu. Akumulace kalcia se vyskytuje především v místech po absorbovaných zbytcích nekrotických buněk a extracelulárních lipidů. Velká akumulace lipidů je sama o sobě spojena s ukládáním kolagenu, který v plátu perzistuje i po zmenšení množství lipidů.

1.3. LDL

Zásadní roli v rozvoji aterosklerózy má LDL cholesterol. Cholesterol jako lipofilní látka je transportován v krevní plasmě v částicích zvaných lipoproteiny. Zjednodušeně je můžeme dělit do čtyř kategorií:

- LDL: lipoproteiny transportující cholesterol z jater do periferních tkání
- HDL: lipoproteiny transportující cholesterol z periferních tkání zpět do jater
- VLDL: lipoproteiny obsahující především triacylglyceroly (TAG)
- Chylomikra: objemné částice obsahující převážně triacylglyceroly vytvořené v enterocytech z tuků přijatých v potravě.

LDL částice se dostávají subendoteliálně přes narušené intercelulární spojení endotelií. Subintimálně se váží svým apolipoproteinem B na subendoteliální glykosaminoglykany. Zachycené částice setrvávají v tomto prostoru delší dobu a jsou tak více náchylné k oxidaci volnými kyslíkovými radikály, které jsou produkovány zejména makrofágy¹⁰. Oxidované LDL obsahují biologicky aktivní částice jako je lysofosfatidylcholin, který svým působením na okolní buňky zvyšuje aterogenní působení LDL. Lysofosfatidylcholin zvyšuje expresi adhesivních molekul a zvyšuje produkci růstových faktorů (platelet derived growth factor - PDGF, heparin binding-epidermal GF), což vede ke stimulaci proliferace a migrace buněk hladkého svalstva.

Základní funkce oxidovaných LDL:

- jsou vychytávány přes scavengerové receptory makrofágů, které se tak mění na pěnovité buňky a ve zvýšené míře produkují cytokiny a růstové faktory
- jsou imunogenní, aktivují T lymfocyty i B lymfocyty (což může vést k produkci autoantilátek) a tak podporují rozvoj zánětu v aterosklerotických lézích
- jsou chemotaktické pro monocyty a lymfocyty
- zvyšují produkci IL-1, sérového amyloidu A
- inhibují motilitu makrofágů, které tak v plátech déle setrvávají
- mají přímý cytotoxický efekt na endotelie
- indukují produkci tkáňového faktoru a zvyšují agregaci destiček, což přispívá k větší trombogenicitě endotelu.

Existuje vztah mezi hladinou oxidovaných LDL částic a rizikem vzniku akutního koronárního syndromu. Ehara et al.¹¹ měřili hladinu oxidovaných LDL v plasmě u pacientů s akutním infarktem myokardu, nestabilní anginou pectoris, stabilní anginou pectoris a kontrolní skupinou. Mezi těmito skupinami nebyl signifikantní rozdíl v sérové hladině LDL, ale hladina oxidovaných LDL byla signifikantně nejvyšší u nemocných s akutním infarktem myokardu. Dále byla u pacientů provedena aterektomie „culprit“ léze a získaný vzorek byl vyšetřován na přítomnost oxidovaných LDL částic. Ve vzorcích získaných od pacientů s nestabilní anginou pectoris bylo signifikantně větší zastoupení oxidovaných LDL částic v plátu než u pacientů se stabilní anginou pectoris. LDL lipoproteiny jsou oxidovány i endoteliemi, což je důležitý autoamplifikační faktor v progresi aterosklerózy¹². LDL mohou být také fagocytovány buňkami hladké svaloviny, ze kterých se tak stávají pěnivé buňky.

1.4. Zánět a ateroskleróza

Ateroskleróza je dnes považována za chronické zánětlivé onemocnění. Můžeme zde zachytit fázi infiltrativní s velkým počtem monocytů a lymfocytů, exudativní fázi se zvýšenou produkcí extracelulární matrix a s neovaskularizací, až ke chronickým změnám jakými jsou fibróza a kalcifikace. Nejdůležitějšími buňkami v zánětlivé reakci během rozvoje aterosklerózy jsou monocyty a lymfocyty. Malou měrou se zde účastní také histiocyty a polymorfonukleáry, jejichž úloha v aterogenezi není ještě zcela objasněna. Monocyty v intimě fagocytují přes scavengerové receptory modifikované lipoproteiny a mění se v pěnivé buňky. Makrofágy produkují velké množství růstových faktorů, které stimulují proliferaci a migraci buněk hladkého svalstva. Produkují enzymy, které degradují extracelulární matrix a kolagen. Jedná se o enzymy kolagenáza, gelatináza, stromelysin, metaloproteázy (cystein proteinasa, cathepsin S, cathepsin O)¹³. Oslabení aterosklerotického plátu, především oslabení jeho fibrózní čepičky, vede k ruptuře plátu. Povrchové eroze aterosklerotického plátu odkrývají bazální membránu složenou z koleganu, což je významný stimul k agregaci a aktivaci destiček¹⁴. Časně aterosklerotické léze obsahují lymfocyty, a to převážně lymfocyty T. Z T lymfocytů jsou v časných plátech zastoupeny především CD 8 buňky a v pokročilých plátech převažují CD 4¹⁵. Mezi CD 4 buňkami rozlišujeme ještě dva podtypy: Th1, které ve zvýšené míře produkují interferon gamma stimuluje

makrofágy a Th2, které produkují IL-4 zvyšující produkci IgE protilátek a aktivizují mastocyty.

Důležitou roli v průběhu aterogeneze hrají kromě endoteliálních buněk v koronárních tepnách i endoteliální buňky v drobných cévách vzniklých při neovaskularizaci aterosklerotického plátu. I tyto drobné cévy exprimují adhezivní faktory jako je VCAM-1¹⁶. Protože tyto tepny nemají prekapilární sfinktery, disponují jen omezenou schopností regulace průtoku krve a snadněji dojde ke vzniku krvácení do plátu. To je další z mechanismů, kterým se do plátu dostávají zánětlivé elementy.

1.5. Mechanické vlivy a rozvoj aterosklerózy

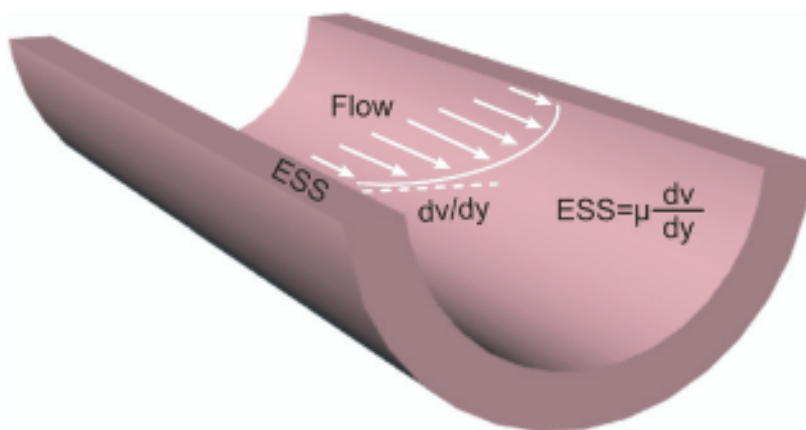
Přestože systémové rizikové faktory, jakými jsou arteriální hypertenze nebo hypercholesterolemie, působí stejně na všechny části koronárního řečiště není postižení koronárních tepen rozloženo rovnoměrně. V koronárním řečišti se vyskytují místa, kde jsou stenózy nalézány častěji než v jiných lokalizacích. Jedná se především o ostia, bifurkace a vnitřní stranu zakřivení tepen. Tato místa se od ostatních musí odlišovat ještě lokálními faktory, aby mohlo k takové situaci dojít. Jedním z hlavních vlivů, které na lokální úrovni hrají důležitou roli je napětí v cévní stěně, tzv. wall shear stress (WSS). Jedná se o tangenciální sílu, která působí na endoteliální buňky prostřednictvím proudění krve. WSS je dán součinem krevní viskozity a gradient rychlostí proudění krve v cévě (Obrázek 1). Je prokázáno, že v oblastech s nízkou úrovní WSS se aterosklerotické pláty vyskytují častěji a mají i více rizikových znaků, např. zastoupení nekrotické složky v plátech¹⁷. Pro výše popsané lokalizace je na lokální úrovni typické, že zde dochází ke změně laminárního proudění na turbulentní. Turbulentní proudění vede k rozpadu původně silného proudění krve a ke snížení WSS. Navíc v místech se zpomalením krevního proudu dochází vlivem Venturiho efektu k podtlaku, který může hrát roli v progresi aterosklerózy.

Dnes již známe i genetický podklad výše popsaných změn. Existují ateroprotektivní geny, jejichž exprese je zvýšena při laminárním proudění. Důkazem je práce, ve které byla sledována exprese tří genů: mangan superoxid dismutázy (MnSOD), cyklooxygenázy-2(Cox 2) a endoteliální NO syntázy (ENOS) in vitro u endotelií, vystavených laminárnímu a turbulentnímu proudění. Tyto tři geny reprezentují základní ateroprotektivní funkce endotelu: antioxidační - MnSOD,

antitrombotickou Cox-2 a vasodilatační (ENOS). Při změně proudění z laminárního na turbulentní došlo k významnému poklesu exprese všech tří genů¹⁸.

Dále bylo prokázáno, že nízký WSS zvyšuje expresi LDL receptorů¹⁹. Expozice endotelií laminárnímu proudění navíc snižuje expresi genu pro VCAM-1²⁰. Endotelie v oblasti s nízkým WSS exprimují více ICAM-1²¹. Situace kolem rizikosti aterosklerotických lézí v oblastech s nízkým WSS však není jasná, neboť Lee et al.²² prokázali, že v místech s vyšším ESS je vyšší aktivita metaloproteáz; enzymů způsobujících degradaci fibrózní čepičky a tím zvýšené riziko ruptury aterosklerotického plátu.

Obrázek 1 Výpočet napětí v cévní stěně



ESS – endothelial shear stress (jiný název pro napětí v cévní stěně), μ viskozita, dv/dy gradient rychlosti krevního proudu v cévě. Obrázek byl převzat z práce Chatzizisis et al.¹⁹

1.6. Genové polymorfizmy a koronární ateroskleróza

Jednu ze zásadních rolí v patofyziologii ACS hraje endotelilální dysfunkce. Prokoagulační a prozánětlivý fenotyp endotelií v kombinaci s vysokým cévním napětím snadno vede k ruptuře aterosklerotického plátu a formování intraluminálního trombu. Výraznou roli v regulaci cévního tonu hraje oxid dusnatý (NO) a v menší míře i oxid uhelnatý (CO). Jejich produkce je ovlivňována enzymy, a to endoteliální syntázou oxidu dusnatého (ENOS) a hemoxygenázou 1 (HO-1). Produktem prvního genu je enzym syntetizující oxid NO, látku s vazodilatačním, antitrombotickým a antiproliferačním působením. V genu ENOS byla popsána řada polymorfizmů s variabilním klinickým dopadem. Extenzivně je studován Glu298Asp polymorfizmus lokalizovaný v 7. exonu genu ENOS. Záměna guanosinu (G) za thymidin (T) v pozici 894 vede ke změně

v aminokyselinové sekvenci proteinu, kdy je glutamát (Glu) nahrazen aspartátem (Asp). U jedinců, kteří jsou homozygoty pro rizikovou alelu (Asp/Asp), bylo v řadě studií popsáno zvýšené riziko rozvoje arteriální hypertenze a koronární aterosklerózy²³.

Enzym HO-1 katalyzuje reakci, při níž je hem degradován na železo, CO a biliverdin, který je posléze přeměněn na bilirubin. Oxid uhelnatý a bilirubin jsou látky s vazodilatačním, antioxidačním, a protizánětlivým působením a těmito mechanismy potlačují aterogenezi. Aktivita tohoto indukibilního enzymu je ovlivněna počtem dinukleotidových motivů guanosin-thymidin (GT) v promotoru genu. S narůstajícím počtem opakování tohoto dinukleotidu klesá transkripce genu a tím i enzymatická aktivita. V řadě prací byla popsána pozitivní korelace mezi počtem dinukleotidových repetitiv a rizikem rozvoje nemocí, v jejichž patogenezi hraje roli oxidativní stres, včetně ischemické choroby srdeční²⁴. Naopak varianty genu s nízkým počtem GT opakování reagují na oxidativní stres vyšší transkripční aktivitou a působí tak protektivně proti rozvoji aterosklerózy²⁵.

1.7. Ovlivnění aterosklerotického procesu statiny

Statiny inhibují enzym HMG koenzym A reduktázu, který je klíčový v syntéze cholesterolu (katalyzuje přeměnu HMG CoA na mevalonát). Snížení intracelulární hladiny cholesterolu aktivuje transkripci genu pro syntézu LDL receptoru. Vyšší počet LDL receptorů vede k vyššímu přestupu cholesterolu z plasmy do buněk, čímž se snižuje jeho plasmatická hladina. Zvyšuje se rovněž transkripce genu pro HMG Co A reduktázu, což vede k mírnému snížení efektu statinové terapie prokázanému v klinických studiích.

Předpokládalo se, že statiny budou snižovat pouze hladiny LDL cholesterolu. Simvastatin a atorvastatin jsou však schopny snižovat i hladinu triacylglycerolů^{26,27}. Efekt statinů na snižování triacylglycerolů stoupá s vyšší hladinou TAG. U osob s kombinovanou hyperlipidémií, kde jsou TAG zvýšeny jen mírně, statiny snižují mnohem více LDL než TAG. U osob s vysokou hladinou LDL i TAG, je snižování TAG srovnatelné se snižováním plasmatického cholesterolu. Tento jev je vysvětlován tím, že tyto statiny snižují sekreci VLDL snížením dostupnosti cholesterolu a cholesterolových esterů pro syntézu lipoproteinů. Druhým vysvětlením je fakt, že zvýšením exprese LDL receptorů dochází rovněž ke zvýšení katabolismu VLDL částic přes tyto receptory, a to zejména tzv. remnantních částic (vzniklých při metabolismu

VLDL) bohatých na cholesterol. Je totiž prokázáno, že pacienti s hypertriglyceridemií mají ve VLDL částicích vyšší výskyt apo E, který se tak může vázat na LDL receptory²⁸. Dalším zajímavým jevem pro terapii statiny je zvýšení HDL cholesterolu, většinou o 5-10%, pro tento jev zatím není uspokojivé vysvětlení. Jako možné vysvětlení se uvádí stimulace sekrece apolipoproteinu A-1 a tím i větší produkce HDL, další příčinou může být zvýšený efflux cholesterolu z buněk do HDL pro zvýšenou tvorbu ABC-A1 transportního proteinu²⁹.

Hladina cholesterolu je dána nejen jeho syntézou v játrech, ale také perorálním příjmem z potravy. Tuto cestou lze selektivně inhibovat ezetimibem. Hovoříme pak o duální inhibici cholesterolu. Kombinace statin+ezetimib účinně snižuje hladiny cholesterolu a vzhledem k prakticky nulovým nežádoucím účinkům ezetimibu se jedná o šetrnější terapii než zvyšování dávek statinů. Na druhou stranu zatím neexistuje žádná studie, která by prokázala navození regrese aterosklerózy při léčbě ezetimibem a neexistuje žádná klinická studie, která by prokázala jeho pozitivní efekt na mortalitu či výskyt kardiovaskulárních příhod, jako je to prokázáno pro statiny.

1.8. Regrese aterosklerózy

Dlouhou dobu byla ateroskleróza považována za irreverzibilní proces, který je možno životoprávou a medikamentózní terapií zpomalit a v ideálním případě zastavit, ale již vytvořené léze byly považovány za trvalé. Postupem času bylo prokázáno, že je aterosklerotický proces více dynamický.

Počátky aterosklerózy jsou detekovatelné již prenatálně. U plodů ve stáří šesti měsíců jsou nalézány tukové proužky v aortě, častěji u matek s hypercholesterolemíí³⁰. Tukové proužky v aortě a koronárních tepnách jsou rovněž nalézány u dětí v prvním roce života. Tyto změny ustupují do věku 4 let. Tukové proužky mají zřejmě vztah ke kojení, protože po přechodu na jinou stranu prokazatelně regredují. Stále není jasné, zda jde o počátky rozvoje aterosklerotického postižení, nebo jen fyziologický jev bez vztahu k pozdějšímu rozvoji aterosklerózy³¹.

Studie na non humánních primátech prokázaly, že po prolongovaném příjmu cholesterolu je v koronárních arteriích přítomno 3x více kolagenu, 4x více elastinu a 7x více cholesterolu, a to převážně esterifikovaného³². Estery cholesterolu jsou v aterosklerotickém plátu akumulovány v pěnovitých buňkách. Po 24-30 měsících podléhají tyto buňky nekróze a cholesterolové estery precipitují v bazální části intimy.

Když je navozena změna stravovacího režimu na vegetariánskou stravu, normalizují se hladiny sérových lipidů a dochází i ke změnám v aterosklerotických plátech. Snižuje se množství kolagenu o 20%, elastinu o 50% a cholesterolu o 60%. Krystaly cholesterolových esterů jsou však již dosti rezistentní a dlouho v aterosklerotickém plátu přetrvávají i přes výše uvedené změny³³.

Klinické studie sledující ovlivnění aterosklerózy jsou prováděny převážně se statiny. Lze je rozdělit na studie, které hodnotí klinický stav (úmrtí, nefatální IM, počet hospitalizací, nutnost revaskularizace, zhoršení obtíží) a studie hodnotící morfologické změny aterosklerotických plátů pomocí angiografie nebo intravaskulárního ultrazvuku (IVUS). Výsledky obou typů studií se dobře vzájemně doplňují, protože byla prokázána korelace progresu koronární aterosklerózy a výskytu koronárních příhod³⁴.

Angiografické studie se statiny prokázaly zpomalení progresu aterosklerózy. Ovšem angiografie nezobrazuje vlastní aterosklerotický plát, ale jen lumen naplněné kontrastní látkou. Angiografické hodnocení regrese aterosklerotických plátů je proto jen nepřímé a nepřesné.

Intravaskulární ultrazvuk překonává všechny výše zmiňované omezení angiografie. Zobrazuje přesné rozměry lumen, tepny a aterosklerotických plátů. Studií s intravaskulárním ultrazvukem je výrazně méně než angiografických studií. Podařilo se však při nich prokázat, že regresi aterosklerózy lze zaznamenat. Jednalo se zejména o studie s vysoko dávkovanými statiny³⁵⁻³⁹.

