

Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
w Krakowie

PAWEŁ ZYMEK

**BRACHYTERAPIA W ZAPOBIEGANIU
RESTENOZIE PO DOŚWIADCZALNYM ZABIEGU
PLASTYKI TĘTNICY WIEŃCOWEJ**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor pracy:

Prof. dr hab. med. Jacek S. Dubiel

II Klinika Kardiologii

Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

Kraków 2004

Rodzicom i bratu z wdzięcznością poświęcam.

PODZIĘKOWANIA

Mojemu promotorowi prof. dr hab. med. Jackowi Dubielowi składam serdeczne podziękowania za pomoc w realizowaniu programu studiów doktoranckich, za stałe wsparcie i prawdziwie transoceaniczną współpracę.

Pragnę również wyrazić wdzięczność profesorowi Albertowi Raizner z Baylor College of Medicine za umożliwienie przeprowadzenia badań do rozprawy doktorskiej oraz cenne wskazówki merytoryczne.

I am delighted to thank Dr. Albert E. Raizner from Baylor College of Medicine for giving me the opportunity to work under his supervision and conduct the study for my Ph.D. thesis.

I.	WYJAŚNIENIE STOSOWANYCH SKRÓTÓW	5
II.	WSTĘP	6
	Zabiegi PTCA	6
	Patofizjologia restenozы	7
	Brachyterapia	8
	Obliczanie rozkładu i mocy dawek	9
	Badania eksperymentalne w brachyterapii	10
	Kliniczne wyniki w stosowaniu brachyterapii	11
III.	CEL	15
IV.	METODYKA	16
	Grupy badane	16
	Zabiegi	16
	IVUS	17
	Brachyterapia	17
	Eutanazja	18
	Analiza histologiczna i morfometria	18
	Definicja bezpieczeństwa	20
	Statystyka	20
V.	WYNIKI	21
	Toxicity	21
	Balonowa angioplastyka	27
	Stenty	34
VI.	OMÓWIENIE WYNIKÓW	40
VII.	WNIOSKI	46
VIII.	STRESZCZENIE	47
IX.	STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM	50
X.	PIŚMIENNICTWO	52
XI.	WYKAZ RYCIN I TABEL	62

I. WYJAŚNIENIE STOSOWANYCH SKRÓTÓW

Au - złoto

Cx – *circumflex artery* - tętnica okalająca

Cu - miedź

EEL – *external elastic lumina*

Ga - gall

Gy - grej

Ho - holmium

IEL – *internal elastic lumina*

Ir - iryd

IVUS – *intravascular ultrasonography* - ultrasonografia wewnątrznaczyniowa

LA – *lumen area* - pole powierzchni światła naczynia

LAD – *left anterior artery* - lewa tętnica zstępująca

MACE – *major adverse coronary effect* - duże incydenty wieńcowe

P - fosfor

PTCA – *percutaneous coronary angioplasty* - przezskórna angioplastyka wieńcowa

RCA – *right coronary artery* - prawa tętnica wieńcowa

Re – ren

SEM - *standard error of the mean*

Sr - stront

Xe - ksenon

Y - itr

II. WSTĘP

Zabiegi PTCA

Choroba niedokrwienna serca stanowi główną przyczynę śmierci w naszym kraju. Uważa się, że powoduje ona około 40% zgonów mężczyzn w średnim wieku i stanowi drugą z najczęstszych przyczyn przedwczesnej śmierci u kobiet po nowotworach złośliwych.

Chorobę wieńcową można leczyć poprzez eliminowanie czynników ryzyka, poprawienie higieny warunków życia oraz farmakologicznie i interwencyjnie (angioplastyka wieńcowa lub pomostowania aortalno-wieńcowe).

Przełskórna angioplastyka wieńcowa jest uznaną metodą w leczeniu choroby wieńcowej. Badanie ARTS wykazało, iż jest równie skuteczna w zmniejszaniu śmiertelności jak pomostowania aortalno-wieńcowe (48).

Angioplastyka wieńcowa jest zabiegiem polegającym na poszerzeniu zwężonego naczynia lub udrożnieniu zupełnie zamkniętej tętnicy wieńcowej. Do przeprowadzenia tego zabiegu konieczne jest wykonanie małego nakłucia tętnicy udowej (rzadziej korzysta się z tętnic promieniowej lub ramiennej). Przez to wkłucie umieszcza się w ujściu tętnicy wieńcowej grubszy cewnik, zwany cewnikiem prowadzącym, a następnie po wytyczonym przez niego torze właściwy cewnik z balonikiem. Balon rozpręża się w obrębie zwężonego odcinka wypełniając go mieszaniną soli fizjologicznej i kontrastu pod ciśnieniem do 20 atmosfer. Alternatywą dla angioplastyki balonowej jest implantowanie stentu. Stent jest protezą metalową, która jest dostarczana do naczynia i rozprężana za pomocą balonu. Technika ta jest obecnie stosowana w około 70% zabiegów i znacznie zmniejszyła ilość ostrych powikłań angioplastyki (5;18).

Jednym z głównych efektów ubocznych przełskórnej angioplastyki wieńcowej jest nawrót zwężenia (restenoza) poszerzanej zmiany w okresie do 6 miesięcy od zabiegu.

Patofizjologia restenozy

Rewaskularyzacja mięśnia sercowego za pomocą angioplastyki wieńcowej powoduje uszkodzenie ściany naczyń wieńcowych. Uszkodzenie jest nieuniknionym następstwem, który wynika z poszerzania ciasnych zwężeń celem osiągnięcia większego kalibru światła naczynia. Wynikiem tych uszkodzeń jest niepożądany efekt w postaci restenozy.

Czynniki ryzyka restenozy zależą od metody zabiegu (angioplastyka balonowa lub stentowanie), lokalizacji zmiany (w lewej tętnicy zstępującej częściej dochodzi do restenozy), obecności cukrzycy, rezydualnego zwężenia, kalibru naczynia, długości zmiany i liczby implantowanych stentów.

Restenoza po zabiegach angioplastyki jest efektem proliferacji neointimy, a w przypadku angioplastyki balonowej, dodatkowo negatywnej przebudowy ściany naczyniowej (ang. negative remodeling).

Ten skomplikowany proces, najlepiej zbadany na modelu świńskim, składa się z paru etapów.

Etap 1: tworzenie zakrzepu. Uszkodzenie naczynia powoduje aktywację, adhezję, agregację i depozycję płytek krwi. W przeciągu 24 godzin zakrzep stabilizuje się poprzez uruchomienie kaskady krzepnięcia i depozycję fibryny oraz erytrocytów.

Etap 2: rekrutacja komórek zapalnych. Powstały zakrzep zostaje pokryty warstwą endotelium. Następnie dochodzi do kumulacji monocytów, które przekształcają się w makrofagi, jak również limfocytów. Komórki te migrują do zakrzepu z krwi poprzez endotelium.

Etap 3: proliferacja komórek mięśniówki gładkiej. Myofibroblasty migrują z medii i adwentycji oraz proliferują w obrębie uszkodzonego naczynia. Stopniowo dochodzi do reabsorpcji zakrzepu, który zostaje zastąpiony myofibroblastami i kolagenem. Na tym poziomie proces jest kompletny i u świń zajmuje on 20-40 dni (33;35).

Negatywny remodeling jest wynikiem pogrubienia adwentycji, w skutek czego dochodzi do obkurczenia naczynia. Stenty zapobiegają przed tym efektem, natomiast powodują wzmożoną proliferację neointimy.

Jedną z metod terapeutycznych pozwalającą na zmniejszenie proliferacji neointymy jest brachyterapia wewnątrznaczyniowa.

Brachyterapia

Brachyterapia jest techniką radioterapii, która jest realizowana za pomocą izotopowych źródeł radioaktywnych umieszczonych w bezpośrednim sąsiedztwie napromieniowanych tkanek lub wewnątrz tych tkanek. Przedrostek „brachy”, pochodzący z greki, oznacza „z bliska”. Opracowanie techniki z tzw. następowym ładowaniem źródeł, określane angielskim terminem afterloading, spowodował gwałtowny rozwój brachyterapii. Technika ta polega na umieszczeniu w jamach ciała aplikatorów za pomocą przewodnic. Technika afterloading, w połączeniu z udostępnieniem źródeł o wysokiej aktywności, pozwoliła na rozszerzenie zastosowań tej metody, między innymi do brachyterapii śródnaczyniowej, której celem jest zapobieganie restenozie naczyń krwionośnych po angioplastyce.

Obecnie w brachyterapii śródnaczyniowej stosuje się kilka typów źródeł promieniotwórczych. Zarówno emitery gamma (Ir^{192}) jak i beta (P^{32} , Y^{90} , Sr^{90}) stosowane są w aparatach z następowym ładowaniem.

Źródła mają formę drutów o długości około 20 cm i średnicy rzędu 0.3-0.4 mm.

Podejmowane były również próby zastosowania roztworów izotopów promieniotwórczych (P^{32} , Re^{186}), którymi wypełnione były balony podobne do stosowanych w angioplastykach. (16;67) Jeszcze inną metodą jest użycie stentów pokrytych materiałem radioaktywnym (P^{32}). (1;62) Jednak obie metody nie znalazły szerokiego zastosowania klinicznego, ze względu na znaczne efekty uboczne w postaci zwężeń na granicy napromieniowanej strefy (ang. edge effect). (1;16;62;67)

Zasięg obszaru napromieniowania oraz wielkość naczyń wyliczana jest na podstawie badań angiograficznych lub ultrasonografii wewnątrznaczyniowej. Promieniowanie beta charakteryzuje się większym gradientem mocy dawki niż promieniowania gamma. Dlatego źródło powinno być umieszczone centrycznie wewnątrz naczynia. Do tego celu stosuje się specjalne balony centrujące, zawierające w sobie centralnie umieszczony kateter, do którego wprowadzane jest źródło. Stosowanie spiralnych balonów

centrujących pozwala na przepływ krwi przez naczynie w czasie procedury, której czas na ogół nie przekracza 5 minut.

Większość dostępnych źródeł promieniowania beta (P^{32} , Y^{32}) ma krótki okres rozpadu i wymagana jest ich częsta wymiana. Zastosowanie emiterów o większej mocy dawki pozwoliłoby na wydłużenie ich przydatności klinicznej.

Napromieniowanie emiterami gamma nie wymaga balonu centrującego, jednak czas procedury jest znacznie dłuższy i wynosi średnio około 20 minut. Promieniowanie gamma wymaga również specjalnego dostosowania pomieszczeń oraz naraża personel na ekspozycje. Metoda ta wymaga opuszczenia pomieszczenia przez personel i pozostawia pacjenta bez bezpośredniego nadzoru medycznego przez okres terapii.

Obliczanie rozkładu i mocy dawek

Sposób obliczania dawki zależy od wielkości i rodzaju źródła. W praktyce klinicznej potrzebna jest znajomość wielkości dawki otrzymanej przez tkanki pacjenta. Dawka pochłonięta w powietrzu wyrażona jest wzorem:

$$D_p = A \cdot \Gamma \cdot \frac{t}{r^2}$$

gdzie A – aktywność źródła, Γ - stała ekspozycyjna, t – czas napromieniowania, r - odległość źródła od punktu

Dla potrzeb planowania leczenia przyjmuje się, że tkanki ludzkie równoważne są wodzie. W praktyce klinicznej w przypadku promieniowania beta stosuje się dawki około 20 Gy dostarczone 1 mm w głąb ściany naczynia.

Moc dawki pochłoniętej D jest to przyrost dawki pochłoniętej dD w czasie dt i wyraża się wzorem:

$$\hat{D} = \frac{dD}{dt}$$

Jednostką układu SI mocy dawki pochłoniętej jest grej na sekundę [Gy/s]. W brachyterapii śródnaczyniowej stosuje się wysokie mocy dawki, czyli ponad 12 Gy/godz.

Badania eksperymentalne w brachyterapii

Już w 1964 roku Friedman et al. zaraportował zmniejszenie proliferacji neointimy w aorcie królików z hypercholesterolemią poddanych gamma promieniowaniu (10). W latach 1990 gwałtowny rozwój przezskórnej angioplastyki wieńcowej zwrócił uwagę na problem restenozy.

Pierwsze próby ze stosowania brachyterapii celem zmniejszenia proliferacji neointimy po angioplastykach były wykonane za pomocą zewnętrznego źródła promieniowania. Pomimo teoretycznych przesłanek, które dawały nadzieje na redukcje restenozy, metoda ta nie okazała się skuteczna ze względu na wzmożoną proliferację neointimy i znaczne zwłóknienia w obrębie myokardium i edwentycji (11;14).

Ośrodki Columbia University, Emory University i Baylor College of Medicine podjęły próby ze stosowaniem źródła wewnątrznaczyniowego używając promieniowania gamma (Ir^{132}) (24;58;59;66). Prace te wykazały, iż brachyterapia znacznie zredukowała proliferację neointimy w odpowiedzi na uszkodzenie naczynia. Wiedermann et al. zaraportował, iż dawka 20 Gy zmniejszyła procent zwężenia naczynia o 63% (66). Waksman et al. wykazał, że redukcja proliferacji neointimy była zależna od stosowanej dawki (58;59). Prace Mazura et al., stosując ten sam izotop, wykazały 50-80% redukcję zwężenia naczynia i zależność od dostarczonej dawki (24).

Eksperymenty na zwierzętach pomogły ustalić prawidłową dawkę promieniowania w hamowaniu restenozy. Dwie prace raportowały, iż niskie dawki promieniowania raczej stymulują, niż hamują proliferację neointimy (24;63). Dodatkowo prace Mazura et al. zwróciły uwagę na niepożądane efekty promieniowania w postaci wzmożonego zwłóknienia adwentycji i zakrzepicy wewnątrznaczyniowej (24).

Pierwsze eksperymenty z zastosowaniem promieniowania beta pokazały zbliżone efekty do poprzednich prac wykorzystujących promieniowanie gamma. Waksman et al. wykazał, iż skuteczność brachyterapii była zależna od dawki w zakresie 7-56 Gy (60). Ali et al. wskazał na skuteczność dawek w przedziale 14 do 36 Gy dostarczoną 1 mm w

głęb ściany naczynia (2). Dodatkowo jego badania wykazały skuteczność promieniowania beta w hamowaniu restenozy w stentowanych naczyniach (4).

Równocześnie prowadzone były prace, które miały na celu sprawdzenie efektywności różnych źródeł promieniowania dostarczone do naczyń za pomocą balonów w postaci ciekłych izotopów: Re¹⁸⁸ (64), Ho¹⁶⁶ (19), Ga⁶⁸ (42), Re¹⁸⁶ (31) and Cu⁶² (7). Do innych testowanych metod należały balony wypełnione radioaktywnymi gazami (133^{Xe}) (56) lub stenty pokryte radioaktywnym materiałem (P³², Y⁹⁰, Au¹⁹⁸) (6;15;45). Jednak techniki te nie były tak skuteczne i obarczone były dużymi powikłaniami w postaci edge effect i późnej zakrzepicy.

Dotychczas nie raportowano badania wskazującego na efektywność stosowania różnych mocy dawek.

Kliniczne wyniki w stosowaniu brachyterapii

W randomizowanych klinicznych badaniach brachyterapia wykazała dużą efektywność w hamowaniu restenozy po zabiegach angioplastyki, zarówno z użyciem balonów jak i stentów wewnątrznacyniowych.

Pierwsze badanie wykazujące skuteczność i bezpieczeństwo brachyterapii z źródłem promieniowania gamma było Scripps Coronary Radiation to Inhibit Proliferation Post Stenting trial (SCRIPPS) (46). Po okresie 6-miesięcznym koronarografia wykazała restenozę u 17% pacjentów w grupie poddanej napromienianiu vs. 54% w placebo. Po 3 latach wyniki te nie uległy zmianie (47).

Washington Radiation for In-Stent Restenosis Trial (WRIST) było grupą badań sprawdzającą skuteczność promieniowania gamma w zmianach wtórnych (ang. in-stent restenosis).

