

CALCIFICAZIONI FOCALI ED EMORRAGIA DI PLACCA: ELEMENTI DI INSTABILITÀ

T. Kodama, E. Agozzino, A. Serio, A. D'Armini, E. Arbustini*

**Centro Malattie Genetiche Cardiovascolari,
Area Trapiantologica e *Cardiochirurgia.
I.R.C.C.S. Fondazione Policlinico San Matteo,
Università degli Studi di Pavia.**

Gli studi patologici condotti sulla placca aterosclerotica coronarica hanno definito il profilo morfologico della placca a rischio di instabilità strutturale e quindi prona a complicanze trombotiche con implicazioni sia sulla crescita della placca che sul grado di ostruzione del lume coronarico e conseguenze cliniche correlate^{1,2}. Il concetto di instabilità è andato progressivamente evolvendo dalla placca instabile al “paziente” instabile, introducendo nello scenario clinico biomarcatori di flogosi e coagulazione³ e cercando una spiegazione all'esistenza di “placche instabili” non complicate da trombosi⁴ o di trombosi coronarica su placche di pazienti deceduti per cause extracardiache⁵. La placca con ampio core ateromasico, cappuccio fibroso sottile (<65 µm) [thin cap fibroatheroma (TCFA)] e flogosi, specie a carico del cappuccio fibroso, costituisce il paradigma della cosiddetta “placca instabile”⁶. In questo tipo di placca è stata osservata la maggior parte di eventi trombotici occlusivi in pazienti deceduti per infarto acuto del miocardio (IMA) e per morte improvvisa coronarica. Il 75% dei pazienti con IMA fatale presenta infatti trombosi coronarica su placca ulcerata con caratteristiche morfologiche “coerenti” con il profilo di placca instabile sopra descritto.

Esiste una minoranza di pazienti con IMA fatale in cui la placca colpevole non ha le caratteristiche della placca instabile ma presenta uno spesso cappuccio fibroso oppure è interamente fibrosa o fibro-calcifica, venendo così a mancare due dei tre elementi chiave della placca instabile ovvero il core ateromasico ed il cap fibroso sottile. Quindi, l'evento trombotico coronarica acuta che nella stragrande maggioranza dei casi è alla base dell'IMA, non necessita obbligatoriamente di un'ulcerazione di placca e dell'esposizione di un core atero-necrotico, ma può semplicemente instaurarsi su una placca disendotelizzata o con endotelio attivato o comunque su una lesione intimale nota come “erosione di placca”⁷.

Nell'ultimo decennio, una crescente attenzione è stata indirizzata all'e-

morragia di placca come contributore importante alla crescita rapida della placca, alla composizione del core ateromasico e alla sua stessa origine nell'ambito della placca stessa.

L'emorragia di placca

Un nuovo ruolo nell'instabilizzazione della placca è oggi assegnato all'emorragia di placca ^{8,9}. Questo "nuovo" ruolo è emerso quando è stato dimostrato che il core necrotico è costituito in parte da materiale ateromasico glicoforina A-positivo. La glicoforina A è una sialoglicoproteina esclusivamente espressa dalle cellule della linea eritrocitaria e quindi dai globuli rossi. Identificare materiale specificamente immunoreattivo con anticorpi anti-glicoforina A significa identificare materiale contenente molecole di derivazione eritrocitaria. Sul piano morfologico i globuli rossi vengono riconosciuti anche senza contributi immunoistochimici sia quando integri che quando frammentati, mentre i prodotti di degradazione delle loro membrane possono essere riconosciuti solo mediante l'uso di specifici anticorpi. Lo studio che ha aperto la via a questa semplice traslazione è stato condotto in pazienti con ipertensione polmonare tromboembolica cronica (CTEPH) sottoposti a tromboendarteriectomia (TEA); in questi pazienti le placche aterosclerotiche polmonari sono del tutto simili a quelle aortiche e di altri vasi arteriosi. L'impiego di anticorpi anti-glicoforina ha inequivocabilmente consentito di dimostrare la presenza di materiale poltaceo-necrotico specificamente immunoreattivo con anticorpi anti-glicoforina nei core ateromasici di queste placche ¹⁰. Questo semplice strumento è risultato così facilmente riproducibile da essere ormai entrato nel routine ambito di ricerca sull'aterosclerosi arteriosa e quindi anche coronarica ¹¹. Emorragie indotte in coronarie di animali da esperimento hanno confermato la presenza di residui di membrane eritrocitarie glicoforina-positivo nel core ateromasico delle placche successivamente sviluppatesi ¹². All'informatività del materiale glicoforina-positivo si aggiunge la semplice identificazione di emosiderina, proteina di deposito del ferro di più difficile metabolizzazione rispetto alla ferritina. Isolatamente o insieme al materiale poltaceo-necrotico glicoforina-positivo, il riscontro di emosiderina documenta la pregressa occorrenza di eventi emorragici di placca. Non è ancora noto se tale materiale sia solo più lentamente metabolizzabile nella placca o se invece persista nel tempo specie in assenza di efficaci "strumenti di metabolizzazione e degradazione" come i macrofagi ed i granulociti.