Velmi málo je známo o změně složení plátů při hypolipidemické terapii. Jedná se ale o velmi důležitou informaci, neboť zmenšení plátů v uvedených studiích je malé (1-5%). Na druhou stranou klinické efekty statinové terapie jsou velmi výrazné. Tato diskrepance se vysvětluje právě změnou charakteru aterosklerotických plátů, jejich tak zvanou stabilizací. Zatím však jednoznačné údaje o příznivém vlivu statinů na složení aterosklerotických plátů chybí, nebo jsou dokonce výsledky negativní. Např. ve studii IBIS-2⁴⁰ bylo prokázán pokračující nárůst nekrotické tkáně v plátech i přes podávané statiny. V současné době je ve fázi klinického zkoušení nový lék, který jako první prokazatelně zastavuje tvorbu nekrotické tkáně v plátech. Jedná se o darapladib, inhibitor s lipoproteiny asociované fosfolipázy A2 (LpPLA2).

1.9. Metody hodnocení aterosklerotického postižení koronárních tepen

1.9.1. Intravaskulární ultrazvuk (IVUS)

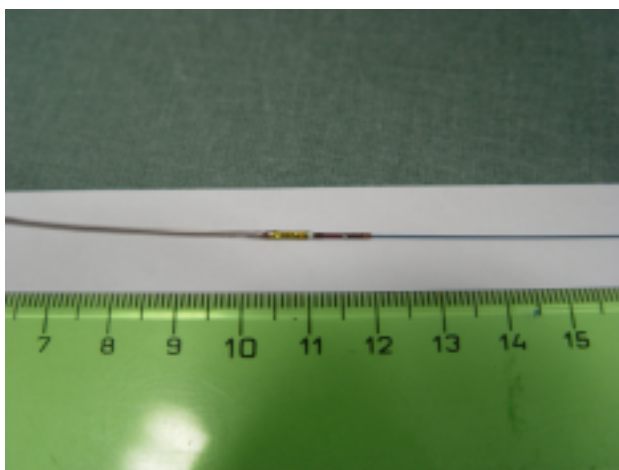
IVUS je vyšetřovací metoda umožňující zobrazení lumen tepny i cévní stěny (Obrázek 2). K vyšetření se používá miniaturizovaná ultrazvuková sonda (2,9 F, tedy méně než 1 mm) s frekvencí 10–40 MHz. Dnes při používání katétrů, které v jedné době vytvářejí i obraz virtuální histologie (viz níže) se používají katétry s frekvencí 20 MHz (Obrázek 3). Pro podrobnější zobrazení plátů je možno použít katétry s frekvencí 40 MHz. Při vyšetření intravaskulárním ultrazvukem je do periferie vyšetřované tepny je zaveden standardní PTCA vodič (0,014") a po něm je zaveden ultrazvukový katétr (Obrázek 4). Poté je ultrazvukový katétr kontinuální rychlostí stahován zpět k ústí koronární tepny a současně je registrován ultrazvukový obraz. Kontinuální rychlost je zaručena použitím tzv. motorizovaného „pullbacku“. Jde o malé přídatné zařízení vytahující ultrazvukový katétr z tepny rychlostí 0,5 mm/s nebo 1,0 mm/s.

Korelaci histologických a ultrazvukových nálezů u všech typů tepen provedla řada autorů, včetně hodnocení kvantitativního. Kvantitativní hodnocení průměrů i ploch lumen, stejně jako tloušťky stěny tepen, prokázaly výbornou korelaci s měřením anatomických vzorků⁴¹.

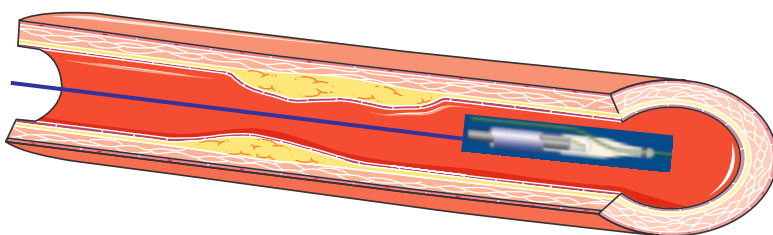
Obrázek 2 IVUS zobrazení fibrokalciifikovaného plátu



Obrázek 3 Sonda pro intravaskulární ultrazvuk na intrakoronárním vodiči



Obrázek 4 Schéma IVUS sondy v koronární tepně



1.9.2. Virtuální histologie VH

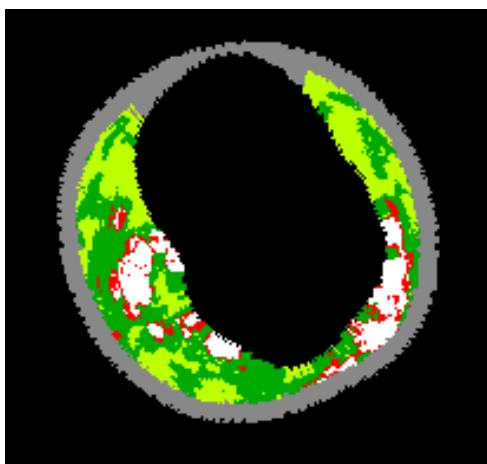
VH není novou metodou ve vlastním slova smyslu. Jedná se o nové zpracování signálu získaného při provádění intravaskulárního ultrazvuku. Při vytváření obrazu intravaskulárního ultrazvuku je hodnocena, jako u všech běžných ultrazvukových vyšetření, amplituda odraženého ultrazvukového signálu. Vysoké amplituda je kódována do bílé barvy a nízká amplituda signálu do tmavé barvy. Vzniká tak známý černobílý obraz. Bylo však prokázáno, že frekvence odraženého signálu je specifická pro tkáň, od které se ultrazvuk odrazil. Na základě mravenčí práce při analyzování tisíců histologických řezů a jejich srovnáním se získanými frekvencemi ultrazvukového signálu byla vytvořena databáze, podle které systém přiřazuje získaný signál do čtyřech kategorií (fibrotická tkáň, fibrolipidová, nekrotická a kalcifikace, obrázek 5). Informace o složení plátu lze přenést i na 3D rekonstrukci koronární tepny, která je vytvořena fúzí angiografického a IVUS zobrazení (obrázek 6). Sensitivita a specifická hodnocení jednotlivých složek plátu je přes 90%⁴². Rekonstrukce obrazu při virtuální histologii

bohužel nehodnotí celý záznam získaný při intravaskulárním ultrazvuku. Jsou analyzovány pouze segmenty získané v době end-diastoly (v době R kmitu na EKG), což je dáno technickou limitací softwaru. Z tohoto důvodu nelze provést virtuální histologii libovolného transverzálního řezu získaného při intravaskulárním ultrazvuku. Toto omezení je menší u pacientů s tachykardií, u kterých je zachyceno více end-diastol na daný úsek tepny.

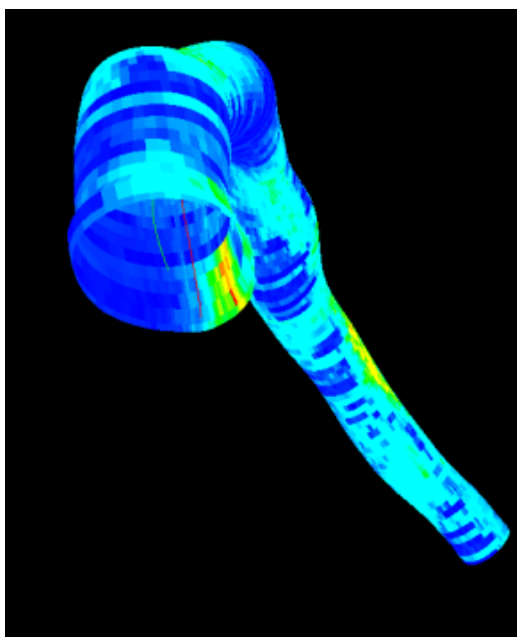
Jedním ze zajímavých nálezů VH je souvislost akutních koronárních syndromů a kalcifikací v plátu. V souladu s tradičním dělením vývoje aterosklerotických lézí patří kalcifikované léze na poslední stupeň vývoje plátu. Plát, který se dostal ve svém vývoji přes stádium komplikovaných lézí je maturovaný a je v něm deponováno kalcium. Víme, že se vzrůstajícím objemem plátu roste i množství kalcifikací v něm obsažených⁴³. Pomocí virtuální histologie bylo prokázáno, že v místě výskytu nekrotických částí plátu se vyskytují mikrokalcifikace, které tak nepřímou ukázkou na přítomnost nekrózy v plátu. Rovněž u rizikových lézí typu fibroaterom s tenkou fibrózní čepičkou (TCFA) jsou kalcifikace častější než v non-TCFA lézích⁴⁴. TCFA je typem plátu, který se vyskytuje častěji u nemocných s akutním koronárním syndromem než u stabilních forem ICHS a je častější v proximálních 40 mm všech tří koronárních artérií⁴⁵. Kalcifikace tedy nejsou jen projevem maturace lézí, ale jsou důležitou součástí nejvíce rizikových lézí, kde zřejmě přispívají k menší deformabilitě plátu a tím zvyšují riziko jeho ruptury.

Nedostatkem virtuální histologie je nemožnost hodnocení přítomnosti trombu. Neexistují zatím specifické frekvence, které by umožňovaly dostatečně přesně odlišit trombus od ostatních tkání.

Obrázek 5 Příklad zobrazení virtuální histologie



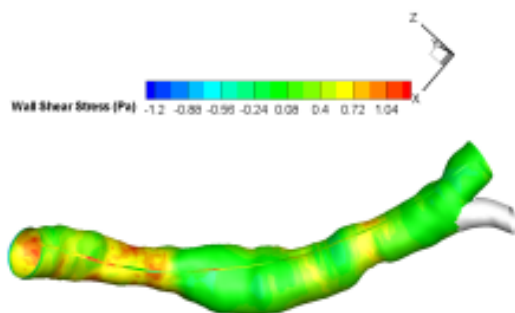
Obrázek 6 Analýza množství nekrotické tkáně na 3D rekonstrukci koronární tepny



1.9.3. Hodnocení napětí v cévní stěně (wall shear stress, WSS)

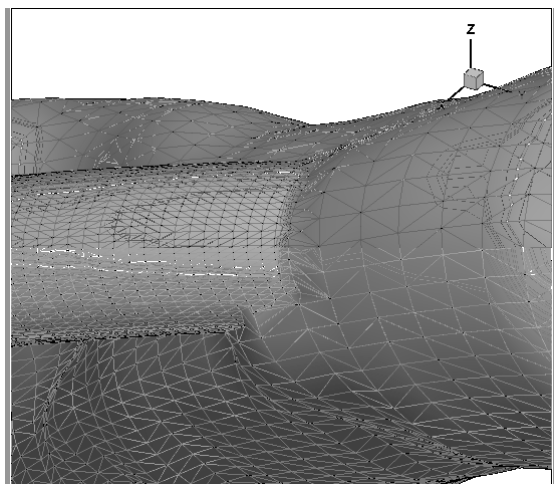
Napětí v cévní stěně je hodnoceno po zhotovení 3D rekonstrukce fúzí angiografického obrazu a intravaskulárního ultrazvuku. V tomto modelu se hodnotí rychlost průtoku kontrastní látky v jednotlivých definovaných segmentech a napětí v cévní stěně se počítá podle gradientu rychlosti průtoku krve v cévě (Obrázek 7). WSS je možno počítat i ve složitější 3D rekonstrukci (Obrázek 8). V naší práci nepočítáme přímo velikost WSS, ale jeho relativní rozdíly v jednotlivých částech tepny⁴⁶.

Obrázek 7 Příklad měření WSS



Hodnoty WSS jsou superimponovány na 3D rekonstrukci tepny, která je výsledkem fúze angiografického a IVUS zobrazení.

Obrázek 8 3D rekonstrukce odstupu postranní větve



Síťovitá struktura je ukázkou jednotlivých segmentů, ve kterých je počítáno napětí cévní stěny.

1.10. Analýza polymorfismů genů

1.10.1. ENOS

DNA byla izolována standardním způsobem z leukocytů periferní krve. Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) byl amplifikován exon 7 genu pro ENOS. Amplifikace byla provedena přístrojem MJ Research DYAD 220 Peltier Thermal Cycler (Conquer Scientific). Pro PCR byl použit primer ENOS7-sens, 5'-GAG ATG AAG GCA GGA GAC AGT-3'; reverzní primer ENOS7-anti, 5'-TCC ATC CCA CCC AGT CAA T-3'. Restrikční analýza byla provedena za použití tří jednotek *Mbo*I restrikčního enzymu (Promega, Madison, WI) na 12 hodin při teplotě 37°C. Restrikční fragmenty byly elektroforeticky separovány v 3.8% agarózovém gelu. Analýza produktů byla provedena po podání ethidium bromidu. GG (Glu/Glu) varianta byla hodnocena jako protektivní, zatímco varianty GT (Glu/Asp) a TT (Asp/Asp) jako rizikové⁴⁷.

1.10.2. HO-1

DNA byla izolována standardním způsobem z leukocytů periferní krve. Pomocí PCR byla amplifikována oblast promotoru genu HO-1, která obsahuje dinukleotidové motivy guanosin, thymidin (GT). K této reakci byl použit fluorescentní primer HMOX1_S 5-AGAGCCTGCAGCTTCTCAGA-3) a antisepse primer (HMOX1_AS 5-ACAAAGTCTGGCCATAGGAC-3). Amplifikace produktů PCR byla provedena za

pomoci Dyad thermocycler (BIO-RAD, USA) a DNA byla sekvenována použitím Li-cor 4200 (LI-COR Biosciences, USA) and ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Alely byly rozděleny podle počtu GT opakování na krátké (S) s méně než 25 opakováními GT motivu a dlouhé (L) s více než 25 opakováními²⁴. Homozygoti SS a heterozygoti SL byli považováni za protektivní variantu zatímco homozygoti LL za rizikovou²⁵.

1.11. Východiska vlastní vědecké práce

Výše uvedené studie se statiny prokázaly, že při agresivní hypolipidemické terapii může být navozena regrese aterosklerotických plátů. Nalezené změny objemu plátů jsou však jen malé a není jasné, zda toto snížení skutečně zodpovídá za příznivý efekt statinů prokázaný v řadě klinických studií hodnotících vliv statinů na výskyt kardiovaskulárních příhod u pacientů s vysokým, ale i s nízkým rizikem. Jednou z velmi diskutovaných otázek, která tuto diskrepanci může vysvětlit, je tak zvaná stabilizace plátů. Jedná se o změny biologických a zřejmě i mechanických vlastností plátů, které vedou ke snížení rizika vzniku ruptury plátu a následného rozvoje akutního koronárního syndromu.

Studií provedených na toto téma je velmi málo a přinášejí rozporuplné údaje. Nasu et al.⁴⁸ demonstrovali regresi aterosklerotických plátů se signifikantní redukcí fibrolipidové tkáně, na druhou stranu ve studii IBIS-2⁴⁰ byla popsána progresse nekrotické tkáně a reciproční pokles fibrózní a fibrolipidové tkáně.

Ještě mnohem více nejasností je v hodnocení vlivu mechanických faktorů v rozvoji akutního koronárního syndromu. Všeobecně přijímaným faktem je, že v místech s nízkým ESS dochází k nárůstu aterosklerotických plátů. Ovšem rizikové faktory destabilizace plátu se nacházejí jak v oblastech s nízkým tak i vysokým ESS (viz kapitola 3.4).

Cílem této studie je alespoň částečně zodpovědět některé z těchto nejasností a přispět tak k většímu pochopení rozvoje aterosklerózy a zejména rozvoje AKS. Jedná se především o změny objemu, složení a mechanických vlastností aterosklerotických plátů při agresivní kombinované hypolipidemické léčbě.

1.12. Metodika vlastní vědecké práce

1.12.1. Pacienti

Do studie byli zařazeni nemocní se stabilní anginou pectoris, kteří tvoří největší procento nemocných s ischemickou chorobou srdeční. Vstupním kritériem byla stenóza na koronární tepně, která nebyla indikovaná k provedení perkutánní či chirurgické intervence. Pacienti byli randomizováni v poměru 1:1 k agresivní léčbě atorvastatin 80 mg + ezetimib 10 mg (skupina A) versus standardní léčbě (skupina S). Ve skupině S byla pacientům ponechána léčba, kterou měli zavedenu od svých praktických lékařů. Pacienti, kteří v době randomizace nebyli statiny léčení začali užívat atorvastatin v dávce 10 mg denně. Doba podávání této medikace byla jeden rok, během kterého byly provedeny ambulantní kontroly ve třetím, šestém a devátém týdnu s kontrolním biochemickým vyšetřením. Za 12 měsíců byli nemocní pozváni ke kontrolní hospitalizaci, při které byla provedena selektivní koronarografie, intravaskulární ultrazvuk a biochemické vyšetření.

1.12.2. IVUS

U každého nemocného byla vyšetřena jedna nativní koronární artérie (bez předchozí intervence). Na základě IVUS nálezu byl vybrán vhodný segment tepny k hodnocení a provedení virtuální histologie. Jednalo se alespoň o 40% stenózu při angiografickém hodnocení. Vždy bylo hodnoceno minimálně 30 mm tepny.

V souladu s předchozími studii^{35,38} byla provedena tato měření:

1. Procentuální objem plátu (PAV):

$$[\Sigma(\text{EEM}_{\text{CSA}} - \text{Lumen}_{\text{CSA}}) / \Sigma \text{EEM}_{\text{CSA}}] \times 100, \text{ kde:}$$

- EEM_{CSA} je plocha tepny
- $\text{Lumen}_{\text{CSA}}$ je plocha lumen

2. Indexovaný objem plátu (TAVi):

$$\Sigma(\text{EEM}_{\text{CSA}} - \text{Lumen}_{\text{CSA}}) / \text{délka plátu}$$

3. Objem lumen (LV):

$$\Sigma \text{Lumen}_{\text{CSA}}$$

4. Objem tepny (VV):

$$\Sigma \text{EEM}_{\text{CSA}}$$

5. Kombinovaná regrese aterosklerózy, kterou jsme definovali jako snížení PAV se současným zvětšením objemu lumen tepny.

Změny objemů plátu byly hodnoceny jako:

1. $PAV_{\text{kontrolní}} - PAV_{\text{vstupní}}$
2. $TAVi_{\text{kontrolní}} - TAVi_{\text{vstupní}}$
3. Byla kalkulována relativní změna všech objemů (PAV, TAVi, LV, VV), a to $(PAV_{\text{kontrolní}} - PAV_{\text{vstupní}} / PAV_{\text{vstupní}}) \times 100$ atd.

K poměrně netradiční definici kombinované regrese jsme se rozhodli proto, abychom jako regresi aterosklerózy nehodnotili zmenšení objemu plátu na základě negativní remodelace (zmenšení objemu tepny i objemu lumen vede ve výše uvedeném vzorci ke zmenšení objemu plátu). Např. Nicholls et al.⁴⁹ ve své práci popisují, že změna objemu plátu silně koreluje se změnou objemu tepny, Hong et al.⁵⁰ uvádějí, že v jejich studii sledující změny aterosklerotických plátů při léčbě statiny (simvastatin vs. rosuvastatin) došlo při zmenšení objemu plátu rovněž k signifikantnímu zmenšení tepny i lumen. Sipahi et al.⁵¹ popisují paradoxní zvětšení lumen při progresi aterosklerotických plátů. Dalším důvodem je, že nejdůležitějším parametrem pro perfúzi myokardu je plocha lumen, proto je zvětšení lumen v definici regrese aterosklerózy.

