

ОЦЕНКА НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ КАРОТИДНОГО СИНУСА С ПОМОЩЬЮ КОНТРАСТ-УСИЛЕННОГО УЗИ

А. Н. Евдокименко ✉, А. О. Четчин, Л. Д. Друина, М. М. Танащян

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Степень неоваскуляризации атеросклеротической бляшки (АСБ) каротидного синуса связывают с повышенным риском развития инсульта. Для выявления новообразованных сосудов в структуре бляшки *in vivo* широко применяют контраст-усиленное ультразвуковое исследование (КУУЗИ), однако до настоящего времени отсутствует единый подход к интерпретации результатов. Целью работы было установить наиболее надежный метод оценки неоваскуляризации АСБ каротидного синуса по данным КУУЗИ. У 73 пациентов удалено при каротидной эндартерэктомии, проанализировано, и морфологически исследовано 78 АСБ. Всем пациентам проводили стандартное дуплексное сканирование сонных артерий и КУУЗИ с введением эхоконтрастного препарата «Соновью». Неоваскуляризацию АСБ оценивали с использованием 4-балльной визуальной шкалы и трех методов количественной оценки в программе QLAB. По данным визуальной шкалы (метод 1), преобладали слабо и умеренно васкуляризованные бляшки (37% и 51% соответственно). Результаты количественной оценки (Me (Q1; Q3)): количество сосудов на 1 см² бляшки (метод 2) составило 16 (10; 26); соотношение площадей сосудов и бляшки (метод 3) — 6% (3; 9); значение ROI АСБ (метод 4) — 2,6 дБ (1,8; 4,1). Значимая корреляция отмечена: между результатами оценки по методам 2 и 3 ($p < 0,0001$); по методам 3 и 1 ($p = 0,0006$); морфологическими данными и результатами оценки по методам 1–3, особенно по методу 2 ($p < 0,004$). Значение ROI АСБ с данными других методов не коррелировало. Продемонстрировано резкое снижение надежности УЗ-оценки неоваскуляризации с увеличением объема гиперэхогенного компонента (кальцификатов) в АСБ. Наиболее точным способом количественной оценки неоваскуляризации АСБ при КУУЗИ является подсчет количества сосудов на 1 см² бляшки.

Ключевые слова: атеросклероз, сонная артерия, неоваскуляризация атеросклеротической бляшки, контраст-усиленное ультразвуковое исследование, препарат «Соновью», визуальная шкала, количественный анализ, морфологическое исследование

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ НЦН.

Благодарности: сотрудникам группы сосудистой и эндоваскулярной хирургии Научного центра неврологии С. И. Скрылеву, В. Л. Щипакину и А. Ю. Кощеву за предоставленный биопсийный материал.

Информация о вкладе авторов: А. Н. Евдокименко — анализ литературы, разработка дизайна исследования, сбор, анализ и интерпретация данных, написание рукописи; А. О. Четчин — анализ литературы, разработка дизайна исследования, сбор и интерпретация данных, редактирование рукописи; Л. Д. Друина — сбор данных; М. М. Танащян — разработка дизайна исследования, редактирование рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 4/15 от 22 апреля 2015 г.); все пациенты подписали добровольное информированное согласие на его проведение.

✉ **Для корреспонденции:** Анна Николаевна Евдокименко
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367; evdokimenko@neurology.ru

Статья получена: 15.08.2019 **Статья принята к печати:** 30.08.2019 **Опубликована онлайн:** 31.08.2019

DOI: 10.24075/vrgmu.2019.057

CONTRAST-ENHANCED ULTRASONOGRAPHY FOR ASSESSING NEOVASCULARIZATION OF CAROTID ATHEROSCLEROTIC PLAQUE

Evdokimenko AN ✉, Chechetkin AO, Druina LD, Tanashyan MM

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Neovascularization of a carotid atherosclerotic plaque (AP) is associated with an increased risk of stroke. Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) is a widely used method for imaging intraplaque neovascularization *in vivo*. Unfortunately, there are no standardized guidelines for CEUS interpretation. The aim of this study was to identify the most reliable method for CEUS-based assessment of AP neovascularization. Seventy-eight AP were removed during carotid endarterectomy in 73 patients, of whom 5 had AP on both sides, and examined morphologically. All patients underwent preoperative duplex scanning and CEUS; SonoVue was used as a contrast agent. AP neovascularization was assessed on a 4-grade visual scale and with 3 different quantitative methods using QLAB software. On the visual scale (method 1), poorly (37%) and moderately (51%) vascularized plaques were the most common. Quantitative analysis (data were presented as Me (Q1; Q3)) revealed that the number of blood vessels per 1 cm² of the plaque (method 2) was 16 (10; 26), the ratio of the total vessel area to the plaque area (method 3) was 6% (3; 9), and AP ROI (method 4) was 2.6 dB (1.8; 4.1). Significant correlations were demonstrated between the results produced by method 2 and method 3 ($p < 0.0001$), method 3 and method 2 ($p = 0.0006$), and between pathomorphological findings and the results produced by methods 1–3, especially method 2 ($p < 0.004$). AP ROI brightness did not correlate with other results. The presence of hyperechoic components (calcifications) in AP dramatically reduced the reliability of US-based intraplaque neovascularization assessment. The most accurate CEUS-based quantitative method for assessing intraplaque neovascularization is estimation of blood vessel number per 1 cm² of the plaque.

Keywords: atherosclerosis, carotid artery, intraplaque neovascularization, contrast-enhanced ultrasonography, SonoVue, visual scale, quantitative analysis, histopathological examination

Funding: this study was supported by Research Center of Neurology Government funding.

Acknowledgment: the authors thank Skrylev SI, Shchipakin VL and Koshcheev AYU (Vascular and Endovascular Surgery Unit, Research Center of Neurology) for providing biopsy specimens.

Author contribution: Evdokimenko AN — literature analysis, study design, data acquisition and interpretation, manuscript preparation; Chechetkin AO — literature analysis, study design, data acquisition and interpretation, manuscript revision; Druina LD — data acquisition; Tanashyan MM — study design, manuscript revision.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (Protocol № 4/15 dated April 22, 2015). Informed consent was obtained from all study participants.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anna N. Evdokimenko
Volokolamskoe shosse 80, Moscow, 125367; evdokimenko@neurology.ru

Received: 15.08.2019 **Accepted:** 30.08.2019 **Published online:** 31.08.2019

DOI: 10.24075/brsmu.2019.057

Атеросклероз каротидного синуса (КС) обуславливает развитие до трети всех ишемических инсультов, основная причина которых — дестабилизация структуры атеросклеротической бляшки (АСБ) с развитием атеротромбоза, атеро- или тромбозомболии церебральных артерий [1, 2]. К морфологическим маркерам нестабильной структуры АСБ относят крупные очаги атероматоза, истончение и изъязвление покрышки, кровоизлияния и выраженную воспалительную реакцию [2, 3]. В последние годы в данный перечень была включена неоваскуляризация вследствие большого количества накопленных данных, свидетельствующих о ключевой роли новообразованных сосудов в процессе дестабилизации АСБ и прогрессирования атеросклероза [1, 3–6].

