

Univerzita Karlova
2. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Neurovědy



MUDr. Petra Kešnerová

**Diagnostika nestabilního aterosklerotického plátu karotid
a vliv na cerebrální hemodynamiku**

Unstable atherosclerotic carotid plaque diagnosis
and influence on cerebral hemodynamics

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. David Školoudík, Ph.D., FESO

Praha, 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

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

V Praze, 1. 6. 2022

Petra Kešnerová

.....

Podpis autora

Poděkování

Na tomto místě bych v první řadě ráda poděkovala svému školiteli prof. MUDr. Davidu Školoudíkovi, Ph.D., FESO za jeho komplexní vedení, inspirativní přístup a předání cenných odborných zkušeností i nad rámec níže uvedených projektů.

Mé díky patří všem kolegyním a kolegům z klinických pracovišť, kde práce probíhaly a se kterými jsem na svých projektech spolupracovala. Bez jejich pomoci a nadšení by tyto projekty nemohly vzniknout.

Poděkování náleží rovněž všem pacientům, jejichž souhlas s účastí v klinických studiích byl zásadní a umožnil tak vznik i rozvoj naší vědecké činnosti.

V posledním bodě chci poděkovat svým blízkým. Jejich podpora a trpělivost byly v mé činnosti stěžejní, a tato práce je i jejich výsledkem.

Diagnostika nestabilního aterosklerotického plátu karotid a vliv na cerebrální hemodynamiku

ABSTRAKT

Ateroskleróza karotických tepen patří k nejvýznamnějším rizikovým faktorům cévní mozkové příhody, zejména při nálezů nestabilních plátů. Vznik plátů a jejich přechod do nestabilního stádia však zatím nejsou plně objasněny. Cílem práce bylo zmapovat aktuální možnosti diagnostiky postižení karotických tepen, inovace v této oblasti a prozkoumat dopady na cerebrovaskulární hemodynamiku. V dílčích studiích se podařilo identifikovat ultrazvukové charakteristiky aterosklerotického plátu karotid zvyšující riziko jeho progresu, kterými jsou šíře plátu, nerovný povrch a ulcerace. Byly nalezeny rozdíly v elasticitě mezi stabilními a nestabilními pláty měřené prostřednictvím nové metody shear-wave elastografie, s významně vyšší průměrnou elasticitou plátů asymptomatických stabilních než u plátů asymptomatických progresivních a plátů symptomatických. V rámci rozšíření možností výzkumu plátů *in vitro* byl sestaven hemodynamický model karotické bifurkace s vložením plátu vyjmutého během karotické endarterektomie, jehož funkčnost byla při studiu hemodynamických změn v oblasti karotické stenózy v pilotní studii potvrzena. Nárůst rezistence a pulzatility mozkových tepen u karotické aterosklerózy koreluje s rozvojem jejich poškození (mikroangiopatie). Podařilo se identifikovat nezávislé rizikové faktory cerebrovaskulární remodelace (věk, arteriální hypertenze, diabetes mellitus, šíře karotického plátu a mužské pohlaví), a byla provedena i analýza měření objemu minutového krevního průtoku detekovaného v krčních a mozkových tepnách pomocí duplexní sonografie a kvantitativní magnetické rezonanční angiografie s dobrou korelací i reprodukcibilitou obou metod pro klinickou praxi.

KLÍČOVÁ SLOVA

Karotická ateroskleróza, nestabilní plát, ultrazvuk, cerebrovaskulární hemodynamika, mikroangiopatie, transkraniální dopplerovská sonografie

Unstable atherosclerotic carotid plaque diagnosis and influence on cerebral hemodynamics

ABSTRACT

Atherosclerosis of carotid arteries belongs to most important risk factors of stroke especially if unstable plaques are detected. However, the formation of the plaques and their transformation to unstable stage are not fully clarified. The aim of this work was to map the actual diagnostic possibilities, innovations in this field and to explore the impacts on cerebrovascular hemodynamics. In partial studies we succeeded to identify the ultrasound characteristics of the atherosclerotic carotid plaque which increases the risk of its progression. Those are the width of plaque, surface irregularities and ulcerations. The differences in elasticity between stable and unstable plaque were found using the novel method of shear-wave elastography with significantly higher average elasticity in plaques asymptomatic stable then in plaques asymptomatic progressive or plaques symptomatic. To extend research opportunities to in vitro studies the hemodynamic model of carotid bifurcation was constructed with the insertion of the plaque extracted during carotid endarterectomy and its function for the studies of hemodynamic changes in carotid stenoses was confirmed. The increase in resistance and pulsatility of cerebral arteries in carotid atherosclerosis correlates with the development of their impairment (microangiopathy). We aimed to identify the independent risk factors of cerebrovascular remodeling (the age, high blood pressure, diabetes mellitus, width of carotid plaque and male gender) and we performed the analysis of the measurement of minute blood flow detected in cervical and cerebral arteries with duplex sonography and quantitative magnetic resonance angiography with good correlation of both methods and their reproducibility for the clinical practice.

KEYWORDS

Carotid atherosclerosis, unstable plaque, ultrasound, cerebrovascular hemodynamics, microangiopathy, transcranial doppler ultrasound

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ACC	Arteria carotis communis; společná karotida
ACE	Arteria carotis externa; vnější karotická arterie
ACI	Arteria carotis interna; vnitřní karotická arterie
ACM	Arteria cerebri media; střední mozková arterie
ANTIQUÉ	Atherosclerotic Plaque Characteristics Associated with a Progression Rate of the Plaque and a Risk of Stroke in Patients with the Carotid Bifurcation Plaque Study
BMI	Body mass index
CI	Confidence interval; interval spolehlivosti
CT/A	Computed tomography / angiography; počítačová tomografie / angiografie
DM	Diabetes mellitus
DS	Duplexní sonografie
DSA	Digitální subtrakční angiografie
DSCA	Duplexní sonografie cervikálních arterií
EDV	End-diastolic velocity; konečné diastolická rychlost
ICC	Interclass correlation coefficient; mezitřídní korelační koeficient
iCMP	Ischemická cévní mozková příhoda
IU	International unit; mezinárodní jednotky
kPa	Kilopascal
MES	Microembolic signals; mikroembolické signály
MHz	Megahertz
MIP	Maximum intensity projection; projekce maximální intenzity
MR/A	Magnetická rezonance / angiografie
NASCET	North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial
OR	Odds ratio; poměr rizik
PET	Pozitronově emisní tomografie
PI	Pulzatilní index
PSV	Peak systolic velocity; maximální systolická rychlost
Q	Objem průtoku krve
qMRA	Quantitative magnetic resonance angiography; kvantitativní magnetická rezonanční angiografie

RI	Rezistenční index
ROI	Region of interest; oblast zájmu
SVD	Small vessel disease; onemocnění malých tepen, mikroangiopatie
SWE	Shear-wave elastography; střižná elastografie
T	Tesla
TCCS	Transcranial color-coded duplex sonography; transkraniální barevně kódovaná duplexní sonografie
TCD	Transkraniální doppler
TPA	Total plaque area; celková plocha plátu
TPV	Total plaque volume; celkový objem plátu
UZ	Ultrazvuk
VB	Vertebrobazilární
Vmean	Střední průtoková rychlost
2D	Dvoudimenzionální
3D	Třidimenzionální

OBSAH

1. ÚVOD	10
2. CÍLE A HYPOTÉZY	17
3. METODIKA	18
4. VÝSLEDKY	18
5. SOUHRNY JEDNOTLIVÝCH STUDIÍ	19
5.1. Studie č. 1: Vizuální hodnocení a digitální analýza ultrazvukového obrazu u stabilního a progredujícího aterosklerotického plátu v karotické tepně	19
5.1.1. Pacienti	19
5.1.2. Metodika a provedení studie.....	19
5.1.3. Statistická analýza	22
5.1.4. Výsledky.....	22
5.2. Studie č. 2: Shear-wave elastografie umožňuje identifikaci nestabilního karotického plátu	25
5.2.1. Pacienti	25
5.2.2. Metodika a provedení studie.....	25
5.2.3. Statistická analýza	27
5.2.4. Výsledky.....	27
5.3. Studie č. 3: Srovnání měření průtokových parametrů v oblasti karotické stenózy in vivo a in vitro – pilotní výsledky testování hemodynamického fantomu.....	32
5.3.1. Pacienti	32
5.3.2. Metodika a provedení studie.....	32
5.3.3. Statistická analýza	35
5.3.4. Výsledky.....	37
5.4. Studie č. 4: Periferní vaskulární rezistence v mozkových arteriích u pacientů s karotickou aterosklerózou – dílčí výsledky studie Charakteristiky aterosklerotického plátu asociované s mírou progresu plátu a rizikem cévní mozkové příhody v karotické bifurkaci (ANTIQUÉ)	39
5.4.1. Pacienti	39
5.4.2. Metodika a provedení studie.....	39
5.4.3. Statistická analýza	41
5.4.4. Výsledky.....	42
5.5. Studie č. 5: Měření objemu průtoku krve v cervikálních a intrakraniálních tepnách pomocí kvantitativní magnetické rezonanční angiografie a duplexní sonografie (Bocaccia) – prospektivní observační studie	44
5.5.1. Pacienti	44

5.5.2. Metodika a provedení studie	44
5.5.3. Statistická analýza	46
5.5.4. Výsledky.....	47
6. DISKUZE.....	51
7. ZÁVĚRY STUDIÍ, ZHODNOCENÍ CÍLŮ A HYPOTÉZ.....	66
8. SOUHRN.....	69
9. SUMMARY.....	70
10. LITERATURA	71
11. SOUHRN PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI	81
11.1. Původní vědecké práce in extenso, které jsou podkladem disertace.....	81
11.2. Původní vědecké práce in extenso související s tématem disertace, které nejsou jejím podkladem.....	82
11.3. Původní vědecké práce in extenso bez vztahu k tématu disertace	83
11.4. Publikace přijaté do tisku	84
12. SEZNAM PŘÍLOH.....	85

1. ÚVOD

Ateroskleróza je komplexní onemocnění cévní stěny, které v důsledku její remodelace vede ke vzniku aterosklerotických plátů. Jednou z nejvíce predisponovaných oblastí vaskulárního systému je oblast karotické bifurkace v důsledku anatomických, mechanických i hemodynamických poměrů. Pláty vzniklé v oblasti karotické bifurkace patří k nejčastějším příčinám ischemické cévní mozkové příhody (iCMP) (Flaherty et al., 2012), a to jak díky možné embolizaci z plátů, tak v důsledku rozvoje stenookluzivního postižení distálního úseku remodelované tepny. V současné diagnostice je kromě klinických symptomů hlavním faktorem ovlivňující pacientovu léčbu tíže karotické stenózy na základě zhodnocení hemodynamických parametrů. Nicméně přibývá důkazů, že nejen tíže stenózy, ale i složení a charakter karotického plátu hrají klíčovou roli v jeho stabilitě a riziku vzniku ipsilaterální CMP. Etiopatogeneze a rozvoj aterosklerotického postižení tepen do stadia nestabilního aterosklerotického plátu však zatím nejsou plně objasněny. Jedná se o komplexní proces, který zahrnuje interakce mezi modifikovatelnými a nemodifikovatelnými rizikovými faktory (Fishbein, 2010). Odhaduje se, že stenóza karotidy je příčinou 18–25 % iCMP, přičemž riziko iktu narůstá s narůstajícím procentem stenózy až do preokluze (stenózy nad 95 %), u které naopak toto riziko klesá (Ooi & Gonzalez, 2015; Školoudík et al., 2003). Riziko iCMP se však vyskytuje i u méně významných stenóz, mnohdy pod 50 % (Altaf et al., 2017). Lze předpokládat, že část iktů by mohla být způsobena nestabilním plátem, který nezpůsobuje stenózu nad 50 %, čímž by se ozřejmila část kryptogenních CMP. Pilotní studie ukazují, že by to mohla být až jedna třetina všech kryptogenních ischemických iktů. Je však potřeba vyčkat výsledků velkých multicentrických studií, které by měly tuto hypotézu verifikovat (Freilinger et al., 2012; Bayer-Karpinska et al., 2013).

Z uvedeného každopádně vyplývá, že včasná detekce aterosklerotického postižení karotid a následné zpomalení nebo zastavení progresu aterosklerotických plátů farmakologickými a režimovými opatřeními by mohly výrazně snížit riziko iktu u pacientů s verifikovanou makroangiopatickou etiologií CMP (Spence & Hackam, 2010a). Nicméně, i přes intenzivní výzkum aterosklerózy je zatím v oblasti progresu aterosklerotických plátů mnoho nejasností. Výsledky prospektivních studií zkoumajících vliv jednotlivých modifikovatelných a nemodifikovatelných rizikových faktorů v progresi aterosklerotických plátů a riziko vaskulární příhody nejsou jednotné (Kešnerová et al., 2018; Andrews et al.,

2018; Naghavi et al., 2003; Naghavi et al., 2003; Skagen et al., 2016; Wiśniewska et al., 2019; Doonan et al., 2016; Zhu et al., 2020; Roubec et al., 2019; Charvát et al., 2020). Zatím není jasné, zda rizikové faktory vzniku aterosklerotického plátu jsou shodné s těmi, které ovlivňují jeho následnou progresi. Jedním z diskutovaných rizikových faktorů vzniku iCMP je složení aterosklerotického plátu v karotické tepně. Jednotlivé studie identifikovaly jako rizikové faktory různé charakteristiky plátů, např. anechogenní (echolucentní) pláty, ulcerace povrchu, heterogenní složení plátu nebo anechogenní oblast juxtaluminálně (Kešnerová et al., 2018; Andrews et al., 2018; Skagen et al., 2016; Wiśniewska et al., 2019). Histopatologickým rozbohem bylo zjištěno, že tyto oblasti odpovídají na lipidy bohatým nekrotickým částem (lipid rich necrotic core), krvácení do plátu (intraplaque haemorrhage), či neovaskularizacím v plátu (intraplaque neovascularization), a u nestabilních plátů byly také zjištěny zúžená nebo prasklá fibrózní čepička (fibrous cap), a zánětlivé změny (Fleiner et al., 2004; Hellings et al., 2010; Fisher et al., 2005; Wasserman et al., 2008). Jako významné faktory progresu aterosklerotického plátu byly identifikovány tíže (procento) stenózy, tandemová stenóza, progresu celkové plochy plátu (total plaque area; TPA), resp. celkového objemu plátu (total plaque volume; TPV) (Naylor et al., 2014; Mathiesen et al., 2011; Wannarong et al., 2013; Gupta et al., 2013). Nicméně stále není zcela jasné, zda složení plátu ovlivňuje také riziko jeho progresu a na tuto otázku jsme hledali odpověď v naší první studii, kde jsme rizikové faktory ve vztahu k jejich progresivnímu potenciálu blíže analyzovali.

Jak již bylo zmíněno, závažnost karotické stenózy stoupá s jejím procentuálním nárůstem. Klinické studie potvrdili benefit karotické endarterektomie u symptomatických pacientů se stenózou nad ≥ 70 %, ovšem benefit u symptomatických stenóz mezi 50 až 70 % a u asymptomatických stenóz ≥ 60 % zůstává předmětem debat (Dharmakidari et al., 2017; Wabnitz & Turan, 2017; Paraskevas et al., 2018). Proto jsou zkoumány další faktory, které identifikují vysoce rizikovou karotickou stenózu (Sun & Hatsukami, 2016; Liem et al., 2017; Kamtchum-Tatuene et al., 2020). Shear-wave elastografie (shear-wave elastography, SWE) neboli deformační zobrazování je nová ultrazvuková technika ke kvantifikaci elasticity tkání, která umožňuje odlišit mezi zdravou a poškozenou tkání v širokém spektru klinických indikací (Freilinger et al., 2012; Sigrist et al., 2017). Hemodynamické síly, které působí na plát, a viskoelastické mechanické vlastnosti jsou biomechanické faktory, jež jsou považovány za významný faktor zvyšující riziko ruptury plátu. Tato metoda je dobře známa z jiných struktur, zejména parenchymatózních orgánů. Použitelnost elastografie u

karotické aterosklerózy však nebyla dosud objasněna. Výzvou je použití této metody právě při vyšetření plátů karotické bifurkace, a to z důvodu jejich malé velikosti, morfologické různorodosti, pulzatilním a respiračním artefaktům a přítomnosti heterogenního tkáňového okolí (Ramnarine et al., 2014b; Pruijssen et al., 2020). Navzdory těmto překážkám recentně publikované práce ukazují, že SWE měření prostřednictvím Youngova modulu v cévních fantomových modelech *in vitro* jsou proveditelné a vykazují schopnost rozlišit měkké a tuhé oblasti s dobrou reprodukcibilitou (Ramnarine et al., 2014a). Navíc první *in vivo* studie prokázaly i klinickou využitelnost při vyšetření karotického plátu ve srovnání s průměrováním šedé škály a histologickým rozbohem (Garrard et al., 2015; Lou et al., 2017).

Jelikož je studium progresu a vývoje nestability aterosklerotických plátů *in vivo* velmi limitováno, je část vědeckého úsilí směřováno k objasnění těchto procesů za využití studií *in vitro*. Z těchto důvodů autoři sestrojili hemodynamický model s možností vložení aterosklerotického plátu vyjmutého během karotické endarterektomie pro studium hemodynamiky v oblasti karotické bifurkace.

Aterosklerotický plát způsobuje zúžení tepny a postupně se s růstem plátu a nárůstem stenózy tepny zvyšuje riziko trombembolie do mozkových tepen (Kešnerová et al., 2018; Roubec et al., 2019). Distální úsek společné karotidy (arteria carotis communis; ACC), bifurkace a proximální část vnitřní karotidy (arteria carotis interna; ACI) představují nejběžnější oblasti pro vznik aterosklerotické léze a stenózy, a to z důvodu zvýšeného namáhání epitelu na stěnách arterií v důsledku turbulentního toku v oblasti bifurkace a rozšíření v oblasti karotického bulbu (Školoudík et al., 2003). Přes intenzivní výzkum v posledních letech však stále není proces růstu aterosklerotických plátů a následné nestability s trombembolizací plně objasněn (Kešnerová et al., 2018; Roubec et al., 2019; Charvát et al., 2020). Navíc pouhé zhodnocení procenta stenózy není v současnosti dostatečné ke stanovení ročního rizika CMP, které se může pohybovat u daného procenta stenózy mezi 0,2 a 20,0 % (Spence & Hackam, 2010a). Z těchto důvodů se věnuje stále větší pozornost dalším parametrům, jako morfologii aterosklerotického plátu a hemodynamickým charakteristikám v oblasti stenózy, které by mohly výrazněji zpřesnit predikci rizika CMP.

Aterosklerotické pláty a hemodynamické změny v dané oblasti lze zobrazit a sledovat pomocí invazivních (klasická digitální subtrakční angiografie, DSA), semiinvazivních

(počítačová tomografie, computed tomography, CT; a CT angiografie, CTA; magnetická rezonance s kontrastní angiografií, MR/MRA; pozitronově emisní tomografie, PET; echokontrastní či intravaskulární ultrazvuk, UZ) i neinvazivních vyšetřovacích metod (duplexní sonografie, DS; či nativní MR) (Kešnerová et al., 2018). Prostřednictvím kombinace uvedených metod je pak dosaženo detailnější analýzy struktury karotického plátu, což pomáhá optimalizovat terapeutický přístup u pacientů s aterosklerotickým postižením karotidy, nejen v terapii konzervativní s lepším časováním nasazení či eskalace terapie, ale zpřesňuje i selekci pacientů vhodných pro intervenční metody včetně karotické revaskularizace (Paraskevas et al., 2014). V klinické praxi jsou tyto metody běžně užívány, ovšem nevýhodou kromě nutnosti použití několika diagnostických metod k dosažení přesnějšího zhodnocení karotického postižení tepen jsou i jejich limitace. Především je stále vysoká cena vyšetření zejména v případě jejich opakování, není možnost kontinuální monitorace vývoje plátů v řádů měsíců a let, která je pro posouzení remodelace plátu v čase nezbytná. U většiny metod je rovněž relativně malá rozlišovací schopnost vzhledem k velikosti buněk a struktur v aterosklerotických plátech, obtížné je i třídimenzionální (3D) hodnocení, které dle nových poznatků vykazuje vysokou prediktivní hodnotu dalšího vývoje plátů (Spence, 2020). Komplikace způsobují i potenciální artefakty při vyšetření (Kešnerová et al., 2018) a nezanedbatelná je pochopitelně zátěž samotného pacienta, zejména v případě opakování metod v čase či kombinování několika diagnostických přístupů. Výzkum plátů ke zhodnocení jejich struktury a predikci vývoje v čase je i z těchto důvodů intenzivní, v podmínkách *in vivo* však pochopitelně limitovaný. Snaha eliminovat některé z těchto limitací při studiu aterosklerotických plátů *in vitro* vedla tedy k vytvoření výše zmíněného hemodynamického modelu, jehož funkčnost byla předmětem naší pilotní studie.

Hemodynamický dopad a mikroembolizace z aterosklerotických plátů jsou příčiny poškození cerebrálního řečiště, které jsou již roky diskutované a zkoumané. V další pilotní studii bylo ovšem zkoumáno i to, jestli existují souvislosti mezi karotickou aterosklerózou a dopadem na hemodynamiku cerebrálního řečiště v důsledku jeho dlouhodobé remodelace.

Transkraniální sonografie (transkraniální Doppler, TCD; a transkraniální barevně kódovaná duplexní sonografie, TCCS), jsou ultrazvukové metody k analýze průtokových charakteristik v mozkových cévách, schopné detekovat změny v mozkové perfúzi přes intaktní lebku (Bartels, 1995). Umožňují také diagnostikovat intrakraniální vaskulární

abnormity, jako je arteriální stenóza, okluze nebo vazospasmus (Tsvigoulis et al., 2007; Malojcic et al., 2017; Christou et al., 2001; Alexandrov et al., 2012; Tegeler et al., 2013). V rámci diagnostiky nestabilního plátu a jeho rizikových charakteristik je prostřednictvím této rychlé, neinvazivní metody možno detekovat rovněž mikroembolické signály (microembolic signals; MES), které jsou jedním z projevů nestability plátu (Spence, 2017). Při hodnocení mozkových tepen jsou nejčastěji užívanými parametry hemodynamické indexy rezistence (rezistenční index, RI) a pulzatility (pulzatilní index, zvaný též Goslingův, PI). Tyto udávají rezistenci, resp. pulzabilitu distálního arteriálního řečiště derivovanou z průtokových křivek a oba indexy jsou počítány prostřednictvím automatizovaného softwaru s korekcí vyšetřujícím sonografistou (Tegeler et al., 2013; Altmann et al., 2016). Mikroangiopatie neboli small vessel disease (SVD) je porucha mozkových cév – arteriol, kapilár a pravděpodobně i žilního řečiště, které působí různé typy mozkových lézí, které zaznamenáváme prostřednictvím magnetické rezonance či počítačové tomografie (Wardlaw et al., 2019; Abdelrasoul et al., 2019). Typickými lézemi jsou hyperintenzity bílé hmoty na předpokládaném vaskulárním podkladě, lakuny, mikrohemoragie, sideróza, rozšířené perivaskulární prostory a mikroinfarkty (Wardlaw et al., 2019; Wardlaw et al., 2013; van Veluw et al., 2017). SVD způsobuje asi 25 % všech ischemických CMP a většinu hemoragických CMP, je nejčastější příčinou vaskulární demence, často ji nalézáme i u demence Alzheimerovské a vede ke zhoršení kognitivních funkcí (Wardlaw et al., 2019; Bos et al., 2018).

V současnosti víme, že ke zvýšení obou indexů dochází na základě mikroangiopatických změn mozkových cév, vedoucí k arteriální ztuhlosti (Lee et al., 2000; Park et al., 2013). Etiopatogeneticky se na ní podílí především ateroskleróza (na podkladě fibrinoidní nekrózy, lipohyalinózy a mikroateromů), amyloidová angiopatie, kalcifikace nebo vzácněji některé dědičné, zánětlivé či imunopatologické procesy, poradiační změny a non-amyloidová mikrovaskulární degenerace (Pantoni, 2010). Remodelace cévní stěny s její zvýšenou ztuhlostí vede k neschopnosti mozkových arteriol snižovat systémový arteriální tlak a dochází k působení vysoké pulzatility na mozkové řečiště. To vyvolává endoteliální dysfunkci a poškození hematoencefalické bariéry, vedoucí k mikrovaskulárnímu poškození (Shi et al., 2018), které vede ke zhoršení mozkového krevního průtoku, snížení cerebrovaskulární reaktivity a zvýšení intrakraniální cévní pulzatility i rezistence. Proto jsou RI i PI užívány jako neinvazivní nepřímý marker SVD, jelikož je obtížné vizualizovat změny mozkových arteriol *in vivo* přímo (Altmann et al., 2016; Shi et al., 2018; Sharma et

al., 2007). Studie prokázaly že zvýšený PI je asociován nejenom s lézemi bílé hmoty, ale také s vyšším rizikem lakunárního iktu a demence, a pozitivně koreluje s tíží difúzního SVD (Altmann et al., 2016; Shi et al., 2018; Sharma et al., 2007; Sabayan et al., 2012; Purkayastha et al., 2014). Senzitivita a specificita PI v detekci fokálního a difúzního intrakraniálního poškození byla 79,4 % a 92,4 % resp. (Sharma et al., 2007). Zatímco u karotické aterosklerózy jsou pláty dobře detekovatelné a rizikové faktory známé (Chambless et al., 2002; Crouse et al., 1987; Spence & Hackam, 2010), u aterosklerózy mozkových cév máme zatím informace spíše nepřímé na podkladě změn mozkového parenchymu (Wardlaw et al., 2019; Schmidt et al., 2002), a to i přesto, že oba indexy lze velmi snadno a neinvazivně měřit prostřednictvím transkraniální sonografie ve střední mozkové arterii (arteria cerebri media; ACM). I přes tato fakta je informací o tom, jaké rizikové faktory se u pacientů s aterosklerózou karotid podílí i na remodelaci intrakraniálních arterií, dosud známo naprosté minimum.

Dalším důležitým faktorem ke zpřesnění diagnostiky neurovaskulárních onemocnění i jejich léčebných indikací je cerebrální průtok. Jeho kvantifikace umožňuje identifikovat pacienty s rizikem ischemie mozku v důsledku fragilní hemodynamiky a tím i zpřesnit indikace invazivních terapeutických postupů (Amin-Hanjani et al., 2005; Amin-Hanjani et al., 2017; Amin-Hanjani et al., 2019). Významný vliv karotické aterosklerózy zejména u zvyšujícího se procenta stenózy byl již výše zmíněn, nicméně v běžné praxi jsme dosud schopni detekovat pouze změny průtokových rychlostí v daném povodí, zatímco přímé změření dopadu na objem mozkové cirkulace je spíše předmětem studií prostřednictvím metod níže zmíněných.

Kvantitativní magnetická rezonanční angiografie (Quantitative magnetic resonance angiography, qMRA) a duplexní sonografie (DS), včetně duplexní sonografie cervikálních arterií (DSCA) and TCCS jsou neinvazivní metody, které mohou být použity k měření objemu krevního průtoku v krčních a intrakraniálních arteriích (Payen et al., 1982; Burns, 1987; Marks et al., 1992; Eicke & Tegeler, 1995; Zhao et al., 2007). qMRA je technika relativně nová, která k vizualizaci extrakraniální a intrakraniální cévní anatomie a k měření objemu krevního průtoku užívá tradiční sekvence time-of-flight a fázový kontrast (Tegeler et al., 2013; Fu et al., 2019). Užita již byla ve studiích se zdravými dobrovolníky ke stanovení referenčních hodnot normy v regionálních povodích (Fu et al., 2019), a také v různých klinických indikacích např. při stratifikaci rizik CMP z vertebrobazilárního (VB) povodí (Amin-Hanjani et al., 2005; Amin-Hanjani et al., 2017; Amin-Hanjani et al., 2019),

k evaluaci VB průtoku u pacientů se subklaviálním steal syndromem (Wardlaw et al., 2019), ke screeningu intrakraniální stenózy ve stentu (Abdelrasoul et al., 2019), zhodnocení leptomeningeálního kolaterálního průtoku u onemocnění velkých cév (van Veluw et al., 2017), a dalších.