I přes maximální snahu o stejné podmínky během vstupního i výstupního vyšetření a přesnou identifikaci orientačních bodů pro daný segment koronární tepny byl rozdíl v délce vyšetřovaných segmentů 10%, což je ve shodě s předchozími studii. Nejspíše je to dáno rozdílnou polohou intrakoronárního vodiče v tepně. Z tohoto důvodu jsme všechny měřené objemy přepočítali u každého pacienta na průměrnou délku vyšetřovaného segmentu (průměr ze vstupního a výstupního hodnocení).

1.12.3. Virtuální histologie

VH byla provedena ve stejném segmentu tepny jako měření intravaskulárním ultrazvukem a byly hodnoceny následující parametry:

1. relativní složení vyšetřovaného plátu v %
2. absolutní složení vyšetřovaného plátu v mm^3

1.12.4. Laboratorní vyšetření

Během vstupního vyšetření, ambulantních kontrol (3, 6 a 9 měsíců po randomizaci) a kontrolní hospitalizaci po 12 měsících byla provedena rutinní biochemická hodnocení:

- lipidogram (celkový cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, triacylglyceridy, Apolipoprotein B₁₀₀, Apolipoprotein A₁)
- z hodnoty lipidů byly počítány hodnoty: LDL-HDL a non HDL cholesterol (celk. cholesterol-HDL cholesterol)
- celková kreatinkináza (CK)
- aminotransferázy (ALT, AST).

Dále byly během vstupní a kontrolní hospitalizace vyšetřeny:

- adhezivní molekuly (ICAM, VCAM)
- markery zánětu (hsCRP, IL-6, CD40 L, TNF alfa).

Během studie byla odebrána DNA a byly stanoveny genetické polymorfismy pro

- endoteliální syntáza oxidu dusnatého (ENOS) metodou PCR
- hemoxygenázy 1. typu (HO-1) metodou PCR.

2. CÍLE

2.1. Primární cíl

Prokázat změny ve složení aterosklerotických plátů během agresivní hypolipidemické terapie.

2.2. Sekundární cíle

1. zhodnotit změny v objemu aterosklerotických plátů
2. zhodnotit změnu objemu lumen v plátech
3. analýza změn hladin známek zánětu a endoteliální dysfunkce u nemocných při agresivní léčbě
4. analýza vlivu polymorfismu v genech pro ENOS a HO-1 na vývoj aterosklerotických plátů a jejich rizikového profilu
5. zhodnocení korelací mezi změnami velikosti / složení aterosklerotických plátů a velikostí napětí cévní stěny.

3. HYPOTÉZY

- a) Agresivní duální hypolipidemická léčba povede k zastavení nepříznivého vývoje ve složení aterosklerotických plátů, a to ve smyslu zastavení přeměny fibrózní a fibrolipidové tkáně v nekrotickou s kalcifikacemi.
- b) Agresivní duální hypolipidemická léčba povede ke zmenšení objemu aterosklerotických plátů a častějšímu výskytu kombinované regrese (zmenšení objemu plátů v kombinaci se zvětšením objemu lumen).
- c) Agresivní duální hypolipidemická léčba povede ke snížení hladin prozánětlivých markerů.
- d) Polymorfismy v ENOS a HO-1 genech budou mít vztah k rozsahu aterosklerotického poškození a k rizikovosti složení plátů a jeho změn v průběhu terapie.
- e) Agresivní duální hypolipidemická léčba povede ke změnám ve složení napětí v plátu.
- f) Agresivní duální hypolipidemická léčba nebude zvyšovat výskyt nežádoucích účinků, zejména myopatie a jaterní toxicity.

4. VÝSLEDKY

4.1. Pacienti

Od listopadu 2005 do dubna 2009 bylo do studie zařazeno 107 pacientů. Ke kontrolní hospitalizaci se dostavilo 98 z nich. Kompletní analýza dat z intravaskulárního ultrazvuku a virtuální histologie byla provedena u 89 nemocných. Data od 9 pacientů byla pro nedostatečnou technickou kvalitu nevhodná k finální analýze. Genetická analýza byla provedena u 71 nemocných. Demografická data jsou shrnuta v Tabulce 1. Více než polovina nemocných (55, t.j. 61,8%) užívala statiny již před vstupem do studie: fluvastatin 80 mg – 7 pacientů, atorvastatin 10 mg – 10 pacientů, atorvastatin 20 mg - 16 pacientů, atorvastatin 40 mg – 9 pacientů, simvastatin 20 mg - 12 pacientů, ezetimib – 1 pacient.

Tabulka 1 Charakteristika souboru

| | Skupina A (42 pacientů) | Skupina S (47 pacientů) | p |
|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------|
| Ženy | 9 (21,4%) | 16 (34 %) | 0,18 |
| Věk | 63,5±9,3 | 65,1±10,6 | 0,51 |
| Rodinná anamnéza ICHS | 22 (53,7%) | 20 (42,6%) | 0,3 |
| Arteriální hypertenze | 33 (80,5%) | 40 (85,1%) | 0,57 |
| DM | 12 (29,3%) | 13 (27,7%) | 0,87 |
| HLP | 30 (73,2%) | 34 (72,3%) | 0,93 |
| Kuřáci | 28 (68,3%) | 29 (61,7) | 0,52 |
| Předchozí IM | 20 (48,8%) | 18 (38,3%) | 0,32 |
| Pacienti neléčení statiny | 18 (43,9%) | 16 (34%) | 0,34 |
| Betablokátory | 29 (70,7%) | 33 (70,2%) | 0,96 |
| ACEI | 27 (65,9%) | 35 (74,5%) | 0,38 |

Zkratky: DM – diabetes mellitus, HLP – hyperlipoproteinémie, IM – infarkt myokardu, ACEI – inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu, ICHS – ischemická choroba srdeční

4.2. Laboratorní výsledky

V agresivně léčené skupině došlo k významnému poklesu celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a počítaných parametrů LDL-HDL a non HDL cholesterolu. Všechny hladiny lipidů jsou shrnuty v Tabulce 2.

Tabulka 2 Lipidogram

| | Skupina A | Skupina S | p |
|----------------------------|--------------|-------------|----------|
| Vstupní vyšetření | | | |
| Cholesterol mmol/l | 5,0 ± 1,5 | 4,6 ± 0,9 | 0,08 |
| LDLc mmol/l | 3,1 ± 1,3 | 2,7 ± 0,8 | 0,17 |
| HDLc mmol/l | 1,2 ± 0,5 | 1,2 ± 0,3 | 0,3 |
| TAG mmol/l | 1,7 ± 0,9 | 1,4 ± 0,8 | 0,09 |
| Apolipoprotein A1 mmol/l | 1,2 ± 0,2 | 1,2±0,2 | 0,68 |
| Apolipoprotein B100 mmol/l | 1,0 ± 0,3 | 0,9±0,2 | 0,37 |
| LDLc-HDLc mmol/l | 1,8 ± 1,4 | 1,6±0,7 | 0,44 |
| nonHDLc mmol/l | 3,7 ± 1,6 | 3,4±0,8 | 0,31 |
| Kontrolní vyšetření | | | |
| Cholesterol mmol/l | 3,45±1,18 | 4,13±1,07 | 0,008 |
| LDLc mmol/l | 1,98±0,78 | 2,58±0,78 | 0,0003 |
| HDLc mmol/l | 1,21±0,31 | 1,11±0,26 | 0,10 |
| TAG mmol/l | 1,19±0,9 | 1,32±0,8 | 0,48 |
| Apolipoprotein A1 mmol/l | 1,26±0,19 | 1,22±0,2 | 0,49 |
| Apolipoprotein B100 mmol/l | 0,72±0,29 | 0,81±0,17 | 0,13 |
| LDLc-HDLc mmol/l | 0,7±0,8 | 1,5±0,8 | < 0,0001 |
| Non HDLc mmol/l | 2,2±1,2 | 3,0±1,0 | 0,0009 |
| Změna hodnot v % | | | |
| Cholesterol | -27,4 ±24,7% | -8,0±23,9% | 0,0003 |
| LDLc | -28,6±33,8% | -1,9±29,8% | 0,0002 |
| HDLc | 4,5±40,5% | - 1,3±20,1% | 0,39 |
| TAG | -28,6±33,8% | 1,9±29,8% | 0,0002 |
| Apolipoprotein A1 | 28,0±30,9% | 22,3±35,9% | 0,49 |
| Apolipoprotein B100 | -5,8±32,9% | 7,4±22,1% | 0,06 |
| LDLc-HDLc mmol/l | -51,0±95,2% | 4,4±28,3% | 0,0012 |
| Non HDLc mmol/l | -32,3±47,0% | -9,2±31,6% | 0,0074 |

Z prozánětlivých markerů významně poklesla hladina TNF alfa, a to v obou skupinách statisticky významně. Naopak došlo k vzestupu hsCRP a tento vzestup byl ve standardní skupině statisticky významný. Hladiny prozánětlivých markerů a jejich změny jsou popsány v Tabulce 3.

Tabulka 3 Změny sledovaných markerů

| MARKER | RAND | Vstupní vyšetření | | Kontrolní vyš. | | p | Změna | |
|----------|------|-------------------|--------|----------------|--------|--------|-------|-------|
| | | Value | SD | Value | SD | | Value | SD |
| IL-6 | A | 13,24 | 14,15 | 11,42 | 23,35 | 0,68 | -1,6 | 25,2 |
| | S | 20,86 | 23,14 | 12,44 | 14,22 | 0,08 | -6,1 | 21,0 |
| | p | 0,09 | | 0,83 | | | 0,37 | |
| VCAM | A | 810,55 | 298,98 | 762,23 | 263,13 | 0,46 | -61,9 | 250,4 |
| | S | 760,32 | 239,53 | 763,35 | 174,51 | 0,95 | -14,0 | 199,4 |
| | p | 0,44 | | 0,98 | | | 0,32 | |
| ICAM | A | 357,11 | 156,53 | 319,11 | 129,37 | 0,26 | -40,2 | 140,2 |
| | S | 295,19 | 112,23 | 278,81 | 95,88 | 0,52 | -17,8 | 114,5 |
| | p | 0,06 | | 0,15 | | | 0,39 | |
| TNF alfa | A | 10,79 | 6,38 | 5,47 | 4,65 | <0,001 | -4,9 | 7,7 |
| | S | 9,01 | 6,58 | 5,31 | 4,82 | 0,01 | -2,8 | 6,1 |
| | p | 0,25 | | 0,89 | | | 0,14 | |
| CD40L | A | 10,01 | 5,26 | 9,24 | 3,55 | 0,46 | -0,9 | 4,3 |
| | S | 9,01 | 4,33 | 8,92 | 3,68 | 0,93 | -0,3 | 4,3 |
| | p | 0,39 | | 0,71 | | | 0,49 | |
| hsCRP | A | 4,18 | 3,19 | 5,05 | 4,57 | 0,32 | 0,87 | 5,8 |
| | S | 5,33 | 6,42 | 7,37 | 5,33 | 0,17 | 2,04 | 7,3 |
| | p | 0,32 | | 0,048 | | | 0,45 | |

4.3. Dosažení cílových hodnot

Ve studii jsme testovali vliv dosažení doporučených cílových hodnot lipidů a hsCRP pro nemocné s ICHS na vývoj aterosklerózy. Jednalo se o hladiny LDL 2,6 mmol/l a 2 mmol/l, pro hsCRP 2 mg/l. Cílové hladiny LDL cholesterolu menší než 2,6 mmol/l dosáhlo 33 nemocných (80,5%) ve skupině A a 28 nemocných (57,5%) ve skupině S, což bylo statisticky významné ($p=0,02$). Kombinace hladiny LDL menší než 2,6 mmol/l a hsCRP menší než 2 mg/l byla nalezena u 16 (40%) nemocných ve skupině A ve srovnání s 5 nemocnými (14,7%) ve skupině S. Tento rozdíl byl rovněž statisticky

významný ($p=0,016$). Hladiny LDL méně než 2 mmol/l se podařilo dosáhnout statisticky významně častěji ve skupině A (26 nemocných, tj. 61,9%) než ve skupině S (12 nemocných, tj. 25,5%), ($p=0,005$). Kombinovaný cíl LDL méně než 2 mmol/l a hsCRP méně než 2 mg/l byl nalezen častěji ve skupině A (12 nemocných, tj. 30%) ve srovnání se skupinou S (4 nemocní, t.j. 11,8%). Tento rozdíl byl na hranici statistické významnosti ($p=0,06$). Hodnota hsCRP méně než 2 mg/l byla častější u pacientů ve skupině A, 18 nemocných (43,9%) než ve skupině S, 7 nemocných (21,2%), což bylo statisticky významné ($p=0,04$).

4.4. IVUS hodnocení

Průměrná délka plátů byla v obou skupinách velmi podobná, při vstupním vyšetření 45,7±20,9 mm (skupina A) a 48,4±10,9 mm (skupina S), $p=0,49$ i výstupním vyšetření 46,1±20,4 mm (skupina A) a 47,2±15,6 mm (skupina B), $p=0,78$.

Během výstupního vyšetření jsme našli ve skupině A zvýšení objemu lumen, zmenšení objemu tepen a objemů plátů ve srovnání se zmenšením objemu lumen i tepen a zvětšením objemu plátů ve skupině S. Změny PAV byly statisticky významné (Tabulka 4). Rovněž jsme hodnotili relativní změny jednotlivých parametrů, které jsou vyjádřeny v grafu 1. Regrese aterosklerózy byla nalezena významně častěji ve skupině A, a to u 17 pacientů (40,5%) ve srovnání se sedmi pacienty (14,9%) ve skupině S ($p=0,007$). U pacientů mladších 60 let jsme našli významně větší progresi PAV než u starších nemocných (1,9±4,6% vs. 0,05±2,9%, $p=0,028$). V jiných parametrech jsme nezaznamenali rozdíl mezi těmito dvěma skupinami.

Změny PAV signifikantně korelovaly se změnou LDL cholesterolu, hodnotou HDL cholesterolu během kontrolního vyšetření a rozdílem mezi LDL a HDL cholesterolem během kontrolního vyšetření. Začátek zmenšování PAV byl patrný od snížení LDL cholesterolu o 34%, od hladiny HDL cholesterolu 1,28 mmol/l a více a rozdílu mezi LDL a HDL cholesterolem 0,75 mmol/l a méně, jak je patrné z grafů 2-4. Pacienti, u kterých jsme našli snížení PAV měli vyšší hladinu HDL cholesterolu při kontrolním vyšetření (1,27±0,4 mmol/l vs. 1,1±0,2 mmol/l, $p=0,02$) a menší rozdíl mezi LDL a HDL cholesterolem při kontrolním vyšetření (0,8±0,9 mmol/l vs. 1,24±0,86 mmol/l, $p=0,037$). Změny PAV zajímavě korespondovaly s dosažením různých hladin LDL cholesterolu a hsCRP. Tyto změny však nebyly statisticky významné (Graf 5).

Nalezli jsme pozitivní korelace mezi vstupní hladinou VCAM a vzestupem PAV ($p=0,02$, $r=0,28$), pozitivní korelaci mezi vzestupem VCAM během studie a zvětšením absolutního objemu plátu ($p=0,02$, $r=0,27$) a negativní korelaci mezi vstupní hladinou VCAM a změnou objemu lumen ($p=0,025$, $r=-0,26$). Všechny ostatní vztahy mezi zánětlivými markery a IVUS měřenými objemy nebyly statisticky významné.

Za použití multivariační regresní analýzy jsme prokázali následující prediktory regrese aterosklerózy. Hladina LDL cholesterolu menší než 2 mmol/l, přítomnost jakýchkoliv čtyř z pěti sledovaných rizikových faktorů aterosklerózy (rodinná anamnéza, stav po infarktu myokardu, diabetes mellitus, hyperlipoproteinemie, kouření) a pokles hladiny VCAM během studie byly nezávislými prediktory výskytu regrese aterosklerózy. Detailní výsledky jsou zobrazeny v Grafu 6.

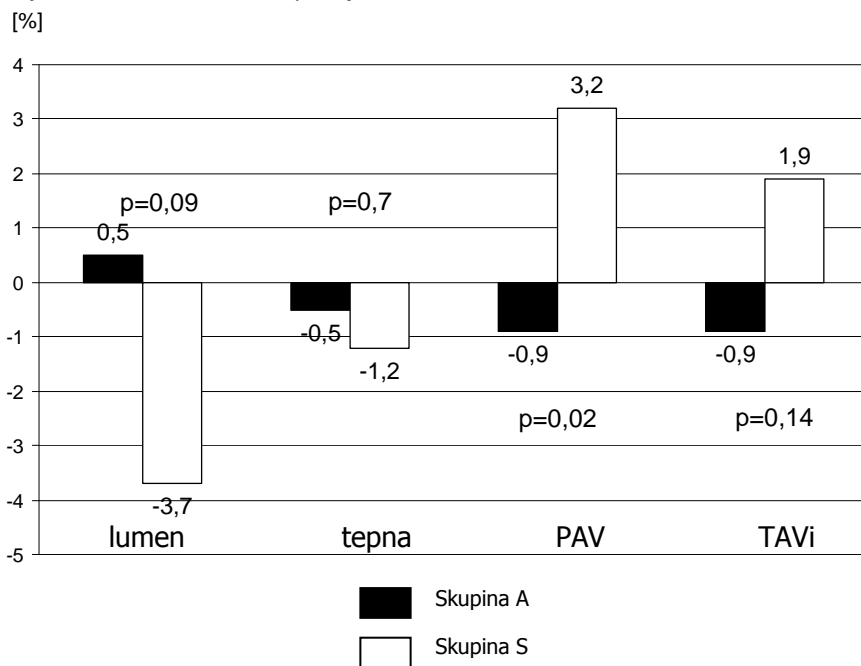
U 10 náhodně vybraných nemocných byla provedena všechna měření plochy tepny a plochy lumen dvakrát z jednoho záznamu, a to ve dvou různých dnech. Výsledky jsou vyjádřeny jako lineární regresní korelační koeficient mezi dvěma měřeními. Všechna vyšetření byla provedena jedním vyšetřujícím a korelační koeficient pro měření plochy tepny byl 0,96 a pro plochu lumen 0,98. Směrodatná odchylka byla pro plochu lumen $0,08 \text{ mm}^2$ ($\pm 0,14 \text{ mm}^2$) a pro plochu tepny $0,25 \text{ mm}^2$ ($\pm 0,42 \text{ mm}^2$).