Badanie WRIST wykazało restenozę po 6 miesiącach 19% w grupie poddanej brachyterapii vs. 58% w kontroli. Po okresie jednego roku była 48% redukcja MACE w porównaniu do placebo (61).

LONG WRIST zaprojektowane dla długich zmian (36-80 mm) wykazało restenoze 32% w grupie poddanej brachyterapii, w kontroli wynosiła ona 71%. Jednak częstość późnej

zakrzepicy i okluzji naczyń była wyższa w grupie napromieniowanej (15% vs. 6.7%) (52).

LONG WRIST high dose było rejestrem 60 pacjentów, w którym kryteria były podobne do LONG WRIST. Jednak zamiast 15 Gy stosowano wyższą dawkę 18 Gy dostarczoną 2 mm od źródła promieniowania. Badanie ultrasonograficzne wykazało większą powierzchnię światła naczyń w grupie z dużą dawką (4.0 vs. 2.9 mm²).

PLAVIX WRIST było rejestrem, w którym kłopidogrel stosowano przez 6 miesięcy, a nie jak rutynowo jeden miesiąc. Częstość zakrzepicy została znacznie zredukowana i była porównywalna z grupą kontrolną (54).

Badanie GAMMA-1 było wieloośrodkowym badaniem w in-stent restenozie, w którym dawkę wyliczano na podstawie badania ultrasonograficznego. Po 6 miesiącach częstość restenozy w stencie była znacznie zredukowana (21.6% vs. 52%) (23). GAMMA-2 było rejestrem, który miało identyczne kryteria jak GAMMA-1. Stosowało jednak stałą dawkę 14 Gy dostarczoną 2 mm od źródła promieniowania. Wyniki były bardzo zbliżone do badania GAMMA-1 (64).

Pierwsze badanie z użyciem centralnie umieszczonego źródła Y⁹⁰ w pierwotnych (de novo) zmianach wykazało, iż promieniowanie beta jest bezpieczne, jednak restenozą wynosiła 40%. Jak pokazały kolejne badania, niska efektywność spowodowana była prawdopodobnie zastosowaniem zbyt niskich dawek (50).

The Beta Energy for Restenosis Trial (BERT) z użyciem niecentrycznego źródła Sr-90/Y w pierwotnych zmianach po angioplastykach balonowych zostało przeprowadzone na 86 pacjentach. Potwierdziło ono, iż metoda jest bezpieczna i wykazała skuteczność w hamowaniu restenozy (17%) (20).

The Beta Washington Radiation for In-Stent restenosis Trial (Beta-WRIST) zostało przeprowadzone z użyciem systemu Schneidera (Y⁹⁰) na pięćdziesięciu pacjentach z in-stent restenozą. Restenozą w obrębie napromieniowania (ang. target site restenosis) została zredukowana o 67% w porównaniu do placebo. Rewaskularyzacja w leczonym naczyniu (ang. target vessel revascularisation) była wykonana u 34% pacjentów poddanych brachyterapii (55).

Randomizowane badanie z użyciem systemu Guidant, the Proliferation Reduction with Vascular ENergy Trial (PREVENT), zostało przeprowadzone na 105 pacjentach zarówno w zmianach de-novo i wtórnych. Pacjenci byli randomizowani do trzech różnych dawek (16, 20 lub 24 Gy) lub placebo. Restenoza w obrębie zmiany była niższa o 79% w porównaniu do placebo, a w obrębie naczynia o 56%. Było to jedno z pierwszych badań, które zwróciło uwagę na późną zakrzepicę po brachyterapii, jak również problem edge effect.

The Stent And Restenosis Trial (START) ze źródłem Sr^{90}/Y potwierdziło skuteczność brachyterapii, jednak wciąż był raportowany wysoki procent edge effect, głównie na skutek tzw. geographic miss (nieprawidłowe umieszczenie źródła promieniowania w poszerzonym naczyniu) (29).

Prawie równocześnie przeprowadzono badanie w Europie (the Beta Radiation In Europe trial), używające tego samego systemu co START, jako pierwsze zezwalało na napromieniowanie więcej niż jednego naczynia. Pomimo niskiej restenozы (9.9%) w obrębie zmiany, wykazało wysoki procent edge effect i późnej zakrzepicy, które zostało zredukowane w czasie trwania badania poprzez optymalizację terapii przeciwzakrzepowej i unikanie geographic miss (36).

Kolejne duże badanie z restenozą w obrębie stentu, Intimal Hyperplasia Inhibition with Beta In-stent Trial (INHIBIT) z systemem Guidant wykazało znaczną redukcję restenozы (26%) oraz niską zakrzepicę (1.8%), która była porównywalna z grupą kontrolną (0.6%) (57).

Badanie START 40/20 zostało zaprojektowane z użyciem dłuższego źródła promieniowania. Miało ono na celu wyjaśnienie, czy stosowanie większych marginesów napromieniowanej strefy wyeliminuje problem edge effect. Wbrew oczekiwaniom nie wykazało ono żadnych dodatkowych korzyści ze stosowania dłuższego źródła. (32) Wyniki te nie są jasne, gdyż badanie INHIBIT, które stosowało krótsze źródło do identycznych zmian, raportowało niższy edge effect niż START 40/20.

Pomimo iż brachyterapia jest skuteczną terapią w redukowaniu restenozы po angioplastykach, dotychczasowe badania wskazują na incydenty zwężenia na granicy napromieniowanej strefy. Niskie dawki promieniowania stymulują proliferację neointymy w strefie uszkodzenia i prawidłowe umieszczenie źródła promieniowania znacznie

redukuje to zjawisko (36). Jednakże w pewnej grupie pacjentów, mikrouszkodzenia które powstają podczas poszerzania naczynia, mogą wykraczać poza jego granice i są niemożliwe do oceny przez lekarza (68)

III. CEL

Celem pracy doktorskiej jest:

- a) określenie wpływu mocy dawki w brachyterapii śródnaczyniowej z użyciem P^{32} na proliferację neointymy po zabiegach PTCA;
- b) analiza efektu mocy dawki na przebudowę ściany naczyniowej;
- c) ocena bezpieczeństwa różnych mocy dawek, ze szczególnym uwzględnieniem obecności zakrzepów naczyniowych i uszkodzenia naczyń.

IV. METODYKA

Grupy badane

Do badania użyto 60 zwierząt, z których analizie poddano 117 tętnic wieńcowych. Naczynia były losowo dobierane do jednej z trzech grup: balonowej angioplastyki, stentowaniu lub braku uszkodzenia. W każdej grupie tętnice były randomizowane do brachyterapii lub placebo. (Tab. 1-3)

Zabiegi

Wszystkie procedury wykonane na zwierzętach, opieka przed i pooperacyjna zostały wykonane zgodnie z wytycznymi National Institute of Health's *Guidelines for Care and Use of Laboratory Animals*. Protokół badania został zatwierdzony przez Animal Protocol Review Committee of Baylor College of Medicine.

Do eksperymentu zostały użyte mini-świnie Yucatan (waga \approx 25 do 30 kg) obu płci, w wieku 3 miesięcy. Ticlopidina 500 mg i aspiryna 325 mg były podawane 3 dni przed zabiegiem i kontynuowane do czasu eutanazji.

Świnie były intubowane po premedykacji pentobarbitem (200 mg i.m.) i podłączone do respiratora. Anestezja podczas zabiegu była podtrzymywana 2% halotanem.

W sterylnych warunkach wypreparowana została prawa tętnica szyjna. Do proksymalnego odcinka tętnicy założona została koszulka 7F, dystalny odcinek tętnicy był podwiązany. Następnie wprowadzono cewnik diagnostyczny 6F. Po wykonaniu koronarografii, poprzez prowadnik umieszczono sondę do ultrasonografii wewnątrznacyniowej i wykonano ultrasonografie lewej i prawej tętnicy wieńcowej. Spośród lewej tętnicy zstępującej, tętnicy okalającej i prawej tętnicy wieńcowej dwa lub trzy naczynia wybrano do dalszego badania. Następnie w jednym naczyniu implantowano stent o rozmiarze 1.1 razy większym od światła naczynia. W drugim

naczyniu wykonano angioplastykę balonową rozprężając balon do rozmiarów 1.2 do 1.3 razy większym od światła naczynia.

Następnie ponownie wykonano koronarografię i IVUS.

IVUS

Przy użyciu fluoroskopii wykonano manualny pullback sondy ultrasonograficznej. Poprzeczne pomiary IVUS zostały wykonane przed brachyterapią celem sprawdzenia rozmiarów naczynia w następujących odcinkach: dystalnie do uszkodzenia, dystalnym, środkowym i proksymalnym odcinku uszkodzonego naczynia i proksymalnie do uszkodzenia.

Obraz angiograficzny i IVUS został użyty do późniejszej lokalizacji uszkodzonego odcinka naczynia przy eutanazji.

Brachyterapia

Do napromieniowania naczyń użyty został system firmy Guidant (Guidant-modified Varian unit, model VariSource 2000/A) z automatycznym przewodnikiem. Umieszczono spiralny przepływowy balon centrujący (Cordis) o długości 27mm, o średnicy równym światłu naczynia ($\pm 0.3\text{mm}$) dobranym na podstawie pomiarów IVUS. Balon posiadał zamknięty tunel, przez który wprowadzono drut z źródłem promieniowania beta (P^{32}). Aktywne źródło o długości 27 mm zostało umieszczone tak, aby pokrywało 3.5-milimetrowy proksymalny i dystalny odcinek nieuszkodzonego naczynia.

Tętnice w grupie poddanej brachyterapii napromieniowano dawką wyliczoną na podstawie średnicy światła naczynia mierzonej w IVUS, aby dostarczyć 2000 cGy 1 mm w głąb ściany naczynia. Moc dawki została dobrana losowo i wynosiła od 18 do 235 cGy/s. W grupie kontrolnej użyto nieaktywnego drutu.

Po wykonaniu powyższych procedur usunięto koszulkę i podwiązano proksymalny odcinek tętnicy szyjnej. Zwierzę zostało odłączone od respiratora, rozintubowane i przetransportowane do zwierzętarni.

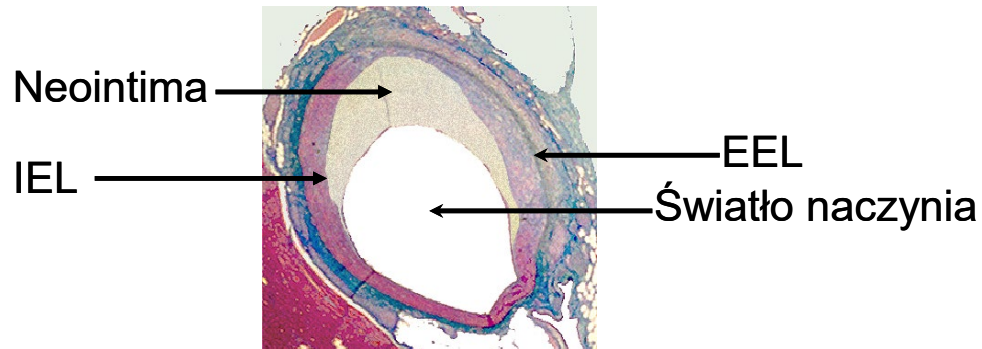
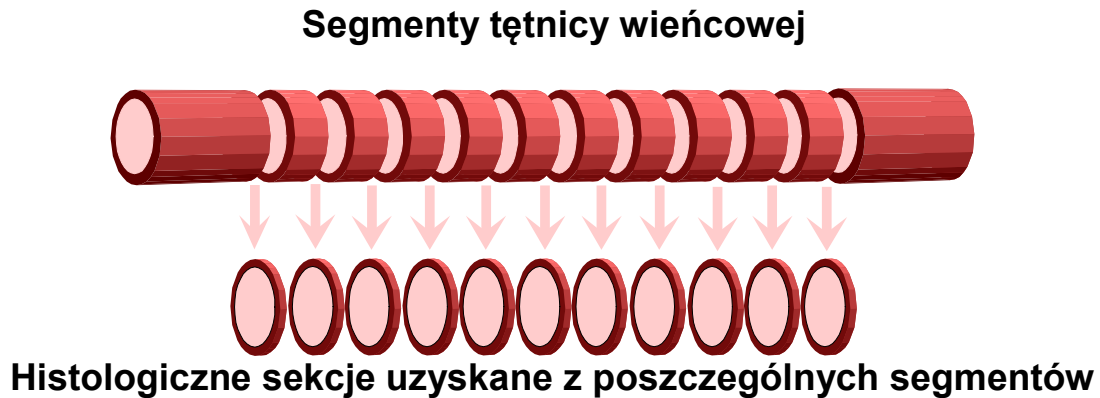
Eutanazja

Po 28 dniach wykonano ponownie koronarografie i IVUS. Zwierzęta zostały poddane eutanazji poprzez przedawkowanie halotanu. Natychmiast wycięto serca i perfundowano 10% formaldehydem. Fragmenty naczyń poddane brachyterapii, ich sąsiadujące proksymalne i dystalne odcinki, zostały wycięte i pokrojone co 2-3 mm (od 10 do 18 przekrojów w naczyniu). Naczynia po angioplastyce balonowej, jak również naczynia bez uszkodzenia, zostały utrwalone w blokach parafinowych.

Analiza histologiczna i morfometria

Z bloków parafinowych wykonano preparaty histologiczne i wybarwiono trójchromem Massona i Verhoeffa na obecność kolagenu. Za pomocą oprogramowania NIH Image pomierzono LA, IEL i EEL. (Ryc.1)

Ryc. 1. Pomiary morfometryczne tętnic wieńcowych.



Naczynia z wszczepionymi stentami zostały utrwalone w metyl-metakrylacie i pocięte zachowując geometrie naczynia. Pięć przekrojów z każdego stentu o grubości 50 μm do 100 μm zostały wybarwione na metylchromatyne.

Za pomocą oprogramowania Sigmascan (Jandel Scientific) pomierzono LA, IEL i EEL, a następnie wyliczono powierzchnię neointimy oraz procent zwężenia naczynia.

Wszystkie sekcje zostały poddane analizie na obecność zakrzepu oraz uszkodzenia ściany naczynia. Zakrzep był oceniany w skali czterostopniowej. Wielkość uszkodzenia naczynia była oceniana w skali od 0 do 2, gdzie 0 – brak uszkodzenia, 1 – uszkodzenie IEL, 2 – uszkodzenie wykraczające poza IEL.

Definicja bezpieczeństwa

Jako definicje bezpieczeństwa przyjęto proliferacje neointimy lub obecność zakrzepu pokrywające światło naczynia poniżej 50%.

Statystyka

Z wszystkich przekrojów naczynia wyliczono średnią pola powierzchni światła naczynia, neointimy, procent zwężenia naczynia, IEL i EEL i przedstawiono jako średnią±SEM. Dane pomierzone morfometrycznie i w IVUS porównano używając testu t-studenta oraz wyliczono korelacje używając oprogramowania SigmaStat 2.0 (SPSS Inc). $P < 0.05$ uznano za znamienne statystycznie.

V. WYNIKI

Toxicity

W grupie bez uszkodzenia naczyń analizie poddano 30 tętnic z 14 zwierząt. Jedno zwierze otrzymało pomyłkowo 35 Gy w trzech naczyniach i zostało wykluczone z dalszej analizy (Tab. 1). Wyjściowo pole powierzchni światła naczyń, IEL i EEL nie różniły się istotnie statystycznie pomiędzy naczyniami poddanymi napromieniowaniu i bez napromieniowania.

Tab. 1. Naczynia bez uszkodzenia.

