

EXISTUJE VZŤAH MEDZI SONOGRAFICKOU CHARAKTERISTIKOU NESTABILITY KAROTICKÉHO ATEROSKLEROTICKÉHO PLÁTU A SÉROVOU HLADINOU FOSFOLIPÁZY A_2 VIAZANOU NA LIPOPROTEÍNY (MARKEROM ZÁPALU ATEROSKLEROTICKÉHO PLÁTU)?

IS THERE AN ASSOCIATION BETWEEN SONOGRAPHIC CHARACTERISTIC OF CAROTID ATHEROSCLEROTIC PLAQUE INSTABILITY AND SERUM LEVEL OF LIPOPROTEIN-ASSOCIATED PHOSPHOLIPASE A_2 (MARKER OF ATHEROSCLEROTIC PLAQUE INFLAMMATION)?

pôvodná práca

Libor Danihel^{1,3}
Štefan Madarász^{2,3}
Pavel Blažiček⁴
Lubomíra Červová⁵

¹Rádiologická klinika, Ústredná vojenská nemocnica-fakultná nemocnica SNP, Ružomberok, SR

²Neurologická klinika, Ústredná vojenská nemocnica-fakultná nemocnica SNP, Ružomberok, SR

³Fakulta zdravotníctva, Katolícka univerzita, Ružomberok, SR

⁴Alpha medical, s. r. o., Bratislava, SR

⁵ACREA CR, s. r. o., Praha, ČR

Prijato: 15. 9. 2016.

Korešpondenčná adresa:

MUDr. Libor Danihel, PhD.
Rádiologická klinika ÚVN-FN SNP
generála Miloša Vesela 21,
034 26 Ružomberok, SR
e-mail: danihell@uvn.sk

Práca je podporená projektom Európskej únie Mechanizmy a nové markery vzniku a priebehu cirkulačných porúch mozgu ITMS 26220220099.

Konflikt záujmov: žiadny.

Hlavné stanovisko práce

Skúmať existenciu asociácie medzi sonografickou charakteristikou nestability karotického aterosklerotického plátu a zvýšenou sérovou hladinou fosfolipázy A_2 viazanou na lipoproteíny (Lp-PLA₂, markerom zápalu aterosklerotického plátu) vzhľadom na to, že karotický aterosklerotický plát aj Lp-PLA₂ sú pokladané za markery kardiovaskulárneho rizika.

SÚHRN

Danihel L, Madarász Š, Blažiček P, Červová L. Existuje vzťah medzi sonografickou charakteristikou nestability karotického aterosklerotického plátu a sérovou hladinou fosfolipázy A_2 viazanou na lipoproteíny (markerom zápalu aterosklerotického plátu)?

Cieľ: Posúdiť existenciu vzťahu medzi sonografickou charakteristikou nestability karotického plátu a zvýšenou sérovou hladinou fosfolipázy A_2 viazanou na lipoproteíny (Lp-PLA₂, markerom zápalu aterosklerotického plátu) vzhľadom na to, že karotický plát aj Lp-PLA₂ sú pokladané za markery kardiovaskulárneho rizika.

Metodika: Vyšetřili sme 90 osôb, 44 mužov (48,9 %) a 46 žien (51,4 %). Vyšetření boli náhodne vybraní zo štyroch skupín:

Major statement

The aim of this work is to assess an association between sonographic characteristic of carotid plaque instability and increased serum level of lipoprotein-associated phospholipase A_2 (Lp-PLA₂, marker of atherosclerotic plaque inflammation), in consideration of the fact that carotid plaque and Lp-PLA₂ are reckoned to be the cardiovascular risk markers.

SUMMARY

Danihel L, Madarász Š, Blažiček P, Červová L. Is there an association between sonographic characteristic of carotid atherosclerotic plaque instability and serum level of lipoprotein-associated phospholipase A_2 (marker of atherosclerotic plaque inflammation)?

Aim: To assess an association between sonographic characteristic of carotid plaque instability and increased serum level of lipoprotein-associated phospholipase A_2 (Lp-PLA₂, marker of atherosclerotic plaque inflammation), in consideration of the fact that carotid plaque and Lp-PLA₂ are reckoned to be the cardiovascular risk markers.

Methods: We performed the examination of 90 persons totally, 44 men (48.9%) and 46 women (51.4%). The participants were randomly selected from 4 groups: 1. control

1. kontrolná skupina zdravých jedincov (n = 6), muži tvorili 67 %, 2. pacienti s arteriálnou hypertenziou (n = 17), muži tvorili 47 %, 3. pacienti s ischemickou chorobou srdca (n = 34), muži tvorili 29 % a 4. pacienti s ischemickou cievnu mozgovou príhodou (n = 36), muži tvorili 56 %.

Sonograficky sme karotické artérie vyšetrovali prístrojom MyLab60 (Esaote, Bologna, Taliansko) a hodnotili sme tri kategorické premenné: echogenitu, povrch a stupeň stenózy karotického plátu. Sérovú hladinu Lp-PLA₂ sme merali metódou ELISA (Diadexus, Inc., San Francisco, USA). Následne boli vyšetrení rozdelení do dvoch skupín: 1. jedinci s normálnou hladinou sérovej Lp-PLA₂ (≤ 235 ng/ml) a 2. jedinci so zvýšenou hladinou sérovej Lp-PLA₂ (> 235 ng/ml).

Pomocou χ^2 -testu sme overovali hypotézu nezávislosti premenných echogenita, povrch a stupeň stenózy v skupine s normálnou a so zvýšenou hladinou Lp-PLA₂. Súbor štatisticky spracovala Mgr. L. Červová, analytička firmy ACREA CR s.r.o. v štatistickom programe IBM SPSS Statistics 23.

