

Nowoczesne metody obrazowania ranliwej blaszki miażdżycowej *Current imaging modalities of vulnerable atherosclerotic plaques*

Radosław Pracoń, Jerzy Pręgowski

I Klinika Choroby Wieńcowej, Instytut Kardiologii, Warszawa

Post Kardiol Interw 2008; 4, 1 (11): 20–30

Słowa kluczowe: ostry zespół wieńcowy, ranliwa blaszka miażdżycowa, obrazowanie tętnic wieńcowych

Key words: acute coronary syndrome, vulnerable plaque, coronary imaging

Wstęp

Ostre zespoły wieńcowe (ang. *acute coronary syndrome* – ACS) są główną przyczyną zgonów w krajach rozwiniętych [1, 2]. W około 60% przypadków pierwsza manifestacja choroby jest nagła i ma postać zawału serca lub nagłej śmierci sercowej (ang. *sudden cardiac death* – SCD) [3, 4]. Obecnie nie dysponujemy metodą diagnostyczną pozwalającą na precyzyjne określenie ryzyka wystąpienia ACS. Jednym z intensywnie badanych kierunków jest poszukiwanie metody obrazowej, która pozwoliłaby na identyfikację blaszki miażdżycowej zagrożonej destabilizacją i mogącej prowadzić do krytycznego niedokrwienia mięśnia sercowego [5]. Koncepcja istnienia takiej blaszki rozwija się bardzo dynamicznie od lat 80. ubiegłego wieku, kiedy Davies i wsp. jako jedni z pierwszych powiązali SCD z pęknięciem blaszki i tworzeniem się na jej powierzchni skrzepliny [6]. Od tego czasu liczne retrospektywne badania patomorfologiczne pozwoliły na określenie cech strukturalnych zmiany miażdżycowej o dużym ryzyku wywołania ACS [7, 8].

Blaszki miażdżycowe istotnie zwięzające światło tętnic wieńcowych w obrazie angiograficznym często nie są odpowiedzialne za ich nagłe zamknięcie [9]. Jak pokazują badania patomorfologiczne, niewątpliwie najczęstszym zjawiskiem towarzyszącym zmianom odpowiedzialnym za ACS są pęknięcia blaszek miażdżycowych (55–60%) prowadzące do agregacji płytek krwi i aktywacji procesów fibrynogenezy [7, 10, 11]. Dostatecznie często (30–35%) skrzeplinie krytycznie upośledzającej przepływ wieńcowy towarzyszy powierzchniowy ubytek nabłonka pokrywającego blaszkę miażdżycową, czyli tzw. erozja [12, 13]. Prowadzi ona do ekspozycji wysoce trombogennego proteoglikanowego podłoża na działanie czynników krzepnięcia

zawartych we krwi [14]. Najrzadziej (2–7%) z ACS współwystępują powierzchniowo położone złogi wapnia w postaci guzków przebijających się do światła naczynia, które inicjują tworzenie skrzepliny [15].

Najbardziej interesująca z punktu widzenia prewencji zdarzeń sercowo-naczyniowych, w tym głównie SCD, jest morfologia blaszki miażdżycowej przed wystąpieniem powikłania w postaci upośledzającej przepływ krwi skrzepliny. Histopatologiczna analiza zmian odpowiedzialnych za ostre niedokrwienie pozwoliła na określenie takich cech w przypadku pękniętych blaszek. Okazało się, że najbardziej podobne do pękniętych są blaszki o dużej (najczęściej >50%) zawartości lipidów, pokryte cienką (w 95% przypadków <65 µm) otoczką włóknistą (ang. *thin-cap fibroatheroma* – TCFA) [15–17]. Rdzeń takiej blaszki, oprócz złogów lipidowych, jest nacieczony makrofagami i często zawiera osłabiające jego strukturę obszary martwicze [18, 19]. Martwicza tkanka wewnątrz rdzenia może się rozszerzać w wyniku krwotoków do blaszki, które są potęgowane nasilonym rozrostem *vasa vasorum* w jej wnętrzu [20]. Dodatkowym czynnikiem osłabiającym strukturę jest mała liczba komórek mięśni gładkich. Otoczki włókniste zawierają nieco mniej martwiczej tkanki i wapnia oraz wykazują mniejszą infiltrację komórkami zapalnymi niż blaszki pęknięte, co potwierdza rolę TCFA jako progenitora pęknięć [21]. Innymi cechami blaszek miażdżycowych, które predysponują do wywołania epizodów ostrego niedokrwienia, są zwężenie >90% oraz dodatkowa przebudowa naczynia [15, 22–24].

Pęknięciu blaszki miażdżycowej o morfologii TCFA towarzyszy stan zapalny [25]. Kluczową rolę w identyfikacji etapów prowadzących do osłabienia struktury zmiany miażdżycowej odegrały prace Libby'ego [11]. Badania

Adres do korespondencji/Corresponding author: dr n. med. Jerzy Pręgowski, I Klinika Choroby Wieńcowej, Instytut Kardiologii, ul. Alpejska 42, 04-628 Warszawa, tel. +48 22 343 43 40, faks +48 22 613 38 19, e-mail: jerzy_pregowski@yahoo.com
Praca wpłynęła 08.02.2008, przyjęta do druku 10.02.2008.

tej grupy wskazują na znaczenie aktywnych makrofagów oraz neutrofilów jako inicjatorów stanu zapalnego [18–19]. Wydzielają one w nadmiernych ilościach metaloproteinazy (MMP), które prowadzą do rozkładu substancji pozakomórkowej [26]. Ponieważ w ranliwej blaszce brakuje miocytów mogących odbudować kolagen, dochodzi do przewagi lizy nad syntezą i degradacji jej struktury. Zaktywowane limfocyty T produkują interferon dodatkowo hamujący syntezę kolagenu [27, 28]. Istotną rolę w destruktywnej aktywności MMP odgrywa utleniona frakcja LDL cholesterolu wchodzącego w skład rdzenia lipidowego, która indukuje apoptozę komórek mięśni gładkich [29]. Okazuje się, że niestabilne blaszki miażdżycowe dosyć często występują w kilku miejscach drzewa wieńcowego jednocześnie, a markery lokalnego stanu zapalnego są obecne we krwi obwodowej [30]. W związku z tym postuluje się, że stan zapalny u pacjentów z niestabilnymi zmianami miażdżycowymi może być ogólny [30].

Stopniowe poznawanie mechanizmów prowadzących do pęknięcia blaszki miażdżycowej, a w konsekwencji do ACS, stwarza szansę na zidentyfikowanie tzw. zmian wysokiego ryzyka i na ewentualne podjęcie odpowiednich działań prewencyjnych. Współczesna medycyna dysponuje wieloma nowoczesnymi technikami obrazowania, często opartymi na zaawansowanej technologii, które próbuje się wykorzystać do wykrycia wyżej opisanych blaszek zagrożonych pęknięciem. Niniejszy artykuł stanowi przegląd najbardziej obiecujących metod.

Metody inwazyjne

Ultrasonografia

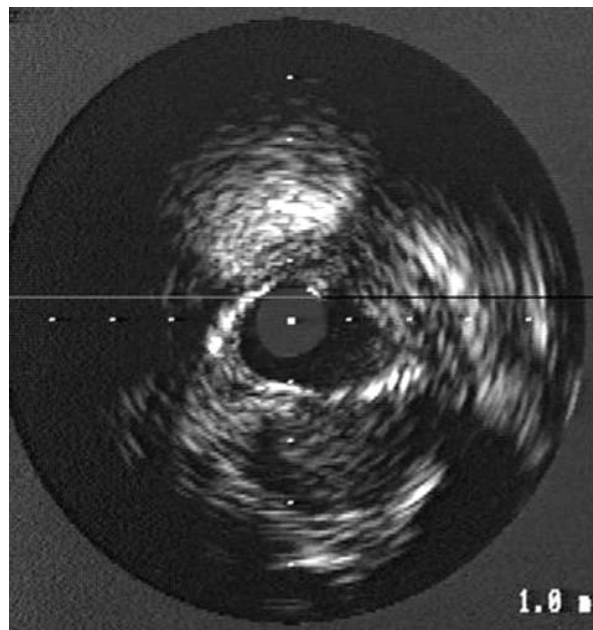
Ultrasonografia wykorzystuje wiązkę promieni ultradźwiękowych, które po odbiciu od badanej struktury są przetwarzane w jej dwuwymiarowy obraz. Wykorzystanie ultradźwięków do identyfikacji ranliwych blaszek stało się możliwe dzięki miniaturyzacji głowicy i uzyskaniu sygnału z wnętrza naczyń wieńcowych (ang. *intravascular ultrasound – IVUS*) [31]. Obrazowanie za pomocą IVUS pozwoliło na przyżyciową kategoryzację blaszek jako: 1) miękkie, będące źródłem słabego echa (ang. *echolucent*), które w histopatologii odpowiadają blaszkom z dużą zawartością lipidów, 2) włókniste, z echem pośrednim, 3) zwapniałe, z cieniem akustycznym poprzedzonym bardzo silnym odbiciem fali [31–34]. Analiza poszczególnych przekrojów naczynia umożliwia dokładną lokalizację blaszki, określenie jej symetrii, identyfikację pęknięć i owrzodzeń na jej powierzchni, a także wykrycie dodatniej przebudowy naczynia w miejscu blaszki [35, 36]. Retrospektywny opis zmian odpowiedzialnych za ACS wykonany za pomocą IVUS jest zgodny z badaniami histopatologicznymi. Najczęściej są to blaszki miękkie, ekscentryczne, cechujące się dodatnią przebudową naczynia; często na ich powierzchni widoczne jest pęknięcie (ryc. 1.) [36]. Charakterystyka ta znajduje częściowe potwierdzenie w pro-

spektywnej analizie Yamagishiego i wsp. opisującej morfologię blaszek przed wystąpieniem ACS [37].

