

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ivana Jurin

**Povezanost izraženosti rezistina s
histološkom slikom
aterosklerotskoga plaka**

DISERTACIJA



Zagreb, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ivana Jurin

**Povezanost izraženosti rezistina s
histološkom slikom
aterosklerotskoga plaka**

DISERTACIJA

Zagreb, 2019.

Disertacija je izrađena u Klinici za kirurgiju i Klinici za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu Kliničke bolnice Dubrava

Voditelj rada: doc.dr.sc. Marko Ajduk

Zahvaljujem svom mentoru, doc.dr.sc. Marku Ajduku na velikoj podršci i savjetima u cjelokupnom postupku nastanka ove disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem Višnji Kocman čija je pomoć i prijateljska podrška u organizaciji tijekom izrade ove disertacije nemjerljiva.

Zahvaljujem kolegicama doc.dr.sc. Steli Bulimbašić, Lovorki Đerek i Ivani Suton te kolegama doc.dr.sc. Irzalu Hadžibegoviću i dr.sc. Marku Lucijaniću na pomoći u izradi ove disertacije.

Zahvaljujem svojim roditeljima Dragici i Zvonku te sestri Zrinki što su uvijek vjerovali u mene i bili mi podrška na svakom koraku stručnog i znanstvenog napretka.

Mom suprugu Hrvoju zahvaljujem na ljubavi, bezuvjetnoj podršci, razumijevanju i vjeri u moj uspjeh.

Disertaciju posvećujem suprugu Hrvoju i sinovima Viktoru i Tomi.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1 Moždani udar	1
1.2. Aterosklerotska bolest karotidne arterije i cerebrovaskularni simptomi	2
1.3. Dijagnostika aterosklerotske bolesti karotidne arterije	3
1.3.1 Slikovne metode	3
1.3.2 Slikovne metode određivanja morfologije plaka	7
1.3.3. Upalni markeri i nestabilnost plaka	9
1.3.4. Upalni markeri i neurološki simptomi	9
1.4. Liječenje aterosklerotske bolesti karotidne arterije.....	10
1.4.1. Karotidna endarterektomija	10
1.4.1.1. Indikacije za karotidnu endarterektomiju	10
1.4.2. Postavljanje potpornice u karotidnu arteriju (CAS) i karotidna endarterektomija (CEA): usporedba rezultata objavljenih studija	10
1.4.3. Kirurška tehnika	11
1.4.4. Medikamentno liječenje	13
1.4.4.1. Antitrombotsko liječenje karotidne bolesti	13
1.5. Ateroskleroza	14
1.5.1. Definicija ateroskleroze	14
1.5.2. Rizični čimbenici za nastanak ateroskleroze	15
1.5.3. Patofiziologija ateroskleroze	16
1.5.4. Aterosklerotski plak	18
1.6. Dosadašnje spoznaje o rezistinu	22
1.6.1. Otkriće i molekularni sastav rezistina	22
1.6.2. Uloga rezistina u inzulinskoj rezistenciji i dijabetesu.....	24
1.6.3. Uloga rezistina u aterosklerozi	25
2. HIPOTEZA.....	27
3. CILJEVI	28
3.1. Opći cilj	28
3.2. Specifični ciljevi	28
4. MATERIJALI I METODE.....	29
4.1. Plan istraživanja.....	29
4.2. Kliničke karakteristike i dijagnostička obrada bolesnika	30
4.3. Laboratorijska analiza krvi.....	31
4.3.1. Standardna laboratorijska analiza krvi	31
4.3.2. Rezistin u serumu	32
4.4. Sakupljanje uzoraka i histološka analiza karotidnih plakova	33
4.5. Imunohistokemijska analiza	33
4.6. Statističke metode	34
5. REZULTATI	35
5.1. Kliničke i demografske karakteristike bolesnika	35
6. RASPRAVA	65
7. ZAKLJUČAK.....	77
8. KRATKI SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU.....	78

9. KRATKI SADRŽAJ I NASLOV DISERTACIJE NA ENGLISKOM JEZIKU	79
10. POPIS LITERATURE	80
11. KRATKA BIOGRAFIJA	107

POPIS OZNAKA I KRATICA

- ACE - inhibitor angiotenzin konvertirajućeg enzima
- BMI - indeks tjelesne mase (eng. body mass index)
- CAP1 - protein 1 povezan s adenilil ciklazom
- CAS - endovaskularno postavljanje potpornice u karotidnu arteriju (eng. carotid artery stenting)
- CCA - zajednička karotidna arterija
- CCB - blokator kalcijevih kanala
- CDFI - kolor dupleks obojeni dopler (eng. color doppler flow imaging)
- CEA - karotidna endarterektomija (engl. carotid endarterectomy)
- CEUS - kontrastni ultrazvuk (eng. Contrast enhanced ultrasonography)
- CRP - C reaktivni protein
- CTA - komjuterizirana tomografija angiografija (eng. computed tomography angiography)
- CVI - moždani udar (eng. cerebrovascular insult, stroke)
- DAPT - dvojna antiagregacijska terapija (eng. Dual antiplatelet therapy)
- DM - šećerna bolest (eng. diabetes mellitus)
- DSA - digitalna subtraksijska angiografija (eng. digital subtraction angiography)
- ED - endotelna disfunkcija
- ELISA - enzimski imunotest (engl. enzyme linked immunosorbent assay)
- ECA - vanjska karotidna arterija
- EDV- brzina na kraju dijastole (eng. End diastolic velocity)
- ET-1- endotelin 1
- HDL - lipoprotein visoke gustoće (eng. high density lipoprotein)
- ICA - unutarnja karotidna arterija
- ICAM-1- unutarstanična adhezijska molekula
- IL-1 - interleukin-1
- IL-2 - interleukin-2
- IL-6 - interleukin -6
- IL-18 - interleukin-18
- IL-1 β - interleukin 1 β
- IFN γ - interferon- γ
- IMT - debljina kompleksa intime i medije (engl. intima media thickness)
- kDa - kilodalton
- KV - kardiovaskularne bolesti
- LPS - lipopolisaharidi

MAPK- mitogen-aktivirana protein kinaza
MCP-1 - čimbenik privlačenja monocita 1
MMP-1 - matriks metaloproteinaza 1
MMP-7 - matriks metaloproteinaza 7MRA - magnetska angiografija (eng. magnetic resonance angiography)
MSCTA - višeslojna kompjutorizirana angiografija (engl. multislice computerized tomography angiography)
mRNA - glasnička ribonukleinska kiselina (engl. messenger ribonucleic acid)
NF- κ B - nuklearni faktor-kapaB
NO - dušični oksid
PAB - periferna arterijska bolest
PAI-1 - inhibitor aktivatora plazminogena-1 (eng. plasminogen activator inhibitor-1)
PCSK9 - proprotein konvertaza subtilizin/keksin tip 9 (PCSK9)
PDGF - trombocitni čimbenik rasta
PPAR γ - receptor aktivacije proliferacije peroksisoma γ
PSV - maksimalna sistolička brzina (engl. peak systolic velocity)
PTX3 - pentraksin 3
RELMs - molekule nalik rezistinu (eng. resistin-like molecules)
ROS - slobodni radikali kisika
SAPT- monoterapija antiagregacijskim lijekom (eng. Single antiplatelet therapy)
suPAR - receptor urokinaznog aktivatora plazminogena topiv u plazmi
TIA - tranzitorna ishemijska ataka
TIMP-1 - tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze 1
TNF- α - čimbenik nekroze tumora- α
TLR4 - Toll-u sličan receptor 4(engl. Toll-like receptor 4)
VCAM - adhezijska molekula stanica žila (eng. vascular cell adhesive molecule)
VEGFR- receptor čimbenika rasta endotela žila
VLDL - lipoprotein izrazito niske gustoće (eng. very low-density lipoprotein)

1. UVOD

1.1 Moždani udar

Moždani udar (cerebrovaskularni inzult, CVI) je, prema definiciji Svjetske zdravstvene organizacije (WHO), klinički sindrom brzog početka fokalnog ili globalnog cerebralnog deficita, koji traje više od 24 h ili vodi smrti, bez vidljivog uzroka osim onog vaskularnog (1). Dijeli se na dva osnovna oblika: ishemijski udar ili cerebralni infarkt s udjelom od oko 85 % populacije i hemoragični udar, odnosno cerebralno krvarenje s udjelom oko 15 %. Hemoragični udar se odnosi na intracerebralno ili subarahnoidalno krvarenje (2).

U demografski razvijenim zemljama prosječna dob u kojoj se javlja moždani udar je oko 73 godine, a u manje razvijenim zemljama prosječna je dob mlađa (3).

U Republici Hrvatskoj, moždani je udar drugi uzrok smrtnosti sa 6147 umrlih 2017. godine odnosno 11,5 % svih umrlih. Od toga je 2561 umrlih muškaraca (9,9 % svih umrlih muškaraca), a 3586 umrlih žena (13 % svih umrlih žena) (4).

U europskoj populaciji od 715 milijuna ljudi, godišnje 1,4 milijuna dobije moždani udar, a 1,1 milijuna ljudi umire od posljedica moždanog udara što čini moždani udar drugim uzrokom smrti u Europi. Unatrag nekoliko zadnjih desetljeća prošlog stoljeća u zemljama Zapadne Europe povoljan je trend smanjenja pobola i smrtnosti od moždanog udara što je uvjetovano dobrom prevencijom rizičnih čimbenika. Ipak, zbog starije strukture stanovništva, postoji trend povećanja apsolutnog broja moždanih udara te se procjenjuje kako će se pobol od moždanog udara do 2020. godine udvostručiti (5).

Međunarodne epidemiološke studije pokazuju kako stope rasti eksponencijalno s dobi i kreću se između 0,3 promila u trećem i četvrtom desetljeću života, sve do 30 promila u osmom i devetom desetljeću života, što u prosjeku iznosi 1 - 2 promila (6).

Rana smrt nakon moždanog udara je najvećim dijelom uzrokovana komplikacijom lezije mozga odnosno ometanjem vitalnih centara. Oko 30 % bolesnika umire unutar godine dana od moždanog udara, a u petogodišnjem razdoblju smrtnost nakon ishemijskog moždanog udara iznosi i do 60 %. Među oboljelima oko 75 % slučajeva čine prvi, a oko 25 % slučajeva recidivirajući moždani udar. Rizik recidiva moždanog udara je najveći u prvoj godini i kreće se oko 10 %, a svake sljedeće godine oko 5 % (7).

Dvadeset posto preživjelih zahtijeva institucionalno zbrinjavanje odnosno ovisno je o tuđoj pomoći, a 15 -30 % preživjelih trajno je nesposobno za rad (8).