Одним из наиболее широко применяемых методов оценки степени неоваскуляризации *in vivo* является контраст-усиленное ультразвуковое исследование (КУУЗИ). С момента первого применения КУУЗИ для оценки неоваскуляризации АСБ КС в 2003 г. [7] точность и надежность метода были подтверждены многочисленными исследованиями на животных и людях, продемонстрировавших высокую корреляцию ультразвуковых и морфологических данных [8–9].

Несмотря на 15-летнюю историю применения КУУЗИ для оценки неоваскуляризации АСБ КС, до сих пор отсутствует консенсус в отношении подходов к интерпретации результатов. В большинстве исследований применяют качественную или полуколичественную шкалу, хотя все авторы указывают на субъективность такого подхода, невозможность его использования для динамического наблюдения за течением атеросклеротического процесса и необходимость разработки более надежного и объективного метода [6, 10]. Единого мнения в отношении подходов к количественной оценке результатов КУУЗИ также достигнуто не было [9–11]. Кроме того, исследования с морфологической верификацией данных КУУЗИ немногочисленны, а полученные данные зачастую требуют подтверждения или уточнения.

В настоящее время необходимость разработки единого подхода к точной, надежной и воспроизводимой оценке результатов КУУЗИ приобретает особое значение в связи с разработкой эхоконтрастных препаратов, проходящих доклинические испытания и предназначенных уже для молекулярной визуализации сосудистого фенотипа *in vivo* и таргетной доставки веществ [12, 13]. Данные препараты открывают широкие возможности для реализации эффективной персонализированной стратегии профилактики, диагностики и лечения пациентов с атеросклерозом КС, однако при отсутствии стандартизированного метода оценки результатов КУУЗИ внедрение новых методов станет затруднительным.

Целью исследования было установить наиболее надежный и информативный метод оценки неоваскуляризации АСБ КС по данным КУУЗИ для использования в широкой клинической практике.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследованная популяция

Исследование проводили в ФГБНУ «Научный центр неврологии» в период с 2015 по 2018 г. Критерии включения в исследование: наличие у пациента атеросклеротического поражения КС и показаний к проведению каротидной эндалтерэктомии в соответствии

с Национальными российскими рекомендациями по ведению пациентов с заболеваниями брахиоцефальных артерий [14]. Критерии исключения: наличие в бляшке крупных кальцификатов по данным УЗИ (> 50% от площади бляшки), акустическая тень от которых не позволяла объективно оценивать неоваскуляризацию бляшки. В исследовании приняли участие 73 пациента (50 мужчин и 23 женщины в возрасте от 40 до 79 лет; средний возраст 63 ± 8 лет) с атеросклеротическими стенозами КС $\geq 50\%$ (50–90%, в среднем $70 \pm 16\%$), определяемыми по методу NASCET в соответствии с существующими ультразвуковыми критериями [15]. Всем пациентам была выполнена каротидная эндалтерэктомия в ФГБНУ НЦН в период с 1 января 2015 по 31 декабря 2017 г. (у 5 пациентов с двух сторон); проведено последующее морфологическое исследование удаленных АСБ. В общей сложности проанализировано 78 АСБ КС. Оперированные стенозы имели симптомное течение в 25 случаях (32%) и асимптомное — в 53 случаях (68%).

Стандартное и контраст-усиленное УЗИ

До операции всем пациентам было выполнено стандартное дуплексное сканирование сонных артерий, а также КУУЗИ включенных в исследование АСБ в продольной плоскости сканирования. Все УЗИ проводили на приборе iU22 (Philips Healthcare NV; Нидерланды) линейным датчиком L9-3.

При дуплексном сканировании определяли экзогенность АСБ, степень стеноза сонных артерий и область наилучшей визуализации АСБ для последующего проведения КУУЗИ. Экзогенность бляшки относили к 1 из 4 категорий по классификации A. Gray-Weale [16]: 1 — гомогенные гипозоногенные; 2 — гетерогенные с преобладанием гипозоногенного компонента; 3 — гетерогенные с преобладанием гиперэхогенного компонента; 4 — гомогенные гиперэхогенные.

Для проведения КУУЗИ в периферическую вену пациентов внутривенно болюсно вводили 2,4 мл эхоконтрастного препарата «Соновью» (Bracco; Италия), растворенного в 5 мл 0,9%-го физиологического раствора, с последующим введением 5 мл физиологического раствора через тот же внутривенный катетер. Исследование выполняли, активируя на приборе опцию работы с контрастами (Contrast General), при низком механическом индексе (0,06) и усилении сигнала 85%. С момента введения «Соновью» на приборе осуществляли запись видеоклипа АСБ КС в течение 2 мин, при этом датчик удерживали неподвижно до момента достижения стабильного контрастирования просвета артерии, после чего начинали постепенно изменять угол наклона датчика для визуализации всей площади бляшки.

Анализ видеоклипа КУУЗИ АСБ проводили на персональном компьютере, оснащенном рабочей станцией с программным обеспечением QLAB (Philips Healthcare NV; Нидерланды). Признаком неоваскуляризации были изменявшиеся во времени динамичные гиперэхогенные сигналы (ДГЭС) в толще АСБ, получаемые от микропузырьков введенного контрастного препарата, тогда как статичные гиперэхогенные сигналы расценивали как кальцификаты. Оценку неоваскуляризации проводили с помощью четырех методов в программе QLAB.

1. Полуколичественной оценки неоваскуляризации по 4-балльной шкале (метод 1): 0 — отсутствие ДГЭС; 1 — единичные ДГЭС; 2 — умеренное количество ДГЭС; 3 — значительное количество ДГЭС.

2. Трех методов количественной оценки (см. рис.), при которых из кинопетли при КУУЗИ выбирали кадр с визуально наибольшим количеством сосудов. Кадр анализировали следующим образом:

а) определяли количество ДГЭС на единицу площади АСБ (1 см^2) (метод 2), для чего на выбранном кадре вручную обводили контур АСБ и в его пределах подсчитывали количество отдельно расположенных ДГЭС. Искомую величину получали путем деления количества сигналов на автоматически определенную площадь обведенной АСБ;

б) определяли соотношение площади ДГЭС и площади бляшки (%) (метод 3), для чего на выбранном кадре вручную обводили контур АСБ и контур всех ДГЭС. Искомую величину получали путем деления суммы площадей обведенных сигналов на площадь обведенной АСБ и умножения полученного значения на 100%;

в) определяли ROI (интенсивность УЗ-сигнала) бляшки (метод 4), для чего на выбранном кадре вручную обводили область интереса — всю бляшку, по возможности исключая статичные гиперэхогенные сигналы (кальцификаты), и программа автоматически рассчитывала значение ROI в дБ.

