

# La angiogénesis en la ateromatosis carotídea se asocia con los acontecimientos neurológicos isquémicos y la presencia de infarto cerebral en la tomografía computarizada en el hemisferio cerebral homolateral

Reza Mofidi<sup>1</sup>, Thomas I. Powell<sup>2</sup>, Thomas Crotty<sup>3</sup>, Denis Mehigan<sup>1</sup>, Donal MacErlaine<sup>2</sup>  
y Thomas V. Keaveny<sup>1</sup>, Dublín, Irlanda

Estudiamos la asociación entre la vascularización de la placa, momento de los síntomas neurológicos y oculares y presencia de infarto cerebral en el hemisferio homolateral en la tomografía computarizada (TC) preoperatoria. Se incluyeron de forma consecutiva los pacientes sometidos a endarterectomía carotídea por estenosis carotídea. En todos los pacientes se efectuó TC cerebral sin contraste. De las muestras de endarterectomía carotídea se obtuvieron cortes histológicos y se tiñeron con un marcador de la célula endotelial (CD34). Se efectuaron recuentos de microvasos en los cortes teñidos con CD34 y se verificaron a través de un análisis de imágenes computarizado. Se evaluaron las asociaciones entre la densidad de los microvasos en las placas ateroscleróticas carotídeas, pruebas TC de infarto cerebral homolateral preoperatorio, y momento de los acontecimientos neurológicos y oculares homolaterales. Se sometieron a endarterectomía carotídea 73 pacientes, de ellos 17 se encontraban sintomáticos en los 30 días previos al procedimiento, 11 eran asintomáticos y otros 45 presentaron un intervalo preoperatorio libre de síntomas de 31-540 días (mediana = 56). En 18 pacientes (24,6%) se detectaron pruebas TC de infarto cerebral. En éstos se observaron recuentos de microvasos significativamente mayores en las placas de ateroma homolaterales al hemisferio correspondientes en comparación a los controles ( $p = 0,02$ ). Se detectó una relación inversa entre la densidad de los microvasos en las lesiones ateroscleróticas y el momento de los acontecimientos neurológicos isquémicos (*odds ratio* [OR] = 4,63, intervalo de confianza [IC] del 95% 2,95-7,28,  $p < 0,001$ ). Esta relación fue independiente de la edad del paciente (OR = 1,03, IC del 95% 0,55-1,99,  $p = 0,70$ ), sexo (OR = 1,18, IC del 95% 0,47-2,05,  $p = 0,56$ ), tabaquismo (OR = 1,07, IC del 95% 0,54-2,09,  $p = 0,84$ ), diabetes (OR = 0,90, IC del 95% 0,45-1,79,  $p = 0,76$ ) e hipercolesterolemia (OR = 0,98, IC del 95% 0,68-1,11,  $p = 0,88$ ). El presente estudio confirma la relación entre la angiogénesis en las lesiones ateroscleróticas carotídeas y el desarrollo y la cronología de acontecimientos neurológicos hemisféricos homolaterales.

## INTRODUCCIÓN

Los procesos inflamatorios, el remodelado arterial y la proliferación de células musculares lisas son

características predominantes de las lesiones ateroscleróticas activas y es bien conocido que son responsables de la rotura de la cápsula fibrosa de la placa y

DOI of original article: 10.1016/j.avsg.2007.11.003.

<sup>1</sup>Department of Vascular Surgery, St. Vincent's University Hospital, Elm Park, Dublín, República de Irlanda.

<sup>2</sup>Department of Diagnostic Imaging, St. Vincent's University Hospital, Elm Park, Dublín, República de Irlanda.

<sup>3</sup>Department of Pathology, St. Vincent's University Hospital, Elm Park, Dublín, República de Irlanda.

Correspondencia: Reza Mofidi, 27-14 Hawthornbank Lane, Dean, Edimburgo EH4-3BH, Reino Unido. Correo electrónico: rmofidi@doctors.net.uk

Ann Vasc Surg 2008; 22: 266-272

DOI: 10.1016/j.avsp.2008.05.018

© Annals of Vascular Surgery Inc.