Duplexní ultrazvuk umožňuje získat obdobné parametry za užití Dopplerovského modu, měření rychlostí toku, kalkulace indexů a z morfologických dat z B-modu (Christou et al., 2001; Alexandrov et al., 2012; Altmann et al., 2016). Ke kvantifikaci volumu lze pak použít různé přístupy. Duplexní ultrazvukové systémy konvenčně umožňují vypočítat objem toku krve z průměrovaných rychlostí toku a plochy průřezu cévy (Alexandrov et al., 2012), alternativně lze užít i jiné metody, včetně kvantitativních průtokoměrů zahrnující informace z Dopplerovského měření, A-modu a M-modu se simultánním stanovením lokálních průtokových rychlostí (Christou et al., 2001; Altmann et al., 2016; Lee et al., 2000). Obě metody duplexní sonografie (DSCA a TCCS) i qMRA mohou být použity k měření celkového objemu průtoku krve mozkiem, ale také v jednotlivých povodích (Altmann et al., 2016; Fu et al., 2019; Park et al., 2013).

V naší pilotní studii jsme se zaměřili na korelaci obou metod, abychom zjistili, zda je možné tyto techniky využít v klinické praxi k upřesnění změn celkového či lokálního průtoku v mozkových arteriích, a tím i zlepšili identifikaci pacientů se zvýšeným rizikem iCMP.

2. CÍLE A HYPOTÉZY

Hlavním cílem naší práce bylo zaměřit se na aspekty karotické aterosklerózy z pohledu současné diagnostiky, jejich inovací i širšího kontextu s analýzou remodelace vaskulárního systému mozku u tohoto onemocnění. Tyto záměry byly rozpracovány v jednotlivých studiích, jejichž cíle jsou shrnuty níže.

Cíl č. 1: Cílem prospektivní observační studie bylo zjistit, zda charakteristika karotického aterosklerotického plátu identifikovatelná pomocí duplexní sonografie ovlivňuje riziko progresu plátu.

Hypotéza č. 1: Na základě ultrazvukového vyšetření lze identifikovat charakteristiky aterosklerotického plátu, které zvyšují riziko jeho progresu do budoucna

Cíl a hypotézu č. 1 zkoumá studie č. 1.

Cíl č. 2: Cílem této studie bylo najít rozdíly v elasticitě aterosklerotického plátu u pacientů se symptomatickou, asymptomatickou progresivní a asymptomatickou stabilní karotickou stenózou.

Hypotéza č. 2: Elasticita aterosklerotického plátu v karotidě měřená pomocí shear-wave elastografie se liší u stabilních a nestabilních plátů

Cíl a hypotézu č. 2 zkoumá studie č. 2.

Cíl č. 3: Cílem studie bylo zjistit, zda lze v hemodynamickém modelu nasimulovat průtokové parametry v oblasti stenózy karotické bifurkace srovnatelné se stavem *in vivo* před provedením karotické endarterektomie.

Hypotéza č. 3: Průtokové parametry v karotických tepnách naměřené pomocí duplexní sonografie v hemodynamickém fantomu se neliší od parametrů *in vivo* před karotickou endarterektomií.

Cíl a hypotézu č. 3 zkoumá studie č. 3.

Cíl č.4: Cílem studie bylo identifikovat faktory, které ovlivňují zvýšení rezistenčního a pulzatilního indexu detekovaného prostřednictvím transkraniální duplexní sonografie jako markery angiopatie drobných mozkových tepen u pacientů s karotickou aterosklerózou.

Hypotéza č. 4: U pacientů postižených aterosklerózou v karotických tepnách lze nalézt rizikové znaky, které nepříznivě ovlivňují hemodynamiku cerebrálního řečiště v důsledku mikroangiopatické remodelace tepen korelující se zvýšením pulzatilního a rezistenčního indexu.

Cíl a hypotézu č. 4 zkoumá studie č. 4.

Cíl č. 5: Cílem studie bylo zhodnotit korelaci měření minutového průtokového objemu krve v krčních i intrakraniálních arteriích mezi duplexní sonografií a kvantitativní magnetickou rezonanční angiografií a zhodnocení inter- i intra-observační shody k přesnějšímu hodnocení neurovaskulárních patologií.

Hypotéza č. 5: Zhodnocení minutového průtokového objemu v extrakraniálních i intrakraniálních arteriích lze provést kvantitativní magnetickou rezonancí i ultrazvukovým vyšetřením, přičemž obě tyto metody spolu dobře korelují

Cíl a hypotézu č. 5 zkoumá studie č. 5.

3. METODIKA

Použitá metodika je popsána v odpovídajících sekcích u jednotlivých studií a příložených publikačních výstupech.

4. VÝSLEDKY

Výsledky jsou uvedeny v odpovídajících sekcích jednotlivých studií a příložených publikačních výstupech.

5. SOUHRNY JEDNOTLIVÝCH STUDIÍ

5.1. Studie č. 1: Vizuální hodnocení a digitální analýza ultrazvukového obrazu u stabilního a progredujícího aterosklerotického plátu v karotické tepně

5.1.1. Pacienti

Pro analýzu byli vybráni všichni pacienti ze studie ANTIQUE (Atherosclerotic Plaque Characteristics Associated with a Progression Rate of the Plaque and a Risk of Stroke in Patients with the Carotid Bifurcation Plaque Study; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02360137), kteří absolvovali všechna klinická a ultrazvuková vyšetření během 36 měsíců od zařazení do studie. Vstupní kritéria pro zařazení do studie byla věk 30 – 90 let, aterosklerotický plát lokalizovaný v karotické bifurkaci nebo v proximální části vnitřní karotidy šíře $\geq 2,0$ mm, dostatečná kvalita zobrazení aterosklerotického plátu v ultrazvukovém B-obraze, soběstačnost subjektu definovaná jako Rankinovo skóre 0 – 2 body a podepsaný informovaný souhlas. Vylučovací kritéria byla závažné onemocnění s nízkou pravděpodobností dožití minimálně 3 let od zařazení do studie nebo objektivní překážky bránící absolvování pravidelných půlročních kontrol.

Studie byla provedena v souladu s Helsinskou deklarácí z roku 1975 (revidovanou v letech 2004 a 2008). Studii schválila etická komise Fakultní nemocnice v Ostravě (č. 605/2014, datum 31. 7. 2014). Všichni pacienti ke studii poskytli písemný informovaný souhlas.

5.1.2. Metodika a provedení studie

5.1.2.1. Klinická vyšetření

Všichni pacienti zařazení do analýzy absolvovali neurologické a fyzikální vyšetření při zařazení do studie a následně v 6měsíčních intervalech po dobu 36 měsíců. Při každé kontrole byly pacientům změřeny krevní tlak (jedno měření v klidu po sonografickém vyšetření), výška a hmotnost s výpočtem indexu tělesné hmotnosti (body mass index; BMI) a byly u nich zaznamenány demografické a klinické údaje (věk, pohlaví, anamnéza a výskyt nemocí [arteriální hypertenze, diabetes mellitus, hyperlipidemie, ischemická choroba srdeční, fibrilace síní, infarkt myokardu nebo jiná srdeční onemocnění, CMP i jejího typu včetně tranzitorní ischemické ataky a amaurosis fugax, chirurgický zákrok nebo stentování

cév vč. krčních tepen, koronárních tepen nebo tepen dolních končetin], kouření, denní dávka alkoholu a užívané léky). Přehled demografických dat je uveden v Tabulce č. 1.

Tab. 1 Demografické a klinické charakteristiky pacientů zařazených do studie ANTIQUE a pacientů zařazených do analýzy

	Studie ANTIQUE	Pacienti zařazení do analýzy	Pacienti nezařazení do analýzy	
Počet pacientů (n)	1591	1391	200	
Věk (roky); průměr ± SD	69,2 ± 10,2	68,5 ± 10,3	73,7 ± 8,8	
Mužské pohlaví; n (%)	583 (36,6 %)	466 (33,5 %)	117 (58,5 %)	
Hmotnost (kg); průměr ± SD	80,8 ± 14,8	80,5 ± 14,7	82,8 ± 15,3	
Výška (cm); průměr ± SD	168,3 ± 9,3	168,1 ± 9,1	169,5 ± 10,0	
Body mass index; průměr ± SD	28,5 ± 4,4	28,4 ± 4,4	28,8 ± 4,7	
Systolický krevní tlak (mm Hg); průměr ± SD	134,4 ± 12,4	134,4 ± 12,4	134,1 ± 12,2	
Diastolický krevní tlak (mm Hg); průměr ± SD	79,9 ± 8,7	79,8 ± 8,8	80,5 ± 8,1	
Arteriální hypertenze; n (%)	1252 (78,7 %)	1091 (78,4 %)	161 (80,5 %)	
Diabetes mellitus; n (%)	341 (21,4 %)	299 (21,5 %)	42 (21,0 %)	
Hyperlipidémie; n (%)	855 (53,7 %)	754 (54,2 %)	101 (50,5 %)	
Ischemická choroba srdeční; n (%)	410 (25,8 %)	355 (25,5 %)	55 (27,5 %)	
Fibrilace síní; n (%)	193 (12,1 %)	165 (11,9 %)	28 (14,0 %)	
Srdeční infarkt; n (%)	149 (9,4 %)	131 (9,4 %)	18 (9,0 %)	
CMP; n (%)	328 (20,6 %)	279 (20,1 %)	49 (24,5 %)	
Operace/stent tepny; n (%)	246 (15,5 %)	218 (15,7 %)	29 (14,5 %)	
Kouření; n (%)	202 (12,7 %)	183 (13,2 %)	20 (10,0 %)	
Alkohol (IU/den); n (%)	0	676 (42,5 %)	598 (43,0 %)	78 (39,0 %)
	1	596 (37,5 %)	526 (37,8 %)	70 (35,0 %)
	2	297 (18,7 %)	249 (17,9 %)	48 (24,0 %)
	3 a více	26 (1,6 %)	22 (1,6 %)	4 (2,0 %)

SD – směrodatná odchylka; IU – mezinárodní jednotka (international unit); n – počet

5.1.2.2. Léčba

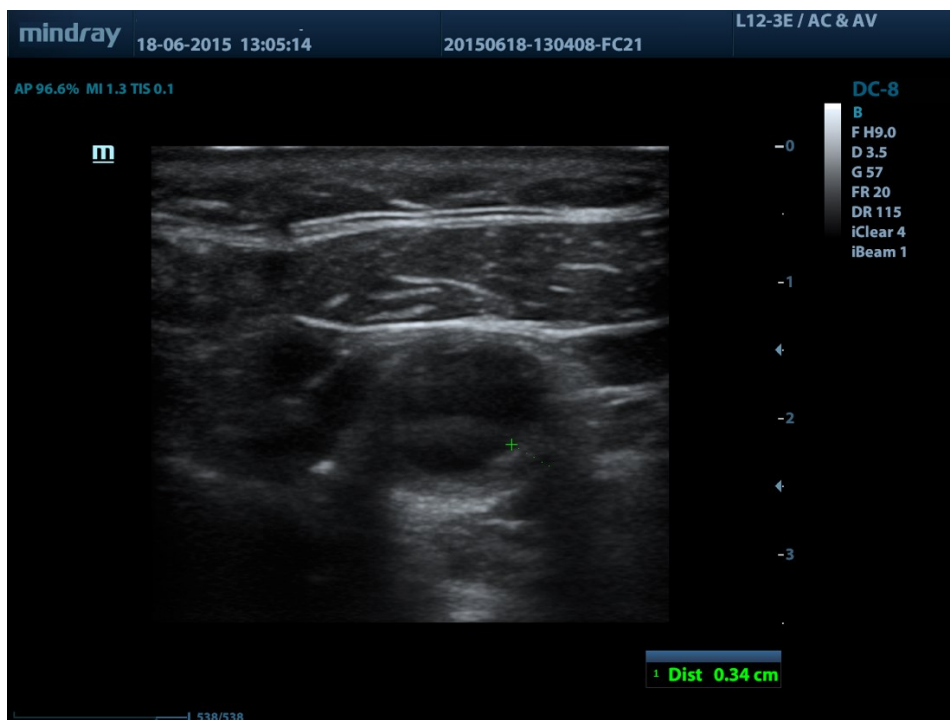
U všech pacientů byly optimálně léčeny ovlivnitelné cévní rizikové faktory pomocí strategie „léčba tepen místo léčby rizikových faktorů“ („treating arteries instead of risk fac-

tors“) (Spence & Hackam, 2010a). V případě detekce progresu šířky aterosklerotického plátu o $\geq 0,1\text{mm}$ mezi dvěma návštěvami byla pacientům terapie eskalována do konzervativního terapeutického maxima.

5.1.2.3. Ultrazvuková vyšetření

Při vstupní vizitě bylo provedeno neurosonologické vyšetření, další o 2 týdny později a poté v 6měsíčních intervalech po dobu 36 měsíců. Bylo vyšetřeno řečiště extrakraniální i intrakraniální lineární i fázovou transkraniální sondou se zaznamenáním všech aterosklerotických plátů v B-obraze spolu se získáním průtokové křivky v dopplerovském modu z oblasti plátů. U všech plátů byly zaznamenány 10s smyčky v podélném a příčném řezu k hodnocení charakteristik karotického plátu, vč. jeho šířky a závažnosti stenózy.

Následně byly hodnoceny následující charakteristiky každého aterosklerotického plátu: maximální šíře plátu, echogenita plátu (anechogenní, středně echogenní, hyperechogenní), homogenita (homogenní, heterogenní), povrch plátu (hladký, nerovný, exulcerovaný) a přítomnost kalcifikací. Měření šířky plátu bylo provedeno v příčném řezu v oblasti maximální šířky plátu (Obr. 1). Měření bylo provedeno 5×, pro analýzu byla následně použita pouze maximální naměřená šířka plátu.



Obr. 1 Měření šířky aterosklerotického plátu (zeleně) v oblasti maximální šířky plátu v odstupě a. carotis interna – UZ B-obraz, příčný řez

Digitální analýza složení aterosklerotického plátu byla provedena pomocí programu CEREB BMode Assist (MEDDIAG, TescoSW, Olomouc, ČR) se zaznamenáním indexu echogenity, který odpovídá echogennímu složení aterosklerotického plátu, a maximálního rozdílu echogenity odpovídajícímu míře heterogenity aterosklerotického plátu. Chyba měření šířky aterosklerotického plátu byla stanovena jako 99. percentil rozdílu mezi prvními 2 měřeními v odstupu dvou týdnů. Stabilní plát byl definován jako plát, u kterého byl rozdíl naměřené maximální šířky plátu mezi počátečním a konečným měřením po 36 měsících < 1 chyby měření. Jako progredující byly hodnoceny pláty s rozdílem jejich šířky mezi počátečním a konečným měřením > 2 chyby měření. Všechna sonografická vyšetření byla provedena zkušeným certifikovaným neurosonografistou (DŠ).

5.1.3. Statistická analýza

Normální distribuce dat byla testována pomocí Shapiro-Wilkova testu. Demografické údaje jsou vyjádřeny jako průměr a směrodatná odchylka, event. jako počet a procento. Kontinuální proměnné byly porovnány pomocí dvouvýběrového T-testu. Kategorická data byla porovnávána pomocí Fisherova přesného testu u binárních proměnných, u ostatních byl použit Mann-Whitneyův U-test. K identifikaci charakteristik aterosklerotického plátu v karotidě ovlivňující jeho progresi byla použita jak jednorozměrná, tak vícerozměrná logistická regresní analýza (metoda forward stepwise). Do vícerozměrné analýzy byly zahrnuty pouze faktory s hodnotou $p < 0,1$ v jednorozměrné analýze. Všechny statistické testy byly provedeny na hladině významnosti $p \leq 0,05$. Pro veškeré zpracování dat byl použit statistický software IBM SPSS Statistics 23 (SPSS, Chicago, IL, USA).

5.1.4. Výsledky

Do studie ANTIQUE bylo zařazeno celkem 1 591 pacientů (583 mužů a 1 008 žen; průměrný věk $69,2 \pm 10,2$ let), z nichž 119 (77 mužů a 42 žen; průměrný věk $76,1 \pm 7,2$ let) zemřelo v průběhu prvních 36 měsíců a 81 pacientů neabsolvovalo všechny návštěvy z důvodu imobility nebo změny bydliště. Do analýzy bylo nakonec zařazeno 1 391 pacientů (466 mužů a 925 žen; průměrný věk $68,5 \pm 10,3$ roku), kteří absolvovali všechny vizity. Podrobnější demografické údaje pacientů jsou uvedeny v Tabulce č. 1 výše.

Chyba UZ měření šíře aterosklerotického plátu stanovená jako 99. percentil rozdílu mezi prvními dvěma měřeními byla 0,2 mm. Stabilní aterosklerotické pláty v obou karotických

řečišcích byly detekovány u 332 pacientů (125 mužů a 207 žen, průměrný věk $66,7 \pm 9,7$ let). Progredující aterosklerotický plát v alespoň v jedné karotické tepně byl detekován u 255 pacientů (126 mužů a 129 žen, průměrný věk $69,5 \pm 8,3$ roku). Jednorozměrná logistická regresní analýza identifikovala 3 rizikové faktory progresu aterosklerotického plátu v karotidách: šíře aterosklerotického plátu při vstupní vizitě s poměrem rizik (odds ratio; OR) 1,713 ($p < 0,0001$), nerovný povrch plátu s OR = 1,900 ($p = 0,001$) a ulcerovaný povrch s OR = 2,328 ($p < 0,0001$) – blíže v Tabulce č. 2.

Tab. 2 Vliv sledovaných charakteristik plátů na progresi aterosklerotických plátů (vyjádřeno jako adjustovaný podíl rizik; odds ratio) – jednorozměrná logistická regresní analýza

	Studie ANTIQUE	Pacienti zařazení do analýzy	Pacienti nezařazení do analýzy
Počet pacientů (n)	1591	1391	200
Věk (roky); průměr ± SD	$69,2 \pm 10,2$	$68,5 \pm 10,3$	$73,7 \pm 8,8$
Mužské pohlaví; n (%)	583 (36,6 %)	466 (33,5 %)	117 (58,5 %)
Hmotnost (kg); průměr ± SD	$80,8 \pm 14,8$	$80,5 \pm 14,7$	$82,8 \pm 15,3$
Výška (cm); průměr ± SD	$168,3 \pm 9,3$	$168,1 \pm 9,1$	$169,5 \pm 10,0$
Body mass index; průměr ± SD	$28,5 \pm 4,4$	$28,4 \pm 4,4$	$28,8 \pm 4,7$
Systolický krevní tlak (mm Hg); průměr ± SD	$134,4 \pm 12,4$	$134,4 \pm 12,4$	$134,1 \pm 12,2$
Diastolický krevní tlak (mm Hg); průměr ± SD	$79,9 \pm 8,7$	$79,8 \pm 8,8$	$80,5 \pm 8,1$
Arteriální hypertenze; n (%)	1252 (78,7 %)	1091 (78,4 %)	161 (80,5 %)
Diabetes mellitus; n (%)	341 (21,4 %)	299 (21,5 %)	42 (21,0 %)
Hyperlipidémie; n (%)	855 (53,7 %)	754 (54,2 %)	101 (50,5 %)
Ischemická choroba srdeční; n (%)	410 (25,8 %)	355 (25,5 %)	55 (27,5 %)
Fibrilace síní; n (%)	193 (12,1 %)	165 (11,9 %)	28 (14,0 %)
Srdeční infarkt; n (%)	149 (9,4 %)	131 (9,4 %)	18 (9,0 %)
CMP; n (%)	328 (20,6 %)	279 (20,1 %)	49 (24,5 %)
Operace/stent tepny; n (%)	246 (15,5 %)	218 (15,7 %)	29 (14,5 %)
Kouření; n (%)	202 (12,7 %)	183 (13,2 %)	20 (10,0 %)
Alkohol (IU/den); n (%)	0	676 (42,5 %)	598 (43,0 %)
	1	596 (37,5 %)	526 (37,8 %)
	2	297 (18,7 %)	249 (17,9 %)
	3 a více	26 (1,6 %)	22 (1,6 %)

Vícerozměrná logistická regresní analýza potvrdila, že vliv všech 3 faktorů je nezávislý na ostatních sledovaných faktorech, přičemž s nárůstem šíře aterosklerotického plátu o 1 mm (odpovídající nárůstu stenózy o přibližně 10 %) narůstá riziko progresu plátu během následujících 3 let o 73,5 % ($p < 0,0001$), nerovný povrch plátu zvyšuje riziko progresu o 56,4 % ($p = 0,007$) a ulcerovaný plát o 81,9 % ($p = 0,025$) - viz Tabulka č. 3.

Tab. 3 Vliv sledovaných charakteristik plátů na progresi aterosklerotických plátů (vyjádřeno jako adjustovaný podíl rizik; odds ratio) – vícerozměrná logistická regresní analýza (metoda forward stepwise)

	Odds ratio (podíl rizik)	95% interval spolehlivosti	Statistická významnost p
Šíře aterosklerotického plátu (změna o 1 mm)	1,735	1,497 - 2,010	< 0,0001
Povrch aterosklerotického plátu			0,011
Nerovný vs hladký povrch	1,564	1,131 - 2,162	0,007
Ulcerovaný vs hladký povrch	1,819	1,079 - 3,067	0,025

5.2. Studie č. 2: Shear-wave elastografie umožňuje identifikaci nestabilního karotického plátu

5.2.1. Pacienti

Do analýzy byli zahrnuti konsektivní pacienti ze souboru studie ANTIQUE splňující kritéria absolvování klinického a ultrazvukového vyšetření v období 36 měsíců a pacienti, kteří prodělali ischemickou cévní mozkovou příhodu nebo tranzitorní ischemickou ataku v důsledku stenózy krkavice a podstoupili ultrazvukové vyšetření do 1 měsíce od mozkové příhody. Zařazovací kritéria byla zpřísněna na šíři aterosklerotického $\geq 3,0$ mm v transverzální rovině B-modu a navíc detekci karotické stenózy ≥ 50 % podle kritérií „North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET)“.

Vylučovací kritéria byla anamnéza kardioembolické cévní mozkové příhody; arteriální okluze v kontralaterální karotické tepně; okluze nebo stenóza ≥ 50 % v obou vertebrálních tepnách; okluze nebo stenóza ≥ 50 % v hlavních intrakraniálních tepnách; fibrilace nebo flutter síní a akutní cerebrovaskulární nebo kardiovaskulární příhoda v posledních 30 dnech. Pacienti s oboustrannými asymptomatickými stenózami krkavice ≥ 50 % byli z analýzy vyloučeni.

5.2.2. Metodika a provedení studie

5.2.2.1. Klinická vyšetření

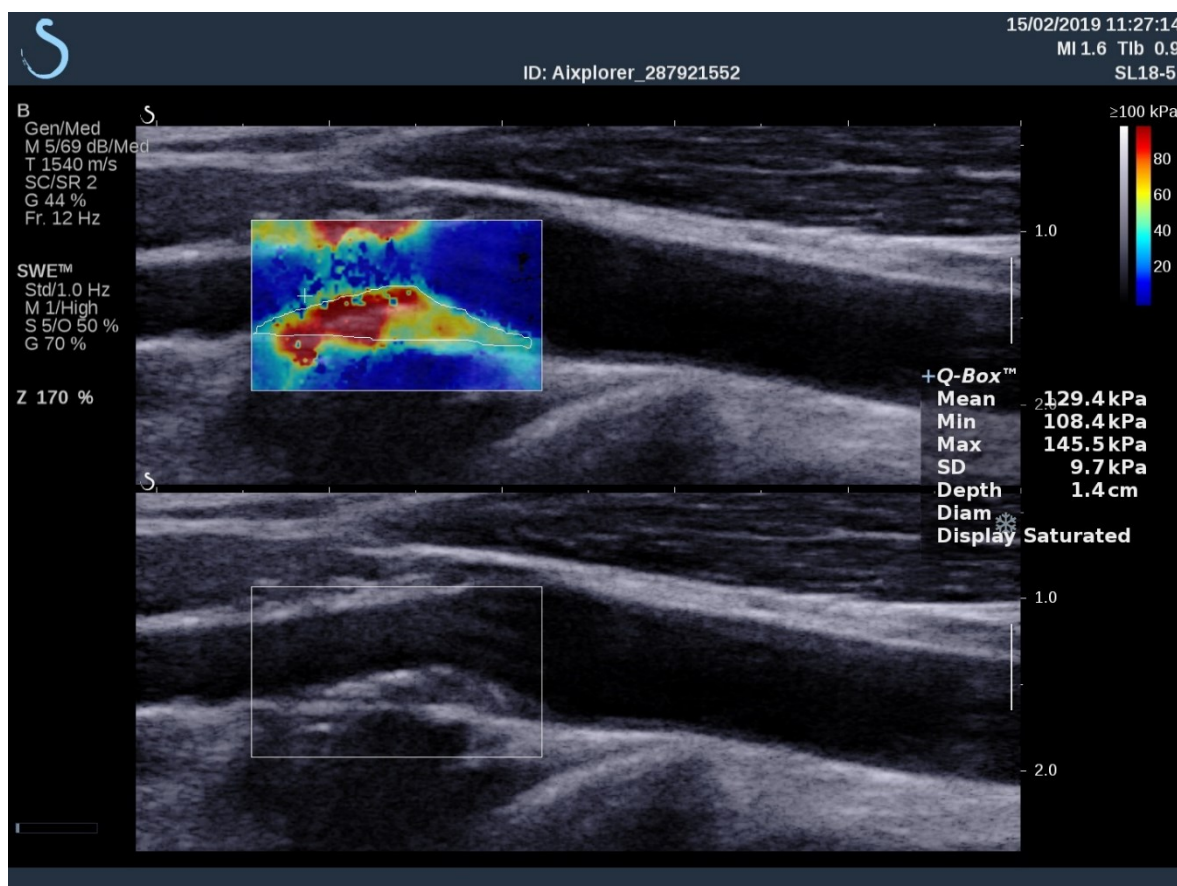
Jsou shodná a uvedena v Souhrnu Studie 1.- pododíl 5.2.2.1. Klinická vyšetření.

5.2.2.2. Ultrazvuková vyšetření

Všichni účastníci podstoupili rutinní klinická duplexní ultrazvuková vyšetření krčních tepen pomocí B-modu, barevného a dopplerovského režimu k posouzení stupně stenózy podle kritérií NASCET. Byly pořízeny podélné a příčné záznamy všech řezů plátů v karotické bifurkaci. Ultrazvukové zobrazení SWE k měření střední, maximální a minimální elasticity bylo provedeno pouze u plátů se stenózou ≥ 50 %.

V této studii byla použita technika SWE, která byla podrobněji popsána dříve (Ramnarine et al. 2014 b). Ke kvantifikaci průměrného Youngova modulu v kilopascálech (kPa) v

oblasti zájmu (region of interest, ROI), zahrnující celý plát v podélném řezu, byl použit vestavěný analytický software (nástroj Q-Box) (Obr. 2). Všechna vyšetření SWE prováděli dva certifikovaní sonografisté (D.S. a P.K.). Jeden sonografista (D.S.) prováděl vyšetření SWE 2x za dobu 2 týdnů za účelem vyhodnocení inter- a intra- observační variability.



Obr. 2 Shear-wave elastografie aterosklerotického plátu v karotické artérii v longitudinálním řezu – použití vestavěného analytického softwaru (Q-box tool) s měřením středního, minimálního a maximálního Youngova modulu (v kiloPascálech) v regionu zájmu (bíle)

Karotické stenózy byly rozděleny do tří skupin (symptomatické, asymptomatické progresivní a asymptomatické stabilní karotické pláty) podle anamnézy v předchozích 3 letech. Symptomatický plát byl definován jako plát, který se projevil ischemickou cévní mozkovou příhodou nebo tranzitorní ischemickou atakou v příslušném arteriálním teritoriu do 1 měsíce před SWE vyšetřením. Stabilní plát byl definován jako plát s maximálním rozdílem šířky plátu mezi počátečním a konečným měřením (interval 36 měsíců) < 1 chybou měření. Progresivní plát byl definován jako plát s rozdílem šířky mezi počátečním a konečným měřením > 2 chyby měření. Pláty s maximálním rozdílem šířky mezi

počátečním a konečným měřením 1-2 chybami měření nebyly zahrnuty. Chyba měření šířky plátu byla stanovena jako 99. percentil rozdílu mezi dvěma měřeními v intervalu 2 týdnů. Pokud byl v karotickém teritoriu zjištěn více než jeden plát, byl do analýzy zahrnut největší plát způsobující nejzávažnější stenózu.