Морфологическое исследование

Всего при операции было фрагментировано и исключено из анализа 13 АСБ. Удаленные при каротидной эндартерэктомии 65 АСБ фиксировали в 10%-м растворе формалина на фосфатном буфере (рН 7,4) и исследовали на всем протяжении. Бляшки в зависимости от длины разрезали на 4–9 блоков толщиной 0,3 см в плоскости, перпендикулярной оси сосуда; блоки заливали в парафин. Срезы с каждого блока толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по методу ван Гизона, после чего сканировали с помощью аппарата Aperio AT2 (Leica Biosystems; Германия) при 400-кратном увеличении изображения.

Неоваскуляризацию бляшек анализировали в программе Aperio ImageScope (Leica Biosystems; Германия) версии 11.2.0.780. Сосуды определяли как выстланные эндотелием структуры, имеющие просвет. Оценивали общую плотность расположения сосудов на 1 см^2 бляшки (результат деления общего количества сосудов во всех срезах на сумму площадей этих срезов). С учетом ограничения разрешающей способности КУУЗИ анализировали плотность расположения сосудов определенного диаметра (< 20 , ≥ 20 , ≥ 30 , ≥ 40 , ≥ 50 мкм). При косом или продольном сечении сосуда его диаметр определяли как поперечный размер в наиболее широком участке.

Статистический анализ

Статистический анализ проводили в пакете Statistica 10.0 (StatSoft; США). Для выявления статистических различий и корреляционных связей применяли непараметрический U-критерий Манна–Уитни и коэффициент корреляции Спирмена. Во всех случаях порог статистической значимости (p) составлял 0,05. Данные представлены в следующем виде: медиана (Me) (квартиль 1 (Q1); квартиль 3 (Q3)).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По результатам стандартного дуплексного сканирования, подавляющее большинство АСБ имели гетерогенную структуру (81%) с преобладанием гипозоногенного компонента (51%) (табл. 1). В 67% бляшек встречались небольшие или среднего размера кальцификаты. Сосуды при КУУЗИ были обнаружены во всех бляшках, при этом ни один из применяемых методов оценки степени неоваскуляризации АСБ не выявил значимых различий между разными типами АСБ по классификации A. Gray-Weale [16] (см. табл. 1).

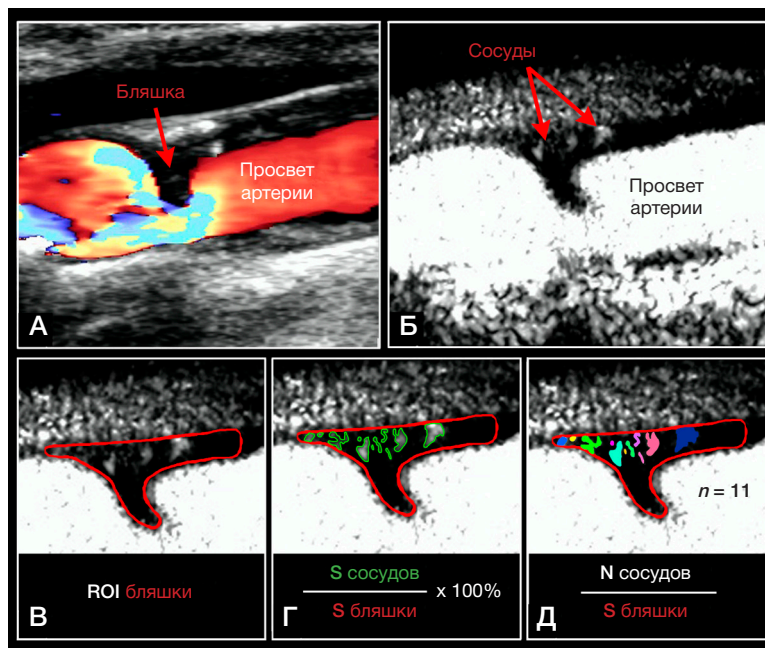


Рис. Количественные методы оценки неоваскуляризации атеросклеротической бляшки каротидного синуса с помощью КУУЗИ. **А.** Гетерогенная атеросклеротическая бляшка с преобладанием гипозоногенного компонента при стандартном дуплексном сканировании в режиме цветового доплеровского картирования. **Б.** Исследование с контрастным усилением: атеросклеротическая бляшка гипозоногенная с отдельными гиперэхогенными сигналами (сосуды, указаны стрелками), просвет артерии и окружающие ткани гиперэхогенные. **В–Д.** Способы количественного обседа неоваскуляризации бляшки на 1 кадре с визуально наибольшим количеством сосудов (контур бляшки обозначен красным цветом): расчет интенсивности ультразвукового сигнала (ROI) (**В**); расчет соотношения площадей сосудов и бляшки (сосуды обведены зеленым цветом) (**Г**); расчет количества сосудов на 1 см^2 бляшки (сосуды выделены разными цветами) (**Д**)

Согласно данным полуколичественной оценки результатов КУУЗИ (метод 1), преобладали АСБ с умеренным и небольшим количеством ДГЭС (2 балла и 1 балл по шкале оценки соответственно), составив 51% и 37% всех АСБ. АСБ со значительным количеством ДГЭС (3 балла по шкале оценки) выявляли более чем в 3 раза реже (12% всех АСБ). При сопоставлении данных ультразвукового и морфологического исследований отмечена тенденция к повышению количества сосудов на 1 см² бляшки с увеличением балла по шкале оценки результатов КУУЗИ. Тем не менее значимое отличие в степени неоваскуляризации АСБ по данным морфологического исследования отмечено лишь для группы АСБ с единичными ДГЭС (табл. 2).

Результаты трех методов количественного анализа данных КУУЗИ продемонстрировали значительную вариабельность степени неоваскуляризации АСБ: количество ДГЭС на 1 см² бляшки (метод 2) составило 16 сигналов/см² (10; 26); соотношение площадей ДГЭС и бляшки (метод 3) — 6% (3; 9); значение ROI АСБ (метод 4) — 2,6 дБ (1,8; 4,1). Корреляционный анализ продемонстрировал наличие прямой зависимости между результатами оценки по методам 2 и 3 ($R = 0,45$; $p = 0,000034$), а также по методам 3 и 1 ($R = 0,38$; $p = 0,0006$). Значение ROI с результатами других методов оценки не коррелировало.

