Virtuální histologie – nová metoda v intervenční kardiologii

Tomáš Kovárník, Jan Horák, Ondřej Dostál, Michael Aschermann, Aleš Linhart

II. interní klinika kardiologie a angiologie, Všeobecná fakultní nemocnice
a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika

Kovárník R, Horák J, Dostál O, Aschermann M, Linhart A (II. interní klinika kardiologie a angiologie, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika). **Virtuální histologie – nová metoda v intervenční kardiologii**. *Cor Vasa* 2006;48(5):192–196.

Autoři uvádějí popis a vhodné indikace virtuální histologie, nové diagnostické metody vycházející z intravaskulárního ultrazvuku. Je uveden základní princip vyšetření, včetně techniky provedení. Dále je popsán možný přínos tohoto vyšetření i jeho limitace. Popis virtuální histologie je doplněn příklady z vlastní praxe autorů.

Klíčová slova: Virtuální histologie – Intravaskulární ultrazvuk – Nestabilní aterosklerotický plát – Regrese aterosklerózy

Kovárník T, Horák J, Dostál O, Aschermann M, Linhart A (Department of Medicine II; Divisions of Cardiology and Angiology; General University Hospital and Charles University Medical School 1, Prague, Czech Republic). **Virtual histology—a novel method in interventional cardiology**. *Cor Vasa* 2006;48(5):192–196.

This review describes a new diagnostic method called virtual histology. The basic principles, indications, limitations and description of the technique are discussed. The authors present their own experience with virtual histology.

Key words: Virtual histology – Intravascular ultrasound – Unstable atherosclerotic plaque – Regression of atherosclerosis

Adresa: MUDr. Tomáš Kovárník, II. interní klinika kardiologie a angiologie, VFN a 1. LF UK, U nemocnice 2, 128 08 Praha 2, Česká republika, e-mail: tkovarnik@yahoo.com

ÚVOD

V současné době existuje řada invazivních i neinvazivních zobrazovacích metod umožňujících vyšetření koronárních tepen. Zlatým standardem je angiografické vyšetření, které je stále nedostižné v celkovém vyšetření věnčitých tepen. Koronární angiografie má však řadu omezení. Především se nejedná o vhodnou metodu pro hodnocení velikosti, charakteru a složení aterosklerotických plátů. Ty jsou při angiografii hodnoceny jen nepřímo podle charakteru zúžení lumen tepny.

Ve snaze přesně popsat velikost, charakter a předpokládané složení plátů jsou vyvíjeny další zobrazovací metody. Jejich cílem je především odhadnout další vývoj onemocnění. Schopnost rozlišit nestabilní plát s vysokým rizikem vzniku akutního koronárního syndromu od stabilního plátu s dobrou dlouhodobou prognózou by mělo významný dopad pro klinickou praxi. Dalšími aktuálními otázkami jsou možnosti léčebného ovlivnění složení plátů a jejich možná regrese při terapii.

POPIS TECHNOLOGIE VIRTUÁLNÍ HISTOLOGIE

Virtuální histologie není další vyšetřovací metodou v pravém slova smyslu. Jedná se o podrobnější zpracování signálu získaného intravaskulárním ultrazvukem. Intravaskulární ultrazvuk, jako každé ultrazukové vyšetření, hodnotí odraz vyslaného ultrazukového signálu. Ze signálu je však hodnocena pouze

jeho amplituda. Nejvyšší amplitudě signálu je standardně přiřazena bílá barva a nejmenší amplitudě barva černá. Vzniká tak dobře známý černobílý obraz odpovídající amplitudě odraženého signálu. Ultrazukový signál se skládá z různých frekvencí, kterým nebyl zpočátku přikládán žádný význam. Koncem 90. let začaly být publikovány práce hodnotící frekvence ultrazukového signálu. Metoda byla popisována jako radiofrekvenční analýza ultrazukového signálu. Postupem času bylo prokázáno, že existují specifické frekvence pro jednotlivé tkáně. Při vyšetření virtuální histologií je plát rozdělen do malých segmentů, kde probíhá radiofrekvenční analýza signálu. Po zpracování signálu jsou výsledné základní frekvence srovnávány s „knihovnou“ již známých údajů. Ta byla získána *in vitro* srovnáním nejrozličnějších frekvencí a histologických nálezů.⁽¹⁾ Byla prokázána velmi dobrá korelace mezi virtuální histologií a skutečným histologickým vyšetřením plátů, pozitivní prediktivní hodnoty jsou uvedeny v *tabulce I*.⁽²⁾ Výsledek analýzy je kódován do barvy. Kalcifikace jsou zobrazeny bíle,