Výsledky: Na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ neboli zistené významné rozdiely medzi dvoma vyhodnocovanými skupinami pri žiadnej premennej, povrch $p = 0,058$, echogenita $p = 0,285$ a stupeň stenózy $p = 0,783$.

Záver: V našej práci nebola zistená asociácia medzi sonografickými známkami nestability karotického plátu a zvýšenou hladinou sérovej Lp-PLA₂.

Kľúčové slová: karotická ateroskleróza, lipoproteíny, infarkt myokardu, cievna mozgová príhoda.

group of healthy persons (n = 6), men account for 67%, 2. patients with arterial hypertension (n = 17), men account for 47%, 3. patients with ischemic heart disease (n = 34), men account for 29% and 4. patients with ischemic stroke (n = 36), men account for 56%.

We examined carotid bifurcation and internal carotid artery bulb sonographically by device Mylab 60 (Esaote, Bologna, Italy) and assessed 3 categorical variables: plaque surface and echogenicity and degree of stenosis. We examined the plasma level of Lp-PLA₂ by ELISA method (Diadexus, Inc., San Francisco, USA). All examined participants were divided into 2 groups subsequently: 1. individuals with normal plasma level of Lp-PLA₂ (≤ 235 ng/ml) and 2. individuals with elevated plasma level of Lp-PLA₂ (> 235 ng/ml).

We used χ^2 -test for independence to compare plaque echogenicity and surface and degree of stenosis between group with normal and elevated level of Lp-PLA₂. L. Cervova, M.Sc. from ACREA CR Ltd. performed statistical analysis using IBM SPSS Statistics 23.

Results: There were no significant differences between group with normal and elevated Lp-PLA₂ for plaque surface ($p = 0.058$) and echogenicity ($p = 0.285$) and degree of stenosis ($p = 0.783$) at confidence level of 0.05 in our cohort.

Conclusion: Our study did not ascertain the association of elevated level of Lp-PLA₂ with sonographic characteristic of carotid plaque instability.

Key words: carotid atherosclerosis, lipoproteins, myocardial infarction, stroke.

ÚVOD

Snahou lekárskeho odborných spoločností zaoberajúcich sa kardiovaskulárnym rizikom je hľadať vhodné metódy a markery na rozpoznanie asymptomatických pacientov so zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom a odlíšiť ich od ostatnej populácie, aby sa intenzívnejšou liečbou toto ich vysoké riziko zredukovalo. V čase projektovania a začiatku našej štúdie v rokoch 2010 a 2011 boli v odporúčaní odborných spoločností, napr. amerických (1–3) a európskych (4) na základe viacerých veľkých prospektívnych štúdií, napr. ARIC (5, 6) alebo Rotterdamská štúdia (7), za markery aterosklerotického kardiovaskulárneho rizika (hlavne rizika infarktu myokardu

a ischemickej cievnej mozgovej príhody) považované aj patologicke zvýšená karotická intimo-mediálne hrúbka (cIMT, z angl. *carotid intima-media thickness*) ako počiatočné štádium aterosklerózy a aterosklerotický plát v bifurkácii arteria carotis communis (ACC) a v bulbe arteria carotis interna (ACI), ďalej v práci nazývaný karotický plát (trieda odporúčaní IIa, úroveň dôkazov B). Tieto odporúčania vychádzali z poznatku, že pri ateroskleróze ako chorobe generalizovane postihujúcej arteriálny systém existuje korelácia medzi stupňom postihnutia na rôznych častiach arteriálneho systému (8), preto je možné na základe postihnutia bifurkácie ACC a karotického bulbu

predpokladať podobný stupeň postihnutia v koronárnom a cerebrálnom riečišti. Na základe sonografického vyšetrenia ľahko dostupnej ACC a proximálnej časti ACI sa dá orientačne predpokladať rozsah aterosklerotických zmien v koronárnom a cerebrálnom riečišti a zhodnotiť kardiovaskulárne riziko. Karotický plát je aj v súčasnosti považovaný za marker kardiovaskulárneho rizika, ale v 2013 na základe novších metaanalýz (9, 10) niektoré americké odborné spoločnosti názor na cIMT zmenili a meranie cIMT v klinickej praxi na odhad rizika prvého infarktu myokardu alebo ischemickej cievej mozgovej príhody neodporúčali (11) (trieda odporúčaní III, úroveň dôkazov B). Nové európske odporúčania z roku 2016 taktiež neodporúčajú skriningové sonografické vyšetrenie cIMT na odhad kardiovaskulárneho rizika (12) (trieda odporúčaní III, úroveň dôkazov A).

V práci sme hodnotili sonografickú charakteristiku karotického plátu. Jedným z kritérií bola aj echogenita. V súčasnosti sa najčastejšie na hodnotenie echogenity karotického plátu používa klasifikácia, ktorú v roku 1993 publikoval Geroulakos et al. (13). Táto klasifikácia rozoznáva 5 typov karotických plátov, a to (13):

- typ 1 – anechogénny plát s tenkou echogénnou fibróznou čiarkou
- typ 2 – dominantne anechogénny plát s echogénnymi oblasťami menej ako 50 %
- typ 3 – dominantne echogénny plát s anechogénnymi oblasťami menej ako 50 %
- typ 4 – homogénne echogénny plát
- typ 5 – neklasifikovaný kalcifikovaný plát, ktorý pre akustické tieň z kalcifikátov neumožňuje hodnotenie hlbších častí steny tepny

Na štandardizáciu posudzovania jednotlivých typov echogenity karotického plátu bol v roku 1997 dohodnutý a publikovaný konsenzus odborných spoločností neurológov, neuroradiológov, neurosonológov, cievnych chirurgov a angiológov, podľa ktorého má anechogénny plát echogenitu ako krv, izoechogénny ako musculus sternocleidomastoideus a hyperechogénny ako krčný stavec (14).