Su queste basi l'emorragia di placca è entrata nell'elenco delle caratteristiche morfologiche della placca instabile ¹³.

Quindi, i core ateromasici delle placche aterosclerotiche possono contenere quote variabili di materiale proteico di derivazione dalle membrane eritrocitarie. A questo materiale va aggiunta una quota di colesterolo in quanto le membrane dei globuli rossi sono, tra tutte le membrane cellulari, quelle più ricche di colesterolo. Il limite dell'istopatologia convenzionale è che i cristalli di colesterolo comunemente osservati nei core ateromasici non mantengono alcuna immunoreattività utile a definirne l'origine e quindi rimangono componenti di core a possibile origine multifattoriale.

Emorragia di placca ed angioneogenesi

L'origine dell'emorragia di placca è stata la domanda immediatamente successiva: da dove provengono gli stravasi emorragici di placca? Una prima risposta è l'angioneogenesi di placca. La facilità con cui oggi può essere studiata l'angioneogenesi a livello morfo-funzionale (mediante specifici anticorpi che riconoscono anche singole cellule endoteliali progenitrici) in qualsiasi campione tissutale e quindi anche nella placca, ha reso semplice la dimostrazione di vasi neoformati, sia capillari che piccoli vasi dotati di cellule muscolari lisce ma non di lamine elastiche, nelle placche aterosclerotiche sia complicate che non¹⁴. È pressoché costante la presenza di cellule infiammatorie, sia macrofagiche che linfocitarie. L'ipotesi più accreditata sull'origine dell'angioneogenesi di placca, è che questa origini da diramazioni dei vasa vasorum avventiziali con formazione di angioneogenesi sia nel contesto della placca che a livello dell'intima¹⁵⁻¹⁷. L'intima coronarica "normale" non contiene vasi, che invece sono presenti sia a livello avventiziale che del terzo esterno della tonaca media arteriosa. Quindi, se vengono osservati capillari o piccole strutture vascolari a livello di intima e di placca questi devono avere una "neogenesi".

Una seconda possibilità che spiega la presenza di materiale di derivazione emorragica è correlata con il riassorbimento e l'organizzazione di trombi murali che possono contribuire alla formazione o alla crescita della placca e del core ateromasico. Tendenzialmente i piccoli trombi murali, specie piastrinici, vengono incorporati nella placca mediante un processo di proliferazione fibrosa (neointima con fibrosi lassa). Se i trombi murali sono più cospicui e più tipicamente composti da tutte le componenti del trombo, incluse le emazie, l'incorporazione dei trombi nella placca, che comincia con la riendotelizzazione superficiale, include anche i globuli rossi che quindi vanno incontro a processi di degradazione simili a quelli dell'emorragia intraplacca¹⁸.

Qualunque sia la provenienza delle emazie nella placca, i prodotti di degradazione delle membrane eritrocitarie (materiale glicoforina A-positivo) o dell'emoglobina (emosiderina) o del colesterolo delle membrane cellulari (clefs di colesterolo), entrano a far parte del core ateromasico che quindi risulta in parte costituito da residui di materiale o emorragico o trombotico. È logico quindi attendersi che l'estensione o il numero dei fenomeni emorragici o trombotici abbiano un peso "quantitativo". È biologicamente plausibile infatti che la presenza di intensi fenomeni di angioneogenesi di placca siano più verosimilmente capaci di generare ampie emorragie di placca, anche se questo non è facilmente verificabile in patologia umana o sperimentale. Ogni studio patologico, infatti, è unico, non ripetibile e documenta un unico momento della storia naturale della patologia osservata ed indirettamente fornisce le "testimonianze morfologiche" di eventi emorragici e trombotici pregressi.