Tabulka I
Srovnání nálezů virtuální histologie a reálného histologického vyšetření

Tkáň	Pozitivní prediktivní hodnota
Fibózní	79,7–90,4 %
Fibrolipidová	81,2–92,8 %
Kalcifikace	90,9–92,8 %
Nekrotické jádro	85,5–89,5 %

fibrózní tkán zeleně, fibrolipidová tkáň žlutozeleně, nekrotické hmoty červeně, medie šedě.

VLASTNÍ VYŠETŘENÍ

Technika získání virtuální histologie se prakticky neliší od prostého vyšetření intravaskulárním ultrazvukem (IVUS). Do periferie vyšetřované tepny je zaveden standardní vodící drát pro perkutánní koronární intervence, po kterém je zavedena ultrazvuková sonda. Ze získaných údajů je tvořen černobílý obraz intravaskulárního ultrazvuku a současně je zhotovena virtuální histologie podle radiofrekvenční analýzy ultrazvukového signálu. Pro vytvoření virtuální histologie je třeba druhý počítač, který provádí radiofrekvenční analýzu a software vytvářející ze získaných údajů složení plátu kódované do barev. Dalšími předpoklady jsou kvalitní signál EKG a spolehlivý mechanický „pullback“ s rychlostí posunu 0,5 mm/s. Je také možno použít rychlost posunu 1 mm/s za cenu menšího množství získaných řezů. Proto je všeobecně doporučována rychlost 0,5 mm/s. Rekonstrukce obrazu při virtuální histologii bohužel nehodnotí celý záznam získaný při intravaskulárním ultrazvuku. Jsou analyzovány pouze segmenty získané v době enddiastoly (v době kmitu R na EKG), což je dáno technickou limitací softwaru. Z tohoto důvodu nelze provést virtuální histologii libovolného transverzálního řezu získaného při intravaskulárním ultrazvuku. Toto omezení je menší u pacientů s tachykardií, u kterých je zachyceno více enddiastol na daný úsek tepny. Při vyšetřování nemocného s tepovou frekvencí 60/min připadá na každou sekundu jedna srdeční akce. Za jednu sekundu je vyšetřeno 0,5 mm tepny, získáváme tak jeden obrázek virtuální histologie na každého půl milimetru, což je považováno za dostatečně reprezentativní. Při tepové frekvenci 120/min činí vzdálenost mezi dvěma hodnocenými segmenty 0,25 mm. Je však více než diskutabilní, zda by výše uvedené zpřesnění analýzy ospravedlnilo případné iatrogenní (externí kardiostimulací) zvýšení tepové frekvence u nemocných s ischemickou chorobou srdeční (ICHS).

SOUČASNÉ ZKUŠENOSTI S VIRTUÁLNÍ HISTOLOGÍ

V posledním roce byla virtuální histologie uvolněna pro klinické použití a počet center disponujících touto technologií rychle roste. Hlavním cílem je nyní sběr co největšího množství dat, které poslouží ke zhodnocení přínosu virtuální histologie v kardiologii. Erbel a spol. představili na kongrese „Transcatheter cardiovascular therapy“ ve Washingtonu v roce 2004 výsledky vyšetření 108 nemocných se stabilní i nestabilní anginou pectoris. Uvádějí tato zjištění:

1. signifikantní korelace mezi věkem a množstvím kalcia v aterosklerotických plátech,
2. větší průměrná velikost plátů u mužů,
3. častější výskyt nekrotického jádra v plátu u mužů,
4. signifikantně častější výskyt kalcifikací a nekrotického jádra v plátech u diabetiků ve srovnání s nediabetiky,
5. signifikantně větší pláty u hypertoniků ve srovnání s normotoniky,

6. signifikantní korelace mezi koncentrací cholesterolu a množstvím kalcifikací v plátech,
7. negativní korelace mezi koncentrací HDL-cholesterolu, velikostí plátů a výskytem nekrotického jádra,
8. signifikantní korelace mezi koncentrací triglyceridů a množstvím fibrolipidové tkáně v plátu.