1.2. Aterosklerotska bolest karotidne arterije i cerebrovaskularni simptomi

U oko 10 - 15 % slučajeva ishemijskih moždanih udara uzrok je tromboembolija čije je podrijetlo 50 - 99 %-tna stenoza (suženje) unutarnje karotidne arterije. Prema definiciji iz velikih studija, karotidna stenoza se definira kao simptomatska ukoliko je vezana uz cerebrovaskularne simptome unutar 6 mjeseci od dijagnoze. Asimptomatska karotidna stenoza je ona u koje se ne mogu utvrditi prijašnji neurološki simptomi, odnosno ukoliko su se ti simptomi pojavili prije više od 6 mjeseci (9). Bolesnici sa značajnom stenozom karotidne arterije imaju povećan rizik za moždani udar, međutim nedavne studije naglašavaju i druge čimbenike koji sudjeluju u patogenezi bolesti. Osim moždanog udara, cerebralni simptomi koje može uzrokovati stenoza karotidne arterije uključuju i tranzitornu ishemijsku ataku (TIA). Pod pojmom tranzitorne ishemijske atake podrazumijeva se neurološki deficit koji ne traje dulje od 24 sata, a danas se smatra kako je uglavnom posljedica mikroembolizacija (10). Osim ovih cerebralnih simptoma mogu se javiti i okularni simptomi u vidu amaurosis fugax ili retinalnog infarkta. Amaurosis fugax je prolazni gubitak vida na jednom oku. Aterosklerotski plak unutar sužene karotidne arterije je osnovni uzrok većini ishemijskih moždanih udara - bolest može biti simptomatska ili asimptomatska, a specifične karakteristike same lezije povezane su s ishemijskom ozljedom mozga (11). S obzirom kako je aterosklerotska bolest karotidne arterije važan čimbenik rizika za moždani udar, probir asimptomatskih bolesnika sa stenozom karotidne arterije koji imaju povećan rizik za moždani udar važan je u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Unatoč početnim optimističnim i rastućim trendovima endovaskularnog liječenja odnosno postavljanja endovaskularne potpornice u karotidnu arteriju (CAS) između 2004. i 2006. godine, randomizirana ispitivanja su pokazala kako karotidna endarterektomija (CEA) značajno smanjuje rizik recidiva moždanog udara u bolesnika s nedavnim simptomima tranzitorne ishemijske atake (TIA) ili ishemijskog moždanog udara sa značajnom stenozom odgovorne karotidne arterije (12). U svakodnevnoj kliničkoj praksi neće svi bolesnici imati koristi od endarterektomije jer će neki imati stabilne aterosklerotske plakove koji neće uzrokovati nove tromboembolijske incidente. S druge strane, neki su bolesnici bez značajne bolesti karotidne arterije imali recidiv moždanog udara (13). U Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study (ACAS) i Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST) studiji, asimptomatski bolesnici sa stenozom od 60 - 80 % imali su veću učestalost moždanog udara nego oni s većim stupnjem stenozе, a kod asimptomatskih bolesnika sa stenozom karotidne arterije od 50 -60 % nakon endarterektomije postojalo je smanjenje rizika od moždanog udara (14,15). U ACAS studiji 5-godišnji rizik ipsilateralnog moždanog udara bio je 11 % dok je u ACST studiji taj rizik bio 4,7% za stenozе više od 70 %. Međutim, u vrijeme tih studija medikamentna terapija bila je znatno inferiornija u usporedbi s današnjim smjernicama, a današnja medikamentna terapija uspješnija je u prevenciji moždanog udara. Prema rezultatima studije Second Manifestations of ARTERial disease study

(SMART) godišnja incidencija ipsilateralnog moždanog udara kod asimptomatske stenoze karotidne arterije jest svega 0,6% (16). U North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) studiji nađena je značajna povezanost između stupnja stenoze i pojave moždanog udara: nakon 18 mjeseci medikamentne terapije bez revaskularizacije učestalost moždanog udara bila je 19 % za stenoze od 70 - 79 %, 28 % za stenoze od 80 - 89 % te 33 % za stenoze od 90 - 99 % (17). Međutim, trenutna stratifikacija rizika na temelju samo postotka stenoze ne daje dovoljno informacija o samom bolesniku i o stvarnom riziku moždanog udara za većinu bolesnika s aterosklerotskom bolesti karotidnih arterija. U prospektivnim randomiziranim studijama utvrđeno je kako će samo 10 do 12 % asimptomatskih bolesnika imati simptomatski moždani udar u razdoblju od 5 godina, a značajna većina nikada neće imati neurološke simptomatologije. Za asimptomatske bolesnike potrebno je 19 postupaka kako bi se spriječio jedan moždani udar (18). S obzirom na navedeno, postoji potreba za poboljšanjem strategije liječenja koja je usredotočena na prepoznavanje visokorizičnih karotidnih plakova koji su odgovorni za cerebrovaskularne incidente. Ističu se tri potencijalne skupine predskazatelja: a) opći pokazatelji (vezani uz bolesnika), b) karakteristike plaka (stupanj stenoze i morfološke karakteristike) i c) biokemijski pokazatelji. U studiji Asymptomatic Carotid Stenosis and Risk of Stroke (ACSRS) kombinacija tri čimbenika (90 - 99 %-tna karotidna stenoza, anamneza kontralateralne TIA-e i kreatinin iznad 85 $\mu\text{mol/L}$) bili su predskazatelji moždanog udara, neovisno o spolu i dobi (19). Ostali rizični čimbenici bili su okluzija kontralateralne karotide te brzina progresije stenoze. Rizični čimbenici poput arterijske hipertenzije i hiperlipoproteinemije nemaju visoku prediktivnu vrijednost jer su prisutni u većine bolesnika s karotidnom bolešću.

1.3. Dijagnostika aterosklerotske bolesti karotidne arterije

1.3.1 Slikovne metode

U dijagnostici karotidne bolesti koriste se sljedeće slikovne metode: ultrazvuk (eng. color doppler flow imaging - CDFI), digitalna subtrakcijska angiografija (DSA), MSCT-angiografija (eng. Multislice computed tomography angiography - MSCTA) i magnetska angiografija (eng. magnetic resonance angiography - MRA). Unatoč razvoju neinvazivnih metoda, DSA se i dalje smatra zlatnim standardom u dijagnostici karotidne arterijske bolesti.

Ultrazvuk kombinira doplerski pulsni val (engl. pulsed wave, PW) i B-mode sonografiju. Maksimalna sistolička brzina (eng. peak systolic velocity, PSV) i omjer brzina su osnovni elementi u dijagnozi arterijske stenoze, a kod unutarnje karotidne arterije mjeri se još i brzina na kraju dijastole (eng. end diastolic velocity, EDV) i računa se indeks otpora (engl. resistance

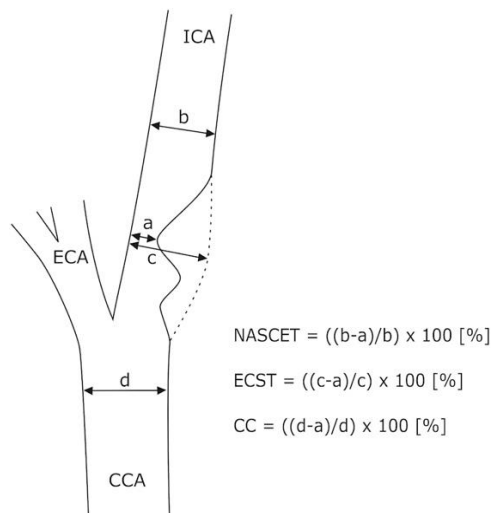
index, RI) (20). Za pouzdanu procjenu stenoze mora se koristiti više kriterija, a CDFI uz B-mode prikaz ima zadovoljavajuću senzitivnost (81 - 98 %) i specifičnost (82 - 89 %) te ima mogućnost i uvida u morfologiju plaka što ima prognostičku vrijednost (21). Prednosti ultrazvuka su neinvazivnost, sigurnost, cijena te zadovoljavajuća senzitivnost i specifičnost, a nedostaci su ograničene mogućnosti kod anatomskih nepogodnosti (jako zavijena i kalcificirana arterija, konstitucija bolesnika), manja osjetljivost kod nižeg stupnja stenoza te ovisnost o iskustvu ultrasonografičara. Na temelju konsenzusa utvrđeni su kriteriji za određivanje stupnja stenoze karotidne arterije i prikazani su u tablici 1 (22).

Tablica 1. Kriteriji za utvrđivanje stupnja stenoze karotidne arterije

	Primarni pokazatelji		Dodatni pokazatelji	
Stupanj stenoze	Maksimalna sistolička brzina protoka u ICA (cm/s)	Redukcija promjera ICA (%)	Odnos brzina u CCA i ICA	Maksimalna enddiastolička brzina protoka u ICA (cm/s)
Normalno	< 125	Normalna	<2.0	<40
<50%	< 125	<50	<2.0	<40
50 - 69%	125 - 230	>50	2.0 - 4.0	40 - 100
>70%	< 230	>50	>4.0	>100
95 - 99%	Visoka, niska ili nemjerljiva	Vidljiv protok	Varijabilno	Varijabilno

Konvencionalna DSA u ovom trenutku nije prva metoda izbora za utvrđivanje karotidne stenoze, no još se uvijek smatra zlatnim standardom i neizostavan je dio procedure CSA. Danas se rijetko koristi u dijagnostičke svrhe. Karotidna se arterija prikazuje u nekoliko projekcija, a DSA omogućava prikaz i evaluaciju stupnja i morfologije stenoze. Nekoliko se metoda može koristiti za mjerenje stupnja karotidne stenoze temeljem angiografskih prikaza. The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) metoda uspoređuje stenozu sa distalnim normalnim poststenotičnim promjerom unutarnje karotidne arterije (ICA) (23) kao što je prikazano na slici 1.

The European Carotid Surgery Trial (ECST) metoda uspoređuje stenozu s procijenjenim normalnim promjerom bulbusa karotide (24). The common carotid (CC) metoda mjeri ostatni promjer lumena na dijelu žile s najvećom stenozom i uspoređuje ga sa promjerom lumena u proksimalnom dijelu zajedničke karotidne arterije (CC) (25). Različite tehnike mjerenja dovode do različite procjene stupnja stenoze.



Slika 1. Metode mjerenja stupnja stenozе karotidne arterije: The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET), European Carotid Surgery Trial (ESCT), and common carotid (CC) method. (a-najuži promjer ICA, b-distalni promjer ICA, c-procijenjeni uredan promjer na najužoj točki, d-promjer CCA proksimalno od bulbus, CCA-zajednička karotidna arterija, ICA-unutarnja karotidna arterija, ECA-vanjska karotidna arterija).