Publicado en la red: 17 de marzo de 2008

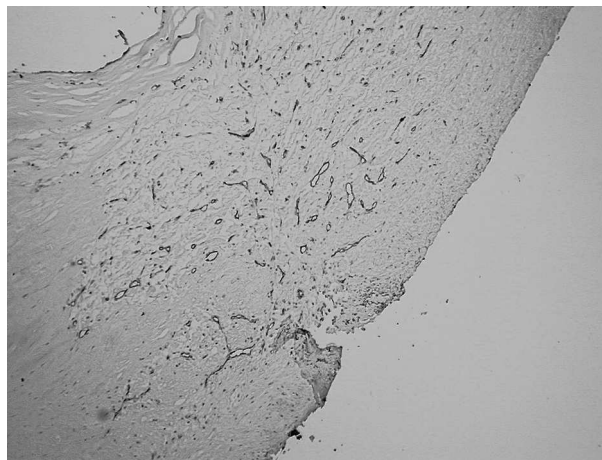
del desarrollo de acontecimientos neurológicos isquémicos<sup>1,2</sup>. Estos procesos dan lugar a un aumento de la actividad metabólica en las lesiones ateroscleróticas inestables. La inestabilidad de la placa aterosclerótica es un proceso dinámico que tiene lugar concurrentemente con los procesos de reparación, que se traducen en el desarrollo de una cápsula de la placa aterosclerótica estable y una disminución de ictus<sup>2</sup>. En muchos pacientes que han experimentado isquemia cerebral, u ocular, de probable origen carotídeo la manifestación clínica de este último proceso es que, con el paso del tiempo y un tratamiento médico apropiado, disminuye el riesgo de acontecimientos neurológicos recurrentes<sup>3</sup>. Esto se atribuye a la estabilización de la cápsula fibrosa de la placa aterosclerótica.

La angiogénesis es una característica reconocida de la aterogénesis<sup>4</sup> (fig. 1) y se ha relacionado con el desarrollo de inestabilidad de la placa y síndromes clínicos asociados<sup>5-7</sup>. Los estudios de muestras de endarterectomía carotídea han revelado una potente asociación entre la angiogénesis en las placas ateroscleróticas carotídeas y los síntomas neurológicos homolaterales, inestabilidad de la placa y pruebas intraoperatorias de embolización cerebral<sup>5,8</sup>. Además, el análisis de la expresión génica ha revelado un aumento de la expresión de los genes angiogénicos en placas carotídeas obtenidas a partir de pacientes con acontecimientos neurológicos homolaterales comparado con asintomáticos<sup>9</sup>. No obstante, todavía no se ha dilucidado la relación temporal entre la angiogénesis y el desarrollo de acontecimientos neurológicos isquémicos.

El objetivo del presente estudio fue examinar la relación entre la angiogénesis en muestras de endarterectomía carotídea y la cronología de los síntomas homolaterales al igual que las pruebas de infarto cerebral en la tomografía computarizada (TC) preoperatoria en pacientes con estenosis significativa de la carótida.

## MÉTODOS

En el estudio se incluyeron pacientes consecutivos sometidos a endarterectomía carotídea. Antes del estudio, se obtuvo el permiso del comité de investigación del hospital al igual que el consentimiento informado de todos los pacientes. Estos se sometieron a una TC cerebral sin contraste preoperatoria. El grado de estenosis de la arteria carótida interna (ACI) se determinó mediante eco-Doppler y angiografía intraarterial desde el cayado aórtico. El grado de estenosis de la ACI se calculó comparando la luz



**Fig. 1.** Visión del hombro de una placa aterosclerótica con un aumento  $\times 100$ . Obsérvese que los nuevos vasos sanguíneos teñidos de color pardo indican la expresión del marcador de la célula endotelial CD34.

angiográfica residual con el diámetro de la ACI distal normal<sup>10</sup>.

## TC cerebral

En todos los pacientes se efectuó una TC cerebral sin contraste utilizando un escáner Siemens *Somatom* plus 4 CT (cortes de 8 mm de grosor, intervalo de cortes 8 mm) (Siemens, Malvern, PA). Una investigación positiva se definió como una TC que mostró un infarto cerebral homolateral a la endarterectomía carotídea. Se estableció un diagnóstico de este proceso si se visualizaron áreas de baja atenuación que afectaban tanto a la sustancia gris como a la blanca o si se visualizaron áreas focales de encefalomalacia. En un contexto agudo, se estableció un diagnóstico de infarto cerebral precoz si se identificó una arteria hiperatenuada asociada con la pérdida de la interfase sustancia gris:blanca a lo largo de la ínsula lateral o entre los ganglios basales.