5.2.3. Statistická analýza

Velikost vzorku byla spočítána na základě očekávaného 30 % rozdílu v elasticitě (Youngova modulu) mezi asymptomatickými stabilními, asymptomatickými progresivními, a/nebo symptomatickými pláty. Pre-studijní kalkulace prokázaly, že je nutné zařadit minimálně 11 pacientů do každé skupiny k dosažení statisticky významného výsledku s hodnotou $p < 0,05$. Normální distribuce dat byla testována za použití Shapiro-Wilkova testu. Demografická data jsou vyjádřena jako průměr a směrodatná odchylka ev. jako počet a procento. Meztřídní korelační koeficient (interclass correlation coefficient; ICC) byl užit ke zhodnocení inter- a intra- observační spolehlivosti. Kategorické proměnné byly porovnány pomocí Fisherova přesného testu. Kontinuální proměnné byly porovnány Mann-Whitneyovým U testem. Všechny statistické testy byly provedeny na hladině významnosti $P \leq 0,05$. Pro zpracování dat byl použit IBM SPSS Statistics 23 software (SPSS, Chicago, IL, USA).

5.2.4. Výsledky

Hodnota chyby měření stanovená jako 99. percentil rozdílu mezi dvěma měřeními byla 0,2 mm. Z 97 účastníků (50 žen, 47 mužů; průměrný věk \pm směrodatná odchylka $67,7 \pm 9,0$ let) se stenózou krkavice (průměr 59 % \pm 12,0 %) zařazených do studie byla symptomatická stenóza zjištěna u 11 (6 žen, 5 mužů; průměrný věk 64,5 let, \pm 10,2 roku), asymptomatická progresivní stenóza u 12 (7 žen, 5 mužů; průměrný věk, $65,7 \pm 8,4$ roku) a asymptomatická stabilní stenóza u 74 (37 žen, 37 mužů; průměrný věk, $68,6 \pm 8,7$ roku; blíže viz Tabulka č. 4). Účastníci ve třech skupinách se nelišili v žádných zaznamenaných zdravotních faktorech kromě cévní mozkové příhody nebo tranzitorní ischemické ataky v anamnéze, které byly přítomny významně častěji u osob se symptomatickou stenózou ve srovnání s osobami s asymptomatickou stenózou.

Úspěšná analýza SWE byla provedena u všech 97 plátů. Průměrný Youngův modul v celém souboru plátů se pohyboval mezi 5 a 193 kPa, přičemž u skupiny asymptomatických

stabilních plátů byl významně vyšší než u skupiny asymptomatických progresivních (52,2 vs. 30,4 kPa; $p < 0,001$) a symptomatických (52,2 vs. 36,4 kPa; $p = 0,033$) plátů. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi asymptomatickými progresivními a symptomatickými pláty ($p > 0,1$). Asymptomatické pláty měly také významně vyšší minimální a maximální Youngův modul ve srovnání s asymptomatickými progresivními pláty a významně vyšší maximální Youngův modul ve srovnání se symptomatickými pláty ($p < 0,05$ ve všech případech; blíže viz Tabulka č. 5) a křivka viz Obrázek č. 3.

Asymptomatické stabilní, asymptomatické progredující a symptomatické pláty se nelišily v echogenitě, homogenitě, výskytu ulcerovaného povrchu, kalcifikací ani v krvácení do plátu ($p < 0,05$ ve všech případech; Tabulka č. 5). Byla zjištěna pouze slabá pozitivní korelace mezi elasticitou plátu a věkem ($r = 0,224$). Naopak jediná slabá negativní korelace byla zjištěna mezi elasticitou plátu a závažností stenózy ($r = 0,120$).

Tab. 4 Demografická data zahrnutých subjektů

	Všichni pacienti	Stabilní asymptomatická stenóza	Progresivní asymptomatická stenóza	Symptomatická stenóza
Počet pacientů (n)	97	74	12	11
Věk; průměr ± SD (roky)	67.7 ± 9.0	68.6 ± 8.7	65.7 ± 8.4	64.5 ± 10.2
Mužské pohlaví; n (%)	47 (48.5)	37 (50)	5 (41.7)	5 (45.5)
Výška; průměr ± SD (cm)	168.6 ± 12.9	167.5 ± 14.0	171.9 ± 6.63	172.5 ± 8.5
Váha; průměr ± SD (kg)	82.2 ± 19.7	82.1 ± 7.2	86.7 ± 13.4	77.7 ± 10.5
Systolický krevní tlak; průměr ± SD (mmHg)	135.8 ± 13.9	135.8 ± 13.6	128.8 ± 13.1	143.2 ± 12.7
Diastolický krevní tlak; průměr ± SD (mmHg)	79.7 ± 8.8	79.5 ± 8.3	77.0 ± 9.9	83.4 ± 9.7
Pravá karotická stenóza; n (%)	50 (51.5)	37 (50)	8 (66.7)	5 (45.5)
Tíže karotické stenózy; průměr ± SD (%)	59 ± 12.0	57.8 ± 11.9	62.5 ± 11.6	62.3 ± 13.4
Arteriální hypertenze; n (%)	84 (86.6)	63 (85.1)	11 (91.7)	10 (90.1)
Diabetes mellitus; n (%)	29 (29.9)	19 (25.7)	6 (50.0)	4 (36.4)
Hyperlipidémie; n (%)	72 (74.4)	55 (74.3)	9 (75.0)	8 (72.7)
Ischemická choroba srdeční; n (%)	26 (26.8)	20 (27.0)	4 (33.3)	2 (18.2)
Srdeční infarkt v anamnéze; n (%)	12 (12.4)	11 (15.1)	0 (0)	1 (9.1)
Fibrilace síní; n (%)	12 (12.4)	9 (12.2)	2 (16.7)	1 (9.1)
CMP/TIA v anamnéze; n (%)	44 (45.4)	28 (37.8)	4 (33.4)	12 (100)*
Ischemická choroba periferních tepen; n (%)	6 (6.2)	4 (5.4)	1 (8.3)	1 (9.1)
Kouření; n (%)	36 (37.1)	26 (26.8)	4 (33.3)	6 (54.5)
Požívání alkoholu; n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Karotická endarterektomie/stenting; n (%)	10 (10.3)	8 (8.2)	1 (8.3)	1 (9.1)

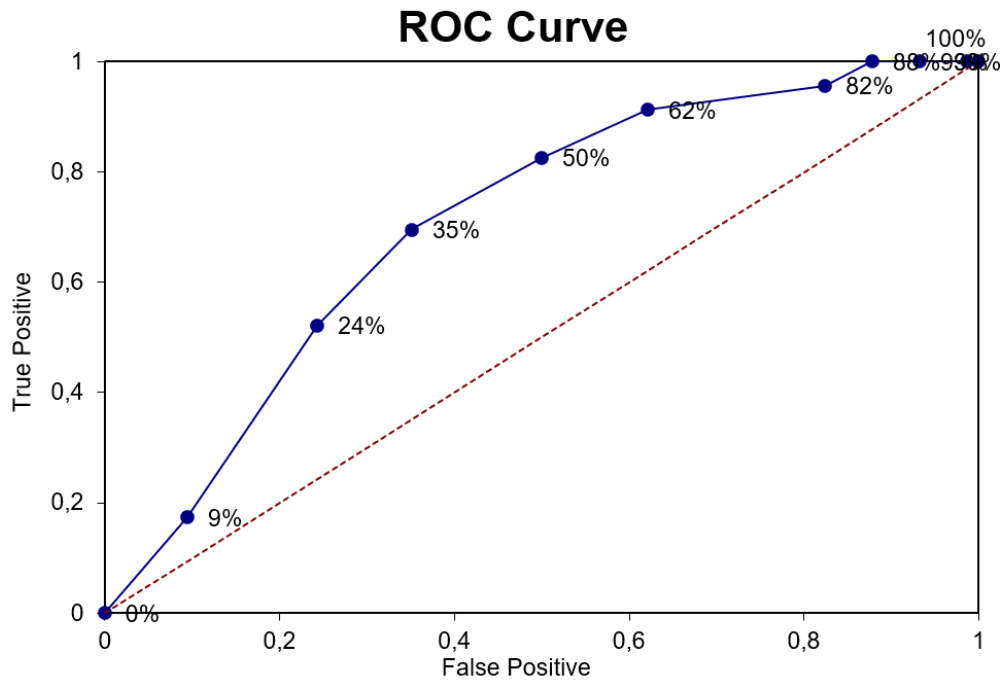
CABG/ stenting koronárních artérií; n (%)	9 (9.3)	7 (7.2)	1 (9.1)	1 (9.1)
Operace/stenting periferních artérií; n (%)	4 (4.1)	2 (2.1)	1 (8.3)	1 (9.1)

*- $p < 0.05$; CABG – koronární arteriální bypass graft; n – počet; SD – směrodatná odchylka; TIA – transientní ischemická ataka

Tab. 5 Charakteristiky plátu a elasticita měřené shear wave-elastografií

	Stabilní asymptomatická stenóza	Progresivní asymptomatická stenóza	P	Symptomatická stenóza	P
Elastografie plátu					
- Střední elasticita plátu (Youngův modul; průměr ± SD (kPA))	52.2 ± 30.0	30.4 ± 17.9	<0.001	36.4 ± 22.9	0.033
- Minimální elasticita plátu (Youngův modul; průměr ± SD (kPA))	18.9 ± 23.7	8.7 ± 9.8	0.006	13.3 ± 11.5	0.118
- Maximální elasticita plátu (Youngův modul; průměr ± SD (kPA))	86.1 ± 44.4	46.9 ± 33.7	<0.001	59.1 ± 37.5	0.028
Echogenita plátu					
- Anechogenní/hypoechoenní; n (%)	19 (25.7)	5 (41.7)	0.344	3 (27.3)	0.178
- Echogenní; n (%)	52 (70.3)	6 (50.0)		6 (54.5)	
- Kalcifikovaný; n (%)	3 (4.1)	1 (8.3)		2 (18.2)	
Homogenní plát; n (%)	36 (48.7)	8 (66.7)	0.149	3 (27.3)	0.092
Ulcerovaný plát; n (%)	3 (4.1)	2 (16.7)	0.153	1 (9.1)	0.298
Krvácení do plátu; n (%)	7 (9.5)	1 (8.3)	0.485	2 (18.2)	0.251

n – počet; SD – směrodatná odchylka; P – statistická významnost



Obr. 3 Charakteristická provozní křivka přijímače – odlišení stabilních asymptomatických a progresivních asymptomatických nebo symptomatických plátů.
 ROC = receiver operating characteristic curve

5.3. Studie č. 3: Srovnání měření průtokových parametrů v oblasti karotické stenózy in vivo a in vitro – pilotní výsledky testování hemodynamického fantomu

5.3.1. Pacienti

Do studie byli zařazeni pacienti sledovaní v rámci studie ANTIQUE, u kterých byla při vyšetření UZ detekována stenóza v oblasti karotické bifurkace $\geq 50\%$ a pacienti byli indikováni dle platných kritérií (Brott et al., 2011; Škoda et al., 2016) ke karotické endarterektomii. Vylučovacími kritérii bylo nedostatečné zobrazení lumina tepny v oblasti stenózy (především při kalcifikacích v oblasti plátu) a srdeční arytmie výrazně ovlivňující tok v karotické bifurkaci typu fibrilace nebo flutteru síní.

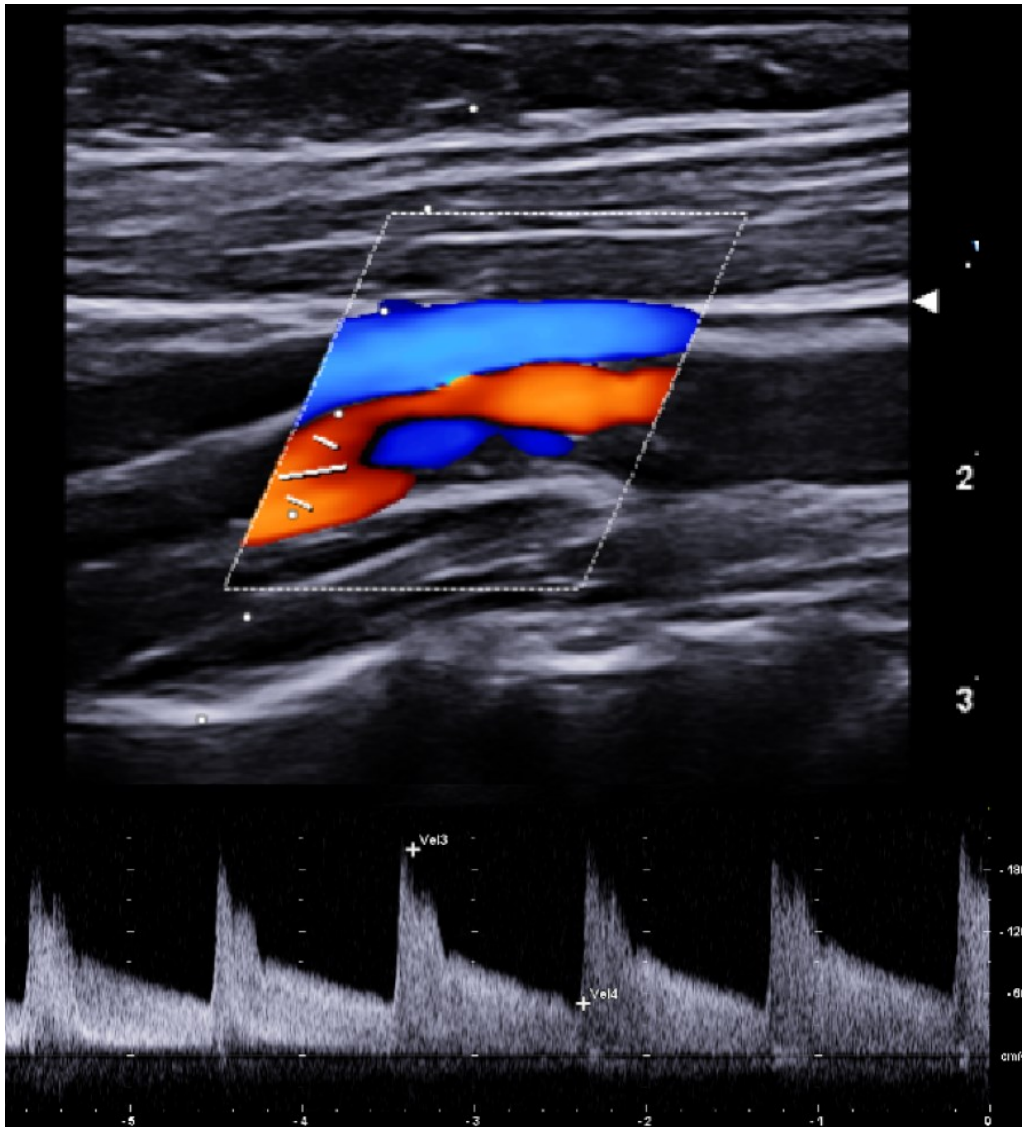
5.3.2. Metodika a provedení studie

5.3.2.1. Klinická vyšetření

Jsou shodná a uvedena v Souhrnu Studie 1. - pododdíl 5.2.2.1. Klinická vyšetření.

5.3.2.2. Ultrazvuková vyšetření in vivo

Všichni pacienti absolvovali duplexní sonografické vyšetření krčních a mozkových tepen. V oblasti stenózy nad 50 % byly změřeny rozměry plátů (šířka, délka), šířka reziduálního lumina, šířka tepny v místě stenózy a šířka tepny za stenózou. Na straně karotické stenózy byly v dopplerovském modu zobrazeny průtokové křivky se změřením průtokových rychlostí (maximální systolické rychlosti [peak systolic velocity; PSV], konečné diastolické rychlosti [end-diastolic velocity; EDV] a střední průtokové rychlosti [Vmean]) před stenózou v ACC, ve stenóze (v oblasti karotické bifurkace a odstupů ACI), za stenózou v ACI pod lebeční bází a v arteria carotis externa (ACE) (Obrázek č. 4). Hodnota průtokových rychlostí byla získaná zprůměrováním měření během 4 srdečních cyklů. Stupeň karotické stenózy byl hodnocen podle dříve publikovaných kritérií (Stegehuis et al., 2018).



Obr. 4 Duplexní sonografie – měření průtokových rychlostí v oblasti stenózy v odstupu vnitřní karotidy *in vivo*.

5.3.2.3. Vyšetření CT a CTA

U všech pacientů bylo před karotickou endarterektomií provedeno standardní vyšetření CT angiografické s intravenózní aplikací jodové kontrastní látky. CT skeny u všech pacientů standardně pokrývaly oblast od kraniálního oblouku aorty až nad Willisův kruh. Zdrojová data byla uložena jako 1 mm multiplanární rekonstrukce. Rekonstrukce projekcí maximální intenzity (MIP) byly pro vizuální analýzu vypočítány radiologem. Ze skenů CTA byla následně provedena 3D rekonstrukce reziduálního lumina karotických tepen (ACC, ACI a ACE) a 3D rekonstrukce stěny karotických tepen (ACC, ACI a ACE) pro následný tisk cévního řečiště.

5.3.2.4. 3D tisk cévního řečiště

Ze sady transverzálních řezů snímků CTA byly vybrány snímky z oblasti 4 cm kraniálně a 4 cm distálně, které byly s odpovídajícími vzdálenostmi vloženy do programu Blender 2.90.1. V každém snímku byla manuálně označena stěna vnitřní a zevní karotidy. Karotické řečiště bylo v oblasti karotické bifurkace rozděleno na 2 části pro možnost vložení aterosklerotického plátu do vytištěného 3D modelu. Následně byla vytvořena 3D rekonstrukce karotického řečiště a data byla přesunuta do programu pro 3D tiskárny a 3D model karotického řečiště byl vytištěn na 3D tiskárně s použitím vlákna Gembird 3DP-TPE1.75-01W (Gembird Software Ltd., Almere, Nizozemsko).

5.3.2.5. Karotická endarterektomie

Chirurgický zákrok byl proveden podle standardního protokolu (Hrbáč et al., 2017) zkušeným neurochirurgem. Všichni pacienti byli během perioperačního období na dlouhodobé antiagregační léčbě bez přerušování. U všech pacientů byla karotická endarterektomie prováděna bez zavedení shuntu. Minimálně 3 min před zastavením toku v karotické tepně byla podána dávka 5 000 IU nefrakcionovaného heparinu bez vyvázání na konci operačního výkonu. Po naříznutí stěny (adventicie) karotické tepny byl u všech pacientů vyjmut aterosklerotický plát z oblasti stenózy v karotické bifurkaci a proximální části ACI z tepny bez poškození, a to vcelku jako 1 blok. Operace byla provedena s pomocí 3D mikroskopu s monitorováním průtoků v ipsilaterální ACM pomocí kontinuální transkraniální dopplerometrie. Aterosklerotický plát byl po vyjmutí vložen do perfúzního roztoku a zchlazen na 4 °C.

5.3.2.6. Hemodynamický model

Pro testování hemodynamických parametrů v oblasti karotické bifurkace byla vytvořena sestava fantomu, skládajícího se z výše zmíněných 3D tisknutých anatomických modelů karotického povodí, do kterých byly vloženy explantované aterosklerotické pláty (Obrázek č. 5a), dále z držáku anatomických modelů se simulovanými akusticko-impedančními parametry pro UZ měření a ze simulátoru pulzní průtokové vlny.

Každý tištěný karotický model byl při tisku příčně rozdělen na 2 části v oblasti karotické bifurkace tak, aby bylo možno do modelu vložit příslušný vyjmutý aterosklerotický plát a slepen kyanoakrylátovým lepidlem.

Tyto modely karotického povodí s vloženým aterosklerotickým plátem byly uchyceny na hadicové trny pomocí chirurgického hedvábí a vloženy do 3D tisknutého držáku s připojením ke generátoru pulzatilního proudění. Celý držák s modelem cévy byl pro zajištění akusticky vhodného prostředí naplněn perfúzním roztokem.

Pro generování definovaného průtoku s modulovanou průtočnou pulzatilní vlnou byla vytvořena sestava lineárního pístového čerpadla se speciálním ovládacím softwarem. Základem pro pístové čerpadlo byl modulární lineární aktuátor s uchycenou 50ml injekční stříkačkou, jehož technické řešení je popsáno v rámci užitého vzoru (Matějka et al., 2020). Tato sestava generátoru byla pomocí silikonových hadiček propojena s 3D tištěným modelem karotidy s vloženým aterosklerotickým plátem. Pro zvýšení akustického odrazu proudící kapaliny a lepší detekci pomocí dopplerovské sondy byla jako imitace krve použita suspenze mikročástic uhlíku. Řízení systému bylo zajištěno pomocí průmyslového kontroleru myRIO-1950 s vlastním ovládacím softwarem. Funkčnost modelu byla ověřena pomocí ultrazvukového vyšetření v B-obraze, barevném a dopplerovském modu. Nastavení jednotlivých bodů křivky bylo optimalizováno na základě změřených patientských dat a korelace s testovacím ultrazvukovým měřením jak z hlediska tvaru křivky (strmost náběžných a sestupných hran), tak z hlediska periody opakování simulující tepovou frekvenci a také z hlediska rychlostního profilu měřeného pomocí dopplerovského režimu.

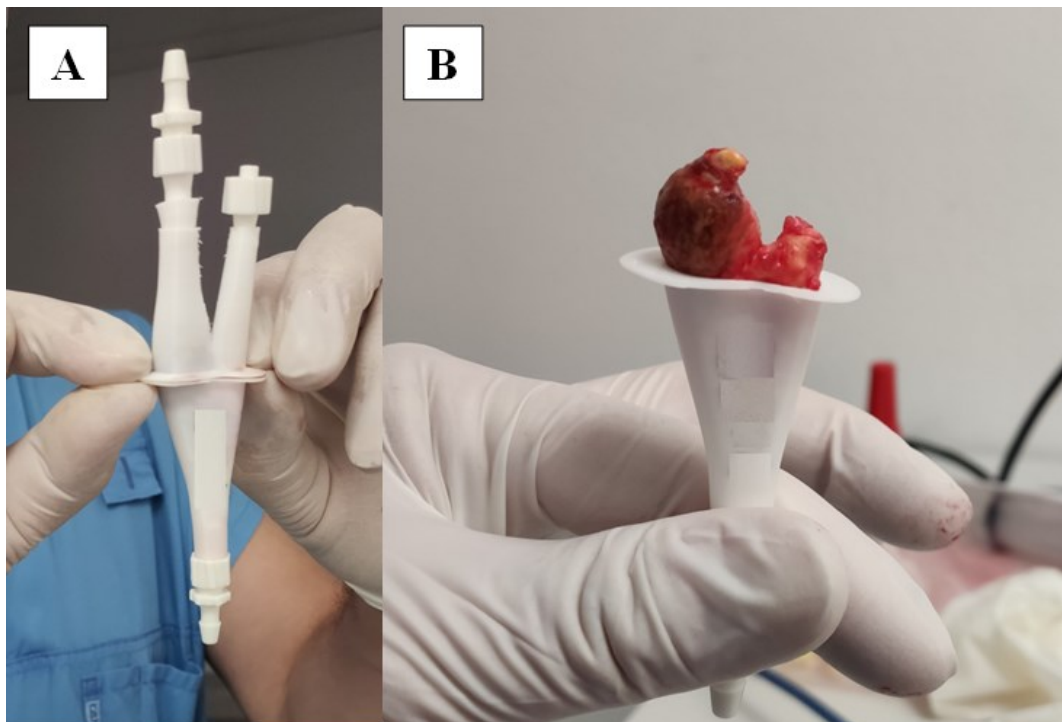
5.3.2.7. Ultrazvukové vyšetření v hemodynamickém fantomu

Aterosklerotický plát, extrahovaný v průběhu karotické endarterektomie, byl vložen do hemodynamického fantomu (Obrázek č. 5b + 6) do 30 min od vyjmutí. Po optimalizaci průtokové křivky byly v dopplerovském modu zobrazeny průtokové křivky se změřením průtokových rychlostí (PSV, EDV a Vmean) před stenózou v ACC, ve stenóze, 4 cm za stenózou v ACI a v odstupu ACE (Obrázek č. 7). Hodnota průtokových rychlostí byla získána zprůměrováním měření během 4 průtokových cyklů. Po ukončení měření byly aterosklerotické pláty vyjmuty z 3D modelu karotických tepen, fixovány v roztoku formaldehydu a následně zpracovány pro histologické vyšetření.

5.3.3. Statistická analýza

Odhad minimální velikosti vzorku byl vypočten pro odhalení signifikantního rozdílu 20 % mezi naměřenými průtokovými rychlostmi *in vivo* a *in vitro* s hladinou významnosti alfa =

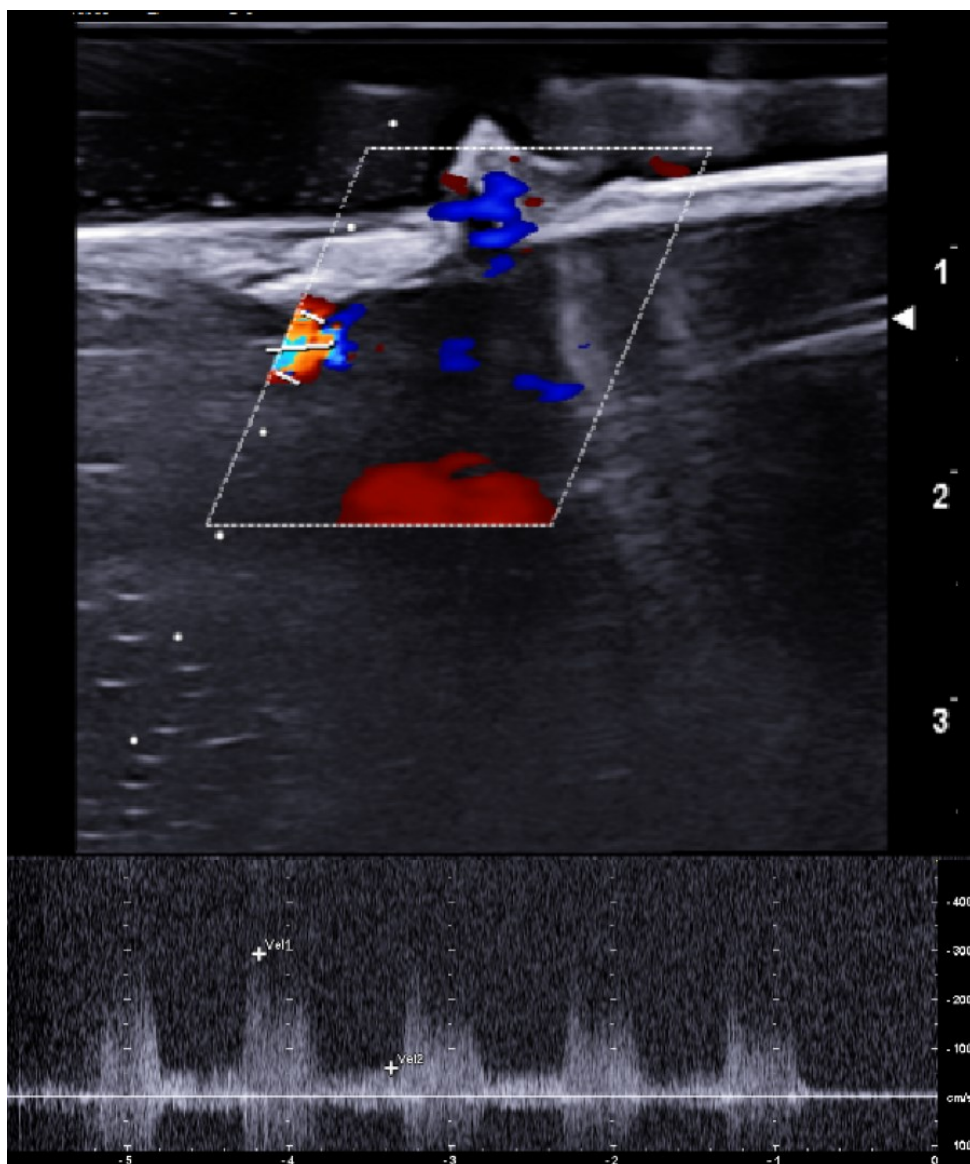
5 % a sílou beta = 80 %. Statistické výpočty určily, že nutná minimální velikost vzorku je 13 pacientů. Normalita rozložení dat byla testována pomocí Shapiro-Wilkova testu. Demografické údaje jsou vyjádřeny jako průměr a směrodatná odchylka nebo jako číselná hodnota a procento. Pro statistické zhodnocení rozdílu mezi naměřenými průtokovými rychlostmi byl použit párový Studentův t-test. Všechny statistické testy byly provedeny na hladině významnosti $p \leq 0,05$. Pro veškeré zpracování dat byl použit statistický software IBM SPSS Statistics 22 (SPSS, Chicago, IL, USA).