Numer	Moc dawki	Numer	Moc dawki	Numer	Moc dawki
177 LAD	0	267 RCA	64	35211 RCA	145
177 RCA	0	134B RCA	93	253 LAD	147
237 LAD	0	178 CX	93	35211 LAD	162
237RCA	0	178 LAD	93	253 CX	163
262 CX	0	154 RCA	113	35203 CX*	176
262 RCA	0	134B CX	116	35211 CX	203
169 LAD	59	120B CX	121	35206 LAD	213
137B RCA	62	120B RCA	126	35206 RCA	213
169 RCA	62	257 LAD	132	35203 LAD*	231
267 LAD	62	257 RCA	132	35206 CX	235
137B CX	64	154 CX	141	35203 RCA*	247

*naczynia wykluczone z badania

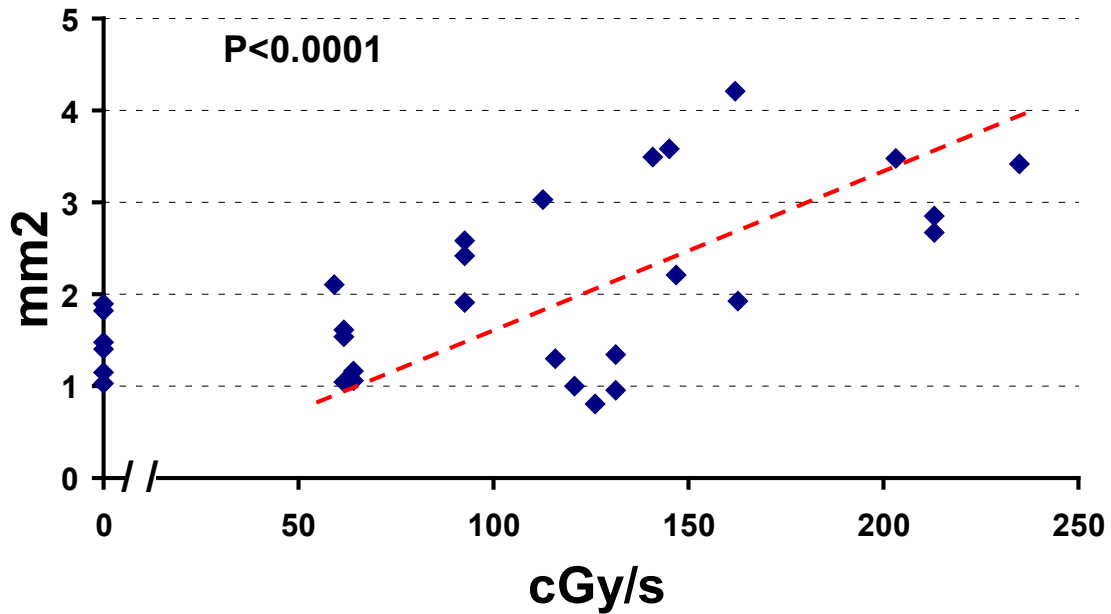
Po 28 dniach w pomiarach stwierdzono:

- LA: 2.15 ± 1.01 vs. 1.46 ± 0.35 mm², p=NS
- IEL: 2.24 ± 1.05 vs. 1.47 ± 0.35 mm², p=NS
- EEL: 3.14 ± 1.36 vs. 2.04 ± 0.39 mm², p=NS

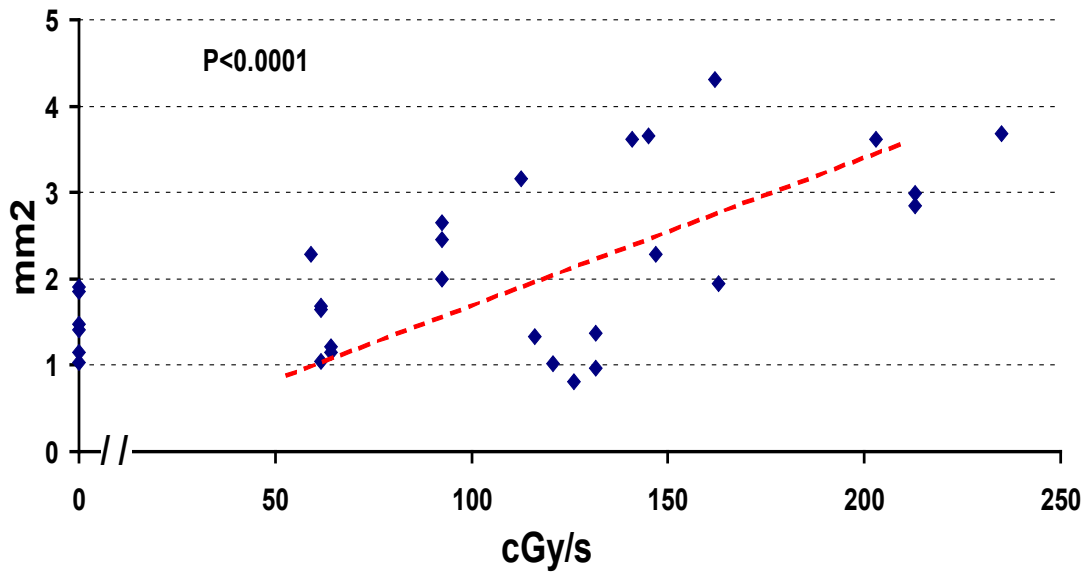
Proliferacja neointymy w grupie poddanej brachyterapii była większa niż w kontroli, jednakże była ona niewielka (0.08 ± 0.07 vs. 0.01 ± 0.01 mm², $p < 0.02$). Podobnie, procent zwężenia światła naczynia był wyższy w grupie poddanej napromieniowaniu niż w kontroli ($3.84 \pm 2.5\%$ vs. $0.78 \pm 0.5\%$, $p < 0.01$). Był on bardzo niewielki i nie przekraczał 4% w obu grupach.

Pole powierzchni światła naczynia (Ryc. 2, $p < 0.0001$), IEL (Ryc. 3, $p < 0.0001$), and EEL (Ryc. 4, $p < 0.0001$) korelowały istotnie z mocą dawki, zwłaszcza przy wysokich wartościach (Ryc. 5).

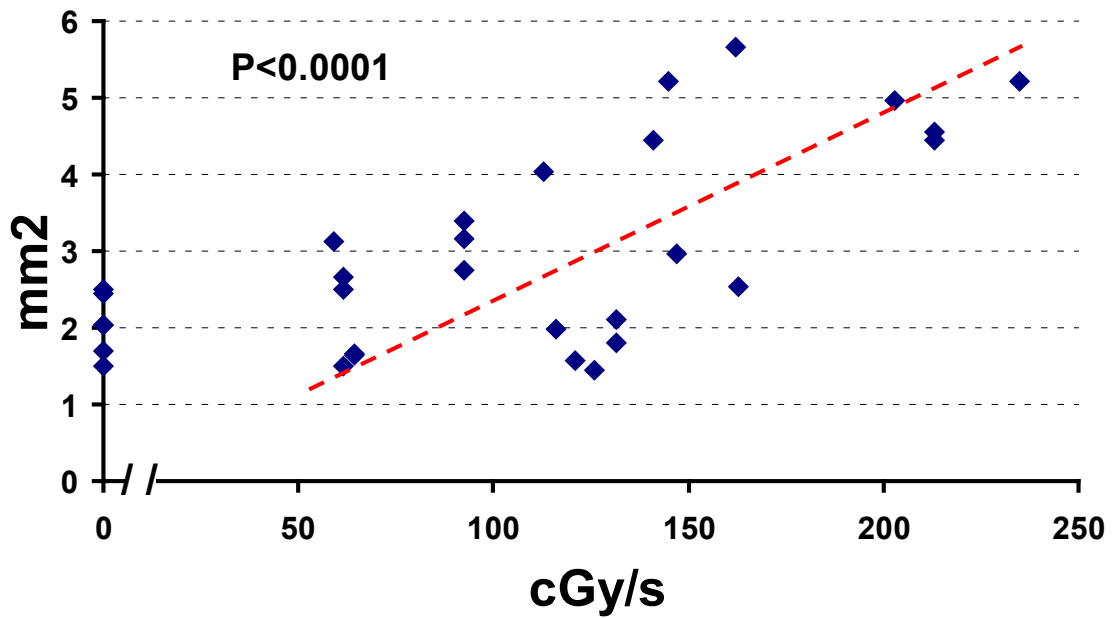
Ryc. 2. Pole powierzchni światła naczynia vs moc dawki w grupie bez uszkodzenia



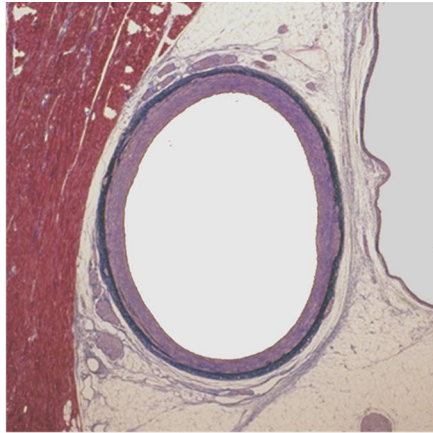
Ryc.3. Pole powierzchni IEL vs moc dawki w grupie bez uszkodzenia



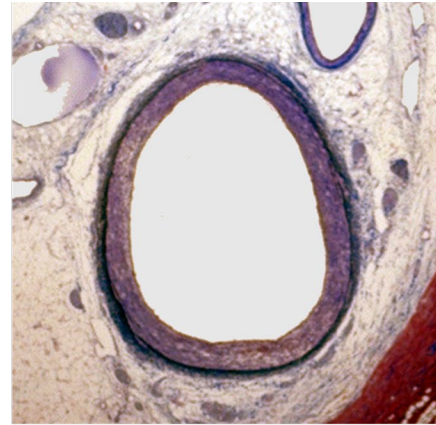
Ryc. 4. Pole powierzchni EEL vs moc dawki w grupie bez uszkodzenia



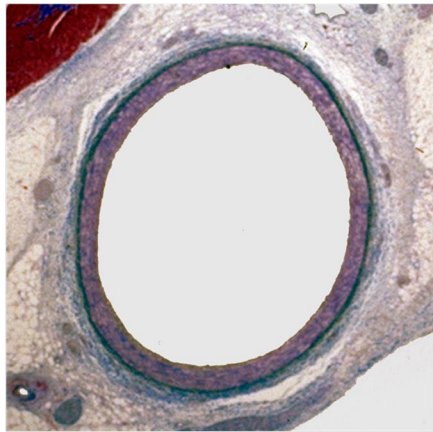
Ryc. 5. Poprzeczne przekroje naczyń w różnych mocach dawki w grupie bez uszkodzenia.



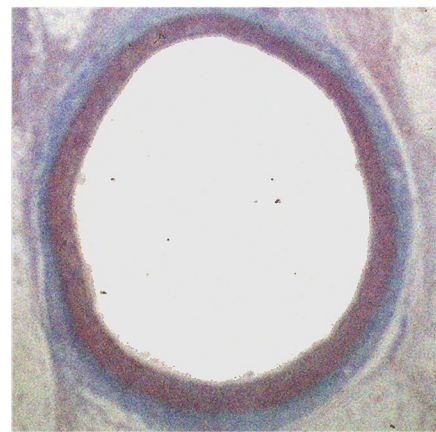
Tętnica kontrolna



59 cGy/s



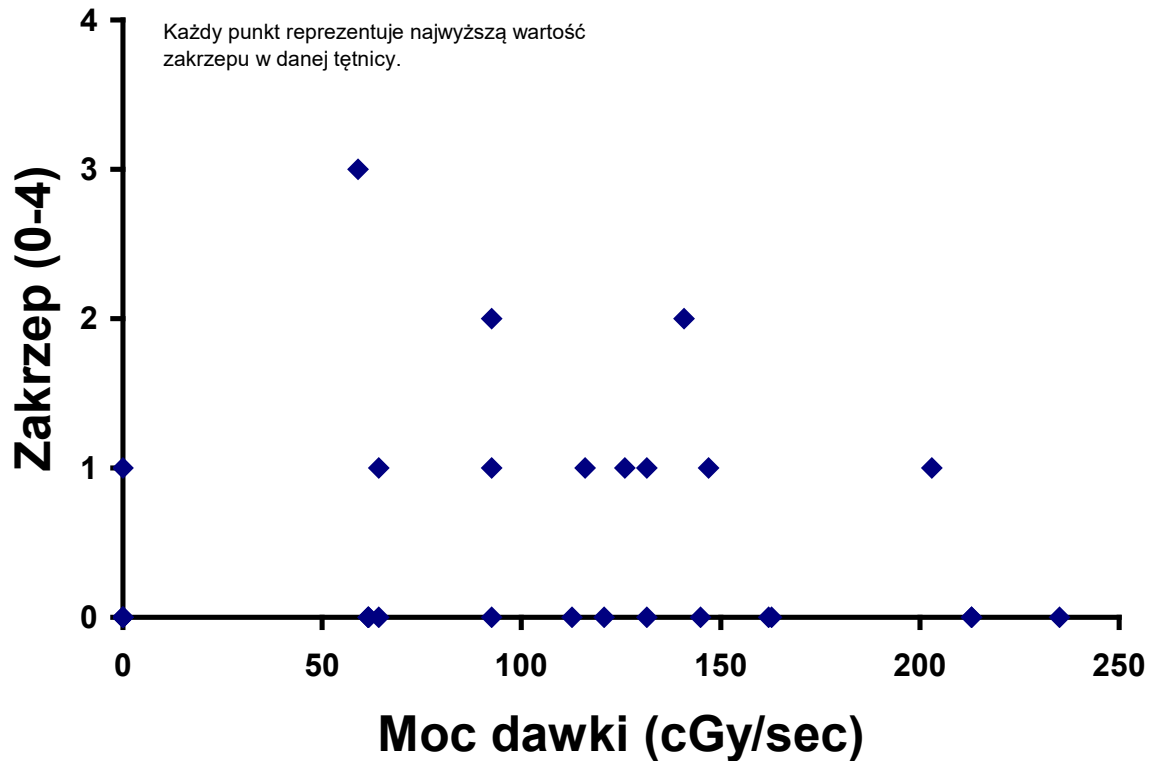
93 cGy/s



235 cGy/s

Zakrzep w analizowanych odcinkach naczyń, w skali od 0 do 4 punktów, wynosił średnio 0.58 ± 0.83 w grupie poddanej brachyterapii, natomiast w naczyniach kontrolnych 0.17 ± 0.41 (Ryc. 6). Wielkość zakrzepu nie wykazywała zależności od mocy dawki.

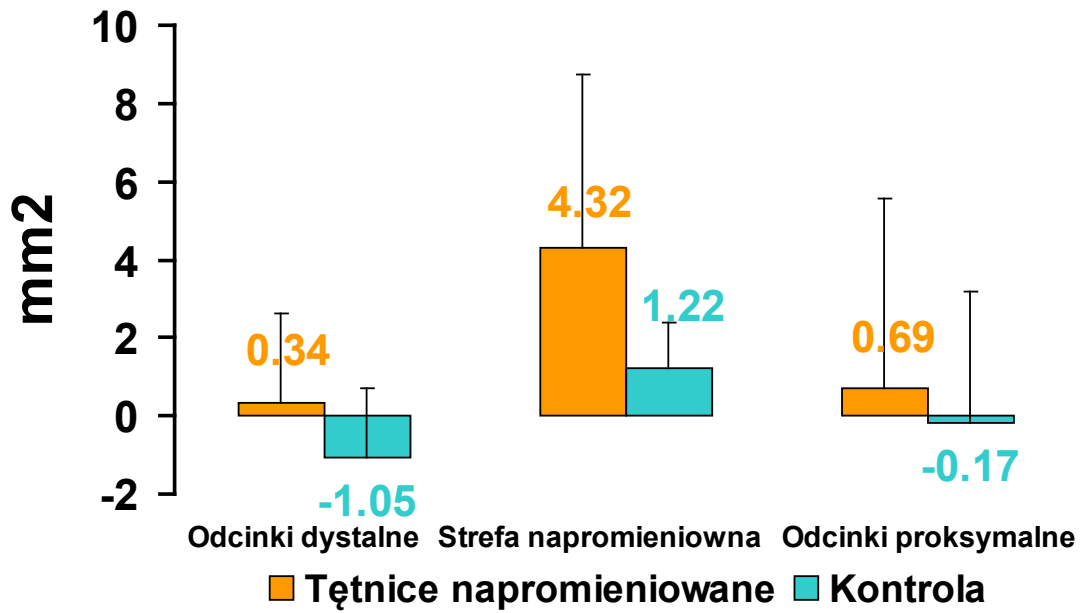
Ryc. 6. Zakrzep vs moc dawki w grupie bez uszkodzenia.