## Preparación de las muestras histológicas

Inmediatamente después de la cirugía, las muestras de endarterectomía carotídea se introdujeron en suero fisiológico. Se prepararon bloques de parafina transversales a partir de cada lesión aterosclerótica. De cada lesión se obtuvieron múltiples cortes transversales que se tiñeron con hematoxilina y eosina e inmunohistoquímicamente con anticuerpos monoclonales frente a un marcador de la célula endotelial (CD34, clona Q-Bend; DaKo, Carpinteria, CA). Se efectuó una segunda tinción con anticuerpos usando un equipo de tinción con el complejo avidina-biotina (Vector Laboratories, Burlingame, CA). Como cromógeno, se utilizó diaminobencidina

(DAB). Previamente se ha proporcionado una descripción más detallada de la preparación de las muestras de endarterectomía carotídea<sup>5</sup>.

Un observador efectuó los recuentos de microvasos que se verificaron a través del uso de un sistema de análisis digital de imagen, cuya metodología ha sido descrito con anterioridad<sup>5</sup>. El recuento de microvasos para cada corte de placa aterosclerótica se dividió por el área cubierta por dicho corte con el objetivo de calcular la densidad de microvasos, que se expresó como microvasos por centímetro cuadrado del corte de placa.

El análisis estadístico se efectuó utilizando el programa informático SPSS versión 10 (SPSS Inc., Chicago, IL). Para evaluar la significación estadística de las diferencias en los recuentos de microvasos de las lesiones ateroscleróticas obtenidas de pacientes sintomáticos y asintomáticos y de pacientes con pruebas de infarto cerebral homolateral en la TC y pacientes sin dichas pruebas, se utilizó la prueba de Mann-Whitney. La asociación entre el tiempo transcurrido entre la endarterectomía carotídea y los últimos síntomas y la densidad de los microvasos de la lesión aterosclerótica estudiada se evaluó utilizando un análisis univariado de regresión lineal. Para estudiar las asociaciones entre el momento de los síntomas antes de la endarterectomía carotídea (como variable dependiente), densidad de microvasos, y factores de riesgo de aterosclerosis se utilizó un análisis de regresión logística multivariado.

## RESULTADOS

Se sometieron a endarterectomía carotídea 73 pacientes (42 hombres y 31 mujeres). La edad mediana de los pacientes fue de 71 años (límites de edad: 50-87). Se encontraban sintomáticos en un plazo de 30 días antes de la endarterectomía carotídea 17 pacientes (23,3%) y 11 (15,1%) no tenían antecedentes de síntomas oculares o neurológicos homolaterales. Los 45 pacientes restantes presentaron un intervalo preoperatorio libre de síntomas de 31-540 días (mediana = 56). En la tabla I se muestra la naturaleza de los síntomas de los pacientes antes de la endarterectomía carotídea. Recibían tratamiento para la hipertensión arterial 58 pacientes (81,7%), y 66 (90,4%) eran tratados con antiagregantes plaquetarios, 28 de los cuales (38,4%) recibían un tratamiento combinado. Otros seis pacientes recibían dosis completas de tratamiento anticoagulante. La concentración plasmática mediana preoperatoria de colesterol fue de 4,4 mmol/l (límites 2,9-7,3). En el momento de su derivación para el procedimiento carotídeo eran tratados con un inhibidor de la HMG-coenzima A reductasa 56 pacientes (76,7%). El

**Tabla I.** Naturaleza de los síntomas de los pacientes antes de la endarterectomía carotídea

	Número	(%)
Asintomáticos	11	15,1
Amaurosis fugaz	14	19,2
Accidentes isquémicos transitorios (AIT)	35	47,9
AIT en progresión	2	2,7
Ictus con restablecimiento funcional	11	15,1
Total	73	100

tiempo mediano entre los últimos síntomas homolaterales y el procedimiento fue de 43 días (límites 1-540). En el momento de la última derivación para la endarterectomía carotídea 26 pacientes (35,6%) continuaban siendo fumadores y 21 (28,8%) experimentaban diabetes mellitus.