Okazuje się jednak, że nie wszystkie zmiany o powyższej charakterystyce blaszek ranliwych stanowią podłoże nagłego zamknięcia tętnic wieńcowych, są one również opisywane u chorych ze stabilną dusznicą bolesną [38]. Nie ma także wystarczającej zgodności pomiędzy autorami co do poszczególnych cech ranliwości. Ultrasonografia wewnątrznaczyniowa z rozdzielczością wynoszącą > 150 μm nie jest w stanie uwidocznnić obecności cienkiej (< 65 μm) otoczki kolagenowej typowej dla TCFA, a opis morfologii blaszki pozostaje mało dokładnym opisem jakościowym. Wszystko to wyraźnie wskazuje na potrzebę dokładniejszego opisu morfologii blaszek i precyzyjniejszej identyfikacji zmian o dużym ryzyku pęknięcia, niż może zaoferować konwencjonalny *gray scale* IVUS. Dlatego podjęte zostały próby ilościowej analizy sygnału uzyskanego za pomocą konwencjonalnej sondy wewnątrzwieńcowej. Nowatorskie techniki przetwarzają pasmo fal częstotliwości radiowej (ang. *radiofrequency IVUS – RF-IVUS*), a następnie wnioskuje o składzie blaszek na podstawie analizy amplitudy i częstotliwości fali echa [39–47]. Warto pamiętać, że *gray scale* IVUS do analizy obrazu wykorzystuje tylko amplitudę (intensywność) fali odbicia.

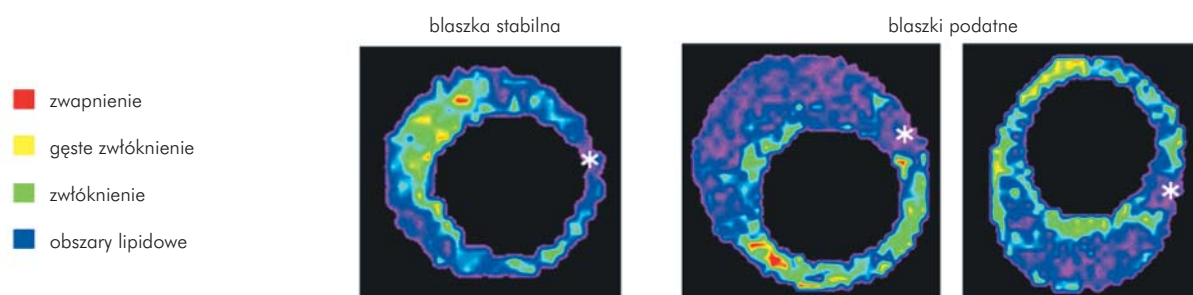
Badanie *integrated backscatter* IVUS (IB-IVUS)

W badaniu IB-IVUS kodowana kolorem mapa tkanowa jest formowana na podstawie zintegrowanej fali odbicia (ang. *integrated backscatter RF signals*), parametru



Ryc. 1. Obraz pękniętej blaszki, która wywołała ostry zespół wieńcowy, w badaniu za pomocą ultrasonografii wewnątrzwieńcowej (materiał własny)

Fig. 1. IVUS image of a ruptured coronary plaque responsible for an acute coronary syndrome



Ryc. 2. Obraz blaszek miażdżycowych w badaniu IB-IVUS. Gwiazdka oznacza *guidewire artifact* (dzięki uprzejmości dr M. Kwasaki)
Fig. 2. IB-IVUS images of atherosclerotic plaques (the asterisk indicates the *guidewire artifact*). (Courtesy of M. Kawasaki, MD)

uzyskanego z domeny częstotliwości przy użyciu transformaty Fouriera [39]. Kawasaki i wsp. na podstawie badania histopatologicznego jakościowo przypisali odpowiednie zakresy wartości IB sygnału RF pięciu kategoriom tkanek, którymi są: skrzeplina, rozrost intymy/rdzeń lipidowy, tkanka włóknista, zmiany mieszane i uwapnione. Wykorzystując powyższe kategorie, Sano i wsp. prospektywnie porównali morfologię blaszek, które w 30-miesięcznej obserwacji spowodowały ACS, z tymi, które okazały się stabilne (ryc. 2. i 3.). Z analizy wynika, że ranliwe blaszki charakteryzują się istotnie większą komponentą lipidową i mniejszą kolagenową [40]. Okazało się jednak, że badanie ma zbyt wiele ograniczeń, aby uzyskać parametry o wysokich wartościach predykcyjnych ACS. Do ograniczeń metody należy niemożność rozróżnienia pomiędzy rozrostem intymy a rdzeniem lipidowym, niemożność odróżnienia lipidów pozakomórkowych od makrofagów i komórek piankowych oraz zależność obrazu od kąta ustawienia cewnika w stosunku do ściany naczynia [39]. Badanie histopatologicznie weryfikujące IB-IVUS, które obecnie oczekuje na publikację w wersji pełnotekstowej, wysoko ocenia dokładność metody w identyfikacji blaszek włóknistych, włóknisto-wapniejących i bogatych w lipidy [41].

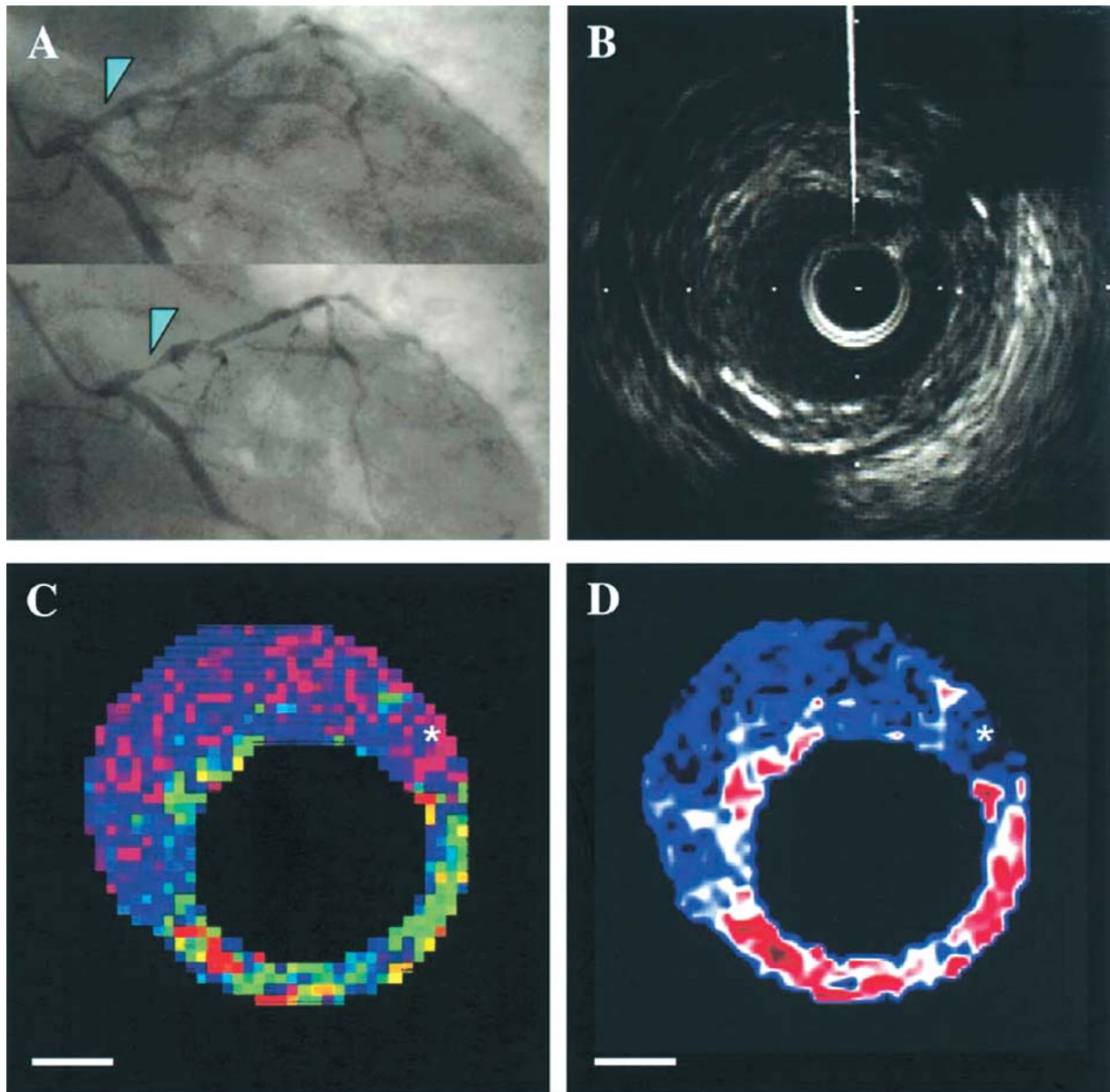
Nowszym podejściem w badaniu częstotliwości od stosowanych w IB-IVUS przekształceń Fouriera jest transformata falkowa (ang. *wavelet analysis IVUS*). Jest to analiza czasowo-skalowa umożliwiająca precyzyjne rozpoznawanie lokalnych charakterystyk sygnałów [42]. Murashige i wsp. ocenili czułość i swoistość tej metody w identyfikacji blaszek bogatych w lipidy na odpowiednio 83 i 82% w modelu *in vitro* oraz na 81 i 85% u pacjentów z chorobą wieńcową (CAD), u których uzyskano tkankę do weryfikacji histologicznej przez endarterektomię [42].