Выявлена значимая корреляционная зависимость между морфологическими данными и результатами трех методов оценки степени неоваскуляризации АСБ с помощью КУУЗИ (методы 1–3), особенно метода 2 (определение количества ДГЭС на 1 см² АСБ) (табл. 3). Последний метод также позволил провести прямое сопоставление результатов ультразвукового и морфологического исследований, в результате чего был

установлен средний диаметр сосудов, которые могут быть выявлены при КУУЗИ — 30 мкм (22; 37).

Кроме того, для оценки влияния гиперэхогенного компонента на результат КУУЗИ был проведен дополнительный корреляционный анализ данных ультразвукового и морфологического исследований в группах трех разных типов бляшек по классификации Gray-Weale (табл. 4). Обнаружено, что с увеличением объема гиперэхогенного компонента значимость корреляционной зависимости между данными КУУЗИ и морфологии, а также надежность УЗ-оценки неоваскуляризации резко снижаются. Так, количество ДГЭС на 1 см² бляшки по данным КУУЗИ (метод 2), наиболее высоко коррелировавшее с результатами морфологического исследования в общей группе бляшек, продемонстрировало еще более высокий результат в группе бляшек с преобладанием гипоэхогенного компонента, тогда как в двух других группах АСБ результат корреляционного анализа оказался сомнительным (см. табл. 4). Соотношение площадей ДГЭС и бляшки (метод 3) коррелировало с морфологическими данными только в группе АСБ с преобладанием гипоэхогенного компонента (см. табл. 4). Что касается полуколичественного метода оценки неоваскуляризации, то результаты анализа в разных группах бляшек оказались противоречивыми (см. табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большое внимание в литературе при оценке результатов КУУЗИ уделено именно визуальным шкалам, поскольку несмотря на определенную долю субъективности они достаточно просты и занимают мало времени в исполнении, что позволяет их использовать в широкой рутинной практике без наличия специальных программ

Таблица 1. Степень неоваскуляризации 4 типов атеросклеротических бляшек каротидного синуса по классификации Gray-Weale

	Структура бляшки			
	1-й тип	2-й тип	3-й тип	4-й тип
Количество бляшек	3	40	23	12
Из них исследованных морфологически	2	33	20	10
Неоваскуляризация, Me (Q1; Q3)				
Контраст-усиленное УЗИ				
Метод 1 (баллы)	1	1 (1; 2)	1 (1; 2)	2 (1; 2)
Метод 2 (сигналов/см ²)	9 (5; 13)	13 (10,5; 25)	20 (11; 29)	20,5 (9,5; 33,5)
Метод 3 (%)	3 (0,4; 5)	6 (3; 7)	7 (3; 11)	8,5 (5; 15)
Метод 4 (дБ)	2,8 (2,2; 3,1)	2,7 (1,6; 4,2)	2,4 (1,9; 5,5)	2,7 (2,1; 3,4)
Морфологическое исследование, количество сосудов на 1 см ² бляшки	62, 111	161 (96; 253)	90 (61; 305)	230 (125; 300)

Таблица 2. Сопоставление результатов полуколичественной оценки данных КУУЗИ и результатов морфологического исследования неоваскуляризации атеросклеротических бляшек каротидного синуса (* — $p \leq 0,03$)

	Балл по шкале полуколичественной оценки степени неоваскуляризации бляшки с помощью КУУЗИ		
	1 балл (n = 40)	2 балла (n = 29)	3 балла (n = 9)
Количество сосудов определенного диаметра на 1 см ² бляшки, Me (Q1; Q3)			
Все сосуды	108,6 (55,3; 182,4)*	168,6 (125; 356,8)	370 (229; 485)
Сосуды диаметром < 20 мкм	66,5 (40,8; 111,4)*	117,4 (70,8; 216,8)	277,3 (174,5; 332)
Сосуды диаметром ≥ 20 мкм	30,5 (9,6; 54,7)*	55,8 (38; 90,2)	90,2 (38,4; 131,8)
Сосуды диаметром ≥ 30 мкм	13,2 (2,4; 26,1)*	25,5 (12,8; 46,7)	41,4 (13,4; 50,3)
Сосуды диаметром ≥ 40 мкм	5,5 (1,2; 13,9)*	11,9 (6,2; 23,1)	17,5 (5,8; 25,4)
Сосуды диаметром ≥ 50 мкм	2,2 (0; 7,6)*	5,9 (3,4; 12,6)	8,8 (2,9; 15,2)

для количественного обсчета. Описано более 10 подходов к полуколичественной оценке неоваскуляризации АСБ КС с использованием визуальных шкал от 2 до 5 баллов. При этом в большинстве шкал помимо количества ДГЭС учитывают их расположение [8, 17–22], гораздо реже оценивают только количество ДГЭС [17, 23, 24]. Все шкалы, учитывающие расположение ДГЭС, подразумевают прямую зависимость увеличения количества ДГЭС и их распространения в направлении от адвентиции к поверхности бляшки. При выборе шкалы оценки у нас возник ряд сложностей с применением шкал данного типа, поскольку все выявленные нами паттерны неоваскуляризации АСБ не укладывались ни в одну из данных шкал. В этой связи мы остановились на более простых монопараметрических шкалах, взяв за основу стандартную 4-балльную шкалу оценки количества ДГЭС, сходную с уже предложенной в литературе [24]. Ее автор, правда, предлагал относить к бляшкам с «выраженной» степенью васкуляризации (3-я степень) только бляшки,

в которых выявлены крупные сосуды по типу артерий без уточнения их характеристик. Однако полученные нами результаты как КУУЗИ, так и морфологического исследования продемонстрировали наличие слабо васкуляризованных АСБ с крупными сосудами по типу артерий, а также обильно васкуляризованных АСБ без крупных сосудов по типу артерий, на основании чего было принято решение не учитывать калибр сосудов при полуколичественной оценке.

Сопоставление значений плотности расположения сосудов в АСБ, определенной при морфологическом исследовании, между тремя группами бляшек различной степени неоваскуляризации по данным выбранной нами 4-балльной визуальной шкалы продемонстрировало значимое отличие лишь слабо васкуляризованных бляшек с единичными ДГЭС от групп с умеренным и значительным количеством ДГЭС. В то же время результаты КУУЗИ с использованием данной шкалы, как и в случае с визуальными шкалами, предлагаемыми другими

Таблица 3. Корреляционный анализ результатов оценки неоваскуляризации в атеросклеротической бляшке каротидного синуса с помощью КУУЗИ и морфологического исследования ($n = 65$)