I vasi neoformati, specie capillari, sembrano essere fragili e proni alla discontinuità strutturale¹⁹. Spesso sono costituiti da singole o poche cellule endoteliali²⁰ non sostenute da cellule murali che ne consolidino la struttura e le rendano resistenti a semplici microtraumi legati alla dinamicità dell'espansione del vaso, o a condizioni anche transitorie di ipercontrazione o a spasmo. Da queste osservazioni è emerso il concetto di "neovasi immaturi" permissivi allo stravasamento emorragico.

Le calcificazioni focali nodulari

Le calcificazioni sono largamente rappresentate nelle placche aterosclerotiche²¹. La presenza di calcificazioni nell'albero vascolare costituisce un marker di rischio cardiovascolare in quanto espressione, nella maggioranza dei casi, di aterosclerosi²². L'ipotesi che le calcificazioni siano di per sé elemento di instabilità strutturale di placca non ha solide basi di evidenza clinico-patologica. In pazienti con trombosi coronarica gli studi patologici hanno documentato calcificazioni sub-microscopiche, microscopiche e macroscopiche, focali e diffuse, a volte anche circonferenziali, superficiali e profonde ma la prevalenza di calcificazioni di placca è così elevata da sollevare l'immediata domanda sulla coincidenza dei reperti più che su un rapporto di causalità con l'evento trombotico acuto. In questo ampio spettro di calcificazioni, il "nodulo calcifico" superficiale è stato riportato essere di per sé causa di trombosi coronarica²³. Presentando una superficie luminale irregolare e convessa, questi noduli possono essere riconosciuti in vivo mediante intravascular ultrasound (IVUS)²⁴. Lo studio IVUS "PROSPECT" (Providing Regional Observations to Study Predictors of Events in the Coronary Tree) tuttavia non ha confermato, in una larga serie di pazienti seguiti con follow-up di 3 anni²⁵, l'ipotesi che questi noduli calcifici siano causa di trombosi coronarica. Nella nostra esperienza non abbiamo osservato trombosi coronariche che potessero essere definite come causate da calcificazioni coronariche nodulari e non, superficiali e non. Questo non significa che la trombosi coronarica non occorra su placche calcifiche ma semplicemente che, data l'elevata prevalenza di calcificazioni nelle placche aterosclerotiche, addirittura maggiore nelle sindromi coronariche croniche rispetto alle acute, la presenza di calcificazioni fa parte del quadro patologico della placca e la loro topografia non è significativamente diversa nelle placche con eventi acuti da quella delle placche libere da eventi²⁶. Un'ipotesi formulata già nel 2006 suggerisce che microcalcificazioni "a livello cellulare" del cap fibroso possano promuovere la rottura del cap stesso²⁷. A tutt'oggi non sussistono conferme per un ruolo diretto di calcificazioni nodulari di placca o di calcificazioni "a livello cellulare" come causa di instabilizzazione di placca e di trombosi coronarica. Questo non toglie il significato importante delle calcificazioni come marcatori di malattia aterosclerotica di utilità clinica negli studi di imaging non invasivo. In Coronary Computed Tomographic Angiography (CCTA) le calcificazioni definite da densità di placca maggiore di 150 Unità Hounsfield (HU) (placche ad elevata densità) non costituiscono un criterio di instabilità che invece viene formulato per placche a densità < di 30 HU. Quindi le calcificazioni, incluse quelle nodulari superficiali, sono un marker di malattia aterosclerotica ma non di instabilità clinica.