MOŽNOSTI VIRTUÁLNÍ HISTOLOGIE V DIAGNOSTICE NESTABILNÍHO ATEROSKLEROTICKÉHO PLÁTU

Léčba akutního koronárního syndromu je hašením požáru, který vzplál před měsíci a možná i lety. Naším cílem musí být včasná diagnostika aterosklerotických plátů ještě před vznikem akutního koronárního syndromu.

Z patologickeoanatomických vyšetření je známo, že u nemocných zemřelých na akutní koronární syndrom (ACS) jsou nalézány objemnější pláty, větší množství lipidů v plátu, častější ruptury s nasedajícím trombem ve srovnání s nemocnými, kteří zemřeli z nekoronární příčiny.⁽³⁾ Objemné pláty jsou kompenzovány rozvojem pozitivní remodelace, která umožňuje zachovat dostatečnou velikost lumen. První manifestací ICHS tak často bývá právě ACS. Pozitivní remodelace je dnes považována spíše za rizikový faktor než kompenzační jev, protože je často nalézána u nemocných, kteří zemřeli náhlou smrtí a je spojena s vyšším obsahem lipidů a větším množstvím makrofágů v plátu.⁽⁴⁾ V poslední době je jako častý nálezn u zemřelých na ACS uváděn fibroaterom s tenkou fibrózní čepičkou tzv. „thin cap fibroatheroma (TCFA)“, který se vyskytuje u 65–70 % zemřelých na ACS.⁽⁵⁾

Možnosti intravaskulárního ultrazvuku v detekci nestabilních aterosklerotických plátů jsme popsali v dřívější práci.⁽⁶⁾

Virtuální histologie umožňující přesnou analýzu složení aterosklerotických plátů může přinést řadu poznatků o odlišném složení stabilních a nestabilních plátů. Nejčastěji užívanou definicí pro TCFA je 10% zastoupení nekrotické tkáně v plátu větším než 40 %, a to ve třech řezech za sebou. Za rizikové rysy jsou považovány:

- vysoký obsah lipidů,
- vysoký obsah nekrotického jádra,
- přímý kontakt nekrotického jádra s lumen tepny.

Příkladem, jak může virtuální histologie změnit přístup k terapii nestabilních aterosklerotických plátů, mohou být některé kasuistiky popisující intervenci angiograficky nevýznamného plátu, jež vykazuje při vyšetření virtuální histologií známky nestabilního plátu s vysokým rizikem vzniku akutního koronárního syndromu (například rozsáhlý výskyt nekrotických hmot dosahujících až k lumen).⁽⁷⁾

MOŽNOSTI VIRTUÁLNÍ HISTOLOGIE PŘI SLEDOVÁNÍ REGRESE ATEROSKLEROTICKÝCH PLÁTŮ

Virtuální histologie se jeví jako ideální vyšetřovací metoda hodnocení změn plátu při hypolipidemické terapii. Ve spojení s intravaskulárním ultrazvukem umožňuje přesné hodnocení změny objemu i složení aterosklerotických plátů. Kawasaki a spol. publikovali práci sledující změny složení aterosklerotických plátů u nemocných léčených pravastatinem

20 mg/den a atorvastatinem 20 mg/den, ve které prokázali snížení podílu lipidů v aterosklerotickém plátu po šestiměsíčním sledování.⁽⁸⁾ Na II. interní klinice VFN jsme zahájili studii, která se zabývá hodnocením regrese a změn složení aterosklerotických plátů při agresivní hypolipidemické terapii. Hodnocení bude prováděno intravaskulárním ultrazvukem a virtuální histologií.