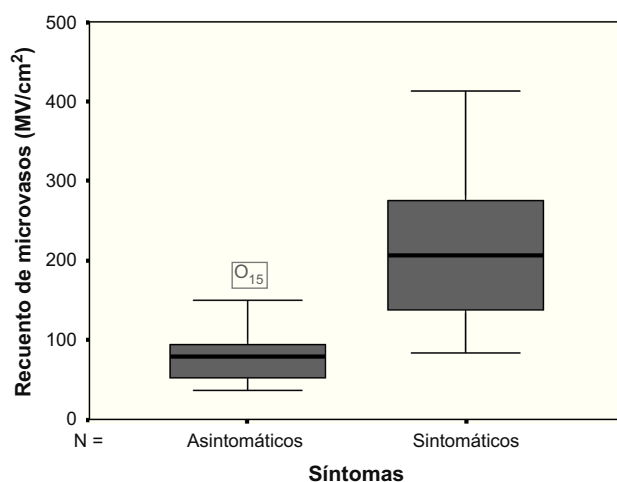
En 18 pacientes (24,7%) se identificaron pruebas de infarto cerebral y en 55 (75,3%), la TC cerebral preoperatoria no reveló pruebas de un acontecimiento isquémico homolateral previo. No se observó una diferencia en el grado de estenosis de la ACI entre pacientes sintomáticos (mediana 71, límites 60-91) y asintomáticos (mediana 75, límites 65-99) ( $p = 0,42$ ). De forma parecida, no hubo diferencias significativas en el grado de estenosis de este vaso entre pacientes con pruebas preoperatorias de infarto cerebral (mediana = 73, límites 66-99) y pacientes sin dichas pruebas (mediana = 70, límites 60-95) ( $p = 0,26$ ).

Se observaron mayores recuentos de microvasos en placas ateroscleróticas obtenidas de pacientes sintomáticos comparado con los asintomáticos antes de la cirugía ( $p < 0,001$ ) (fig. 2). Se observaron recuentos de microvasos significativamente mayores en placas ateroscleróticas obtenidas de pacientes con pruebas de infarto cerebral (209,3 microvasos/cm<sup>2</sup>, límites 144-467,3) en la TC preoperatoria comparado con pacientes sin ellas (138,5 microvasos/cm<sup>2</sup>, límites 78,5-385,3) ( $p = 0,02$ ) (fig. 3).

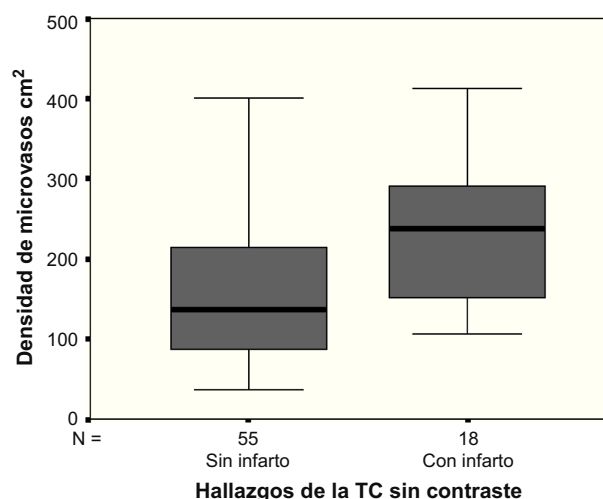
Hubo una relación inversa entre la densidad de los microvasos de las lesiones ateroscleróticas estudiadas y el tiempo transcurrido entre la endarterectomía carotídea y los últimos síntomas neurológicos u oculares ( $r^2 = 0,264$ ,  $p < 0,001$ ) (fig. 4). Esta relación fue independiente de la edad, sexo, antecedentes de tabaquismo en el momento del acontecimiento neurológico, diabetes y concentración plasmática de colesterol (tabla II).

## DISCUSIÓN

La angiogenesis se ha reconocido como una característica prominente de las lesiones ateroscleróticas<sup>11-</sup>



**Fig. 2.** Recuentos de microvasos (por centímetro cuadrado) en las lesiones ateroscleróticas obtenidas de pacientes asintomáticos comparado con sintomáticos. Las líneas negras gruesas representan valores medianos, los cuadros representan el límite intercuartil, y las líneas horizontales representan los valores extremos.



**Fig. 3.** Densidad de microvasos en pacientes con pruebas TC de infarto cerebral y en aquéllos sin ellas. Las líneas negras gruesas representan valores medianos, los cuadros representan el límite intercuartil, y las líneas horizontales representan los valores extremos. TC: tomografía computarizada.