Wirtualna histologia (ang. *virtual histology – VH-IVUS*)

Wirtualna histologia jest najbardziej zaawansowaną techniką. Do predykcji rozmiaru i kompozycji tkanki używa autoregresyjnego modelu spektralnej analizy domeny częstotliwości, który generuje 8 różnych parametrów, łącznie ze zintegrowaną falą odbicia (IB) [43]. Model au-

toregresyjny w porównaniu z transformatą Fouriera daje możliwość przetwarzania sygnału w czasie rzeczywistym, zwiększa rozdzielczość obrazu i ilość uzyskiwanych informacji [43]. Nair i wsp., używając głowicy IVUS 30 MHz i opierając się na weryfikacji histologicznej, stworzyli na podstawie analizy 88 blaszek miażdżycowych pochodzących z tętnic wieńcowych mapy tkanek kodowane kolorem. Blaszki włókniste, włóknisto-lipidowe, zwapniale i mające martwiczy rdzeń zostały zidentyfikowane z dokładnością odpowiednio: 79,7, 81,2, 92,8 i 85,5% [43, 44]. Znacznie gorsze wyniki uzyskano ostatnio na zwierzęcym modelu *in vivo*, gdzie po weryfikacji histopatologicznej czułość dla blaszek włóknistych wyniosła 76,1%, dla włóknisto-lipidowych 46%, a dla martwiczego rdzenia 41,1% [45]. Dokładność metody jest ograniczona przez trudności w rozróżnieniu pomiędzy obszarami martwiczymi i wapniem. Pomimo zbyt małej rozdzielczości, aby uwidocznić otoczkę kolagenową, podejmuje się próby identyfikacji TCFA za pomocą IVUS-VH (tzw. VH-TCFA) [46, 47]. Za VH-TCFA uważa się blaszki z rdzeniem lipidowym bezpośrednio stykającym się ze światłem naczynia (otoczka jest wtedy cieńsza niż 100–150 μm) (ryc. 4.). Wyniki badań u pacjentów z CAD są zgodne co do istotnie częstszego występowania VH-TCFA u chorych z ACS w porównaniu ze stabilną dusznicą bolesną [46, 47], a badanie Honga i wsp. dodatkowo wskazuje na większą objętość martwiczego rdzenia w pierwszej grupie pacjentów [47].

Dla ugruntowania pozycji opisywanej metody niezbędną jest kliniczna ocena jej zdolności do oszacowania ryzyka pęknięcia blaszki miażdżycowej. Przykładem jest toczące się wieloośrodkowe badanie PROSPECT. U chorych z ACS obrazowane są proksymalne odcinki trzech tętnic wieńcowych za pomocą angiografii, IVUS-VH i palpografii (patrz niżej) w celu identyfikacji blaszek nieistotnych hemodynamicznie, których historia naturalna jest następnie prospektywnie obserwowana. Zakończony został etap włączania 700 chorych. Wstępna analiza zidentyfikowała VH-TCFA u około 28% chorych i wskazuje na zgodność występowania VH-TCFA z blaszkami o *plaque burden* >40% w IVUS. Zakończenie badania przewidziane jest na kwiecień 2011 roku.

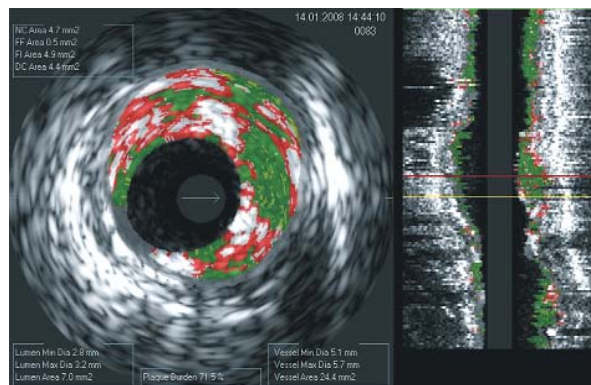


Ryc. 3. Obrazy blaszki odpowiedzialnej za ACS. **A.** Obraz angiograficzny lewej tętnicy wieńcowej. **Góra:** grót strzałki wskazuje miejsce uzyskania obrazu IVUS blaszki przed wystąpieniem ACS. **Dół:** grót strzałki wskazuje lokalizację blaszki odpowiedzialnej za ACS. **B.** Konwencjonalny obraz IVUS segmentu oznaczonego grottem blaszki w A. **C.** Obraz segmentu oznaczonego grottem strzałki w A w IB-IVUS, skonstruowany za pomocą konwencjonalnej techniki gradacji kolorów. Uwagę zwraca rozległy rdzeń lipidowy (kolor niebieski) z otoczką kolagenową (kolor zielony). **D.** Obraz tego samego miejsca w IB-IVUS, skonstruowany za pomocą alternatywnej techniki gradacji kolorów. Taki typ mapy tkankowej ilustruje różnicę między obszarami lipidowymi i zwłóknieniem. Uwagę zwraca duży rdzeń lipidowy (kolor niebieski) z otoczką kolagenową (kolor czerwony lub biały) (dzięki uprzejmości dr M. Kwasaki)

CL – zwapnienie, linia podziałki – 1 mm, gwiazdka – artefakt cewnika

Fig. 3. Images of the culprit lesion causing acute coronary syndrome. **(A)** Angiography of the left coronary artery. **(Upper)** The arrowhead indicates a lesion, in which intravascular ultrasound (IVUS) measurements were recorded at baseline. **(Lower)** The arrowhead indicates the culprit lesion at follow-up. **(B)** Conventional IVUS image of segment indicated by the arrowhead in A. **(C)** Integrated backscatter (IB)-IVUS image of the segment indicated by the arrowhead in A constructed using conventional color gradation. **(D)** IB-IVUS image of the same segment constructed using another color gradation. This type of color-coded map illustrates the difference between lipid pool and fibrous tissue. Note the large lipid core (blue) with fibrous cap (red or white) (Reprinted with permission from Sano et al. [41])

CL – calcification, bar – 1 mm, the asterisk – the guidewire artifact



Ryc. 4. Blaszka miażdżycowa typu VH-TCFA (materiał własny)