Морфологическое исследование — плотность расположения сосудов определенного диаметра:	КУУЗИ — степень неоваскуляризации бляшки, оцененная разными методами							
	Метод 1		Метод 2		Метод 3		Метод 4	
	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
Все сосуды	0,45	0,00019	0,41	0,00069	0,23	0,06545	-0,04	0,75
< 20 мкм	0,43	0,00033	0,36	0,0034	0,18	0,15532	-0,07	0,6
≥ 20 мкм	0,45	0,00017	0,52	0,00001	0,37	0,00257	0	0,99
≥ 30 мкм	0,41	0,00068	0,57	0	0,36	0,00338	0,03	0,82
≥ 40 мкм	0,41	0,00074	0,6	0	0,35	0,00438	0,02	0,89
≥ 50 мкм	0,4	0,00102	0,6	0	0,32	0,01103	0,03	0,81

Таблица 4. Корреляционный анализ результатов оценки неоваскуляризации в атеросклеротических бляшках каротидного синуса разных типов по классификации Gray–Weale с помощью КУУЗИ и морфологического исследования

Морфологическое исследование — плотность расположения сосудов определенного диаметра:	КУУЗИ — степень неоваскуляризации бляшки, оцененная разными методами					
	Метод 1		Метод 2		Метод 3	
	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
Гетерогенные бляшки с преобладанием гипохолерогенного компонента, тип 2 ($n = 33$)						
Все сосуды	0,34	0,05493	0,43	0,01164	0,06	0,73935
< 20 мкм	0,3	0,08642	0,35	0,04485	-0,01	0,96716
≥ 20 мкм	0,41	0,01825	0,67	0,00002	0,33	0,06705
≥ 30 мкм	0,34	0,05633	0,72	0	0,3	0,0897
≥ 40 мкм	0,4	0,02162	0,74	0	0,43	0,01507
≥ 50 мкм	0,45	0,00857	0,79	0	0,47	0,00718
Гетерогенные бляшки с преобладанием гиперхолерогенного компонента, тип 3 ($n = 20$)						
Все сосуды	0,5	0,02512	0,41	0,07403	0,14	0,5446
< 20 мкм	0,47	0,03701	0,45	0,04716	0,21	0,38029
≥ 20 мкм	0,52	0,01815	0,41	0,07345	0,22	0,35255
≥ 30 мкм	0,51	0,02294	0,43	0,06146	0,15	0,52769
≥ 40 мкм	0,38	0,10226	0,41	0,07068	0,12	0,60956
≥ 50 мкм	0,34	0,1424	0,4	0,0782	0,15	0,51773
Гомогенные гиперхолерогенные бляшки, тип 4 ($n = 10$)						
Все сосуды	0,62	0,05444	0,21	0,5667	0,41	0,23349
< 20 мкм	0,71	0,02047	0,06	0,86751	0,27	0,44295
≥ 20 мкм	0,43	0,21702	0,36	0,3088	0,43	0,21862
≥ 30 мкм	0,13	0,7209	0,46	0,17886	0,3	0,4017
≥ 40 мкм	0,25	0,49232	0,67	0,03451	0,21	0,55384
≥ 50 мкм	0,22	0,53903	0,61	0,06125	0,18	0,61791

авторами [8, 20, 23, 24], показали значимую корреляцию с морфологическими данными. При анализе различных по экзогенности бляшек мы не смогли четко подтвердить надежность предлагаемого полуколичественного метода оценки в связи с противоречивыми результатами корреляционного анализа в группах бляшек разных типов по классификации A. Gray-Weale [16]. Причин расхождения результатов могло быть несколько: небольшой размер анализируемых групп, субъективный подход к градации степени неоваскуляризации без четких критериев оценки, а также часто выявляемые в АСБ кальцификаты, которые могли обусловить как недооценку, так и переоценку степени неоваскуляризации [25]. В 67% АСБ при дуплексном сканировании выявляли небольшие или среднего размера кальцификаты, которые могли быть ошибочно приняты за сосуды при КУУЗИ. Сложность дифференцировки сосудов и небольших кальцификатов также связана с впервые выявленным нами сходным паттерном их визуализации при КУУЗИ — большинство кальцификатов небольшого и среднего размеров становилось видимым только по мере заполнения сосудистого русла бляшки контрастом, что может быть связано с отмеченным в литературе изменением отражающей способности ткани в этих участках [26]. Кроме того, морфологическое исследование выявило частое расположение сосудов в непосредственной близости от кальцификатов, что также могло осложнить их выявление при КУУЗИ вследствие ограниченной разрешающей способности прибора.

Что касается количественного анализа результатов КУУЗИ, то в литературе описано три принципиально различающихся подхода, которые были применены в данной работе: наиболее распространенная оценка интенсивности сигнала в области интереса (контрастированной бляшке), определение соотношения площадей ДГЭС и бляшки, а также подсчет количества ДГЭС на 1 см^2 АСБ. Мы не выявили взаимосвязи между значением ROI бляшки и плотностью расположения сосудов по данным морфологии, а также результатами других методов оценки неоваскуляризации при КУУЗИ. В ряде исследований, в которых проводили морфологическую верификацию результатов КУУЗИ, основанных на оценке ROI, авторы демонстрировали успешность такого подхода [20, 27, 28], хотя объем выборки в них, как правило, был небольшой или была применена менее точная полуколичественная оценка неоваскуляризации при морфологическом исследовании. Другие авторы выявили корреляцию между интенсивностью сигнала при КУУЗИ и результатами морфологического исследования только для стабильных бляшек [8]. На интенсивность УЗ-сигнала оказывают влияние разные факторы, например индивидуальные показатели эхоотражающих свойств ткани; степень обызвествления бляшки (особенно мелкие и пылевидные кальцификаты, которые невозможно исключить из области анализа); преимущественная локализация бляшки по передней или задней стенке артерий; небольшие изменения параметров яркости и контрастности изображения при оценке, которые сложно стандартизировать, и др. [2, 25, 26]. Все вышеуказанные факторы могли стать причиной полученного нами результата. Кроме того, во всех приведенных в литературе исследованиях авторы использовали не абсолютное, а скорректированное значение интенсивности УЗ-сигнала: соотношение значений ROI бляшки и просвета сосуда [8, 17] или прилегающей неизмененной стенки [27]; разницу значений ROI бляшки до и после введения контраста [18, 20];

многокомпонентный алгоритм, учитывающий несколько факторов [12, 22], и др. [28]. Мы специально использовали абсолютное значение ROI, которое можно оценить на самом приборе без дополнительных математических вычислений, что было бы сопоставимо по скорости и удобству с визуальной шкалой, при этом предоставляло возможность динамического наблюдения за течением атеросклеротического процесса. Тем не менее полученные результаты свидетельствуют о том, что использование значения ROI при оценке степени неоваскуляризации требует учета большого количества факторов и введения поправочных коэффициентов.