Prednosti DSA su odlična vizualizacija i mogućnost preciznog određivanja stupnja suženja i prikaz određenih karakteristika plaka koje mijenjaju izgled luminalne površine arterije kao što je to ulkus u području plaka. Nadalje, angiografijom se dobiva prikaz eventualnih dodatnih distalnih stenozā karotidnog stabla (takozvanih tandem stenozā) te određenih urođenih anatomskih varijacija arterijskog stabla. Nedostatak DSA je taj da je to invazivna metoda koja zahtijeva punkciju pristupne periferne arterije sa svim komplikacijama takvog zahvata (stvaranje hematoma, pseudoaneurizme, disekcije itd), a ne daje nam informaciju o sastavu plaka odnosno može samo pokazati radi li se o izrazito kalcificiranom plaku ili ne. Važno je naglasiti kako sama DSA nosi rizik od moždanog udara koji iznosi oko 1 % (26). MSCTA omogućava vizualizaciju i određivanje stupnja suženja unutarnje karotidne arterije kako u području bulbusa tako i u distalnijim dijelovima unutarnje karotidne arterije (eventualne tandem stenozē). Ovom tehnikom moguće je mjeriti gustoću analiziranog tkiva i izražavati je u Hounsfieldovim jedinicama-HU (27). Evaluacija se radi na multiplim prikazima i različitim rekonstrukcijama sa mogućnošću evaluacije morfologije samog plaka. MSCT može pokazati tromb unutar lumena te ulceracije samog plaka. U kliničkoj se praksi suženje obično mjeri koristeći NASCET ili ESCT kriterije. Meta-analiza je pokazala kako je senzitivnost MSCT-a 77 % i specifičnost 94 % za suženja od 70 do 99 % i senzitivnost od 67 % i specifičnost od 89 % za suženja od 50 do 69 % (28). Najveći nedostatak MSCT-a je rendgensko zračenje te mogućnost nastanka kontrastom inducirane nefropatije te je iz tog razloga oštećenje bubrežne

funkcije relativna kontraindikacija za primjenu ove metode. Iako MSCT može utvrditi male, kalcificirane promjene bolje od DSA ili MR, opsežne kalcifikacije mogu umanjiti točnost interpretacije. Nekontrastni CT (NECT) može detektirati kalcificirane plakove u karotidnoj arteriji no ne koristi se rutinski u te svrhe (29). MRA se koristi za direktnu vizualizaciju suženja ili tzv. tehnikom time-of-flight (TOF-MRA) bez kontrasta ili s kontrastnom MRA (CE-MRA) upotrebom gadolinijuskog kontrasta koji ima značajno manju učestalost nefropatije i alergijskih reakcija nego jodni kontrast koji se koristi kod DSA.

Suženje se mjeri koristeći NASCET ili ESCT metodu. Senzitivnost CE-MRA iznosi 91 - 95 %, a specifičnost 88 - 99 %. Prednost ove pretrage jest uvid u cijelu arteriju (ekstrakranijalni i intrakranijalni segment) i manja ovisnost o iskustvu dijagnostičara (30). Nedostaci su manja pouzdanost za umjerene stenoze (precjenjivanje stenoza), nesposobnost razlikovanja subokluzije i okluzije, cijena, ograničena dostupnost kao i poteškoće u provođenju kod bolesnika u teškom općem stanju, klaustrofobičnih bolesnika te bolesnika s elektrostimulatorom srca ili defibrilatorom. Usporedba metoda prikazana je u tablici 2.

Slikovna metoda koja će se koristiti za prikaz karotidne arterije ovisi prvenstveno o kliničkoj indikaciji i dostupnosti u određenoj ustanovi. Kako bi se poboljšala točnost dijagnosticiranja prije revaskularizacije preporuča se korištenje dvije slikovne metode (30). CDFI pretraga je izbora za probir bolesnika s umjerenim rizikom bolesti, a uz određena ograničenja može se koristiti i kao definitivna pretraga. Bolesnici sa suženjem manjim od 50 % nastavljaju kliničko praćenje kako bi se utvrdila eventualna progresija bolesti, a bolesnicima sa suženjem većim od 50 % potrebno je napraviti dodatnu dijagnostiku s transkranijalnim doplerom, MRA ili MSCTA (31, 32).

Tablica 2. Usporedba slikovnih metoda za evaluaciju suženja karotidne arterije

	DSA	CE-MRA	MSCTA	DUS
Točnost utvrđivanja suženja	zlatni standard	senzitivnost 94 % specifičnost 93 %	senzitivnost 77 % specifičnost 94 %	senzitivnost 89 % specifičnost 84 %
Morfologija suženja	odlična	dobra	dobra	ograničena
Sastav plaka	ograničena	potrebne dodatne sekvence	dobra	dobra
Vizualizacija aortnog luka	dobra	dobra	dobra	ograničena
Intrakranijska cirkulacija	dobra	dobra	dobra	potreban dodatni transkranijiski Doppler
Invazivnost	da	minimalna	minimalna	ne
Zračenje	da	ne	da	ne
Upotreba kontrasta	da	da	da	ne

1.3.2 Slikovne metode određivanja morfologije plaka

Uz određivanje stupnja stenoze lumena karotidne arterije potrebna je dodatna evaluacija morfologije samog aterosklerotskog plaka s obzirom kako je povezanost između stupnja stenoze karotidne arterije i simptomatologije bolesnika nekonzistentna. Više je studija pokazalo kako čak i do 80 % bolesnika s jasno definiranim neurološkim simptomima nema značajnu stenozu ICA, a ukoliko takvi bolesnici nemaju drugih uzroka nastanka embolusa (npr. fibrilacija atrijske), za pretpostaviti je kako embolizacija često nastaje zbog lezija u ICA koje ne dovode do hemodinamski značajnih promjena u protoku (19). Slikovne metode pomažu u razlikovanju stabilnih od nestabilnih plakova, a samim time i probiru bolesnika koji imaju visok rizik za kardiovaskularne komplikacije. Ultrazvučne karakteristike plakova sklonih rupturi su: nepravilni rubovi plaka, heterogenost, duljina suženja veća od 1 cm, debljina plaka veća od 4 mm, progresija plaka i eholucentcija plaka. Plakovi tipa 1 (eholucentni, uniformno hipoehogeni plakovi, osobito s eholucentnim područjem neposredno uz lumen) imaju, prema većini studija, veći rizik za nastanak moždanog udara i smatraju se nestabilnim plakovima (33, 34). Pojam contrast enhanced ultrasonography (CEUS) označava ultrazvučnu dijagnostičku tehniku koja upotrebom ultrazvučnog kontrastnog sredstva uz klasične ultrazvučne modalitete može identificirati neovaskularizaciju plaka (35, 36). Povećano nakupljanje kontrasta povezano je s povećanom neovaskularizacijom

identificiranom histološkom tehnikom. Studije su potvrdile povezanost povećanog nakupljanja kontrasta s kliničkim simptomima te je potvrđeno kako eholucentni plakovi imaju povećan stupanj nakupljanja kontrasta (37,38,39). Prednost ultrazvučnih kontrastnih medija jest sigurnost njihove primjene s obzirom kako je plinska jezgra mikromjehurića biološki inertna i u potpunosti se izlučuje izdisanjem unutar jednog dana nakon primjene bez popratnih metabolita, a fosfolipidna ovojnica biva razgrađena retikuloendotelnim sustavom jetre i slezene (40,41,42). U potpunosti je izbjegnuto metaboliziranje i izlučivanje kontrasta putem bubrega što CEUS čini sigurnim za primjenu u bolesnika s bubrežnim oštećenjem. MRI je dobar za procjenu volumena, sastava i morfologije aterosklerotskog plaka (43,44). MRI može kvantificirati sve komponentne aterosklerotskog plaka uključujući fibrozno tkivo, kalcij i lipide, a također se može utvrditi i prisutnost krvarenja u plak ili tromba unutar lumena (45,46,47,48) odnosno morfologija same fibrozne kape (FC) koja se može opisati kao netaknuta i gusta, netaknuta i tanka ili rupturirana. Prisutnost tanke ili rupturirane fibrozne kape bila je povezana s moždanim udarom, a kinetika ispiranja gadolinija u fibroznu kapu i lipidnu jezgru povezana je sa stupnjem neovaskularizacije (49). MSCTA daje informacije o sastavu plaka i površinskim nepravilnostima. Nedavna je studija ukazala i na mogućnost korištenja MSCTA za usporedbu s histopatološkim uzorcima nakon CEA za procjenu sastava karotidnog plaka. Ulceracije površine plaka mogu se dobro procijeniti s MSCTA i povezane su sa cerebrovaskularnim simptomima (50,51,52). Postoji pozitivna povezanost između tipa masnih naslaga i simptoma te između stenoze veće od 70 % i simptoma te negativna povezanost između kalcificiranih plakova i simptoma (53). Različiti modaliteti snimanja daju dodatne informacije za karakterizaciju karotidnih plakova. CEUS, osim bolje kvantifikacije stenoze i površinskih karakteristika plaka, može također prikazati neovaskularizaciju plaka. Budući da su CEUS kontrastna sredstva sigurna i komercijalno dostupna, mogu se koristiti u kliničkim uvjetima radi bolje stratifikacije rizika kod bolesnika s aterosklerotskom bolesti karotidnih arterija. MSCTA je "zlatni standard" za utvrđivanje kalcifikacija plakova. Sastav plaka, a time i stabilnost također se može proučavati pomoću MRI. Sve ove tehnike zajedno pružaju potpune informacije o karakteristikama plaka i mogu se uzeti u obzir u planiranju daljnjeg liječenja bolesnika s aterosklerotskom bolesti karotidnih arterija.

1.3.3. Upalni markeri i nestabilnost plaka

Otkrivanje potencijalno nestabilnih aterosklerotskih lezija upotrebom biomarkera donijela bi prednosti u uspostavljanju odgovarajućeg plana liječenja u bolesnika s asimptomatskom stenozom karotidne arterije. Pokazalo se kako su značajke nestabilnosti plaka, koje su procijenjene MRI-om povezane s povećanom izraženosti nekoliko proupalnih molekula, kao što su citokini interleukin-6 (IL-6) i faktor nekroze tumora-alfa (TNF α), endotelni aktivacijski markeri kao što su E-kadherin i adhezijska molekula stanica žila-1 (VCAM-1) te upalni markeri kao što su visoko-senzitivni C-reaktivni protein (hs-CRP) i pentraksin 3 (PTX3) (54). Pelisek i suradnici (55) utvrdili su povezanost između histoloških značajki nestabilnosti karotidnog plaka i razine serumske cirkulirajuće matriks metaloproteinaze-1 (MMP-1), serumske cirkulirajuće matriks metaloproteinaze-7 (MMP-7), tkivnog inhibitora matriks metaloproteinaze-1 (TIMP-1) i interleukina-8 (IL-8). MMP pripadaju obitelji proteinaza uključenih u degradaciju izvanstaničnog matriksa za koje se čini da imaju ključnu ulogu u procesu remodeliranja žile tijekom procesa bolesti, a brojna eksperimentalna istraživanja upućuju na to da MMP mogu biti uključeni u proces destabilizacije plaka (56, 57).