Tabulka 4 IVUS parametry (rozdíly v objemech mezi BL a FU nebyly stat. významné)

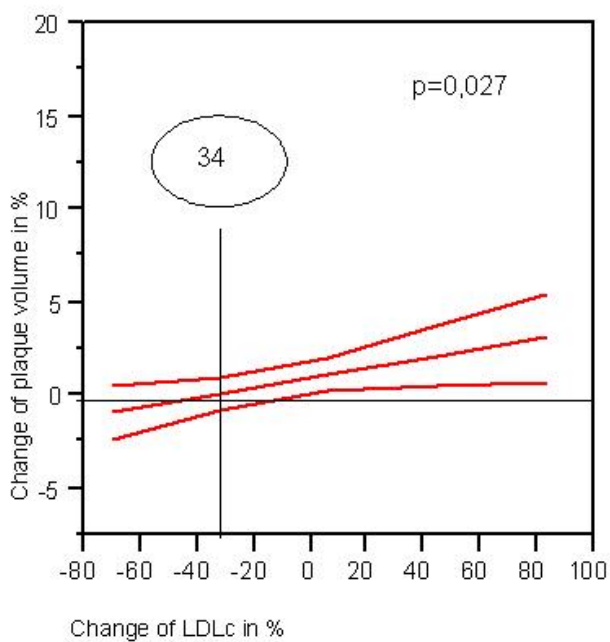
| Objemy | Skupina A | Skupina S | p |
|--|-------------------|-------------------|-------|
| BL Lumen [mm^3] | 468,9 \pm 269,8 | 473,5 \pm 205,4 | 0,93 |
| FU Lumen [mm^3] | 466,8 \pm 258,9 | 462,2 \pm 232,9 | 0,93 |
| Změna lumen [mm^3] | -2,1 \pm 53,3 | -11,4 \pm 70,5 | 0,49 |
| BL Vessel [mm^3] | 880,2 \pm 496,0 | 892,6 \pm 367,0 | 0,89 |
| FU Vessel [mm^3] | 866,3 \pm 466,9 | 887,4 \pm 388,1 | 0,82 |
| Změna tepny [mm^3] | -13,8 \pm 76,0 | -5,2 \pm 81,1 | 0,61 |
| BL PAV [%] | 46,7 \pm 6,2 | 46,4 \pm 7,0 | 0,81 |
| FU PAV [%] | 46,3 \pm 6,3 | 47,8 \pm 8,1 | 0,31 |
| Změna PAV [%] | -0,5 \pm 2,9 | 1,5 \pm 4,2 | 0,014 |
| BL TAVi [mm^3/mm] | 413,9 \pm 239,6 | 420,5 \pm 189,5 | 0,89 |
| FU TAVi [mm^3/mm] | 401,9 \pm 223,1 | 423,3 \pm 194,1 | 0,63 |
| Změna TAVi [mm^3/mm] | -12,8 \pm 38,5 | 2,8 \pm 3,0 | 0,07 |

Zkratky: BL- vstupní (baseline), FU- kontrolní (follow up)

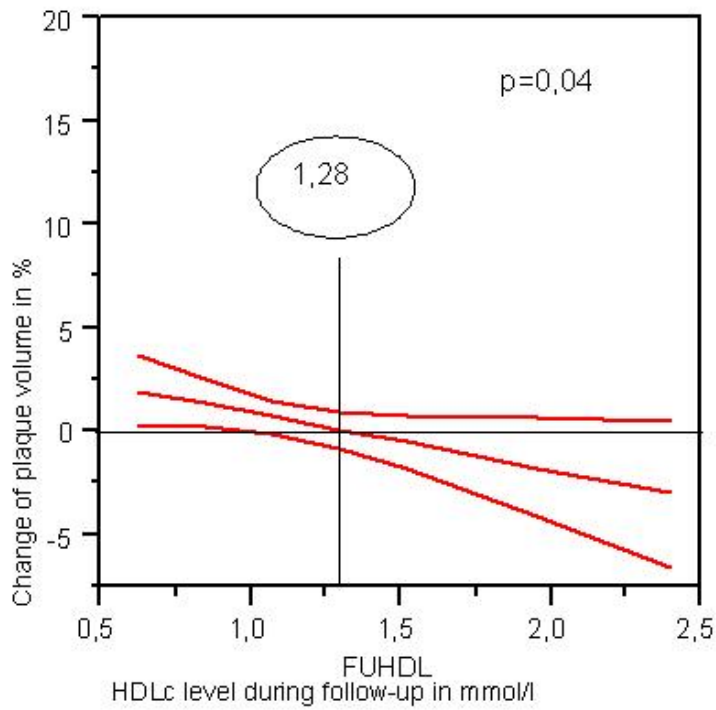
Graf 1 Relativní změny objemů



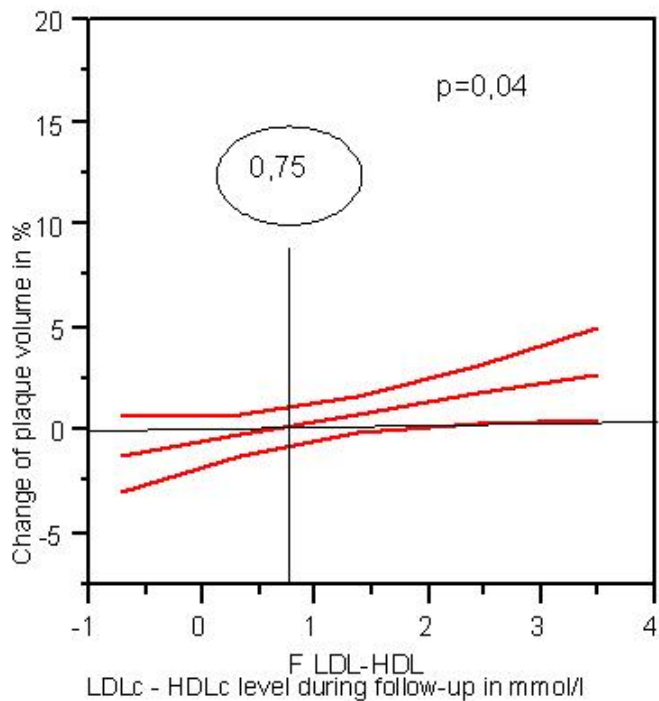
Graf 2 Vztah PAV a změny hladiny LDL cholesterolu v %



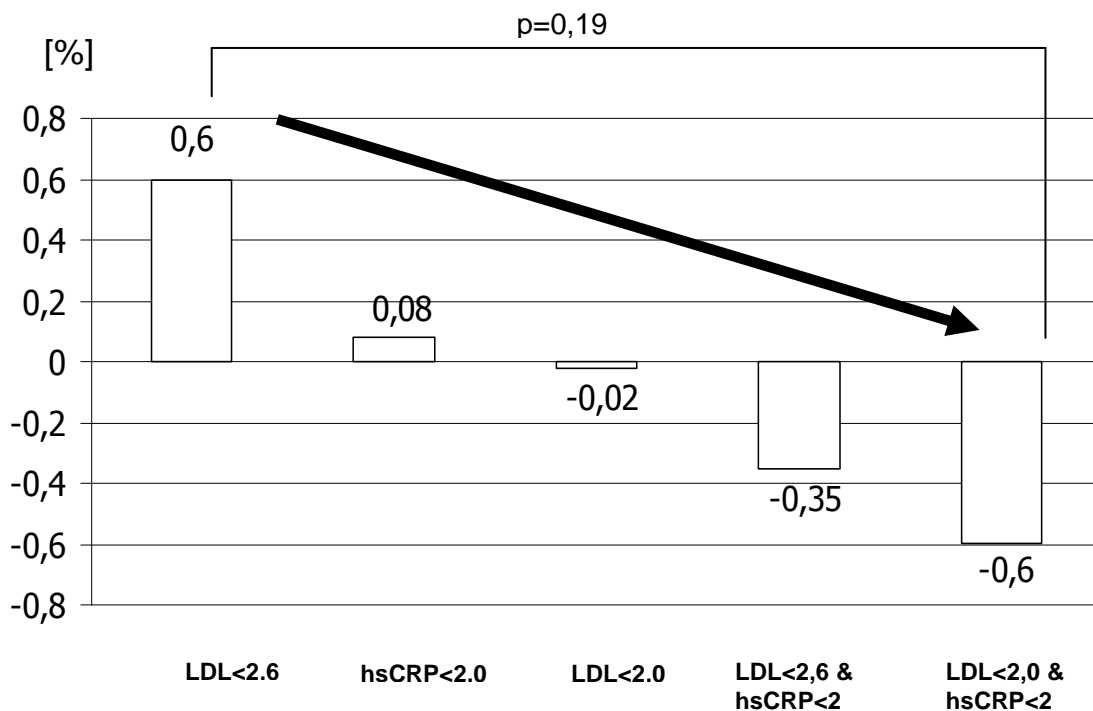
Graf 3 Vztah PAV a cílové hladiny HDL cholesterolu



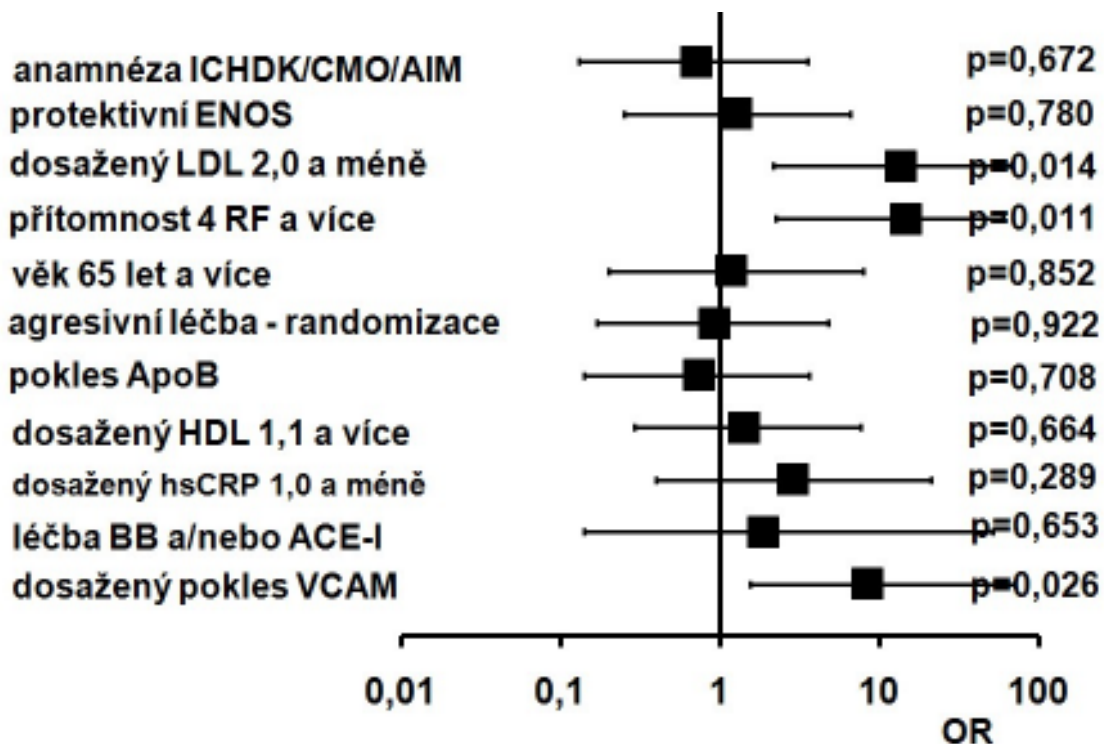
Graf 4 Vztah PAV a rozdílu LDL-HDL během kontrolního vyšetření



Graf 5 Vztah změny PAV a dosažení různých cílových hodnot LDL a hsCRP a jejich kombinací



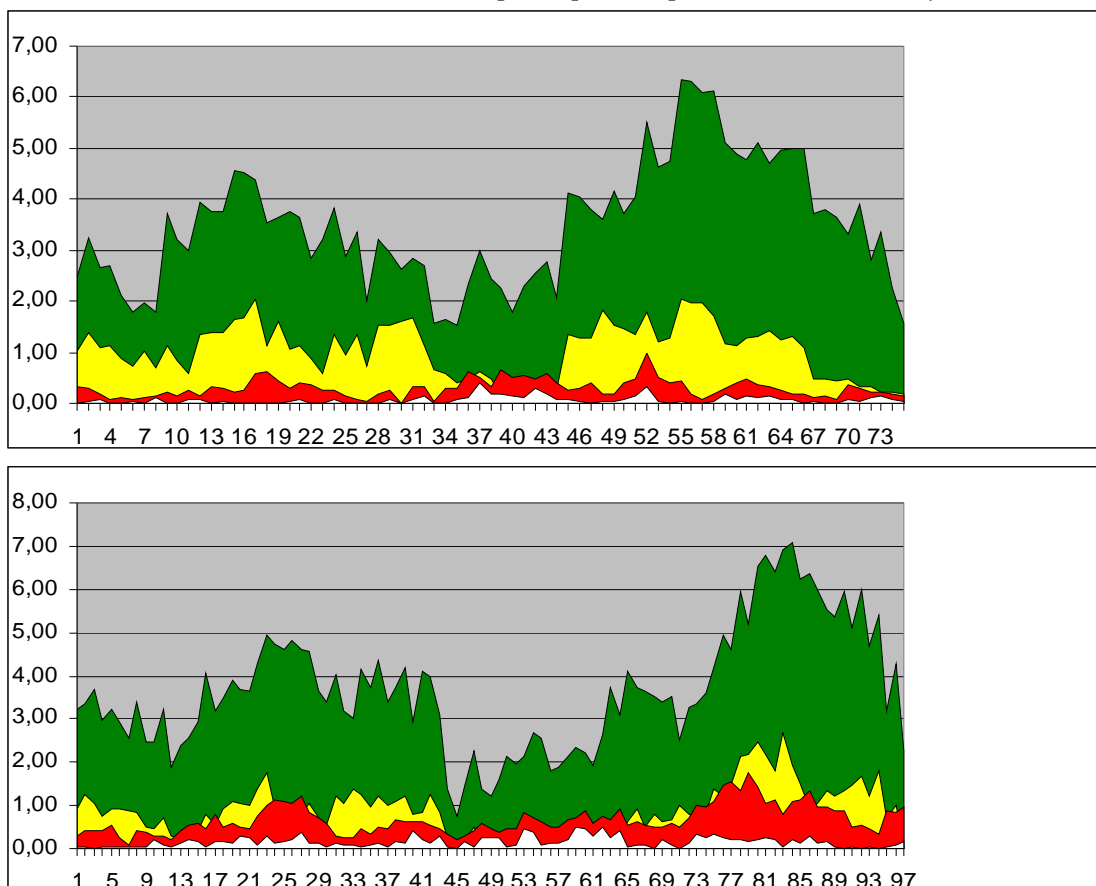
Graf 6 Multivariační regresní analýza prediktorů kombinované regrese



4.5. Změny ve složení plátů hodnocené pomocí virtuální histologie

Změny ve složení plátů během studie jsou přehledně znázorněny v Tabulce 5 a příklad hodnocení na Obrázku 9. Při hodnocení obou skupin pacientů současně je patrné snížení zastoupení fibrózní a fibrolipidové tkáně a vzestupu nekrotické tkáně a kalcifikací v průběhu studie (Graf 7). Tyto změny nejsou statisticky významné při hodnocení absolutních změn objemů jednotlivých složek plátů, ale jsou významné při hodnocení jejich relativních změn, a to pro fibrózní tkáň, nekrotickou tkáň a kalcifikace. Při hodnocení obou skupin společně jsme našli významné pozitivní korelace mezi hladinou vstupní i kontrolní hladinou TNF alfa a vzestupem kalcifikací ($p=0,042$, $r=0,24$, $p=0,044$, $r=0,27$), dále pozitivní korelaci mezi vzestupem IL-6 a vzestupem nekrotické složky plátu ($p=0,014$, $r=0,3$) a pozitivní korelaci mezi vzestupem hladiny VCAM a vzestupem fibrolipidové složky plátu ($p=0,048$, $r=0,24$).

Obrázek 9 Příklad srovnání složení plátu při vstupním a kontrolním vyšetření



Je patrný rozdílný počet RR intervalů v tomtéž segmentu koronární tepny, což je dáno rozdílnou tepovou frekvencí při vstupním a kontrolním vyšetření. Při srovnání obou vyšetření je patrné snížení obsahu fibrolipidové tkáně a zvýšení obsahu nekrotické tkáně a kalcifikací.