Ďalším kritériom, ktoré sme pri charakteristike karotického plátu používali, je stupeň stenózy. Pri diagnostike najnižšieho stupňa stenózy a jeho odlišenia od zdravých jedincov sme využívali aj sonografické meranie cIMT. Dôvody tohto postupu sú vysvetlené postupne v nasledujúcom texte. Termín cIMT použil po prvý krát taliansky cievny chirurg Paulo Pignoli so svojím kolektívom, keď vo svojej práci publikovanej v roku 1986 dokázal na základe porovnania mikroskopických a sonografických meraní, že vnútorná hypoechogénna vrstva steny ACC odpovedá histologicky dvojvrstve tunica intima a tunica media (15). Sonograficky nie je možné rozlíšiť tunica intima a tunica media. cIMT sa prirodzene zväčšuje v primeranej miere vekom, patologicky sa zväčšuje nie len pri ateroskleróze, ale aj pri iných ochoreniach, ako napr. arteriálna hypertenzia alebo diabetes mellitus (16). Meranie cIMP sa rozšírilo hlavne pre výskumné účely. Aby bolo možné výsledky štúdií porovnávať, neurológovia navrhli štandardizáciu merania cIMT, ktorú nazvali mannheimský konsenzus pre meranie cIMT (17, 18). Mannheimský konsenzus definuje cIMT a aterosklerotický plát takto (17, 18):

cIMT – je dvojliniová štruktúra viditeľná na blízkej a vzdialenej stene ACC v pozdĺžnom reze. Je tvorená dvoma

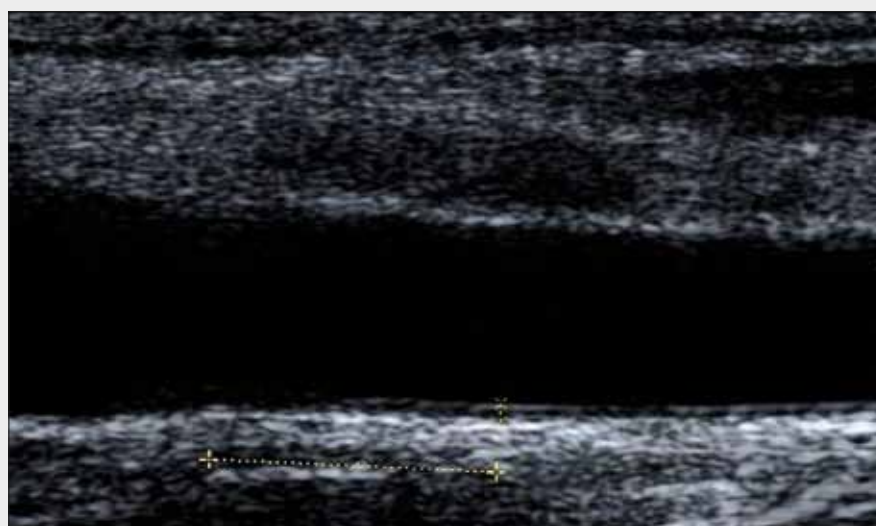
paralelnými líniami, ktoré sú sonografickým obrazom dvoch anatomických rozhraní, a to lumen-tunica intima a tunica media-tunica adventitia.

aterosklerotický plát – je fokálna štruktúra zasahujúca do tepenného lumenu aspoň v hrúbke 0,5 mm alebo aspoň 50 % okolitej intimo-mediálnej hrúbky alebo má hrúbku viac ako 1,5 mm, ktorá je meraná od rozhrania lumen-tunica intima po rozhranie tunica media-tunica adventitia.

Podľa mannheimského konsenzu sa odporúča meranie cIMT najmenej 5 mm kaudálne od dolného konca bifurkácie ACC na rovnom segmente minimálnej dĺžky 1 cm preferenčne na vzdialenejšej stene tepny od sondy, ak sa v tejto oblasti nevyskytuje karotický plát. Za dolný koniec bifurkácie ACC sa považuje miesto, odkiaľ steny ACC začínajú divergovať. Odporúča sa automatické meranie cIMT, kde je jej hodnota výsledkom okamžitého merania a spriemerovania až 150 meraní na úseku 1 cm v automaticky detekovanom konci diastoly. Manuálne a semi-automatické systémy sú náročnejšie na čas ako automatické systémy. Semi-automatické systémy neumožňujú automatickú detekciu konca diastoly, umožňujú len automatické meranie a spriemerovanie nameraných hodnôt cIMT. Presnosť manuálnych systémov je viac závislá na vyšetrujúcom ako pri semi-automatických systémoch.