1.3.4. Upalni markeri i neurološki simptomi

Najvažniji cilj liječenja bolesnika s asimptomatskom stenozom karotidne arterije je sprečavanje pojave ateroembolijskih događaja koji dovode do pojave ishemijskog moždanog udara. Proučavanje bolesnika ubrzo nakon cerebrovaskularnog događaja koji se doveo u vezu s aterosklerotskom bolesti karotidne arterije može dovesti do identifikacije serumskih markera koji su potencijalno korisni u identificiranju bolesnika s većim rizikom za recidiv. Pokazalo se kako rezultati dobiveni u akutnoj fazi bolesti mogu biti nepouzdana. Naime, akutni proces unutar središnjeg živčanog sustava može izravno utjecati na koncentraciju cirkulirajućih biomarkera. Analiza hs-CRP dovela je do proturječnih rezultata koji su učinili taj marker nepouzdanim za identifikaciju bolesnika koje bi trebalo agresivnije liječiti (58,59). S druge strane, pokazalo se kako je IL-6 više povezan s prisutnošću simptomatskog suženja karotidne arterije, ali rezultati su daleko od konačnih (60). Receptor urokinaznog aktivatora plazminogena topiv u plazmi (suPAR) oslobađa se proteolitičkim cijepanjem u upalnom okolišu. Izraženost topivog receptora urokinaznog aktivatora plazminogena u plazmi (suPAR) bila je veća u bolesnika sa simptomatskom stenozom karotidne arterije te u bolesnika kod kojih su se simptomi aterosklerotske bolesti karotidnih arterija manifestirali kao moždani udar ili TIA od onih kod kojih se bolest manifestirala kao amaurosis fugax (61). U skladu sa svojom povezanošću s nestabilnošću plaka, pokazalo se da je MMP-7 povišen u serumu

bolesnika koji su imali moždani udar u vremenskom razdoblju od 2 do 6 mjeseci prije analize (62).

1.4. Liječenje aterosklerotske bolesti karotidne arterije

Liječenje značajnog suženja karotidne arterije uključuje karotidnu endarterektomiju (CEA), endovaskularno postavljanje potpornice (CAS) i medikamentno liječenje.

1.4.1. Karotidna endarterektomija

Karotidna endarterektomija (CEA) je kirurški postupak kojim se uklanja plak unutar karotidne arterije kako bi se uspostavio normalan protok u mozak.

1.4.1.1. Indikacije za karotidnu endarterektomiju

Simptomatski bolesnici su oni bolesnici koji su imali CVI, TIA ili amaurosis fugax unutar 6 mjeseci. Prema trenutno važećim smjernicama karotidna endarterektomija treba se razmotriti kod bolesnika sa simptomatskom stenozom karotidne arterije od 50 do 69 %, a preporuča se kod bolesnika sa simptomatskom stenozom arterije od 70 do 99 % (63). Za stenozu manje od 50 % preporuča se medikamentna terapija čak i ako su simptomatske. Novije studije pokazale su da se kirurški zahvat može učiniti već tijekom nekoliko sati nakon nastupa simptoma, čak i netom nakon provedene trombolize, a da se pritom periproceduralni rizik znatno ne povećava. Preporuka američkih smjernica je učiniti CEA unutar 2 tjedna od pojave simptoma, a ne odgađati zahvat za kasnije (64, 65). U asimptomatskih bolesnika preporuča se CEA u slučaju 60 - 99 % suženja karotidne arterije, očekivanog trajanja života više od 5 godina, povoljne anatomije i povećanog rizika moždanog udara (63).

1.4.2. Postavljanje potpornice u karotidnu arteriju (CAS) i karotidna endarterektomija (CEA): usporedba rezultata objavljenih studija

Tijekom posljednjeg desetljeća metoda postavljanja potpornice u karotidnu arteriju (engl. carotid artery stenting - CAS) razvila se kao način liječenja ekstrakranijalne stenozu karotidne arterije s idejom da se karotidna endarterektomija zamijeni manje invazivnim postupkom poštenijim za bolesnika, a s jednakim rezultatima liječenja. Meta-analiza 8 prospektivnih studija koje su uspoređivale CEA i CAS pokazala je kako je CEA najbolja metoda liječenja za simptomatske bolesnike (66). Relativni rizik od CAS-a za moždani udar je prema meta-analizi 61 % veći nego kod CEA-e. Smjernice Europskoga kardiološkog društva navode da se CAS može smatrati alternativom CEA-i i za simptomatske i za asimptomatske bolesnike samo u centrima s velikim brojem zahvata i dokumentiranim niskim periproceduralnim rizikom od smrti, moždanog udara ili infarkta miokarda (63). U bolesnika koji se smatraju

visokorizičnima za CEA-u prihvatljiva je alternativa CAS zajedno s protekcijom od embolizacije. Iz studije SAPPHERE proizlazi da je CAS indiciran kod bolesnika sa simptomatskom stenozom karotidne arterije >50 % ako se smatraju rizičnima za CEA-u (67). To su bolesnici s teškom koronarnom bolesti koja se ne može revaskularizirati ili oni s teškom opstruktivnom plućnom bolesti. Prema američkim smjernicama, CAS je indiciran prije CEA-e uglavnom u bolesnika koji se smatraju visokorizičnima za kirurgiju (68). CAS u bolesnika sa simptomatskom suženjem karotidne arterije >50 % ima prednost u onih s prethodnim kirurškim zahvatima na vratu, nakon radioterapije vrata, kod lezije moždanih živaca ili kod stenoza koje su distalno od tijela drugoga vratnog kralješka (69). U tijeku je najveća randomizirana studija za asimptomatske bolesnike ACST-2 koja uspoređuje rezultate liječenja CEA-e i CAS-a. Cilj je studije obuhvatiti 5000 bolesnika, a u nju su uključeni i bolesnici iz Hrvatske. Rezultati se očekuju tijekom 2019. godine, a preliminarni su rezultati publicirani krajem 2013. god. nakon prvih 986 bolesnika (70). U bolesnika starijih od 70 godina značajno raste rizik od moždanog udara i smrti kod CAS-a u usporedbi s CEA-om (12 % : 5,9 %) a u mlađih od 70 godina ne postoji značajna razlika u riziku od moždanog udara i smrti između CAS-a i CEA-e (71). Ako se procedura provodi uz protekciju od embolizacije, CAS je prihvatljiva alternativa u bolesnika koji se smatraju visokorizičnima za CEA-u. CAS je indiciran u bolesnika s asimptomatskom stenozom karotidne arterije >70 % ako se smatraju rizičnima za CEA-u (72).

1.4.3. Kirurška tehnika

CEA se može izvoditi u općoj ili lokalnoj anesteziji, a izbor ovisi o operateru i karakteristikama bolesnika. Sam zahvat se vrši kroz longitudinalnu inciziju na vratu uz rub sternokleidomastoidnog mišića ili kroz poprečnu inciziju na pretpostavljenom mjestu račvišta karotidne arterije. Nakon preparacije dijela zajedničke, unutarnje i vanjske karotidne arterije, davanja heparina i klemanja žila, pristupa se longitudinalnoj arteriotomiji na razini bifurkacije prema proksimalno i distalno. Ukoliko tijekom klemanja arterija ne dođe do promjene neurološkog statusa bolesnika, operacija će se nastaviti bez postavljanja intraluminalnog "shunta", a u protivnom se postavlja privremeni "shunt" između zajedničke i unutarnje karotidne arterije. Sljedeći korak je odstranjenje karotidnog plaka (između medije i intime) pri čemu se pazi da područje prijelaza između operiranog i neoperiranog dijela bude glatko kako bi se izbjegla postoperativna disekcija. Nakon pažljivog pregleda površine endarterektomije i odstranjenja ostatka plaka, arterija se zatvara primarno ili uporabom zakrpe (biološki materijal kao npr. venski presadak ili protetski materijal kao npr. dacron ili politetrafluoretilen) što je povezano s nižim stupnjem restenoze i nižom stopom perioperativnog CVI-a (73).

Neurološka procjena stanja izvodi se svakog sata oporavka nakon operacije. Manipulacije oko karotidnog stabla mogu uzrokovati hemodinamsku nestabilnost u perioperativnom periodu što se treba aktivno liječiti kako bi se izbjegla cerebralna hipoperfuzija. Mortalitet CEA ovisi o centru odnosno operateru te iznosi oko 0,5 - 3 %. Najčešće je uzrokovan srčanim neželjenim događajima, a na drugom je mjestu moždani udar. Rizični čimbenici za nepovoljan ishod su: dob iznad 80 godina, teška srčana i plućna bolest, bubrežno zatajivanje, moždani udar kao indikacija za operaciju te otežavajuće anatomske okolnosti poput lošeg kirurškog pristupa (zadebljan vrat), ranije zračenje vrata, ranija CEA te okluzija kontralateralne karotidne arterije (74). Restenoza je ponovno sužavanje lumena krvne žile nakon kirurške ili endovaskularne revaskularizacije i najčešća je komplikacija nakon zahvata (75, 76). Prema istraživanjima rizik od restenoze je najveći u prvoj godini nakon zahvata i iznosi 10 %, 3 % u drugoj godini i 2 % u narednom razdoblju (77).

Restenoza je obično asimptomatska ili se klinički simptomi javljaju postupno, a kad postane značajna, ponovna intervencija je neophodna kako bi se spriječilo javljanje novih kliničkih simptoma. Preporuka je većinu restenoza liječiti CAS, a ne ponovnom CEA (74).



Slika 2. Makroskopski izgled plaka nakon endarterektomije (fiksiran u formalinu). Prikazane su zajednička karotidna arterija, unutarnja karotidna arterija te vanjska karotidna arterija.



Slika 3. Poprečni prerezi kroz plak

1.4.4. Medikamentno liječenje

Medikamentno liječenje zasniva se na liječenju arterijske hipertenzije, hiperkolesterolemije, šećerne bolesti (dijabetesa), apstinenciji od pušenja te antitrombotskim lijekovima.