NAŠE ZKUŠENOSTI S VIRTUÁLNÍ HISTOLOGIÍ

Na II. interní klinice VFN jsme zatím provedli virtuální histologii u 50 nemocných. Indikací pro intravaskulární ultrazvuk byl nejednoznačný náález při koronarografickém vyšetření. Přestože se zatím jedná o malý počet nemocných, získané zkušenosti umožňují první hodnocení metody jako takové.

Zhotovení virtuální histologie neprodlouží výkon, neboť se jedná o analýzu již získaného signálu. Virtuální histologie se tedy nezobrazuje „on-line“ na obrazovce. Po získání vyšetření IVUS proběhne automatická analýza obrazu s označením lumen (minimal lumen area, MLA) a tepny (external elastic membrane, EEM), kterou je však nutno často manuálně upravit. Hodnocení MLA a EEM je totiž softwarově nejobtížnější částí virtuální histologie, neboť popsat někdy velmi diskrétní hranice mezi lumen, intimou, medií a adventicií matematickými vztahy je velmi obtížné a hodnocení „zkušného oka“ je zde zatím nenahraditelné. Tento proces trvá 2–5 minut, což záleží na délce hodnoceného segmentu. Požadované informace o složení aterosklerotického plátu jsou poté k dispozici velmi rychle. Získané nálezy jsou archivovány na DVD. Po každém vyšetření je nezbytné uložit vyšetření IVUS na CD a náález virtuální histologie na DVD.

Hlavním překvapením pro nás bylo rozdílné složení v těch částech plátu, které při vizuálním hodnocení obrazu IVUS vypadají velmi podobně. Jde zejména o oblasti s vysokou amplitudou signálu, tedy nejčastěji kalcifikace, které při virtuální histologii často obsahují zóny tvořené nekrotickým jádrem. To jenom potvrzuje zkušenosti patologických anatomů, že kalcifikace jsou ukazatele nekrózy v plátu. Při virtuální histologii lze rovněž hodnotit složení plátu v akustickém stínu za kalcifikacemi. Tmavá barva za kalcifikací je dána malou amplitudou signálu. Virtuální histologie dokáže tento signál lépe vyhodnotit, neboť hodnotí frekvence signálu a nikoliv amplitudu.

Rovněž hodnocení takzvaných „měkkých“ částí plátu, neboli částí plátu s nízkou echodenzitou, přinese nejedno překvapení. Zejména se jedná o množství lipidů v plátu a zastoupení nekrotického jádra. Tyto struktury mají v klasickém obraze IVUS velmi podobný vzhled a jejich přesné rozlišení umožňuje až virtuální histologie.

LIMITACE METODY

Nedostatkem virtuální histologie je nemožnost hodnocení přítomnosti trombu. Neexistují zatím specifické frekvence, které by umožňovaly dostatečně přesně odlišit trombus od ostatních tkání. V případě, že je trombus při intravaskulárním ultrazvuku patrný, je vhodné jej do analýzy virtuální histologie nezahrnovat. Pravděpodobně by byl hodnocen jako lipidová ne-

bo nekrotická tkáň. V současné době probíhá intenzivní výzkum v hledání specifických frekvencí pro trombus, jehož detekce je důležitou součástí hodnocení nestabilních aterosklerotických plátů. Další strukturou, kterou nelze pomocí virtuální histologie zatím zobrazit, jsou koronární stenty. Software vyhodnocuje oka stentu jako kalcifikace (obrázky 1 a 2).

Obr. 1 IVUS

Čísla udávají lokalizaci podle hodinového ciferníku. (Na číslech 6, 12, 2 jsou patrna oka stentu)

Obr. 2 Virtuální histologie

Čísla udávají lokalizaci podle hodinového ciferníku.

Na číslech 7 a 12 jsou patrné okrsy kódované jako kalcifikace s příměsí nekrotické složky, které svou lokalizací odpovídají umístění ok stentu (poloha není úplně identická a část stentu u čísla 2 zde není patrná, protože není zachycen přesně stejný segment tepny).