Karotický plát sa najčastejšie tvorí v bifurkácii ACC a bulbe ACI, lebo je to miesto s najnižšou hodnotou strižnej sily v arteriálnej stene v ľudskom tele, čo robí toto miesto náchylné na infiltráciu sérovými lipidmi. cIMT sa najčastejšie meria 1 cm pod dolným okrajom bifurkácie ACC, kde sa aterosklerotický plát vytvára menej často ako v bifurkácii ACC a v bulbe ACC. Zvýšená hodnota cIMT v tejto oblasti je častejšie vyvolaná zmenami pri arteriálnej hypertenzii. Napriek tomu zvýšená hodnota cIMT štandardne meraná v tejto oblasti sa považuje za marker kardiovaskulárneho rizika a subklinický prejav aterosklerózy (17, 18). cIMT meraná v bifurkácii ACC a bulbe ACI sa vyznačuje výraznou interindividuálnou variabilitou spôsobenou remodelingom a anatomickými varietami a taktiež nie je možné zachytiť túto oblasť sonograficky s vodorovným priebehom stien tepny (17, 18), preto sme aj v našej práci merali cIMT prevažne 1 cm pod bifurkáciou na vzdialenejšej stene ACC od sondy. Európske odporúčania z 2007 (4), platné v čase projektovania štúdie, označili hodnotu cIMT viac ako 0,9 mm za patologický zvýšenú, čo bolo zopakované aj v európskych odporúčaní z 2012 (19) a 2016 (12). V štúdiu sme vyšetřovaných, ktorým sme namerali cIMT viac ako 0,9 mm, zaradili do skupiny s najnižším stupňom stenózy, nie do skupiny bez stenózy. Príklad sonograficky znázornenej cIMT ukazuje obrázok 1.

Ďalším objektom nášho záujmu, ktorým sme sa v štúdiu zaoberali, je fosfolipáza A₂ viazaná na lipoproteíny (Lp-PLA₂). Lp-PLA₂ bola v čase plánovania našej štúdie lekářskymi odborníkmi spoločnosťami považovaná za nádejny marker kardiovaskulárneho rizika (trieda odporúčaní IIb, úroveň dôkazov B) (1). V súčasných európskych odporúčaní z roku 2016 je uvedené, že Lp-PLA₂ priniesla len malé klinicky zanedbateľné zlepšenie odhadu kardiovaskulárneho rizika, a preto ju na tento účel v klinickej praxi neodporúčajú používať (trieda odporúčaní III, úroveň dôkazov B) (12). Lp-PLA₂ je enzým, ktorý hydrolyzuje nahromadené oxidované lipoproteíny v tunica intima arteriálnej steny, pričom vznikajú



Obr. 1

Obr. 1. Príklad sonograficky znázornenej karotickej intimo-mediálnej hrúbky
Fig. 1. An example of sonographically imagined carotid intima-media thickness

kajú lysofosfatidylcholín a neesterifikované mastné kyseliny. Oba tieto metabolity sú silné zápalové mediátory, ktoré spôsobujú chemotaxiu makrofágov do aterosklerotického plátu. Takto aktivované makrofágy produkujú ďalšiu Lp-PLA₂, ktorá je čiastočne uvoľňovaná do séra, a taktiež produkujú ďalšie zápalové mediátory, prehľbujú zápal v aterosklerotickom pláte, a tým zvyšujú jeho nestabilitu a náchylnosť k ruptúre (20). Zvýšená sérová hladina Lp-PLA₂ (viac ako 235 ng/ml) informuje a tom, že niekde v arteriálnom systéme existuje zápalovo zmenený aterosklerotický plát s rizikom ruptúry a následnej trombózy, nešpecifikuje však lokalizáciu takéhoto plátu. V našej štúdii sme zisťovali, či existuje vzťah medzi sonografickou charakteristikou nestability karotického plátu a zvýšenou sérovou hladinou Lp-PLA₂ ako dvoch rizikových markerov ischemickej cievnej mozgovej príhody. Študovali sme aj vzťah medzi sonografickou charakteristikou karotického plátu a sérovou hladinou Lp-PLA₂ u pacientov s arteriálnou hypertenziou a ischemickou chorobou srdca, keďže arteriálna hypertenzia a ischemická choroba srdca sú významnými rizikovými faktormi ischemickej cievnej mozgovej príhody (21, 22).

METODIKA

Súbor vyšetrených

Do prospektívnej štúdie bolo zaradených 90 osôb, ktoré boli vyšetrené na neurologických ambulanciách alebo boli hospitalizované na Neurologickej klinike Ústrednej vojenskej nemocnice-fakultnej nemocnice SNP v Ružomberku. Účastníci štúdie boli vyberaní zo štyroch skupín:

1. kontrolná skupina zdravých jedincov
2. pacienti s arteriálnou hypertenziou
3. pacienti s ischemickou chorobou srdca
4. pacienti s ischemickou cievnu mozgovou príhodou

Do štúdie boli zaradené osoby zo štyroch uvedených skupín, ktoré v období od decembra 2010 do februára 2012 prišli na horeuvedené pracoviská a súhlasili s účasťou na štúdiu

Tab. 1. Základná charakteristika súboru vyšetrených
Table 1. Basic characteristic of study participants

	Muži	Ženy	Celkovo
zdraví, kontrolná skupina	4	2	6
arteriálna hypertenzia	16	18	34
ischemická choroba srdca	4	10	14
ischemická cievna mozgová príhoda	20	16	36
celkovo	44	46	90

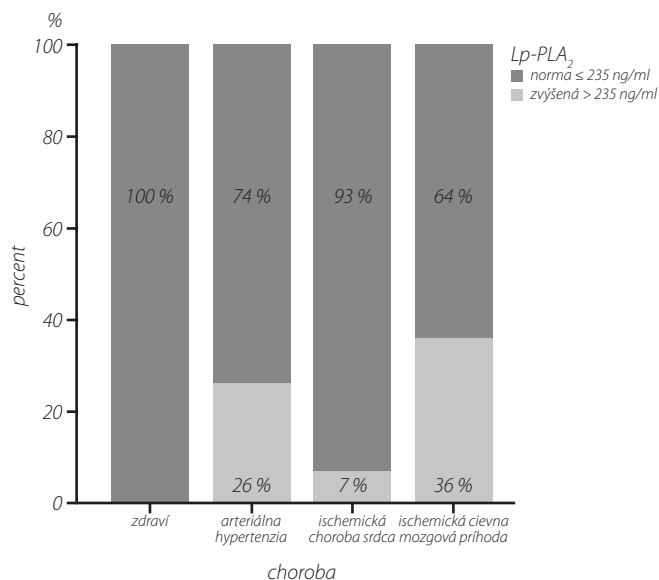
a podpísali o tom informovaný súhlas. Základná charakteristika súboru účastníkov štúdie je uvedená v tabuľke 1.