Fig. 4. An atherosclerotic plaque with VH-TCFA characteristics

Palpografia

Każda tkanka pod wpływem nacisku ulega odkształceniu. W przypadku blaszek miażdżycowych siłą powodującą odkształcenie jest ciśnienie krwi na ściany naczynia. Stosunek tego ciśnienia do napięcia powstającego w blaszce określa sztywność blaszki [48]. Można przypuszczać, że zmiany włókniste będą się charakteryzowały większą sztywnością od zmian o typie TCFA, ponieważ budowa TCFA sprawia, że opór dla ciśnienia stawia właściwie sama otoczka kolagenowa [49]. Metodą oceniającą zmianę napięcia wewnątrz blaszki pod wpływem zmieniającego się ciśnienia jest **elastografia** [50]. Technika ta bazuje na przesunięciu sygnału RF-IVUS po odkształceniu tkanki pod wpływem zmiany ciśnienia. Elastogram jest otrzymywany z różnych głębokości zmiany, na całym jej obwodzie i długości, a następnie nakładany na obraz IVUS, kodowany kolorem i wyświetlany w formie 2D. W ten sposób uwidaczniane są blaszki i obszary blaszek o zmniejszonej sztywności [51]. Dla uproszczenia całej procedury **palpografia** uzyskuje obraz odkształcenia tylko z powierzchniowych warstw blaszki, gdzie powstają pęknięcia. Schaar i wsp., badając 24 tętnice wieńcowe i używając histopatologii jako „złotego standardu”, ocenili czułość i swoistość palpografii w wykrywaniu podatnych blaszek na odpowiednio 88 i 89% [52]. Podatność autory zdefiniowali jako obecność miejsca o dużym napięciu otoczonego obszarami z napięciem małym. Wstępne wyniki wskazują na możliwość wykonywania badania u osób z CAD [53]. W celu zwiększenia dokładności metody trwają prace nad palpografią trójwymiarową [54]. Ponieważ w aktywności biologicznej ranliwych blaszek istotną rolę odgrywają siły tarcia strumienia krwi, próbuje się je uwzględnić, łącząc IVUS z badaniem angiograficznym (ANGUS) [55].

Prospektywne badanie IBIS wykazało w 6-miesięcznej obserwacji istotne zmniejszenie napięcia blaszek u chorych z ACS poddanych standardowej terapii przy jednoczesnym braku zmian parametrów angiograficznych i konwencjo-

nalnego IVUS [56]. Największe zmiany zaobserwowano u chorych z ostrym zawałem serca z uniesieniem odcinka ST, z których >90% nie przyjmowało uprzednio statyn.

Echokardiografia z kontrastem

Alternatywnym postępowaniem w poszukiwaniu podatnych blaszek miażdżycowych z wykorzystaniem fali ultradźwiękowej jest zastosowanie celowanych kontrastów do swobodnego znakowania poszukiwanych struktur. Mikro-pęcherzyki gazu wiążą się nieswoiście z molekułami adhezyjnymi (LAM) na uszkodzonych komórkach śródbłonna lub też ulegają przyłączeniu za pomocą przeciwciał monoklonalnych przeciw receptorom z grupy ICAM, a następnie, dzięki swojej wysokiej echogeniczności, są indentyfikowane przez sondę ultradźwiękową [57–59]. Na drodze do klinicznego zastosowania do wizualizacji zapalnie zmienionych blaszek echokardiografii przezklatkowej stoi konieczność uzyskania dużych stężeń wysoce swoistego, bezpiecznego i wystarczająco trwałego materiału kontrastowego w celu eliminacji fałszywie dodatnich sygnałów płynących z krążących pęcherzyków i innych wysoce echogenicznych struktur znajdujących się w pobliżu.

Badanie optycznej tomografii koherentnej (ang. *optical coherence tomography* – OCT)

Optyczna tomografia koherentna jest metodą od niedawna stosowaną do wewnątrzwieńcowego obrazowania blaszek miażdżycowych. Oparta jest na odbiorze światła podczerwonego odbitego od obrazowanej struktury [60, 61]. Ze względu na prędkość fal świetlnych niemożliwy jest elektroniczny pomiar czasu powrotu odbitej fali, jak to się dzieje w przypadku ultradźwięków. Dlatego do charakterystyki powracającej wiązki światła używa się pomiaru intensywności jej interferencji z identyczną falą jednocześnie wysyłąną w kierunku ruchomego lustra o takiej samej optycznej odległości od źródła (*low coherence interferometry*). Dzięki transformacji Fouriera poszerzenie szerokości pasma częstotliwości przekłada się na możliwość skrócenia czasu wysyłań impulsu. Im krótszy czas impulsu, tym większa rozdzielczość, ale też potrzeba większej precyzji w ustawieniu odległości lustra.

Metoda OCT charakteryzuje się bardzo wysoką rozdzielczością wynoszącą 10–20 μm , a najnowsze systemy rozróżniają jako oddzielne punkty odległe od siebie o zaledwie 4 μm . Kolejnymi zaletami są: szybki czas akwizycji obrazu, możliwość obrazowania zwapniałych blaszek oraz niewielkie i łatwe do przenoszenia instrumentarium, a dzięki lokalizacji transduktora sygnału poza cewnikiem metoda nie jest droga [61].

Po raz pierwszy OCT do celów obrazowania struktury blaszek miażdżycowych zaadaptowali Brezinski i wsp. w 1996 roku [60]. Kolejne badania w modelu *in vitro* wykazały znaczną przewagę OCT w porównaniu z IVUS w precyzji obrazowania morfologii blaszek [62, 63]. Problema-

tyczna jest jednak płytka penetracja wiązki światła, wynosząca 2–3 mm [63]. Zastosowanie OCT do obrazowania blaszek *in vivo* napotyka także na problem silnej dyspersji światła w kontakcie z elementami morfotycznymi krwi [64]. Poszukuje się rozwiązań tego problemu za pomocą infuzji soli fizjologicznej lub substancji ujednolicających gęstość osocza i erytrocytów (tzw. *index matching*) [63, 65].

Podjęte zostały próby kwantyfikacji zawartości makrofagów w blaszce za pomocą OCT [66, 67], jednak niedoskonałości metodologii poddają te wyniki w wątpliwość. Yabushita i wsp. ocenili *in vitro* czułość metody w identyfikacji blaszek przepelnionych lipidami na 90–94% [68]. Bezpieczne okazało się wykonanie badania OCT u osób z CAD, u których częstość występowania TCFA określono na 72% w wypadku ACS i 20% w stabilnej dusznicy bolesnej [69]. Niespotykana dotąd rozdzielczość OCT pozwala na uwidocznienie i ocenę grubości otoczki kolagenowej TCFA [70], jednak potencjał metody wydaje się większy. Istnieje możliwość stworzenia dodatkowych kryteriów ranliwej blaszki z większą precyzją przewidujących jej potencjalne pęknięcie. Na przykład Giattina i wsp., używając niedawno opracowanej techniki polaryzacyjnej (PS-OCT), ocenili zawartość kolagenu w otoczce TCFA, uzyskując istotną korelację z histologią ($r=0,475$) [71]. Mniejsza zawartość kolagenu potencjalnie osłabia strukturę czapeczki. Podobne wyniki przy użyciu tej samej metody otrzymali Nadkarni i wsp., którzy dodatkowo wykonali pomiar zawartości kolagenu i komórek mięśni gładkich w blaszkach zwłókniałych [72].

Wykorzystanie promieni podczerwonych do uzyskania informacji pozwala na analizę przy użyciu również innych technik, jak spektrografia absorpcyjna, elastografia, metoda Dopplera czy analiza dyspersyjna [60, 61]. Metoda OCT wymaga dalszych badań klinicznych oraz lepszej weryfikacji w celu precyzyjnego określenia jej możliwości w identyfikacji ranliwych blaszek miażdżycowych.

Termografia

Nieodłączną cechą toczącego się procesu zapalnego jest podwyższona temperatura. W połowie lat 90. ubiegłego wieku Casscells i wsp. przeprowadzili eksperyment, który pokazał, że na powierzchni blaszek miażdżycowych uzyskanych przez endarterektomię istnieją obszary różniące się temperaturą od 0,2 do 2,2°C [73]. Bez wątpienia nagromadzenie zaktywowanych komórek stanu zapalnego w obrębie ranliwych zmian miażdżycowych wraz ze wzmożoną neowaskularyzacją w ich obrębie jest przesłanką świadczącą o zwiększonej generacji ciepła w ich obrębie. Hipotezę tę potwierdzają m.in. Madjid i wsp., w których pracy temperatura wykazuje dodatnią korelację z gęstością makrofagów i ujemną z gęstością komórek mięśni gładkich [74]. Konstrukcja termodetektorów wewnątrznaczyniowych i dalsze potwierdzenie koncepcji w modelach zwierzęcych umożliwiły przeprowadzenie ba-

dań *in vivo* u ludzi. Stefanadis i wsp. pierwsi wykazali heterogenność temperatury (ΔT) blaszek u chorych z CAD. Największą zmienność zaobserwowali u chorych z ACS, nieco mniejszą w stabilnej dusznicy bolesnej i jej brak w grupie kontrolnej [75]. Kolejne prace w różnym stopniu potwierdzają to doniesienie [76–78]. Zmienność wyników uzyskanych przez różnych autorów może wynikać z braku jednoznacznych danych określających wpływ chłodzącego efektu strumienia krwi [77] oraz stosowanych leków (statyn i kwasu acetylosalicylowego) na temperaturę zmian miażdżycowych, jak również braku wystandaryzowanych termodetektorów. W badaniu z randomizacją leczenie statynami prowadziło do istotnego zmniejszenia różnic temperatury w obrębie blaszki w porównaniu z placebo [79]. Nierozwiązana pozostaje kwestia relacji markerów globalnego stanu zapalnego i termicznej charakterystyki blaszki [80, 81]. W 18-miesięcznej obserwacji Stefanadis wykazał ponaddwukrotnie większe ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych ze zwiększoną heterogennością termiczną [82]. Jest to pierwsze i jedyne badanie z klinicznym punktem końcowym przeprowadzone na populacji 86 chorych po interwencji wewnątrzkrwionośnej.