Obr. 5 a) Vytištěný 3D model karotické bifurkace, **b)** Vložení aterosklerotického plátu vyjmutého během karotické endarterektomie do vytištěného 3D modelu karotické bifurkace.



Obr. 6 Sestava generátoru propojená pomocí silikonových hadiček s 3D tištěným modelem karotidy s vloženým aterosklerotickým plátem



Obr. 7 Duplexní sonografie – měření průtokových rychlostí v oblasti stenózy v odstupu vnitřní karotidy *in vitro* v hemodynamickém modelu.

5.3.4. Výsledky

Do studie bylo během 4 měsíců zařazeno 13 pacientů (6 mužů; průměrný věk $67,3 \pm 9,9$ let) se stenózou karotické tepny $\geq 50\%$, kteří byli indikováni ke karotické endarterektomii. U 7 pacientů se jednalo o symptomatickou stenózu, u 6 pacientů byla stenóza asymptomatická. Demografická data pacientů jsou uvedena v Tabulce č. 1 ve Studii č. 1. Průměrná tíže stenózy byla $70,8 \pm 9,4\%$, procento stenózy se pohybovalo mezi 60 a 90 %. Čtyři stenózy byly tvořeny hypoechogenním měkkým plátem, u 2 pacientů byly pláty kalcifikované, u 7 pacientů se jednalo o heterogenní pláty. U 2 pacientů byl povrch plátu hladký, u 5 nerovný a u 6 pacientů byl plát exulcerovaný.

U všech pacientů bylo úspěšně provedeno ultrazvukové vyšetření karotických tepen jak *in vivo* před operací, tak i *in vitro* v hemodynamickém modelu. Výsledky měření *in vivo* a *in vitro* jsou uvedeny v Tabulce č. 2:

Tab. 6. Průtokové parametry v karotickém řečišti *in vivo* a *in vitro*.

Tepna	Průtokový parametr	Měření <i>in vivo</i>	Měření <i>in vitro</i>	P
ACC	PSV; průměr ± SD (cm/s)	80,8 ± 14,8	81,8 ± 17,1	0,870
	EDV; průměr ± SD (cm/s)	19,2 ± 3,7	18,2 ± 4,3	0,544
	V _{mean} ; průměr ± SD (cm/s)	39,4 ± 7,2	39,2 ± 8,2	0,942
oblast stenózy	PSV; průměr ± SD (cm/s)	297,1 ± 112,0	301,5 ± 115,4	0,9240
	EDV; průměr ± SD (cm/s)	81,5 ± 27,1	74,3 ± 29,2	0,539
	V _{mean} ; průměr ± SD (cm/s)	152,9 ± 54,8	149,6 ± 56,7	0,886
distální úsek ACI	PSV; průměr ± SD (cm/s)	63,1 ± 9,5	57,5 ± 14,4	0,273
	EDV; průměr ± SD (cm/s)	22,3 ± 2,2	19,5 ± 5,2	0,102
	V _{mean} ; průměr ± SD (cm/s)	35,8 ± 4,6	31,8 ± 8,0	0,149
ACE	PSV; průměr ± SD (cm/s)	162,2 ± 78,8	131,5 ± 65,3	0,0308
	EDV; průměr ± SD (cm/s)	20,6 ± 8,8	14,4 ± 6,4	0,059
	V _{mean} ; průměr ± SD (cm/s)	67,5 ± 31,9	53,1 ± 25,4	0,234

ACC – a. carotis communis; ACE – a. carotis externa; ACI – a. carotis interna; EDV – konečná diastolická rychlost; PSV – maximální systolická rychlost; SD – směrodatná odchylka; V_{mean} – střední průtoková rychlost; P – statistická významnost

V žádném z měřených hemodynamických parametrů nebyly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly mezi měřeními *in vivo* a *in vitro*. Průměrná odchylka v naměřené PSV v oblasti stenózy byla 18,9 cm/s, což odpovídá odchylce 7 %. U EDV byla v oblasti stenózy průměrná odchylka měření 8,2 cm/s odpovídající odchylce 11,1 %.

5.4. Studie č. 4: Periferní vaskulární rezistence v mozkových arteriích u pacientů s karotickou aterosklerózou – dílčí výsledky studie Charakteristiky aterosklerotického plátu asociované s mírou progresu plátu a rizikem cévní mozkové příhody v karotické bifurkaci (ANTIQUÉ)

5.4.1. Pacienti

Do studie byli zařazeni všichni po sobě jdoucí pacienti ze studie ANTIQUÉ s aterosklerotickým plátem lokalizovaným v karotické bifurkaci nebo v proximální části vnitřní karotidy (ACI) o šířce $\geq 2,0$ mm v transverzální rovině UZ B-modu. Výpočet hraničních hodnot indexů rezistence a pulzatility byl odvozen ze skupiny zdravých kontrol, v níž studijní subjekty neměli žádnou cévní patologii, v anamnéze žádné cévní a srdeční onemocnění, diabetes mellitus (DM) nebo jiné závažné onemocnění (např. nádor, autoimunitní onemocnění), během 48 hodin před ultrazvukovým vyšetřením nepožili alkohol a nekouřili, pravidelně nekonzumovali více než 2 mezinárodní jednotky alkoholu denně a pravidelně se podrobovali vyšetřením u praktického lékaře. Oba ukazatelé cerebrovaskulární rezistence byly následně použity pro dichotomizaci dat pro jednorozměrnou i vícerozměrnou logistickou regresní analýzu.

Vylučovací kritéria byla nedostatečné akustické okno temporální kosti, akutní nebo chronické srdeční selhání, anamnéza závažného onemocnění srdečních chlopní nebo stenózy aortálního oblouku, arteriální stenóza > 70 % v karotických, vertebrálních nebo intrakraniálních tepnách, oboustranné stenózy karotid > 50 %; závažné onemocnění s nízkou pravděpodobností tříletého přežití a překážky bránící pravidelnému šestiměsíčnímu sledování.

5.4.2. Metodika a provedení studie

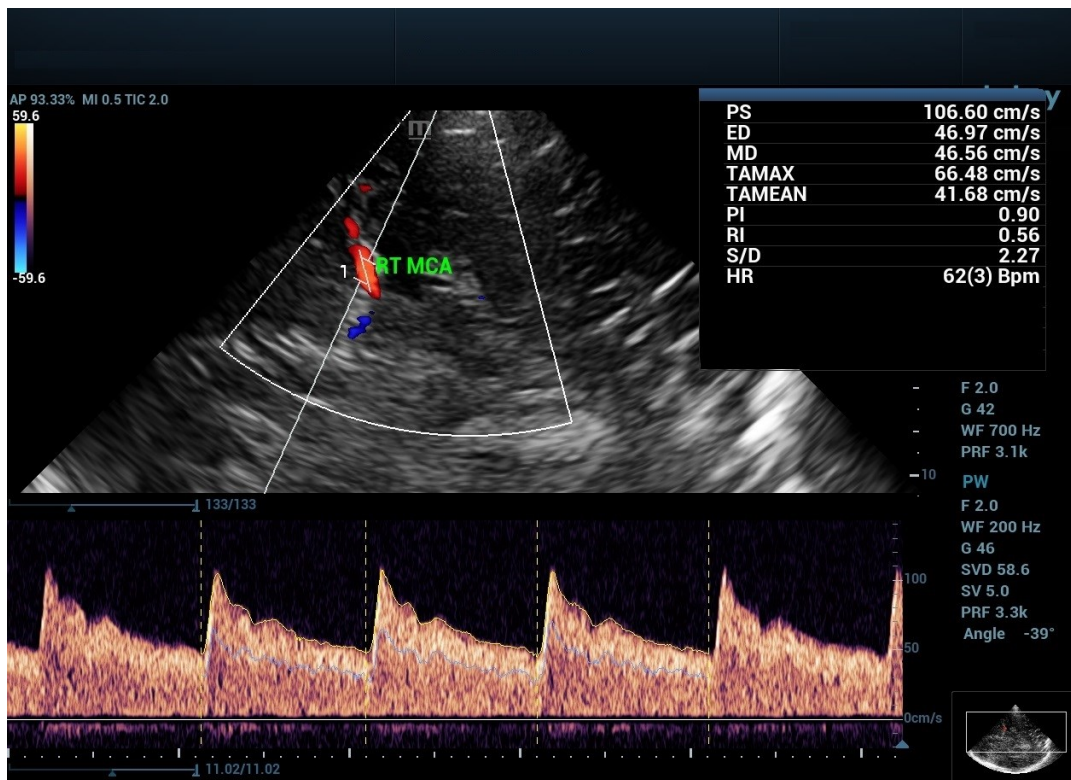
5.4.2.1. Klinická vyšetření

Jsou shodná a uvedena v Souhrnu Studie 1. - pododdíl 5.2.2.1. Klinická vyšetření. V souboru zdravých kontrol následná vyšetření probíhala pravidelně jednou ročně praktickým lékařem.

5.4.2.2. Ultrazvuková vyšetření

Neurosonologické vyšetření proběhlo u všech pacientů za standardních podmínek. Karotické a vertebrální tepny byly vyšetřeny pomocí lineární sondy o frekvenci 3-12 MHz (L12-3E) a byly změřeny maximální systolické rychlosti a rychlosti na konci diastoly, a oba indexy RI a PI. Hodnotila se šířka aterosklerotického plátu v karotické bifurkaci nebo ACI v axiální rovině, echogenita, homogenita, povrchové nerovnosti a kalcifikace plátu. Stupeň stenózy ACI byl hodnocen podle dříve publikovaných kritérií (von Reutern et al., 2012).

Pomocí 1-5 MHz duplexní transkraniální sondy (SP5-1e) byla změřena maximální systolická rychlost a rychlost průtoku krve na konci diastoly, RI a PI, v obou ACM v hloubce 55 mm – viz Obrázek č. 8. U pacientů s okluzí nebo 50 – 70 % stenózou společné krkavice, ACI nebo ACM byly hodnoceny pouze kontralaterální RI a PI. Jinak byly použity průměrné hodnoty RI a PI ze tří měření získaných během čtyř srdečních cyklů v pravé a levé ACM. Všechna sonografická vyšetření prováděl zkušený certifikovaný neurosonografista (DŠ). Zdraví dobrovolníci v derivační kohortě podstoupili kontrolní ultrazvuková vyšetření provedená dvěma sonografisty (DŠ a PK) v intervalu 2 týdnů pro vyhodnocení inter- a intra-observační variability.



Obr. 8 Měření úhlem korigovanou maximální systolickou rychlostí (PSV), konečnou diastolickou rychlostí (EDV), rezistenčního indexu (RI) a pulzatilního indexu (PI) ve střední mozkové tepně (ACM)

5.4.3. Statistická analýza

Normální rozdělení dat bylo testováno pomocí Shapiro-Wilkova testu. Demografické údaje jsou vyjádřeny jako průměr a směrodatná odchylka nebo jako číselné hodnoty a procenta. Horní hranice normálních hodnot byla stanovena jako 99. percentil hodnot u zdravých subjektů (derivační kohorta). Tato hodnota byla odhadnuta na základě minimální pravděpodobnosti intrakraniální cévní patologie v populaci bez diagnostikované aterosklerózy nebo cévních rizikových faktorů. Dle znalostí autorů však histopatologické údaje o cévách v takové populaci nejsou k dispozici. Pro hodnocení spolehlivosti inter- a intra- observační byl použit mezitřídní korelační koeficient.

K identifikaci nezávislých rizikových faktorů byla použita univarianní a multivarianní logistická regresní analýza (metoda forward stepwise), k detekci zvýšených RI a PI jako nepřímých markerů onemocnění malých cév. Do vícerozměrné analýzy byly zahrnuty pouze faktory s hodnotou $p < 0,1$ v jednorozměrné analýze.

Všechny statistické testy byly provedeny na hladině významnosti $p \leq 0,05$. Ke zpracování všech údajů byl použit statistický software IBM SPSS Statistics 22 (výrobce: SPSS, Chicago, IL, USA).

5.4.4. Výsledky

Do studie bylo zařazeno celkem 1863 pacientů, z toho bylo 133 zdravých dobrovolníků v derivační kohortě (50 mužů; průměrný věk $55,54 \pm 7,06$ let) a 1724 pacientů s aterosklerózou karotid ve validační kohortě (777 mužů; průměrný věk $68,73 \pm 9,39$ let). Demografické údaje jsou uvedeny v Tabulce č. 1 v kapitole Studie 1.

Hraniční hodnoty indexů stanovené na základě údajů zdravých dobrovolníků z derivační kohorty byly 0,63 pro RI a 1,21 pro PI. Inter- a intra-observační shoda vyšetření byla velmi vysoká: intra-observační ICC = 0,85 a inter-observační ICC = 0,82. Byla provedená jednorozměrná i vícerozměrná analýza sledovaných parametrů.

Identifikovali jsme 14 faktorů, které významně zvyšovaly likelihood ratio RI ($>0,63$), a 11 faktorů, které zvyšovaly likelihood ratio PI ($>1,21$). Žádná z vlastních charakteristik plátu významně nezvyšovala riziko nárůstu RI a PI, tj. echogenita plátu ($p = 0,100$ a $p = 0,124$, resp.), kalcifikace plátu ($p = 0,058$ a $p = 0,072$, resp.), homogenita plátu ($p = 0,670$ a $p = 0,566$, resp.) a povrch plátu ($p = 0,066$ a $p = 0,055$, resp.).

Ve vícerozměrné analýze byly nezávislými faktory spojenými se zvýšením RI nad mezní hodnoty identifikovány věk (OR = 1,108 na 1 rok; 95 % interval spolehlivosti [confidence interval, CI] = 1,088 - 1,129; $p < 0,001$), šířka karotického plátu (OR = 1,260 na 10 % stenózy; 95% CI = 1,107 - 1,435; $p < 0,001$), výskyt arteriální hypertenze (OR = 1,700; 95% CI = 1,178 - 2,453; $p = 0,005$) a DM (OR = 1,767; 95% CI = 1,285 - 2,429; $p < 0,001$). Nezávislými faktory spojenými se zvýšením PI nad mezní hodnoty byly věk (OR = 1,105 na 1 rok; 95% CI = 1,079 - 1,131; $p < 0,001$), mužské pohlaví (OR = 1,530; 95% CI = 1,067 - 2,194; $p = 0,021$) a výskyt DM (OR = 2,170; 95% CI = 1,471 - 3,203; $p < 0,001$). Přehled výsledků vícerozměrné analýzy jsou uvedeny v Tabulkách č. 7 a č. 8).

Tab. 7 Nezávislé faktory zvýšení rezistenčního indexu v mozkových arteriích (vícerozměrná analýza – metoda forward stepwise)

Faktory ovlivňující rezistenční index	Odds ratio	Interval spolehlivosti 95%	P
Věk (á 1 rok)	1.108	1.088-1.129	<0.0001
Diabetes mellitus	1.767	1.285-2.429	0.0005
Šíře karotického plátu (o 1 mm)	1.260	1.107-1.435	<0.0001
Arteriální hypertenze	1.700	1.178-2.453	0.005

Tab. 8 Nezávislé faktory zvýšení pulzatilního indexu v mozkových arteriích (vícerozměrná analýza - metoda forward stepwise)

Faktory ovlivňující pulzatilní index	Odds ratio	Interval spolehlivosti 95%	P
Věk (á 1 rok)	1.105	1.079-1.131	<0.0001
Diabetes mellitus	2.170	1.471-3.203	0.0001
Mužské pohlaví	1.530	1.067-2.194	0.021

5.5. Studie č. 5: Měření objemu průtoku krve v cervikálních a intrakraniálních tepnách pomocí kvantitativní magnetické rezonanční angiografie a duplexní sonografie (Bocaccia) – prospektivní observační studie

5.5.1. Pacienti

Pacienti byli zařazeni do plánované observační dvoutměsíční studie v měsících srpen – září 2018. Kritéria byla: věk 25 - 70 let; indikace k provedení qMRA nebo DS kvůli podezření na cervikální nebo intrakraniální vaskulární patologii; podepsaný informovaný souhlas. Vylučovací kritéria byla: kontraindikace k MR vyšetření; nekontrolované mimovolní pohyby; jiné stavy, které by pacientovi nedovolovaly poklidné ležení na zádech na delší dobu. Studie byla provedena v souladu s Helsinskou deklarací z roku 1975 (respektive s jejím aktualizovaným zněním z let 2004 a 2008).

5.5.2. Metodika a provedení studie

5.5.2.1. Provedení a načasování měření krevního průtoku

Všichni pacienti podstoupili qMRA, DSCA a TCCS v průběhu 4 hodin. Obě vyšetření DSCA a TCCS byla provedena dvěma specialisty, sonografisty, za použití 2 sonografů. Celkový objem průtoku krve byl definován jako součet objemů průtoků krve ACC a V2 úseků vertebrálních tepen na obou stranách. Objem průtoku krve mozkem byl definován jako součet objemů toků ACI a vertebrálních tepen na obou stranách. Deset pacientů podstoupilo qMRA a DSCA/TCCS, které provedli stejní lékaři dvakrát, a to v časovém intervalu 2-10 dnů. Participující vyšetřující lékaři diagnózu předem neznali. Výsledky měření získali za užití jiných diagnostických metod.

5.5.2.2. Kvantitativní magnetická rezonanční angiografie

Snímky qMRA byly získány pomocí 3T (Tesla) celotělového skeneru. Skener byl vybaven komerčně dostupným qMRA softwarem NOVA pro analýzu průtoku (výrobce: Vassol, Chicago, IL, USA). Vyšetřením lékaři získali standardní axiální trojrozměrný time-of-flight MRA obraz intrakraniálních a cervikálních tepen, snímky byly poté přeneseny na pracovní stanici za účelem rekonstrukce 3D povrchově vykresleného obrazu cév, byl proveden retrospektivní gating a rychlá 2D (dvoudimenzionální) fázově kontrastní sekvence. Kódování rychlosti bylo automaticky upraveno softwarem a ověřeno

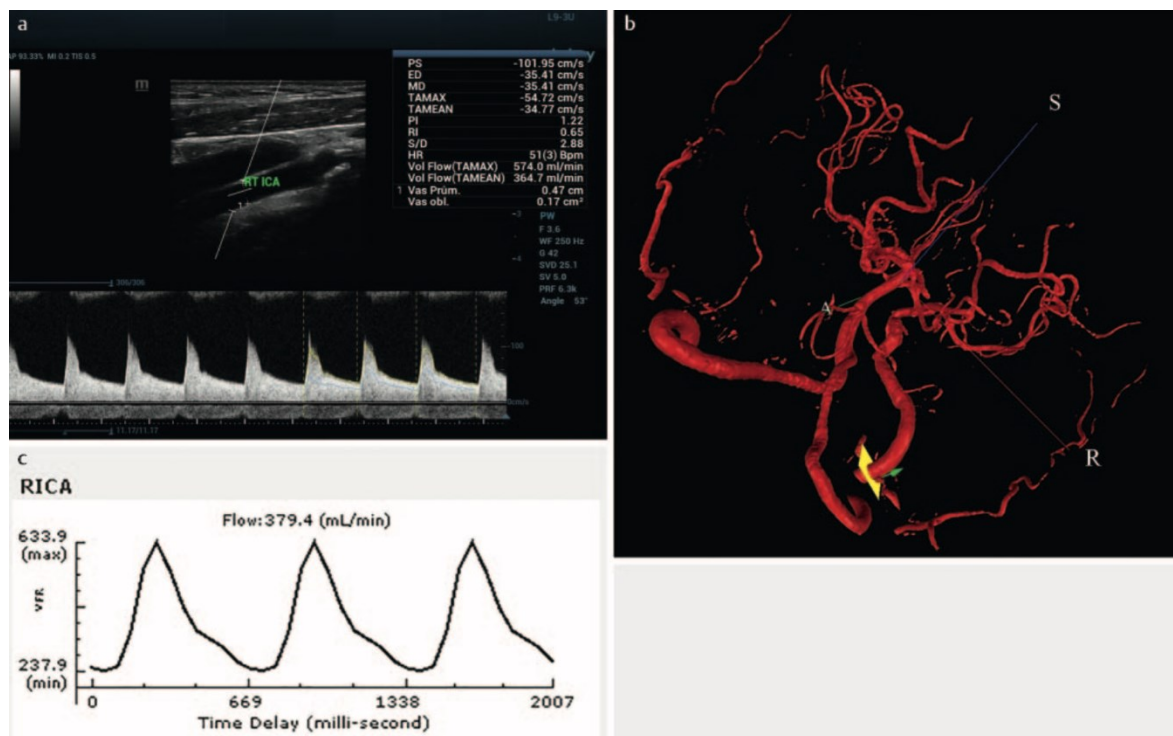
radiologem. Objemy průtoku krve v jednotlivých arteriálních segmentech byly vypočteny a zaznamenány do databázového systému.

5.5.2.3. Duplexní sonografie cervikálních tepen a transkraniální barevně kódovaná duplexní sonografie

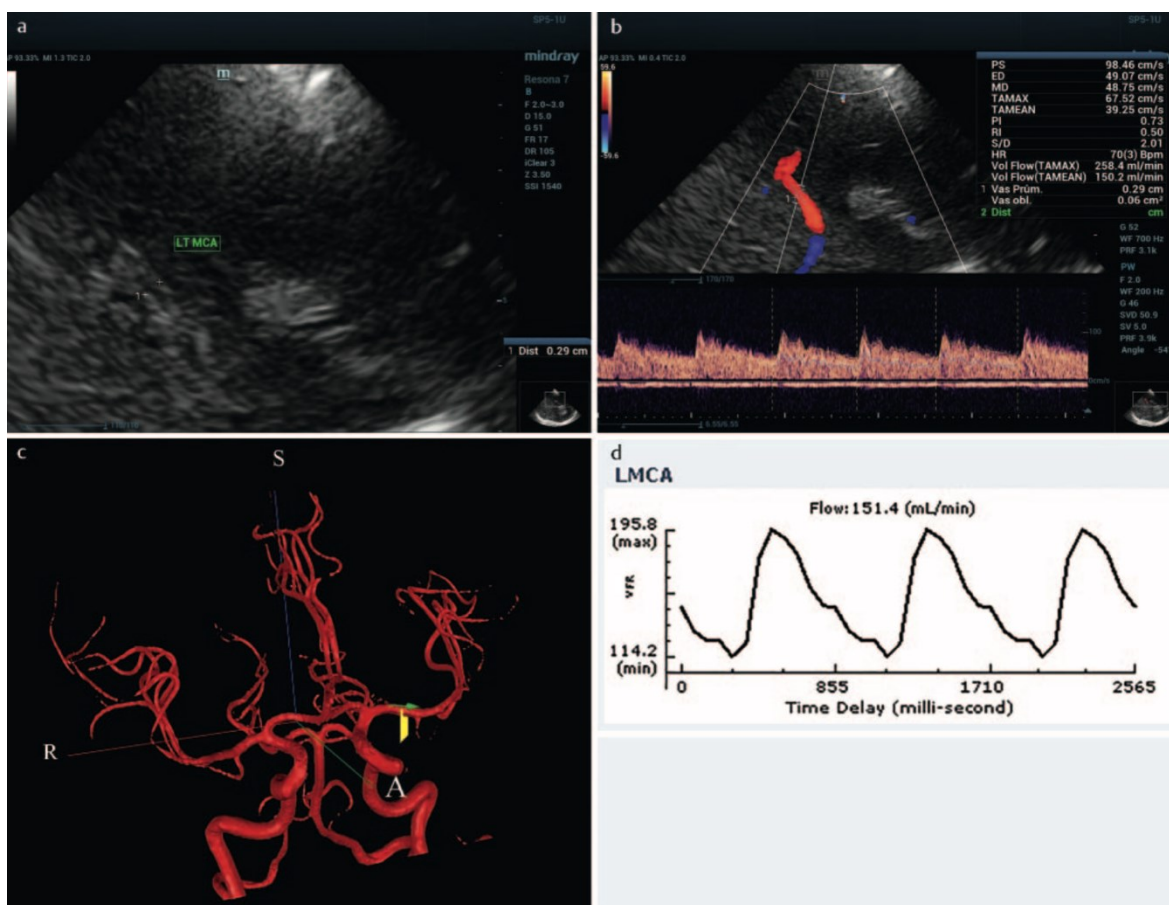
K provedení duplexní sonografie byly použity dva ultrazvukové skenery: Mindray Resona 7 a Toshiba Aplio 500. U všech pacientů bylo měřeno následující: maximální systolická rychlost s korekcí úhlu, konečná diastolická rychlost, průměrná rychlost průtoku krve, průměr tepny, časový průměr maximální rychlosti průtoku krve, časový průměr okamžité rychlosti průtoku krve.

Aby bylo možné posoudit spolehlivost měření mezi vyšetřujícími lékaři, byla u všech pacientů provedena DS dvěma sonografisty za užití dvou různých přístrojů.

Provedení vyšetření qMRA i DS je vyobrazeno níže – Obrázky č. 9 + č. 10:



Obr. 9 Zobrazení proximální části ACI s měřením objemu krevního průtoku (včetně měření průměru tepny, úhlově korigovaných rychlostí, střední a časově průměrované maximální rychlosti toku a středního objemu průtoku) – **a)** prostřednictvím duplexní sonografie **b)** stejná část tepny za použití kvantitativní magnetické rezonance **c)** s měřením objemu krevního průtoku



Obr. 10 Zobrazení ACM s následným měřením mozkového krevního průtoku (včetně měření průměru tepny a měřením úhlově korigovaných rychlostí, střední a časově průměrované maximální rychlosti toku a středního objemu průtoku) – **a**) prostřednictvím sonografie v B-modu **b**) v duplexním angio modu **c**) za použití kvantitativní magnetické rezonance **d**) s měřením objemu krevního průtoku

5.5.2.4. Klinická vyšetření

Všichni pacienti, u kterých byla provedena neurologická i fyzická vyšetření, podepsali informovaný souhlas. Od všech pacientů byly shromážděny následující údaje: věk, pohlaví, hmotnost, výška, systolický krevní tlak a diastolický krevní tlak. Neurologický deficit byl hodnocen pomocí stupnice „National Institutes of Health Stroke“, soběstačnost byla stanovena pomocí modifikované Rankinovy škály.

5.5.3. Statistická analýza

Odhad minimální velikosti vzorku potřebného k dosažení významné korelace mezi měřením krevního průtoku konkrétní tepny získaného metodami qMRA a DS byl vypočten

pro korelaci $r = 0.30$ se Spearmanovým korelačním koeficientem na úrovni alfa 5 % a silou 80 %. Statistické výpočty provedené před samotnou studií stanovily minimální velikost vzorku na 21 pacientů. Předpokládalo se, že 5 % z tepen nebude dobře viditelných z důvodu nedostatečného temporálního kostního okna. Pro testování normality dat byl použit Shapiro-Wilkův test. Všechna data se výrazně odchýlila od normální distribuce. Údaje jsou tedy uváděny jako průměr, střední hodnota a mezikvartilová rozpětí.