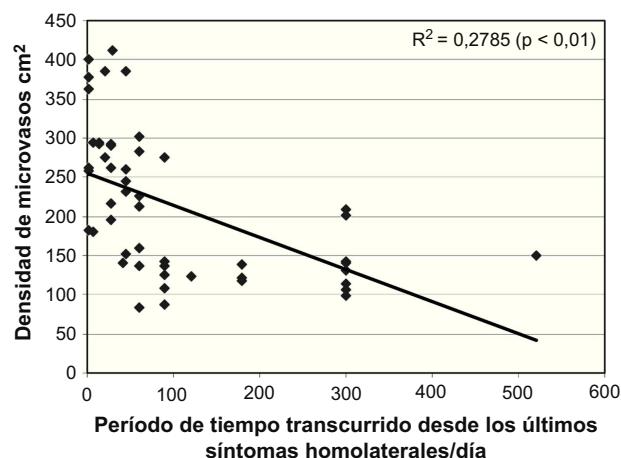
<sup>14</sup>. En los estudios efectuados en muestras de aterectomía coronaria se ha descrito una potente asociación entre la angiogénesis de las lesiones ateroscleróticas coronarias y el desarrollo de angina inestable e infarto de miocardio<sup>7,8</sup>. En las lesiones ateroscleróticas obtenidas de muestras de endarterectomía carotídea la densidad de los microvasos se ha asociado con antecedentes de síntomas neurológicos homolaterales<sup>5,8</sup>. Más recientemente, Koutouzis et al<sup>15</sup> describieron que en pacientes tratados con un inhibidor de la HMG-coenzima A reductasa, en este tipo de lesiones se identifica una menor densidad de microvasos. Sin embargo, nuestro trabajo es el primer estudio que describe una relación entre el momento de los síntomas neurológicos homolaterales y la densidad de los microvasos en las lesiones ateroscleróticas de la carótida.

En el presente estudio hubo una relación inversa entre el tiempo transcurrido entre el último síntoma neurológico homolateral y la endarterectomía carotídea y la densidad de microvasos en las placas ateroscleróticas (fig. 4). Esta relación es muy significativa porque el momento de los síntomas neurológicos es un marcador indirecto del riesgo de desarrollar acontecimientos neurológicos homolaterales adicionales<sup>3</sup>. Los ensayos aleatorizados controlados sobre endarterectomía carotídea comparado con el mejor tratamiento médico han descrito que el riesgo de ictus con tratamiento médico tras un episodio isquémico transitorio o un ictus menor disminuye rápidamente durante el año posterior<sup>3</sup>. El análisis de los datos combinados del European Carotid

Surgery Trial y el North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial ha revelado una asociación directa entre el riesgo de ictus y el momento entre la aleatorización y el último acontecimiento neurológico<sup>3</sup>.

La relación inversa entre el momento de los acontecimientos neurológicos isquémicos y la densidad de microvasos es una prueba adicional de que la angiogénesis es una característica de las lesiones ateroscleróticas inestables, activas. También sugiere que acontece una angiogénesis significativa cerca del momento de los episodios de inestabilidad de la placa que puede regresar con el tiempo a medida que se remodela la lesión aterosclerótica y progresivamente se hace más estable. Tureyen et al<sup>9</sup> documentaron un aumento de la expresión del gen angiogénico en muestras de placas carotídeas obtenidas de pacientes con acontecimientos neurológicos homolaterales comparado con pacientes asintomáticos. Observaciones previas han puesto de relieve que el grado de angiogénesis se relaciona con la presencia de características de inestabilidad de la placa, sin diferencias significativas en la densidad de microvasos entre las placas fibrolipídicas estables y las lesiones ateroscleróticas precoces<sup>9</sup>.

En la presente investigación, describimos una densidad de los microvasos significativamente mayor en las muestras de lesiones ateroscleróticas obtenidas de pacientes con pruebas TC de infarto cerebral. Dichas pruebas se han asociado con un mayor riesgo de ictus homolateral, mayor grado de estenosis de la ACI y presencia de ulceración de la



**Fig. 4.** Relación entre los últimos síntomas neurológicos homolaterales y la endarterectomía carotídea (en días) y la densidad de microvasos en las lesiones ateroscleróticas carotídeas obtenidas durante la endarterectomía.

cápsula fibrosa de la placa<sup>16</sup>. En un estudio a gran escala efectuado en pacientes sometidos a endarterectomía carotídea, Cao et al<sup>17</sup> describieron una tasa de supervivencia menor y un intervalo más breve libre de ictus en pacientes con infarto cerebral documentado en la TC cerebral. Este mismo grupo describió una menor tasa de supervivencia y un intervalo libre de ictus más reducido en pacientes asintomáticos que no habían sido tratados quirúrgicamente y en los que se detectó un infarto homolateral en la TC cerebral<sup>18</sup>. Los datos del ensayo Asymptomatic Carotid Stenosis Trial confirman las observaciones mencionadas previamente<sup>19,20</sup>.