1.4.4.1. Antitrombotsko liječenje karotidne bolesti

Prednosti liječenja monoterapijom (engl. single antiplatelet therapy, SAPT) za prevenciju moždanog udara u asimptomatskih bolesnika sa stenozom karotidne arterije većom od 50 % nisu dokazane u randomiziranim kliničkim ispitivanjima, ali doživotna terapija malim dozama acetilsalicilne kiseline trebala bi biti dijelom optimalne medikamentne terapije s ciljem smanjenja rizika za moždani udar i druge kardiovaskularne događaje (78). U simptomatskih bolesnika, preporuča se monoterapija acetilsalicilnom kiselinom odnosno klopidogrelom (75 mg dnevno) u slučaju nepodnošenja acetilsalicilne kiseline (79,80). U studiji CHARISMA nije uočena prednost liječenja dvojnog antiagregacijskom terapijom (engl. dual antiplatelet therapy, DAPT) u usporedbi sa SAPT (81). U studiji CARESS pokazano je kako je upotreba DAPT-a u odnosu na SAPT smanjila rizik tihog moždanog udara za 37 % nakon 7 dana, uz

napomenu kako nisu zabilježena životno ugrožavajuća velika krvarenja (82). Iz tih razloga, uvođenje DAPT-a se može razmotriti unutar 24 sata od manjeg ishemijskog moždanog udara ili TIA-e i može se nastaviti tijekom mjesec dana u bolesnika liječenih konzervativno. DAPT se preporučuje u bolesnika koji se podvrgavaju CAS. Optimalno trajanje DAPT-a nakon CAS-a nije poznato. Prema trenutno važećim smjernicama, DAPT se preporuča tijekom mjesec dana nakon postupka. DAPT se može produljiti nakon mjesec dana u slučaju nedavnog (<12 mjeseci) infarkta miokarda i niskog rizika od krvarenja (63). Nakon CEA se preporuča dugotrajna SAPT (acetilsalicilna kiselina 75 - 100 mg ili klopidogrel 75 mg). Svi bolesnici s aterosklerotskom bolesti karotidne arterije trebali bi liječenjem postići ciljne vrijednosti LDL ispod 1,8 mmol/L odnosno postići smanjenje inicijalnih vrijednosti LDL za 50 % ukoliko su inicijalne vrijednosti između 1,8 i 3,5 mmol/L (63). U randomiziranim studijama se pokazalo kako terapija statinom smanjuje ukupni mortalitet i kardiovaskularne događaje u bolesnika s aterosklerotskom bolesti karotidnih i perifernih arterija (83,84). Nedavno je istraživanje pokazalo pozitivne učinke evolokumaba, monoklonskog protutijela koje inhibira proprotein konvertazu subtilizin/keksin tip 9 (PCSK9) u smanjenju kardiovaskularnih događaja kod bolesnika s aterosklerotskom bolesti (85). Prema trenutnim smjernicama Europskog društva za hipertenziju (86), preporuča se kako prvi cilj liječenja arterijske hipertenzije treba biti snižavanje vrijednosti arterijskog tlaka ispod 140/90 mm Hg u svih bolesnika, a ukoliko se liječenje dobro podnosi tada je potrebno daljnje snižavanje do vrijednosti 130/80 mm Hg u većine bolesnika. U bolesnika mlađih od 65 godina preporuča se snižavanje sistoličkog arterijskog tlaka do vrijednosti od 120 do 129 mm Hg. Vrlo je mali broj studija ispitivao učinke različitih antihipertenzivnih lijekova na aterosklerotski plak karotidne arterije. Sniženje arterijskog tlaka može odgoditi proces ateroskleroze intime, a čini se kako različiti lijekovi mogu utjecati na regresiju debljine intime i medije (IMT, intima-media thickness), uz naglasak kako su blokatori kalcijevih kanala (CCB) i inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE inhibitori) djelotvorniji od diuretika i beta blokatora (87,88). Važnost tih spoznaja je upitna s obzirom kako je većina bolesnika liječena kombinacijom antihipertenziva.

1.5. Ateroskleroza

1.5.1. Definicija ateroskleroze

Ateroskleroza je kronična upalna bolest obilježena postupnim razvojem plaka i akutnim kardiovaskularnim i cerebrovaskularnim komplikacijama. Točna prevalencija ateroskleroze zapravo je nepoznata, a epidemiološki se podaci odnose na njene klinički najznačajnije posljedice, a to su kardiovaskularne i cerebrovaskularne bolesti. Unatoč napretku u prevenciji

i liječenju, kardiovaskularne i cerebrovaskularne bolesti ostaju i dalje vodeći uzrok smrti u svijetu i Republici Hrvatskoj. S obzirom kako su akutne komplikacije ateroskleroze često i prva manifestacija bolesti, glavni je poticaj medicinskim istraživanjima bolja stratifikacija rizika odnosno rano otkrivanje osoba s povišenim rizikom. Obdukcijske studije su pokazale da je ateroskleroza sistemska bolest koja kod bolesnika zahvaća više ili gotovo sve arterije, a ključno pitanje je zašto u životu osobe samo jedan ili nekoliko plakova od više ili mnogo njih u organizmu prolaze opasnu, akutnu, nestabilnu fazu kada su skloni trombozi i okluziji žile odnosno distalnoj embolizaciji. Zadnjih par desetljeća u središtu interesa brojnih istraživanja je nestabilan (vulnerabilan) plak odnosno njegova pravovremena dijagnostika i liječenje.

1.5.2. Rizični čimbenici za nastanak ateroskleroze

Čimbenike rizika za kardiovaskularne bolesti tradicionalno i jednostavno možemo podijeliti na nepromjenjive i promjenjive. Nepromjenjivi čimbenici rizika jesu spol i dob (muškarci iznad 45 godina, žene iznad 55 godina, ili žene u prijevremenoj menopauzi bez nadomjesne terapije estrogenom) i pozitivna obiteljska anamneza (prijevremena smrt uslijed koronarne bolesti srca, infarkta miokarda ili iznenadne smrti u dobi prije 55 godina starosti bliskih muških srodnika ili 65 godina starosti ženskih članova obitelji). Najznačajniji promjenjivi čimbenici rizika su: arterijska hipertenzija, hiperlipidemije, pušenje, pretilost, nepravilna prehrana, tjelesna neaktivnost i dijabetes. Među njima su najrašireniji pušenje, arterijska hipertenzija i hiperlipidemija, a prevalencija pretilosti i dijabetesa posljednjih desetljeća je u porastu (4). Oni ubrzavaju taloženje lipoproteina niske gustoće (eng. low density lipoprotein - LDL) mijenjajući aterogenost LDL-a ili direktno oštećujući endotel krvne žile. Među zaštitnim čimbenicima koji sprječavaju razvoj ateroskleroze su fizička aktivnost, alkohol, lipoproteini visoke gustoće (eng. high density lipoprotein - HDL) i njegov glavni apolipoprotein apo-A1. HDL i apoA1 sprječavaju aterogenu modifikaciju LDL-a (89, 90). Promjenjivi čimbenici rizika upućuju na važnost primarne prevencije u sprečavanju njihova nastanka, a samim time i smanjenju smrtnosti od kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti. Preporuka trenutno važećih smjernica za prevenciju kardiovaskularnih bolesti je procjena ukupnog kardiovaskularnog rizika s obzirom kako je ateroskleroza posljedica niza čimbenika rizika. Dostupne su brojne tablice procjene kardiovaskularnog rizika, a od 2003. godine europske smjernice preporučuju upotrebu SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation) sustava. Procjena individualnog ukupnog kardiovaskularnog rizika temelji se na procjeni 10-godišnjeg rizika od smrtnosti na osnovi izračunavanja sljedećih čimbenika rizika: spol, dob, pušenje, sistolički krvni tlak i ukupni kolesterol. Osobe se svrstavaju u tri kategorije: visok rizik - SCORE 5 %, srednji rizik od 1 - 5% i niski rizik <1 % (91). Udruženo

djelovanje više čimbenika rizika rezultira višim ukupnim kardiovaskularnim rizikom, a prednost procjene ukupnog kardiovaskularnog rizika temelji se na činjenici kako se ipak uklanjanjem jednog od čimbenika rizika, ukoliko nije moguće djelovati i na druge čimbenike rizika, ukupni kardiovaskularni rizik snižava. Unatoč dobrom poznavanju rizičnih i zaštitnih čimbenika ne može se na temelju danas poznatih tablica procjena rizika sa sigurnošću predvidjeti brzina razvoja ateroskleroze i klinički tijek.

1.5.3. Patofiziologija ateroskleroze

Najznačajnije stanične komponente u razvoju ateroskleroze su endotelne stanice, leukociti i glatke mišićne stanice. Stijenka krvne žile građena je od tri sloja (92). Sloj najbliži lumenu žile naziva se tunica intima ili tunica interna, a građena je od jednoga sloja endotelnih stanica ispod kojih se nalazi bazalna membrana. Ispod tunice intime je tanki subendotelni sloj vezivnoga tkiva čija je potporna uloga važna na mjestima grananja krvnih žila. Sljedeći sloj je membrana elastica interna koji obuhvaća cijeli opseg krvne žile. Tunica media središnji je mišićni sloj građen od glatkih mišićnih stanica koje su međusobno povezane u jedinstvenu funkcionalnu cjelinu preko tijesnih spojeva (nexus ili eng. gap junction). Osim glatkih mišićnih stanica u ovome sloju nalaze se kolagena i elastična vlakna. Slijedi membrana elastica externa koja ima dodatnu potporna ulogu, uglavnom u očuvanju oblika arterije. Sloj najudaljeniji od lumena je tunica adventitia ili externa koja je građena od vezivnoga tkiva te sadrži obilje malih krvnih žila (vasa vasorum) koje prehranjuju tu krvnu žilu. Adventicija daje mehaničku potporu čime čuva integritet krvne žile. Oko ovoga sloja nalazi se perivaskularni prostor (92). Funkcionalnosti krvne žile u jednakoj mjeri pridonose sva tri sloja. Najvažnije funkcije endotelnih stanica su kontrola tonusa krvne žile, inhibicija agregacije trombocita, modulacija migracije leukocita, regulacija proliferacije glatkih mišićnih stanica i moduliranje propusnosti stijenke krvne žile (93,94). Endotelna disfunkcija (ED) pojam je koji opisuje stanje poremećene funkcije endotela i predstavlja najraniji stadij ateroskleroze odnosno njenu prodromalnu fazu. Patofiziološki čimbenici koji dovode do nastanka ED su: 1) aktivacija citokina u upalnim procesima, 2) slobodni radikali kisika (ROS) i/ili oksidativni stres te glikozilacija metabolita koji su prisutni u dijabetesu i procesu starenja, 3) pušenje i hipertenzija, 4) kronična hiperhomocisteinemija i/ili hiperkolesterolemija i 5) povišena koncentracija plazmatskih oksidiranih lipoproteina male gustoće i njihova akumulacija u stijenkama krvne žile, kao i infekcije bakterijama, virusima ili drugim patogenima. Naime, u segmentima arterija podložnim aterosklerozi pod djelovanjem mehaničkih, kemijskih, infektivnih ili imunoloških čimbenika, endotelni sloj postaje propustan, aktiviran i disfunkcionalan (95). Oštećenje može biti pravo propadanje i deskvamacija endotelnih stanica