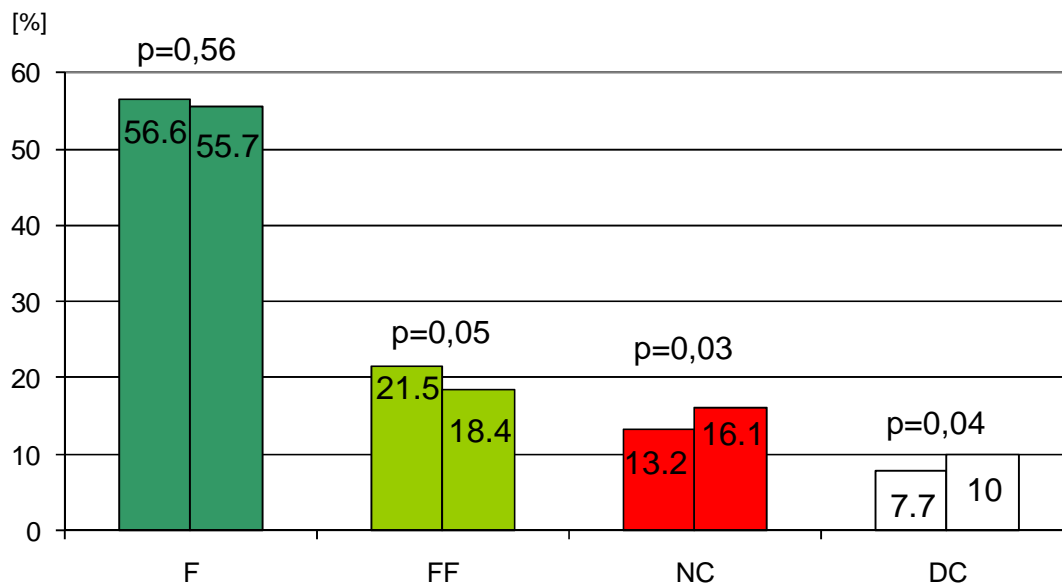
Tabulka 5 Složení plátů a jeho změny v průběhu studie

| Typ plátu | Skupina A | Skupina S | p |
|-------------------------------------|-------------|------------|------|
| BL fibrózní [%] | 54,4±8,3 | 58,2±9,2 | 0,09 |
| FU fibrózní [%] | 53,9±7,8 | 56,6±9,1 | 0,2 |
| Změna [%] | -0,4±5,5 | -1,3±8,9 | 0,56 |
| BL fibrolipidový [%] | 20,2±9,7 | 22,3±9,0 | 0,3 |
| FU fibrolipidový [%] | 17,5±9,8 | 18,6±10,0 | 0,68 |
| Změna [%] | -1,8±8,0 | -3,3±11,1 | 0,47 |
| BL nekrotický [%] | 15,3±8,9 | 11,6±7,3 | 0,06 |
| FU nekrotický [%] | 17,5±8,4 | 15,6±7,6 | 0,35 |
| Změna [%] | 1,5±6,1 | 3,4±7,2* | 0,18 |
| BL kalcifikace [%] | 9,9±7,1 | 6,1±4,6 | 0,01 |
| FU kalcifikace [%] | 11,4±5,9 | 9,2±6,8 | 0,17 |
| Změna [%] | 1,0±5,9 | 2,6±5,0* | 0,18 |
| BL fibrózní [mm ³] | 131,6±108,4 | 132,0±78,6 | 0,99 |
| FU fibrózní [mm ³] | 117,9±91,4 | 125,6±76,0 | 0,71 |
| Změna [mm ³] | -11,2±30,3 | -6,4±28,9 | 0,52 |
| BL fibrolipidový [mm ³] | 50,0±55,3 | 50,0±35,1 | 1,0 |
| FU fibrolipidový [mm ³] | 36,3±26,9 | 42,4±36,2 | 0,45 |
| Změna [mm ³] | -12,5±45,5 | -7,5±24,8 | 0,56 |
| BL nekrotický [mm ³] | 28,0±20,7 | 28,1±27,7 | 1,0 |
| FU nekrotický [mm ³] | 35,5±27,4 | 36,6±32,4 | 0,88 |
| cZměna [mm ³] | 6,8±18,5 | 8,5±19,1 | 0,72 |
| BL kalcifikace [mm ³] | 22,4±37,7 | 15,3±8,2 | 0,31 |
| FU kalcifikace [mm ³] | 22,9±20,2 | 23,0±27,1 | 1,0 |
| Změna [mm ³] | 0,4±34,9 | 7,8±15,6 | 0,25 |

Zkratky: BL – baseline, FU – follow up

*p=0,02 pro rozdíl mezi vstupním a kontrolním vyšetřením

Graf 7 Změny v procentuálním složení aterosklerotických plátů

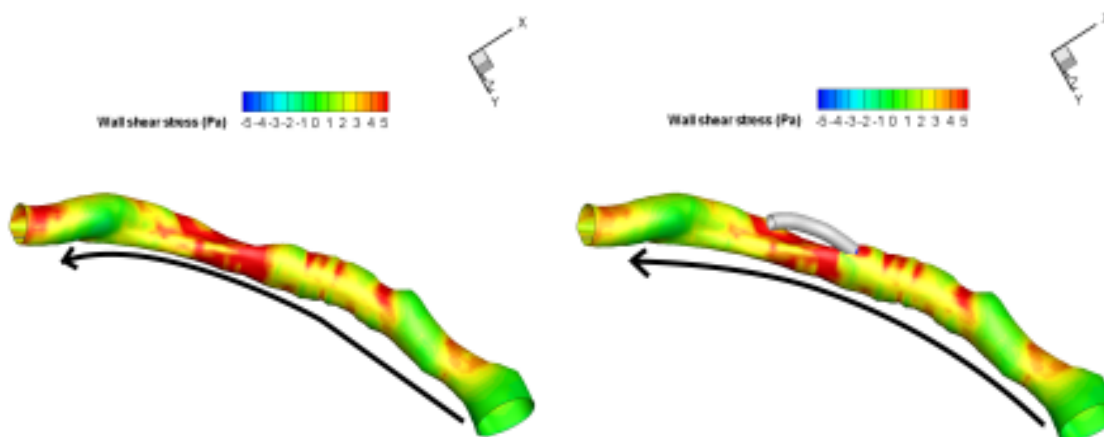


Zkratky: F- fibrózní, FF –fibrolipidový, NC- nekrotická tkáň, DC – kalcifikace

4.6. Hodnocení napětí cévní stěny

Software na analýzu WSS není dosud plně funkční a umožňuje zatím pouze ukázky analýzy WSS (Obrázek 10) a nikoliv analýzu všech zařazených nemocných. Z tohoto důvodu zatím nelze provést hodnocení změn WSS a vztahu WSS k ostatním měřeným veličinám.

Obrázek 10 Příklad hodnocení napětí v cévní stěně

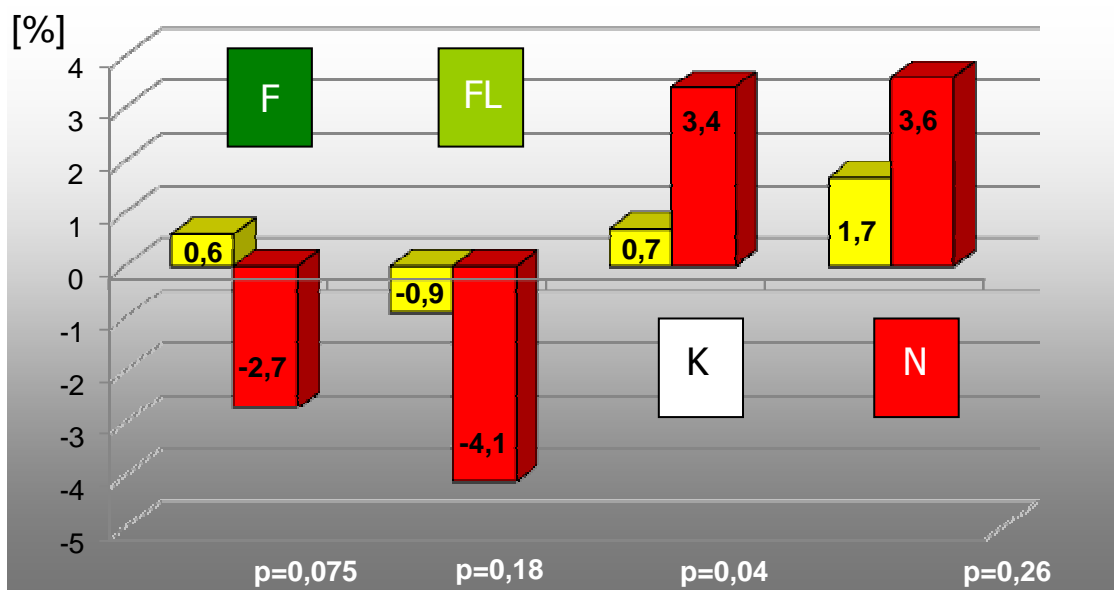


Jedná se o analýzu velikosti napětí cévní stěny napětí cévní stěny téhož segmentu bez a při existenci postranní větve. Na barevné škále je patrna změna lokálního napětí cévní stěny v místě odstupu vedlejší větve. Šipka znázorňuje směr průtoku krve.

4.7. Genetická analýza ENOS polymorfismu

Protektivní alela Glu/Glu v exonu 7 genu pro ENOS byla nalezena u 19 (55,9%) pacientů ve skupině A a ve skupině S u 16 (39%) pacientů. Tento rozdíl však není statisticky významný ($p=0,14$). Nalezli jsme zajímavé vztahy mezi změnou složení plátu a typem polymorfismů v genu pro ENOS, které jsou znázorněny v Grafu 8.

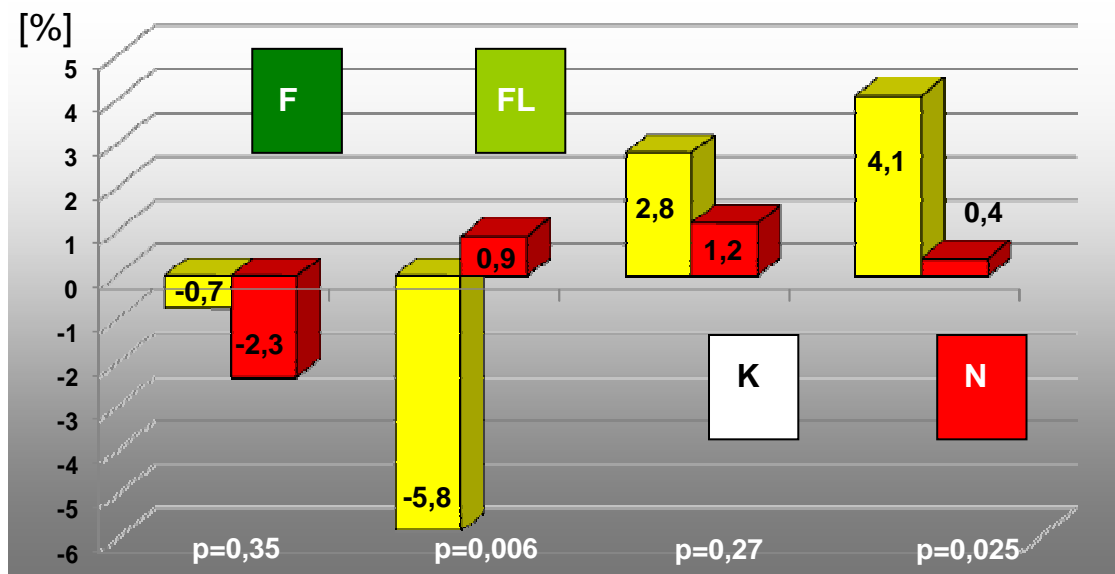
Graf 8 Změny ve složení aterosklerotických plátů v závislosti na typu polymorfismu v genu pro ENOS (žlutý sloupec: protektivní polymorfismus, červený sloupec: rizikový polymorfismus).



4.8. Genetická analýza HO-1 polymorfismu

Rizikový typ polymorfismu byl nalezen u 14 nemocných (43,8%) ve skupině A a ve skupině S u 15 (38,5%) nemocných, tento rozdíl nebyl statisticky významný, $p=0,65$. Rizikový typ polymorfismu pro gen HO-1 byl spojen s častějším výskytem diabetu mellitu (13 pacientů, t.j. 44,8% s rizikovým typem polymorfismu byli diabetici ve srovnání s 6 pacienty t.j. 14,3%, kteří měli diabetes ve skupině nemocných s nerizikovým typem polymorfismu). Tento rozdíl byl statisticky významný, $p=0,004$. Nemocní s rizikovým typem polymorfismu měli rovněž větší aterosklerotické pláty při vstupu do studie než pacienti s nerizikovým polymorfismem (PAV: $49,1 \pm 6,6$ vs. $44,9 \pm 5,5$, $p=0,005$ a TAVi: $9,8 \pm 4,1$, $8,02 \pm 2,6$, $p=0,028$). Změny ve složení aterosklerotických plátů u jednotlivých typů polymorfismu jsou zobrazeny v Grafu 9.

Graf 9 Změny ve složení aterosklerotických plátů v závislosti na typu polymorfismu v genu pro HO-1 (žlutý sloupec: protektivní polymorfismus, červený sloupec: rizikový polymorfismus)



4.9. Bezpečnost agresivní hypolipidemické terapie

Během studie jsme ve skupině A nezaznamenali významné zvýšení alaninaminotransferázy (ALT) ani kreatininkinázy (CK), jak je patrné z Tabulky 6. Desetkrát zvýšenou hladinu CK jsme zachytili u jednoho pacienta (2,4%) a trojnásobný vzestup ALT rovněž u jednoho pacienta. V obou případech se jednalo o asymptomatický laboratorní nález.

Tabulka 6 Hladiny CK a ALT

| | Skupina A | Skupina S | p |
|----------------------------|-------------|---------------|------|
| CK vstupní [μkat/l] | 2,2 ± 1,7 | 1,9 ± 1,2 | ns |
| CK suma [μkat/l] | 11,8 ± 8,6 | 9,8 ± 4,3 | ns |
| CK průměr [μkat/l] | 2,3 ± 1,2 | 2,1 ± 1,1 | ns |
| CK rozdíl [μkat/l] | 0,09 ± 2,4 | 0,1 ± 1,1 | ns |
| ALT vstupní [μkat/l] | 0,62 ± 0,3 | 0,53 ± 0,4 | ns |
| ALT suma [μkat/l] | 3,65 ± 2,95 | 2,46 ± 2,98 | 0,02 |
| ALT průměr [μkat/l] | 0,76 ± 0,57 | 0,52 ± 0,2 | 0,01 |
| ALT rozdíl [μkat/l] | 0,02 ± 0,3 | - 0,04 ± 0,38 | ns |
| Bilirubin vstupní [μkat/l] | 12,6 ± 5,3 | 12,8 ± 6,1 | ns |
| Bilirubin suma [μkat/l] | 63,8 ± 24,6 | 55,7 ± 21,0 | ns |
| Bilirubin průměr [μkat/l] | 13,4 ± 4,3 | 11,6 ± 4,1 | 0,06 |
| Bilirubin rozdíl [μkat/l] | 0,45 ± 12,1 | - 1,0 ± 5,9 | ns |
| CK 10x zvýšeno | 1 (2,4%) | 0 | ns |
| ALT 3x zvýšeno | 1 (2,4%) | 0 | ns |

5. DISKUZE

Výše uvedené výsledky přinášejí následující odpovědi na původní hypotézy:

- a) Agresivní duální hypolipidemická léčba nevede k zastavení nepříznivého vývoje ve složení aterosklerotických plátů.
- b) Agresivní duální hypolipidemická léčba vede ke zmenšení objemu aterosklerotických plátů a častějšímu výskytu kombinované regrese (zmenšení objemu plátů v kombinaci se zvětšením objemu lumen)
- c) Agresivní duální hypolipidemická léčba nevede, až na TNF alfa, ke snížení hladin prozánětlivých markerů.
- d) Polymorfismus v genu pro HO-1 koreluje s tíží koronárního postižení, ale jeho protektivní varianta je paradoxně spojena se zvýšením množství nekrotické tkáně v plátech. Polymorfismus v genu pro ENOS nekoreluje s tíží koronárního postižení a jeho protektivní varianta je spojena s menším nárůstem kalcifikací.
- e) Hodnocení vztahu mezi agresivní duální hypolipidemickou léčbou a napětím v plátu nebylo zatím dokončeno.
- f) Agresivní duální hypolipidemická léčba nezvyšuje výskyt nežádoucích účinků, a to zejména myopatie a jaterní toxicity.

5.1. Progrese a regrese aterosklerózy

Průměrná změna objemu aterosklerotických plátů byla v agresivně léčené skupině $-0,4\%$. Toto číslo je malé, ale je zcela v souladu s dříve publikovanými studii ($-0,98\%$ ve studii ASTEROID³⁵, $+0,6\%$ ve studii REVERSAL³⁸, $+0,2\%$ ve studii GAIN³⁹, $-3,0\%$ ve studii COSMOS³⁷, $-4,6\%$ ve studii ESTABLISH³⁶). Vzestup PAV v kontrolní skupině byl $1,4\%$, což je opět srovnatelné s podobnými studii ($+1,9\%$ ve studii REVERSAL³⁸, $0,3\%$ ve studii GAIN³⁹, $+3,0$ ve studii ESTABLISH³⁶). Změna PAV korelovala s procentuální změnou LDL cholesterolu, hladinou HDL cholesterolu při kontrolním vyšetření a rozdílem mezi LDL a HDL cholesterolem během kontrolního vyšetření. Redukce cholesterolu o 34% , jako zlomová hodnota pro zahájení regrese PAV, je zhruba mezi udávanými hodnotami ze studií ESTABLISH³⁶ (18%) a REVERSAL³⁸ (50%). Námi zjištěná hodnota cílového LDL cholesterolu, od které začíná snižování PAV, je naopak výrazně nižší než ve studii ESTABLISH³⁶ ($2,7$ mmol/l) a studii provedené autory Takashima et al.⁵². Podobně jako ve studiích

ESTABLISH³⁶ a Takshima et al.⁵², ale na rozdíl od studie publikované Ishikawou a kol.⁵³ jsme nenalezli vztah mezi poklesem PAV a procentuální změnou hladiny HDL cholesterolu. Při hodnocení vztahu změny PAV a hladinou HDL cholesterolu byla hraniční hodnota 1,28 mmol/l. Tento vztah nebyl ve výše uvedených studiích nalezen. Vedle samotné hodnoty lipidů jsme korelovali vztah mezi změnou aterosklerotických plátů a kombinaci hladiny lipidů a hsCRP. Nejvýraznější pokles objemu plátů jsme našli ve skupině pacientů s hladinou LDL < 2 mmol/l a hladinou hsCRP < 2 mg/l (rozdíly však nebyly statisticky významné). Tyto výsledky dobře korespondují se studií PROVE IT⁵⁴, kde byla největší redukce rizika kardiovaskulárních příhod u nemocných po akutním koronárním syndromu zaznamenána při kombinaci hladiny LDL < 1,8 mmol/l a hsCRP < 2mg/l. Ve studii REVERSAL³⁸ byl největší pokles objemu aterosklerotických plátů zaznamenán u nemocných s větším než průměrným poklesem LDL cholesterolu a hsCRP⁵⁵.

Vyšší progrese PAV byla kromě naší studie rovněž nalezena v atorvastatinové větvi ve studii REVERSAL³⁸. Vysvětlením je zřejmě více aktivní aterosklerotický proces u mladších nemocných. Tomu by odpovídala i menší progrese kalcifikací, kterou jsme u mladších nemocných našli. Dalším vysvětlením může být i menší snížení hladiny LDL cholesterolu u nemocných mladších 60 let, i když tento náš nález nebyl statisticky významný.

Kombinovanou regresi aterosklerózy jsme definovali jako pokles PAV a současně vzestup objemu lumen. Použitím multivariační regresní analýzy jsem našli následující nezávislé prediktory kombinované regrese aterosklerózy: LDL cholesterol < 2 mmol/l, přítomnost čtyři z pěti rizikových faktorů aterosklerózy a pokles hladiny VCAM.

Hladina LDL menší než 2 mmol/l je nyní doporučovaná cílová hodnota pro nemocné s potvrzenou ischemickou chorobou srdeční. Tato hodnota je velmi diskutována a zřejmě bude v budoucnu doporučována hodnota ještě nižší jak ukazují i naše výsledky.

Přítomnost čtyř z pěti sledovaných klasických rizikových faktorů aterosklerózy jako prediktor regrese je na první pohled paradoxní. Podle našeho názoru je vysvětlením tohoto faktu větší šance indukce regrese u více rizikových nemocných s větším objemem plátů než u málo rizikových pacientů. Podobný výsledek byl zaznamenán ve studii REVERSAL³⁸, kde u pacientů s metabolickým syndromem byl pokles objemu

aterosklerotických plátů o 1,2% ve srovnání s nárůstem objemu plátů o 0,2% u nemocných bez metabolického syndromu.