Результаты второго использованного нами количественного метода оценки, определения соотношения площадей ДГЭС и бляшки, не отражали общего количества сосудов в бляшке или плотности расположения в ней мелких сосудов диаметром до 20 мкм, составляющих до 96% всех сосудов бляшки по литературным данным [29]. Тем не менее как в общей группе бляшек, так и в группе бляшек с преобладанием гипозоногенного компонента, результаты КУУЗИ коррелировали с плотностью расположения сосудов более крупного калибра (≥ 20 мкм и ≥ 40 мкм соответственно) по данным морфологии. Анализ различных по экзогенности типов бляшек также продемонстрировал, что применение данного метода нельзя рекомендовать при оценке бляшек с выраженным гиперэзоногенным компонентом, поскольку корреляционная зависимость между ультразвуковыми и морфологическими данными в группах бляшек 3-го и 4-го типов по классификации A. Gray-Weale отсутствовала. Последнее можно объяснить недооценкой или переоценкой степени неоваскуляризации при КУУЗИ при наличии в бляшке кальцификатов, что было описано выше. Авторы, разработавшие и применившие данный метод, отметили высокую корреляцию результатов КУУЗИ с общей плотностью расположения сосудов в бляшке по данным морфологии [10]. Отсутствие такой корреляционной зависимости в нашем исследовании можно объяснить различными подходами к расчету показателя: мы использовали коммерчески доступное программное обеспечение QLAB и обводили ДГЭС вручную, тогда как A. Hoogi с коллегами использовали специально разработанный автоматизированный алгоритм на базе Matlab (Mathworks). Кроме того, точность ручного способа выделения ДГЭС может значительно снижаться с уменьшением размера сигналов (сосудов). Тем не менее с учетом литературных данных о наличии высокой корреляции между плотностью расположения сосудов различного диаметра в АСБ [29], а также полученных нами данных о возможности надежного выявления при КУУЗИ сосудов диаметром более 30 мкм, использованный нами подход можно применять для количественной оценки неоваскуляризации в АСБ КС при отсутствии выраженного гиперэзоногенного компонента, однако для повышения точности результата рекомендуется использовать автоматизированный алгоритм расчета показателя.

Подсчет количества ДГЭС на 1 см^2 АСБ продемонстрировал высокую корреляцию с морфологическими данными как в общей группе бляшек, так и в группе бляшек с преобладанием гипозоногенного компонента. В группе АСБ с выраженным гиперэзоногенным компонентом результаты, как и в случае с другими методами количественной оценки, были не столь убедительными, что свидетельствует о необходимости разработки комплексного автоматизированного алгоритма анализа бляшек 3-го и 4-го типов при КУУЗИ для надежной

оценки неоваскуляризации. В литературе отсутствуют данные по сопоставлению результатов морфологического исследования и КУУЗИ с использованием данного подхода. В одном из исследований был применен сходный метод оценки неоваскуляризации при КУУЗИ [12], однако авторы не проводили морфологическую верификацию результатов и использовали при анализе разработанный на базе MevisLab автоматизированный алгоритм. Они провели сопоставление методов полуколичественной и количественной оценки неоваскуляризации на основе определения значения ROI, площади и количества ДГЭС в бляшке, продемонстрировав наличие корреляционной взаимосвязи между величиной соотношения площадей ДГЭС и бляшки, количеством ДГЭС на 1 см² бляшки и результатами визуальной оценки, при этом взаимосвязь усиливалась при исключении из анализа гиперэхогенных АСБ.

Выводы

Метод КУУЗИ является информативным способом визуализации сосудистой сети АСБ КС, позволяющим быстро и надежно оценить степень неоваскуляризации

бляшек без выраженного гиперэхогенного компонента с использованием широко распространенного программного обеспечения QLAB. Наиболее надежный и удобный способ количественной оценки неоваскуляризации АСБ — подсчет количества ДГЭС на 1 см² бляшки на 1 кадре с визуальным наибольшим количеством сигналов, его результаты высоко коррелировали с данными морфологического исследования всей бляшки. Расчет соотношения площадей ДГЭС и бляшки также может быть использован, однако это более трудоемкий и менее надежный способ. Абсолютное значение ROI бляшки для данной цели использовать не рекомендуется. Полуколичественный метод оценки с помощью 2- или 3-балльной визуальной шкалы рекомендуется применять только как качественный экспресс-метод оценки наличия сосудистого компонента в АСБ. Гиперэхогенный компонент в АСБ оказывает значительное влияние на результат КУУЗИ, на основании чего для достоверной оценки неоваскуляризации АСБ необходима разработка алгоритма, позволяющего автоматически выявлять и исключать из анализа не только крупные, но особенно мелкие и среднего размера кальцификаты.