ili samo poremećaj funkcije tih stanica ili njihove aktivacije. Aktivaciju potiče proizvodnja slobodnih radikala kisika u njima do čega dolazi zbog hiperkolesterolemije odnosno povećane količine LDL-a u krvi. Hiperkolesterolemija se smatra jednim od glavnih okidača ateroskleroze. Povećana količina kolesterola u plazmi povećava propusnost endotela, a zbog aktivacije endotelih stanica dolazi do lučenja citokina iz njih i izraženosti adhezijskih molekula na njima kao što su adhezijske molekule stanica žila-1 (VCAM-1) i unutarstanične adhezijske molekule (ICAM-1) i selektini: selektin P i selektin E. Ove adhezijske molekule vežu cirkulirajuće upalne stanice u krvi u svrhu njihovog regrutiranja na mjesto aktivacije endotela. Slobodni radikali kisika oksidiraju i LDL čestice te se one zadržavaju u subendotelnom prostoru i postaju kemotaktične za monocite. Aktivirani endotel luči velike količine čimbenika rasta kao što je trombocitni čimbenik rasta (PDGF) koji potiče proliferaciju glatkih mišićnih stanica i odlaganje izvanstaničnog matriksa. Nakupljanje glatkih mišićnih stanica i izvanstaničnog matriksa bogatog proteoglikanima u intimi je proces koji se naziva hiperplazija odnosno zadebljavanje intime. Smatra se kako unutar tih lezija proteoglikani koji imaju negativan naboj vežu pozitivno nabijene čestice LDL-a povećavajući time količinu LDL-a unutar intime i omogućavajući fagocitozu LDL-a od strane makrofaga (96,97,98). Upalni odgovor ima važnu ulogu u razvoju ateroskleroze (94,95). U aterosklerozi postoji abnormalna aktivacija upalnih stanica koje su uglavnom usmjerene prema lipidima koji se nalaze u stijenci krvnih žila. Općenito, što je veći sistemski upalni odgovor, veća je vjerojatnost upalnih reakcija od strane žila te se time objašnjava činjenica kako je ateroskleroza izraženija kod osoba s kroničnim upalnim bolestima kao što je npr. reumatoidni artritis ili sistemski lupus eritematosus (SLE). CRP je cirkulirajući reaktant akutne faze upale čija razina raste nekoliko puta tijekom upale ili ozljede tkiva. Vrijednosti cirkulirajućeg CRP-a povezane su s kardiovaskularnim čimbenicima rizika (99). Sinteza CRP-a potaknuta je citokinima, u prvom redu interleukinom-6 (IL-6) te interleukinom-1 (IL-1) koji se luče iz upalnog tkiva, a indirektno i faktorom nekroze tumora- α (TNF- α). Na samom početku, leukociti koji su primarno monociti aktivacijom postaju tkivni makrofagi. Ova je aktivacija potaknuta citokinima koje luče endotelne stanice. Oksidirane LDL čestice nemaju regulacijske mehanizme nadzora ulaska kolesterola, nego se LDL veže i za uobičajene LDL receptore i za „receptore čistače“ (engl. scavenger receptors) makrofaga te se potom obilno nakuplja unutar stanica. Makrofagi u kojima se nagomilao kolesterol iz LDL čestica nazivaju se pjenaste stanice. Oksidirani LDL ometa i sintezu dušičnog monoksida (NO) što se očituje lučenjem vazokonstriktorskih čimbenika kao što je endotelin 1. Aktivirane endotelne stanice i makrofagi luče čimbenike rasta koji potiču migriranje glatkih mišićnih stanica iz medije u intimu, a trombocitni čimbenik rasta (PDGF) luče i trombociti koji prijanjanju i nakupljaju se

na mjestima oštećenog endotela (94). Samo nakupljanje trombocita potiče i pojačana sinteza inhibitora aktivacije plazminogena-1 (PAI-1) u endotelnim stanicama. PAI-1 smanjuje fibrinolitičku aktivnost te potiče stvaranje tromba. Pjenaste stanice imaju abnormalnu aktivnost te ne mogu izaći iz sloja intime i migrirati u limfne čvorove. Makrofagi prepunjeni lipidima podložni su apoptozi koja doprinosi nakupljanju trombogenog materijala unutar intime, uključujući fosfolipide i tkivni faktor. Nastojeći ukloniti lipide, pjenaste stanice potiču nakupljanje drugih proupalnih stanica kao što su pomoćni limfociti tip 1 (Th1). Th1 limfociti luče citokine kao što su interferon- γ (IFN γ) i interleukin 2 (IL-2) koji stimuliraju monocite na stvaranje polariziranih upalnih makrofaga. S druge strane, ovi upalni makrofagi luče velike količine slobodnih kisikovih radikala i kataboličkih izvanstaničnih enzima uključujući metaloproteinaze matriksa (MMP) i mijeloperoksidazu (MPO) (100). Kako se nastavlja nakupljanje leukocita, nastaje više pjenastih stanica s posljedičnim lučenjem većih količina citokina, proteaza i slobodnih kisikovih radikala. Takva izraženost citokina pokreće proliferaciju glatkih mišićnih stanica i fibroblasta te također potiče aktivaciju endotela, stvarajući pozitivnu povratnu spregu. Osim toga, MMP mogu degradirati izvanstanični matriks u stijenci krvnih žila potičući daljnju disfunkciju krvnih žila s pogoršanjem proliferacije stanica glatkih mišića i fibroblasta. Slobodni radikali kisika i dušika oksidiraju LDL unutar makrofaga, što dalje potiče unos makrofaga putem "receptora čistača" (engl. scavenger receptors). Nastali uvjeti pogoduju dodatnom taloženju trombocita i promjeni u sintezi tromboksana i prostaciklina što aktivira koagulacijske mehanizme i potiče stvaranje fibrina koji stabilizira trombocitne nakupine. Nastavak nakupljanja lipida, endotelne aktivacije, upale i proliferacije glatkih mišićnih stanica dovodi do rasta aterosklerotskog plaka. U nekim se slučajevima spomenuti proces može stabilizirati dok se u drugim može ubrzati, a ravnoteža spomenutih procesa na različitim anatomskim mjestima dovest će do kliničkih posljedica (100).

1.5.4. Aterosklerotski plak

Nakupine makrofaga i glatkih mišićnih stanica koje sadrže velike količine LDL-a pretvorenih u pjenaste stanice nazivamo „masnim prugama”. Masne pruge rani su stupanj razvitka ateroskleroze i one mogu nestati, osobito ako se obnovi endotel (94,95). Ključni korak u prijelazu iz masne pruge u napredniji aterosklerotski plak je trajno povećana količina LDL-a u krvi. Kako lezija napreduje, izvanstanični lipidi spajaju se tako da tvore velike bazene koji postaju jezgra ateroma. Jezgra također sadrži nekrotični materijal iz apoptotičnih pjenastih stanica i makrofaga i tako se često naziva nekrotičnom lipidnom jezgrom. Aterosklerotski plakovi često pokazuju znakove krvarenja. Krv često dolazi iz malih krvnih žila (vasa

vasorum) koje se nalaze u adventiciji. Fibroblasti se regrutiraju u plak, možda iz adventicije ili iz prekursora koji cirkuliraju. Te stanice izlučuju velike količine kolagena, uzrokujući fibrozu ili ožiljke. Kako plak sazrijeva, nekrotična lipidna jezgra i okolni ožiljno promijenjeni matriks stvaraju karakterističan fibroaterom. Sadržaj lipida i kolagena u aterosklerotskim plakovima različit je čak i kod istog pojedinca (101,102). Fibroaterom se smatra prvom naprednom aterosklerotskom lezijom, a njegova je značajka prisustvo nekrotične lipidne jezgre koju prekriva fibrozno tkivo odnosno tzv. „fibrozna kapa“. (103). Fibroaterom može uzrokovati značajno suženje lumena krvne žile i podložan je komplikacijama kao što su krvarenje, oštećenje površine, tromboza ili složena kalcifikacija. Karotidni plakovi koji sadrže makrofage, odnosno imaju tanke fibrozne kape ili ulceracije površine i trombe unutar lumena ili je prisutno krvarenje unutar plaka klinički su povezani s cerebrovaskularnim događajima. Krvarenje unutar karotidnog plaka značajno je povezano s bržom progresijom lezija te je praćeno rastom nekrotične jezgre bogate lipidima i ubrzanom progresijom suženja lumena krvne žile (104,105,106). Nekoliko je istraživanja sugeriralo kako je krvarenje unutar plaka povezano s povećanom gustoćom malih krvnih žila (vasa vasorum) (107,108). Patološka angiogeneza stijenke krvne žile značajka je razvoja aterosklerotskog plaka i progresije bolesti no podrijetlo neovaskularizacije nije još u potpunosti utvrđeno (109). Smatra se kako je angiogeneza u adventiciji glavni izvor neovaskularizacije odnosno novih krvnih žila, ali utvrđeno je kako je angiogeneza prisutna i na endotelu. Ove novostvorene žile mogle bi imati važnu ulogu u metaboličkoj aktivnosti plaka i kontrolirati proces same progresije lezije (110). Nekoliko je istraživanja pokazalo kako je krvarenje unutar plaka važan proces povezan s progresijom plaka i razvojem neuroloških simptoma sugerirajući kako krvarenje može biti povezano s eventualnom rupturom i/ili kritičnom stenozom (111, 112, 113). Prisutnost fibrinogena također je zajednički nalaz naprednih aterosklerotskih lezija i vrlo vjerojatno predstavlja krvarenje unutar plaka. Fibrinogen je reaktant akutne faze upale, a osim značajne uloge u procesu koagulacije, fibrinogen djeluje na regulaciju kemotaksije, adheziju i proliferaciju stanica, vazokonstrikciju na mjestu oštećenja stijenke krvne žile, potiče agregaciju trombocita i utječe na viskoznost krvi (114). Fibroaterom s tankom fibroznom kapom sinonim je za šire korišten termin vulnerabilnog odnosno nestabilnog plaka koji se odnosi na prekursorske lezije koje pokazuju sklonost rupturi. Promatranjem rupturiranih aterosklerotskih lezija koronarnih arterija uočeno je kako je jedina razlikovna morfološka značajka bila odsutnost luminalnog tromba zajedno s tankom, netaknutom, neprekinutom fibroznom kapom (96). Klinički čimbenici rizika povezani s prisutnošću fibroateroma s tankom fibroznom kapom uključuju bolesnike s visokim serumskim ukupnim kolesterolom i visokim omjerom ukupnog kolesterola i lipoproteina visoke gustoće (high density lipoprotein,