L'imaging in vivo: calcificazioni, angiogeneasi ed emorragia di placca

La possibilità di diagnosticare in vivo l'aterosclerosi coronarica con tecniche di imaging non invasive costituisce la nuova frontiera di diagnosi e prevenzione. Le tecniche di imaging anatomico-funzionale non invasive [ecografia 2D, 3D e 4D, CCTA, risonanza magnetica nucleare, Positron emission tomography (PET) e Single-Photon Emission Computed Tomography (SPECT)] ed invasive (angiografia, IVUS, Optic Coherence Tomography) hanno radical-

mente modificato, nel corso degli ultimi decenni, i percorsi diagnostici e terapeutici (PDT) delle malattie cardiovascolari e di tutta la patologia umana. La contrast-enhanced multidetector computed tomography (CMCT) ha ormai raggiunto una rapidità di rotazioni ed un numero di scanners tali da consentire risoluzioni spaziali e temporali che consentono di identificare e caratterizzare le placche aterosclerotiche coronariche, di ottenere ricostruzioni anatomiche 3D ad alta risoluzione e di studiare la composizione delle placche aterosclerotiche (ipodense, dense e calcifiche) grazie ai valori di assorbimento dei raggi X con densità espressa in HU. L'abbattimento delle dosi radianti rispetto ad un passato recente, l'implementazione dei software di ricostruzione tridimensionale e la rapidità di esecuzione degli esami, rendono la CCTA lo strumento non invasivo sempre più preciso e rapido. La CCTA, infatti, consente di identificare tutte le placche aterosclerotiche di dimensioni superiori a 1 mm, calcifiche e non [diametro minimo delle calcificazioni = 0.5mm e fino a 0.35mm con strumenti a 320 strati a doppia sorgente radiogena a due distinte energie fotoniche (80-140Kv) (dual-energy CT)] e fornisce dettagli morfologici sulla composizione della placca stessa, distinguendo le lesioni ad elevato contenuto lipidico-necrotico da quelle fibrose²⁸. Quest'informazione è essenziale per il riconoscimento delle placche a rischio di instabilizzazione acuta e quindi di eventi ischemici acuti²⁹ ovvero placche ad ampio core e cappuccio fibroso sottile (TCFA)^{30,31}. Applicazioni della Dual Energy TC finalizzate alla dimostrazione dello Iodio nel microcircolo possono essere implementate nella valutazione della neoangiogenesi della placca in CCTC. Mancano ancora software specifici che sfruttino la dual energy per CDCT per l'identificazione dell'emosiderina nella placca aterosclerotica, testimone sicura di emorragia di placca o trombosi pregresse.

È comunque già possibile mappare in vivo e monitorizzare in modo non invasivo l'aterosclerosi coronarica. La CCTA consente inoltre di monitorizzare l'andamento delle procedure invasive come coronarografia e rivascolarizzazione con Percutaneous Coronary Intervention (PCI): lo studio multicentrico CONFIRM (15.207 pazienti da 8 centri in 6 paesi) ha dimostrato che la CCTA può essere utilizzata come gatekeeper per le angiografie coronariche³². Dati recenti in 15.223 pazienti senza storia clinica di aterosclerosi coronarica e sottoposti a CCTA documentano un significativo miglioramento della sopravvivenza nei pazienti con placche a rischio identificate con CCTA e quindi trattati con procedure di rivascolarizzazione coronarica³³.

La diagnostica dell'aterosclerosi coronarica si va quindi progressivamente spostando dalle procedure coronarografiche invasive a quelle non invasive lasciando alle prime il ruolo chiave nell'interventistica e assegnando alla CCTA il ruolo di screening e diagnosi precoci-precliniche. In parallelo, si stanno sviluppando nuovi mezzi di contrasto per aumentare la sicurezza e la tolleranza agli stessi in abito di diagnostica con raggi X: un esempio è N-(2,3-dihydroxypropyl)-N'-(2-hydroxyethyl)-5-[N-(2,3-dihydroxypropyl) acetamido]-2, 4, 6-triiodoisophthalamide (Ioxilan), mezzo di contrasto non ionico approvato da FDA per X-ray imaging³⁴.

L'aspetto più innovativo e promettente in ambito cardiovascolare è quello dell'imaging molecolare che si avvale di "mezzi di contrasto" capaci di "raggiungere" bersagli specifici o molecole espresse in pathways malattia-specifici. PET, SPECT e RMN consentono le applicazioni più avanzate dell'imaging

molecolare ma sono ancora limitate a poche nicchie cliniche e presentano limiti quali: risoluzione spaziale limitata e agenti radioattivi per SPECT e PET, minor sensibilità di PET e SPECT, tempi di esecuzione maggiori, composti paramagnetici o superparamagnetici e limitazioni legate al paziente come claustrofobia e devices impiantabili per la risonanza magnetica. La CCTC si avvale di nuovi marcatori in fase di sviluppo con liposomi marcati³⁵, nanoparticelle marcate che vengono catturate specificamente dai macrofagi di placca³⁶, anticorpi anti-VEGF o anti-complesso integrinico $\alpha v \beta 3$ tipicamente espressi nell'angiogeneasi. Questi anticorpi opportunamente legati a molecole angiogeneetiche, possono essere anche vettori terapeutici contro l'angiogeneasi di placca³⁷ così come nelle neoplasie e nelle metastasi³⁸.