Termografia pozostaje metodą doświadczalną. Ma ona dość duży potencjał identyfikacji ranliwych blaszek miażdżycowych, jednak wymaga prospektywnej weryfikacji i określenia punktów odcięcia dla rozpoznania tzw. **gorącej blaszki**. Wydaje się również, że pozostanie ona metodą dodaną do badań wizualizujących morfologię zmian miażdżycowych [78].

Spektroskopia NIR (ang. *near-infrared*)

Spektroskopia NIR (NIRS) ma ugruntowaną pozycję w wielu dziedzinach nauki i gospodarki [83, 84]. Aplikacje kliniczne ograniczają się obecnie do pulsoksymetrii i pomiaru poziomu glukozy we krwi [84–86]. Od dwóch dekad próbuje się zastosować analizę spektralną do oceny składu chemicznego blaszek miażdżycowych.

Każda substancja chemiczna ma swój charakterystyczny „podpis spektralny” wynikający z unikatowego układu wiązań chemicznych i będący wypadkową odbicia, absorpcji i rozproszenia wiązki fal świetlnych o długości 800–2500 nm, emitowanych, a następnie odbieranych przez spektrometr. Spektrum danej substancji jest wykresem stopnia absorpcji fal poszczególnych długości. Wykres absorpcji fal w tak złożonym układzie, jakim jest tkanka miażdżycowa, jest wypadkową wszystkich budujących ją związków chemicznych. Idea poszukiwania podatnych blaszek za pomocą fal elektromagnetycznych opiera się na dużej zawartości cholesterolu LDL i obecności cienkiej warstwy kolagenu w TCFA. Jako pierwsi zdolność NIRS do identyfikacji lipidów w miażdżycowo zmienionych aortach królików wykazali Cassis i wsp. [87]. Jaross i wsp. określili współczynnik korelacji między odczytem zawartości LDL za pomocą NIRS i chromatografii na $r=0,96$ [88]. Próbę identyfikacji blaszki o charakterystyce TCFA podję-

li Moreno i wsp. w 2002 roku [89]. Najpierw określili spektroskopową charakterystykę TCFA na podstawie badania histologicznego połowy badanych blaszek miażdżycowych uzyskanych z ludzkich aort. Następnie analiza pozostałych próbek przy użyciu uzyskanego algorytmu pozwoliła na określenie rdzenia lipidowego z czułością 90% i swoistością 93%. Parametry te wyniosły odpowiednio 77 i 93% dla otoczki kolagenowej oraz 84 i 91% dla obecności komórek zapalnych. Grupa ta uzyskała następnie podobne wyniki, badając ludzkie tętnice wieńcowe [90].

Do uzyskania chemogramu można zastosować także spektroskopię Ramana. Dzięki przesunięciu fotonów na inną długość fali po odbiciu od obrazowanej struktury metoda ta cechuje się większą swoistością od NIR, jednak słabość uzyskiwanego sygnału stwarza trudności przy próbach zastosowania *in vivo* [91].

Zastosowanie NIRS u chorych wiąże się z trudnościami wynikającymi z konieczności umieszczenia spektroskopu w tętnicy wieńcowej, a także z wpływu krwi i ciągłego ruchu serca na jakość rejestrowanego spektrum. Różne modele eksperymentalne wskazują na to, że powyższe problemy techniczne mogą być rozwiązane [92–95], jednak doświadczenie kliniczne z opisywaną metodą jest ograniczone. Wstępne dane określają NIRS jako metodę bezpieczną [96]. Głównym celem trwającego badania *SPECTroscopic Assessment of Coronary Lipid* (SPECTACL) jest określenie, czy sygnały uzyskiwane w bijącym ludzkim sercu są podobne do opisywanych *ex vivo*, ponieważ nie istnieje metoda, która mogłaby przyżyciowo zweryfikować uzyskany „chemogram”. Badanie SPECTACL ma także odnieść charakterystykę spektroskopową blaszek do obrazu klinicznego chorych, porównać ją z angiografią i IVUS oraz przeprowadzić roczną obserwację kliniczną chorych.

Informacja o chemicznym składzie blaszek może się okazać cenną przesłanką rokowniczą. Wymaga to jednak dalszego udoskonalenia algorytmów rozpoznawania TCFA. Ponadto, podobnie jak termografia, spektralny obraz blaszki miażdżycowej nie zawiera informacji o jej morfologii, co wyklucza samodzielność tej metody.

Angioskopia

Za pomocą tej metody diagnostycznej możliwe jest bezpośrednio uwidocznienie wewnętrznej powierzchni naczyń wieńcowych [97]. Angioskopowa charakterystyka blaszek miażdżycowych sprowadza się do określenia makroskopowych cech ich powierzchni, takich jak kolor, regularność i obecność skrzeplin [97]. Thieme i wsp. wykazali, że blaszki o żółtym kolorze i nieregularnej powierzchni są często obecne u chorych z ACS, a w histopatologii charakteryzują się dużą zawartością lipidów [98]. W porównaniu z blaszkami białymi, o większej zawartości kolagenu, są bardziej elastyczne, co może świadczyć o większej mechanicznej słabości ich struktury, a naczynia zawierające takie blaszki częściej ulegają dodatkowej przebudowie [99]. Prospektywna, 12-miesięczna obserwacja 157 pa-

cientów ze stabilną CAD wykazała, że aż u 68% chorych z błyszczącymi, żółtymi blaszkami wystąpiły zdarzenia sercowo-naczyniowe w porównaniu z zaledwie 8% chorych z blaszkami żółtymi bez połysku i 2% z blaszkami białymi [97]. Wyniki te są bardzo obiecujące, jednak wymagają potwierdzenia w większej grupie chorych.

Angioskopia jest metodą inwazyjną i jej techniczne możliwości są ograniczone do obrazowania naczyń o dużej średnicy. Wadą, podobnie jak w wypadku OCT, jest także konieczność oczyszczenia naczynia z krwi w celu odświeżenia powierzchni błony wewnętrznej.

Metody nieinwazyjne

Medycyna nuklearna

Proces zapalny toczący się w podatnych blaszkach miażdżycowych stwarza wiele potencjalnych punktów uchwytu znaczników radionuklearnych. Podejmowane są próby wykorzystania scyntygrafii pojedynczego fotonu (SPECT) oraz pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) do uchwycenia tworzącego się nacieku zapalnego, gromadzenia cholesterolu LDL, aktywności MMPs, a także apoptozy wewnątrz blaszek.

Nie istnieją obecnie badania, które mogłyby potwierdzić możliwości SPECT u pacjentów z CAD *in vivo*. Iuliano i wsp. wykazali natomiast, że ulteniona frakcja LDL cholesterolu znakowana technetem ^{99m} gromadzi się w istotnie większych ilościach w zmiażdżonych ludzkich tętnicach szyjnych w porównaniu z tętnicami zdrowymi (czułość 91%, OR 58,7–99,8) [100]. Bardziej nowatorskie podejście wykorzystuje łatwiejsze do syntezy przeciwciała przeciw ox-LDL. Wstępne doniesienia oparte na modelu zwierzęcym oraz na blaszkach ludzkich *ex vivo* są bardzo obiecujące [101, 102]. Interesujące są także doniesienia opisujące możliwości identyfikacji apoptotycznych komórek przy użyciu aneksyny-A5 znaczonej radioaktywnym technetem. Białko to ma powinowactwo do grup fosfatydyloserynowych o dużej ekspresji na błonach komórek ulegających programowej śmierci. Przy użyciu ^{99m}Tc-Aneksyny-A5 z powodzeniem zidentyfikowano blaszki miażdżycowe *in vivo* u królików z indukowaną miażdżycą aorty [103]. Najsilniejszy sygnał uzyskano znan zmian IV typu wg *American Heart Association*, a ilość promieniowania gamma wyraźnie korelowała z ilością apoptotycznych makrofagów zweryfikowaną histopatologicznie ($r=0,47$). Udaną próbę uwidocznienia niestabilnych zmian miażdżycowych u 4 pacjentów z chorobą tętnic szyjnych podjęli Kietselaer i wsp. [104]. Gromadzenie aneksyny zaobserwowali oni tylko u 2 chorych ze świeżo przeżytym przemijającym niedokrwieniem mózgu. U pozostałych 2 chorych z histopatologicznie potwierdzoną stabilnością blaszek nie wykazano wychwytu znacznika.