Pomer jedincov s normálnou a so zvýšenou sérovou hladinou Lp-PLA₂ v kontrolnej skupine zdravých subjektov a v skupine s arteriálnou hypertenziou, s ischemickou chorobou srdca a s ischemickou cievnu mozgovou príhodou je znázornený v grafe 1.

Technicko-organizačnou podmienkou zaradenia do štúdie bolo aj, že účastník bol oslovený na účasť na štúdiu a súhlasil s ňou v čase, keď na horeuvedených pracoviskách bola možnosť odobrať a na ďalšie spracovanie uskladniť vzorky na stanovenie sérovej hladiny Lp-PLA₂. Maximálna doba zbierania a uskladnenia vzoriek bola 2 týždne. Po tejto dobe hodnotiace biochemické pracovisko negarantovalo relevantnosť výsledkov vyšetrenia Lp-PLA₂.

Sonografické vyšetrenie karotických artérií

Sonograficky sme karotické artérie vyšetrovali prístrojom MyLab60 (Esaote, Bologna, Taliansko) a hodnotili sme 3 kategorické premenné: echogenitu, povrch a stupeň stenózy karotického plátu vo všetkých 4 vyšetrovaných skupinách. V odbornej verejnosti existuje zhoda, že anechogénny a heterogénny plát predstavuje väčšie riziko nestability a možnej ruptúry ako echogénny a homogénny plát (23). Pre nemožnosť presne percentuálne kvantifikovať anechogénny a echogénny podiel v karotickom pláte sme v práci nepoužili klasifikáciu podľa Geroulakosa et al., ale zjednodušenú klasifikáciu, kde sme podiel hypo-, izo- a hyperechogennej zložky odhadovali subjektívne. V pomerne početnej skupine nebolo možné



Graf 1. Pomer normálnej a zvýšenej sérovej hladiny Lp-PLA₂ vo všetkých vyšetrovaných skupinách

Lp-PLA₂ – fosfolipáza A₂ viazaná na lipoproteíny

Graph 1. The ratio of normal and elevated serum level of Lp-PLA₂ in all examined groups

Lp-PLA₂ – lipoprotein-associated phospholipase A₂

subjektívne jednoznačne rozhodnúť, ktorá zložka prevažuje, a preto sme zaviedli dve združené kategórie, a to: hyper- a izoechogénny plát a hypoechogénny a zmiešaný plát. Za kategóriu s najväčšou pravdepodobnosťou nestability plátu sme považovali hypoechogénny alebo zmiešaný plát.

Premenná echogenita mala tieto kategórie:

- bez plátu
- hyper- alebo izoechogénny plát
- hypoechogénny alebo zmiešaný plát
- uzáver

Pri premennej povrch je dôležité uviesť, že nerovnosti a ulcerácie sa častejšie vyskytujú pri nestabilných plátoch a sú spojené s vyšším rizikom ischemickej cievnej mozgovej príhody (24).

Premenná povrch mala kategórie:

- bez plátu
- rovný
- hrboľatý (nerovnosti povrchu plátu hĺbky 0,4–1,9 mm)
- ulcerovaný (nerovnosti povrchu plátu v dvoch na seba kolmých rovinách hĺbky aspoň 2 mm)

Stupeň stenózy je tiež významným ukazovateľom rizika ischemickej cievnej mozgovej príhody. V mieste hemodynamicky významnej stenózy dochádza k poklesu tlaku krvi alebo redukcii prietoku krvi alebo k obidvom stavom (21, 22). Pri karotickom pláte hemodynamicky významná stenóza korešponduje s angiograficky kvantifikovanou stenózou 60 % a viac (25) a sonograficky kvantifikovanou stenózou 70 % a viac (26).

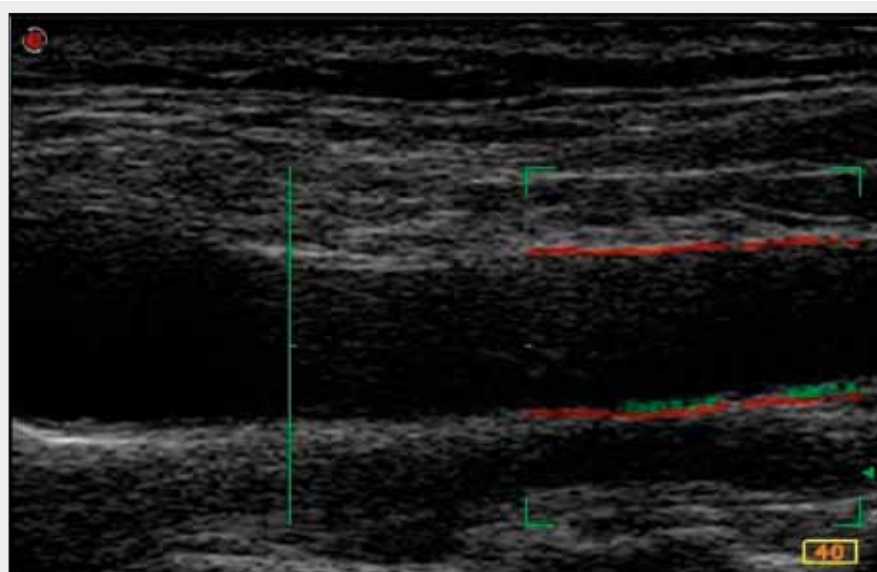
Premenná stupeň stenózy mala kategórie:

- žiadna stenóza
- ↑cIMT(patologicky zvýšená cIMT) alebo stenóza od 1 do 49 %
- stenóza od 50 do 69 %
- stenóza od 70 do 99 %
- uzáver

Merania cIMT sme taktiež vykonávali prístrojom MyLab60 (Esaote, Bologna, Taliansko) poloautomaticky metódou radiofrekvenčnej analýzy sonografického signálu. Ukážku tohto poloautomatického merania cIMT vidno na obrázku 2.

Vyšetrenie sérovej hladiny Lp-PLA₂

V deň, keď boli účastníkom štúdie vyšetrené sonograficky karotické artérie, bola im odobratá aj vzorka na vyšetrenie sérovej hladiny Lp-PLA₂. Sérovú hladinu Lp-PLA₂ sme me-



◀ Obr. 2

Obr. 2. Poloautomatické meranie karotickej intimo-mediálnej hrúbky pomocou radiofrekvenčnej sonografickej metódy

Obr. 2. Semiautomated measurement of carotid intima-media thickness by radiofrequency ultrasound method

rali metódou ELISA (Diadexus, Inc., San Francisco, USA). Následne boli všetci vyšetrení prerozdelení do dvoch skupín:

1. jedinci s normálnou hladinou sérovej Lp-PLA₂ (≤ 235 ng/ml)
2. jedinci so zvýšenou hladinou sérovej Lp-PLA₂ (> 235 ng/ml)

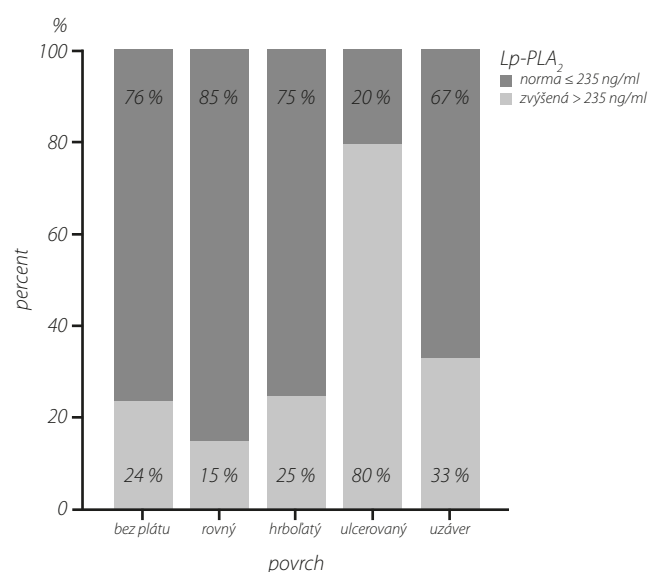
Štatistické spracovanie

Pomocou χ^2 -testu sme overovali hypotézy nezávislosti troch kategorických premenných: echogenita, povrch a stupeň stenózy karotického plátu charakterizujúcich jeho stabilitu, respektíve nestabilitu a náchylnosť k ruptúre v skupine s normálnou a so zvýšenou hladinou Lp-PLA₂. Súbor štatisticky spravovala Mgr. Lubomíra Červová, štatistická analytička z firmy ACREA CR s.r.o., v štatistickom programe IBM SPSS Statistics 23.

Protokol štúdie bol schválený Etickou komisiou Ústrednej vojenskej nemocnice – fakultnej nemocnice SNS v Ružomberku a Etickou komisiou Katolíckej univerzity v Ružomberku.

VÝSLEDKY

Najvyšší výskyt jedincov so zvýšenou sérovou hladinou Lp-PLA₂ bol v skupine pacientov po ischemickej cievnej mozgovej príhode (36 %), ako to ukazuje graf 1. Pri všetkých troch kategorických premenných charakterizujúcich sonografický obraz karotického plátu na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ v našej štúdii neboli zistené signifikantné rozdiely medzi skupinou s normálnou a so zvýšenou sérovou hladinou Lp-PLA₂, pre premennú povrch bola zistená $p = 0,058$, pre echogenita $p = 0,285$ a pre stupeň stenózy $p = 0,783$. Iba pri premennej povrch sa výsledky blížili k štatistickej signifikantnosti. Štatistické výsledky pre všetky tri premenné ukazuje tabuľka 2 a pre premennú povrch graf 2, pre premennú echogenita graf 3 a pre premennú stupeň stenózy graf 4.