Литература

- Dunmore BJ, McCarthy MJ, Naylor AR, Brindle NPJ. Carotid plaque instability and ischemic symptoms are linked to immaturity of microvessels within plaques. *J Vasc Surg.* 2007; 45 (1): 155–9. DOI:10.1016/j.jvs.2006.08.072.
- Filis K, Toufektzian L, Galyfos G, et al. Assessment of the vulnerable carotid atherosclerotic plaque using contrast-enhanced ultrasonography. *Vascular.* 2017; 25 (3): 316–25. DOI:10.1177/1708538116665734.
- Гулевская Т. С., Моргунов В. А., Ануфриев П. Л. Структура атеросклеротических бляшек каротидного синуса и нарушения мозгового кровообращения. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2010; 4 (1): 13–19.
- Тухбатуллин М. Г., Баязова Н. И., Закиржанов Н. Р., и др. Применение контрастного усиления при ультразвуковом исследовании атеросклеротической бляшки в сонных артериях у пациентов с нарушением мозгового кровообращения. *Практическая медицина.* 2017; 103 (2): 124–9.
- Jeziorska M, Woolley DE. Local neovascularization and cellular composition within vulnerable regions of atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *J Pathol.* 1999; 188 (2): 189–96.
- Saha SA, Gourineni V, Feinstein SB. The Use of Contrast-enhanced Ultrasonography for Imaging of Carotid Atherosclerotic Plaques: Current Evidence, Future Directions. *Neuroimaging Clin N Am.* 2016; 26 (1): 81–96. DOI:10.1016/j.nic.2015.09.007.
- Feinstein SB. The powerful microbubble: from bench to bedside, from intravascular indicator to therapeutic delivery system, and beyond. *Am J Physiol Circ Physiol.* 2004; 287 (2): H450–7. DOI:10.1152/ajpheart.00134.2004.
- Coli S, Magnoni M, Sangiorgi G, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization in carotid arteries: correlation with histology and plaque echogenicity. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 52 (3): 223–30. DOI:10.1016/j.jacc.2008.02.082.
- Hoogi A, Adam D, Hoffman A, Kerner H, Reisner S, Gaitini D. Carotid plaque vulnerability: quantification of neovascularization on contrast-enhanced ultrasound with histopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol.* 2011; 196 (2): 431–6. DOI:10.2214/AJR.10.4522.
- Varetto G, Gibello L, Castagno C, et al. Use of Contrast-Enhanced Ultrasound in Carotid Atherosclerotic Disease: Limits and Perspectives. *Biomed Res Int [Internet].* 2015; 2015 (Article ID 293163): [about 7 p.]. Available from: <https://DOI.org/10.1155/2015/293163>.
- van den Oord S, Akkus Z, Bosch J, et al. Quantitative Contrast-Enhanced Ultrasound of Intraplaque Neovascularization in Patients with Carotid Atherosclerosis. *Ultraschall der Medizin — Eur J Ultrasound.* 2014; 36 (02): 154–61. DOI:10.1055/s-0034-1366410.
- Feinstein SB. The Evolution of Contrast Ultrasound: From Diagnosis to Therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 67 (21): 2516–8. DOI:10.1016/j.jacc.2016.04.004.
- Mocetti F, Weinkauff CC, Davidson BP, et al. Ultrasound Molecular Imaging of Atherosclerosis Using Small-Peptide Targeting Ligands Against Endothelial Markers of Inflammation and Oxidative Stress. *Ultrasound Med Biol.* 2018; 44 (6): 1155–63. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2018.01.001.
- Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями брахиоцефальных артерий. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2013; 19 (2) (приложение): 1–72.
- von Reutern G-M, Goertler M-W, Bornstein NM, et al. Grading Carotid Stenosis Using Ultrasonic Methods. *Stroke.* 2012; 43 (3): 916–21. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.636084.
- Gray-Weale AC, Graham JC, Burnett JR, Byrne K, Lusby RJ. Carotid artery atheroma: comparison of preoperative B-mode ultrasound appearance with carotid endarterectomy specimen pathology. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 1988; 29 (6): 676–81.
- Cattaneo M, Staub D, Porretta AP, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization and its correlation to plaque echogenicity in human carotid arteries atherosclerosis. *Int J Cardiol.* 2016; 223: 917–22. DOI:10.1016/j.ijcard.2016.08.261.
- Huang PT, Chen CC, Aronow WS, et al. Assessment of neovascularization within carotid plaques in patients with ischemic stroke. *World J Cardiol.* 2010; 2 (4): 89–97. DOI:10.4330/wjc.v2.i4.89.
- Iezzi R, Petrone G, Ferrante A, et al. The role of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in visualizing atherosclerotic carotid plaque vulnerability: which injection protocol? Which scanning technique? *Eur J Radiol.* 2015; 84 (5): 865–71. DOI:10.1016/j.ejrad.2015.01.024.
- Li C, He W, Guo D, et al. Quantification of carotid plaque neovascularization using contrast-enhanced ultrasound with histopathologic validation. *Ultrasound Med Biol.* 2014; 40 (8): 1827–33. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2014.02.010.
- Staub D, Patel MB, Tibrewala A, et al. Vasa vasorum and plaque