Techniką oferującą znacznie lepszą rozdzielczość niż SPECT jest PET. Rudd i wsp. oraz Ben Heim i wsp. we wstępnych doniesieniach sugerują, że deoksyglukoza zna-

kowana fluorem-18 (18-FDG) gromadzi się w większych ilościach w aktywnych blaszkach tętnic szyjnych w przeciwieństwie do zmian stabilnych i zwapniałych [105, 106]. Deoksyglukoza znakowana fluorem-18 nie pozwala jednak na efektywne obrazowanie miażdżycy tętnic wieńcowych ze względu na gromadzenie się znacznika w mięśni sercowym i zbyt dużą emisję tła.

Zaletami obrazowania molekularnego są niewątpliwie jego możliwość oraz możliwość wnioskowania o funkcjonalnych aspektach procesu destabilizacji blaszki. Z drugiej strony brak informacji anatomicznych nie pozwala na zróżnicowanie promieniującej struktury, którą nie zawsze są zmiany miażdżycowe. Potencjalnym rozwiązaniem są skanery PET/CT lub PET/MRI, jednak ich kliniczne zastosowanie w opisywanym celu należy do przyszłości. Techniki medycyny molekularnej mają duży potencjał identyfikacji podatnych blaszek miażdżycowych, jednak ciągle pozostają w domenie badań eksperymentalnych.

Tomografia komputerowa (CT) (nieinwazyjna koronarografia)

Nieinwazyjna koronarografia (badanie CT naczyń wieńcowych) jest dla pewnej grupy chorych badaniem alternatywnym do klasycznej koronarografii. Badanie to, poza możliwością oceny światła naczynia, pozwala również w pewnym stopniu na ocenę morfologii i składu blaszki miażdżycowej. Jednoznacznie można ocenić obecność zwapnień w obrębie zmiany miażdżycowej. Przeprowadzone zostały badania porównawcze oceniające blaszki miażdżycowe w tętnicach wieńcowych z zastosowaniem CT i IVUS [107–109]. W koronarografii nieinwazyjnej zmiany były kategoryzowane jako miękkie, zwłókniałe, mieszane oraz zwapniałe, w zależności od wartości jednostek Hounsfielda. Stwierdzono dobrą korelację pomiędzy ocenami kompozycji blaszek w badaniu CT i w badaniu IVUS. Można zatem zakładać, że zmiany cechujące się niską wartością jednostek Hounsfielda odpowiadają blaszkom z dużą zawartością lipidów, natomiast zmiany o wyższej wartości zawierają więcej elementów włóknistych. Dostępne obecnie oprogramowanie pozwala na przedstawianie składu blaszki miażdżycowej w postaci kolorowej mapy, na której odpowiednie kolory przypisane są zakresom gęstości w jednostkach Hounsfielda. Badanie tomografii komputerowej naczyń wieńcowych umożliwia również ocenę przebudowy ściany tętnicy, która jest jednym z wykładników niestabilności blaszki miażdżycowej [110]. Należy przypuszczać, że wraz z rozwojem technologii i po przeprowadzeniu kolejnych prospektywnych prób klinicznych badanie CT naczyń wieńcowych stanie się wiarygodnym narzędziem służącym do oceny stabilności blaszki miażdżycowej.

Podsumowanie

W ostatniej dekadzie obserwuje się bardzo dynamiczny rozwój metod obrazowania ranliwych blaszek miażdżycowych.

Postęp technologiczny pozwolił nie tylko na wizualizację morfologii zmian, ale także na wnioskowanie o ich składzie chemicznym, funkcji i właściwościach mechanicznych. Być może optymalnym sposobem obrazowania, wykazującym największą czułość i swoistość, będzie połączenie kilku metod obrazowych. Pomimo dużego postępu, możliwości identyfikacji blaszki miażdżycowej o dużym ryzyku spowodowania zdarzenia sercowo-naczyniowego wciąż podlegają poważnym ograniczeniom.

Najdokładniejszy obraz blaszek miażdżycowych uzyskuje się, docierając w ich bezpośrednie sąsiedztwo za pomocą metod inwazyjnych. Jednak inwazyjność znacznie komplikuje proces identyfikacji podatnych blaszek, zmniejsza jego bezpieczeństwo, ogranicza powtarzalność, zwiększa koszty, a także wyklucza zastosowanie jako metody przesiewowej. Natomiast wykorzystanie technik nieinwazyjnych wydaje się sprawą dość odległej przyszłości.

Należy także podkreślić, że większość przedstawionych badań ma charakter retrospektywny i opiera się na weryfikacji patomorfologicznej. Do uzyskania pełnego obrazu patofizjologii choroby wieńcowej potrzebne są duże, prospektywne badania historii naturalnej zmian miażdżycowych, takie jak badanie PROSPECT, które jednocześnie będą klinicznie weryfikowały poszczególne metody. Wiadomo, że nie wszystkie pęknięte blaszki powodują ACS. Nie wiadomo, jaki procent zmian typu TCFA, w jakim czasie i u których chorych ulegnie pęknięciu. Możliwe, że nie dysponujemy jeszcze danymi do wystarczająco precyzyjnego określenia blaszek o bezpośrednim ryzyku pęknięcia. Ponadto, obecnie wszystkie metody koncentrują się na poszukiwaniu zmian o cechach TCFA, a przecież nie jest to jedyne podłoże wykrzepiania wewnątrzwieńcowego.

Nie należy zapominać, że do pełnej oceny ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych oprócz podatnej blaszki miażdżycowej należy włączyć także „podatną krew” i „podatny mięsień sercowy”. Dopiero taka globalna ocena może wskazać kandydatów do działań prewencyjnych. Natomiast wybór najskuteczniejszej i jednocześnie najbezpieczniejszej metody interwencji oraz ocena realnych korzyści płynących z jej zastosowania pozostają do rozstrzygnięcia przez prospektywne próby kliniczne. Badania takie znajdują się jednak dzisiaj w dalszej perspektywie.

Piśmiennictwo

1. Mackay J, Mensah G. The Atlas of Heart Disease and Stroke. World Health Organization and US Centers for Disease Control and Prevention, 2004. Available at: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/. Accessed December 14, 2007.
2. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S i wsp. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation* 2001; 104: 2746–2753.
3. Myerburg RJ, Interian A Jr, Mitrani RM i wsp. Frequency of sudden cardiac death and profiles of risk. *Am J Cardiol* 1997; 80: 10F–19F.
4. Zipes DP, Wellens HJ. Sudden cardiac death. *Circulation* 1998; 98: 2334–2351.
5. Naghavi M, Libby P, Falk E i wsp. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation* 2003; 108: 1664–1672. Review.