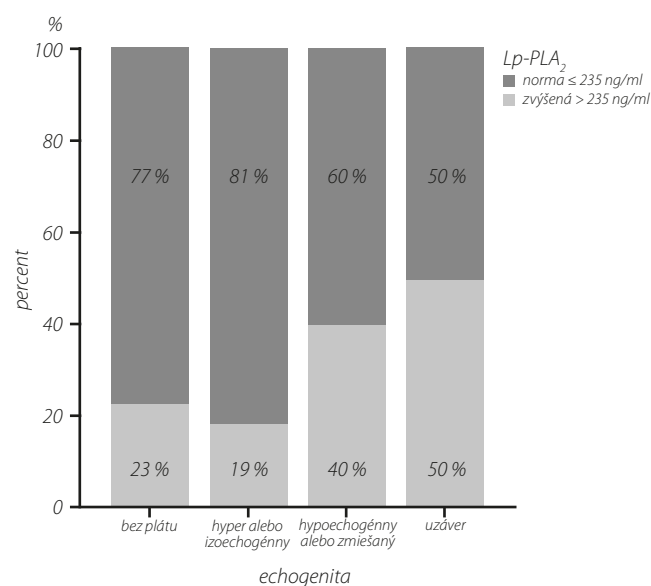
Graf 2. Štatistické výsledky pre premennú povrch
Lp-PLA₂ – fosfolipáza A₂ viazaná na lipoproteíny
Graph 2. Statistical results for variable of surface
Lp-PLA₂ – lipoprotein-associated phospholipase A₂

Tab. 2. Štatistické výsledky pre všetky tri premenné sonografickej charakteristiky karotického plátu: povrch, echogenita a stupeň stenózy
Tab. 2. Statistical results for all three variables of the sonographic characteristic of carotid plaque: plaque surface and echogenicity and degree of stenosis

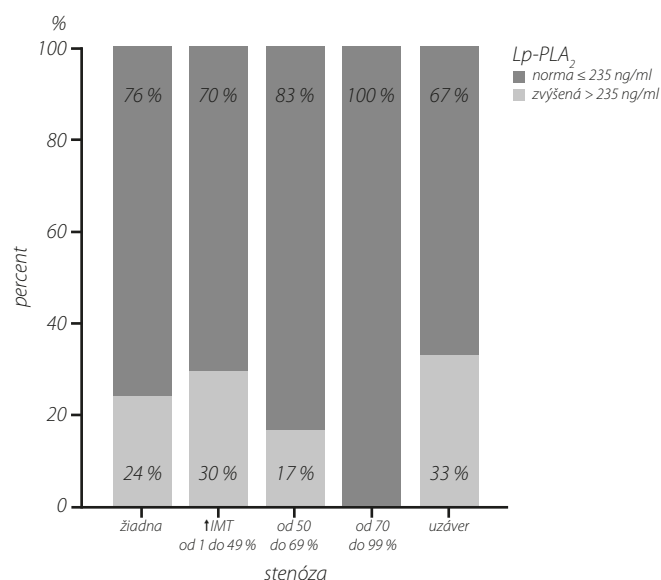
χ^2 -test	p hodnota
povrch	0,058
echogenita	0,285
stupeň stenózy	0,783

DISKUSIA

V našom súbore sme nepreukázali existenciu vzťahu medzi sonografickou charakteristikou nestability karotického plátu a zvýšenou sérovou hladinou Lp-PLA₂. K preukázaniu takéhoto vzťahu sa štatistické výsledky blížili len pri premennej povrch ($p = 0,058$), kde v kategórii ulcerovaný malo až 80 % vyšetrených zvýšenú sérovú hladinu Lp-PLA₂ (graf 2). Takže v našom súbore najpresnejšie informáciu o stabilite alebo nestabilite karotického plátu poskytovala premenná povrch. Vysvetľujeme si to tým, že väčšina pacientov s ulcerovaným karotickým plátom bola po prekonanej ischemickej cievnej mozgovej príhode v krátkom období pred sonografickým vyšetrením, takže ani na základe povrchu karotického plátu nie je možné odhaliť hroziacu ruptúru ešte intaktného plátu, ale len stav po ruptúre plátu bez trombózy v mieste plátu a po embolizácii uvoľneného materiálu plátu do mozgovej cirkulácie. V literatúre sme tiež preštudovali možnosti iných zobrazovacích metód pri diagnostike nestabilného karotického plátu. Americké odporúčania z roku 2010 (1) (trieda odporúčaní III, úroveň dôkazov C) a európske odporúčania z roku 2012 (19) neodporúčajú na rutinné zisťovanie komponentov karotického plátu a tým i jeho stability, respektíve nestability ani magnetickú rezonanciu. Avšak autori z Oxfordskej univerzity v roku 2015 publikovali výsledky štúdie, podľa ktorej rozsah



Graf 3. Štatistické výsledky pre premennú echogenita
Lp-PLA₂ – fosfolipáza A₂ viazaná na lipoproteíny
Graph 3. Statistical results for variable of echogenicity
Lp-PLA₂ – lipoprotein-associated phospholipase A₂



Graf 4. Štatistické výsledky pre premennú stupeň stenózy

Lp-PLA₂ – fosfolipáza A₂ viazaná na lipoproteíny

↑IMT-zväčšená karotická intimo-mediálna hrúbka

Graph 4. Statistical results for variable of degree of stenosis

Lp-PLA₂ – lipoprotein-associated phospholipase A₂

↑IMT-increased carotid intima-media thickness

lipidov v karotickom pláte zistený z kvantitatívneho T2 mapovania (metódy odvodené z T2 váženého obrazu) veľmi

presne koreluje s histologickým nálezom rozsahu lipidov a rozsahom aktivácie makrofágov v karotickom pláte získanom po karotickej endarterektómii. A podľa nich by si MR T2 mapovanie ako nová metóda mohla nájsť miesto pri indikovaní intenzívnej hypolipidemickej alebo protizápalovej liečbe pri inflamovanom karotickom pláte (27). V amerických odporúčaniach z roku 2010 sú v diagnostike zápalovo zmeneného karotického plátu spomínané aj hybridné zobrazovacie metódy PET/CT a MR/PET, ale vzhľadom na nedostatok relevantných dôkazov nebolo v týchto odporúčaniach uvedené žiadne stanovisko k použitiu hybridných zobrazovacích metód pri diagnostike nestability karotického plátu v rutínnej klinickej praxi. V súčasnosti sa skúmajú aj možnosti sonografickej elastografie, hlavne jej modernejšej varianty *shear wave* elastografie na posudzovania stability karotického plátu. Publikované výsledky týchto takýchto štúdií vyznievajú pozitívne pre *shear wave* elastografiu (28, 29), ale v žiadnych odborných odporúčaniach zatiaľ táto metóda nebola spomenutá.