El significado de la angiogénesis en la estenosis carotídea puede residir en su relación con el desarrollo de una hemorragia intraplaca, que se supone que da lugar al desarrollo de la inestabilidad y rotura a través de un aumento súbito de su volumen<sup>21</sup>. La presencia y la cantidad de hemorragia intraplaca en muestras de endarterectomía carotídea se han asociado estrechamente con la presencia y el momento de los acontecimientos neurológicos preoperatorios y el grado de estenosis de la ACI<sup>5,11,22</sup>. Esta hipótesis podría contribuir a explicar la observación de que en las placas ateroscleróticas obtenidas de pacientes con patología oclusiva carotídea sintomática los vasos sanguíneos son de forma irregular y con un área transversal mayor comparado con los obtenidos de pacientes asintomáticos antes de la endarterectomía<sup>11</sup>. Un estudio reciente de Dunmore et al<sup>22</sup> reveló que las lesiones ateroscleróticas obtenidas de pacientes con estenosis sintomática de la ACI contienen nuevos vasos sanguíneos dismórficos e irregulares que carecen de células musculares lisas

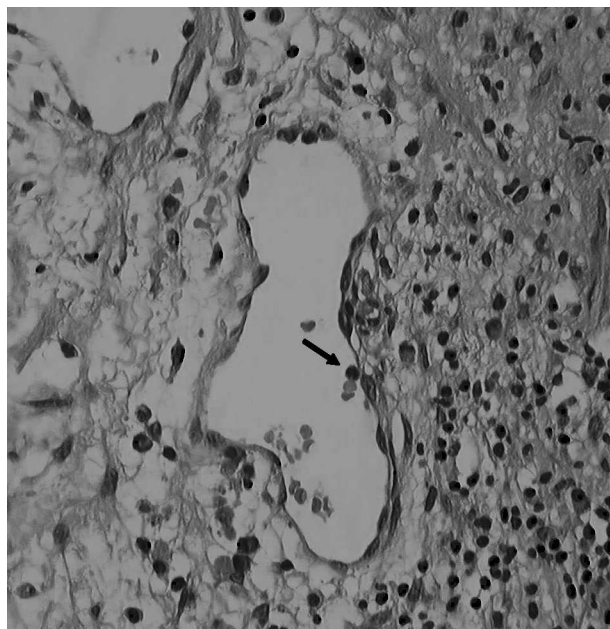
**Tabla II.** Asociación entre el momento de los últimos síntomas antes de la cirugía, densidad de microvasos en lesiones ateroscleróticas y factores de riesgo de aterosclerosis

Variable	Odds ratio	Intervalo de confianza del 95%	Valor de <i>p</i>
Densidad de microvasos	4,63	2,95-7,28	< 0,0001
Edad	1,03	0,55-1,99	0,70
Sexo	1,18	0,47-2,05	0,56
Tabaquismo	1,07	0,54-2,09	0,84
Diabetes	0,90	0,45-1,79	0,76
Hipercolesterolemia	0,98	0,68-1,11	0,88

comparado con los nuevos vasos sanguíneos bien desarrollados observados en pacientes asintomáticos.

El examen microscópico de la neovascularización en las lesiones ateroscleróticas demostró que los microvasos de la placa se encuentran en estrecha proximidad con la infiltración de monocitos y macrófagos en las placas ateroscleróticas<sup>13,23</sup> (fig. 5). Esta observación, junto con la mayor expresión de E-selectina, molécula 1 de adhesión intercelular (ICAM-1), y molécula 1 de adhesión de la célula vascular (VCAM-1) en áreas de vascularización de la placa, sugiere que la neovascularización en la placa aterosclerótica participa íntimamente en el proceso inflamatorio y puede ser el lugar predominante de reclutamiento de los macrófagos en la lesión aterosclerótica<sup>24-28</sup>. En los nuevos vasos de las lesiones ateroscleróticas carotídeas la expresión de ICAM-1 y VCAM-1 se ha asociado con el desarrollo de síntomas oculares y neurológicos homolaterales<sup>29</sup>. Además, en las lesiones ateroscleróticas la densidad de los microvasos se ha relacionado directamente con el contenido de macrófagos de la cápsula de la placa aterosclerótica en las placas de la carótida<sup>25</sup>. Los recientes estudios para perfilar la expresión génica usando tejidos humanos y de animales de experimentación han puesto de manifiesto pruebas de una mayor inflamación, división celular y señalización de segundo mensajero en el tejido de la placa comparado con la íntima no patológica<sup>9,30-34</sup>. Además, en dos estudios recientes se ha documentado una abundancia de numerosos transcritos que favorecen la rápida proliferación celular en las placas sintomáticas obtenidas de seres humanos<sup>9,33</sup>.