HDL), pušače, žene iznad 50 godina te bolesnike s povišenim vrijednostima hsCRP-a (114). Fibroaterom s tankom fibroznom kapom općenito sadrži velike nekrotične jezgre prekrivene tankom netaknutom fibroznom kapom sastavljenom pretežno od kolagena tipa I te različite količine makrofaga i limfocita, a glatke mišićne stanice nedostaju ili su prisutne u maloj količini (110). Debljina fibrozne kape fibroateroma smatra se značajkom nestabilnih lezija te su Maureillo i sur. (115) definirali nestabilan (vulnerabilan) plak kao onaj koji ima debljinu fibrozne kape $<165 \mu\text{m}$ s pridruženom infiltracijom makrofaga uz odsutnost rupture plaka. Debljina fibrozne kape od $165 \mu\text{m}$ kao kriterij nestabilnosti (vulnerabilnosti) bila je retrospektivno određena na temelju analize rupturiranih karotidnih plakova gdje je srednja granica debljine bila $70 \pm 47 \mu\text{m}$. Najbolji morfološki pokazatelji pomoću kojeg se fibroaterom s tankom fibroznom kapom mogao razlikovati od rupturiranih plakova bila je debljina fibrozne kape i stupanj infiltracije makrofagima. U istom istraživanju pokazano je kako je distribucija nestabilnih (vulnerabilnih) plakova bila relativno neovisna o kliničkoj slici. U nastavku istraživanja od istih autora (116) pokazano je kako je samo 36,7 % akutnih trombotičkih plakova nastalo u segmentu maksimalnog suženja lumena krvne žile, a 53,3 % proksimalno i samo 10 % distalno. U ovoj studiji je, naime, više od 60 % asimptomatskih bolesnika imalo stabilan plak, dok je 11,6 % imalo plak s trombom, a 26,8 % je imalo jedan ili više fibroateroma s tankom fibroznom kapom. Ovi podaci upućuju na to kako se odgovorne lezije i prekursori tih lezija češće javljaju u područjima gdje je lumen krvne žile manje sužen te ukazuje kako stupanj suženja lumena krvne žile točno ne definira rizik za cerebrovaskularne događaje. Incidencija tromboze bila je više nego dvostruko veća kod bolesnika s moždanim udarom (66,9 %), zatim u TIA (36,1 %), a najmanje u asimptomatskih pojedinaca (26,8 %). U istom istraživanju ruptura plaka bila je najčešći uzrok tromboze u svim podskupinama (moždani udar = 63,6 %, TIA = 31 % i asimptomatska = 24,5 %), a ulcerirane lezije su bile najčešća morfologija (moždani udar = 32,2 %, TIA = 15,1 % i asimptomatsko = 13,6 %) (116). Ruptura plaka se definira kao lezija s rupturiranim fibroznom kapom s luminalnim trombom i nekrotičnom jezgrom. Akutni tromb sastoji se od nakupina trombocita s različitim količinama nakupljenog fibrinogena, eritrocita i upalnih stanica. Rupturirani plak obično ima veliku nekrotičnu jezgru (117). Ruptura plaka s ulceracijom dominantni je mehanizam koji dovodi do stvaranja tromba i naknadne embolizacije čija su posljedica cerebrovaskularni događaji. S obzirom na visoke brzine protoka u karotidnoj arteriji, ulceracija plaka se češće pojavljuje u aterosklerotskom plaku karotidne arterije nego li na drugim mjestima, npr. koronarnoj arteriji (118). Erozijske se javljaju u odsutnosti rupture, a luminalni trombi su u izravnom kontaktu s površinom intime koja se sastoji od glatkih mišićnih stanica i proteoglikanskog matriksa (119). U ovom trenutku

nisu definirane jasne morfološke karakteristike lezija koje bi bile sklone eroziji. Erozijska plaka opisana je u karotidnoj trombozi, no njena je prevalencija znatno manja nego li u koronarnoj bolesti, a češća je kod populacije mlađe od 50 godina (120). Povezanost nestabilnih plakova u koronarnim arterijama s akutnim koronarnim sindromom znatno je bolje istražena nego li povezanost nestabilnih karotidnih plakova s cerebrovaskularnom simptomatologijom. Naime, plakovi koji su uklonjeni iz karotidne arterije nakon cerebrovaskularnog događaja pokazuju veću sklonost upali dok oni koji su uklonjeni nakon više od 30 dana od akutnog događaja počinju pokazivati karakteristike stabilnosti kao rezultat cijeljenja. Za razliku od pregleda lezije nakon obdukcije bolesnika preminulog od iznenadne koronarne smrti, karotidna endarterektomija obično se radi nakon više od 2 tjedna od akutnog cerebrovaskularnog događaja. U tom je vremenu već počeo proces cijeljenja te lezija može pokazivati sklonost fibrozi i manje reprezentativna kao odgovorna lezija za cerebrovaskularni događaj. Klinička slika karotidne aterosklerotske bolesti ne mora nužno biti povezana s tipom plaka s obzirom kako su i stabilni i nestabilni plakovi nađeni kod simptomatskih odnosno asimptomatskih bolesnika. Rupturirani plakovi koji su povezani s asimptomatskom bolesti karotidnih arterija imaju minimalne pukotine fibrozne kape s manjim ulceracijama, manjom količinom makrofaga, manjim nekrotičnim lipidnim jezgrama i većim stupnjem kalcifikacija (121). Morfološke karakteristike koje su uglavnom povezane s visokorizičnim plakovima sklonim nestabilnosti uključuju prisutnost nekrotične jezgre i tanke fibrozne kape infiltrirane makrofagima što se može dodatno komplicirati nakupljanjem željeza ili mikrokalifikacijama. Smatra se kako ove morfološke karakteristike zajedno s povećanim silama smicanja (engl. shear stress) uzrokuju rupturu fibrozne kape (122). Upala je važna odrednica nestabilnosti plaka jer doprinosi veličini nekrotične jezgre, neovaskularizaciji plaka i stanjivanju fibrozne kape. Nedavna su istraživanja pokazala kako su makrofagi heterogena stanična populacija te se mogu podijeliti u M1 skupinu koja je klasična, proupalna i M2 skupina koja je alternativna, antiupalna. Podijeljeni su ovisno o stupnju izraženosti pojedinih molekula (123). Važno je naglasiti kako su makrofagi sposobni mijenjati svoja aktivacijska stanja kao odgovor na podražaje poput čimbenika rasta i citokina (124). Histološkom analizom plak se može klasificirati u jedan od VIII tipova (AHA -American Heart Association klasifikacija) kao što je prikazano u tablici 3 (125). Plak tipa I sadrži razbacane pjenaste makrofage ("foam cells"). Plak tipa II plaka sadrži nakupine pjenastih makrofaga i mastima ispunjenih ("lipid-laden") glatkih mišićnih stanica, koje se označavaju kao masne pruge ("fatty streaks"). Plak tipa III je prijelazni oblik između tipa II i tipa IV tj. lezije koja potencijalno može uzrokovati simptome. Pored mastima ispunjenih stanica prethodnih tipova, ovaj tip plaka sadrži i izvanstanične masne kapljice koje su prekursor većih nakupina - masnih jezgri, koje karakteriziraju plak tipa

IV. Plak tipa V sadrži najviše masti, ponekad i više masnih jezgri, odijeljenih fibroznom slojem te tada govorimo o višeslojnom fibroateromu. Plakovi tipa IV i V koji pored opisanih karakteristika imaju disrupciju luminalne površine, krvarenje unutar plaka odnosno hematoma ili trombotske naslage klasificiraju se kao plak tipa VI. Plak tipa VII predstavlja kalcificiranu leziju gdje mineralni depoziti zamjenjuju stanični detritus i izvanstaničnu mast. Plak tipa VIII predstavlja fibroziranu leziju u kojoj je debela naslaga vezivnog tkiva zamijenila intimu, a sadržaj masti je minimalan.

Tablica 3. American Heart Association (AHA) klasifikacija aterosklerotskih plakova.

AHA klasifikacija	Opis
I	Razbacani pjenasti makrofagi ("foam cells")
II	Nakupine pjenastih makrofaga i mastima ispunjenih ("lipid-laden") glatkih mišićnih stanica, koje se označavaju kao masne pruge ("fatty streaks").
III	Tip II uz izvanstanične masne kapljice
IV	Izvanstanične masne jezgre
V	Višeslojni fibroaterom
VI	Plakovi tipa IV i V koji pored opisanih karakteristika imaju disrupciju luminalne površine, hematoma ili trombotske naslage
VII	Pretežno kalcificirani plak
VIII	Pretežno fibrozni plak sa malo ili nimalo masti ili kalcija

1.6. Dosadašnje spoznaje o rezistinu

1.6.1. Otkriće i molekularni sastav rezistina

Rezistin su otkrile tri neovisne skupine znanstvenika 2001. godine. Kim i suradnici identificirali su rezistin kao sekrecijski čimbenik specifičan za masno tkivo (126). Holcomb i suradnici identificirali su rezistin kao "nađen u zoni upale 3" (engl. "found in inflammatory zone 3" FIZZ3) prilikom istraživanja proteina povezanog s upalom pluća kojeg su definirali kao "nađen u zoni upale 1" (engl. "Found in inflammatory zone 1" FIZZ1) (127). Stepan i suradnici identificirali su rezistin prilikom istraživanja gena aktivnih tijekom diferencijacije adipocita te otkrili kako je aktivnost rezistina smanjena u zrelih adipocitima koji su izloženi tiazolidindionima. Oni su rezistinu i dali ime jer su vjerovali kako uzrokuje inzulinsku

rezistenciju. U miševa, rezistin je bio izražen u adipocitima, a serumske razine rezistina bile su značajno povišene u miševa koji su bili pretili (128). Tiazolidindioni su agonisti receptora aktivacije proliferacije peroksisoma γ (PPAR γ), ligand aktivirajućeg transkripcijskog čimbenika stanične jezgre koji modulira izraženost gena i smanjuje koncentraciju glukoze u plazmi prvenstveno povećavajući osjetljivost perifernih tkiva na inzulin (129,130). Rezistin je polipeptid molekularne težine 12,5 kD koji se sastoji od 108 aminokiselina. Bogat je cisteinom, pripada obitelji adipokina, a član je i male obitelji sekretornih proteina naziva RELMs (engl. resistin-like molecules, molekule nalik rezistinu) kojima je karakteristika jedinstvena kombinacija od 10 do 11 cisteinskih ostataka na karboksilnom kraju. Postoje četiri člana u obitelji mišjeg RELMs: rezistin, RELM α , RELM β i RELM γ dok su kod ljudi pronađena samo dva člana: rezistin i RELM β . Gen (Retn) koji u miševa kodira rezistin lokaliziran je na 8A1 kromosomu, a u ljudi je lokaliziran na 19p13.3 kromosomu na sličnoj udaljenosti od gena za receptor inzulina (131). Cirkulirajući rezistin pomoću disulfidnih i nedisulfidnih veza iz monomera se može povezivati u dimere, trimere i heksamere, a čimbenici koji utječu na to povezivanje nisu do kraja razjašnjeni, no moguće je kako su važni za biološku aktivnost i selektivnost tkiva za rezistin (132). Ljudski je rezistin samo 64 % homologan i 59 % identičan s mišjim na razini aminokiselina i mRNA (133). Mišji rezistin luče isključivo adipociti, a ljudski rezistin dominantno luče monociti i makrofagi i njegova je sekrecija pojačana proupalnim poticajima koji povećavaju koncentraciju cirkulirajućeg rezistina, a izraženost u masnom tkivu posredovana je stromalnim stanicama. Serumska koncentracija rezistina kod ljudi je od 7 do 22 ng/mL (134, 135). Izraženost rezistina u mišjim adipocitima stimulirana je visokim razinama glukoze, ali potisnuta faktorom nekroze tumora α (TNF- α), dok je izraženost ljudskog rezistina potaknuta upalnim podražajima, uključujući lipopolisaharide, TNF- α , IL-6 i IL-1 β (136). Nekoliko je potencijalnih kandidata za receptor za rezistin. Hsieh i suradnici u svom su istraživanju sugerirali kako se na ljudskim mijelodinim, epitelnim i endotelnim stanicama, rezistin veže na Toll-u sličan receptor 4 (engl. Toll-like receptor 4, TLR4) kako bi aktivirao mehanizme nizvodne signalizacije posredstvom jezgrinog čimbenika kappa B (engl. nuclear factor kappa B, NF- κ B) i mitogen-aktiviranim protein kinazama (MAPK) (137). Benomar i suradnici također su predložili TLR4 kao receptor za rezistin koji se nalazi u hipotalamusu i posrednik je u aktivaciji proupalnih puteva i inzulinske rezistencije u štakora (138). Izoforma dekorina (delta-dekorin) u progenitornim stanicama adipocita također je predložena kao receptor za rezistin u miševa (139). Lee i suradnici (140) predložili su protein 1 povezan s adenilil ciklazom (CAP1) kao funkcionalni receptor za upalnu aktivnost posredovanu rezistinom u monocitima kod ljudi. S obzirom kako do sada nije pronađen jedinstven receptor za rezistin, potrebna su daljnja istraživanja kako bi

se utvrdilo je li receptor za rezistin uistinu samo jedan ili rezistin može djelovati posredstvom više receptora.