IVUS

Pole powierzchni światła naczynia w grupie kontrolnej nie uległo zmianie ($-0.36 \pm 1.16 \text{ mm}^2$) w porównaniu do wyjściowego badania. W grupie poddanej napromieniowaniu światło tętnic w środkowym odcinku było wyższe po 4 tygodniach ($4.32 \pm 4.44 \text{ mm}^2$, $p=0.02$), jednak nie było ono zależne od mocy dawki. Proksymalne i dystalne odcinki napromieniowanej strefy nie zmieniły się istotnie w obu grupach i nie korelowały z mocą dawki (Ryc. 7).

Ryc. 7. Zmiana pola powierzchni światła naczynia po 4 tygodniach w badaniu IVUS w grupie bez uszkodzenia.



Balonowa angioplastyka

W grupie poddanej balonowej angioplastyce analizie poddano 57 tętnic z 31 zwierząt. Sześć tętnic zostało wykluczone z badania ze względu na brak uszkodzenia IEL (Tab. 2) Wyjściowo średnia LA była większa w grupie nie poddanej napromieniowaniu, natomiast IEL i EEL była wyższa w grupie poddanej brachyterapii, jednak wartości te nie były istotne statystycznie.

Tab. 2. Naczynia poddane balonowej angioplastyce

Numer	Moc dawki	Numer	Moc dawki	Numer	Moc dawki
643 CX	0	611 RCA	20	671 RCA	92
707 RCA	0	739 RCA	20	696 CX	94
434 LAD	0	639 RCA	21	696 LAD	107
435 LAD	0	639 LAD	22	665 LAD	112
470 LAD*	0	643 RCA	24	665 CX	112
671 LAD	0	435 CX	43	698 CX	114
2041 CX	0	469 CX	43	698 RCA*	121
2101 LAD	0	496 CX	47	667 LAD	140
35205 LAD	0	496 RCA	50	667 CX	140
35205 RCA	0	470 RCA	50	35221 RCA	140
35209 CX	0	467 RCA*	51	35221 LAD	147
35209 RCA*	0	471 RCA*	52	35210 RCA	153
35213 LAD	0	467 LAD	54	35214 LAD	154
35213 RCA	0	469 LAD	54	35216 RCA	154
35214 RCA	0	471 LAD	54	35208 RCA	161
35216 LAD	0	479 LAD	61	35215 RCA	174
739 CX	18	481 RCA	61	35215 LAD	201
611 LAD	19	430 RCA*	79	35210 LAD	211
707 LAD	19	434 RCA	79	35208 LAD	222

*naczynia wykluczone z badania

Analiza morfometryczna po 4 tygodniach wykazała:

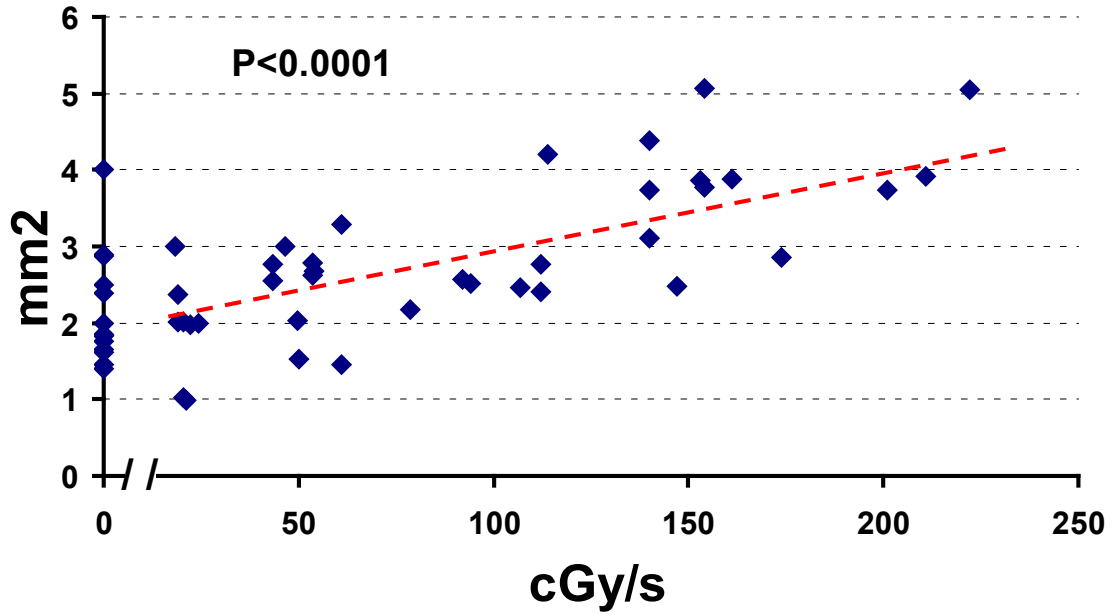
- LA: 2.84 ± 0.99 vs. 2.15 ± 0.72 mm², $p < 0.02$
- IEL: 3.31 ± 1.18 vs. 2.69 ± 1.02 mm², $p = \text{NS}$
- EEL: 4.26 ± 1.51 vs. 3.66 ± 1.24 mm², $p = \text{NS}$

Proliferacja neointimy po brachyterapii nie różniła się od grupy kontrolnej (0.47 ± 0.56 vs. 0.54 ± 0.31 mm², $p = \text{NS}$). Należy jednak podkreślić, że pole powierzchni neointimy było wyliczane poprzez różnice IEL i światła naczynia, zawierając tym samym zakrzep przyścienny. W kilku napromieniowanych sekcjach, pole powierzchni neointimy było wynikiem samego zakrzepu.

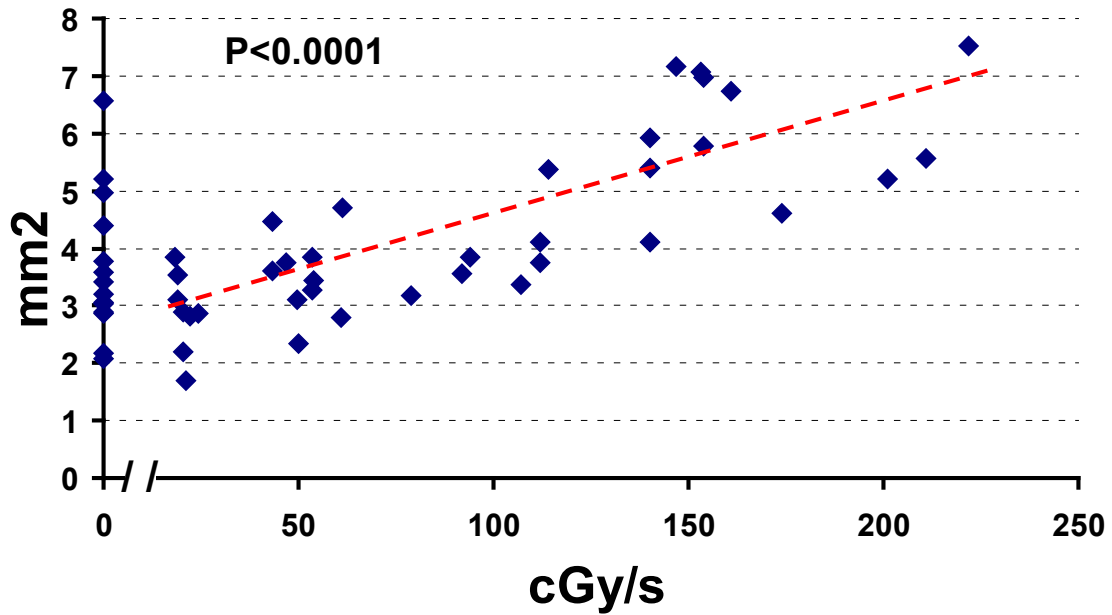
Procent zwężenia naczynia był znacznie niższy po napromieniowaniu w porównaniu do grupy kontrolnej ($12.3 \pm 9\%$ vs. $18 \pm 8\%$, $p < 0.05$).

Istniała zależność LA (Ryc. 8), IEL (Ryc. 9) i EEL (Ryc. 10) a mocą dawki (Ryc. 11). Jednak powierzchnia neointimy i procent zwężenia naczynia nie wykazały takiej zależności.

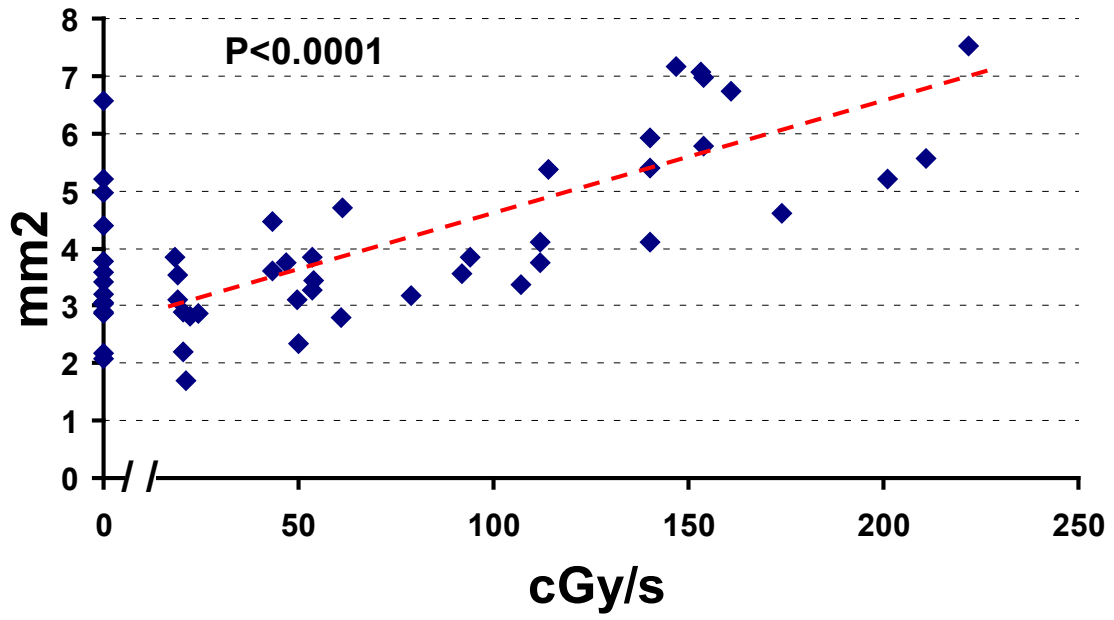
Ryc. 8. Pole powierzchni światła naczynia vs moc dawki w grupie poddanej angioplastyce balonowej.



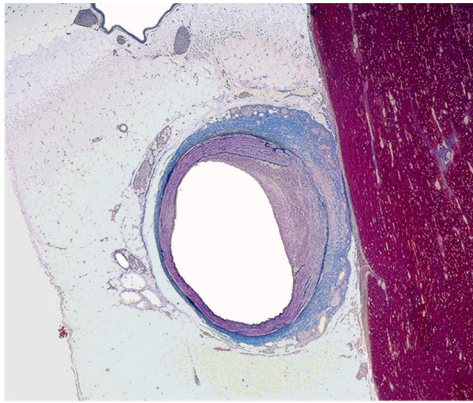
Ryc. 9. Pole powierzchni IEL vs moc dawki w grupie poddanej angioplastyce balonowej.



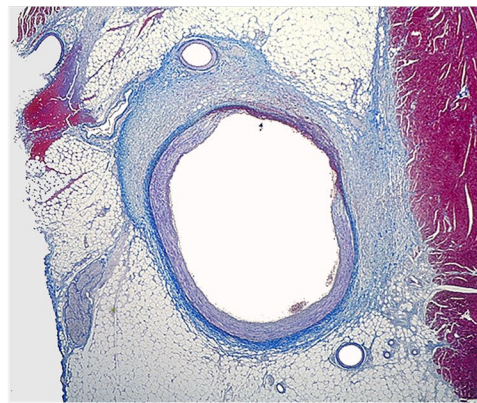
Ryc. 10. Pole powierzchni EEL vs moc dawki w grupie poddanej angioplastyce balonowej.



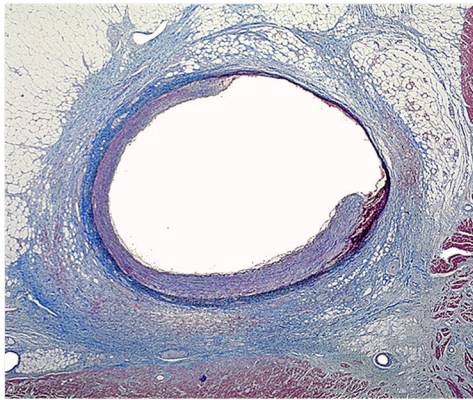
Ryc. 11. Poprzeczne przekroje naczyń w różnych mocach dawki w grupie poddanej balonowej angioplastyce.



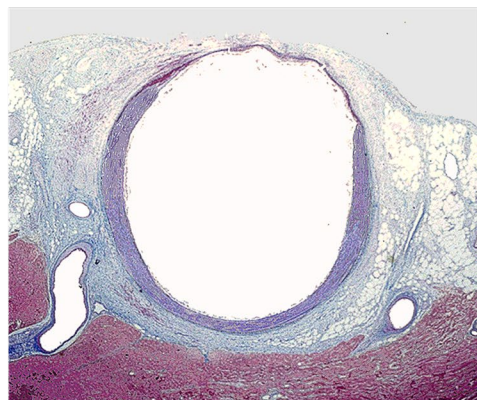
Tętnica kontrolna



35 cGy/s



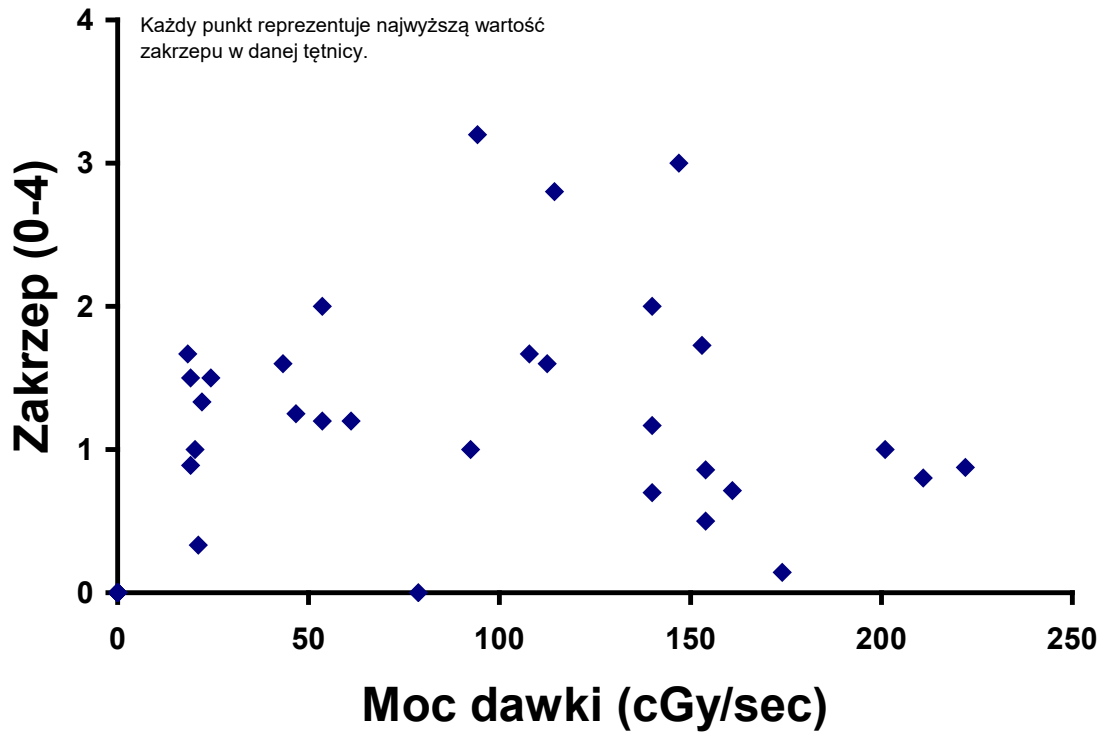
120 cGy/s



185 cGy/s

Zakrzep w obrębie uszkodzenia naczynia wynosił średnio 1.6 ± 0.41 w grupie poddanej brachyterapii, natomiast nie był obserwowany w naczyniach kontrolnych (Ryc. 12). Wielkość zakrzepu nie wykazywała zależności od mocy dawki.