Hodnotící software může při analýze signálu vycházet pouze ze zadaného algoritmu, který umožňuje rozeznávat jen čtyři výše popsané tkáně. Každou hodnocenou frekvenci tudíž musí přiřadit k té tkáni, které se náález nejvíce podobá. Software nemá možnost zobrazit ty části, které „nepozná“ nějakým zvláštním označením. O omezení vyplývajícím z nekontinuálního zobrazení vyšetřované tepny (zobrazeny jsou pouze segmenty získané v čase kmitu R) a o korelaci nálezů se skutečnou histologií mírně nad 90 % již bylo hovořeno výše.

PŘÍKLAD POUŽITÍ VIRTUÁLNÍ HISTOLOGIE

62letý muž, bývalý kuřák, s mírnou neléčenou hyperlipoproteinémií byl sledován u kardiologa pro náma-

hovou dušnost NYHA II. Jednou v životě prodělal ataku klidové stenokardie, a to před třemi měsíci. Byla mu provedena zátěžová scintigrafie myokardu s nálezem perfuzního defektu na přední stěně levé komory. Na kliniku byl přijat k provedení selektivní koronarografie. Byla zjištěna 45% stenóza ve střední části ramus interventricularis anterior (RIA). Pro pozitivní nález při scintigrafii a angiograficky nevýznamnou stenózu bylo doplněno vyšetření frakční průtokové rezervy (FFR). Při opakovaném vyšetření byly zaznamenány hodnoty 0,74–0,78. Jde o hodnoty, které se pohybují v tzv. „šedé zóně“ hodnocení FFR, které mohou, ale nemusí odpovídat významné stenóze. Pro objasnění charakteru léze bylo provedeno vyšetření IVUS. Ve střední části byla zjištěna významná stenóza s MLA 3,8 mm², která byla způsobena objemným plátem. Další objemný plát byl nalezen v kmeni levé věnčité tepny, kde ovšem nezpůsobil významnou stenózu (MLA 10,2 mm²). U obou plátů jsme provedli virtuální histologii.

Obr. 3 IVUS

Číslo udává lokalizaci podle hodinového ciferníku. Střední RIA. Excentrický fibrózní plát s drobným projasněním v místě čísla 2, které by mohlo odpovídat akumulaci lipidů. Drobná fisura čepičky plátu pod tímto projasněním.

Obr. 4 Virtuální histologie

Číslo udává lokalizaci podle hodinového ciferníku. Střední RIA. Excentrický plát s lipidovým jádrem v místě čísla 2. Ostrůvky nekrotické tkáně v přímém kontaktu s lumen tepny (čísla 11 a 12). V centrální části plátu je v této oblasti řada drobných kalcifikací s nekrotickou tkání.

Obr. 5 IVUS

Číslo udává lokalizaci podle hodinového ciferníku. Střední RIA. Excentrický fibrózní plát s táhlou superficiální kalcifikací u čísel 12–2.

Obr. 6 Virtuální histologie

Číslo udává lokalizaci podle hodinového ciferníku. Střední RIA. Excentrický, převážně fibrózní plát s ostrůvky lipidových hmot. Rozsáhlá kalcifikace s centrální nekrotickou mezi čísly 11 až 2. Hluboká kalcifikace u čísel 12 až 1. Nekrotická tkáň v „raménku“ plátu (u čísla 7).

Plát v RIA se skládá s fibrózní tkáně (49 %), fibrolipidové tkáně (22 %), kalcifikací (11 %) a nekrotického jádra (18 %), objem plátu byl 174,9 mm³, objem lumen 98,7 mm³, délka plátu byla změřena na 20,9 mm. Jedná se o plát s patrnými lipidovými jádry a objemnou nekrotickou částí, která zasahuje až k lumen. Jde o rizikový plát se známkami, který byl indikován k provedení implantace stentu. Je nutno však zdůraznit, že hlavní indikací koronární intervence byla hemodynamická významnost plátu (MLA 3,8 mm² a pozitivní scintigrafické vyšetření) než informace o složení plátu.

V kmeni byl nalezen objemný aterosklerotický plát s výrazným zastoupením lipidů (43 %), další složky: fibrózní tkáň 42 %, kalcifikace 7 %, nekrotické jádro 9 %. Zastoupení nekrotického jádra je malé, v centrální části plátu jsou objemná lipidová depozita. Zde lze očekávat výrazný přínos z agresivní hypolipidemické terapie (obrázky 3–8).