Pokles hladiny VCAM nebyl u lidí nikdy nalezen jako prediktor regrese aterosklerózy. Trogan et al.⁵⁶ popisují regresi transplantovaných aterosklerotických plátů v aortě od ApoE deficientních myší normolipidemickým myším kmene WT spolu se snížením hladin VCAM a MCP-1. Tato studie potvrzuje na experimentálním zvířecím modelu důležitou roli poklesu hladin VCAM v regresi aterosklerózy a s jejími závěry koresponduje naše pozorování korelace mezi vstupní hladinou VCAM a vzestupem objemu plátu během studie, pozitivní korelaci mezi zvýšením VCAM a zvýšením objemu plátů v průběhu studie a negativní korelaci mezi vstupní hladinou VCAM a změnou objemu lumen koronárních tepen.

5.2. Změny ve složení plátů

V průběhu studie došlo v obou skupinách ke snížení fibrózní a fibrolipidové tkáně a zvýšení nekrotické tkáně a rovněž tak kalcifikací. Tyto nálezy jsou v dobré shodě se studií IBIS-2⁴⁰, kde došlo ke snížení fibrózní tkáně o 3,9%, fibrolipidové tkáně o 0,7% a ke zvýšení nekrotické tkáně o 2,5% a kalcifikací o 2,1%. Nasu et al.⁴⁸ však popisují při léčbě fluvastatinem signifikantní zvýšení fibrózní složky plátů a signifikantní snížení fibrolipidové i nekrotické tkáně ve srovnání se skupinou léčenou jen dietou. Nicméně tato studie má ve srovnání s naší prací několik podstatných rozdílů. Žádných z pacientů zařazených do této studie nebyl před vstupem do studie léčen statiny, zatímco v naší studii bylo neléčených pacientů 43,9% ve skupině A a 34% ve skupině S. Pacienti ve studii rovněž nebyli randomizováni, ale nemocní s LDL cholesterolem vyšším než 3,6 mmol/l byli léčeni fluvastatinem a pacienti s nižší hodnotou LDL cholesterolu byli léčeni jen dietou.

Hong et al.⁵⁰ publikovali studii, ve které srovnávali efekt simvastatinu a rosuvastatinu u nemocných jak se stabilní anginou pectoris, tak s akutním koronárním syndromem (40% nemocných v simvastatinové skupině a 46% v rosuvastatinové). Popisují nesignifikantní zvýšení zastoupení fibrózní a fibrolipidové složky a nesignifikantní snížení nekrotické složky kalcifikací při hodnocení nejvíce postiženého 10 mm segmentu koronární artérie. V naší studii jsme provedli hodnocení složení plátu v celém vyšetřovaném segmentu a nelze vyloučit, že změny nejvíce postižené části jsou jiného charakteru než ve zbytku tepny.

Nasu et al.⁴⁸ dále popisují korelaci mezi změnou hladiny HDL cholesterolu změnou zastoupení fibrolipidové složky a rovněž s hladinou hsCRP. Hong et al.⁵⁰ popisují významný vztah mezi vstupní hladinou HDL cholesterolu a změnou zastoupení nekrotické složky plátu. V naší studii jsme žádná takoveto korelace nenalezli.

V naší studii jsme po randomizaci zjistili signifikantně vyšší zastoupení kalcifikací a hraničně vyšší zastoupení nekrotické tkáně ($p=0,06$) ve skupině A. Přes tento rozdíl byla progresse obou složek ve skupině A menší než ve skupině S (rozdíl však nebyl statisticky významný).

Podle našich výsledků a výsledků studie IBIS-2 nález hodnotíme jako přirozený průběh vývoje aterosklerotických lézí, kde dochází k přeměně fibrózní a fibrolipidové části plátu na nekrotickou kalcifikovanou tkáň. Definitivní závěry však pro diskrepanci nálezů různých studií nelze učinit a momentálně probíhá další velká studie na toto téma (SATURN), která může přinést další informace o vývoji složení aterosklerotických plátů při léčbě statiny.

5.3. Změny prozánětlivých markerů

V průběhu léčby statiny došlo k signifikantnímu snížení hladiny TNF alfa v obou skupinách (rozdíl mezi skupinou A a S nebyl významný). U ostatních markerů nedošlo k významným změnám v průběhu studie. Překvapivě došlo ke vzestupu hladiny hsCRP v obou skupinách, a to více ve skupině S (rozdíl však nebyl statisticky významný). Počet probandů, u kterých došlo k dosažení cílové hodnoty pro hsCRP menší než 2 mg/l byl ve skupině A signifikantně vyšší než ve skupině S. V předchozích statinových studiích^{38,57} byl zaznamenán pokles hladiny hsCRP. Důvod proč jsme zaznamenali opačný výsledek není jasný. Jedním z možných vysvětlení může být vysoký podíl kuřáků v obou sledovaných skupinách (68,3% ve skupině A a 61,7% ve skupině S), neboť je známo, že u kuřáků s koronární aterosklerózou dochází ke zvýšení hladin hsCRP⁵⁸.

Některé prozánětlivé markery korelovaly při hodnocení obou skupin společně se změnou ve složení plátů. Vstupní i kontrolní hladina TNF alfa korelovala se vzestupem kalcifikací, vzestup IL-6 se vzestupem nekrotické složky plátu a vzestup hladiny VCAM se vzestupem fibro-lipidové složky plátu. Přesná role TNF alfa v aterogenezi není stále ještě jasná. Blesing et al.⁵⁹ nenalezli žádnou progresi aterosklerózy ani známky destabilizace plátů u ApoE deficientních myší, které měly vyřazen receptor pro

TNF alfa. Na druhou stranu Ohta et al.⁶⁰ popisují, že poškození genu pro TNF zpomaluje rozvoj aterosklerózy u ApoE deficientních myší.

Tousoulis et al.⁶¹ popsali vyšší hladiny IL-6 u nemocných s ICHS než u kontrolních skupiny a Saremi⁶² našel vztah mezi rozsahem aterosklerózy a hladinou IL-6. Jha⁵⁸ publikoval vyšší hladinu VCAM u nemocných s ICHS ve srovnání se zdravými dobrovolníky.

Na základě těchto publikovaných výsledků a našich dat můžeme spekulovat, že hladiny TNF alfa a IL-6 jsou významné u více rozvinutých aterosklerotických plátů (vztah k rozvoji nekrotické tkáně a kalcifikací), kdežto VCAM je důležitější v časných fázích aterosklerózy (jeho vztah k rozvoji fibrolipidové tkáně a predominantní exprese na endoteliích v oblasti časných lézí).

5.4. Polymorfismus v genu pro HO-1

Častější výskyt diabetu a větší objem aterosklerotických plátů u nositelů rizikové formy polymorfismu v genu pro HO-1 koreluje s dříve publikovanými pracemi²⁴.

Naše pozorování, že rizikový polymorfismus v genu pro HO-1 je spojen s větší progresí nekrotické tkáně v aterosklerotickém plátu než u nositelů protektivního polymorfismu je neočekávané a dosud nepublikované. Jedním z možných vysvětlení může být vliv statinů. U nositelů rizikového typu polymorfismu je snížena exprese HO-1, což přispívá k většímu oxidativnímu stresu ve tkáni. Tento nepříznivý stav může být zlepšen právě statiny, které intenzitu zánětlivých změn v plátech snižují⁶³ a navíc zvyšují expresi HO-1^{64,65}. U pacientů s protektivní variantou polymorfismu v genu pro HO-1, může docházet k progresi aterosklerózy ještě jiným mechanismem, který není ovlivnitelný statiny, což by mohlo vysvětlit nalezené nepříznivé změny ve složení aterosklerotických plátů v průběhu studie.

5.5. Polymorfismus v genu pro ENOS

U pacientů, kteří jsou nositeli protektivní varianty (Glu/Glu) jsme našli významně menší tendenci ke kalcifikacím v aterosklerotických plátech. Podobné pozorování se nám nepodařilo nalézt v žádné literatuře publikované na toto téma. Je známo, že statiny stimulují expresi ENOS⁶⁶ a stimulují rovněž ENOS aktivitu v koronárních tepnách u prasečího modelu⁶⁷. Na základě těchto kusých informací a našich výsledků můžeme jen spekulovat, že pozitivní efekt statinů na expresi

a aktivitu ENOS je výraznější u nositelů protektivní varianty polymorfismu, a proto u těchto nemocných dochází k příznivějšímu ovlivnění aterogeneze než u nemocných s rizikovým typem polymorfismu v genu pro ENOS.

5.6. Agresivní hypolipidemická terapie

Agresivní hypolipidemická terapie není jen účinná, ale je rovněž i bezpečná. V agresivně léčené skupině jsme našli pouze nesignifikantní zvýšení hodnot ALT. Signifikantní elevace CK a signifikantní elevace ALT byla vždy zjištěna pouze u jednoho pacienta ve skupině A.

Základní otázkou studie bylo, zda kombinovaná agresivní hypolipidemická terapie povede k navození regrese koronární aterosklerózy a jestli se agresivní léčba projeví ve změnách složení plátů. Z tohoto důvodu byli pacienti rozděleni na agresivně a standardně léčenou skupinu. Toto rozdělení však bohužel neumožňuje odlišit, jak velký vliv měl na nalezených změnách ezetimib. Ve světle ostatních studií předpokládáme, že výše uvedené změny v lipidogramu a velikosti aterosklerotických plátů jsou spíše způsobeny atorvastatinem. Přesnou odpověď však může přinést jen randomizovaná studie typu statin vs. statin + ezetimib. Navíc regrese aterosklerózy byla v naší studii závislá nikoliv na typu léčby, ale na docílení nízkých hodnot LDL cholesterolu.

Na základě našich výsledků je nutno pokračovat ve zdůrazňování dosažení cílových hodnot lipidů, spíše než na způsobu jejich dosažení. Doposud nejsou žádné známky toho, že by závislost mezi hladinou LDL a prospěchem pro pacienty měla „J“ charakter. Stále tedy pro LDL cholesterol platí pravidlo „čím méně, tím lépe“.

6. LIMITACE

Limitací studie je poměrně nízký počet pacientů, který však odpovídá počtu nemocných zařazených do podobně komplexních studií, z nichž do největší je zařazeno 300 pacientů. Znamou limitací podobných studií je přítomnost kalcifikací v aterosklerotických plátech. Kalcium je překážkou šíření ultrazvukových vln a za kalcifikací je proto patrný akustický stín. V tomto stínu je hodnocení virtuální histologie nepřesné a dochází k nadhodnocování podílu lipidových a nekrotických hmot. Vynětím těchto akustických stínů se zlepší přesnost VH, ale na druhou stranu se zhorší přesnost měření objemů tepny a plátu. Tento problém jsme řešili tak, že do studie nebyly zařazeny pláty s objemnými kalcifikacemi a v přítomnosti menších kalcifikací byla dána přednost větší přesnosti objemové analýzy před možným malým kreslením výsledků virtuální histologie.

Popisovanou limitací studií s opakovaně prováděným intravaskulárním ultrazvukem je malý rozdíl v délce sledovaného segmentu mezi vstupním a kontrolním vyšetřením i přes přesné dodržení orientačních bodů. Tento problém je dán tím, že ultrazvuková sonda se pohybuje po trajektorii, která je dána polohou vodiče v koronární tepně a ta může být mírně odlišná při každém vyšetření. Rozdíl v délce vyšetřovaného segmentu je menší než 10% a je řešen přepočítáním objemů na stejnou (průměrnou) vzdálenost z obou vyšetření.

Naše studie nebyla pro zjednodušení dvojité zaslepená. Všechna měření intravaskulárním ultrazvukem a virtuální histologií byla hodnocena jedním operátorem, který neznal jména pacientů ani výsledek randomizace. Měl ale informaci o tom, které vyšetření je vstupní a které kontrolní. Tento typ zaslepení považujeme za akceptovatelný.

Další, již výše zmiňovanou limitací, je signifikantně vyšší obsah kalcifikací a hraničně vyšší zastoupení nekrotické tkáně v plátech u nemocných zařazených do skupiny A.

7. ZÁVĚR

Studie HEAVEN je unicentrická, randomizovaná, jednoduše zaslepená studie hodnotící vliv agresivní duální hypolipidemické terapie na vývoj koronární aterosklerózy ve srovnání se standardní léčbou nemocných s prokázanou ICHS. Potvrdili jsme hypotézu, že agresivní hypolipidemická terapie vede ke zmenšení aterosklerotických plátů a indukuje vznik kombinované regrese (zmenšení objemu plátu v kombinaci se zvětšením lumen). Nepotvrdili jsme hypotézu, že agresivní hypolipidemická terapie zastaví nebo dokonce zvrátí nepříznivý průběh změn ve složení aterosklerotických plátů. I přes tuto léčbu dále pokračuje přechod fibrózních a fibrolipidových složek v nekrotickou tkáň s kalcifikacemi.

Agresivní kombinovaná léčba vedla ke snížení TNF alfa v obou skupinách, přičemž rozdíl mezi oběma skupinami nebyl významný. U ostatních markerů nedošlo k významným změnám v průběhu studie. Překvapivě došlo ke vzestupu hladiny hsCRP v obou skupinách, a to více ve skupině S (rozdíl však nebyl statisticky významný). Některé prozánětlivé markery korelovaly při hodnocení obou skupin společně se změnou ve složení plátů. Vstupní i kontrolní hladina TNF alfa korelovala se vzestupem kalcifikací, vzestup IL-6 se vzestupem nekrotické složky plátu a vzestup hladiny VCAM se vzestupem fibro-lipidové složky plátu. Pokles VCAM byl nezávislým prediktorem pro kombinovanou regresi.

Polymorfismy v genech pro ENOS a HO-1 nehrály roli ve změnách ve velikosti aterosklerotických plátů. U nositelů protektivního polymorfismu v genu pro HO-1 došlo ke zvýšení objemu nekrotické tkáně, což je překvapující nález. Spekulativně si jej vysvětlujeme odlišným mechanismem změn ve složení aterosklerotických plátů u nositelů protektivního a rizikového polymorfismu, které nejsou u nositelů protektivního polymorfismu ovlivnitelné statiny. Rizikový polymorfismus v genu pro ENOS byl spojen s vyšším nárůstem kalcifikací a tím i zvýšením rizikosti plátu. I v tomto případě se jedná o dosud nepublikovaný nález, který si zaslouží další zkoumání.

Agresivní kombinovaná hypolipidemická terapie nevedla během jednoho roku k významnému zvýšení výskytu nežádoucích účinků. Došlo jen k nevýznamné elevaci kreatinkinázy a transamináz. K signifikantní elevaci jednoho ze sledovaných parametrů došlo u dvou nemocných. Vždy se však jednalo jen o laboratorní nález bez klinického

korelátu. Tento typ léčby je možno považovat za bezpečný při pravidelné monitoraci hladin kreatinkinázy a jaterních transamináz.

LITERATURA

1. **Ross R.** Atherosclerosis: an inflammatory disease. *NEJM* 1999; 340:115-126
2. **Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE et al.** A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis: a report from the Comitee on Vascular Lesions of the Council of Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995; 92: 1355-1374
3. **Stary HC.** The Histological Classification of Atherosclerotic lesions in Human Coronary Arteries. In: V.Fuster, R.Ross and E.J. Topol. *Atherosclerosis and Coronary Disease. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 1996: 272-286*
4. **Schwenke DC, Carew TE.** Initiation of atherosclerotic lesions in choletserol-fed rabbits I. Focal increases in arterial LDL concentration precede development of fatty streak lesions. *Arteriosclerosis* 1989; 9:895-907
5. **Katsuda S, Boyd HC, Fligner C, Ross R. Grown AM.** Human atherosclerosis. III. Immunocytochemical analysis of the cell composition of lesions of young adults. *Am J Pathol* 1992; 140:907-914
6. **Beeuwkes R III, Barger AC, Silverman KJ, Lainey LL.** Cinemicrographic studies of the vas vasorum of human coronary arteries. In:Glagov S, Newman WP, Schaffer SA, eds. *Pathobiology of the Human Atherosclerotic Plaque.* New York:Springer-Verlag; 1990:425-432
7. **Steinberg D, Witzum JL.** Lipoproteins and atherogenesis. Current concept. *JAMA* 1990;264:3047-3052
8. **Ernst E.** The role of fibrinogen as a cadriovascular risc factor. *Atherosclerosis* 1993;100:1-12
9. **Loscalzo J.** lipoprotein (a), a unique risk factor for atherothrombotic disease. *Arteriosclerosis* 1990;10:672-679
10. **Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Herttuala S, et al.** LDL undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;1372-1380
11. **Ehara S, Ueda M, Naruko T, et al.** Elevated Levels of Oxidated Low Density Lipoprotein Show a Positive Relationship With the Severity of Acute Coronary Syndromes. *Circulation* 2001;103:1955-1960
12. **Simonescu N, Vasile E, Lupu F et al:** Pre-lesional events in atherogenesis: Accumulation of extracellular cholesterol rich liposomes in the arterial intima and cardiac valves of the hyperlipidemic rabbits. *Am J Pathol* 1986;123:1109-1125

13. **Libby P:** The molecular base of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-2850
14. **Farb A, Burke A, Tang A, et al:** Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation* 1996;93:36-44
15. **Emeson EE, Robertson AL Jr:** T lymphocytes in aortic and coronary intimas. *Am J Pathol* 1988;130:369-376
16. **O'Brien K, Allen M, Mc Donald T, et al.:** Vascular cell adhesion molecule-1 is expressed in human coronary atherosclerotic plaques: Implications for the mode of progression of advanced coronary atherosclerosis. *J Clin Invest* 1993;92:945-951
17. **Koskinas KC, Chatzizisis YS, Baker AB, Edelman ER, Stone PH, Feldman ChL.** The role of low endothelial shear stress in the conversion of atherosclerotic lesions from stable to unstable plaque. *Curr. Op. in Cardiology* 2009;24:580-590
18. **Topper JN, Cai J, Falb D, Gimbrose MA jr:** Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:10417-1042
19. **Chatzizisis YS, Coskun AU, Jonas M, Edelman ER, Feldman ChL, Stone PH.** Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling. *JACC* 2007;49:2379
20. **Ando J, Tsuboi H, Korenaga R, et al:** Shear stress inhibits adhesion of cultured mouse endothelial cells to lymphocytes by downregulating VCAM-1 expression. *Am J Physiol* 1994;267:C679-C687
21. **Chenge C, Tempel D, van Haperen R et al.** Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress. *Circulation* 2006; 113:2744-2753
22. **Lee RT, Schoen FJ, Loree HM, et al.** Circumferential stress and matrix metalloproteinase 1 in human coronary atherosclerosis. Implication for plaque rupture. *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology* 1996;16:1070-1073
23. **Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A et al.** A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999;100:1515-20