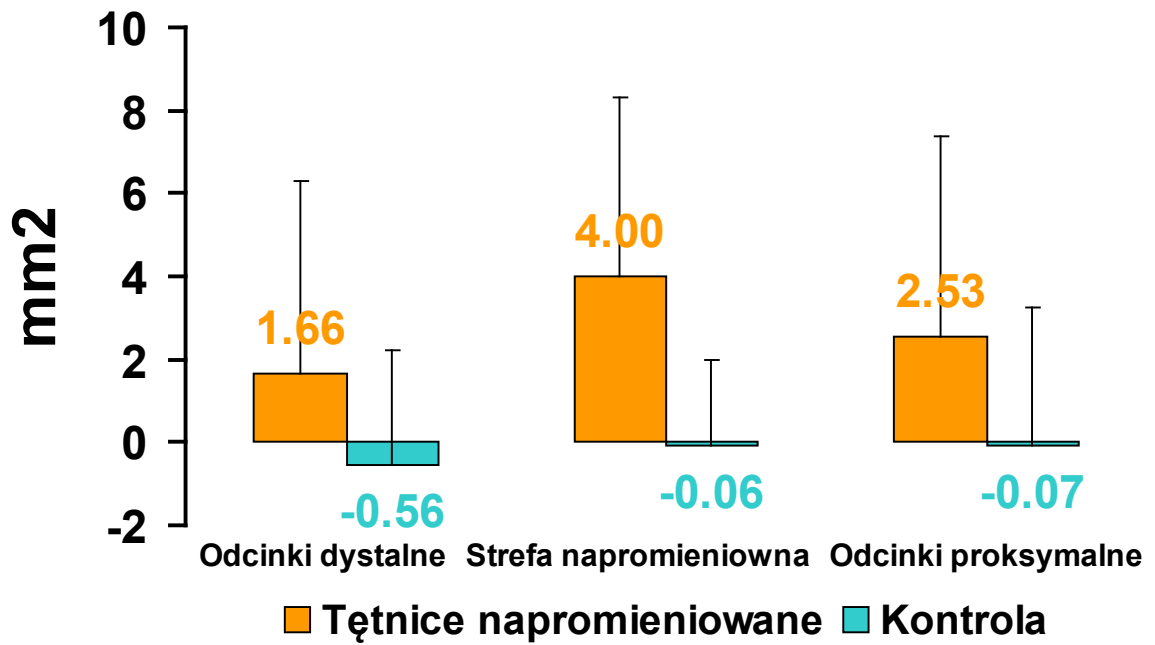
Ryc. 12. Zakrzep vs. moc dawki w grupie poddanej angioplastyce balonowej.



IVUS

W grupie kontrolnej światło tętnic uległo niewielkiemu zmniejszeniu ($-0.43 \pm 2.27 \text{ mm}^2$). Tętnice poddane brachyterapii wykazały wzrost światła w uszkodzonym odcinku naczynia ($3.08 \pm 3.8 \text{ mm}^2$, $p < 0.002$ vs kontrola), jednak nie korelowały one z mocą dawki. Proksymalne i dystalne odcinki od strefy uszkodzenia nie różniły się znacznie po okresie 4 tygodni i nie wykazywały zależności od mocy dawki (Ryc. 13).

Ryc. 13. Zmiana pola powierzchni światła naczynia po 4 tygodniach w badaniu IVUS w grupie poddanej angioplastyce balonowej.



Stenty

W grupie poddanej stentowaniu analizie poddano 30 tętnic z 19 zwierząt. Jedno naczynie zostało wykluczone z dalszej analizy, gdyż pomyłkowo otrzymało 46 Gy (Tab. 3)

Tab. 3. Naczynia poddane stentowaniu

Numer	Moc dawki	Numer	Moc dawki	Numer	Moc dawki
95C LAD	0	259 LAD	55.4	219 RCA	134.1
95C RCA	0	259 RCA	55.4	190 RCA	140.9
184 LAD	0	173 CX	55.8	35220 RCA	146.8
184 RCA	0	236 RCA	58.3	35204 RCA	151
192 LAD	0	35219 RCA	116.6	35212 LAD	161.5
192 RCA	0	219 LAD	119.2	35220 LAD	175.4
173 RCA	44.6	35219 LAD	124	35212 RCA	182.2
220 LAD	45.2	255 CX	125	35204 LAD*	186
236 LAD	52.1	255 LAD	125	35207 LAD	213
220 RCA	53.1	190 LAD	131.2	35207 RCA	222

*naczynie wykluczone z analizy

Wyjściowo średnia powierzchnia światła naczynia była większa w grupie poddanej brachyterapii, niż w grupie kontrolnej (6.85 ± 1.22 vs. 3.39 ± 1.28 mm², $p < 0.0001$). IEL i EEL nie różniły się pomiędzy grupą poddanej napromieniowaniu i kontrolą.

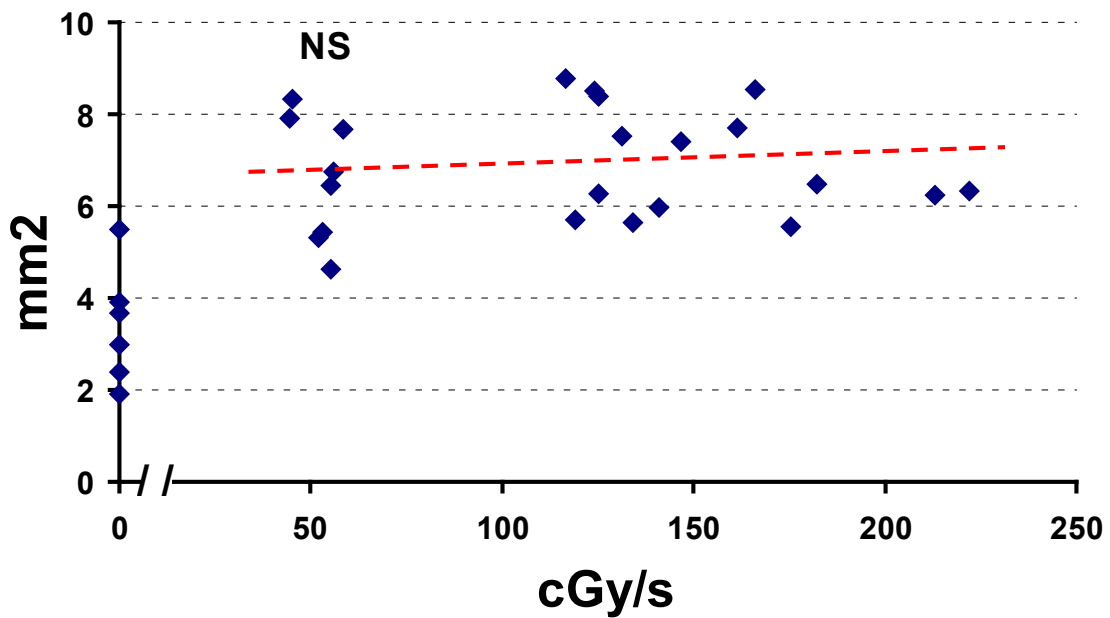
Po 4 tygodniach w analizie stwierdzono:

- LA: 6.89 ± 1.21 vs. 3.39 ± 1.28 mm², $p < 0.001$
- IEL: 7.71 ± 1.22 vs. 6.68 ± 0.85 mm², $p = \text{NS}$
- EEL: 9.35 ± 1.35 vs. 8.67 ± 0.88 mm², $p = \text{NS}$

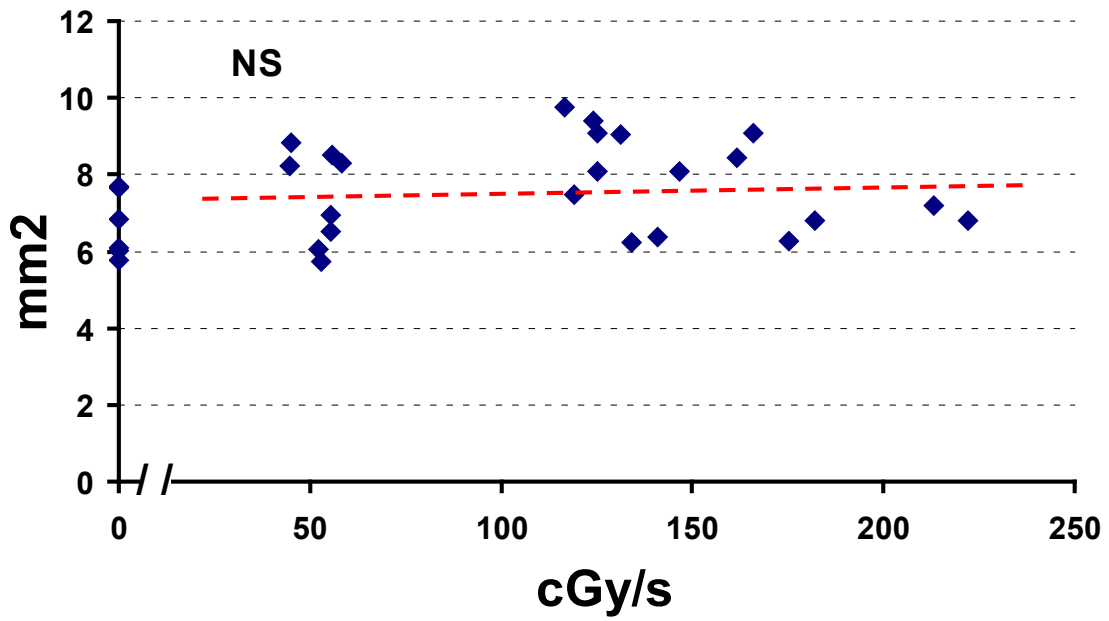
Pole powierzchni neointymy była istotnie niższa po brachyterapii w porównaniu do grupy kontrolnej (0.86 ± 0.51 vs. 3.29 ± 0.63 mm², $p < 0.0001$). Procent zwężenia naczynia był

znacznie niższy po napromieniowaniu niż w kontroli ($11.1 \pm 7\%$ vs. $50.3 \pm 13\%$, $p < 0.0001$). Nie było jednak zależności pomiędzy polem powierzchni światła naczyń (Ryc. 14), IEL (Ryc. 15), EEL (Ryc. 16), proliferacją neointymy i procentem zwężenia naczyń, a mocą dawki.

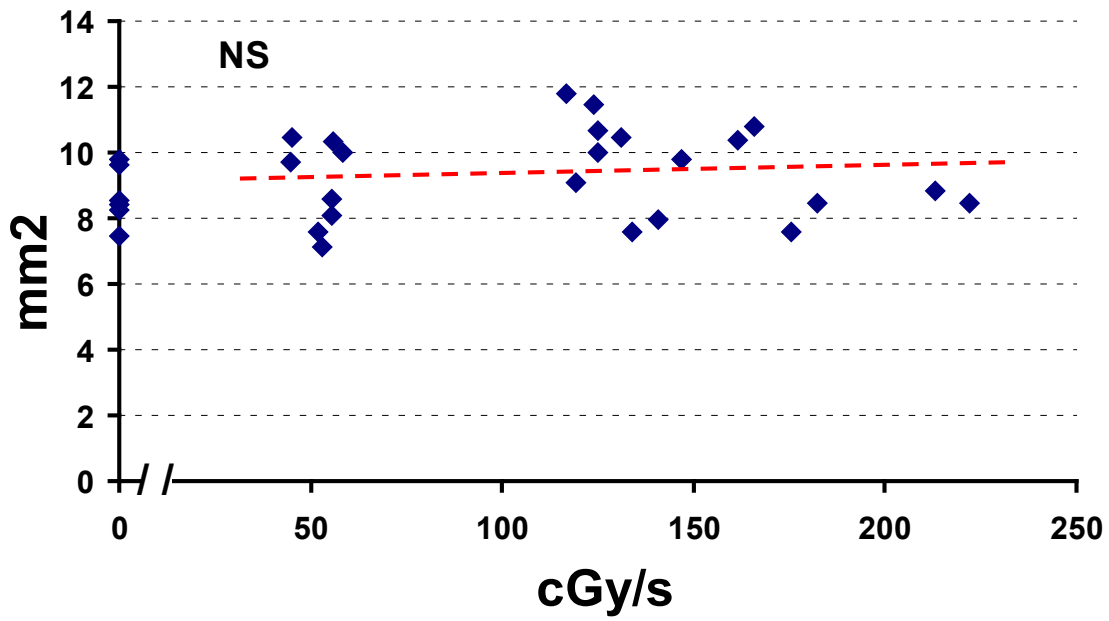
Ryc.14. Pole powierzchni światła naczyń vs moc dawki w grupie z implantowanym stentem.



Ryc.15. Pole powierzchni IEL vs moc dawki w grupie z implantowanym stentem.



Ryc.16. Pole powierzchni EEL vs moc dawki w grupie z implantowanym stentem.



W odcinkach sąsiadujących do stentu proliferacja neointimy była znacznie niższa w grupie poddanej napromieniowaniu niż w kontroli. Wartości dla dystalnego i proksymalnego odcinka są podane w tabeli 4.

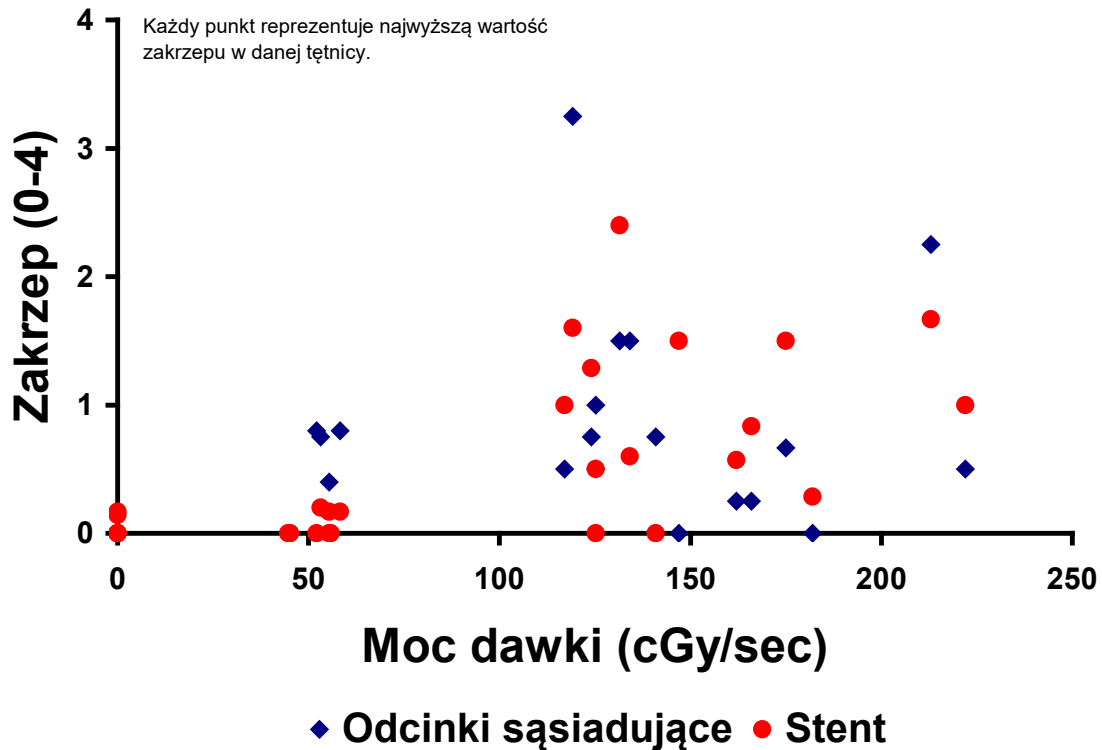
Tab. 4. Pomiary dystalnych i proksymalnych odcinków w naczyniach poddanych stentowaniu.