6. Davies MJ, Thomas A. Thrombosis and acute coronary-artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *N Engl J Med* 1984; 310: 1137-1140.
7. Virmani R, Burke AP, Farb A i wsp. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47 (8 Suppl): C13-C18.
8. Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47 (8 Suppl): C7-C12.
9. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D i wsp. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12: 56-62.
10. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657-671.
11. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844-2850.
12. Farb A, Burke AP, Tang AL i wsp. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation* 1996; 93: 1354-1363.
13. Dimmeler S, Haendeler J, Zeiher AM. Regulation of endothelial cell apoptosis in atherothrombosis. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13: 531-536.
14. Kolodgie FD, Burke AP, Farb A i wsp. Differential accumulation of proteoglycans and hyaluronan in culprit lesions: insights into plaque erosion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1642-1648.
15. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP i wsp. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1262-1275.
16. Kolodgie FD, Burke AP, Farb A i wsp. The thin-cap fibroatheroma: a type of vulnerable plaque: the major precursor lesion to acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol* 2001; 16: 285-292.
17. Burke AP, Farb A, Malcom GT i wsp. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997; 336: 1276-1282.
18. Kolodgie FD, Narula J, Burke AP i wsp. Localization of apoptotic macrophages at the site of plaque rupture in sudden coronary death. *Am J Pathol* 2000; 157: 1259-1268.
19. Naruko T, Ueda M, Haze K i wsp. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation* 2002; 106: 2894-2900.
20. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP i wsp. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med* 2003; 349: 2316-2325.
21. Davies MJ, Richardson PD, Woolf N i wsp. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J* 1993; 69: 377-381.
22. Falk E. Plaque rupture with severe pre-existing stenosis precipitating coronary thrombosis. Characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusive thrombi. *Br Heart J* 1983; 50: 127-134.
23. Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring — the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J* 1985; 53: 363-373.
24. Willerson JT, Campbell WB, Winniford MD i wsp. Conversion from chronic to acute coronary artery disease: speculation regarding mechanisms. *Am J Cardiol* 1984; 54: 1349-1354.
25. Lafont A. Basic aspects of plaque vulnerability. *Heart* 2003; 89: 1262-1267.
26. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW i wsp. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493-2503.
27. Amento EP, Ehsani N, Palmer H i wsp. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 1223-1230.
28. Mach F, Schönbeck U, Bonnefoy JY i wsp. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. *Circulation* 1997; 96: 396-399.
29. Nakata Y, Maeda N. Vulnerable atherosclerotic plaque morphology in apolipoprotein E-deficient mice unable to make ascorbic acid. *Circulation* 2002; 105: 1485-1490.
30. Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G i wsp. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med* 2002; 347: 5-12.
31. Mintz GS, Nissen SE, Anderson WD i wsp. American College of Cardiology Clinical Expert Consensus Document on Standards for Acquisition, Measurement and Reporting of Intravascular Ultrasound Studies (IVUS). A report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1478-1492.
32. Kimura BJ, Bhargava V, DeMaria AN. Value and limitations of intravascular ultrasound imaging in characterizing coronary atherosclerotic plaque. *Am Heart J* 1995; 130: 386-396.
33. Gronholdt ML. Ultrasound and lipoproteins as predictors of lipid-rich, rupture-prone plaques in the carotid artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2-13.
34. Prati F, Arbustini E, Labellarte A i wsp. Correlation between high frequency intravascular ultrasound and histomorphology in human coronary arteries. *Heart* 2001; 85: 567-70.
35. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK i wsp. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1987; 316: 1371-1375.
36. Maehara A, Mintz GS, Bui AB i wsp. Morphologic and angiographic features of coronary plaque rupture detected by intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 904-910.
37. Yamagishi M, Terashima M, Awano K i wsp. Morphology of vulnerable coronary plaque: insights from follow-up of patients examined by intravascular ultrasound before an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 106-111.
38. Schoenhagen P, Stone GW, Nissen SE i wsp. Coronary plaque morphology and frequency of ulceration distant from culprit lesions in patients with unstable and stable presentation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1895-1900.
39. Kawasaki M, Takatsu H, Noda T i wsp. In vivo quantitative tissue characterization of human coronary arterial plaques by use of integrated backscatter intravascular ultrasound and comparison with angiographic findings. *Circulation* 2002; 105: 2487-2492.
40. Sano K, Kawasaki M, Ishihara Y i wsp. Assessment of vulnerable plaques causing acute coronary syndrome using integrated backscatter intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 734-741.
41. Okubo M, Kawasaki M, Ishihara Y i wsp. Development of integrated backscatter intravascular ultrasound for tissue characterization of coronary plaques. *Ultrasound Med Biol* 2007 Dec 11; [Epub ahead of print].
42. Murashige A, Hiro T, Fujii T i wsp. Detection of lipid-laden atherosclerotic plaque by wavelet analysis of radiofrequency intravascular ultrasound signals: in vitro validation and preliminary in vivo application. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1954-1960.
43. Nair A, Kuban BD, Tuzcu EM i wsp. Coronary plaque classification with intravascular ultrasound radiofrequency data analysis. *Circulation* 2002; 106: 2200-2206.
44. Nair A, Kuban BD, Obuchowski N i wsp. Assessing spectral algorithms to predict atherosclerotic plaque composition with normalized and raw intravascular ultrasound data. *Ultrasound Med Biol* 2001; 27: 1319-1331.
45. Granada JF, Wallace-Bradley D, Win HK i wsp. In vivo plaque characterization using intravascular ultrasound-virtual histology in a porcine model of complex coronary lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 387-393.
46. Rodriguez-Granillo GA, Garcia-Garcia HM, Mc Fadden EP i wsp. In vivo intravascular ultrasound-derived thin-cap fibroatheroma detection using ultrasound radiofrequency data analysis. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 2038-2042.
47. Hong MK, Mintz GS, Lee CW i wsp. Comparison of virtual histology to intravascular ultrasound of culprit coronary lesions in acute coronary syndrome and target coronary lesions in stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2007; 100: 953-959.
48. Céspedes EI, de Korte CL, van der Steen AF. Intraluminal ultrasonic palpation: assessment of local and cross-sectional tissue stiffness. *Ultrasound Med Biol* 2000; 26: 385-396.
49. Loree HM, Kamm RD, Stringfellow RG i wsp. Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels. *Circ Res* 1992; 71: 850-858.
50. Ophir J, Céspedes EI, Ponnekanti H i wsp. Elastography: a method for imaging the elasticity in biological tissues. *Ultrasound Imaging* 1991; 13: 111-134.
51. Céspedes EI, Huang Y, Ophir J i wsp. Methods for estimation of subsample time delays of digitized echo signals. *Ultrasound Imaging* 1995; 17: 142-171.
52. Schaar JA, de Korte CL, Mastik F i wsp. Characterizing vulnerable plaque features with intravascular elastography. *Circulation* 2003; 108: 2636-2341.
53. de Korte CL, Carlier SG, Mastik F i wsp. Morphological and mechanical information of coronary arteries obtained with intravascular elastography: feasibility study in vivo. *Eur Heart J* 2002; 23: 405-413.
54. Schaar JA, Regar E, Mastik F i wsp. Incidence of high-strain patterns in human coronary arteries: assessment with three-dimensional intravascular palpography and correlation with clinical presentation. *Circulation* 2004; 109: 2716-2719.
55. Slager CJ, Wentzel JJ, Schuurbers JC i wsp. True 3-dimensional reconstruction of coronary arteries in patients by fusion of angiography and IVUS (ANGUS) and its quantitative validation. *Circulation* 2000; 102: 511-516.