Hlavním cílem bylo zhodnotit korelaci měření průtoku krve mezi qMRA a DS. Sekundární cíle byly zaměřené na zhodnocení intra- i inter- observační spolehlivosti v obou metodách. Testovány byly následující předpoklady o objemu průtoku krve (Q):

$$A) Q_{CCA} = Q_{ICA} + Q_{ECA}$$

$$B) Q_{ICA-sifon} = Q_{střední\ mozková\ tepna} + Q_{přední\ mozková\ tepna} + Q_{zadní\ komunikační\ tepna}$$

$$C) Q_{bazilární\ tepna} = Q_{pravá\ v4-vertebrální\ tepna} + Q_{levá\ v4-vertebrální\ tepna}$$

Korelace mezi měřeními byly vyhodnoceny pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Všechny testy byly provedeny na hladině významnosti 0,05 α . Data byla analyzována pomocí softwaru SPSS v. 22.0 (výrobce: IBM, Armonk, NY, USA).

5.5.4. Výsledky

Do studie bylo po podpisu informovaného souhlasu zařazeno celkem 21 pacientů (15 mužů, 6 žen, průměrný věk $56,3 \pm 6,2$ let). 12 pacientů mělo diagnostikovanou arteriální patologii krční nebo intrakraniální tepny (3 pacienti s okluzí ACI, 2 pacienti s okluzí ACI a intrakraniálním bypassem, 2 pacienti se stenózou ACI, 2 pacienti s arteriovenózní malformací, 1 pacient se stenózou ACM, 1 pacient s okluzí brachiocefalického kmene s vertebrálním steal syndromem a 1 pacient s okluzí vertebrální tepny); 9 pacientů mělo fyziologický nález bez patologie arterií.

Výsledky měření celkového objemu mozkového krevního průtoku a objemu krevního průtoku v jednotlivých krčních a intrakraniálních tepnách pomocí dvou různých duplexních přístrojů jsou uvedeny v Tabulce č. 9. Inter-observační spolehlivost mezi měřeními objemu průtoku krve metodou duplexní sonografie ve všech vyšetřovaných tepnách pomocí dvou různých přístrojů byla vynikající s $ICC = 0,972$ (95% interval spolehlivosti, $CI = 0,959 - 0,979$, $P < 0,0001$). Intra-observační spolehlivost qMRA a DS byla podobná s $ICC = 0,995$ (95% $CI = 0,987 - 0,999$, $P < 0,0001$) pro qMRA a $ICC = 0,992$ (95% $CI = 0,985 - 0,996$, $P < 0,0001$) pro DS.

Při měření objemu mozkového krevního průtoku v krčních tepnách byli mezi qMRA a DS zaznamenány vysoké korelace, korelace měřené pomocí dvou různých ultrazvukových přístrojů byly vysoké nebo velmi vysoké. Avšak korelace mezi objemem průtoku krve mozem v intrakraniálních tepnách měřených pomocí qMRA a TCCS nebo dvou různých ultrazvukových přístrojů, byly většinou nízké až střední – výsledky jsou v Tabulce č. 10.

Tab. 9 Výsledky měření krevního průtoku

Krevní průtok v:	qMRA	DS1	DS2
TBF objem; střed, medián (IQR), mL/min	1219.5, 1080.0 (952.0 – 1165.0)	1270.0, 1121.3 (1048.9 – 1245.0)	1205.8, 1097.5 (886.2 – 1192.6)
CBF objem; střed, medián (IQR), mL/min	718.4, 695.5 (554.5 – 810.5)	772.3, 745.5 (629.3 – 947.8)	657.9, 588.8 (501.7 – 688.6)
Arteria carotis communis; střed, medián (IQR), mL/min	476.4, 445.0 (365.3 – 514.3)	515.6, 479.2 (337.9 – 579.4)	505.9, 471.9 (349.4 – 545.4)
Arteria carotis interna; střed, medián (IQR), mL/min	218.3, 233.0 (191.8 – 278.8)	268.7, 277.4 (173.9 – 357.3)	239.5, 211.8 (149.7 – 341.2)
Arteria carotis externa; střed, medián (IQR), mL/min	309.0, 217.0 (181.0 – 258.8)	235.0, 185.6 (150.5 – 266.5)	224.9, 204.2 (156.2 – 252.7)
V2-segment vertebrální arterie; střed, medián (IQR), mL/min	138.8, 109.0 (84.3 – 172.5)	118.2, 110.7 (69.0 – 161.1)	104.1, 100.3 (48.9 – 135.5)
Sifon arteria carotis interna; střed, medián (IQR), mL/min	242.6, 256.0 (214.5 – 302)	216.1, 194.0 (163.6 – 247.5)	222.5, 197.6 (169.6 – 285.8)
Arteria cerebri media; střed, medián (IQR), mL/min	143.8, 144.0 (123.0 – 158.5)	236.6, 222.4 (197.8 – 271.1)	235.6, 222.4 (191.1 – 257.7)
A1-segment arteria cerebri anterior; střed, medián (IQR), mL/min	90.9, 92.0 (76.5 – 118.2)	82.9, 82.8 (66.9 – 97.3)	65.8, 73.2 (54.9 – 84.0)
A2-segment arteria cerebri anterior; střed, medián (IQR), mL/min	69.5, 69.0 (56.5 – 82.5)	66.7, 72.7 (46.6 – 77.8)	MNP
Arteria cerebri posterior; střed, medián (IQR), mL/min	90.8, 72.0 (64.0 – 86.3)	59.3, 53.7 (46.2 – 67.1)	49.9, 44.0 (36.8 – 54.7)
Arteria communicans posterior; střed, medián (IQR), mL/min	56.5, 56.0 (37.5 – 84.0)	38.9, 31.2 (25.2 – 49.2)	MNP
V4-segment vertebrální arterie; střed, medián (IQR), mL/min	122.3, 109.0 (73.0 – 162.0)	69.3, 70.7 (51.1 – 83.3)	68.3, 68.9 (50.2 – 87.4)
Arteria basilaris; střed, medián (IQR), mL/min	202.8, 163.5 (139.3 – 197.8)	147.1, 105.9 (88.2 – 116.7)	150.6, 102.5 (83.0 – 129.7)

CBF – cerebral blood flow; krevní průtok mozku, DS1 – duplex sonography – examiner 1; duplexní sonografie – vyšetřující 1, DS2 – duplex sonography – examiner 2; duplexní sonografie – vyšetřující 2, IQR – interquartile range; mezikvartilové rozpětí, MNP – measurement not performed; měření neprovedeno, qMRA – quantitative magnetic resonance angiography; kvantitativní magnetická rezonanční angiografie, TBF – total blood flow; celkový krevní průtok

Tab. 10 Korelace měření průtoku mezi kvantitativní magnetickou rezonancí a dvěma různými sonografickými přístroji

	qMRA vs DS1	qMRA vs DS2	DS1 vs DS2
Celkem	0.568*	0.639*	0.786*
Arteria carotis communis	0.758*	0.743*	0.803*
Arteria carotis interna	0.754*	0.747*	0.862*
Arteria carotis externa	0.756*	0.597*	0.818*
V2-segment arteria vertebralis	0.786*	0.780*	0.940*
Sifon arteria carotis interna	0.428 [§]	0.426 [§]	0.651*
Arteria cerebri media	0.540*	0.318 [§]	0.588*
A1-segment arteria cerebri anterior	0.636*	0.504*	0.417 [§]
A2-segment arteria cerebri anterior	0.517	NA	NA
Arteria cerebri posterior	0.403 [§]	0.276 [§]	0.357 [§]
Arteria communicans posterior	0.685*	NA	NA
V4-segment arteria vertebralis	0.591*	0.777*	0.559*
Arteria basilaris	0.464 [§]	0.547 [§]	0.649*
Všechny arterie	0.815*	0.803*	0.930*

* – $p < 0.01$; [§] – $p < 0.05$; DS1 – duplex sonography – examiner 1; duplexní sonografie – vyšetřující 1, DS2 – duplex sonography – examiner 2; duplexní sonografie – vyšetřující 2, IQR – interquartile range; mezikvartilové rozpětí, NA – not available due to less than 10 measurements; nedostupné z důvodu méně než 10 měření, qMRA – quantitative magnetic resonance angiography; kvantitativní magnetická rezonanční angiografie, Total = sum of blood flow in both common carotid arteries and both vertebral arteries (V2-segment); Celkem = součet krevního průtoku měřeného v obou karotických arteriích a obou vertebrálních arteriích (ve V2-segmentu)

6. DISKUZE

Ateroskleróza je ve vyspělých zemích velmi rozšířeným onemocněním tepen, přičemž stenóza krční tepny se vyskytuje až u 75 % mužů a 62 % žen ve věku nad 65 let (Yanez et al., 2009). Ve studii Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study se dokonce prokázalo, že aterosklerotické pláty lze detekovat u 48,8 % mužů ve věku nad 42 let se zvyšující se incidencí s rostoucím věkem. Prevalence ve věku 42 let byla 14 %, ve věku 48 let již 32 % a ve věku 54 let dokonce 68 % (Salonen et al., 1988). Dosud zavedená konvence hodnotit tíži aterosklerotického onemocnění karotid pouze na podkladě stupně stenózy je v současnosti zjevně nedostatečná a klinická potřeba dalších informací včetně detailnější analýzy architektiky karotického plátu je zřejmá. Ultrazvuk je rychle se rozvíjející a v klinické praxi rozšířená metoda s několika novými modalitami, které umožňují zlepšení detekce nestabilního plátu. Má schopnost identifikovat většinu morfologických charakteristik plátu a zatím nedostatečné rozlišení některých z nich může být překonáno použitím pokročilejších metod, např. za použití ultrazvukové kontrastní látky, aplikace 3D UZ nebo počítačové analýzy echogenity plátu, která umožňuje lépe mapovat strukturu i architektiku plátu.

Na možnosti současné ultrazvukové diagnostiky jsme se zaměřili ve studii č. 1. Prokázali jsme, že z běžně hodnocených sonografických charakteristik aterosklerotických plátů pouze větší šíře aterosklerotického plátu, odpovídající vyššímu procentu stenózy tepny, a nerovný nebo ulcerovaný povrch plátu jsou nezávislými rizikovými faktory jeho progresu v následujících 3 letech. Naproti tomu žádný z typů aterosklerotického plátu dle jeho převažující echogenity, homogenity nebo složení (dle hodnocení echogenity jednotlivých součástí plátu), a to jak dle vizuální, tak digitální analýzy obrazu, nebyl identifikován jako rizikový faktor pro následující progresi plátu. Publikované studie v posledních 30 letech prokázaly rozdíly ve složení nestabilních a stabilních aterosklerotických plátů. Nestabilní aterosklerotické pláty byly častěji anechogenní (echolucentní), heterogenní, progredující, měly častěji detekovatelnou neovaskularizaci, krvácení do plátu, větší nekrotické jádro bohaté na lipidy, anechogenní část blízko lumina tepny, známky zánětu, prasklou fibrózní čepičku či nerovný povrch (Kešnerová et al., 2018; Andrews et al., 2018; Skagen et al., 2016; Wiśniewska et al., 2019; Doonan et al., 2016; Zhu et al., 2020; Roubec et al., 2019; Charvát et al., 2020). Přesto však stále není jasné, zda lze včasné identifikovat pacienty, u

kterých je větší riziko progresu stabilních aterosklerotických plátů do stadia nestabilních plátů.

Závažnost (procento) stenózy je nejdéle známým rizikovým faktorem iCMP u pacientů se stenózou karotické tepny (Kešnerová et al., 2018; NASCET, 1991; Rothwell et al., 2003). S narůstající stenózou se zvyšuje riziko vaskulární příhody v daném povodí až do úrovně preokluze, tedy stenózy okolo 95 %, kdy se riziko distální embolizace snižuje (Ooi & Gonzalez, 2015; Školoudík et al., 2003). Navíc u karotických stenóz nad 75 % narůstá se zvyšujícím se stupněm stenózy i riziko hemodynamického iktu (Školoudík et al., 2003). Výsledky naší studie ukazují, že šíře aterosklerotického plátu, která odpovídá zvyšujícímu se procentu stenózy, je spojená také se zvýšeným rizikem progresu aterosklerotického plátu. Recentní studie pak ukázaly, že progresu aterosklerotického plátu je jedním z prokázaných rizikových faktorů cerebrovaskulární příhody v povodí postižené tepny, přičemž velikost plátu měřená pomocí MR nebo DS je lepším prediktorem progresu plátu a vaskulární příhody v povodí dané tepny než procento stenózy tepny (Spence et al., 2002; Xu et al., 2014).

Moderní zobrazovací diagnostické metody, především DS, CT a MR, umožnily bližší hodnocení karotické stenózy s hodnocením různých charakteristik aterosklerotických plátů in vivo, jako jsou velikost, složení nebo povrch plátu (Kešnerová et al., 2018; Andrews et al., 2018; Skagen et al., 2016; Wiśniewska et al., 2019). Díky tomu se přesunul výzkum hodnocení rizika karotické stenózy od pouhého jednoduchého zhodnocení procenta stenózy ke komplexnějšímu hodnocení aterosklerotického plátu a hemodynamiky v oblasti stenózy, spolu s detekcí mikroembolizace (např. transkraniální dopplerovský monitoring či detekce němých mozkových infarktů) (Naghavi et al., 2003a; Naghavi et al., 2003b; Yin et al., 2017), i změn v cerebrální hemodynamice.

Nerovnosti či ulcerace povrchu plátu jsou způsobeny patologickými aktivitami uvnitř aterosklerotického plátu, jako jsou zánět, nekróza, krvácení do plátu s následnou rupturou fibrózní čepičky plátu (Kešnerová et al., 2018; Hansson et al., 2015). Nerovný povrch aterosklerotického plátu lze tedy považovat za známku pokročilejšího stadia aterosklerotického procesu s pravděpodobně vyšší aktivitou patologických procesů uvnitř plátu, vyšším rizikem jeho progresu a rozvoje symptomů včetně vzniku cévní mozkové příhody (Yin et al., 2017; Esposito-Bauer et al., 2013).

V naší studii jsme neprokázali, že by složení aterosklerotického plátu bylo rizikovým faktorem pro jeho progresi. Tedy jednotlivé typy plátů, např. měkké pláty, fibrózní pláty, pláty s kalcifikacemi či větším poměrem anechogenních oblastí, se neliší v pravděpodobnosti jejich progresu. Pro klinickou praxi tedy vyplývá, že intervaly pro sledování progresu plátů a monitorování účinnosti preventivní léčby by neměly být závislé na složení plátu, nýbrž na jeho velikosti a povrchu.

Optimálně by se screeningové sonografické vyšetření v detekci aterosklerotických arteriálních onemocnění mělo provádět ve věku asi 50 let, kdy jsou aterosklerotické pláty v tepnách detekovatelné přibližně u 50 % populace (Salonen et al., 1988), ale většina z těchto lidí nemá koronární nebo cerebrovaskulární příhody. Následně by k optimalizaci preventivní léčby měla být prováděna kontrolní vyšetření se sledováním progresu aterosklerotických plátů v pravidelných intervalech, kdy by se kratší intervaly měly volit především u pacientů s většími aterosklerotickými pláty a pláty s nerovným či ulcerovaným povrchem s časnou indikací intervenční léčby při splnění příslušných kritérií (Brott et al., 2011; Guňka et al., 2020). Tato léčebná strategie může vést ke snížení rizika vaskulárních komplikací a úmrtí v populaci (Spence & Hackam, 2010a).

V uvedených studii existují limitace. V rámci analýzy byly hodnoceny pouze některé charakteristiky aterosklerotických plátů, které jsou jednoduše identifikovatelné při duplexním sonografickém vyšetření. Do analýzy také nebyli zařazeni všichni pacienti, ale jen ti s jasně stabilními pláty a evidentně progredujícími pláty, což mohlo vést ke zkreslení výsledků. Nicméně výhodou této selekce pacientů bylo menší riziko chybného zařazení pacienta do skupiny stabilních nebo progredujících plátů. Další limitací je také to, že všechna sonografická vyšetření byla provedena jen jedním, i když zkušeným sonografistou, takže nelze zhodnotit vliv zkušenosti sonografisty na dosažené výsledky. Díky tomu však bylo pravděpodobně dosaženo menší chyby měření. Vliv inter-observační shody měření pojednáváme v dalších studiích níže.

Ve studii č. 2 jsme navázali na uvedené teze výzkumem nových ultrazvukových technik k rozlišení stabilních a nestabilních aterosklerotických plátů. Byla zkoumaná analýza plátů metodou shear-wave elastografie. Studie potvrdila proveditelnost i klinickou validaci SWE při hodnocení elasticity karotického aterosklerotického plátu, která byla prokázána i v publikovaných studiích *in vitro* a *in vivo* (Ramnarine et al., 2014b; Garrard et al., 2015; Lou et al., 2017; Pruijssen et al., 2020). SWE také umožnila kvantifikovat elasticitu plátu

pomocí Youngova modulu u všech 97 aterosklerotických plátů se stenózou $\geq 50\%$, bez ohledu na procento stenózy nebo složení plátu. Výrazně vyšší intra-observační spolehlivost ve srovnání se spolehlivostí inter-observační však ukazuje na možnou vysokou závislost na dovednostech sonografisty a technice vyšetření. Youngův modul plátu byl významně vyšší u asymptomatických stabilních plátů než u asymptomatických progresivních nebo symptomatických plátů, přičemž optimální hraniční hodnota byla 26 kPa. Při použití této hraniční hodnoty k rozlišení asymptomatických stabilních, asymptomatických progresivních a symptomatických plátů byla senzitivita 83,6 % a specifická 40,0 %.

I přes rychlý pokrok zobrazovacích metod upřesňujících složení plátu (např. DS, MR a CT), je včasná detekce nestabilních plátů stále výzvou (Andrews et al., 2018; Kešnerová et al., 2018; Saba et al., 2018; Zhu et al., 2020). Kromě tíže stenózy bylo identifikováno mnoho dalších potenciálně rizikových faktorů ovlivňujících stabilitu aterosklerotického plátu, jako jsou cévní rizikové faktory (např. arteriální hypertenze, DM a kouření), vlastnosti aterosklerotického plátu (povrch plátu, objem plátu, krvácení uvnitř plátu, zánět a nekrotické jádro bohaté na lipidy) a hemodynamické faktory (Halvorsen et al., 2008; Skagen et al., 2016). Složení plátu je velmi komplexní a hodnocení pouze jedné komponenty plátu nemusí být pro stratifikaci rizika dostačující (Howard et al., 2015; Skagen et al., 2016; Liem et al., 2017; Saba et al., 2018; Kešnerová et al., 2018; Kamtchum-Tatuene et al., 2020). Navíc, žádná z diagnostických metod není schopna současně detekovat všechny komponenty plátu (Ibrahimi et al., 2013; Huibers et al., 2015). Výzkum se proto zaměřuje na nové neinvazivní zobrazovací metody či biochemické markery, které by lépe identifikovaly nestabilní pláty i s ohledem na prevenci vzniku cerebrovaskulárních mozkových příhod (Finn et al., 2010; Vranic et al., 2020).

Na rozdíl od ultrazvukového B-modu, magnetické rezonance a počítačové tomografie je nová zobrazovací technika SWE schopna za využití Youngova modulu kvantitativně měřit elasticitu celého plátu. Předchozí studie ukázala, že elasticita kolagenních vláken a kalcifikací je vyšší než elasticita lipidů (Dahl et al., 2009). Nižší průměrná hodnota Youngova modulu tedy znamená větší podíl lipidového jádra nebo nekrózy. To by mohlo znamenat vyšší míru nestability plátu než u vyššího průměru Youngova modulu, který ukazuje na vyšší obsah fibrózní složky nebo kalcifikací (Dahl et al., 2009; Garrard et al., 2015). V souladu s tímto předpokladem prokázaly nedávné studie ve shodě s našimi výsledky výrazně nižší průměrný Youngův modul u symptomatických plátů oproti plátům asymptomatickým (Ramnarine et al., 2014b; Lou et al., 2017). Přestože relativní rozdíl v

průměrech Youngova modulu mezi symptomatickými a asymptomatickými pláty v těchto studiích byl velmi podobný jako v naší studii (43,4 % v této studii, 42,7 % ve studii Loua et al. a 41,9 % ve studii Ramnarine et al.), naměřené průměrné hodnoty Youngova modulu se výrazně lišily (36,4 vs. 52,2 kPa v současné studii, 81,1 vs. 115,8 kPa ve studii Lou et al. a 62 vs. 88 kPa ve studii Ramnarine et al.) Tyto rozdíly lze vysvětlit různými tvary použitých ROI. Ramnarine et al. použili více kruhových ROI v různých částech plátu. Naproti tomu v této studii byla k vyhodnocení střední hodnoty Youngova modulu využita funkce obkreslení celého plátu prostřednictvím softwaru v přístroji, podobně jako v metodě popsané Louem et al. Kromě toho mohou mít na naměřené hodnoty Youngova modulu vliv různá nastavení ultrazvukového přístroje a techniky měření. Námi naměřené hodnoty Youngova modulu se však mnohem více blížily hodnotám zjištěným v jiné studii (Chai et al., 2013), které byly vypočteny přímým měřením Youngova modulu karotického plátu získaného z endarterektomie pomocí indentačního testu. Medián Youngova modulu v této studii byl 30 kPa pro fibrózní tkáň, 40 kPa pro hustý, strukturovaný kolagen, 80 kPa pro volný, nestrukturovaný kolagen a 16 kPa pro lipidy. K vysvětlení těchto rozdílů a nastavení standardního protokolu SWE je tedy zapotřebí dalších studií.

Tato studie je jedinečná, protože rozdělila asymptomatické pláty na stabilní a progresivní skupinu. Výsledky jasně ukazují, že stabilní a progresivní aterosklerotické pláty se významně liší v měřených průměrných, minimálních a maximálních hodnotách Youngova modulu. Naměřené hodnoty Youngova modulu u asymptomatických progresivních plátů byly dokonce nižší, i když ne významně než u symptomatických plátů. Toto zjištění podporuje hypotézu, že progresse aterosklerotického plátu je rizikovým faktorem pro vznik nestabilních plátů (Spence, 2016). Měření elasticity plátu pomocí SWE by tedy mohlo být použito jako doplňkový parametr k indikaci karotické endarterektomie nebo angioplastiky a stentingu u diagnózy asymptomatické stenózy karotidy > 50 %.

Ve studii č. 2 existují limitace. Byl vypočítán minimální počet účastníků (velikost vzorku), aby bylo možno prokázat minimálně 30 % rozdíl v elasticitě plátu měřené pomocí Youngova modulu mezi skupinami stabilních a nestabilních plátů. Počet zařazených účastníků nám nicméně neumožnil vyhodnotit další faktory, které mohou potenciálně ovlivňovat elasticitu plátu. Dále, Youngův modul byl hodnocen pouze v podélném řezu celého plátu pomocí nástroje trace (delineaci plátu). Není jasné, zda je pro rozlišení nestabilních plátů lepší nástroj trace nebo kruhové ROI. Progresivní asymptomatické a symptomatické pláty byly vybrány podle předchozího 36měsíčního sledování. Není tedy

jisté, zda a kdy mohla být u těchto plátů zjištěna odlišná elasticita před jejich progresí nebo před nástupem symptomů. Asymptomatictí účastníci této studie nepodstoupili zobrazovací vyšetření mozku. U asymptomatických skupin tedy nebylo možné vyloučit ischemickou mozkovou příhodu v oblasti stenotického úseku krkavice v tiché formě bez klinických symptomů. Kromě toho mohou neurologické příznaky u symptomatických jedinců pocházet z jakéhokoli plátu, pokud je přítomen více než jeden plát v tepnách zásobujících postiženou oblast mozku, nejen z námi vybraného plátu na krkavici. Ve snaze zabránit biasu nebyli do analýzy zahrnuti účastníci s oboustrannými stenózami krkavice > 50 %.

U každého účastníka jsme analyzovali pouze největší plát v daném teritoriu karotické tepny způsobující nejzávažnější stenózu. Také je třeba zmínit technická omezení SWE. Rovnice Youngova modulu zahrnuje mnoho předpokladů, jako je homogenní a izotropní prostředí se semikonečnou velikostí. Karotidy jsou však anizotropní a tato jednoduchá rovnice nemusí být pro jejich výpočet vhodná. (Lou et al., 2017). Vliv kalcifikací plátu na naměřené střední hodnoty Youngova modulu byl navíc nejasný a musí být ověřen v budoucích studiích.

Z obou prezentovaných studií je zřejmé, že podrobnější a zejména opakované analýzy plátů, stejně jako predikci vývoje a výzkum v oblasti hemodynamiky do jisté míry omezují podmínky in vivo. To vedlo výzkumný tým ke snaze přenést částečně možnosti výzkumu k vytvoření in vitro fantomového modelu karotické bifurkace. V naší studii č. 3 výsledky ukázaly, že v sestaveném hemodynamickém fantomu je možné dobře simulovat charakteristiky průtoku tekutiny v oblasti karotické stenózy způsobené aterosklerotickým plátem. Ultrazvukem měřené průtokové charakteristiky v hemodynamickém modelu byly srovnatelné se stavem in vivo před karotickou endarterektomií. Průměrná odchylka v naměřené maximální průtokové rychlosti v oblasti stenózy byla pouze 7 %, u konečné diastolické rychlosti 11 %.

Proces vývoje aterosklerotického plátu lze studovat in vivo pomocí neinvazivních (např. DS, CT, MR), semiinvazivních (např. CTA, kontrastní MR, kontrastní duplexní sonografie, PET) nebo invazivních metod (např. intravaskulární UZ, mikrooptická koherenční tomografie, blízka infračervená spektroskopie). Nevýhoda semiinvazivních a invazivních metod, podobně jako u histologického vyšetření, je nemožnost kontinuálního sledování vývoje procesu s velmi limitovanou možností opakování daného vyšetření v čase. U neinvazivních metod je sice jednodušší provádět opakované vyšetření v časových

rozestupech, avšak kontinuální monitorování vývoje aterosklerotického plátu po dobu týdnů či měsíců je stále nemožné (Kešnerová et al., 2018). Z těchto důvodů můžeme zatím v predikci rizika vzniku nestabilního plátu a následné cévní příhody využít jen výsledky z jednorázového, výjimečně několikrát opakovaného, vyšetření.

Mezi studované rizikové faktory progresu aterosklerotického postižení tepen patří různé nemoci, resp. patologické procesy v lidském organismu (především arteriální hypertenze, diabetes mellitus, hyperlipidemie, zánět), faktory životního stylu a životního prostředí (především nedostatečný pohyb, nevhodná strava, obezita, kouření, znečištění vzduchu, stres) a také abnormní hemodynamické síly v jednotlivých tepenných úsecích (Gimbrone & García-Cardena, 2013). Ačkoli je přímé měření hemodynamických parametrů v lidských tepnách proveditelné, jedná se o invazivní výkon, který je spojen s nezanedbatelným rizikem embolizace do distálního řečiště (Stegehuis et al., 2018; Heinen et al., 2018). Z těchto důvodů je snaha nahradit toto invazivní přímé měření matematickými modely, které pracují s daty z neinvazivních nebo semiinvazivních metod (CT, MR, vyšetření UZ) (S. G. H. Heinen et al., 2019; Polanczyk et al., 2018; Berg et al., 2015; Hejčl et al., 2017; Duanmu et al., 2019) nebo měřením v arteficiálních modelech (Yang et al., 2017; Zhou et al., 2017). Nicméně všechny tyto hemodynamické modely vytvářejí nejen cévní řečiště, ale také aterosklerotické hmoty tvořící stenózu tepny pomocí 3D tisku. Hlavní limitací těchto modelů je, že deformační vlastnosti vytištěné stenózy se liší od stavu *in vivo*, tedy deformačních vlastností aterosklerotických plátů. Tyto limitace jsme v námi sestrojeném hemodynamickém modelu překonali vložením reálného aterosklerotického plátu, který byl vyjmut vcelku z oblasti karotické bifurkace. Po úspěšném ověření funkčnosti a možnosti modelovat reálné průtokové tlaky a rychlosti v oblasti karotické stenózy jsou v další fázi projektu plánovaná přímá měření průtokových charakteristik pomocí čidel umístěných v modelu. Sestrojený hemodynamický model umožňuje srovnání přímo měřených průtokových parametrů s měřením hemodynamických parametrů pomocí neinvazivních metod, např. duplexní sonografie nebo kvantitativní MRA (Fiedler et al., 2020), nebo s daty z matematických modelů, což je plánováno v další fázi projektu.