24. **Kaneda H, Ohno M, Taguchi J, Togo M et al.** Heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism is associated with coronary artery disease in Japanese patients with coronary risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002 1;22:1680-5
25. **Morita T.** Hem oxygenase and atherosclerosis. *Artheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005;25:1786-1795
26. **Stein EA, Davidson MH, Dujovne CA, et al.** Efficacy and tolerability of low-dose simvastatin and niacin, alone and in combination, in patients with combined hyperlipidemia: a prospective trial. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1996;1:107-16
27. **Bakker-Arkema RG, Davidson MH, Goldstein RJ, et al.** Efficacy and safety of a new HMG CoA reductase inhibitor, atorvastatin in patients with hypertriglyceridemia. *JAMA* 1996;275:128-33
28. **Gianturco SH, Brown FB, Gotto AM, Bradley WA.** Receptor mediated uptake of hypertriglyceridemic very low density lipoproteins by normal human fibroblasts. *J Lipid Res* 1982;23:984-93
29. **Sviridov D, Nestel P, Watts G.** Statins and Metabolism of High Density Lipoprotein. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* 2007;5:215-221
30. **Napoli C, D'Armiendo FP, Mancini FP, et al.** Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia: intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1997;100:2680-2690
31. **Stary HC.** Macrophages, macrophage foam cells, and eccentric intimal thickening in the coronary arteries of young children. *Atherosclerosis* 1987;64:91-108
32. **Clarkson TB, Megan MG, Bullock BC, et al.** A study of atherosclerosis regression in *Macaca milatta*. IV. Changes in coronary arteries from animals with atherosclerosis induced for 19 months and then regressed for 24 or 48 months at plasma cholesterol of 300 or 200 mg /dl. *Exp Mol Pathol* 1981;34:345
33. **Small DM Bond MG, Waugh D, et al.** Physicochemical and histological changes in the arterial wall of nonhuman primates during progression and regression of atherosclerosis. *J Clin Invest* 1984;73:1590
34. **Azen SP, Mack WJ, Cashin-Hemphill L et al.** Progression of coronary artery disease predicts clinical coronary events. *Circulation* 1996;93:34-41

35. **Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, Libby P, Raichlen JS, Ballantyne CM.** Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: The ASTEROID trial. *JAMA* 2006;295:1556-1565
36. **Okazaki S, Yokoyama T, Miyauchi K, Shimada K, Kurata T, Sato H.** Early statin treatment in patients with acute coronary syndrome: Demonstration of beneficial effect on atherosclerotic lesion by serial volumetric intravascular ultrasound analysis during half a year after coronary event: The ESTABLISH study. *Circulation* 2004;110:1061-1068
37. **Takayama T, Hiro T, Yamahishi M, Daida H, Hirayama H, Saito S, Yamaguchi T, Matsuzaki M, for the COSMOS Investigators.** Effect of rosuvastatin on coronary atheroma in stable coronary artery disease. Multicenter coronary atherosclerosis study measuring effects of rosuvastatin using of intravascular ultrasound in Japanese subjects COSMOS. *Circ J*;2009;73:2110-2117
38. **Nissen SE, Tuzcu EM, Shoenhagen P, Brown BG, Ganz P, Vogel RA, Crowe T, Howard G, Cooper CJ, Brodie B, Grines CL, De Maria AN.** REVERSAL Investigators. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: A randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:1071-1080
39. **Schartl M, Bocksch W, Koschyk DH, Voelker W, Karsch KR, Kreuzer J, Hausmann D, Backmann S, Gross M.** Use of intravascular ultrasound to compare effect of different strategies of lipid-lowering therapy on plaque volume and composition in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104:387-392
40. **Serruys PW, Garcia-Garcia HM, Buszman P, Erne P, Verheye S, Aschermann M, Duckers H, Bleie O, Dudek D, Bøtker HE, von Birgelen C, D'Amico D, Hutchinson T, Zambanini A, Mastik F, van Es GA, van der Steen AF, Vince DG, Ganz P, Hamm CW, Wijns W, Zalewski A.** Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A₂ inhibitor darapladib on human coronary atherosclerosis plaque. *Circulation* 2008;118:1172-1182
41. **Nishimura RA, Edwarads WD, Warnes, CA, et.al.** Intravascular imaging: In vitro validation and pathologic correlation. *J Am Coll Cardiol*, 1990, 16, p. 145–154
42. **Nair A, Margolis P, Kuban B, Vince G.** Automated coronary plaque characterisation with intravascular ultrasound backscatter: ex vivo validation. *Eurointervention* 2007; 3:113-120

43. **Mintz GS, Pichard AD, Popma JJ et al.** Determinants and correlates of target lesion calcium in coronary artery disease: a clinical , angiographic, and intravascular ultrasound study. *JACC* 1997;29:268-274
44. **Garcia-Garcia H, Goedhart D, Schuurbiens J, et al.** Virtual histology and remodeling index allow in vivo identification of allegedly high-risk coronary plaques in patients with acute coronary syndromes: a three vessel intravascular ultrasound radiofrequency data analysis. *Eurointervention* 2006;2:338-344
45. **Hong MH, Mintz GS, Lee CW, et al.** A three-vessel virtual histology intravascular ultrasound analysis of frequency and distribution of thin-cap fibroatheromas in patients with acute coronary syndrome or stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2008;101:568-572
46. **Stone PH, Coskun AU, Kinlay S, Popma JJ, Sonka M, Wahle A, Yeghiazarians , Maynard Ch, Kuntz RE, Feldman ChL.** Regions of low endothelial shear stress are the sites where coronary plaque progress and vascular remodelling occurs in humans: an in vivo serial study. *European Heart Journal* 2007;28:705-710
47. **Gardemann A, Lohre J, Cayci S, Katz N, Tillmanns H, Haberbosch W.** The T allele of the missense Glu(298)Asp endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated with coronary heart disease in younger individuals with high atherosclerotic risk profile. *Atherosclerosis* 2002;160:167-175
48. **Nasu K, Tsuchikane E, Katoh O, Tanaka N, Kimura M, Ehara M, Kinoshita Y, Matsubara T, Matsuo H, Asakura K, Asakura Y, Terashima M, Takayama T, Honye J, Hirayama A, Saito S, Suzuki T.** Effect of fluvastatin on progression of coronary atherosclerotic plaque evaluated by virtual histology intravascular ultrasound. *JACC Cardiovasc Interv* 2009;2:689-696
49. **Nicholls SJ, Tuzcu EM, Sipahi I, Schoenhagen P, Kapadia S, Nissen SE.** Relationship between atheroma regression and change in lumen size after infusion of Apolipoprotein A-I Milano. *JACC* 2006;47:992-997
50. **Hong MK, Park DW, Lee ChW, Lee SW, Kim YH, Kang DH, Song JK, Kim JJ, Park SW, Park SJ.** Effect of statin treatment on coronary plaques assessed by volumetric virtual histology intravascular ultrasound analysis. *J Am Coll Intv* 2009;2:679-688
51. **Sipahi I, Tuzcu EM, Schoenhagen, Nicholls S, Chen MS, Crowe T, Loyd AB, Kapadia S, Nissen SE.** Paradoxical increase in lumen size during progression of

- coronary atherosclerosis: Observations from the REVERSAL trial. *Atherosclerosis* 2006;189:229-235
52. **Takashima H, Ozaki Y, Yasukawa T, Waseda K, Asai K, Wakita Y, Kuroda Y, Kosaka T, Kuhara Y, Ito T.** Impact of lipid-lowering therapy with pitavastatin, a new HMG CoA inhibitor, on regression of coronary atherosclerosis plaque a 3-dimensional intravascular ultrasound study. *Circ J.*2007;71:1678-1684
53. **Ishikawa K, Tani S, Watanabe I, Matsumoto M, Furukawa K, Nomoto K, Kushiro T, Nagao K, Kanmatsuse K.** Effect of pravastatin on coronary plaque volume. *Am J Cardiol* 2003;92:975-977
54. **Ridker P, Cannon Ch, Morrow D, Rifai N, Rose L, McCabe C, Pfeffer M, Braunwald E.** C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *NEJM* 2005;352:20-28
55. **Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela WJ, Tsai J, Orazem J, Magorien RD, O'Shaughnessy Ch, Ganz P.** Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *NEJM.*2005;352:29-38
56. **Trogan E, Feig J, Dogan S, Rothblat GH, Angeli V, Tacke F, Randolph GJ, Fisher EA.** Gene expression changes in foam cells and the role of chemokine receptor CCR7 during atherosclerosis regression in ApoE-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:3781-3786
57. **Ridker P, Danielson E, Fonseca F, Genest J, Gotto A, Kastelein J, Koenig W, Libby P, Lorenzatti A, MacFadyen J, Nordestgaard B, Shepherd J, Willerson J, Glynn R for the JUPITER study group.** Rosuvastatin to prevent vascular event in men and women with elevated C-reactive protein. *NEJM.*2008;359:2195-2207
58. **Jha HC, Divya A, Prasad J, Mittal A.** Plasma circulatory markers in male and female patients with coronary artery disease. *Heart and Lung* 2010;39:296-303
59. **Blessing E, Bea F, Kuo CC, Campbell LA, Chesebro B, Rosenfeld ME.** Lesion progression and plaque composition are not altered in older ApoE ^{-/-} mice lacking tumor necrosis factor alpha receptor p55. *Atherosclerosis* 2004;176:227-232
60. **Ohta H, Wada H, Niwa T, Kirri H, Iwamoto N, Fujii H, Saito K, Sekikawa K, Seishima M.** Disruption of tumor necrosis factor-alpha gene diminishes the development of atherosclerosis in Apo E deficient mice. *Atherosclerosis* 2005;180:11-17

61. **Tousoulis D, Antoniades C, Nikolopoulou A, Koniari K, Vasiliadou C, Marinou K, Koumallos N, Papageorgiou N, Stefanadi E, Siasos G, Stefanidis C.** Interaction between cytokines and sCD40L in patients with stable and unstable coronary syndromes. *Eur J Clin Invest.* 2007;37:623-628
62. **Saremi A, Anderson RJ, Luo P, Moritz TE, Schwenke DC, Allison M, Reaven PD; VADT.** Association between IL-6 and the extent of coronary atherosclerosis in the veterans affairs diabetes trial (VADT). *Atherosclerosis* 2009;203:610-614
63. **Blum A, Shamburek R.** The pleiotropic effects of statins on endothelial function, vascular inflammation, immunomodulation and thrombogenesis. *Atherosclerosis* 2009; 203:325-330
64. **Lee TS, Chang CC, Zhu Y, Shyy JY.** Simvastatin induces heme oxygenase-1: a novel mechanism of vessel protection. *Circulation* 2004;110:1296 –1302
65. **Chen JC, Huang KC, Lin WW.** HMG-CoA reductase inhibitors upregulate heme oxygenase-1 expression in murine RAW264.7 macrophages via ERK, p38 MAPK and protein kinase G pathways. *Cell Signal* 2006;18:32-39
66. **Dulak J, Loboda A, Jazwa A, Zagorska A, Dörler J, Alber H, Dichtl W, Weidinger F, Frick M, Jozkowicz A.** Atorvastatin affects several angiogenic mediators in human endothelial cells. *Endothelium* 2005;12:233-241
67. **Mital S, Zhang X, Zhao G, Bernstein RD, Smith CJ, Fulton DL, Sessa WC, Liao JK, Hintze TH .** Simvastatin upregulates coronary vascular endothelial nitric oxide production in conscious dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279:H2649-2657

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|-----------|--|
| ALT | alanin aminotransferáza |
| AKS | akutní koronární syndrom |
| CABG | aortokoronární bypass (coronary artery bypass grafting) |
| CK | kreatinkináza |
| CSA | plocha ve vyšetřovaném segmentu (cross sectional area) |
| DC | kalcifikace (dense calcification) |
| ENOS | endoteliální syntéza oxidu dusnatého |
| ESS | napětí v plátu (endothelial shear stress) |
| F | fibrózní tkáň |
| FL | fibrolipidová tkáň |
| HO-1 | hemooxygenáza 1 |
| hsCRP | vysoce senzitivní C reaktivní protein, (high sensitivity C reactive protein) |
| ICAM | intercelulární adhezivní molekula |
| IL-6 | interleukin 6 |
| ICHS | ischemická choroba srdeční |
| IVUS | intravaskulární ultrazvuk |
| NC | nekrotická tkáň (necrotic core) |
| PAV | procentuální objem plátu (percent atheroma volume) |
| PCR | polymerázová řetězová reakce |
| PB | zátěž plátem (plaque burden) |
| SKG | selektivní koronarografie |
| TAVi | indexovaný celkový objem plátu (total atheroma volume) |
| TNF alpha | tumor nekrosis faktor alfa |
| VCAM | vaskulární buněčná adhezivní molekula |
| VH | virtuální histologie |

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | | |
|------------|---|----|
| Obrázek 1 | Výpočet napětí v cévní stěně..... | 16 |
| Obrázek 2 | IVUS zobrazení fibrokalifikovaného plátu | 20 |
| Obrázek 3 | Sonda pro intravaskulární ultrazvuk na intrakoronárním vodiči..... | 21 |
| Obrázek 4 | Schéma IVUS sondy v koronární tepně | 21 |
| Obrázek 5 | Příklad zobrazení virtuální histologie | 22 |
| Obrázek 6 | Analýza množství nekrotické tkáně na 3D rekonstrukci koronární tepny | 23 |
| Obrázek 7 | Příklad měření WSS | 23 |
| Obrázek 8 | 3D rekonstrukce odstupe postranní větve | 24 |
| Obrázek 9 | Příklad srovnání složení plátu při vstupním a kontrolním vyšetření..... | 38 |
| Obrázek 10 | Příklad hodnocení napětí v cévní stěně | 40 |

SEZNAM TABULEK

| | | |
|-----------|---|----|
| Tabulka 1 | Charakteristika souboru | 30 |
| Tabulka 2 | Lipidogram | 31 |
| Tabulka 3 | Změny sledovaných markerů..... | 32 |
| Tabulka 4 | IVUS parametry | 34 |
| Tabulka 5 | Složení plátů a jeho změny v průběhu studie | 39 |
| Tabulka 6 | Hladiny CK a ALT | 42 |

SEZNAM GRAFŮ

| | | |
|--------|--|----|
| Graf 1 | Relativní změny objemů..... | 35 |
| Graf 2 | Vztah PAV a změny hladiny LDL cholesterolu v % | 35 |
| Graf 3 | Vztah PAV a cílové hladiny HDL cholesterolu | 36 |
| Graf 4 | Vztah PAV a rozdílu LDL-HDL během kontrolního vyšetření | 36 |
| Graf 5 | Vztah změny PAV a dosažení různých cílových hodnot LDL a hsCRP..... | 37 |
| Graf 6 | Multivariační regresní analýza prediktorů kombinované regrese | 37 |
| Graf 7 | Změny v procentuálním složení aterosklerotických plátů..... | 40 |
| Graf 8 | Změny ve složení ateroskler. plátů v závislosti na typu polymorfismu | 41 |
| Graf 9 | Změny ve složení ateroskler. plátů v závislosti na typu polymorfismu | 42 |

SEZNAM PUBLIKACÍ

PUBLIKACE S IF IN EXTENSO, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTACE

Kovarnik T, Skalicka H, Horak J, Kral A, Mintz GS, Skulec R, Uhrova J, Martasek P, Sonka M, Wahle A, Downe R, Mrazek V, Aschermann M, Linhart A. Virtual histology evaluation of atherosclerosis regression during atorvastatin and ezetimibe administration - HEAVEN study. *Circulation Journal*, IF 3,225

Kovárník T, Král A, Skalická H, Skalická L, Dostál O, Králík L, Martásek P, Aschermann M, Linhart A. Prediction of coronary vessel involvement on the basis of atherosclerosis risk factor analysis, levels of proinflammatory cytokines, polymorphisms of genes regulating vascular tone and ultrasonographic examination of carotid arteries. *Bratislava Medical Journal*, 2011 přijato k publikaci, IF 0.317

Kral A, **Kovarnik T**, Kralik L, Skalicka H, Horak J, Uhrova J, Sonka M, Wahle A, Downe R, Aschermann M, Marasek P, Linhart A. Genetic variants in heme oxygenase 1 and endothelial nitric oxide synthase influence the extent and evolution of coronary artery atherosclerosis. *Folia Biologica* 2011 přijato k publikaci, IF 1.14

Downe RW, Wahle A, Garvin JW, **Kovarnik T**, Horak J, Lopez JJ, Sonka M. Identification and 3-D modeling of coronary branches in intravascular ultrasound. *Lecture Notes in Computer Science* 2011 přijato k publikaci, IF 0,25

PUBLIKACE V ČASOPISECH BEZ IF, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTACE

Řezníček, Vít; **Kovárník, Tomáš**; Holm, František; Horák, Jan; Šimek, Stanislav; Nováčková, Kateřina; Aschermann, Michael. LN00B107 MŠMT ČR, assignee. Hodnocení morfologie aterosklerotických plátů intravaskulárním ultrazvukem. *Postgraduální medicína* 5(3): s.302-305; 2003.

Kovárník, Tomáš; Řezníček, Vít; Nováčková, Kateřina; Bělohlávek, Jan; Horák, Jan; Holm, František; Šimek, Stanislav; Aschermann, Michael. Srovnání morfologie aterosklerotických plátů u nemocných se stabilní anginou pectoris a akutním

koronárním syndromem při vyšetření intravaskulárním ultrazvukem. Structure of atherosclerotic plaques compared in patients with stabile angina pectoris and with acute coronary syndrome during intravascular ultrasound examination. Časopis lékařů českých 142(8): s. 460-464; 2003.

Kovárník, Tomáš; Aschermann, Michael: Regrese aterosklerotických plátů při léčbě statiny. Regression of atherosclerotic plaques during treatment with statins. Časopis lékařů českých, 2004, 143, (č.10), s. 669-675.

Kovárník, Tomáš; Horák, Jan; Dostál, Ondřej; Aschermann, Michael; Linhart, Aleš: Virtuální histologie - nová metoda v intervenční kardiologii. Virtual histology - a novel methods in interventional kardiology. Cor et Vasa, 2006, 48, (č.5), 192-196.

Kovárník, Tomáš; Horák, Jan; Aschermann, Michael: Časná diagnostika koronární aterosklerózy. Early diagnosis of atherosclerosis in coronary arteries. Postgraduální medicína, 2006, (č. Mimořádná příloha), s.21-25.