- neovascularization on contrast-enhanced carotid ultrasound imaging correlates with cardiovascular disease and past cardiovascular events. *Stroke*. 2010; 41 (1): 41–7. DOI:10.1161/STROKEAHA.109.560342.
22. Xiong L, Deng Y-B, Zhu Y, Liu Y-N, Bi X-J. Correlation of Carotid Plaque Neovascularization Detected by Using Contrast-enhanced US with Clinical Symptoms. *Radiology*. 2009; 251 (2): 583–9. DOI:10.1148/radiol.2512081829.
 23. Müller HFG, Viacoz A, Kuzmanovic I, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of carotid plaque neo-vascularization: accuracy of visual analysis. *Ultrasound Med Biol*. 2014; 40 (1): 18–24. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2013.08.012.
 24. Shah F, Balan P, Weinberg M, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of atherosclerotic carotid plaque neovascularization: a new surrogate marker of atherosclerosis? *Vasc Med*. 2007; 12 (4): 291–7. DOI:10.1177/1358863X07083363.
 25. Huang R, Abdelmoneim SS, Ball CA, et al. Detection of Carotid Atherosclerotic Plaque Neovascularization Using Contrast Enhanced Ultrasound: A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy Studies. *J Am Soc Echocardiogr*. 2016; 29 (6): 491–502. DOI:10.1016/j.echo.2016.02.012.
 26. Thapar A, Shalhoub J, Averkiou M, Mannaris C, Davies AH, Leen ELS. Dose-Dependent Artifact in the Far Wall of the Carotid Artery at Dynamic Contrast-enhanced US. *Radiology*. 2011; 262 (2): 672–9. DOI:10.1148/radiol.11110968.
 27. Leo ND, Venturini L, De Soccio V, et al. Multiparametric ultrasound evaluation with CEUS and shear wave elastography for carotid plaque risk stratification. *J Ultrasound*. 2018; 21 (4): 293–300. DOI:10.1007/s40477-018-0320-7.
 28. Мещерякова О. М., Катрич А. Н., Виноградов Р. А. и др. Сравнительная оценка результатов количественного анализа ультразвукового исследования с контрастным усилением и патоморфологии в определении степени неоангиогенеза в атеросклеротических бляшках. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2018; (1): 43–59.
 29. Евдокименко А. Н., Ануфриев П. Л., Куличенкова К. Н., Гулевская Т. С., Танащян М. М. Морфометрическая характеристика неоваскуляризации атеросклеротических бляшек каротидного синуса. *Архив патологии*. 2018; 80 (2): 24–9. DOI:10.17116/patol201880224-29.
- ### References
1. Dunmore BJ, McCarthy MJ, Naylor AR, Brindle NPJ. Carotid plaque instability and ischemic symptoms are linked to immaturity of microvessels within plaques. *J Vasc Surg*. 2007; 45 (1): 155–9. DOI:10.1016/j.jvs.2006.08.072.
 2. Filis K, Toufektzian L, Galyfos G, et al. Assessment of the vulnerable carotid atherosclerotic plaque using contrast-enhanced ultrasonography. *Vascular*. 2017; 25 (3): 316–25. DOI:10.1177/1708538116665734.
 3. Gulevskaya TS, Morgunov VA, Anufriev PL. Структура атеросклеротических бляшек каротидного синуса и нарушения мозгового кровообращения. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2010; 4 (1): 13–9. Russian.
 4. Tuhbatullin MG, Bayazova NI, Zakirzhanov NR, i dr. Применение контрастного усиления при ультразвуковом исследовании атеросклеротической бляшки в сонных артериях у пациентов с нарушениями мозгового кровообращения. *Практическая медицина*. 2017; 103 (2): 124–9. Russian.
 5. Jeziorska M, Woolley DE. Local neovascularization and cellular composition within vulnerable regions of atherosclerotic plaques of human carotid arteries. *J Pathol*. 1999; 188 (2): 189–96.
 6. Saha SA, Gourineni V, Feinstein SB. The Use of Contrast-enhanced Ultrasonography for Imaging of Carotid Atherosclerotic Plaques: Current Evidence, Future Directions. *Neuroimaging Clin N Am*. 2016; 26 (1): 81–96. DOI:10.1016/j.nic.2015.09.007.
 7. Feinstein SB. The powerful microbubble: from bench to bedside, from intravascular indicator to therapeutic delivery system, and beyond. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2004; 287 (2): H450–7. DOI:10.1152/ajpheart.00134.2004.
 8. Coli S, Magnoni M, Sangiorgi G, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization in carotid arteries: correlation with histology and plaque echogenicity. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 52 (3): 223–30. DOI:10.1016/j.jacc.2008.02.082.
 9. Hoogi A, Adam D, Hoffman A, Kerner H, Reisner S, Gaitini D. Carotid plaque vulnerability: quantification of neovascularization on contrast-enhanced ultrasound with histopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol*. 2011; 196 (2): 431–6. DOI:10.2214/AJR.10.4522.
 10. Varetto G, Gibello L, Castagno C, et al. Use of Contrast-Enhanced Ultrasound in Carotid Atherosclerotic Disease: Limits and Perspectives. *Biomed Res Int [Internet]*. 2015; 2015 (Article ID 293163): [about 7 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1155/2015/293163>.
 11. van den Oord S, Akkus Z, Bosch J, et al. Quantitative Contrast-Enhanced Ultrasound of Intraplaque Neovascularization in Patients with Carotid Atherosclerosis. *Ultraschall der Medizin — Eur J Ultrasound*. 2014; 36 (02): 154–61. DOI:10.1055/s-0034-1366410.
 12. Feinstein SB. The Evolution of Contrast Ultrasound: From Diagnosis to Therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67 (21): 2516–8. DOI:10.1016/j.jacc.2016.04.004.
 13. Moccetti F, Weinkauff CC, Davidson BP, et al. Ultrasound Molecular Imaging of Atherosclerosis Using Small-Peptide Targeting Ligands Against Endothelial Markers of Inflammation and Oxidative Stress. *Ultrasound Med Biol*. 2018; 44 (6): 1155–63. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2018.01.001.
 14. Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями брахиоцефальных артерий. *Angiology and vascular surgery*. 2013; 19 (2) (suppl.): 1–72. Russian.
 15. von Reutern G-M, Goertler M-W, Bornstein NM, et al. Grading Carotid Stenosis Using Ultrasonic Methods. *Stroke*. 2012; 43 (3): 916–21. DOI:10.1161/STROKEAHA.111.636084.
 16. Gray-Weale AC, Graham JC, Burnett JR, Byrne K, Lusby RJ. Carotid artery atheroma: comparison of preoperative B-mode ultrasound appearance with carotid endarterectomy specimen pathology. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1988; 29 (6): 676–81.
 17. Cattaneo M, Staub D, Porretta AP, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of intraplaque neovascularization and its correlation to plaque echogenicity in human carotid arteries atherosclerosis. *Int J Cardiol*. 2016; 223: 917–22. DOI:10.1016/j.ijcard.2016.08.261.
 18. Huang PT, Chen CC, Aronow WS, et al. Assessment of neovascularization within carotid plaques in patients with ischemic stroke. *World J Cardiol*. 2010; 2 (4): 89–97. DOI:10.4330/wjc.v2.i4.89.
 19. Iezzi R, Petrone G, Ferrante A, et al. The role of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in visualizing atherosclerotic carotid plaque vulnerability: which injection protocol? Which scanning technique? *Eur J Radiol*. 2015; 84 (5): 865–71. DOI:10.1016/j.ejrad.2015.01.024.
 20. Li C, He W, Guo D, et al. Quantification of carotid plaque neovascularization using contrast-enhanced ultrasound with histopathologic validation. *Ultrasound Med Biol*. 2014; 40 (8): 1827–33. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2014.02.010.
 21. Staub D, Patel MB, Tibrewala A, et al. Vasa vasorum and plaque neovascularization on contrast-enhanced carotid ultrasound imaging correlates with cardiovascular disease and past cardiovascular events. *Stroke*. 2010; 41 (1): 41–7. DOI:10.1161/STROKEAHA.109.560342.
 22. Xiong L, Deng Y-B, Zhu Y, Liu Y-N, Bi X-J. Correlation of Carotid Plaque Neovascularization Detected by Using Contrast-enhanced US with Clinical Symptoms. *Radiology*. 2009; 251 (2): 583–9. DOI:10.1148/radiol.2512081829.
 23. Müller HFG, Viacoz A, Kuzmanovic I, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of carotid plaque neo-vascularization: accuracy of visual analysis. *Ultrasound Med Biol*. 2014; 40 (1): 18–24. DOI:10.1016/j.ultrasmedbio.2013.08.012.

24. Shah F, Balan P, Weinberg M, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of atherosclerotic carotid plaque neovascularization: a new surrogate marker of atherosclerosis? *Vasc Med.* 2007; 12 (4): 291–7. DOI:10.1177/1358863X07083363.
25. Huang R, Abdelmoneim SS, Ball CA, et al. Detection of Carotid Atherosclerotic Plaque Neovascularization Using Contrast Enhanced Ultrasound: A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy Studies. *J Am Soc Echocardiogr.* 2016; 29 (6): 491–502. DOI:10.1016/j.echo.2016.02.012.
26. Thapar A, Shalhoub J, Averkiou M, Mannaris C, Davies AH, Leen ELS. Dose-Dependent Artifact in the Far Wall of the Carotid Artery at Dynamic Contrast-enhanced US. *Radiology.* 2011; 262 (2): 672–9. DOI:10.1148/radiol.11110968.
27. Leo ND, Venturini L, De Soccio V, et al. Multiparametric ultrasound evaluation with CEUS and shear wave elastography for carotid plaque risk stratification. *J Ultrasound.* 2018; 21 (4): 293–300. DOI:10.1007/s40477-018-0320-7.
28. Meshcheryakova OM, Katrich AN, Vinogradov RA, i dr. Sravnitel'naya ocenka re-zul'tatov kolichestvennogo analiza ul'trazvukovogo issledovaniya s kontrastnym usileniem i patomorfologii v opredelenii stepeni neoangiogeneza v ateroskleroticheskikh blyashkah. Ul'trazvukovaya i funktsional'naya diagnostika. 2018; (1): 43–59. Russian.
29. Evdokimenko AN, Anufriev PL, Kulichenkova KN, Gulevskaya TS, Tanashyan MM. Morphometric characteristics of neovascularization of carotid atherosclerotic plaques. *Arkh Patol.* 2018; 80 (2): 24–9. DOI:10.17116/ptol201880224-29. Russian.