V uvedené experimentální studii č. 3 je potřeba zmínit limitace měření hemodynamických parametrů v sestaveném 3D fantomu karotického řečiště. Průtokové křivky mohly být ovlivněny jak materiálem pro 3D tisk, který neměl shodné elastické vlastnosti s lidskou cévní stěnou, tak reologickými vlastnostmi kapaliny použité v hemodynamickém modelu, které nebyly shodné s reologickými vlastnostmi lidské krve. První limitaci nelze do

budoucná jednoduše eliminovat, protože vyjmutí aterosklerotického plátu vč. cévní stěny je u většiny pacientů nemožné bez následného použití cévní náhrady. Použití tepen ze zvířecího modelu nebo z kadaverů není možné kvůli velké variabilitě karotického řečiště a změně elastických vlastností tkání při fixaci. Naopak druhou limitaci lze v budoucích modelech jednoduše eliminovat použitím lidské nebo zvířecí krve.

Proces karotické aterosklerózy není izolovanou modifikací jedné tepny, ale vypovídá i o stavu cévního řečiště jako celku, neboť ateroskleróza je chronické degenerativně-zánětlivé onemocnění postihující cévní stěnu ukládáním tukových částí do stěn tepen lidského organismu s následným vznikem ateromů. Tento patologický proces obvykle začíná již v mládí a ve středním a vyšším věku postihuje většinu populace (Berenson et al, 1987). Přes intenzivní výzkum však etiopatogeneze aterosklerotického postižení tepen není zcela přesně objasněna. Především v procesu změny stabilního aterosklerotického plátu na nestabilní s následným vznikem trombu anebo embolizace do distálního řečiště je stále mnoho nejasností (Kešnerová et al., 2018; Roubec et al., 2019b; Peeters et al., 2009). Ještě daleko méně informací než u karotických tepen, které jsou čteným vyšetřovacím modalitám dobře dostupné, máme o aterosklerotické remodelaci tepen mozku. Zde se v diagnostice stupeň postižení cévní změny hodnotí především ze známek nepřímých. Jak bylo uvedeno, jednou z neinvazivních technik je TCCS, a měření změny pružnosti cévní stěny mozkových cév prostřednictvím detekovaných hodnot rezistenčního a pulzatilního indexu. Lze konstatovat, že přestože je TCCS metoda rychlá, neinvazivní a možnost získání těchto informací klinicky dostupná, větší soubory analýzy remodelace cévní stěny prostřednictvím RI i PI je pro řadu diagnóz i v současné literatuře velmi limitovaná. Toto si vysvětlujeme dynamickým vývojem neurosonologie spíše v posledních letech, stejně jako vysokého nároku na vyšetřující sonografisty ke správné analýze a interpretaci těchto dat. Jelikož předmětem mého výzkumného zájmu byla aterosklerotická remodelace cévního systému mozku a dopad na cerebrální hemodynamiku, bylo ve studii č. 4 cílem zjistit, které rizikové faktory u souborů pacientů s karotickou aterosklerózou ovlivňují i remodelaci vlastního cerebrálního řečiště.

Nezávislými rizikovými faktory zvýšeného RI a/nebo PI v ACM nad hraniční hodnoty jako markery SVD byly detekovány vyšší věk, mužské pohlaví, výskyt DM, arteriální hypertenze a závažnost aterosklerózy karotid (šířka aterosklerotického plátu). Horní hranice pro oba indexy byla stanovena jako 99. percentil hodnot zdravé populace a činila 0,63 pro RI a 1,21 pro PI. Podle poznatků autorů se jedná o ojedinělou studii, která

identifikuje faktory ovlivňující zvýšený RI a PI v intrakraniálních tepnách jako markery SVD u pacientů s aterosklerózou karotických tepen včetně charakteristik aterosklerotického plátu a hemodynamiky v karotických tepnách.

Rezistence a pulzabilita mozkových cév byly studovány v souvislosti s různými stavy, jako například traumatická poranění mozku (Lee et al., 2000; Shi et al., 2018), různé typy a stupně kognitivních poruch (Tsivgoulis et al., 2007; Malojcic et al., 2017b; Altmann et al., 2016b; Shi et al., 2018; Sabayan et al., 2012; Beishon et al., 2017), cévní mozkové příhody a cerebrovaskulární onemocnění (Tsivgoulis et al., 2007; Alexandrov et al., 2012; Altmann et al., 2016b; Shi et al., 2018; Feldmann et al., 2007; Velcheva et al., 2004). Výzkum u pacientů s aterosklerózou karotid přinesl důležité výsledky (Christou et al., 2001; Schaafsma, 2012; Rosenkranz et al., 1991; Heyer et al., 2014), i snahu upřesnit tyto parametry u zdravé populace (Bartels et al., 1995; Alexandrov et al., 2012; Tegeler et al., 2013; Ackerstaff et al., 1990; D. Yang et al., 2016; Krejza et al., 2005).

Všechny identifikované rizikové faktory zvýšení intrakraniálního RI nebo PI v prezentované studii, jako je vyšší věk, mužské pohlaví, výskyt DM a arteriální hypertenze, jsou také známými rizikovými faktory aterosklerózy karotid (Chambless et al., 2002; Crouse et al., 1987). Zvýšený RI a PI navíc koreloval s tíží stupně aterosklerózy karotid. Tyto výsledky naznačují, že zjištění zvýšeného RI nebo PI jako známky SVD by nemělo vést ke změnám v léčbě rizikových faktorů u pacientů s aterosklerózou karotid.

Věk jako prediktor zvýšeného RI a PI u osob starších 50 let byl popsán již dříve (Ackerstaff et al., 1990). Publikované studie prokázaly slabou korelaci mezi RI a/nebo PI v intrakraniálních tepnách a věkem u velké populace starších osob bez cévní mozkové příhody a u žen ve velké multietnické populaci (Tegeler et al., 2013; D. Yang et al., 2016). Změny mozkové autoregulace, pulzability a rezistence závislé na věku jsou etnický specifické, mohou být způsobeny vyšší zátěží cévními rizikovými faktory nebo sníženým srdečním výdejem a mohou souviset se změnami perivaskulární poddajnosti. Metabolické a hemorheologické změny mohou být u starší populace rovněž spojeny se snížením středních průtokových rychlostí a zvýšením RI a PI nebo se změnami intrakraniální poddajnosti (Tegeler et al., 2013; D. Yang et al., 2016).

O nejednoznačnosti rozdílů mezi pohlavími v RI a PI se hovořilo již dříve a je třeba vzít v úvahu mnoho faktorů (Tegeler et al., 2013; Reeves et al., 2008). K reaktivitě a tonusu

mozkové mikrocirkulace žen přispívají rozdíly v hematokritu a hormonální výkyvy, zejména ty, které souvisejí s výskytem menopauzy (Tegeler et al., 2013; D. Yang et al., 2016). Ženy s anamnézou cévní mozkové příhody mají vyšší prevalenci arteriální hypertenze a fibrilace síní a nižší prevalenci ischemické choroby srdeční, periferního cévního onemocnění, kouření a konzumace alkoholu (Reeves et al., 2008). Souhra těchto faktorů může vést k variabilitě a může sloužit jako další vysvětlení rozdílů mezi pohlavími. Vliv pohlaví na mozkovou hemodynamiku může mít významné důsledky v rozdílech u cévních mozkových příhod a poklesu kognitivních funkcí mezi muži a ženami, a proto by měla být předmětem dalšího výzkumu (D. Yang et al., 2016).

Další tři identifikované rizikové faktory, tj. výskyt DM, arteriální hypertenze a závažnost aterosklerózy karotid, mohou být přímo spojeny se specifickým postižením malých mozkových tepen – diabetickou mikroangiopatií, hypertenzní mikroangiopatií a aterosklerotickým postižením mozkových tepen (Lee et al., 2000; Schmieder et al., 2011; Aboyans et al., 2007). Mikroangiopatie, včetně postižení mozkových cév, je častou komplikací DM (Altmann et al., 2016b; Fu et al., 2019; Fulesdi et al., 1997). Lee et al. prokázali, že PI v ACM je významně vyšší u pacientů s DM s komplikacemi než u pacientů bez komplikací a u zdravých kontrol a úzce koreluje s délkou trvání DM. Hemodynamické změny jsou pozorovány nejen u DM 2. typu, ale i u DM 1. typu a jsou významnější ve skupině dlouhodobě nemocných s diabetem.

Dalším známým cévním rizikovým faktorem je arteriální hypertenze. Zvýšení PI je asociováno s arteriální hypertenzí (Altmann et al., 2016b; Velcheva et al., 2004; Cho et al., 1997) a byla zjištěna korelace mezi délkou trvání arteriální hypertenze a zvýšeným PI v ACM a ACI u pacientů s hypertenzí bez anamnézy cévní mozkové příhody (Schmieder et al., 2011). Arteriální hypertenze vede k mnohočetným změnám cévní stěny. Interakce mezi srdečním výdejem, systémovým arteriálním krevním tlakem a mozkovou autoregulací je velmi komplexní a na zvířecích modelech byl pozorován ne vždy lineární vztah mezi PI a cerebrovaskulární rezistencí (Czosnyka et al., 1996). Na rozdíl od rezistence je pulzatilita v tomto ohledu komplexnějším parametrem, která odráží souhru mnoha faktorů v průběhu srdečního cyklu, a lze tedy zjistit rozdíly. Rozdílné účinky arteriální hypertenze na RI a PI je třeba prozkoumat v budoucích studiích.

Stupeň aterosklerózy karotid byl identifikován jako faktor, který negativně ovlivňuje poměr pravděpodobnosti patologicky zvýšeného RI o 26 % na 1 mm šířky (přibližně 10 %

stenózy cévy). Lze tedy předpokládat, že vyšší stupeň aterosklerotického postižení karotických tepen znamená závažnější aterosklerotické postižení i malých mozkových tepen.

Studie ANTIQUE zahrnovala velký soubor s analýzou několika dalších parametrů a onemocnění ve vztahu k mozkovým hemodynamickým ukazatelům. Přesto nebyl zjištěn žádný další rizikový faktor. Hyperlipidemie jako známý rizikový faktor aterosklerózy karotid nebyla potvrzena jako nezávislý rizikový faktor, přestože hodnoty RI a PI byly u pacientů s hyperlipidemií vyšší. Výsledky jsou v souladu s publikovanou studií, kde zvýšená hladina cholesterolu (LDL >160 mg/dl) neměla škodlivý vliv na hemodynamický stav intrakraniálních tepen (Farhoudi et al., 2011). Rovněž kouření, nadměrné požívání alkoholu, obezita nebo vlastnosti karotického plátu nebyly identifikovány jako nezávislé rizikové faktory pro zvýšení RI nebo PI.

Přestože rizikové faktory zvýšení RI nebo PI v ACM jsou stejné jako rizikové faktory karotické aterosklerózy, není jasné, zda by léčba nebo intervence životního stylu doporučené u pacientů s karotickou aterosklerózou mohly pozitivně ovlivnit také RI a PI, tedy postižení malých mozkových cév (Spence & Hackam, 2010b). Proto je třeba provést další studie hodnotící vliv preventivních a léčebných strategií na RI a PI a na následné riziko lakunární mozkové příhody nebo zhoršení kognitivních funkcí. Všichni pacienti zařazení do prezentované studie budou dále sledováni v pravidelných intervalech s měřením aterosklerotických plátů v karotidách, RI a PI v ACM a bude monitorována četnost klinických cévních příhod.

Ve studii č. 4 existují limitace. Byli zahrnuti pouze pacienti s aterosklerotickým plátem v karotických tepnách, proto jsou výsledky platné pouze pro populaci s aterosklerotickými pláty v karotidách. Dále byli vyloučeni pacienti s nedostatečným kostním oknem, ovšem kvalita kostního okna není závislá na modifikovatelných cévních rizikových faktorech (Lin et al., 2015). Navíc, otevřená studie je limitována zkreslením klinických nebo sonografických vyšetření. V neposlední řadě je třeba vzít v úvahu obecná omezení ultrazvukového vyšetření (Bartels et al., 1995; Razek et al., 2009).

V souvislosti s poznatky uvedenými výše lze usuzovat, že stav jak přírodního, tak vlastního mozkového cévního řečiště, má významný dopad na vlastní objem krve zásobující tkáň mozku, která je zásadním parametrem dostatečné kvality metabolismu

mozkové tkáně. Náš další výzkum vedl tedy i k otázce možnosti změření reálného objemu průtoku krve mozkem, a to jak difúzně, tak v jednotlivých teritoriích. U těchto metod jde zatím spíše o přístupy inovativní, a proto jsme si kladli otázky, jak dosud zkoumané in vivo metody korelují navzájem, a dále jak spolehlivá jsou tato měření mezi různými vyšetřujícími.

Tyto výzkumné snahy byly předmětem studie č. 5 a bylo potvrzeno, že jak qMRA, tak duplexní sonografie, včetně DSCA a TCCS, byly schopny měřit skutečný objem krevního průtoku zejména v krčních a mozkových tepnách s celkově vynikající inter- a intra-observační spolehlivostí. Korelace mezi měřením objemu průtoku krve mozkem prostřednictvím qMRA a DS, zejména krčními tepnami, byly většinou vysoké. Také korelace mezi objemy průtoku krve mozkem měřené pomocí dvou různých ultrazvuků byly vysoké nebo velmi vysoké. Ovšem korelace mezi objemem průtoku krve mozkem v intrakraniálních tepnách měřených pomocí qMRA a TCCS nebo dvou různých ultrazvuků byly většinou střední až nízké.

Podobně jako naše výsledky potvrdily dříve publikované studie vysokou reprodukovatelnost qMRA i DSCA při měření objemu mozkového krevního průtoku s nízkou intra-observační variabilitou (Oktar et al., 2006; Schoning et al., 1994; Dörfler et al., 2000; Ho & Metreweli, 2000; Ho & Metreweli, 2002). Obě metody jsou schopny měřit objem krevního průtoku také v ACC, ACI a vertebrální tepně s vysokou spolehlivostí, i když stále zůstávají závislé na dovednostech a zkušenostech vyšetřujícího specialisty, zejména u sonografického měření (Dörfler et al., 2000; Ho & Metreweli, 2002).

K měření regionálního průtoku krve mozkem byly použity různé metody, včetně elektromagnetického průtokoměru, oxidu dusného, ¹³³ xenonového (Xe) - jednofotonového emisního CT, Xe-CT, perfúzního CT, PET, MR a DS (Payen et al., 1982; Burns, 1987; Marks et al., 1992; Zhao et al., 2007; Oktar et al., 2006; Banis et al., 1980). Ve srovnání s ostatními metodami je hlavní výhodou MR a DS jejich neinvazivita (Payen et al., 1982; Burns, 1987; Marks et al., 1992; Zhao et al., 2007), která je předpokladem pro jejich běžné klinické použití.

Korelace mezi měřením objemu průtoku krve, zejména cervikálních tepen pro qMRA a DSCA, byly v naší studii většinou vysoké. Dříve publikované studie s qMRA a DSCA porovnávaly hlavně měření objemu průtoku krve mozkem. Úroveň objemu mozkového průtoku (474 až 748 ml/min) zjištěná u dospělých je srovnatelná s našimi měřeními (745,5

a 588,8 ml/min pro DS a 695,5 ml/min pro qMRA) (Zhao et al., 2007; Oktar et al., 2006; Schoning et al., 1994; Dörfler et al., 2000; Ho & Metreweli, 2002; Schöning & Hartig, 1996; Scheel et al., 2000). Širší rozmezí naměřených hodnot v naší studii může být způsobeno zařazením pacientů s různými cévními patologiemi.

Průtok krve mozkem se mění s věkem člověka, jiný je v dětství a jiný v dospělosti. Mírný nárůst byl prokázán u dětí od 3 do 6 let věku a následný pokles u osob od 7 do 18 let věku. Od 18 let dále se zdálo, že objem mozkového krevního průtoku zůstává relativně konstantní až do 60 let věku, přičemž od 60 do 85 let věku dochází k průměrnému poklesu o 3,0-4,8 ml/min za rok (Banis et al., 1980; Scheel et al., 2000; Buijs et al., 1998; Kashimada et al., 1995). Většina celosvětově publikovaných studií nezjistila v mozkovém krevním průtoku žádné rozdíly mezi pohlavími (Schoning et al., 1994; Dörfler et al., 2000b; Kashimada et al., 1995).

Při měření rychlosti průtoku stanoveného pomocí qMRA nedochází, na rozdíl od Dopplerovské sonografie, k nerovnoměrným měřením. Měření objemu krevního průtoku pomocí qMRA by tedy mohlo být přesnější (Uematsu et al., 1983). Starší simulační studie na fantomu provedená Ho et al. ukázala špatnou korelaci mezi objemem krevního průtoku měřeným pomocí spektrálního dopplerovského zobrazení a fázově kontrastní magnetickou rezonancí (Buijs et al., 1998).

V literatuře se objevují i další rozporuplné výsledky týkající se přesnosti měření průtoku krve mozkem za užití duplexní sonografie (Uematsu et al., 1983; Ho & Metreweli, 2000; Ho et al., 2002; Winkler et al., 1995; Soustiel et al., 2003). Chyby v měření objemu krevního průtoku při použití sonografických technik vznikají nepřesnostmi v záznamu rychlostí a diametru cév při měření mimo osu, vliv mají i cévní tortuozity, turbulentní nebo non-axiální průtok, artefakty v barevném modu či jeho špatné nastavení, změny v průměru cév během srdečního cyklu a respirační pohybové artefakty cévní stěny (Eicke & Tegeler, 1995; Ho & Metreweli, 2000). Na základě rovnice měření objemu průtoku krve duplexní sonografií může jakákoli drobná chyba v měření průměru cévy dramaticky změnit odhadovaný objem průtoku. Tyto potenciální chyby mohou být korigovány lepší kvalitou zobrazení UZ B-modu nebo pokud se pro měření průměru arterie použije radiofrekvenční echo-trackingový systém (Hasegawa, 2017; Bianchini et al., 2010).

Zanedbatelné rozdíly mezi měřením objemu průtoku krve v ACC a jejích větvích, ACI a ACE, pomocí qMRA i DS potvrdily, že obě metody jsou schopny měřit skutečný objem průtoku krve v krčních tepnách v běžné klinické praxi.

Měřili jsme objem průtoku krve ve dvou různých segmentech ACI a vertebrálních tepen, jednom extrakraniálním a jednom intrakraniálním. Rozdíly mezi naměřenými hodnotami uvedenými ve výsledcích studie jsou způsobeny nejen větvením mezi měřenými segmenty (oftalmická tepna a zadní dolní mozečková tepna), ale také cévními patologiemi přítomnými u některých pacientů a chybami měření, zejména u intrakraniálních tepen. Korelace mezi měřením objemu průtoku krve v intrakraniálních tepnách byly, na rozdíl od cervikálních tepen, nízké nebo střední. Rozdíly mezi měřením objemu krevního toku v sifonu ACI a jeho větvích, střední mozkové tepně, přední mozkové tepně a zadní komunikační tepně, obou distálních vertebrálních tepnách a bazilární tepně, byly větší než rozdíly mezi měřením objemu krevního toku v ACC a jejích větvích ACI a ACE.

Příčiny větších chyb při měření objemu průtoku krve pomocí DS a qMRA v intrakraniálních tepnách ve srovnání s krčními tepnami jsou: menší průměr vyšetřovaných tepen, krátké tepenné segmenty bez větví a častější ohyby intrakraniálních tepen. Mezi další příčiny chybného měření při použití TCCS patří nižší kvalita snímků v B-modu při použití sondy s nižšími ultrazvukovými frekvencemi (2 - 4 MHz) a použití barevného režimu nebo režimu Power Color Angio Mode namísto režimu B-mod pro měření arteriálního průměru u většiny intrakraniálních tepen.

Limitací ve studii č. 5 bylo rovněž zařazení omezeného počtu pacientů a druhé qMRA a DS vyšetření ke zhodnocení korelací intra-observační shody byla provedena pouze u deseti pacientů. Dále, byli zařazení pacienti s abnormálními i normálními cévními nálezy v krčních a intrakraniálních mozkových tepnách, aby byla prokázána užitečnost obou metod v reálné klinické praxi. Limitace i výhody obou metod se mohou lišit u jednotlivých cév i u jednotlivých vaskulárních patologií. Nízký počet zahrnutých pacientů a omezený počet vaskulárních patologií a jejich typů nám neumožnili testovat limity obou metod u konkrétních tepen. K tomuto by bylo třeba dalších studií. Navíc, měření průměru intrakraniálních tepen je v naší studii jedinečné a tato metoda musí být validována dalšími odborníky. Pro srovnání našich výsledků neexistuje žádný referenční standard. V neposlední řadě, vliv nastavení objemu vzorku na měření objemu průtoku krve nebyl

testován. Lze předpokládat, že větší či menší nebo mírně nesprávně nastavený objem vzorku by mohl ovlivnit hodnotu naměřené zprůměrované intenzity.

7. ZÁVĚRY STUDIÍ, ZHODNOCENÍ CÍLŮ A HYPOTÉZ

V našich studiích se nám podařilo splnit vytyčené cíle a potvrdili jsme námi stanovené hypotézy. Cíl 1: Byla potvrzena hypotéza, že na základě ultrazvukového vyšetření lze identifikovat charakteristiky aterosklerotického plátu, které zvyšují riziko jeho progresu do budoucna. Byly identifikovány tři nezávislé znaky: větší šíře aterosklerotického plátu korespondujícího s procentem stenózy tepny, nerovný povrch plátu a ulcerace jeho povrchu. Každý 1 mm šíře aterosklerotického plátu přitom zvyšuje riziko progresu plátu během následujících 3 let o 73,5 %, nerovný povrch plátu zvyšuje toto riziko o 56,4 % a ulcerace plátu o 81,9 %.

Cíl 2: potvrdili jsme hypotézu, že nové vyšetřovací ultrazvukové modality jako je shear-wave elastografie mohou pomoci odlišit stabilní a nestabilní karotický plát, neboť průměrná elasticita měřená pomocí Youngova modulu byla významně vyšší u asymptomatických stabilních plátů ve srovnání s asymptomatickými progresivními a symptomatickými plaky. Mezi asymptomatickými progresivními a symptomatickými pláty nebyl zjištěn žádný významný rozdíl v elasticitě. Shear-wave elastografie je tedy užitečnou modalitou pro diagnostiku nestabilních aterosklerotických plátů v karotických tepnách.

Cíl 3: zde jsme potvrdili, že k podrobnějším studiím hemodynamických změn v oblasti stenózy způsobené karotickým plátem lze využít i modely sestavené *in vitro*. Naším studijním týmem sestrojený hemodynamický model umožňuje srovnání přímo měřených průtokových parametrů s měřením hemodynamických parametrů pomocí neinvazivní metody duplexní sonografie. V žádném z měřených hemodynamických parametrů nebyly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly mezi měřením *in vivo* a *in vitro*. Průměrná odchylka v naměřené maximální systolické rychlosti v oblasti stenózy byla 18,9 cm/s, což odpovídá odchylce 7 %. U konečné diastolické rychlosti byla v oblasti stenózy průměrná odchylka měření 8,2 cm/s odpovídající odchylce 11,1 %.

Cíl 4: hypotézu, že u pacientů postižených aterosklerózou karotid lze nalézt rizikové znaky, které nepříznivě ovlivňují hemodynamiku cerebrálního řečiště v důsledku mikroangiopatické remodelace tepen korelující se zvýšením rezistenčního a pulzatilního indexu, byl rovněž potvrzen. Identifikovali jsme nezávislé prediktory zvýšené mozkové arteriální rezistence ($RI > 0,63$ v ACM) a pulzatility ($PI > 1,21$ v ACM). Těmito jsou vyšší

věk, mužské pohlaví, výskyt diabetes mellitus, arteriální hypertenze a závažnost aterosklerózy měřené jako šířka plátu v karotických tepnách.

Cíl 5: zde bylo dosaženo potvrzení teze o korelaci metod kvantitativní magnetické rezonance a ultrazvukového vyšetření při zhodnocení mozkového průtoku extrakraniálních i intrakraniálních arterií. Výsledky prokázaly, že obě metody qMRA i DS jsou schopny měřit skutečný objem průtoku především v cervikálních arteriích s vysokou inter- i intra-observační shodou, a vysokou korelací mezi qMRA a DS, což se potvrdilo zejména pro krční tepny. Nicméně u arterií mozku byly korelace nízké až střední při srovnání qMRA a TCCS i při srovnání dvou ultrazvukových přístrojů. Potenciální bias v měření objemu krevního průtoku je zvláště u mozkových tepen výrazně vyšší než u tepen krčních, zejména u TCCS metody.

I přes limitace všech studií lze závěrem shrnout, že uvedený výzkum přináší inovativní přístupy v oblasti cerebrovaskulární medicíny. Ve studii č. 1 jsme zkoumali nově vyvíjenou techniku softwarové analýzy ultrazvukového B obrazu k detailnější analýze plátu včetně respektování jeho architektiky, na jejímž vývoji se členové tohoto týmu podílejí. Použití této techniky u karotické aterosklerózy je zatím předmětem výzkumu, ale mohlo by v budoucnu výrazně zpřesnit indikace i časování intervenčních metod. Některé naše závěry byly zcela jedinečné např. ve studii 2 rozdělení asymptomatických karotických plátů na stabilní a progresivní skupinu, a to prostřednictvím techniky SWE, která je u karotické aterosklerózy novou a v současnosti zkoumanou technikou. Rozšíření běžného ultrazvukového vyšetření o techniku SWE by mohlo zpřesnit identifikaci pacientů ve zvýšeném riziku CMP a zavčas tak eskalovat preventivní terapeutické postupy. I třetí studie přinesla svými závěry nové možnosti pro budoucí výzkum karotické aterosklerózy, a to validaci aplikace duplexní sonografie při studiu hemodynamických parametrů *in vitro* v uměle sestrojeném hemodynamickém fantomu. To rozšiřuje experimentální možnosti zejména výzkumu progresu karotické stenózy tepen. Popsaná technika vložení reálného karotického plátu do uměle sestrojeného anatomického modelu cévy je nově navrženým postupem, ovšem dle našich prvotních závěrů s dobrým simulačním potenciálem zejména pro duplexní sonografii. Ve studii č. 4 jsme přinesli pilotní výsledky při úspěšné identifikaci nezávislých faktorů přispívající k remodelaci mozkových cév u pacientů s karotickou aterosklerózou. Autoři této práce nenalezli obdobná data ani v literatuře, obzvláště u takto velkého souboru pacientů. Tyto data přitom zásadním způsobem mohou

zpřesnit klinická doporučení v prevenci cerebrovaskulárních onemocnění. V páté studii uvedené v tomto sdělení je novým faktem porovnání korelací neinvazivních technik duplexní sonografie a kvantitativní magnetické rezonance při měření cerebrovaskulárního průtoku, a to v různých úsecích cévního řečiště (extrakraniálního versus intrakraniálního). Průkazné je zjištění o vysoké spolehlivosti při měření zejména v oblasti cervikálních arterií, naopak u intrakraniálního řečiště byla nalezena korelace střední až nízká. Je na místě ale zmínit fakt, že měření intrakraniálních arterií metodou duplexní sonografie nebylo dosud provedeno a jednalo se tak o pilotní práci možného využití duplexní sonografie. Přitom je ultrazvuk metodou zcela neinvazivní, široce dostupnou a v důsledku dynamického vývoje v posledních letech s výrazně rozšířeným spektrem možností uplatnění i v oblasti cerebrovaskulární medicíny. Velmi dobrá klinická dostupnost i možnost rychlého převedení nově získaných poznatků do praxe jsou tak jedním z důležitých důvodů, proč se autorka této práce věnuje právě výzkumu této metody.