56. Van Mieghem CA, McFadden EP, de Feyter PJ i wsp. Noninvasive detection of subclinical coronary atherosclerosis coupled with assessment of changes in plaque characteristics using novel invasive imaging modalities: the Integrated Biomarker and Imaging Study (IBIS). *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 1134-1142.
57. Villanueva FS, Jankowski RJ, Klibanov S i wsp. Microbubbles targeted to intercellular adhesion molecule-1 bind to activated coronary artery endothelial cells. *Circulation* 1998; 98: 1-5.
58. Kaul S, Lindner JR. Visualizing coronary atherosclerosis in vivo: thinking big, imaging small. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 461-463.
59. Hamilton AJ, Huang SL, Warnick D i wsp. Intravascular ultrasound molecular imaging of atheroma components in vivo. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 453-460.
60. Brezinski ME, Tearney GJ, Bouma BE i wsp. Optical coherence tomography for optical biopsy. Properties and demonstration of vascular pathology. *Circulation* 1996; 93: 1206-1213.
61. Stamper D, Weissman NJ, Brezinski M. Plaque characterization with optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47 (8 Suppl): C69-79.
62. Brezinski ME, Tearney GJ, Weissman NJ i wsp. Assessing atherosclerotic plaque morphology: comparison of optical coherence tomography and high frequency intravascular ultrasound. *Heart* 1997; 77: 397-403.
63. Patwari P, Weissman NJ, Boppart SA i wsp. Assessment of coronary plaque with optical coherence tomography and high-frequency ultrasound. *Am J Cardiol* 2000; 85: 641-644.
64. Fujimoto JG, Boppart SA, Tearney GJ i wsp. High resolution in vivo intra-arterial imaging with optical coherence tomography. *Heart* 1999; 82: 128-133.
65. Brezinski M, Saunders K, Jessor C i wsp. Index matching to improve optical coherence tomography imaging through blood. *Circulation* 2001; 103: 1999-2003.
66. MacNeil BD, Jang IK, Bouma BE i wsp. Focal and multi-focal plaque macrophage distributions in patients with acute and stable presentations of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 972-979.
67. Tearney GJ, Yabushita H, Houser SL i wsp. Quantification of macrophage content in atherosclerotic plaques by optical coherence tomography. *Circulation* 2003; 107: 113-119.
68. Yabushita H, Bouma BE, Houser SL i wsp. Characterization of human atherosclerosis by optical coherence tomography. *Circulation* 2002; 106: 1640-1645.
69. Jang IK, Tearney GJ, MacNeill B i wsp. In vivo characterization of coronary atherosclerotic plaque by use of optical coherence tomography. *Circulation* 2005; 111: 1551-1555.
70. Kume T, Akasaka T, Kawamoto T i wsp. Measurement of the thickness of the fibrous cap by optical coherence tomography. *Am Heart J* 2006; 152: 775.e1-4.
71. Giattina SD, Courtney BK, Heiz PR i wsp. Assessment of coronary plaque collagen with polarization sensitive optical coherence tomography (PS-OCT). *Int J Cardiol* 2006; 107: 400-409.
72. Nadkarni SK, Pierce MC, Park BH i wsp. Measurement of collagen and smooth muscle cell content in atherosclerotic plaques using polarization-sensitive optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 1474-1481.
73. Casscells W, Hathorn B, David M i wsp. Thermal detection of cellular infiltrates in living atherosclerotic plaques: possible implications for plaque rupture and thrombosis. *Lancet* 1996; 347: 1447-1451.
74. Madjid M, Naghavi M, Malik BA i wsp. Thermal detection of vulnerable plaque. *Am J Cardiol* 2002; 90: 36L-9L.
75. Stefanadis C, Diamantopoulos L, Vlachopoulos C i wsp. Thermal heterogeneity within human atherosclerotic coronary arteries detected in vivo: A new method of detection by application of a special thermography catheter. *Circulation* 1999; 99: 1965-1971.
76. Toutouzas K, Drakopoulou M, Mitropoulos J i wsp. Elevated plaque temperature in non-culprit de novo atheromatous lesions of patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 301-306.
77. Rzeszutko Ł, Legutko J, Katuza GI i wsp. Assessment of culprit plaque temperature by intracoronary thermography appears inconclusive in patients with acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1889-1894.
78. Toutouzas K, Synetos A, Stefanadi E i wsp. Correlation between morphologic characteristics and local temperature differences in culprit lesions of patients with symptomatic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 2264-2271.
79. Stefanadis C, Toutouzas K, Vavuranakis M i wsp. Statin treatment is associated with reduced thermal heterogeneity in human atherosclerotic plaques. *Eur Heart J* 2002; 23: 1664-1669.
80. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E i wsp. Relation between local temperature and C-reactive protein levels in patients with coronary artery disease: effects of atorvastatin treatment. *Atherosclerosis* 2007; 192: 396-400.
81. Toutouzas K, Drakopoulou M, Markou V i wsp. Correlation of systemic inflammation with local inflammatory activity in non-culprit lesions: beneficial effect of statins. *Int J Cardiol* 2007; 119: 368-373.
82. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E i wsp. Increased local temperature in human coronary atherosclerotic plaques: an independent predictor of clinical outcome in patients undergoing a percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1277-1283.
83. Encrenaz T. Solar-system studies in the infrared range recent developments and future plans. *Infrared Phys Technol* 1994; 35: 95-106.
84. Gurczak EW, Drennen JK. Pharmaceutical and medical applications of near-infrared spectroscopy. Marcel Dekker Inc, New York 2002.
85. Gabrieli I, Wozniak R, Mevorach M i wsp. Transcutaneous glucose measurement using near-infrared spectroscopy during hypoglycemia. *Diabetes Care* 1999; 22: 2026-2032.
86. Mendelson Y. Pulse oximetry: theory and applications for noninvasive monitoring. *Clin Chem* 1992; 38: 1601-1607.
87. Cassis LA, Lodder RA. Near-IR imaging of atheromas in living arterial tissue. *Anal Chem* 1993; 65: 1247-1256.
88. Jaros W, Neumeister V, Lattke P i wsp. Determination of cholesterol in atherosclerotic plaques using near infrared diffuse reflection spectroscopy. *Atherosclerosis* 1999; 147: 327-337.
89. Moreno P, Lodder RA, Purushothaman KR i wsp. Detection of lipid pool, thin fibrous cap, and inflammatory cells in human aortic atherosclerotic plaques by near-infrared spectroscopy. *Circulation* 2002; 105: 923-927.
90. Moreno PR, Ryan SE, Hopkins DW i wsp. Identification of lipid-rich plaques in human coronary artery autopsy specimens by near-infrared spectroscopy. *J Am Coll Cardiol* 2002; 37 (Suppl 2): A356.
91. Nogueira GV, Silveira L, Martin AA i wsp. Raman spectroscopy study of atherosclerosis in human carotid artery. *J Biomed Opt* 2005; 10: 031117.
92. Zuluaga AF, DeJesus ST. Miniaturized probes for intracoronary optical spectroscopy through blood. *Am J Cardiol* 2002; 90 (Suppl 6A): 128H.
93. Marshik B, Tan H, Tang A i wsp. Discrimination of lipid-rich plaques in human aorta specimens with NIR spectroscopy through whole blood. *Am J Cardiol* 2002; 90 (Suppl 6A): 129H.
94. Marshik B, Tan H, Tang J i wsp. Detection of thin-capped fibroatheromas in human aorta tissue with near infrared spectroscopy through blood. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41 (Suppl 1): 42.
95. Waxman S, Khabbaz KR, Connolly RJ i wsp. An animal model for in vivo imaging of human coronaries: a new tool to evaluate emerging technologies to detect vulnerable plaques. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43 (Suppl 2): A73.
96. Waxman S, L'Allier P, Tardif JC i wsp. Scanning near-infrared (NIR) spectroscopy of coronary arteries for detection of lipid-rich plaque in patients undergoing PCI – early results of the SPECTACL study [abstract]. *Circulation* 2006; 114: II-647.
97. Uchida Y, Nakamura F, Tomaru T i wsp. Prediction of acute coronary syndromes by percutaneous coronary angiography in patients with stable angina. *Am Heart J* 1995; 130: 195-203.
98. Thieme T, Wernecke KD, Meyer R i wsp. Angiographic evaluation of atherosclerotic plaques: validation by histomorphologic analysis and association with stable and unstable coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 1-6.
99. Takano M, Mizuno K, Okamoto K i wsp. Mechanical and structural characteristics of vulnerable plaques: analysis by coronary angiography and intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 99-104.
100. Iuliano L, Signore A, Vallabajsula S i wsp. Preparation and biodistribution of 99m technetium labelled oxidized LDL in man. *Atherosclerosis* 1996; 126: 131-141.
101. Shaw PX, Hörkö S, Tsimikas S i wsp. Human-derived anti-oxidized LDL autoantibody blocks uptake of oxidized LDL by macrophages and localizes to atherosclerotic lesions in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1333-1339.
102. Tsimikas S, Palinski W, Halpern SE i wsp. Radiolabeled MDA2, an oxidation-specific, monoclonal antibody, identifies native atherosclerotic lesions in vivo. *J Nucl Cardiol* 1999; 6: 41-53.
103. Kolodgie FD, Petrov A, Virmani R i wsp. Targeting of apoptotic macrophages and experimental atheroma with radiolabeled annexin V: a technique with potential for noninvasive imaging of vulnerable plaque. *Circulation* 2003; 108: 3134-3139.

104. Kietselaer BL, Reutelingsperger CP, Heidendal GA i wsp. Noninvasive detection of plaque instability with use of radiolabeled annexin A5 in patients with carotid-artery atherosclerosis. *N Engl J Med* 2004; 350: 1472-1473.
105. Rudd JH, Warburton EA, Fryer TD i wsp. Imaging atherosclerotic plaque inflammation with [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Circulation* 2002; 105: 2708-2711.
106. Ben-Haim S, Kupzov E, Tamir A i wsp. Evaluation of 18F-FDG uptake and arterial wall calcifications using 18F-FDG PET/CT. *J Nucl Med* 2004; 45: 1816-1821.
107. Komatsu S, Hirayama A, Omori Y i wsp. Detection of coronary plaque by computed tomography with a novel plaque analysis system, 'Plaque Map', and comparison with intravascular ultrasound and angiography. *Circ J* 2005; 69: 72-77.
108. Leber AW, Knez A, Becker A i wsp. Accuracy of multidetector spiral computed tomography in identifying and differentiating the composition of coronary atherosclerotic plaques: a comparative study with intracoronary ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1241-1247.
109. Achenbach S, Moselewski F, Ropers D i wsp. Detection of calcified and noncalcified coronary atherosclerotic plaque by contrast-enhanced, submillimeter multidetector spiral computed tomography: a segment-based comparison with intravascular ultrasound. *Circulation* 2004; 109: 14-17.
110. Schoenhagen P, Tuzcu EM, Stillman AE i wsp. Non-invasive assessment of plaque morphology and remodeling in mildly stenotic coronary segments: comparison of 16-slice computed tomography and intravascular ultrasound. *Coron Artery Dis* 2003; 14: 459-462.