	Odcinek dystalny		Odcinek proksymalny	
	Brachyterapia	Kontrola	Brachyterapia	Kontrola
Światło naczynia (mm ²)	3.17±1.15*	2.69±0.27	3.50±1.29†	2.69±0.41
IEL (mm ²)	3.56±1.34*	2.85±0.30	3.84±1.48*	2.90±0.42
EEL (mm ²)	4.86±1.35*	4.0±0.33	5.30±1.57*	4.07±0.57
Proliferacja neointimy (mm ²)	0.39±0.45*	0.15±0.09	0.34±0.43†	0.21±0.10
PZN	0.10±0.05†	0.09±0.03	0.08±0.08*	0.07±0.03

* p<0.05, †- NS,

Zakrzep w obrębie stentów wynosił średnio 0.66±0.70 w grupie poddanej brachyterapii, natomiast w naczyniach kontrolnych 0.05±0.08. W odcinkach sąsiadujących do stentów wartości te wynosiły odpowiednio 0.71±0.79 vs. 0. Wielkość zakrzepu nie wykazywała zależności od mocy dawki (Ryc. 17)

Ryc. 17. Zakrzep vs moc dawki w grupie z implantowanym stentem.

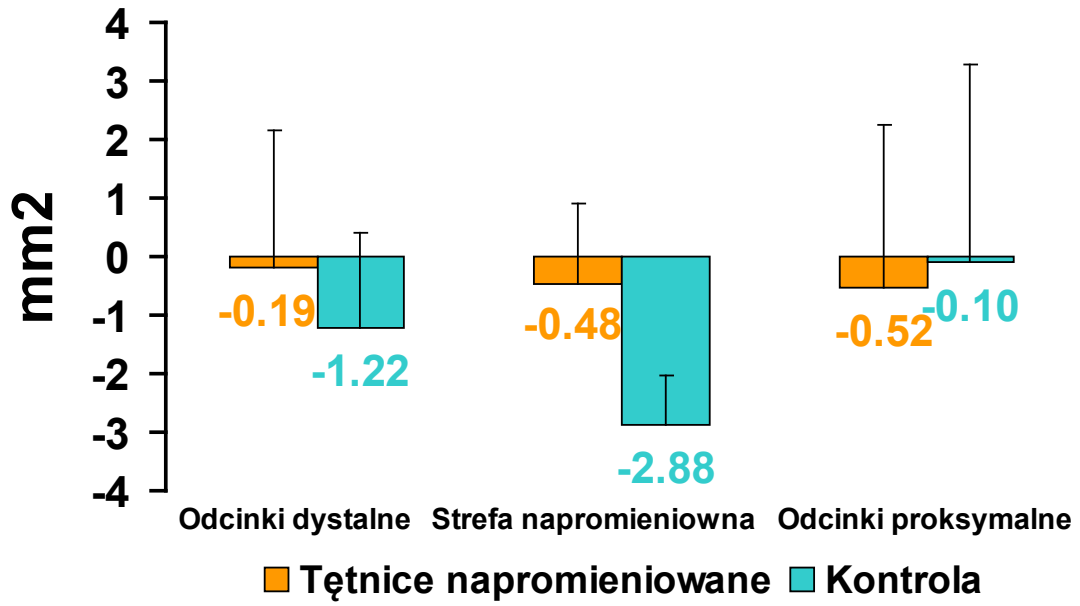


IVUS

W obrębie stentu tętnice nie poddane napromieniowaniu miały znaczną utratę pola światła naczyń niż tętnice napromieniowane ($-2.88 \pm 0.86 \text{ mm}^2$ vs. $-0.48 \pm 1.39 \text{ mm}^2$, $p=0.0003$). Odcinki dystalnie i proksymalnie do stentu nie były istotnie zmienione w porównaniu do wyjściowych pomiarów (Ryc. 18).

W naczyniach napromieniowanych nie było zależności pomiędzy powierzchnią światła naczyń a mocą dawki.

Ryc. 18. Zmiana pola powierzchni światła naczynia po 4 tygodniach w badaniu IVUS w grupie z implantowanym stentem.



VI. OMÓWIENIE WYNIKÓW

Radioterapia jest znaną techniką, którą wykorzystywano od dawna do leczenia procesów rozrostowych. Jednym z przykładów jest restenoza po zabiegach PTCA, która jest nadmierną odpowiedzią tkankową na uszkodzenie. Przerwanie ciągłości endotelium i medii podczas balonowej angioplastyki lub implantacji stentu stymuluje proces zaplany, w wyniku którego dochodzi do aktywacji, migracji i proliferacji myofibroblastów i komórek mięśniówki gładkiej. Patomechanizm restenozy, mimo iż bardzo intensywnie badany, nie został do końca wyjaśniony. Dlatego wciąż istnieją kontrowersje odnośnie długości źródła promieniowania, leczenia przeciwplatekowego, mocy dawki oraz warstwy naczynia otrzymującej docelową dawkę promieniowania. Niemniej jednak szereg prac wykazała skuteczność brachyterapii w hamowaniu restenozy po angioplastykach naczyniowych. Dane te zostały pokazane z zastosowaniem zarówno promieniowania gamma (24;58;59;63), jak i beta (3;49;60). Te eksperymentalne badania zostały w większości przeprowadzone na dobrze opracowanym modelu świńskim, w którym proces proliferacji neointymy po uszkodzeniu stentem lub balonem jest zakończony po 4 tygodniach. Obraz histologiczny po 4 tygodniach u świń symuluje restenoze u człowieka po 3-6 miesiącach od momentu angioplastyki (30;34).

Poprzednie badania przeprowadzone w Baylor College of Medicine ustaliły, iż optymalna dawka promieniowania do hamowania restenozy wynosi 20 Gy dostarczona 1 mm w głąb ściany naczynia, ze stałą mocą dawki 20 cGy/s (3). Dotychczas brak jest doniesień, które testowały różne moce dawki.

Istnieje szereg przesłanek wskazujących na potencjalne korzyści wpływające ze stosowania źródeł o wysokiej mocy dawki. Izotop P^{32} , którego okres półtrwania wynosi 2 tygodnie, można by wykorzystywać znacznie dłużej; czas brachyterapii uległby skróceniu oraz można się spodziewać większej skuteczności w redukowaniu restenozy.

W niniejszej pracy głównym efektem mocy dawki w wartościach do 235 cGy/s w tętnicach nie poddanych stentowaniu jest powiększenie naczynia. W oparciu o histomorfometryczne pomiary, wielkość tego efektu wydaje się być proporcjonalna do

mocy dawki. Zależność ta była szczególnie widoczna w grupie tętnic poddanej balonowej angioplastyce, jednak również obecna w tętnicach nie poddanych uszkodzeniu.

Te obserwacje nie potwierdziły się w pomiarach IVUS, w których nie było wyraźnej zależności pomiędzy mocą dawki i wielkością światła naczynia. Ruchy serca, pulsacyjny przepływ krwi oraz wasospazm podczas badania IVUS utrudnia dokładne pomiary i może wyjaśniać te rozbieżności, zwłaszcza przy niewielkiej proliferacji neointimy lub jego braku.

W grupie bez uszkodzenia kontrolne naczynia miały niezmienny obraz za wyjątkiem niewielkiej proliferacji neointimy, który prawdopodobnie był spowodowany drobnym uszkodzeniem podczas wprowadzania instrumentów w czasie eksperymentu. W tętnicach napromieniowanych nie zaobserwowano zakrzepów. W pojedynczych przypadkach wykazano niewielką proliferację neointimy i obkurczenie naczynia.

Te zjawiska były niezwykle rzadkie po napromieniowaniu, nie obserwowane w grupie kontrolnej i nie związane z mocą dawki.

Po balonowej angioplastyce proliferacja neointimy nie różniła się istotnie pomiędzy grupą kontrolną i poddanej napromieniowaniu. Należy wspomnieć, iż przy pomiarach zakrzep przyścienny był wliczany do pola powierzchni neointimy i w kilku tętnicach był wynikiem samego zakrzepu. Jednak procent zwężenia naczynia był niższy po napromieniowaniu ze względu na zsumowanie efektu pozytywnej przebudowy ściany naczynia i pola powierzchni neointimy.

Praca Waksmana et al. badająca skuteczność promieniowania beta z użyciem $^{90}\text{Sr}/\text{Y}$ wykazała dużą skuteczność brachyterapii zwłaszcza w zakresie wysokich dawek. Po 14 dniach od balonowej angioplastyki stwierdzono w histomorfometrii proliferację neointimy rzędu 0.47 mm^2 i LA 3.85 mm^2 przy dawce 28 Gy dostarczoną 2 mm od źródła. Można również zauważyć wpływ brachyterapii na pozytywną przebudowę ściany naczynia(60).

Wcześniejsze badanie przeprowadzone w Baylor Collee of Medicine na podobnym modelu udowodniło, iż promieniowanie gamma skutecznie zredukowało proliferację neointimy po uszkodzeniu balonem. Efekt brachyterpii był szczególnie widoczny przy

dawce promieniowania 25 Gy w zakresie lewej tętnicy wieńcowej. Procent zwężenia naczyń kształtował się od 2 do 25%, natomiast w grupie kontrolnej wartości te wynosiły od 16 do 36% (24).

Dane z piśmiennictwa są zbliżone do wartości przedstawionych w pracy doktorskiej. Należy jednak podkreślić, iż protokoły badań były odmienne i ich głównym celem było sprawdzenie dawki promieniowania, a nie mocy dawki.

Brachyterapia w grupie poddanej stentowaniu była równie skuteczna w hamowaniu restenozy jak w przypadku balonowej angioplastyki. W przeciwieństwie do balonowej angioplastyki, naczynia stentowane nie wykazały powiększenia naczyń. Nie było również wyraźnego wpływu mocy dawki. Wy tłumaczyć to można faktem, iż stenty implantowane w ścianę naczyń stanowią swego rodzaju rusztowanie i ograniczają ich przebudowę i poszerzenie. Jednakże w badaniu klinicznym z zastosowaniem ultrasonografii wewnątrznacyniowej raportowano po brachyterapii poszerzenie stentowanych naczyń. U chorych tych częściej dochodziło do apozycji stentów i występowaniem w obrazie sonograficznym tzw. czarnych dziur (ang. black holes) (37). W niniejszym badaniu w analizie ultrasonograficznej i morfometrycznej nie obserwowano separacji stentu od ściany nacyniowej.

Dużym problemem w brachyterapii jest występowanie zwężeń na granicy napromieniowanego odcinka naczyń. Efekt ten, pomimo intensywnych badań, nie został do końca wyjaśniony. Przyjmuje się, iż uszkodzenie ściany nacyniowej połączone z małą dawką promieniowania raczej stymuluje niż hamuje proliferację neointymy. Nieprawidłowe pokrycie źródłem promieniowania poszerzanego naczyń znacznie nasila to zjawisko i jest szeroko opisywane w literaturze jako tzw. geographic miss. Większość badań klinicznych z zastosowaniem dłuższych źródeł promieniowania zredukowało restenoze i TVR (32;36;52;57).

W niniejszej pracy proliferacja neointymy w dystalnych odcinkach od implantowanego stentu była wyższa w grupie badanej, proksymalne odcinki natomiast takiej zależności nie wykazywały. Analizując procent zwężenia naczyń różnice były obserwowane w odcinkach proksymalnych i były one wynikiem negatywnej przebudowy naczyń.

Pomimo, iż to zestawienie wykazało istotność statystyczną pomiędzy grupami, obserwowane zwężenia były niewielkie. Wyniki te można wytłumaczyć zastosowaniem obrazowania ultrasonograficznego w badaniu, jak również szczególną precyzją w umieszczeniu źródła promieniowania. Należy także wspomnieć, iż w zastosowanym modelu naczynia wieńcowe nie posiadały blaszek miażdżycowych. W zmienionym miażdżycowo naczyniu uszkodzenie medii podczas angioplastyki jest mniej przewidywalne, czasami niewidoczne w angiografii i może wykraczać poza strefę promieniowania (68). W efekcie stosowanie dłuższych źródeł niekoniecznie zapewnia całkowite pokrycie uszkodzenia i ostatecznie nie rozwiązuje problemu edge effect. (17;22;32;65)

W napromieniowanych naczyniach obserwowano zwiększoną zakrzepicę przyścienną, zwłaszcza po balonowej angioplastyce. Zjawisko to można wytłumaczyć wzmożonym procesem zapalnym po brachyterapii oraz większą aktywacją czynnika tkankowego. W rezultacie dochodzi do opóźnionego pokrycia strefy uszkodzonej śródbłonkiem i neointimą (9). W efekcie ekspozycja trombogennej powierzchni jest znacznie wydłużona, prowadząc do formowania zakrzepów. W pionierskich badaniach eksperymentalnych w których nie stosowano profilaktyki przeciwzakrzepowej, częstość zakrzepu obserwowano nawet u 48% badanych naczyń (24).

Praca Waksmana et al. przeprowadzona z różnymi źródłami promieniowania pokazała, iż częstość i wielkość zakrzepu była zależna od dawki i występowała u 25 do 85% badanych naczyń. Zakrzep po brachyterapii z użyciem promieniowania beta obserwowany był częściej w świetle naczynia, niż w obrębie ściany i był odwrotnie proporcjonalny do dawki (51).

Rutynowe stosowanie aspiryny i tiklopidyny zredukowało znacznie zakrzepicę po brachyterapii i w niektórych badaniach klinicznych była ona znikoma (36;53;57).

W niniejszym badaniu wielkość zakrzepu nie przekraczała 50% światła naczynia i nie wykazywała zależności od mocy dawki. Zauważono, iż większe zakrzepy występowały w naczyniach ze znacznym uszkodzeniem medii. Zarówno w naczyniach kontrolnych, jak i poddanych brachyterapii, nie stwierdzono przerwania ciągłości naczynia na poziomie adwentycji.

Nową metodą w zapobieganiu restenozy po PTCA są stenty pokryte lekami. Spośród długiej listy testowanych substancji tylko rapamycyna i taksol okazały się skuteczne w redukowaniu nawrotu zwężenia.

Celem tej terapii jest dostarczenie odpowiedniej ilości leku do miejsca uszkodzenia. Ze względu na dużą toksyczność tych substancji, tylko lokalne ich dostarczanie może mieć zastosowanie kliniczne. Dawka leku i kinetyka jego uwalniania są bardzo istotne z powodu małego okna terapeutycznego.

Pierwsze badania z zastosowaniem stentów pokrytych rapamycyną (Cypher, RAVEL) wykazały dużą skuteczność, z restenozą 0% (26;39;41). Badanie SIRIUS, do którego zostało włączonych 1101 pacjentów, zredukował restenozę do 3.2%. Na uwagę zasługuje fakt, iż w grupie pacjentów z rapamycyną również raportowano incydenty wieńcowe (28). W badaniu TAXUS I i II zastosowano stent NIR pokryty taxolem z dwoma różnymi dawkami i różnymi konfiguracjami polimeru. Częstość restenozy została istotnie zredukowana i w TAXUS II wynosiła 4.6% (8;13;43).

Obecnie szereg klinicznych badań sprawdza skuteczność taxolu na innych stentach stosując różne techniki uwalniania leku. Większość z nich jest skuteczna w hamowaniu restenozy, jednak badanie DELIVER, do którego włączonych zostało 1043 pacjentów, nie wykazało istotnej różnicy w częstości restenozy (21). Pomimo tych rozbieżnych wyników, stenty pokryte taxolem zostały zatwierdzone do użytku klinicznego w Europie w lutym 2003 roku.

Istnieje jednak grupa pacjentów, którzy rozwijają restenozę pomimo stosowania stentów pokrytych lekami. Na szczególną uwagę zasługują pacjenci z cukrzycą, u których nawrót zwężenia jest obserwowany znacznie częściej.