Další studie, které by mohly být příslibem zajímavých výsledků a rozšíření dalších aplikací ultrazvuku do budoucna, již v našich týmech probíhají.

8. SOUHRN

Ateroskleróza je chronické progresivní onemocnění, s vysokou incidencí v populaci. Predilekčně postihuje oblast karotické bifurkace, a je jednou z nejvýznamnějších příčin ischemické cévní mozkové příhody, zejména při nálezu nestabilních plátů. Cílem předkládané práce bylo zhodnotit možnosti diagnostiky nestabilního plátu, včetně inovativních metod i vlivu karotické aterosklerózy na cerebrovaskulární hemodynamiku. V rámci provedených studií jsme se zabývali různými aspekty této problematiky, a potvrdili jsme několik důležitých hypotéz s možným impaktem pro klinickou praxi.

Bylo potvrzeno, že na základě ultrazvukového vyšetření lze identifikovat tři nezávislé znaky aterosklerotického plátu, které zvyšují riziko jeho progresu do budoucna, a to větší šíři aterosklerotického plátu korespondující s procentem stenózy tepny, nerovný povrch plátu a ulcerace jeho povrchu. Tyto jsou detekovatelné i při běžném sonografickém vyšetření a mělo by vést k častějším sonografickým kontrolám těchto pacientů. Rovněž bylo zjištěno, že nové vyšetřovací ultrazvukové modalities jako je shear-wave elastografie mohou pomoci odlišit stabilní a nestabilní karotický plát, což se potvrdilo i u plátů asymptomatických. Jde tedy o užitečnou metodu v diagnostice nestabilních aterosklerotických plátů v karotických tepnách. Díky experimentálnímu výzkumu na hemodynamickém fantomu jsme zjistili, že korelace vyšetření hemodynamických parametrů prostřednictvím duplexní sonografie lze validovat i v podmínkách *in vitro*. Fantomové studie tedy mohou rozšířit výzkumné aktivity na poli karotické aterosklerózy s velmi dobrou reprodukcibilitou pro podmínky *in vivo*. U pacientů s karotickou aterosklerózou existují nezávislé prediktory zvýšené mozkové arteriální rezistence a pulzatility, jako známkou mikroangiopatické remodelace tepen mozku. Těmi jsou vyšší věk, mužské pohlaví, výskyt diabetu, arteriální hypertenze a závažnost aterosklerózy měřené jako šířka plátu v karotických tepnách. U těchto pacientů by měla být přísnější korekce modifikovatelných faktorů s předpokladem příznivého dopadu i na cerebrální hemodynamiku, což by mělo být předmětem dalších studií.

Možnost měřit skutečný objem cirkulující krve mozkovými arteriemi byla potvrzena metodami kvantitativní magnetické rezonanční angiografie a duplexní sonografie, a to výrazně přesněji, jsou-li tato měření provedena v oblasti cervikálních arterií. Uvedená zjištění by měla vést ke zpřesnění léčebně preventivních opatření s cílem zmezit poškození mozkové tkáně včetně rozvoje cévní mozkové příhody.

9. SUMMARY

Atherosclerosis is a chronic progressive disease with high incidence in population. Its predominant location is in carotid bifurcation and is one of the most important causes of ischemic stroke especially if unstable plaque is detected. The aim of this work was to evaluate the diagnostic options of unstable plaque diagnostic including innovations and evaluating the impact of carotid atherosclerosis on cerebrovascular hemodynamics. In performed studies we analyzed different aspects in this field and verified several important hypotheses with possible impact to clinical practice.

It was confirmed that the ultrasound examination can identify three independent markers of atherosclerotic plaque which increases the risk of its progression in the future. Those are larger plaque width corresponding with the percentage of the artery stenosis, irregular plaque surface and ulcerations. These markers are detectable in routine sonographic examination and should lead to more frequent sonographic controls of such patients with adequate therapeutic recommendations. We also found that novel diagnostic ultrasound methods as shear-wave elastography can differentiate stable and unstable carotid plaque which was confirmed also in asymptomatic plaques. The modality was confirmed as a useful modality in diagnostics of unstable atherosclerotic plaques in the carotid arteries. Due to experimental research on the hemodynamic phantom, we found that the correlation of the examination of hemodynamic parameters by duplex sonography can be validated in *in vitro* conditions. Thus, phantom studies can expand research activities of carotid atherosclerosis with very high reproducibility for *in vivo* conditions.

In patients with carotid atherosclerosis exists independent predictors of increased cerebral arterial resistance and pulsatility as sign of microangiopathic cerebral arteries remodeling. These are higher age, male gender, incidence of diabetes, arterial hypertension, and severity of atherosclerosis measured as plaque width in the carotid arteries. Stricter correction of modifiable factors should be recommended in these patients, assuming a beneficial effect on cerebral hemodynamics, which should be the subject of further studies. The ability to measure the actual blood flow volume of the cerebral arteries has been confirmed by quantitative magnetic resonance angiography and duplex sonography, much more accurately when these measurements are made in the cervical arteries. In future, this could lead to more precise medical preventive measures to reduce brain tissue damage, including the development of stroke.

10. LITERATURA

1. Abdelrasoul, A. A., Elsebaie, N. A., Gamaleldin, O. A., Khalifa, M. H., & Razek, A. A. K. A. (2019). Imaging of brain infarctions: Beyond the usual territories. *Journal of Computer Assisted Tomography*, 43(3), 443-451.
2. Aboyans, V., Lacroix, P., & Criqui, M. H. (2007). Large and Small Vessels Atherosclerosis: Similarities and Differences. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 50(2), 112-125.
3. Ackerstaff, R. G. A., Keunen, R. W. M., Van Pelt, W., Montauban Van Swijndregt, A. D., & Stijnen, T. (1990). Influence of biological factors on changes in mean cerebral blood flow velocity in normal ageing: A transcranial Doppler study. *Neurological Research*, 12(3), 187-191.
4. Alexandrov, A. V., Sloan, M. A., Tegeler, C. H., Newell, D. N., Lumsden, A., Garami, Z., ... Tsivgoulis, G. (2012). Practice Standards for Transcranial Doppler (TCD) Ultrasound. Part II. Clinical Indications and Expected Outcomes. *Journal of Neuroimaging*, 22(3), 215-224.
5. Altaf, N., Daniels, L., Morgan, P. S., Auer, D., MacSweeney, S. T., Moody, A. R., & Gladman, J. R. (2017). Detection of intraplaque hemorrhage by magnetic resonance imaging in symptomatic patients with mild to moderate carotid stenosis predicts recurrent neurological events. *Journal of Vascular Surgery*, 47(2), 337-342.
6. Altmann, M., Thommessen, B., Rønning, O. M., Benth, J. Š., Reichenbach, A. S., & Fure, B. (2016a). Middle Cerebral Artery Pulsatility Index is Associated with Cognitive Impairment in Lacunar Stroke. *Journal of Neuroimaging*, 26(4), 431-435.
7. Altmann, M., Thommessen, B., Rønning, O. M., Benth, J. Š., Reichenbach, A. S., & Fure, B. (2016b). Middle Cerebral Artery Pulsatility Index is Associated with Cognitive Impairment in Lacunar Stroke. *Journal of Neuroimaging*, 26(4), 431-435.
8. Amin-Hanjani, S., Du, X., Zhao, M., Walsh, K., Malisch, T. W., & Charbel, F. T. (2005). Use of quantitative magnetic resonance angiography to stratify stroke risk in symptomatic vertebrobasilar disease. *Stroke*, 36(6), 1140-1145.
9. Amin-Hanjani, S., Stapleton, C. J., Du, X., Rose-Finnell, L., Pandey, D. K., Elkind, M. S. V., ... Charbel, F. T. (2019). Hypoperfusion Symptoms Poorly Predict Hemodynamic Compromise and Stroke Risk in Vertebrobasilar Disease. *Stroke*, 50(2), 495-497.
10. Amin-Hanjani, S., Turan, T. N., Du, X., Pandey, D. K., Rose-Finnell, L., Richardson, D. J., ... Derdeyn, C. P. (2017). Higher Stroke Risk with Lower Blood Pressure in Hemodynamic Vertebrobasilar Disease: Analysis from the VERiTAS Study. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 26(2), 403-410.
11. Andrews, J. P. M., Fayad, Z. A., & Dweck, M. R. (2018). New methods to image unstable atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*, 272, 118-128.
12. Bani, J. C., Schwartz, K. S., & Acland, R. D. (1980). Electromagnetic flowmetry—An experimental method for continuous blood flow measurement using a new Island flap model. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 66(4), 534-544.
13. Bartels, E., Fuchs, H. H., & Flügel, K. A. (1995). Color Doppler Imaging of Basal Cerebral Arteries: Normal Reference Values and Clinical Applications. *Angiology*, 46(10), 877-884.
14. Bayer-Karpinska, A., Schwarz, F., Wollenweber, F. A., Poppert, H., Boeckh-

- Behrens, T., Becker, A., ... Saam, T. (2013). The carotid plaque imaging in acute stroke (CAPIAS) study: protocol and initial baseline data. *BMC Neurology*, *13*(1), 201.
15. Beishon, L., Haunton, V. J., Panerai, R. B., & Robinson, T. G. (2017). Cerebral Hemodynamics in Mild Cognitive Impairment: A Systematic Review. *Journal of Alzheimer's Disease*, *59*(1), 369–385.
 16. Berenson, G. S., Srinivasan, S. R., Freedman, D. S., Radhakrishnamurthy, B., & Dalferes, E. R. (1987). Review: Atherosclerosis and its evolution in childhood. *American Journal of the Medical Sciences*, *294*(6), 429-40.
 17. Berg, P., Roloff, C., Beuing, O., Voss, S., Sugiyama, S. I., Aristokleous, N., ... Janiga, G. (2015). The Computational Fluid Dynamics Rupture Challenge 2013 - Phase II: Variability of Hemodynamic Simulations in Two Intracranial Aneurysms. *Journal of Biomechanical Engineering*, *137*(12):121008.
 18. Bianchini, E., Bozec, E., Gemignani, V., Faita, F., Giannarelli, C., Ghiadoni, L., ... Laurent, S. (2010). Assessment of carotid stiffness and intima-media thickness from ultrasound data: Comparison between two methods. *Journal of Ultrasound in Medicine*, *29*(8), 1169–1175.
 19. Bos, D., Wolters, F. J., Darweesh, S. K. L., Vernooij, M. W., de Wolf, F., Ikram, M. A., & Hofman, A. (2018). Cerebral small vessel disease and the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis of population-based evidence. *Alzheimer's and Dementia*, *14*(11):1482-1492
 20. Brott, T. G., Halperin, J. L., Abbara, S., Bacharach, J. M., Barr, J. D., Bush, R. L., Taylor, A. J. (2011). 2011 ASA/ACCF/AHA/AANN/AANS/ACR/ASNR/CNS/SAIP/SCAI/SIR/SNIS/SVM/SVS guideline on the management of patients with extracranial carotid and vertebral artery disease: Executive summary. *Journal of the American College of Cardiology*, *57*(8), 1002–1044.
 21. Buijs, P. C., Krabbe-Hartkamp, M. J., Bakker, C. J. G., De Lange, E. E., Ramos, L. M. P., Breteler, M. M. B., & Mali, W. P. T. M. (1998). Effect of age on cerebral blood flow: Measurement with ungated two-dimensional phase-contrast MR angiography in 250 adults. *Radiology*, *209*(3), 667-674.
 22. Burns, P. N. (1987). The physical principles of Doppler and spectral analysis. *Journal of Clinical Ultrasound*, *15*(9), 567-590.
 23. Chai, C. K., Akyildiz, A. C., Speelman, L., Gijzen, F. J. H., Oomens, C. W. J., van Sambeek, M. R. H. M., ... Baaijens, F. P. T. (2013). Local axial compressive mechanical properties of human carotid atherosclerotic plaques-characterisation by indentation test and inverse finite element analysis. *Journal of Biomechanics*, *46*(10), 1759-1766.
 24. Chambless, L. E., Folsom, A. R., Davis, V., Sharrett, R., Heiss, G., Sorlie, P., ... Evans, G. W. (2002). Risk factors for progression of common carotid atherosclerosis: The Atherosclerosis Risk in Communities study, 1987-1998. *American Journal of Epidemiology*, *155*(1), 38-47.
 25. Charvát, F., Vrána, J., Netuka, D., Cihlář, F., Krajina, A., Chovanec, V., ... Malucelli, A. (2020). Atherosclerotic plaque characteristics and the risk of brain ischemia during internal carotid artery stenting. *Ceska a Slovenska Neurologie a Neurochirurgie*, *83*(1), 84-94.
 26. Cho, S. J., Sohn, Y. H., Kim, G. W., & Kim, J.-S. (1997). Blood flow velocity changes in the middle cerebral artery as an index of the chronicity of hypertension. *Journal of the Neurological Sciences*, *150*(1), 77–80.
 27. Christou, I., Felberg, R. A., Demchuk, A. M., Grotta, J. C., Burgin, W. S., Malkoff, M., & Alexandrov, A. V. (2001). A Broad Diagnostic Battery for Bedside

- Transcranial Doppler to Detect Flow Changes With Internal Carotid Artery Stenosis or Occlusion. *Journal of Neuroimaging*, 11(3), 236–242.
28. Crouse, J. R., Toole, J. F., McKinney, W. M., Dignan, M. B., Howard, G., Kahl, F. R., ... Harpold, G. H. (1987). Risk factors for extracranial carotid artery atherosclerosis. *Stroke*, 18(6), 990-996.
 29. Czosnyka, M., Richards, H. K., Whitehouse, H. E., & Pickard, J. D. (1996). Relationship between transcranial Doppler-determined pulsatility index and cerebrovascular resistance: an experimental study. *Journal of Neurosurgery*, 84 (1), 79–84.
 30. Dahl, J. J., Dumont, D. M., Allen, J. D., Miller, E. M., & Trahey, G. E. (2009). Acoustic Radiation Force Impulse Imaging for Noninvasive Characterization of Carotid Artery Atherosclerotic Plaques: A Feasibility Study. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 35(5), 707-716.
 31. Dharmakidari, S., Bhattacharya, P., & Chaturvedi, S. (2017). Carotid Artery Stenosis: Medical Therapy, Surgery, and Stenting. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 17(10), 77.
 32. Doonan, R. J., Gorgui, J., Veinot, J. P., Lai, C., Kyriacou, E., Corriveau, M. M., ... Daskalopoulou, S. S. (2016). Plaque echodensity and textural features are associated with histologic carotid plaque instability. *Journal of Vascular Surgery*, 64(3), 671-677.
 33. Dörfler, P., Puls, I., Schlieber, M., Mäurer, M., & Becker, G. (2000a). Measurement of cerebral blood flow volume by extracranial sonography. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 20(2), 269-271.
 34. Dörfler, P., Puls, I., Schlieber, M., Mäurer, M., & Becker, G. (2000b). Measurement of cerebral blood flow volume by extracranial sonography. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 20(2), 269–271.
 35. Duanmu, Z., Chen, W., Gao, H., Yang, X., Luo, X., & Hill, N. A. (2019). A One-Dimensional Hemodynamic Model of the Coronary Arterial Tree. *Frontiers in Physiology*, 10, 853
 36. Eicke, B. M., & Tegeler, C. H. (1995). Ultrasonic quantitative flow volumetry of the carotid arteries: Initial experience with a color flow m-mode system. *Cerebrovascular Diseases*, 5(2), 145-149.
 37. Esposito-Bauer, L., Saam, T., Ghodrati, I., Pelisek, J., Heider, P., Bauer, M., ... Poppert, H. (2013). MRI Plaque Imaging Detects Carotid Plaques with a High Risk for Future Cerebrovascular Events in Asymptomatic Patients. *PLoS ONE*, 8(7), e67927.
 38. Farhoudi, M., Mehrvar, K., Aslanabadi, N., Ghabili, K., Rasi Baghmishe, N., & Ilkhchoei, F. (2011). Doppler study of cerebral arteries in hypercholesterolemia. *Vascular Health and Risk Management*, 7(1), 203–207.
 39. Feldmann, E., Wilterdink, J. L., Kosinski, A., Lynn, M., Chimowitz, M. I., Sarafin, J., ... Sloan, M. (2007). The Stroke Outcomes and Neuroimaging of Intracranial Atherosclerosis (SONIA) Trial. *Neurology*, 68(24), 2099–2106.
 40. Fiedler, J., Reiser, M., Košťál, P., Kubále, J., Ostrý, S., Hrbáč, T., ... Školoudík, D. (2020). Blood Flow Volume Measurement in Cervical and Intracranial Arteries using Quantitative Magnetic Resonance Angiography and Duplex Sonography (Bocaccia) – A Prospective Observational Study. *Ultraschall in Der Medizin - European Journal of Ultrasound*, 42(1), 65-74.
 41. Finn, A. V., Nakano, M., Narula, J., Kolodgie, F. D., & Virmani, R. (2010). History of Discovery Concept of Vulnerable / Unstable Plaque. *Journal of the American Heart Association*, 30(7), 1282-1292
 42. Fishbein, M. C. (2010). The vulnerable and unstable atherosclerotic plaque.

- Cardiovascular Pathology*, 19(1), 6–11.
43. Fisher, M., Paganini-Hill, A., Martin, A., Cosgrove, M., Toole, J. F., Barnett, H. J. M., & Norris, J. (2005). Carotid Plaque Pathology. *Stroke*, 36(2), 253 LP – 257.
 - Flaherty, M. L., Kissela, B., Khoury, J. C., Alwell, K., Moomaw, C. J., Woo, D., ... Kleindorfer, D. (2012). Carotid artery stenosis as a cause of stroke. *Neuroepidemiology*, 40(1), 36–41.
 44. Fleiner, M., Kummer, M., Mirlacher, M., Sauter, G., Cathomas, G., Krapf, R., & Biedermann, B. C. (2004). Arterial Neovascularization and Inflammation in Vulnerable Patients. *Circulation*, 110(18), 2843 LP – 2850.
 45. Freilinger, T. M., Schindler, A., Schmidt, C., Grimm, J., Cyran, C., Schwarz, F., ... Saam, T. (2012). Prevalence of nonstenosing, complicated atherosclerotic plaques in cryptogenic stroke. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 5(4), 397–405.
 46. Fu, S., Zhang, J., Zhang, H., & Zhang, S. (2019). Predictive value of transcranial doppler ultrasound for cerebral small vessel disease in elderly patients. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 77(5), 310-314.
 47. Fulesdi, B., Limburg, M., Bereczki, D., Michels, R. P. J., Neuwirth, G., Legemate, D., ... Csiba, L. (1997). Impairment of cerebrovascular reactivity in long-term type 1 diabetes. *Diabetes*, 46(11), 1840–1845.
 48. Garrard, J. W., Ummur, P., Nduwayo, S., Kanber, B., Hartshorne, T. C., West, K. P., ... Ramnarine, K. V. (2015). Shear Wave Elastography May Be Superior to Greyscale Median for the Identification of Carotid Plaque Vulnerability: A Comparison with Histology. *Ultraschall in Der Medizin*, 36(4), 386-390.
 49. Gimbrone, M. A., & García-Cardeña, G. (2013). Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis. *Cardiovascular Pathology*, 22(1), 9-15.
 50. Guňka, I., Krajíčková, D., Leško, M., Jiška, S., Raupach, J., Chovanec, V., ... Malý, R. (2020). Safety of carotid endarterectomy in relation to the timing after ischemic stroke. *Ceska a Slovenska Neurologie a Neurochirurgie*, 83–116(4), 394–399.
 51. Gupta, A., Baradaran, H., Schweitzer, A. D., Kamel, H., Pandya, A., Delgado, D., ... Sanelli, P. C. (2013). Carotid plaque MRI and stroke risk: A systematic review and meta-analysis. *Stroke*, 44(11), 3071–3077.
 52. Halvorsen, B., Otterdal, K., Dahl, T. B., Skjelland, M., Gullestad, L., Øie, E., & Aukrust, P. (2008). Atherosclerotic Plaque Stability-What Determines the Fate of a Plaque? *Progress in Cardiovascular Diseases*, 51(3), 183-194.
 53. Hansson, G. K., Libby, P., & Tabas, I. (2015). Inflammation and plaque vulnerability. *Journal of Internal Medicine*, 278(5), 483-493.
 54. Hasegawa, H. (2017). Improvement of range spatial resolution of medical ultrasound imaging by element-domain signal processing. *Japanese Journal of Applied Physics*, 56(7), 07JF02 1-6 .
 55. Heinen, S. G., De Boer, S. W., Van Den Heuvel, D. A., Huberts, W., Dekker, P., Van De Vosse, F. N., ... De Vries, J. P. (2018). Hemodynamic significance assessment of equivocal iliac artery stenoses by comparing duplex ultrasonography with intra-arterial pressure measurements. *Journal of Cardiovascular Surgery*, 59(1), 37-44.
 56. Heinen, S. G. H., Huberts, W., van den Heuvel, D. A. F., van de Vosse, F. N., de Vries, J. P. P., & Delhaas, T. (2019). A comparative study of geometry-based methods and intra-arterial pressure measurements to assess the hemodynamic significance of equivocal iliac artery stenoses. *Vascular*, 27(2), 119-127.
 57. Hejčl, A., Švihlová, H., Sejkorová, A., Radovnický, T., Adámek, D., Hron, J., ... Sameš, M. (2017). Computational Fluid Dynamics of a Fatal Ruptured Anterior

- Communicating Artery Aneurysm. *Journal of Neurological Surgery, Part A: Central European Neurosurgery*, 78(6), 610-616.
58. Hellings, W. E., Peeters, W., Moll, F. L., Piers, S. R. D., van Setten, J., Van der Spek, P. J., ... Pasterkamp, G. (2010). Composition of Carotid Atherosclerotic Plaque Is Associated With Cardiovascular Outcome. *Circulation*, 121 (17), 1941 LP – 1950.
 59. Heyer, E. J., Mergeche, J. L., & Connolly, E. S. (2014). Middle cerebral artery pulsatility index and cognitive improvement after carotid endarterectomy for symptomatic stenosis. *Journal of Neurosurgery*, 120 (1), 126–131.
 60. Ho, Stella S.Y., & Metreweli, C. (2000). Preferred technique for blood flow volume measurement in cerebrovascular disease. *Stroke*, 31(6), 1342-1345.
 61. Ho, Stella Sin Yee, Yu, L. C., Yeung, D. K. W., & Metreweli, C. (2002). Blood flow volume quantification of cerebral ischemia: Comparison of three noninvasive imaging techniques of carotid and vertebral arteries. *American Journal of Roentgenology*, 178(3), 551-556.
 62. Howard, D. P. J., Van Lammeren, G. W., Rothwell, P. M., Redgrave, J. N., Moll, F. L., De Vries, J. P. P. M., ... Pasterkamp, G. (2015). Symptomatic carotid atherosclerotic disease: Correlations between plaque composition and ipsilateral stroke risk. *Stroke*, 46(1), 182-189.
 63. Hrbáč, T., Netuka, D., Beneš, V., Nosál, V., Kešnerová, P., Tomek, A., ... Školoudík, D. (2017). SONOlalysis in prevention of Brain InfaRctions During Internal carotid Endarterectomy (SONOBIRDIE) trial - study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 18(1), 25.
 64. Huibers, A., De Borst, G. J., Wan, S., Kennedy, F., Giannopoulos, A., Moll, F. L., & Richards, T. (2015). Non-invasive carotid artery imaging to identify the vulnerable plaque: Current status and future goals. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 50(5), 563–572.
 65. Ibrahimi, P., Jashari, F., Nicoll, R., Bajraktari, G., Wester, P., & Henein, M. Y. (2013). Coronary and carotid atherosclerosis: How useful is the imaging? *Atherosclerosis*, 231(2), 323-33.
 66. Kamtchum-Tatuene, J., Noubiap, J. J., Wilman, A. H., Saqqur, M., Shuaib, A., & Jickling, G. C. (2020). Prevalence of High-risk Plaques and Risk of Stroke in Patients with Asymptomatic Carotid Stenosis: A Meta-analysis. *JAMA Neurology*, 77(12), 1524-1535.
 67. Kashimada, A., Machida, K., Honda, N., Mamiya, T., Takahashi, T., Kamano, T., & Osada, H. (1995). Measurement of cerebral blood flow with two-dimensional cine phase-contrast MR imaging: Evaluation of normal subjects and patients with vertigo. *Radiation Medicine - Medical Imaging and Radiation Oncology*, 13(2), 95-102.
 68. Kešnerová, P., Školoudík, D., & Vizslayová, D. (2018). Detection of unstable carotid plaque in ischemic stroke prevention. *Česká a Slovenská Neurologie a Neurochirurgie*, 81/114(4), 378–391.
 69. Krejza, J., Szydlik, P., Liebeskind, D. S., Kochanowicz, J., Bronov, O., Mariak, Z., & Melhem, E. R. (2005). Age and sex variability and normal reference values for the VMCA/VICA index. *American Journal of Neuroradiology*, 26(4), 730-735.
 70. Lee, K. Y., Sohn, Y. H., Baik, J. S., Kim, G. W., & Kim, J. S. (2000). Arterial pulsatility as an index of cerebral microangiopathy in diabetes. *Stroke*, 31(5), 1111-1115.
 71. Liem, M. I., Kennedy, F., Bonati, L. H., Van Der Lugt, A., Coolen, B. F., Nederveen, A. J., ... Nederkoorn, P. J. (2017). Investigations of carotid stenosis to identify vulnerable atherosclerotic plaque and determine individual stroke risk.