ZÁVĚR

Virtuální histologie umožňuje výrazné zpřesnění analýzy složení aterosklerotického plátu *in vivo*, včetně hodnocení složení plátu za kalcifikacemi. Lze rovněž zkoumat změny složení aterosklerotického plátu v čase.

Obr. 7 IVUS

Čísla udávají lokalizaci podle hodinového ciferníku. Kmen levé věnčité tepny. Objemný, excentrický, převážně fibrózní plát. Pravděpodobně s drobnými lipidovými jádry u čísel 12 a 7. Povrchová kalcifikace u čísel 12–4 s akustickým stínem.

Obr. 8 Virtuální histologie

Objemný, excentrický, převážně lipidový plát je s malou příměsí fibrózní složky. Okrsky kalcifikací s příměsí nekrotických hmot po vnitřním obvodu plátu.

Virtuální histologie přináší velké množství nových informací. V současné době jsme ve stadiu sběru údajů a nevíme ještě, zda v běžné praxi dojde k ovlivnění strategie léčby nemocných s ischemickou chorobou srdeční. Řada pracovišť je již vybavena virtuální histologií a velmi rychle narůstá počet vyšetřených nemocných. Až s odstupem času bude zřejmé, zda budeme schopni rozeznat nestabilní aterosklerotické

pláty, které svého nositele ohroží vznikem akutního koronárního syndromu, a zda virtuální histologie přinese dostatečné odůvodnění pro ošetření rizikových, ale hemodynamicky nevýznamných lézí.

Další oblastí, kde má virtuální histologie velkou šanci uspět, je sledování vývoje aterosklerotických lézí po nejrozličnějších terapeutických intervencích, zejména během podávání statinů. Virtuální histologie může přinést odpověď na otázku, zda skutečně dochází ke zmenšení množství lipidových hmot v plátu a zvýšení podílu fibrózní složky. Odpověď jistě zajímá všechny kardiology již řadu let. Poprvé tak máme reálnou možnost hodnotit složení aterosklerotických plátů přímo při vyšetřování pacientů a korelovat tyto informace s dalším klinickým vývojem onemocnění.

LITERATURA

1. Moore MP, Spencer T, Salter DM, et al. Characterization of coronary atherosclerotic morphology by spectral analysis of radiofrequency signal: in vitro intravascular ultrasound study with histological and radiological validation. *Heart* 1998;79:459–67.
2. Nair A, Kuban BD, Tuzcu M, et al. Coronary plaque classification with intravascular ultrasound radiofrequency data analysis. *Circulation* 2002;106:2200–6.
3. Schmermund A, Schwartz RS, Adamzik M, et al. Coronary atherosclerosis in unheralded sudden coronary death under age 50: histo-pathologic comparison with “healthy” subjects dying out of hospital. *Atherosclerosis* 2001;155:499–508.
4. Varnava A, Mills PG, Davies MJ. Relationship between coronary artery remodeling and plaque vulnerability. *Circulation* 2002;105:939.
5. Agostini P, Schaar J, Serruys PW. The challenge of vulnerable plaque detection in the cardiac catheterization laboratory. *Kardiovaskulare Medizin* 2004;7:349–58.
6. Kovárník T, Rezníček V, Nováčková K, a spol. Srovnání morfologie aterosklerotických plátů u nemocných se stabilní anginou pectoris a akutním koronárním syndromem při vyšetření intravaskulárním ultrazvukem. *Čas Lék čes* 2003;142:460–4.
7. Kuchulakanti P, Rha SW, Cheneau E, et al. Identification of „vulnerable plaque“ using virtual histology in angiographically benign looking lesion of proximal left anterior descending artery. *Cardiovasc Rad Med* 2003;4:225–7.
8. Kawasaki M, Sano K, Okubo M, et al. Volumetric quantitative analysis of tissue characteristics of coronary plaques after statin therapy using three-dimensional integrated backscatter intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1946–53.

Došlo do redakce 8. 8. 2005

Přijato po úpravách 24. 2. 2006