Considerazioni sui contributi innovativi della ricerca

La svolta chiave della diagnostica in vivo è ormai alle porte con l'implementazione dell'imaging molecolare. Lo sviluppo sarà tanto maggiore quanto più informativi saranno gli studi morfo-funzionali sui fattori, marcatori e molecole specificamente espresse nella placca instabile. Se contrastare l'angiogeneasi servirà a ridurre il burden del core di placca abbattendo il rischio di emorragia di placca, allora sono vicine anche nuove strategie terapeutiche (teranostica)³⁹. Ogni singolo contributo patologico significativo che possa trovare anticorpi/molecole marcabili per imaging potrà a sua volta trovare sviluppo e conferma in vivo. Il prossimo decennio vedrà inevitabilmente emergere una nuova caratterizzazione della placca instabile in vivo che potrà combaciare o meno con quella generata sulla base degli studi patologici. La differenza sostanziale sarà che gli studi in vivo non invasivi sono ripetibili ed introdurranno un concetto dinamico di placca instabile che a tutt'oggi non è stato esplorato.

BIBLIOGRAFIA

- 1) *Schaar JA, Muller JE, Falk E, Virmani R, Fuster V, Serruys PW, Colombo A, Stefanadis C, Ward Casscells S, Moreno PR, Maseri A, van der Steen AF.* Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. Report of a meeting on the vulnerable plaque, June 17 and 18, 2003, Santorini, Greece. *Eur Heart J* 2004; 25:1077-82
- 2) *Mann JM, Davies MJ.* Vulnerable plaque. Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation* 1996; 94:928-31
- 3) *Ambrose JA, Srikanth S.* Vulnerable Plaques and Patients: Improving Prediction of Future Coronary Events. *Am J Med* 2010; 123:10-16
- 4) *Arbustini E, Grasso M, Diegoli M, Pucci A, Bramerio M, Ardissino D, Angoli L, De Servi S, Bramucci E, Mussini A, Minzioni G, Viganò M, Specchia G.* Coronary atherosclerotic plaques with and without thrombus in ischemic heart syndromes. A morphologic, immunohistochemical and biochemical study. *Am J Cardiol* 1991; 68:36B-50B
- 5) *Arbustini E, Grasso M, Diegoli M, Morbini P, Aguzzi A, Fasani R, Specchia G.* Coronary thrombosis in non-cardiac death. *Coronary Artery Disease* 1993; 4:751-759