ZÁVER

Na podklade výsledkov našej štúdie si nemyslíme, že by sa dali len pomocou sonografickej charakteristiky karotického plátu dostatočne presne odlišiť jedinci so stabilným karotickým plátom a jedinci so zápalovo zmeneným karotickým plátom hroziacim ruptúrou, pri ktorých by bolo následne opodstatnené meranie sérovej hladiny Lp-PLA₂ ako markera zápalu aterosklerotického plátu.

LITERATURA

1. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, et al. 2010 ACCF/AHA Guideline for Assessment of Cardiovascular Risk in Asymptomatic Adults. A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Developed in Collaboration With the American Society of Echocardiography, American Society of Nuclear Cardiology, Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Cardiovascular Computed Tomography, and Society for Cardiovascular Magnetic Resonance. J Am Coll Cardiol 2010; 56(25): e66, e69–e71, e81–e82.
2. Grundy SM, Becker D, Clark LT, et al. National Cholesterol Education Education Program (NCEP) Expert Panel (ATP III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. Circulation 2002; 106: 47.
3. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. J Am Soc Echocardiogr 2008; 21: 93–111.
4. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (Constituted by representatives of nine societies and by invited experts). Eur Heart J 2007; 28(19): 2395.
5. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study, 1987–1993. Am J Epidemiol 1997; 146: 483–494.
6. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Am J Epidemiol 2000; 151: 478–487.
7. van der Meer I, Bots ML, Hofman A, et al. Predictive value of noninvasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction: the Rotterdam study. Circulation 2004; 109: 1089–1094.
8. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. N Engl J Med 1999; 340: 14–22.
9. Den Ruijter HM, Peters SA, Anderson TJ, et al. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis. JAMA 2012; 308(8): 796–803.

10. **Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR.** Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: a meta-analysis. *Atherosclerosis* 2011; 220(1): 128–133.
11. **Goff DC Jr, Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al.** 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014; 129(25) (Suppl 2): S53–S54.
12. **Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, et al.** 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts): Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2016 May 23 Epub ahead of print: 19–21.
13. **Geroulakos G, Ramaswami G, Nicolai-des A.** Characterisation of symptomatic and asymptomatic carotid plaques using high resolution real time ultrasound. *Br J Surg* 1993; 80: 1274–1277.
14. **de Bray JM, Braud JM, Dauzat M.** Consensus concerning the morphology and the risk of carotid plaque. *Cerebrovasc Dis* 1997; 7: 289–296.
15. **Pignoli P, Tremoli E, Poli A, et al.** Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74(6): 1399–1406.
16. **Qu B, Qu T.** Causes of changes in carotid intima-media thickness: a literature review. *Cardiovasc Ultrasound* 2015 Dec 15 Published online; 13(46): 1–10.
17. **Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al.** Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004–2006): An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis* 2007; 23(1): 75–80.
18. **Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al.** Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004–2006–2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis* 2012; 34(4): 290–296.
19. **Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al.** European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): the fifth joint task force of the European society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J* 2012; 33(13): 1656–1658.
20. **Zima T, a kol.** Laboratorní diagnostika, 3. vydanie. Praha: Galén 2013; 14.
21. **Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, et al.** Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2011; 42(2): 526–527, 534–541.
22. **Meschia JF, Bushnell C, Boden-Albala B, et al.** Guidelines for the primary prevention of stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2014; 45(12): 3764–3767, 3773–3783.
23. **European Carotid Plaque Study Group.** Carotid artery plaque composition Relationship to clinical presentation and ultrasound B-mode imaging. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1995; 10(1): 23–30.
24. **Steinke W, Hennerici M, Rautenberg W, et al.** Symptomatic and asymptomatic high-grade carotid stenosis in Doppler color-flow imaging. *Neurology* 1992; 42: 137–138.
25. **Barnett HJ, Warlow CP.** Carotid endarterectomy and the measurement of stenosis. *Stroke* 1993; 24: 1281–1284.
26. **Halliday A, Mansfield A, Marro J, et al.** Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 363: 1491–1502.
27. **Chai JT, Biasioli L, Li L, et al.** Melvin-Judkins Young Investigator Award Finalist. Abstract 11833: Lipid-rich Core Quantification in Carotid Atherosclerosis Using MRI T2 Mapping – Relation to Clinical Presentation and Plaque Macrophage Activation. *Circulation* 2015; 132: A11833.
28. **Ramnarine KV, Garrard JW, Kanber B, et al.** Shear wave elastography imaging of carotid plaques: feasible, reproducible and of clinical potential. *Cardiovasc Ultrasound* 2014 Dec 8 Published online; 12(49): 1–8.
29. **Maksuti E, Widman E, Larsson D, et al.** Arterial Stiffness Estimation by Shear Wave Elastography: Validation in Phantoms with Mechanical Testing. *Ultrasound Med Biol* 2016; 42(1): 308–321.