- Circulation Journal*, 81(9),1246-1253.
72. Lin, Y. P., Fu, M. H., & Tan, T. Y. (2015). Factors Associated with No or Insufficient Temporal Bone Window Using Transcranial Color-coded Sonography. *Journal of Medical Ultrasound*, 23(3), 129–132.
 73. Lou, Z., Yang, J., Tang, L., Jin, Y., Zhang, J., Liu, C., & Li, Q. (2017). Shear Wave Elastography Imaging for the Features of Symptomatic Carotid Plaques: A Feasibility Study: A. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 36(6), 1213-1223.
 74. Malojcic, B., Giannakopoulos, P., Sorond, F. A., Azevedo, E., Diomedi, M., Oblak, J. P., ... Rosengarten, B. (2017a). Ultrasound and dynamic functional imaging in vascular cognitive impairment and Alzheimer's disease. *BMC Medicine*, 15(1), 27.
 75. Malojcic, B., Giannakopoulos, P., Sorond, F. A., Azevedo, E., Diomedi, M., Oblak, J. P., ... Rosengarten, B. (2017b). Ultrasound and dynamic functional imaging in vascular cognitive impairment and Alzheimer's disease. *BMC Medicine*, 15(1), 27.
 76. Marks, M. P., Pelc, N. J., Ross, M. R., & Enzmann, D. R. (1992). Determination of cerebral blood flow with a phase-contrast cine MR imaging technique: Evaluation of normal subjects and patients with arteriovenous malformations. *Radiology*, 182(2), 467-476.
 77. Mathiesen, E. B., Johnsen, S. H., Wilsgaard, T., Bønaa, K. H., Løchen, M.-L., & Njølstad, I. (2011). Carotid Plaque Area and Intima-Media Thickness in Prediction of First-Ever Ischemic Stroke. *Stroke*, 42(4), 972 LP – 978.
 78. Naghavi, M., Libby, P., Falk, E., Casscells, S. W., Litovsky, S., Rumberger, J., ... Willerson, J. T. (2003a). From vulnerable plaque to vulnerable patient: A call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*, 108(14), 1664-1672.
 79. Naghavi, M., Libby, P., Falk, E., Casscells, S. W., Litovsky, S., Rumberger, J., ... Willerson, J. T. (2003b). From Vulnerable Plaque to Vulnerable Patient: A Call for New Definitions and Risk Assessment Strategies: Part II. *Circulation*, 108(15), 1772-1778.
 80. NASCET. (1991). Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med*, 325(7), 445-453.
 81. Naylor, A. R., Schroeder, T. V., & Sillesen, H. (2014). Clinical and imaging features associated with an increased risk of late stroke in patients with asymptomatic carotid disease. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 48(6), 633–640.
 82. Otkar, S. O., Yücel, C., Karaosmanoglu, D., Akkan, K., Ozdemir, H., Tokgoz, N., & Tali, T. (2006). Blood-flow volume quantification in internal carotid and vertebral arteries: Comparison of 3 different ultrasound techniques with phase-contrast MR imaging. *American Journal of Neuroradiology*, 27(2), 363-369.
 83. Ooi, Y. C., & Gonzalez, N. R. (2015). Management of extracranial carotid artery disease. *Cardiology Clinics*, 33(1), 1–35.
 84. Pantoni, L. (2010). Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *The Lancet Neurology*, 9(7), 689-701.
 85. Paraskevas, K. I., Spence, J. D., Veith, F. J., & Nicolaides, A. N. (2014). Identifying Which Patients With Asymptomatic Carotid Stenosis Could Benefit From Intervention. *Stroke*, 45(12), 3720 LP – 3724.
 86. Paraskevas, K. I., Veith, F. J., & Spence, J. D. (2018). How to identify which patients with asymptomatic carotid stenosis could benefit from endarterectomy or stenting. *Stroke and Vascular Neurology*, 3(2), 92-100.
 87. Park, K. Y., Chung, P. W., Kim, Y. B., Moon, H. S., Suh, B. C., & Yoon, W. T. (2013). Increased pulsatility index is associated with intracranial arterial

- calcification. *European Neurology*, 69(2), 83–88.
88. Payen, D. M., Levy, B. I., Menegalli, D. J., Lajat, Y. I., Levenson, J. A., & Nicolas, F. M. (1982). Evaluation of human hemispheric blood flow based on non invasive carotid blood flow measurements using the range-gated doppler technique. *Stroke*, 13(3), 392-398.
 89. Peeters, W., Hellings, W. E., De Kleijn, D. P. V., De Vries, J. P. P. M., Moll, F. L., Vink, A., & Pasterkamp, G. (2009). Carotid atherosclerotic plaques stabilize after stroke insights into the natural process of atherosclerotic plaque stabilization. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 29(1), 128–133.
 90. Polanczyk, A., Podgorski, M., Wozniak, T., Stefanczyk, L., & Strzelecki, M. (2018). Computational fluid dynamics as an engineering tool for the reconstruction of hemodynamics after carotid artery stenosis operation: A case study. *Medicina (Lithuania)*, 54(3), 42.
 91. Pruijssen, J. T., de Korte, C. L., Voss, I., & Hansen, H. H. G. (2020). Vascular Shear Wave Elastography in Atherosclerotic Arteries: A Systematic Review. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 46(9), 2145–2163.
 92. Purkayastha, S., Fadar, O., Mehregan, A., Salat, D. H., Moscufo, N., Meier, D. S., ... Sorond, F. A. (2014). Impaired Cerebrovascular Hemodynamics are Associated with Cerebral White Matter Damage. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 34(2), 228–234.
 93. Ramnarine, K. V., Garrard, J. W., Dexter, K., Nduwayo, S., Panerai, R. B., & Robinson, T. G. (2014). Shear wave elastography assessment of carotid plaque stiffness: Invitro reproducibility study. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 40(1), 200-209.
 94. Ramnarine, K. V., Garrard, J. W., Kanber, B., Nduwayo, S., Hartshorne, T. C., & Robinson, T. G. (2014). Shear wave elastography imaging of carotid plaques: Feasible, reproducible and of clinical potential. *Cardiovascular Ultrasound*, 12(1), 49.
 95. Razek, A. A. K. A., Fouda, N. S., Elmetwaley, N., & Elbogdady, E. (2009). Sonography of the knee joint. *Journal of Ultrasound*, 12(2), 53-60.
 96. Reeves, M. J., Bushnell, C. D., Howard, G., Gargano, J. W., Duncan, P. W., Lynch, G., ... Lisabeth, L. (2008). Sex differences in stroke: epidemiology, clinical presentation, medical care, and outcomes. *The Lancet Neurology*, 7(10), 915–926.
 97. Rosenkranz, K., Langer, R., & Felix, R. (1991). Transcranial Doppler Sonography: Collateral Pathways in Internal Carotid Artery Obstructions. *Angiology*, 42(10), 819–826.
 98. Rothwell, P. M., Gutnikov, S. A., & Warlow, C. P. (2003). Reanalysis of the final results of the European Carotid Surgery Trial. *Stroke*, 34(2), 514-523.
 99. Roubec, M., Školoudík, D., Hrbáč, T., Havelka, J., Jonszta, T., & Herzig, R. (2019a). Intraplaque hemorrhage in symptomatic and asymptomatic progressive internal carotid artery stenosis - a pilot study. *Ceska a Slovenska Neurologie a Neurochirurgie*, 82(6), 638-643.
 100. Roubec, M., Školoudík, D., Hrbáč, T., Havelka, J., Jonszta, T., & Herzig, R. (2019b). Intraplaque hemorrhage in symptomatic and asymptomatic progressive internal carotid artery stenosis - a pilot study. *Ceska a Slovenska Neurologie a Neurochirurgie*, 82(6), 638–643.
 101. Saba, L., Yuan, C., Hatsukami, T. S., Balu, N., Qiao, Y., DeMarco, J. K., ... Wasserman, B. A. (2018). Carotid Artery Wall Imaging: Perspective and Guidelines from the ASNR Vessel Wall Imaging Study Group and Expert Consensus Recommendations of the American Society of Neuroradiology. *American Journal of Neuroradiology*, 39(2), E9-E31.

102. Sabayan, B., Jansen, S., Oleksik, A. M., van Osch, M. J. P., van Buchem, M. A., van Vliet, P., ... Westendorp, R. G. J. (2012). Cerebrovascular hemodynamics in Alzheimer's disease and vascular dementia: A meta-analysis of transcranial Doppler studies. *Ageing Research Reviews*, *11*(2), 271–277.
103. Salonen, R., Seppanen, K., Rauramaa, R., & Salonen, J. T. (1988). Prevalence of carotid atherosclerosis and serum cholesterol levels in eastern Finland. *Arteriosclerosis*, *8*(6), 788-792.
104. Schaafsma, A. (2012). Improved Parameterization of the Transcranial Doppler Signal. *Ultrasound in Medicine & Biology*, *38*(8), 1451–1459.
105. Scheel, P., Ruge, C., Petrucci, U. R., & Schöning, M. (2000). Color duplex measurement of cerebral blood flow volume in healthy adults. *Stroke*, *31*(1), 147-150.
106. Schmidt, R., Fazekas, F., Enzinger, C., Ropele, S., Kapeller, P., & Schmidt, H. (2002). Risk factors and progression of small vessel disease-related cerebral abnormalities. *Journal of Neural Transmission, Supplement 2002*(62), 47-52.
107. Schmieder, R. E., Schmidt, B. M. W., Raff, U., Bramlage, P., Dörfler, A., Achenbach, S., ... Kolominsky-Rabas, P. (2011). Cerebral microangiopathy in treatment-resistant hypertension. *Journal of Clinical Hypertension*, *13*(8), 582-587.
108. Schöning, M., & Hartig, B. (1996). Age dependence of total cerebral blood flow volume from childhood to adulthood. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *16*(5), 827-833.
109. Schöning, M., Walter, J., & Scheel, P. (1994). Estimation of cerebral blood flow through color duplex sonography of the carotid and vertebral arteries in healthy adults. *Stroke*, *25*(1), 17-22.
110. Sharma, V. K., Tsvigoulis, G., Lao, A. Y., Malkoff, M. D., & Alexandrov, A. V. (2007). Noninvasive detection of diffuse intracranial disease. *Stroke*, *38*(12), 3175–3181.
111. Shi, Y., Thrippleton, M. J., Marshall, I., & Wardlaw, J. M. (2018). Intracranial pulsatility in patients with cerebral small vessel disease: a systematic review. *Clinical Science*, *132*(1), 157–171.
112. Sigrist, R. M. S., Liao, J., Kaffas, A. El, Chammas, M. C., & Willmann, J. K. (2017). Ultrasound elastography: Review of techniques and clinical applications. *Theranostics*, *7*(5), 1303-1329.
113. Skagen, K., Skjelland, M., Zamani, M., & Russell, D. (2016). Unstable carotid artery plaque: New insights and controversies in diagnostics and treatment. *Croatian Medical Journal*, *57*(4), 311-320.
114. Škoda, O., Herzig, R., Mikulík, R., Neumann, J., Václavík, D., Bar, M., ... Školoudík, D. (2016). Klinický standard pro diagnostiku a léčbu pacientů s ischemickou cévní mozkovou příhodou a s tranzitorní ischemickou atakou - verze 2016. *Ceska a Slovenska Neurologie a Neurochirurgie*, *79*(3), 351-363.
115. Soustiel, J. F., Glenn, T. C., Vespa, P., Rinsky, B., Hanuscin, C., & Martin, N. A. (2003). Assessment of cerebral blood flow by means of blood-flow-volume measurement in the internal carotid artery: Comparative study with a ¹³³xenon clearance technique. *Stroke*, *34*(8), 1876-1880.
116. Spence, J. D. (2017). Transcranial Doppler monitoring for microemboli: a marker of a high-risk carotid plaque. *Seminars in Vascular Surgery*, *30*(1), 62–66.
117. Spence, J. D. (2020). Measurement of carotid plaque burden. *Current Opinion in Lipidology*, *31*(5), 291–298.
118. Spence, J. D., Eliasziw, M., DiCicco, M., Hackam, D. G., Galil, R., & Lohmann, T. (2002). Carotid plaque area: A tool for targeting and evaluating vascular preventive therapy. *Stroke*, *33*(12), 2916–2922.

119. Spence, J. D., & Hackam, D. G. (2010a). Treating arteries instead of risk factors: A paradigm change in management of atherosclerosis. *Stroke*, *41*(6), 1193–1199.
120. Spence, J. D., & Hackam, D. G. (2010b). Treating arteries instead of risk factors: A paradigm change in management of atherosclerosis. *Stroke*, *41*(6), 1193–1199.
121. Stegehuis, V. E., Wijntjens, G. W. M., Murai, T., Piek, J. J., & van de Hoef, T. P. (2018). Assessing the haemodynamic impact of coronary artery stenoses: Intracoronary flow versus pressure measurements. *European Cardiology Review*, *13*(1), 46-53.
122. Sun, J., & Hatsukami, T. S. (2016). Plaque Imaging to Decide on Optimal Treatment. Medical Versus Carotid Endarterectomy Versus Carotid Artery Stenting. *Neuroimaging Clinics of North America*, *26*(1), 165-173.
123. Tegeler, C. H., Crutchfield, K., Katsnelson, M., Kim, J., Tang, R., Passmore Griffin, L., ... Evans, G. (2013). Transcranial doppler velocities in a large, healthy population. *Journal of Neuroimaging*, *23*(3), 466–472.
124. Tsvigoulis, G., Sharma, V. K., Lao, A. Y., Malkoff, M. D., & Alexandrov, A. V. (2007). Validation of Transcranial Doppler With Computed Tomography Angiography in Acute Cerebral Ischemia. *Stroke*, *38*(4), 1245–1249.
125. Uematsu, S., Yang, A., Preziosi, T. J., Kouba, R., & Toung, T. J. (1983). Measurement of carotid blood flow in man and its clinical application. *Stroke*, *14*(2), 256-266.
126. van Veluw, S. J., Shih, A. Y., Smith, E. E., Chen, C., Schneider, J. A., Wardlaw, J. M., ... Biessels, G. J. (2017). Detection, risk factors, and functional consequences of cerebral microinfarcts. *The Lancet Neurology*, *16*(9), 730-740.
127. Velcheva, I., Titianova, E., & Antonova, N. (2004). Evaluation of the hemorheological and neurosonographic relationship in patients with cerebrovascular diseases. *Clin Hemorheol Microcirc*, *30*(3-4), 373-380.
128. von Reutern, G.-M., Goertler, M.-W., Bornstein, N. M., Sette, M. Del, Evans, D. H., Goertler, M.-W., ... Yasaka, M. (2012). Grading Carotid Stenosis Using Ultrasonic Methods. *Stroke*, *43*(3), 916–921.
129. Vranic, J. E., Romero, J. M., Hatsukami, T. S., Sun, J., & Mossa-Basha, M. (2020). Imaging Features of Vulnerable Carotid Atherosclerotic Plaque and the Associated Clinical Implications. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, *22*, 21.
130. Wabnitz, A. M., & Turan, T. N. (2017). Symptomatic Carotid Artery Stenosis: Surgery, Stenting, or Medical Therapy? *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, *19* (8), 62.
131. Wannarong, T., Parraga, G., Buchanan, D., Fenster, A., House, A. A., Hackam, D. G., & Spence, J. D. (2013). Progression of Carotid Plaque Volume Predicts Cardiovascular Events. *Stroke*, *44*(7), 1859 LP – 1865.
132. Wardlaw, J. M., Smith, C., & Dichgans, M. (2019). Small vessel disease: mechanisms and clinical implications. *The Lancet Neurology*, *18*(7), 684-696.
133. Wardlaw, J. M., Smith, E. E., Biessels, G. J., Cordonnier, C., Fazekas, F., Frayne, R., ... Dichgans, M. (2013). Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration. *The Lancet Neurology*, *12*(8), 822-838.
134. Wasserman, B. A., Sharrett, A. R., Lai, S., Gomes, A. S., Cushman, M., Folsom, A. R., ... Bluemke, D. A. (2008). Risk Factor Associations With the Presence of a Lipid Core in Carotid Plaque of Asymptomatic Individuals Using High-Resolution MRI. *Stroke*, *39*(2), 329 LP – 335.
135. Winkler, A. J., Wu, J., Case, T., & Ricci, M. A. (1995). An experimental study of the accuracy of volume flow measurements using commercial ultrasound systems.

- Journal of Vascular Technology*, 19(4), 175-180.
136. Wiśniewska, N., Kania, E., Płoński, A., & Głowiński, J. (2019). Pathogenesis regarding development and structure of unstable atherosclerotic plaque in internal carotid artery in relation to high risk factors of an ischaemic stroke. Current status of knowledge. *Acta Angiologica*, 25(3), 145-156.
137. Xu, D., Hippe, D. S., Underhill, H. R., Oikawa-Wakayama, M., Dong, L., Yamada, K., ... Hatsukami, T. S. (2014). Prediction of high-risk plaque development and plaque progression with the carotid atherosclerosis score. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 7(4), 366-373.
138. Yanez, N. D., Burke, G. L., Manolio, T., Gardin, J. M., & Polak, J. (2009). Sibling History of Myocardial Infarction or Stroke and Risk of Cardiovascular Disease in the Elderly: The Cardiovascular Health Study. *Annals of Epidemiology*, 19(12), 858-866.
139. Yang, D., Cabral, D., Gaspard, E. N., Lipton, R. B., Rundek, T., & Derby, C. A. (2016). Cerebral hemodynamics in the elderly a transcranial doppler study in the Einstein aging study cohort. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 35(9), 1907-1914.
140. Yang, Y., Liu, X., Xia, Y., Wu, W., Xiong, H., Zhang, H., ... Huang, W. (2017). Impact of spatial characteristics in the left stenotic coronary artery on the hemodynamics and visualization of 3D replica models. *Scientific Reports*, 7(1), 15452.
141. Yin, R., Ma, A., Pan, X., & Yang, S. (2017). Biomarkers of cerebral microembolic signals. *Clinica Chimica Acta*, 475, 164-168.
142. Zhao, M., Amin-Hanjani, S., Ruland, S., Curcio, A. P., Ostergren, L., & Charbel, F. T. (2007). Regional cerebral blood flow using quantitative MR angiography. *American Journal of Neuroradiology*, 28(8), 1470-1473.
143. Zhou, H., Meng, L., Zhou, W., Xin, L., Xia, X., Li, S., ... Niu, L. (2017). Computational and experimental assessment of influences of hemodynamic shear stress on carotid plaque. *BioMedical Engineering Online*, 16(1), 92.
144. Zhu, G., Hom, J., Li, Y., Jiang, B., Rodriguez, F., Fleischmann, D., ... Wintermark, M. (2020). Carotid plaque imaging and the risk of atherosclerotic cardiovascular disease. *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*, 10(4), 1048-1067.

11. SOUHRN PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI

11.1. Původní vědecké práce in extenso, které jsou podkladem disertace

a) s impakt faktorem

Školoudík D., **Kešnerová P.**, Hrbáč T., Netuka D., Vomáčka J., Langová K., Roubec M., Herzig R., Belšan T. Vizuální hodnocení a digitální analýza ultrazvukového obrazu u stabilního a progredujícího aterosklerotického plátu v karotické tepně. Visual and digital analysis of the ultrasound image in a stable and progressive carotid atherosclerotic plaque Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2021, vol. 84, s. 38-44. ISSN 1210-7859. **IF = 0,35**

Školoudík D, **Kešnerová P**, Vomáčka J, Hrbáč T, Netuka D, Forostyak S, Roubec M, Herzig R, Belšan T; ANTIQUE Trial Group. Shear-Wave Elastography Enables Identification of Unstable Carotid Plaque. Ultrasound Med Biol. 2021 Jul;47(7):1704-1710. **IF = 2,998**

Školoudík D., Hrbáč T., Matějka R., Forostyak S., Hofmanová J., Netuka D., **Kešnerová P.**, Belšan T., Školoudík A. Srovnání měření průtokových parametrů v oblasti karotické stenózy in vivo a in vitro - pilotní výsledky testování hemodynamického fantomu. Comparison of in vivo and in vitro measurements of flow parameters in carotid stenosis – pilot results of hemodynamic phantom testing. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2020, vol. 83, s. 627-632. ISSN 1210-7859. **IF = 0,35**

Kešnerová P, Školoudík D, Herzig R, Netuka D, Szegedi I, Langová K; ANTIQUE Trial Group. Peripheral Vascular Resistance in Cerebral Arteries in Patients With Carotid Atherosclerosis - Substudy Results of the Atherosclerotic Plaque Characteristics Associated With a Progression Rate of the Plaque and a Risk of Stroke in Patients With the Carotid Bifurcation Plaque Study (ANTIQUÉ). J Ultrasound Med. 2022 Jan;41(1):237-246. **IF = 2,72**

Fiedler J, Reiser M, Košťál P, Kubále J, Ostrý S, Hrbáč T, **Kešnerová P**, Fadrná T, Langová K, Herzig R, Školoudík D. Blood Flow Volume Measurement in Cervical and Intracranial Arteries using Quantitative Magnetic Resonance Angiography and Duplex Sonography (Bocaccia) - A Prospective Observational Study. Ultraschall Med. 2021 Feb;42(1):65-74. **IF = 6,548**

b) bez impakt faktorů

Nejsou.

11.2. Původní vědecké práce in extenso související s tématem disertace, které nejsou jejím podkladem

a) s impakt faktorem

Kešnerová P, Školoudík D, Herzig R, Netuka D, Szegedi I, Langová K; ANTIQUE Trial Group. Peripheral Vascular Resistance in Cerebral Arteries in Patients With Carotid Atherosclerosis - Substudy Results of the Atherosclerotic Plaque Characteristics Associated With a Progression Rate of the Plaque and a Risk of Stroke in Patients With the Carotid Bifurcation Plaque Study (ANTIQUE). *J Ultrasound Med.* 2022 Jan;41(1):237-246. **IF = 2,153**

Školoudík D, **Kešnerová P**, Hrbáč T, Netuka D, Vomáčka J, Langová K, Herzig R, Belšan T. Risk factors for carotid plaque progression after optimising the risk factor treatment: substudy results of the Atherosclerotic Plaque Characteristics Associated with a Progression Rate of the Plaque and a Risk of Stroke in Patients with the carotid Bifurcation Plaque Study (ANTIQUE). *Stroke Vasc Neurol.* 2022 Apr;7(2):132-139. **IF = 4,081**

Školoudík D, **Kešnerová P**, Vomáčka J, Hrbáč T, Netuka D, Forostyak S, Roubec M, Herzig R, Belšan T; ANTIQUE Trial Group. Shear-Wave Elastography Enables Identification of Unstable Carotid Plaque. *Ultrasound Med Biol.* 2021 Jul;47(7):1704-1710. **IF = 2,998**

Fiedler J, Reiser M, Košťál P, Kubále J, Ostrý S, Hrbáč T, **Kešnerová P**, Fadrná T, Langová K, Herzig R, Školoudík D. Blood Flow Volume Measurement in Cervical and Intracranial Arteries using Quantitative Magnetic Resonance Angiography and Duplex Sonography (Bocaccia) - A Prospective Observational Study. *Ultraschall Med.* 2021 Feb;42(1):65-74. **IF = 6,548**

Svoboda N, Voldřich R, Mandys V, Hrbáč T, **Kešnerová P**, Roubec M, Školoudík D, Netuka D. Histological Analysis of Carotid Plaques: The Predictors of Stroke Risk. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2022 Mar;31(3):106262. **IF = 2,136.**

Školoudík D, Kuliha M, Hrbáč T, Jonszta T, Herzig R; SONOBUSTER Trial Group (**Kešnerová P incl.**). Sonolysis in Prevention of Brain Infarction During Carotid Endarterectomy and Stenting (SONOBUSTER): a randomized, controlled trial. *Eur Heart J.* 2016 Oct 21;37(40):3096-3102. **IF = 29.983**

Hrbáč T, Netuka D, Beneš V, Nosál V, **Kešnerová P**, Tomek A, Fadrná T, Beneš V Jr, Fiedler J, Přibáň V, Brozman M, Langová K, Herzig R, Školoudík D. SONOLysis in prevention of Brain InfaRctions During Internal carotid Endarterectomy (SONOBIRDIE) trial – study protocol for randomized controlled trial. *Trials.* 2017 Jan 17;18(1):25. **IF = 2,279**

Školoudík D., **Kešnerová P.**, Hrbáč T., Netuka D., Vomáčka J., Langová K., Roubec M., Herzig R., Belšan T. Vizuální hodnocení a digitální analýza ultrazvukového obrazu u stabilního a progredujícího aterosklerotického plátu v karotické tepně. *Visual and digital analysis of the ultrasound image in a stable and progressive carotid atherosclerotic plaque Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2021, vol. 84, s. 38-44. ISSN 1210-7859. **IF = 0.35**

Charvát F., Vrána J., Netuka D., Cihlář F., Krajina A., Chovanec V., Herzig R., Procházka V., Roubec M., **Kešnerová P.**, Školoudík D., Belšan T., Coufalová L., Meluzín J. Charakteristika aterosklerotického plátu a riziko mozkové ischemie při stentování vnitřní karotidy. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2020, vol. 83, s. 84-94. ISSN 1210-7859. **IF = 0,35**

Školoudík D., Hrbáč T., Matějka R., Forostyak S., Hofmanová J., Netuka D., **Kešnerová P.**, Belšan T., Školoudík A. Srovnání měření průtokových parametrů v oblasti karotické stenózy in vivo a in vitro - pilotní výsledky testování hemodynamického fantomu. Comparison of in vivo and in vitro measurements of flow parameters in carotid stenosis – pilot results of hemodynamic phantom testing. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2020, vol. 83, s. 627-632. ISSN 1210-7859. **IF = 0,35**

Kešnerová P., Vizslayová D., Školoudík D. Detekce nestabilního karotického plátu v prevenci ischemické cévní mozkové příhody. Detection of unstable carotid plaque in ischemic stroke prevention. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2018, vol. 81(4), s. 378-391. ISSN 1210-7859. **IF = 0,35**

b) bez impakt faktoru

Kešnerová P. Hodnocení aterosklerotických plátů v karotických tepnách pomocí duplexní sonografie. Atherosclerotic plaque evaluation in the carotid arteries by duplex sonography Neurologie pro praxi, 2017, vol. 18, s. 229-232. ISSN 1213-1814.

11.3. Původní vědecké práce in extenso bez vztahu k tématu disertace

a) s impakt faktorem

Roubec M., Krajíčková D., Hommerová J., **Kešnerová P.**, Klimošová S., Rapantová P., Herzig R., Školoudík D. Prediktory pozitivního léčebného výsledku u pacientů s akutní cévní mozkovou příhodou podstupujících endovaskulární léčbu - výsledky z registru CERBERUS. Predictors of Good Clinical Outcome in Patients with Acute Stroke Undergoing Endovascular Treatment - Results from CERBERUS. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2017, vol. 80, s. 666-674. ISSN 1210-7859. **IF = 0,35**

Roubec M., Kuliha M., Školoudík D., Šanák D., Langová K., Krajíčková D., Vítková E., Kusyn M., Eichlová Z., Havlíček R., **Kešnerová P.**, Procházka V., Jonszta T., Krajča J. Registr mechanických rekanalizací u akutního iktu - pilotní výsledky multicentrického registru. A Registry of Mechanical Recanalization Procedures in Acute Stroke - Pilot Results from a Multicentre Registry Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2015, vol. 78, s. 205-208. ISSN 1210-7859. **IF = 0,35**

Šrámek M., Růžičková T., **Kešnerová P.**, Kadlecová P., Mikulík R. Zkrácení door-to-needle intervalu, zkušenosti z Iktového centra Kladno. Reducing the Door-to-needle Interval, Experience from the Stroke Centre in Kladno Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2014, vol. 77, s. 747-752. ISSN 1210-7859. **IF = 0,35**

b) bez impakt faktoru

Nejsou.

11.4. Publikace přijaté do tisku

Školoudík D., Pakizer D., Netuka D., Hrbáč T., Vrána J., Charvát F., Jonszta T., **Kešnerová P.**, Herzig R., Langová K. Vulnerability Characteristics of Atherosclerotic Plaques in Carotid Arteries and Risk of Stroke: Substudy Results of the Atherosclerotic Plaque Characteristics Associated with a Progression Rate of the Plaque and a Risk of Stroke in Patients with the Carotid Bifurcation Plaque Study (ANTIQUE). Journal of the Neurological Sciences Manuscript, Ahead print
IF 3,115

Souhrnný IF: 55,743

12. SEZNAM PŘÍLOH

Studie č. 1

Školoudík D., **Kešnerová P.**, Hrbáč T., Netuka D., Vomáčka J., Langová K., Roubec M., Herzig R., Belšan T. Vizuální hodnocení a digitální analýza ultrazvukového obrazu u stabilního a progredujícího aterosklerotického plátu v karotické tepně. Visual and digital analysis of the ultrasound image in a stable and progressive carotid atherosclerotic plaque. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2021, vol. 84, s. 38-44. ISSN 1210-7859.

Studie č. 2

Školoudík D, **Kešnerová P.**, Vomáčka J, Hrbáč T, Netuka D, Forostyak S, Roubec M, Herzig R, Belšan T; ANTIQUE Trial Group. Shear-Wave Elastography Enables Identification of Unstable Carotid Plaque. Ultrasound Med Biol. 2021 Jul;47(7):1704-1710.

Studie č. 3

Školoudík D., Hrbáč T., Matějka R., Forostyak S., Hofmanová J., Netuka D., **Kešnerová P.**, Belšan T., Školoudík A. Srovnání měření průtokových parametrů v oblasti karotické stenózy in vivo a in vitro - pilotní výsledky testování hemodynamického fantomu. Comparison of in vivo and in vitro measurements of flow parameters in carotid stenosis – pilot results of hemodynamic phantom testing. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, 2020, vol. 83, s. 627-632. ISSN 1210-7859.

Studie č. 4

Kešnerová P., Školoudík D, Herzig R, Netuka D, Szegedi I, Langová K; ANTIQUE Trial Group. Peripheral Vascular Resistance in Cerebral Arteries in Patients With Carotid Atherosclerosis - Substudy Results of the Atherosclerotic Plaque Characteristics Associated With a Progression Rate of the Plaque and a Risk of Stroke in Patients With the Carotid Bifurcation Plaque Study (ANTIQUE). J Ultrasound Med. 2022 Jan;41(1):237-246.

Studie č. 5

Fiedler J, Reiser M, Košťál P, Kubále J, Ostrý S, Hrbáč T, **Kešnerová P.**, Fadrná T, Langová K, Herzig R, Školoudík D. Blood Flow Volume Measurement in Cervical and Intracranial Arteries using Quantitative Magnetic Resonance Angiography and Duplex Sonography (Bocaccia) - A Prospective Observational Study. Ultraschall Med. 2021 Feb;42(1):65-74.