- 6) *Cheruvu PK, Finn AV, Gardner C, Caplan J, Goldstein J, Stone GW, Virmani R, Muller JE.* Frequency and distribution of thin-cap fibroatheroma and ruptured plaques in human coronary arteries: a pathologic study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 940-9
- 7) *Arbustini E, Dal Bello B, Morbini P, Burke AP, Bocciarelli M, Specchia G, Virmani R.* Plaque erosion is a major substrate for coronary thrombosis in acute myocardial infarction. *Heart* 1999; 82:269-72
- 8) *Michel JB, Virmani R, Arbustini E, Pasterkamp G.* Intraplaque haemorrhages as the trigger of plaque vulnerability. *Eur Heart J* 2011; 32:1977-85
- 9) *Kodama T, Narula N, Agozzino M, Arbustini E.* Pathology of plaque haemorrhage and neovascularization of coronary artery. *J Cardiovasc Med* 2012; 13: 620-7
- 10) *Arbustini E, Morbini P, D'Armini AM, Repetto A, Minzioni G, Piovella F, Viganó M, Tavazzi L.* Plaque composition in plexogenic and thromboembolic pulmonary hypertension: the critical role of thrombotic material in pultaceous core formation. *Heart* 2002; 88:177-182
- 11) *Pasterkamp G, Virmani R.* The erythrocyte: an unrecognized new player in atheromatous core formation? *Heart* 2002; 88:177-82
- 12) *Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, Farb A, Guerrero LJ, Hayase M, Kutys R, Narula J, Finn AV, Virmani R.* Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med* 2003; 349:2316-25
- 13) *Narula J, Finn AV, Demaria AN.* Picking plaques that pop. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:1970-73
- 14) *McCarthy MJ, Loftus IM, Thompson MM, et al.* Angiogenesis and the atherosclerotic carotid plaque: an association between symptomatology and plaque morphology. *J Vasc Surg* 1999; 30:261-268
- 15) *Jeziorska M, Woolley DE.* Local neovascularization and cellular composition within vulnerable regions of atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *J Pathol* 1999; 188:189-196
- 16) *Barger AC, Beeuwkes R, 3rd, Lainey LL, Silverman KJ.* Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1984; 310:175-7
- 17) *Kumamoto M, Nakashima Y, Sueishi K.* Intimal neovascularization in human coronary atherosclerosis: its origin and pathophysiological significance. *Hum Pathol* 1995; 26:450-6
- 18) *Arbustini E, De Servi S, Bramucci E, Porcu E, Costante AM, Grasso M, Diegoli M, Fasani R, Morbini P, Angoli L, Boscarini M, Repetto S, Danzi G, Niccoli L, Campolo L, Lucreziotti S, Specchia G.* Comparison of coronary lesions obtained by directional coronary atherectomy in unstable angina, stable angina, and restenosis after either atherectomy or angioplasty. *Am J Cardiol* 1995; 75:675-82
- 19) *Zhang Y, Cliff WJ, Schoefl GI, Higgins G.* Immunohistochemical study of intimal microvessels in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol* 1993; 143:164-72
- 20) *Sluimer JC, Kolodgie FD, Bijnens AP, Maxfield K, Pacheco E, Kutys B, Duimel H, Frederik PM, van Hinsbergh VW, Virmani R, Daemen MJ.* Thin-walled microvessels in human coronary atherosclerotic plaques show incomplete endothelial junctions relevance of compromised structural integrity for intraplaque microvascular leakage. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53:1517-27
- 21) *Schuijff JD, Beck T, Burgstahler C, Jukema JW, Dirksen MS, de Roos A, van der Wall EE, Schroeder S, Wijns W, Bax JJ.* Differences in plaque composition and distribution in stable coronary artery disease versus acute coronary syndromes; non-invasive evaluation with multi-slice computed tomography. *Acute Card Care* 2007; 9:48-53
- 22) *Rennenberg RJ, Kessels AG, Schurgers LJ, van Engelshoven JM, de Leeuw PW, Kroon AA.* Vascular calcifications as a marker of increased cardiovascular risk: a meta-analysis. *Vasc Health Risk Manag* 2009; 5:185-97