Przed wprowadzeniem do praktyki klinicznej stentów pokrytych lekami, radioterapia była pierwszą interwencją która w powtarzalny sposób powoduje zwiększenie średnicy miejsca poszerzanego po 6-9 miesiącach w porównaniu z momentem bezpośrednio po angioplastyce (tzw. negative late lumen loss, czyli late lumen gain). (12;25;27;38;40;44) Pomimo dużej skuteczności stentów pokrytych lekami radioterapia wydaje się mieć wciąż szerokie zastosowanie; pacjenci z nawracającą restenozą w obrębie stentu, długie

zmiany lub choroby z cukrzycą są wciąż dobrym wskazaniem do radioterapii śródnaczyniowej (Albert E. Raizner, doniesienie ustne).

VII. WNIOSKI

- Brachyterapia jest skuteczną metodą w hamowaniu restenozy po zabiegach PTCA;
- Segmenty sąsiadujące do implantowanego stentu nie wykazały nadmiernej proliferacji neointimy;
- Po brachyterapii obserwowano większą zakrzepicę niż w grupie kontrolnej;
- Wielkość zakrzepów nie przekraczała 50% powierzchni światła naczynia i była zależna od stopnia uszkodzenia medii;
- Zakrzepica nie wykazywała zależności od mocy dawki;
- W tętnicach bez uszkodzenia i po balonowej angioplastyce moc dawki miała duży wpływ na pozytywną przebudowę ściany naczynia;
- W stentowanych naczyniach głównym efektem brachyterapii jest hamowanie proliferacji neointimy;
- Moc dawki w przedziale do 235 cGy/s jest efektywna i bezpieczna w zmniejszeniu restenozy po zabiegach PTCA.

VIII. STRESZCZENIE

Przezkórna angioplastyka wieńcowa jest uznaną metodą w leczeniu choroby niedokrwiennej serca. Głównym powikłaniem tego zabiegu jest restenoza, czyli nawrót zwężenia poszerzanego odcinka naczynia. Jednym ze sposobów zapobiegania tego nieporządanego efektu jest brachyterapia wewnątrznacyniowa. Technika ta jest realizowana za pomocą izotopowych źródeł radioaktywnych umieszczonych w bezpośrednim sąsiedztwie napromieniowanych tkanek. Szereg badań eksperymentalnych i klinicznych ustaliła dawkę promieniowania oraz wykazała dużą efektywność promieniowania beta z zastosowaniem P^{32} . Dotychczas jednak nie raportowano badania wskazującego na efektywność stosowania różnych mocy dawek w brachyterapii wewnątrznacyniowej.

Celem pracy doktorskiej jest:

- a) określenie wpływu mocy dawki w brachyterapii śródmacyniowej z użyciem P^{32} na proliferację neointymy po zabiegach PTCA;
- b) analiza efektu mocy dawki na przebudowę ściany nacyniowej;
- c) ocena bezpieczeństwa różnych mocy dawek, ze szczególnym uwzględnieniem obecności zakrzepów nacyniowych i uszkodzenia naczyń.

Do badania użyto 60 zwierząt, z których analizie poddano 117 tętnic wieńcowych. Naczynia były losowo dobierane do jednej z trzech grup: balonowej angioplastyki (57 tętnic), stentowaniu (30 tętnic) lub braku uszkodzenia (30 tętnic). W każdej grupie tętnice były randomizowane do brachyterapii o mocy dawki od 20 do 235 cGy/s lub placebo.

Po 28 dniach wykonano ponownie koronarografię, IVUS i dokonano eutanazji. Następnie wykonano pomiary histomorfometryczne, ultrasonograficzne i poddano naczynia ocenie na obecność zakrzepu i stopnia uszkodzenia medii.

W grupie bez uszkodzenia pole powierzchni światła nacynia (LA) ($2.15 \pm 1.01 \text{ mm}^2$ vs. placebo $1.46 \pm 0.35 \text{ mm}^2$, $p=\text{NS}$), inernal (IEL) ($2.24 \pm 1.05 \text{ mm}^2$ vs. placebo $1.47 \pm 0.35 \text{ mm}^2$, $p=\text{NS}$) i external (EEL) ($3.14 \pm 1.36 \text{ mm}^2$ vs. placebo $2.04 \pm 0.39 \text{ mm}^2$, $p=\text{NS}$) elastic lumina nie różniły się istotnie pomiędzy placebo i grupie poddanej brachyterapii. Wykazano jednak silną korelację tych parametrów z mocą dawki.

W badaniu IVUS LA w grupie kontrolnej nie uległo zmianie ($-0.36 \pm 1.16 \text{ mm}^2$) w porównaniu do wyjściowego badania. W grupie poddanej napromieniowaniu światło tętnic w środkowym odcinku było wyższe po 4 tygodniach ($4.32 \pm 4.44 \text{ mm}^2$, $p=0.02$), jednak nie było ono zależne od mocy dawki.

Po balonowej angioplastyce LA ($2.84 \pm 0.99 \text{ mm}^2$) było istotnie większe w porównaniu do grupy kontrolnej ($2.15 \pm 0.72 \text{ mm}^2$, $p < 0.02$). IEL ($3.31 \pm 1.18 \text{ mm}^2$ vs. placebo $2.69 \pm 1.02 \text{ mm}^2$, $p = \text{NS}$) i EEL ($4.26 \pm 1.51 \text{ mm}^2$ vs. placebo $3.66 \pm 1.24 \text{ mm}^2$, $p = \text{NS}$), pomimo iż wartości były większe po brachyterapii, nie wykazały znamienności statystycznej. Jednak procent zwężenia naczynia był znacznie niższy po napromieniowaniu w porównaniu do grupy kontrolnej ($12.3 \pm 9\%$ vs. placebo $18 \pm 8\%$, $p < 0.05$).

Istniała również silna zależność pomiędzy LA, IEL i EEL a mocą dawki.

W IVUS w grupie kontrolnej światło tętnic uległo niewielkiemu zmniejszeniu (-0.43 ± 2.27). Tętnice poddane brachyterapii wykazały wzrost światła w uszkodzonym odcinku naczynia ($3.08 \pm 3.8 \text{ mm}^2$, $p < 0.002$ vs. kontrola), jednak nie korelowały one z mocą dawki.

W grupie z implantowanym stentem nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy IEL ($7.71 \pm 1.22 \text{ mm}^2$) i EEL ($9.35 \pm 1.35 \text{ mm}^2$), a kontrolą (odpowiednio $6.68 \pm 0.85 \text{ mm}^2$, $8.67 \pm 0.88 \text{ mm}^2$, $p = \text{NS}$). Proliferacja neointymy ($0.86 \pm 0.51 \text{ mm}^2$ vs. placebo $3.29 \pm 0.63 \text{ mm}^2$, $p < 0.0001$) i procent zwężenia naczynia ($11.1 \pm 7\%$ vs. placebo $50.3 \pm 13\%$, $p < 0.0001$) były istotnie niższe po brachyterapii w porównaniu do grupy kontrolnej.

Nie było jednak zależności pomiędzy LA, IEL, EEL, proliferacją neointymy i procentem zwężenia naczynia a mocą dawki.

W badaniu IVUS w obrębie stentu tętnice nie poddane napromieniowaniu miały znaczną utratę pola światła naczynia niż tętnice napromieniowane (odpowiednio $-2.88 \pm 0.86 \text{ mm}^2$ vs. $-0.48 \pm 1.39 \text{ mm}^2$, $p = 0.0003$).

Wnioski: Brachyterapia jest skuteczną metodą w hamowaniu restenozy po zabiegach PTCA. Segmenty sąsiadujące do implantowanego stentu nie wykazały nadmiernej proliferacji neointymy. W tętnicach napromieniowanych obserwowano większą zakrzepicę niż w grupie kontrolnej, jednak wielkość zakrzepów nie przekraczała 50%

powierzchni światła naczynia i była zależna od stopnia uszkodzenia medii, natomiast nie wykazywała zależności od mocy dawki. W tętnicach bez uszkodzenia i po balonowej angioplastyce moc dawki miała duży wpływ na pozytywną przebudowę ściany naczynia. W stentowanych naczyniach głównym efektem brachyterapii jest hamowanie proliferacji neointymy. Moc dawki w przedziale do 235 cGy/s jest efektywna i bezpieczna w zmniejszeniu restenozy po zabiegach PTCA.

IX. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Percutaneous transluminal coronary angioplasty is one of the methods to treat coronary artery disease. The main disadvantage of this therapy is restenosis within the dilated segment of the vessel. Brachytherapy after angioplasty is an effective technique to avoid this adverse effect. It utilizes radioactive isotopes placed in vessels subjected for radiation. Several experimental and clinical studies showed the efficacy of brachytherapy and established the dose of radiation. However no study was reported so far checking the effects of different dose rates.

Therefore the aim of this experiment is to check the effect of different dose rates on neointima proliferation utilizing P^{32} after PTCA, establish its role on vessel remodeling as well as to examine its safety (thrombosis and vessel injury).

METHOD: A total of 117 porcine arteries were subjected to toxicity, balloon injury or stenting followed by 20-235 cGy/s of intracoronary radiation (ICR) from a centered P^{32} source wire to 1 mm beyond lumen surface or a sham ICR procedure. After 4 weeks angiography and IVUS was performed, animals were euthanized and vessels were harvested for histomorphometry.

RESULTS: In the toxicity group lumen area (LA) ($2.15 \pm 1.01 \text{ mm}^2$ vs. control $1.46 \pm 0.35 \text{ mm}^2$, $p=\text{NS}$), internal (IEL) (2.24 ± 1.05 vs. control $1.47 \pm 0.35 \text{ mm}^2$, $p=\text{NS}$) and external (EEL) ($3.14 \pm 1.36 \text{ mm}^2$ vs. control $2.04 \pm 0.39 \text{ mm}^2$, $p=\text{NS}$) elastic lumina did not differ between irradiated group and control. However a strong correlation was observed in respect to the dose rate. In IVUS medium LA in control did not significantly change ($-0.36 \pm 1.16 \text{ mm}^2$). In irradiated arteries LA was higher after 4 weeks ($4.32 \pm 4.44 \text{ mm}^2$, $p=0.02$).

After balloon injury LA ($2.84 \pm 0.99 \text{ mm}^2$) and percent area stenosis (PAS) ($12.3 \pm 9\%$) was significantly higher as compared to control ($2.15 \pm 0.72 \text{ mm}^2$, $p < 0.02$ and $18 \pm 8\%$, $p < 0.05$, respectively). IEL ($3.31 \pm 1.18 \text{ mm}^2$ vs. control $2.69 \pm 1.02 \text{ mm}^2$, $p=\text{NS}$) and EEL ($4.26 \pm 1.51 \text{ mm}^2$ vs. control $3.66 \pm 1.24 \text{ mm}^2$, $p=\text{NS}$) were higher after ICR, yet did not reach statistical significance.

A strong correlation was observed between LA, IEL, EEL and dose rate.

In IVUS in the control group LA slightly decreased after 4 weeks ($-0.43 \pm 2.27 \text{ mm}^2$). After ICR LA ($3.08 \pm 3.8 \text{ mm}^2$, $p < 0.002$ vs. control) increased in arteries within an injured area, however there was no correlation with dose rate.

In stented vessels there was not difference in IEL ($7.71 \pm 1.22 \text{ mm}^2$) and EEL ($9.35 \pm 1.35 \text{ mm}^2$) as compared to control ($6.68 \pm 0.85 \text{ mm}^2$, $8.67 \pm 0.88 \text{ mm}^2$, $p = \text{NS}$, respectively)

Neointimal proliferation ($0.86 \pm 0.51 \text{ mm}^2$ vs. control $3.29 \pm 0.63 \text{ mm}^2$, $p < 0.0001$) and PAS ($11.1 \pm 7\%$ vs. control $50.3 \pm 13\%$, $p < 0.0001$) was significantly lower after ICR.

However no correlation exists between LA, IEL, EEL, PAS, neointimal proliferation and dose rate.

In IVUS within the stented area not-irradiated vessels had higher lumen loss then arteries subjected to ICR ($-2.88 \pm 0.86 \text{ mm}^2$ vs. $-0.48 \pm 1.39 \text{ mm}^2$, $p = 0.0003$, respectively).

CONCLUSIONS:

Brachytherapy is an effective method to decrease restenosis after PTCA;

No edge effect was observed;

Thrombus formation was more frequent after ICR;

Thrombosis did not exceed 50% of the vessel lumen and was related to wall injury;

Thrombosis did not correlate with dose rate;

In the toxicity group and after balloon injury dose rate had a big impact on vessels positive remodeling;

Inhibition of neointima proliferation was the main effect of brachytherapy in stented vessels;

Dose rate up to 235 cGy/s is safe and effective to reduce restenosis after PTCA.

X. PIŚMIENNICTWO

1. Albiero R, Nishida T, Adamian M, Amato A, Vaghetti M, Corvaja N et al. Edge restenosis after implantation of high activity (^{32}P) radioactive beta-emitting stents. *Circulation* 2000;101(21):2454-7.
2. Ali, N. M., Buergler, J. M., and Raizner, A. E. The effect of intracoronary β -radiation dose on neointimal formation and vascular remodeling after arterial injury in a porcine coronary restenosis model. *Circulation* 1998;98:I-676.
3. Ali NM, Kaluza G, Khan M, Mazur W, Fajardo L, Schulz DG et al. The effect of intracoronary β -radiation dose on neointimal formation and vascular remodeling in balloon injured porcine coronary arteries. Effect of dose rate. *J.Interven.Cardiol.* 1999;12:271-82.
4. Ali, N. M., Kaluza, G., Mazur, W., and Raizner, A. E. The effect of intracoronary β -radiation dose on neointimal formation and percent area stenosis in a stented porcine coronary restenosis model. *Am J Cardiol* 1998;82:21S.
5. Ashby DT, Dangas G, Mehran R, Lansky AJ, Narasimaiah R, Iakovou I et al. Comparison of clinical outcomes using stents versus no stents after percutaneous coronary intervention for proximal left anterior descending versus proximal right and left circumflex coronary arteries. *Am.J.Cardiol.* 2002;89(10):1162-6.
6. Carter AJ, Scott D, Bailey L, Hoopes T, Jones R, Virmani R. Dose-response effects of ^{32}P radioactive stents in an atherosclerotic porcine coronary model. *Circulation* 1999;100(14):1548-54.
7. Chan RC, Lacy JL, Bhargava B, Collins SD, Cates P, Cottin Y et al. Anti-restenotic effect of copper-62 liquid-filled balloon in porcine coronary arteries:

novel use of a short half-life positron emitter. *Int.J Radiat.Oncol.Biol.Phys.* 2000;48(2):583-92.

8. Colombo A, Drzewiecki J, Banning A, Grube E, Hauptmann K, Silber S et al. Randomized study to assess the effectiveness of slow- and moderate-release polymer-based paclitaxel-eluting stents for coronary artery lesions. *Circulation* 2003;108(7):788-94.
9. Finkelstein A, Hausleiter J, Doherty T, Takizawa K, Bergman J, Liu M et al. Intracoronary beta-irradiation enhances balloon-injury-induced tissue factor expression in the porcine injury model. *Int.J.Cardiovasc.Intervent.* 2004;6(1):20-7.
10. Friedman M, Felton L, Byers S. The antiatherogenic effects of Ir-192 upon the cholesterol-fed rabbit. *J Clin Invest* 1964;43:185-92.
11. Gellman, J., Healey, G., and Quingsheng, C. The effect of very low dose irradiation on restenosis following balloon angioplasty. A study in the atherosclerotic rabbit. *Circulation* 84, 46A-59A. 1991.
12. Grube E, Silber S, Hauptmann KE, Mueller R, Buellesfeld L, Gerckens U et al. TAXUS I: six- and twelve-month results from a randomized, double-blind trial on a slow-release paclitaxel-eluting stent for de novo coronary lesions. *Circulation* 2003;107(1):38-42.
13. Grube E, Silber S, Hauptmann KE, Mueller R, Buellesfeld L, Gerckens U et al. TAXUS I: six- and twelve-month results from a randomized, double-blind trial on a slow-release paclitaxel-eluting stent for de novo coronary lesions. *Circulation* 2003;107(1):38-42.
14. Hehrlein C, Kaiser S, Riessen R, Metz J, Fritz P, Kubler W. External beam radiation after stent implantation increases neointimal hyperplasia by augmenting smooth muscle cell proliferation and extracellular matrix accumulation. *J Am.Coll.Cardiol* 1999;34(2):561-6.