PUBLIKACE BEZ VZTAHU K TÉMATU DIZERTACE S IF

Škulec, Roman; Bělohávek, Jan; **Kovárník, Tomáš;** Kolář, Jiří; Gandalovičová, Jana; Dytrych, Vladimír; Linhart, Aleš; Aschermann, Michael: Serum cardiac markers response to biphasic and monophasic electrical cardioversion for supraventricular tachyarrhythmia - a randomised study. Resuscitation, 2006, 70, (č.3), s.423-431. IF=2.314

Kovárník, Tomáš; Mintz, G. S.; Karetová, Debora; Horák, Jan; Bultas, Jan; Škulec, Roman; Skalická, Hana; Aschermann, Michael; Elleder, Milan; Linhart, Aleš: Intravascular ultrasound assessment of coronary artery involvement in Fabry disease. Postižení koronárních tepen u Fabryho nemoci hodnocené intravaskulárním ultrazvukem. Journal of Inherited Metabolic Disorders, 2008, 31, s.753-760. IF=2.691

Škulec, Roman; Dostálová, Gabriela; **Kovárník, Tomáš;** Linhart, Aleš; Šeblová, Jana: Therapeutic hypothermia in cardiac arrest survivors: A survey of practice in the Czech

Republic. Therapeutická hypotermie po srdeční zástavě: průzkum používání v České republice. Letter to the editor. Resuscitation, 2008, 77, (č.3), s.419-420. IF=2.513

Škulec, Roman; **Kovárník, Tomáš**; Dostálová, Gabriela; Kolář, Jiří; Linhart, Aleš: Induction of mild hypothermia in cardiac arrest survivors presenting with cardiogenic shock syndrome. Indukce mírné hypotermie u nemocných po srdeční zástavě se syndromem kardiogenního šoku. Acta Anaesthesiologica Scandinavica 2008, 52, (č.2), s.188-194. IF=1.953

Karetová, Debora; Bultas, Jan; Dostálová, Gabriela; Paleček, Tomáš; **Kovárník, Tomáš**; Goláň, Lubor; Linhart, Aleš. Fabry disease - Vascular manifestations. Fabryho nemoc - cévní postižení. Vasa. 39 s. 123-131; 2010. IF=0.867

Havranek, Stepan, Belohlavek, Jan, Skulec, Roman, **Kovarnik, Tomas**, Dytrych, Vladimir, Linhart, Ales: Long-term prognostic impact of hyponatremia in the ST-elevation myocardial infarction. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation 2011, 71(1), s. 38-44. IF=1.380

Kovarnik T, Mintz GS, Sonka M. The late stent malapposition develops also after paclitaxel balloon predilatation before bare-metal stent implantation:case description. Eur Heart J. 2011 Jun;32(11):1432 IF 9.8

Kvasnička J, Horák J, Zenáhlíková Z, Kvasnička T, Simek S, **Kovárník T**, Malíková I, Linhart A, Aschermann M. Reduced Thrombin Generation and Soluble P-selectin After Intravenous Enoxaparin During PCI. Cardiovasc Drugs Ther. 2011;25:243-50. IF 2.515

PUBLIKACE BEZ VZTAHU K TÉMATU DIZERTACE BEZ IF

Aschermann, Michael - **Kovárník, Tomáš** - Nováčková, Kateřina - Linhart, Aleš: Současné poznatky o zánětlivé etiologii akutních koronárních syndromů. Cor et Vasa 41(9): s.455-459; 1999.

Aschermann, Michael; Hornig, Alfréd; **Kovárník, Tomáš**. Využití metody IVUS v kardiologii. Zdravotnické noviny (příl. Lékařské listy) 49(45): s.1-2; 2000.

Aschermann, Michael; **Kovárník, Tomáš**; Aschermann, Ondřej; Hornig, Alfréd. Co přináší intravaskulární ultrazvuk kardiologii? Kapitoly z kardiologie (2): s.138-139; 2000.

Aschermann, Michael; **Kovárník, Tomáš**; Aschermann, Ondřej. Restenóza po koronární intervenci. Kapitoly z kardiologie (2): s. 94-97; 2000.

Aschermann, Michael; Aschermann, Ondřej; **Kovárník, Tomáš**: Genová léčba restenózy po koronárních intervencích. Gene therapy for restenosis after coronary interventions. Cor et Vasa 2001, 43, (č.1), s.41-46.

Řezníček, Vít; Aschermann, Michael; **Kovárník, Tomáš**; Hornig, Alfréd: Role intravaskulárního ultrazvuku pacientů se stenózou levé věnčité tepny - vlastní zkušenosti. Role of intravascular ultrasound in the patient with the left main stem stenosis - own experience. Zdravotnické noviny (příl. Lékařské listy) 2002, 51, (č.7), s. 22-23.

Holm, František; **Kovárník, Tomáš**; Aschermann, Michael; Šimek, Stanislav; Linhart, Aleš; Humhal, Jiří; Škulec, Roman; Řezníček, Vít: Přímá perkutánní transluminální koronární angioplastika u pacientů s akutním infarktem myokardu v Kardiocentru VFN Praha: jednorocní retrospektivní studie. Vnitřní lékařství 2002, 48, (č.5), s. 373-379.

Horák, Jan; Holm, František; Řezníček, Vít; **Kovárník, Tomáš**; Nováčková, Kateřina; Aschermann, Michael: Nové metody hodnocení významnosti koronární aterosklerózy. New methods in the evaluation of coronary atherosclerosis severity. Pelnářův večer 18. března 2002. Časopis lékařů českých 2002, 141, (č.22), s.719-720.

Kovárník, Tomáš; Řezníček, Vít; Hornig, Alfréd; Nováčková, Kateřina; Aschermann, Michael: Intravaskulární ultrazvuk - současné možnosti využití. Intravascular ultrasound and the current potential of its use. Cor et Vasa 2002, 44, (č.1), s.24-30.

Bělohlávek, Jan; Škulec, Roman; **Kovárník, Tomáš**; Linhart, Aleš; Pšenička, Miroslav; Aschermann, Michael. Kardiogenní šok - komplexní terapeutický přístup. Cardiogenic shock - complex therapeutical approach. Časopis lékařů českých 142(10): s. 586-589; 2003.

Kovárník, Tomáš; Řezníček, Vít; Nováčková, Kateřina; Linhart, Aleš; Bělohlávek, Jan; Holm, František; Horák, Jan; Aschermann, Michael. Srovnání výskytu pozitivní a negativní cévní remodelace u nemocných se stabilní vs. nestabilní anginou pectoris. The differences between occurrence of positive or negative type of remodeling in patients with stable angina pectoris vs. unstable angina pectoris, assed by intravascular ultrasound. Vnitřní lékařství 49(2): s. 103-108; 2003.

Kovárník, Tomáš; Řezníček, Vít; Nováčková, Kateřina; Bělohlávek, Jan; Horák, Jan; Holm, František; Šimek, Stanislav; Aschermann, Michael. Srovnání morfologie aterosklerotických plátů u nemocných se stabilní anginou pectoris a akutním koronárním syndromem při vyšetření intravaskulárním ultrazvukem. Structure of atherosclerotic plaques compared in patients with stabile angina pectoris and with acute coronary syndrome during intravascular ultrasound examination. Časopis lékařů českých 142(8): s. 460-464; 2003.

Šimek, Stanislav; Aschermann, Michael; Horák, Jan; Řezníček, Vít; Humhal, Jiří; **Kovárník, Tomáš**. grant LN00B107 MŠMT ČR, assignee. Intervenční léčba koronární aterosklerózy. Postgraduální medicína 5(3): s. 334-338; 2003.

Škulec, Roman; Bělohlávek, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Linhart, Aleš; Aschermann, Michael. Kontrastová nefropatie a možnosti její prevence. Contrast-induced nephropathy and its prevention. Vnitřní lékařství 49(2): s. 127-133; 2003.

Danzig, Vilém; Horák, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Frausová, Doubravka: Těžké a obtížně řešitelné postižení koronárního řečiště u diabetika 2.typu. A difficult and complicated solution to a serious case of an inadequate coronary blood flow in a patient suffering from type 2 diabetes. Kazuistiky v diabetologii, 2004, 2, (č.3), s. 36-38.

Kovárník, Tomáš; Řezníček, Vít; Nováčková, Kateřina; Horák, Jan; Šimek, Stanislav; Aschermann, Michael: Ruptury aterosklerotických plátů u nemocných se stabilní vs. nestabilní anginou pectoris. Atherosclerotic plaque rupture in patients with stable and unstable angina pectoris. *Cor et Vasa*, 2004, 46, (č.8), s.365-370.

Šimek, Stanislav; Aschermann, Michael; Horák, Jan; **Kovárník, Tomáš;** Řezníček, Vít; Škulec, Roman; Danzig, Vilém; Mrázek, Vratislav: Koronární stenty uvolňující farmaka (DES - Drug Eluting Stents) - revoluce v léčbě ischemické choroby srdeční. Drug Eluting Stents (DES) - revolutionary treatment for coronary heart disease. *Remedia*, 2004, 14, (č.2), s.153-165.

Šimek, Stanislav; Aschermann, Michael; Holm, František; Humhal, Jiří; Linhart, Aleš; Pšenička, Miroslav; Roháč, J.; Řezníček, Vít; **Kovárník, Tomáš;** Mrázek, Vratislav: Vliv přímé koronární angioplastiky na dlouhodobou prognózu nemocných s diabetes mellitus. How does the primary coronary angioplasty effect the long term prognosis of diabetes mellitus. *Vnitřní lékařství*, 2004, 50, (č.2), s.118-125.

Šimek, Stanislav; Kuchynka, Petr; Horák, Jan; **Kovárník, Tomáš;** Škulec, Roman; Bělohávek, Jan; Aschermann, Michael: Akutní infarkt zadní stěny - STEMI nebo NSTEMI. Acute myocardial infarction of posterior wall - STEMI or NSTEMI? *Intervenční a akutní kardiologie*, 2004, 3, (č.suppl.C), s.C20-C21.

Šimek, Stanislav; Lubanda, Jean-Claude Mukonkole; Aschermann, Michael; Humhal, Jiří; Horák, Jan; **Kovárník, Tomáš;** Pšenička, Miroslav; Goláň, Lubor; Danzig, Vilém; Mrázek, Vratislav: How does the time to treatment affects the long-term prognosis for patients with acute myocardial infarction treated with primary coronary angioplasty? *Kardiologia Polska*, 2004, 61, (č.8), s. 91-99.

Škulec, Roman; Bělohávek, Jan; **Kovárník, Tomáš;** Linhart, Aleš; Kolář, Jiří; Aschermann, Michael: Účinnost bifázické a monofázické elektrické kardioverze u pacientů se supraventrikulární tachykardií. The efficacy of biphasic and monophasic electrical cardioversion in patients with supraventricular tachycardia. *Cor et Vasa*, 2004, 46, (č.5), s.215-219.

Bělohlávek, Jan; Škulec, Roman; **Kovárník, Tomáš**; Horák, Jan; Šimek, Stanislav; Linhart, Aleš; Aschermann, Michael: Perkutánní koronární intervence u akutního infarktu myokardu komplikovaného kardiogenním šokem. Percutaneous coronary intervention in acute myocardial complicated by cardiogenic shock. Postgraduální medicína, 2005, 7, (č.3), s.298-302.

Bělohlávek, Jan; Škulec, Roman; **Kovárník, Tomáš**; Jansa, Pavel; Linhart, Aleš; Aschermann, Michael: Protrahovaná neinvazivní umělá plicní ventilace u pacienta s těžkou plicní hypertenzí: Kazuistika. Prolonged non-invasive pulmonary ventilation in a patient with severe pulmonary hypertension - case report. Kardioforum, 2005, 3, (č.1), s. 40-43.

Kovárník, Tomáš; Aschermann, Michael: Postavení intravaskulárního ultrazvuku v kardiologii. Postgraduální medicína, 2005, 7, (č.3), s.307-311.

Kovárník, Tomáš; Horák, Jan; Aschermann, Michael: Využití intravaskulárního ultrazvuku v katetizační laboratoři. The role of intravascular ultrasound in the catheterisation laboratory. Intervenční a akutní kardiologie, 2005, 4, (č.1), s. 24-32.

Kovárník, Tomáš; Škulec, Roman: Bolest na hrudi u nemocných s normálním nálezem při selektivní koronarografii. příloha Postgraduální medicína, 2005, 7, (č.3), s. 41-48.

Šimek, Stanislav; Horák, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Škvařilová, Marcela; Humhal, Jiří; Mrázek, Vratislav; Aschermann, Michael: Koronární lékové stenty - problém restenózy téměř vyřešen. Postgraduální medicína, 2005, 7, (č.3), s.303-306.

Šimek, Stanislav; Horák, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Danzig, Vilém; Kuchynka, Petr; Goláň, Lubor; Mrázek, Vratislav; Aschermann, Michael: Akutní koronární syndromy. Medicína po promoci, 2005, 6, (č.3), s.63-71.

Škulec, Roman; Bělohlávek, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Dytrych, Vladimír; Pšenička, Miroslav; Horák, Jan; Linhart, Aleš; Aschermann, Michael: První zkušenosti s indukcí mírné hypotermie u nemocných po srdeční zástavě. Initial experience with inducing mild hypothermia in cardiac arrest patients. Cor et Vasa, 2005, 47, (č.6), s. 235-241.

Aschermann, Michael; **Kovárník, Tomáš**; Horák, Jan; Aschermann, Ondřej: Diagnostické metody využívané v průkazu regrese koronární aterosklerózy. Diagnostic methods in coronary artery atherosclerosis regression. Kapitoly z kardiologie, 2006, 8, (č.2), s. 46-51.

Aschermann, Michael; **Kovárník, Tomáš**; Veselka, Josef; Linhart, Aleš: Perspektivy intervenční kardiologie. Kardiologie v primární péči, 2006, 1, (č.1), s. 21-25.

Kovárník, Tomáš; Horák, Jan; Aschermann, Michael: Časná diagnostika koronární aterosklerózy. Early diagnosis of atherosclerosis in coronary arteries. Postgraduální medicína, 2006, (č.Mimořádná příloha), s.21-25.

Kovárník, Tomáš; Horák, Jan; Dostál, Ondřej; Aschermann, Michael; Linhart, Aleš: Virtuální histologie - nová metoda v intervenční kardiologii. Virtual histology - a novel methods in interventional cardiology. Cor et Vasa, 2006, 48, (č.5), s. 192-196.

Kvasnička, Jan; Horák, Jan; Kvasnička, Tomáš; Bílková, Jana; Humhal, Jiří; Šimek, Stanislav; **Kovárník, Tomáš**; Malíková, Iva; Bohuslávek, Jan; Aschermann, Michael: Změny koagulace při PCI po jednorázovém podání nízkomolekulárního heparinu enoxaparinu v dávce 0,75 mg/kg hmotnosti i.v. - farmakokinetická studie. Changes in coagulation after single i.v. bolus 0,75 mg per kg of the low molecular weight heparin enpxaparin during PCI - a pharmacokinetic study. Cor et Vasa, 2006, 48, (č.6), s. 218-225.

Dostál, Ondřej; Bělohávek, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Kuchynka, Petr; Linhart, Aleš: Infarkt myokardu u starších pacientů. Myocardial nfarction in elderly patients. Kardiologická revue, 2007, 9, (č.2), s. 82-87.

Dytrych, Vladimír; Bělohávek, Jan; Lindner, Jaroslav; Grus, Tomáš; Škulec, Roman; **Kovárník, Tomáš**; Poláček, Pavel; Linhart, Aleš; Aschermann, Michael: Subakutní ruptura volné stěny levé komory u nemocného s non-STEMI inferolaterálně. prezentující se kardiogenním šokem a kritickou končetinovou ischémií. Subacute rupture of the free left ventricular wall in a patient with inferolateral non-STEMI

presenting by cardiogenic shock and critical limb ischemia. *Cor et Vasa*, 2007, 49, (č.9), s. 313-317.

Kovárník, Tomáš; Horák, Jan; Aschermann, Michael; Linhart, Aleš: Praktické hodnocení intravaskulárního ultrazvuku. Practical assessment of intravascular ultrasound. *Intervenční a akutní kardiologie*, 2007, 6, (č.1), s. 24-29.

Škulec, Roman; Bělohlávek, Jan; Dytrych, Vladimír; **Kovárník, Tomáš**; Horák, Jan; Pšenička, Miroslav; Šimek, Stanislav; Aschermann, Michael; Linhart, Aleš: Protokol pro použití terapeutické mírné hypotermie u nemocných po srdeční zástavě. A protocol of therapeutic mild hypothermia in patients developing cardiac arrest. *Cor et Vasa*, 2007, 49, (č.2), s. 61-65.

Dostál, Ondřej; Bělohlávek, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Linhart, Aleš: Akutní koronární syndrom u starších pacientů. Acute coronary syndrom in elderly patients. *Intervenční a akutní kardiologie*, 2008, 7, (č.suppl.B), s. 20-25.

Dytrych, Vladimír; Bělohlávek, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Jansa, Pavel; Linhart, Aleš; Aschermann, Michael: Trombolytická léčba u akutní plicní embolie. Thrombolytic therapy in acute pulmonary embolism. *Cor et Vasa*, 2008, 50, (č.6), s. 246-253.

Škulec, Roman; **Kovárník, Tomáš**; Bělohlávek, Jan; Dostálová, Gabriela; Kolář, Jiří; Linhart, Aleš; Šeblová, J.: Nadměrné ochlazení během mírné hypotermie po srdeční zástavě - fenomén zasluhující pozornost. Overcooling during mild hypothermia in acrdiac arrest survivirs - phenomenon we should keep in mind. *Vnitřní lékařství*, 2008, 54, (č.6), s. 609-614.

Aschermann, Michael; **Kovárník, Tomáš**; Horák, Jan; Aschermann, Ondřej. Invazivní vyšetření u nemocných s ischemickou chorobou srdeční. Mimořádná příloha *Postgraduální medicíny*. s.41-47; 2009.

Kovárník, Tomáš; Horák, Jan; Aschermann, Michael; Linhart, Aleš. IGA 9214-3, assignee. Možnosti intravaskulárního ultrazvuku a virtuální histologie při vedení

koronárních intervencí. The potential of intravascular ultrasound and virtual histology for guiding coronary interventions. *Cor et Vasa*. 51(suppl 1): s. 32-39; 2009.

Šimek, ; Horák, Jan; Bělohávek, Jan; **Kovárník, Tomáš**; Humhal, Jiří; Řezníček, Vít; Aschermann, Michael. MSM 0021620817, assignee. Extrakce trombů zlepšuje prognózu u pacientů s akutním infarktem myokardu. *Cor et Vasa*. 51 (suppl 1): s. 53-57; 2009.

Bělohávek, Jan; Dytrych, Vladimír; **Kovárník, Tomáš**; Šmíd, Ondřej; Linhart, Aleš. Akutní selhání ledvin s nutností kontinuálních hemoelimačních metod na koronární jednotce kardiocentra. Acute renal failure requiring use of continuous renal replacement therapy methods in the coronary care unit of a cardiac center. *Cor et Vasa*. 52(3): s. 121-126; 2010.

Kovárník, Tomáš; Horák, Jan. Neobvyklá příčina akutního koronárního syndromu. Kapitoly z kardiologie pro praktické lékaře. 2(1): s. 39-39; 2010.