Husain et al<sup>35</sup> describieron un aumento de la actividad inflamatoria en la región de la cápsula fibrótica de la placa de lesiones ateroscleróticas obtenidas de muestras de endarterectomía carotídea de pacientes con acontecimientos neurológicos isquémicos preoperatorios comparado con asintomáticos. La desorganización de una cápsula



**Fig. 5.** Nuevos vasos sanguíneos en la región del hombro de una lesión aterosclerótica. Obsérvese el prominente infiltrado de linfocitos y la adhesión endotelial de monocitos (*flecha*).

fibrosa aterosclerótica estable, por el aumento de la infiltración de células inflamatorias está mediada, al menos en parte, a través de la liberación de proteasas, en particular de la familia de las metaloproteasas de matriz (MMP), sobre todo MMP-9<sup>36-39</sup>. Esto provoca la dehiscencia de la microestructura de la cápsula de la placa al igual que la pérdida de células musculares lisas secretoras, lo que es responsable de la formación de la cápsula fibrosa de la placa<sup>39</sup>.

El presente estudio confirma la asociación entre la angiogénesis en las placas ateroscleróticas de la carótida y el desarrollo de acontecimientos neurológicos y oculares isquémicos homolaterales. También sugiere una relación temporal entre la angiogénesis y el desarrollo de estos acontecimientos neurológicos. Una comprensión adicional de los procesos fisiopatológicos responsables de la angiogénesis en las lesiones ateroscleróticas puede ofrecer nuevos conocimientos sobre los acontecimientos responsables del desarrollo de inestabilidad de la placa y los síntomas clínicos asociados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Libby P. Molecular basis of the acute coronary syndrome. *Circulation* 1995;91:2844-2850.
- Moreno PR, Purushothaman KR, Sirol M, Levy AP, Fuster V. Neovascularization in human atherosclerosis. *Circulation* 2006;113:2245-2252.
- Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJ. Carotid Endarterectomy Trialists Collaboration. Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups and timing of surgery. *Lancet* 2004;363:915-924.
- Geiringer E. Intimal vascularisation and atherosclerosis. Histologic characteristics of carotid atherosclerotic plaque. *J Pathol Bacteriol* 1951;63:201-211.
- Mofidi R, Crotty TB, McCarthy P, Sheehan SJ, Mehigan D, Keaveny TV. Association between plaque instability, angiogenesis and symptomatic carotid occlusive disease. *Br J Surg* 2001;88:945-950.
- O'Brien ER, Garvin RD, Stewart DK, et al. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1994;145:833-894.
- Tenaglia AN, Peters KG, Sketch MH, Annex BH. Neovascularization in atherectomy specimens from patients with unstable angina: implications for pathogenesis of unstable angina. *Am Heart J* 1998;135:10-14.
- 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.
- Tureyen K, Vemuganti R, Salamat MS, Dempsey RJ. Increased angiogenesis and angiogenic gene expression in carotid artery plaques from symptomatic stroke patients. *Neurosurgery* 2006;58:971-977.
- North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effects of carotid endarterectomy for symptomatic patients with high-grade stenosis. *N Engl J Med* 1991;325:445-483.
- Fryer JA, Myers PC, Appleberg M. Carotid intraplaque haemorrhage: the significance of neovascularity. *J Vasc Surg* 1987;6:341-349.
- Barger AC, Beeuwkes R, 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;310:175-177.
- Jeziorska M, Woolley DE. Local neovascularisation and cellular composition within vulnerable regions of atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *J Pathol* 1999;188:189-196.
- Jeziorska M, Woolley DE. Neovascularization in early atherosclerotic lesions of human carotid arteries: its potential contribution to plaque development. *Hum Pathol* 1999;30:919-925.
- Koutouzis M, Nomikos A, Nikolidakis S, et al. Statin treated patients have reduced intraplaque angiogenesis in carotid endarterectomy specimens. *Atherosclerosis* 2007;192:457-463.
- Eliasziw M, Streifler JY, Spence JD, Fox AJ, Hachinski VC, Barnett HJ. Prognosis for patients following a transient ischemic attack with and without a cerebral infarction on brain CT. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) Group. *Neurology* 1995;45(Pt 1):428-431.
- Cao P, Giordano G, De Rango P, et al. Computerised tomography findings as a risk factor in carotid endarterectomy: early and late results. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996;12:37-45.
- Cao P, Zannetti S, Giordano G, De Rango P, Parlani G, Caputo N. Cerebral tomographic findings in patients undergoing carotid endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis: short-term and long-term implications. *J Vasc Surg* 1999;29:995-1005.
- Robless P, Baxter A, Byrd S, Emson M, Holliday A. Prevalence of asymptomatic CT infarcts in the ongoing

- Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST) in relation to prior contralateral symptoms. *Int Angiol* 1998;17:187-193.
20. Robless P, Baxter A, Byrd S, Emson M, Holliday A. Prevalence of asymptomatic CT infarcts in the ongoing Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST). *Int Angiol* 1998;17:194-200.
  21. Mofidi R, Crotty T, McCarthy P, Mehigan D, Sheehan SJ, Keaveny TV. Neovascular endothelial-cell activation: the link between angiogenesis, intimal leukocyte content, and development of symptomatic carotid occlusive disease. *Int J Angiol* 2004;13:15-21.
  22. Dunmore BJ, McCarthy MJ, Naylor AR, Brindle NP. Carotid plaque instability and ischemic symptoms are linked to immaturity of microvessels within plaques. *J Vasc Surg* 2007;45:155-159.
  23. Milei J, Parodi JC, Alonso GF, Barone A, Grana D, Matturri L. Carotid rupture and intraplaque hemorrhage: immunophenotype and role of cells involved. *Am Heart J* 1998;136:1096-1105.
  24. Cybulsky MI, Gimbrone MAJ. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991;251:788-791.
  25. O'Brien KD, Allen MD, McDonald TO, et al. Vascular cell adhesion molecule-1 is expressed in human coronary atherosclerotic plaques. Implications for the mode of progression of advanced coronary atherosclerosis. *J. Clin. Invest* 1993;92:945-951.
  26. Poston RN, Haskard DO, Coucher JR, Gall NP, Johnson-Tidy RR. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1992;140:665-673.
  27. Van der Wal AC, Das PK, Tigges AJ, Becker AE. Adhesion molecules on the endothelium and mononuclear cells in atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1992;141:1427-1433.
  28. O'Brien KD, McDonald TO, Chait A, Allen MD, Alpers CE. Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation* 1996;93:672-682.
  29. Mofidi R, Powell TI, Crotty T, et al. Increased internal carotid artery peak systolic velocity is associated with presence of significant atherosclerotic plaque instability independent of degree of ica stenosis. *Int. J. Angiol* 2004;14:74-80.
  30. Randi AM, Biguzzi E, Falciani F, et al. Identification of differentially expressed genes in coronary atherosclerotic plaques from patients with stable or unstable angina by cDNA array analysis. *J Thromb Haemost* 2003;1:829-835.
  31. Faber BC, Heeneman S, Daemen MJ, Cleutjens KB. Genes potentially involved in plaque rupture. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:545-552.
  32. Hiltunen MO, Tuomisto TT, Niemi M, et al. Changes in gene expression in atherosclerosis plaques analyzed using DNA array. *Atherosclerosis* 2002;165:23-32.
  33. Vemuganti R, Dempsey RJ. Carotid atherosclerotic plaques from symptomatic patients share the molecular fingerprints to develop in a neoplastic fashion: a microarray analysis study. *Neuroscience* 2005;131:359-374.
  34. Wuttge DM, Sirsjo A, Eriksson P, Stemme S. Gene expression in atherosclerotic lesion of ApoE deficient mice. *Mol Med* 2001;7:383-392.
  35. Husain T, Abbott CR, Scott DJ, Gough MJ. Macrophage accumulation within the cap of carotid atherosclerotic plaques is associated with the onset of cerebral ischemic events. *J Vasc Surg* 1999;30:269-276.
  36. Jander S, Sitzer M, Schumann R, et al. Inflammation in high-grade carotid stenosis: a possible role for macrophages and T cells in plaque destabilization. *Stroke* 1998;29:1625-1630.
  37. Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? *Circ Res* 1997;81:448-454.
  38. de Nooijer R, Verkleij CJ, von der Thusen JH, et al. Lesional overexpression of matrix metalloproteinase-9 promotes intraplaque hemorrhage in advanced lesions but not at earlier stages of atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:340-346.
  39. Newby AC, Zaltsman AB. Fibrous cap formation or destruction: the critical importance of vascular smooth muscle cell proliferation, migration and matrix formation. *Cardiovasc Res* 1999;41:345-360.