15. Hehrlein C, Stintz M, Kinscherf R, Schlosser K, Huttel E, Friedrich L et al. Pure beta-particle-emitting stents inhibit neointima formation in rabbits. *Circulation* 1996;93(4):641-5.
16. Hoher M, Wöhrle J, Wohlfrom M, Kamenz J, Nusser T, Grebe OC et al. Intracoronary beta-irradiation with a rhenium-188-filled balloon catheter: a randomized trial in patients with de novo and restenotic lesions. *Circulation* 2003;107(24):3022-7.
17. Kaluza, G. L., Zymek, P., Schulz, D. G., Raizner, A. E., and Ali, N. M. Is "geographic miss" the mechanism of the edge effect after intracoronary radiation? *Am J Cardiol* 2000;86:126i.
18. Kiemeneij F, Serruys PW, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Albertsson P et al. Continued benefit of coronary stenting versus balloon angioplasty: five-year clinical follow-up of Benestent-I trial. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2001;37(6):1598-603.
19. Kim, H-S., Cho, Y-H., Oh, Y-T., Adamian, M., Chun, M-S., Joh, C-W., Park, C-H., Choi, B-I. W., Kim, Y-M., and Park, K.-B. Transcatheter intracoronary radiation using holmium-166 for the prevention of neointimal formation and restenosis. *Am J Cardiol* 1999;82:77S.
20. King SB, Williams DO, Chougule P, Klein JL, Waksman R, Hilstead R et al. Endovascular beta-radiation to reduce restenosis after coronary balloon angioplasty: results of the beta energy restenosis trial (BERT). *Circulation* 1998;97(20):2025-30.
21. Lansky AJ, Costa RA, Mintz GS, Tsuchiya Y, Midei M, Cox DA et al. Non-polymer-based paclitaxel-coated coronary stents for the treatment of patients with de novo coronary lesions: angiographic follow-up of the DELIVER clinical trial. *Circulation* 2004;109(16):1948-54.

22. Lansky, A. J., Mehran, R., Crocker, I. R., Speiser, B., Teirstein, P. S., Bass, T. A., Silber, S., Rutherford, B. D., Cox, D. A., Laskey, W. K., and Kuntz, R. E. The edge effect: the impact of vessel injury and dose fall-off after the treatment of in-stent restenosis with Sr-90 radiation. Results from the START trial. *Circulation* 102(18), II-669. 2000.
23. Leon MB, Teirstein PS, Moses JW, Tripuraneni P, Lansky AJ, Jani S et al. Localized intracoronary gamma-radiation therapy to inhibit the recurrence of restenosis after stenting. *N.Engl.J.Med.* 2001;344(4):250-6.
24. Mazur W, Ali MN, Khan MM, Dabaghi SF, DeFelice CA, Paradis PJ et al. High dose rate intracoronary radiation for inhibition of neointimal formation in the stented and balloon-injured porcine models of restenosis: angiographic, morphometric, and histopathologic analyses. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.* 1996;36(4):777-88.
25. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban HE, Perin M et al. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N.Engl.J.Med.* 2002;346(23):1773-80.
26. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban HE, Perin M et al. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N.Engl.J.Med.* 2002;346(23):1773-80.
27. Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C et al. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N.Engl.J.Med.* 2003;349(14):1315-23.
28. Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C et al. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N.Engl.J.Med.* 2003;349(14):1315-23.

29. Popma JJ, Suntharalingam M, Lansky AJ, Heuser RR, Speiser B, Teirstein PS et al. Randomized trial of $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ beta-radiation versus placebo control for treatment of in-stent restenosis. *Circulation* 2002;106(9):1090-6.
30. Robinson KA. Animal models to study restenosis. In: Waksman R, editor. *Vascular brachytherapy*. 2nd ed. Armonk, NY: Futura Publishing Co.; 1999. p. 31-41.
31. Robinson, K. A., Pipes, D. W., Van Bibber, R., Ferguson, M., Cui, J., Verheye, S., Salame, M., Fox, T., Crocker, I. R., McDonald, J., Smith, E., Mazerika, J., King III, S. B., and Chronos, N. A. F. β -emitting ^{186}Re rhenium liquid-filled balloon catheter for endovascular irradiation to prevent restenosis: safety and efficacy preclinical studies. *J Am.Coll.Cardiol* 1999;33:43A.
32. Sabate M, Costa MA, Serruys PW. European clinical trials. In: Waksman R, Serruys PW, editors. *Handbook of vascular brachytherapy*. 2nd ed. London, UK: Martin Dunitz Ltd.; 2000. p. 191-201.
33. Schwartz RS. Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia, and/or remodeling. *Am.J.Cardiol.* 1998;81(7A):14E-7E.
34. Schwartz RS. Animal models of human coronary restenosis. In: Topol EJ, editor. *Textbook of interventional cardiology*. 3rd ed. Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co.; 1999. p. 358-78.
35. Schwartz RS, Henry TD. Pathophysiology of coronary artery restenosis. *Rev.Cardiovasc.Med.* 2002;3 Suppl 5:S4-S9.
36. Serruys PW, Sianos G, van der GW, Bonnier HJ, Urban P, Wijns W et al. Intracoronary beta-radiation to reduce restenosis after balloon angioplasty and stenting; the Beta Radiation In Europe (BRIE) study. *Eur.Heart J.* 2002;23(17):1351-9.

37. Shah VM, Mintz GS, Apple S, Weissman NJ. Background incidence of late malapposition after bare-metal stent implantation. *Circulation* 2002;106(14):1753-5.
38. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto IM et al. Lack of Neointimal Proliferation After Implantation of Sirolimus-Coated Stents in Human Coronary Arteries : A Quantitative Coronary Angiography and Three-Dimensional Intravascular Ultrasound Study. *Circulation* 2001;103(2):192-5.
39. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto IM et al. Lack of neointimal proliferation after implantation of sirolimus-coated stents in human coronary arteries: a quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. *Circulation* 2001;103(2):192-5.
40. Sousa JE, Costa MA, Sousa AG, Abizaid AC, Seixas AC, Abizaid AS et al. Two-year angiographic and intravascular ultrasound follow-up after implantation of sirolimus-eluting stents in human coronary arteries. *Circulation* 2003;107(3):381-3.
41. Sousa JE, Costa MA, Sousa AG, Abizaid AC, Seixas AC, Abizaid AS et al. Two-year angiographic and intravascular ultrasound follow-up after implantation of sirolimus-eluting stents in human coronary arteries. *Circulation* 2003;107(3):381-3.
42. Stoll HP, Hutchins GD, Winkle WL, Nguyen AT, Hou D, Appledorn CR et al. Liquid-filled balloon brachytherapy using (68)Ga is effective and safe because of the short 68-minute half-life: results of a feasibility study in the porcine coronary overstretch model. *Circulation* 2001;103(13):1793-8.
43. Tanabe K, Serruys PW, Degertekin M, Guagliumi G, Grube E, Chan C et al. Chronic arterial responses to polymer-controlled paclitaxel-eluting stents: comparison with bare metal stents by serial intravascular ultrasound analyses: data from the randomized TAXUS-II trial. *Circulation* 2004;109(2):196-200.

44. Tanabe K, Serruys PW, Grube E, Smits PC, Selbach G, van der Giessen WJ et al. TAXUS III Trial: in-stent restenosis treated with stent-based delivery of paclitaxel incorporated in a slow-release polymer formulation. *Circulation* 2003;107(4):559-64.
45. Taylor AJ, Gorman PD, Farb A, Hoopes TG, Virmani R. Long-term coronary vascular response to (32)P beta-particle-emitting stents in a canine model. *Circulation* 1999;100(23):2366-72.
46. Teirstein PS, Massullo V, Jani S, Popma JJ, Mintz GS, Russo RJ et al. Catheter-based radiotherapy to inhibit restenosis after coronary stenting . *N.Engl.J.Med.* 1997;336(24):1697-703.
47. Teirstein PS, Massullo V, Jani S, Popma JJ, Russo RJ, Schatz RA et al. Three-year clinical and angiographic follow-up after intracoronary radiation: results of a randomized clinical trial. *Circulation* 2000;101(4):360-5.
48. van den Brand MJ, Rensing BJ, Morel MA, Foley DP, de V, V, Breeman A et al. The effect of completeness of revascularization on event-free survival at one year in the ARTS trial. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2002;39(4):559-64.
49. Verin V, Popowski Y, Urban P, Belenger J, Redard M, Costa M et al. Intra-arterial beta irradiation prevents neointimal hyperplasia in a hypercholesterolemic rabbit restenosis model. *Circulation* 1995;92(8):2284-90.
50. Verin V, Urban P, Popowski Y, Schwager M, Nouet P, Dorsaz PA et al. Feasibility of intracoronary beta-irradiation to reduce restenosis after balloon angioplasty. A clinical pilot study. *Circulation* 1997;95(5):1138-44.
51. Vodovotz Y, Waksman R, Kim WH, Bhargava B, Chan RC, Leon M. Effects of intracoronary radiation on thrombosis after balloon overstretch injury in the porcine model. *Circulation* 1999;100(25):2527-33.

52. Waksman R. and the LONG WRIST Investigators. The Results of the LONG WRIST Trial. Presented at the 49th Annual Scientific Sessions of the ACC. Anaheim, CA, 2000. 2004.
53. Waksman R, Ajani AE, Pinnow E, Cheneau E, Leborgne L, Dieble R et al. Twelve versus six months of clopidogrel to reduce major cardiac events in patients undergoing gamma-radiation therapy for in-stent restenosis: Washington Radiation for In-Stent restenosis Trial (WRIST) 12 versus WRIST PLUS. *Circulation* 2002;106(7):776-8.
54. Waksman, R., Bhargava, B., Taaffe, M., White, R. L., Satler, L. F., Mehran, R., Kent, K. M., Pichard, A. D., Elsayyad, S., Okubagzi, P., Lansky, A. J., and Nigoita, M. Prolonged antiplatelet therapy to reduce late thrombosis after intracoronary gamma radiation in patients with in-stent restenosis: "Plavix Wrist". *Circulation* 2000;102:II-570.
55. Waksman R, Bhargava B, White L, Chan RC, Mehran R, Lansky AJ et al. Intracoronary beta-radiation therapy inhibits recurrence of in-stent restenosis. *Circulation* 2000;101(16):1895-8.
56. Waksman, R., Chan, R. C., Vodovotz, Y., Bass, B. G., and Apple, M. C. Radioactive 133-xenon gas-filled balloon to prevent restenosis: efficacy, dosimetry and safety considerations. *J Am.Coll.Cardiol* 1999;53:55A.
57. Waksman R, Raizner AE, Yeung AC, Lansky AJ, Vandertie L. Use of localised intracoronary beta radiation in treatment of in-stent restenosis: the INHIBIT randomised controlled trial. *Lancet* 2002;359(9306):551-7.
58. Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, Gravanis MB, Cipolla GD, King SB. Endovascular low-dose irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in swine. A possible role for radiation therapy in restenosis prevention. *Circulation* 1995;91(5):1533-9.

59. Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, Gravanis MB, Palmer SJ, Wang C et al. Intracoronary radiation before stent implantation inhibits neointima formation in stented porcine coronary arteries. *Circulation* 1995;92(6):1383-6.
60. Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, Wang C, Gravanis MB, Cipolla GD et al. Intracoronary low-dose beta-irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in the swine restenosis model. *Circulation* 1995;92(10):3025-31.
61. Waksman R, White RL, Chan RC, Bass BG, Geirlach L, Mintz GS et al. Intracoronary gamma-radiation therapy after angioplasty inhibits recurrence in patients with in-stent restenosis. *Circulation* 2000;101(18):2165-71.
62. Wardeh AJ, Albiero R, Kay IP, Knook AH, Wijns W, Kozuma K et al. Angiographical follow-up after radioactive "Cold Ends" stent implantation: a multicenter trial. *Circulation* 2002;105(5):550-3.
63. Weinberger J, Amols H, Ennis RD, Schwartz A, Wiedermann JG, Marboe C. Intracoronary irradiation: dose response for the prevention of restenosis in swine. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.* 1996;36(4):767-75.
64. Weinberger J, Giedd KN, Simon AD, Marboe C, Knapp FF, Trichter F et al. Radioactive beta-emitting solution-filled balloon treatment prevents porcine coronary restenosis. *Cardiovascular Radiation Medicine* 1999;1(3):252-6.
65. Weissman NJ, Wilensky RL, Tanguay J, Bartorelli AL, Moses J, Williams DO et al. Extent and distribution of in-stent intimal hyperplasia and edge effect in a non-radiation stent population. *Am.J Cardiol.* 2001;88(3):248-52.
66. Wiedermann JG, Marboe C, Amols H, Schwartz A, Weinberger J. Intracoronary irradiation markedly reduces restenosis after balloon angioplasty in a porcine model. *J Am Coll Cardiol* 1994;23(6):1491-8.
67. Wilczek K, Walichiewicz P, Petelenz B, Jache W, Jochem J, Tomasik A et al. Post-stenting intravascular brachytherapy trials on hypercholesterolemic rabbits

using ³²P liquid sources: implications for prevention of in-stent restenosis. *Cardiovasc.Intervent.Radiol.* 2002;25(4):307-13.

68. Zymek, P. T., Kaluza, G. L., and Raizner, A. E. Intracoronary radiation for in-stent restenosis: What we have learned from clinical trials. *Emodinamica* 26, 2-6. 2001.

XI. WYKAZ RYCIN I TABEL

Ryciny

Ryc. 1. Pomiary morfometryczne tętnic wieńcowych.

Ryc. 2. Pole powierzchni światła naczynia vs moc dawki w grupie bez uszkodzenia

Ryc.3. Pole powierzchni IEL vs moc dawki w grupie bez uszkodzenia

Ryc. 4. Pole powierzchni EEL vs moc dawki w grupie bez uszkodzenia

Ryc. 5. Poprzeczne przekroje naczyń w różnych mocach dawki w grupie bez uszkodzenia.

Ryc. 6. Zakrzep vs moc dawki w grupie bez uszkodzenia.

Ryc. 7. Zmiana pola powierzchni światła naczynia po 4 tygodniach w badaniu IVUS w grupie bez uszkodzenia.

Ryc. 8. Pole powierzchni światła naczynia vs moc dawki w grupie poddanej angioplastyce balonowej.

Ryc. 9. Pole powierzchni IEL vs moc dawki w grupie poddanej angioplastyce balonowej.

Ryc. 10. Pole powierzchni EEL vs moc dawki w grupie poddanej angioplastyce balonowej.

Ryc. 11. Poprzeczne przekroje naczyń w różnych mocach dawki w grupie poddanej balonowej angioplastyce.

Ryc. 12. Zakrzep vs moc dawki w grupie poddanej angioplastyce balonowej.

Ryc. 13. Zmiana pola powierzchni światła naczynia po 4 tygodniach w badaniu IVUS w grupie poddanej angioplastyce balonowej.

Ryc.14. Pole powierzchni światła naczynia vs moc dawki w grupie z implantowanym stentem.

Ryc.15. Pole powierzchni IEL vs moc dawki w grupie z implantowanym stentem.

Ryc.16. Pole powierzchni EEL vs moc dawki w grupie z implantowanym stentem.

Ryc. 17. Zakrzep vs moc dawki w grupie z implantowanym stentem.

Ryc. 18. Zmiana pola powierzchni światła naczynia po 4 tygodniach w badaniu IVUS w grupie z implantowanym stentem.

Tabele

Tab. 1. Naczynia bez uszkodzenia.

Tab. 2. Naczynia poddane balonowej angioplastyce

Tab. 3. Naczynia poddane stentowaniu

Tab. 4. Pomiary dystalnych i proksymalnych odcinków w naczyniach poddanych stentowaniu.