- 23) *Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM.* Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1262-75
- 24) *Lee JB, Mintz GS, Lissauskas JB, Biro SG, Pu J, Sum ST, Madden SP, Burke AP, Goldstein J, Stone GW, Virmani R, Muller JE, Maehara A.* Histopathologic validation of the intravascular ultrasound diagnosis of calcified coronary artery nodules. *Am J Cardiol* 2011; 108:1547-51
- 25) *Xu Y, Mintz GS, Tam A, McPherson JA, Iniguez A, Fajadet J, Fahy M, Weisz G, De Bruyne B, Serruys PW, Stone GW, Maehara A.* Prevalence, Distribution, Predictors, and Outcomes of Patients with Calcified Nodules in Native Coronary Arteries: A Three-Vessel Intravascular Ultrasound Analysis from PROSPECT. *Circulation* 2012; 126(5):537-45
- 26) *Pfleiderer T, Marwan M, Schepis T, Ropers D, Seltmann M, Muschiol G, Daniel WG, Achenbach S.* Characterization of culprit lesions in acute coronary syndromes using coronary dual-source CT angiography. *Atherosclerosis* 2010; 211:437-44
- 27) *Vengrenyuk Y, Carlier S, Xanthos S, Cardoso L, Ganatos P, Virmani R, Einav S, Gilchrist L, Weinbaum S.* A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:14678-83
- 28) *Schroeder S, Kopp AF, Baumbach A, Meisner C, Kuettner A, Georg C, Ohnesorge B, Herdeg C, Claussen CD, Karsch KR.* Noninvasive detection and evaluation of atherosclerotic coronary plaques with multislice computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37:1430-5
- 29) *Motoyama S, Sarai M, Harigaya H, Anno H, Inoue K, Hara T, Naruse H, Ishii J, Hishida H, Wong ND, Virmani R, Kondo T, Ozaki Y, Narula J.* Computed tomographic angiography characteristics of atherosclerotic plaques subsequently resulting in acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:49-57
- 30) *Enrico B, Suranyi P, Thilo C, Bonomo L, Costello P, Schoepf UJ.* Coronary artery plaque formation at coronary CT angiography: morphological analysis and relationship to hemodynamics. *Eur Radiol* 2009; 19:837-44
- 31) *Kashiwagi M, Tanaka A, Kitabata H, Tsujioka H, Kataiwa H, Komukai K, Tanimoto T, Takemoto K, Takarada S, Kubo T, Hirata K, Nakamura N, Mizukoshi M, Imanishi T, Akasaka T.* Feasibility of noninvasive assessment of thin-cap fibroatheroma by multidetector computed tomography. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; 2:1412-9
- 32) *Shaw LJ, Hausleiter J, Achenbach S, Al-Mallah M, Berman DS, Budoff MJ, Cademartiri F, Callister TQ, Chang HJ, Kim YJ, Cheng VY, Chow BJ, Cury RC, Delago AJ, Dunning AL, Feuchtner GM, Hadamitzky M, Karlsberg RP, Kaufmann PA, Leipsic J, Lin FY, Chinnaiyan KM, Maffei E, Raff GL, Villines TC, Labounty T, Gomez MJ, Min JK; CONFIRM Registry Investigators.* Coronary Computed Tomographic Angiography as a Gatekeeper to Invasive Diagnostic and Surgical Procedures: Results From the Multicenter CONFIRM (Coronary CT Angiography Evaluation for Clinical Outcomes: An International Multicenter) Registry. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60:2103-14
- 33) *Min JK, Berman DS, Dunning A, Achenbach S, Al-Mallah M, Budoff MJ, Cademartiri F, Callister TQ, Chang HJ, Cheng V, Chinnaiyan K, Chow BJ, Cury R, Delago A, Feuchtner G, Hadamitzky M, Hausleiter J, Kaufmann P, Karlsberg RP, Kim YJ, Leipsic J, Lin FY, Maffei E, Plank F, Raff G, Villines T, Labounty TM, Shaw LJ.* All-cause mortality benefit of coronary revascularization vs. medical therapy in patients without known coronary artery disease undergoing coronary computed tomographic angiography: results from CONFIRM (CORonary CT Angiography Evaluation For Clinical Outcomes: An International Multicenter Registry). *Eur Heart J* 2012; 33:3088-97
- 34) *The MICAD Research Team.* Molecular Imaging and Contrast Agent Database

- (MICAD) [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004-2012
- 35) *Danila D, Partha R, Elrod DB, Lackey M, Casscells SW, Conyers JL*. Antibody-labeled liposomes for CT imaging of atherosclerotic plaques: in vitro investigation of an anti-ICAM antibody-labeled liposome containing iohexol for molecular imaging of atherosclerotic plaques via computed tomography. *Tex Heart Inst J* 2009; 36:393-40
 - 36) *Hyafil F, Cornily JC, Feig JE, Gordon R, Vucic E, Amirbekian V, Fisher EA, Fuster V, Feldman LJ, Fayad ZA*. Noninvasive detection of macrophages using a nanoparticulate contrast agent for computed tomography. *Nature Med* 2007; 13:636-641
 - 37) *Winter PM, Caruthers SD, Zhang H, Williams TA, Wickline SA, Lanza GM*. Antiangiogenic synergism of integrin-targeted fumagillin nanoparticles and atorvastatin in atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2008; 1:624-634
 - 38) *Zhang H*. Multifunctional nanomedicine platforms for cancer therapy. *J Nanosci Nanotechnol* 2012; 12:4012-8
 - 39) *Arbustini E, Gambarin FI*. Theranostic strategy against plaque angiogenesis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2008; 1:635-637