1.6.2. Uloga rezistina u inzulinskoj rezistenciji i dijabetesu

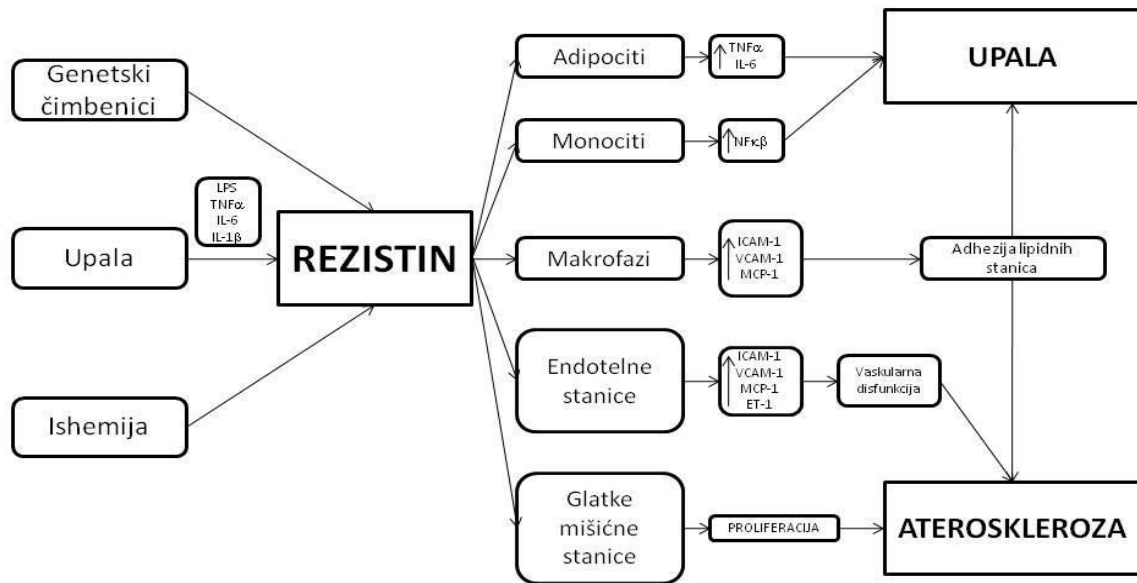
Inzulinska rezistencija definirana je kao poremećaj signalnih puteva posredovanih inzulinom u ciljnim tkivima, kao što su jetra, skeletni mišić i masno tkivo, što rezultira produženom sistemskom hiperglikemijom (141). Kad je prvi put opisan, rezistin je i dobio svoje ime jer se vjerovalo kako uzrokuje inzulinsku rezistenciju (engl. „resistant to insulin“). U prvom istraživanju, dva ključna zapažanja ukazala su na ulogu rezistina u metabolizmu glukoze i inzulinske rezistencije. Prvo, cirkulirajuće razine rezistina "in vivo" i njegova izraženost u adipocitima "in vitro" su smanjene s rosiglitazonom, lijekom iz obitelji tiazolidindiona koji povećava osjetljivost na inzulin. Drugo, pokazalo se kako eksperimentalna manipulacija cirkulirajuće razine rezistina u miševa utječe na funkciju glukoze u krvi i inzulina (128). Mogući patofiziološki i klinički značaj ovog otkrića potaknuo je istraživanja kako bi se utvrdila specifična uloga rezistina u inzulinskoj rezistenciji i dijabetesu kod ljudi. Za razliku od miševa gdje su glavni izvor cirkulirajućeg rezistina adipociti, kod ljudi su to monociti, makrofagi i stanice koštane srži (134). Pokazalo se kako je biologija rezistina u ljudi znatno složenija nego li se ispočetka smatralo. Povezanost između visokog indeksa tjelesne mase (BMI) i inzulinske rezistencije do danas je predmet rasprava, a povezanost između vrijednosti rezistina, pretilosti i inzulinske rezistencije potvrđena je u nekim studijama (142 -145), dok druge studije nisu uspjele utvrditi tu povezanost (146, 147). U nekoliko je studija sugerirano kako se do 70 % varijacija u vrijednostima rezistina u serumu može pripisati genetskim čimbenicima (148). Pokazalo se kako su specifični polimorfizmi nukleotida u genu Retn povezani s pretilošću, inzulinskom rezistencijom i dijabetesom (149 – 152). Međutim, s obzirom na etničku pripadnost, status bolesti te veličinu uzorka, pokazalo se kako ta povezanost nije čvrsta (153,154,155). Finska (156) i japanska istraživanja (157) usredotočila su se na polimorfizam -420 C / G (rs1862513) na promotorskom mjestu za rezistin koja sadrži kritična mjesta vezanja za transkripcijski faktor 1 i može regulirati izraženost više gena. Nađena je povezanost između visceralnog masnog tkiva, dijabetesa i inzulinskog odgovora. Međutim, nedavna meta-analiza (158) nije pokazala nikakvu povezanost između polimorfizma Retn-420 C/G i rizika za dijabetes. Takve razlike u rezultatima istraživanja mogla bi objasniti činjenica kako se cirkulirajući rezistin nalazi u više izooblika koji se mogu detektirati trenutno dostupnim imunotestovima na tržištu. Iako još uvijek nije razjašnjena uloga rezistina u pretilosti i inzulinskoj rezistenciji kod ljudi, rezistin ima značajnu ulogu u

proupalnim procesima koji su u konačnici povezani s razvojem pretilosti i inzulinske rezistencije (159).

1.6.3. Uloga rezistina u aterosklerozi

Rezistin ima važnu regulacijsku ulogu u upalnom odgovoru. Izraženost rezistina je povećana tijekom diferencijacije monocita u makrofage, a proupalni posrednici kao što su TNF- α , IL-1 β , IL-6 ili lipopolisaharidi (LPS) mogu znatno povećati izražnost rezistina u monocitima (160). Rezistin povećava stvaranje proupalnih citokina kao što su TNF-a, IL-6, IL-12 i čimbenika privlačenja monocita 1 (MCP-1) u monocitima, makrofagima i zvjezdastim stanicama jetre putem NF- κ B (161). Rezistin potiče aktivaciju endotelnih stanica oslobađanjem endotelina 1 (ET-1) te potiče izraženost VCAM-1, ICAM-2, receptora čimbenika rasta endotela žila (VEGFR), MMP i MCP-1 te PTX3. Istovremeno smanjuje izraženost čimbenika vezanog uz receptor 3 (TRAF3) koji je povezan s TNF receptorima, a ključni je inhibitor signaliziranja CD40 u endotelnim stanicama (162,163). Rezistin potiče proliferaciju i migraciju glatkih mišićnih stanica. Jiang i suradnici pokazali su kako u zajedničkoj kulturi glatkih mišićnih stanica i adipocita, adipociti u kojima je nakupljen homocistein olakšavaju migraciju glatkih mišićnih stanica te kako rezistin ima važnu ulogu u tom procesu. Povećanje proliferacije i migracije glatkih mišićnih stanica potaknuto rezistinom pruža daljnji dokaz međudjelovanja adipokina i žilnih stanica, a to može predstavljati važan čimbenik u patološkim promjenama krvnih žila (164). Endotelna disfunkcija povećava stvaranje i izraženost rezistina. Rezultati više studija pokazali su kako rezistin smanjuje izraženost endotelne sintetaze dušičnog oksida (eNOS) u endotelnim stanicama ljudskih koronarnih arterija te povećava njihovu propusnost (165). Potičući infiltraciju monocitima, rezistin ubrzava rast aterosklerotskog plaka (166), a također povećava nakupljanje oksidiranog LDL-a u makrofagima doprinoseći time stvaranju pjenastih stanica (167) te potiče aktivaciju trombocita povećavanjem izraženosti P-selektina. Trenutno nema dokaza o direktnom sudjelovanju rezistina u stvaranju tromba, međutim moguće kako rezistin sudjeluje u stvaranju tromba regulacijom eNOS-a (168). S obzirom na navedeno, rezistin ima važnu ulogu u međudjelovanju endotelnih stanica, monocita, makrofaga i glatkih mišićnih stanica u patogenezi i razvoju ateroskleroze. Langheim i suradnici su objavili kako visoke koncentracije rezistina podrijetla iz epikardijalnog masnog tkiva (EAT) u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom utječu na funkciju endotelnih stanica povećavajući njihovu propusnost (169). Chen i suradnici pokazali su kako je imunoreaktivnost rezistina povećana u aterosklerotskim područjima aorte i karotidnih arterija. U istraživanju mehanizama na kojima se temelji djelovanje rezistina, utvrdili su kako rezistin izravno smanjuje djelovanje endotelne

dušične sintetaze (eNOS) prekomjernim stvaranjem kisikovih slobodnih radikala i prekomjernom aktivacijom signalnih puteva mitogenom aktivirane protein kinaze p38 i c-Jun NH2 terminalne kinaze (JNK) (170). Biološko djelovanje rezistina prikazano je na slici 4.



Slika 4. Biološko djelovanje rezistina (131).

LPS - lipopolisaharid; TNF α - faktor nekroze tumora α ; IL-6 - interleukin 6; IL-1 β - interleukin 1 β , ICAM-1 - unutarstanična adhezijska molekula 1, VCAM-1 - žilna adhezijska molekula 1, MCP1 - čimbenik privlačenja monocita 1, ET-1 - endotelin 1, NF κ B - jezgrin čimbenik κ B.

2. HIPOTEZA

Očekuje se kako će izraženost rezistina u serumu i aterosklerotskom plaku karotidne arterije biti povezana s histološkom slikom karotidnog plaka.

S obzirom na ukazanu uzročno-posljedičnu vezu rezistina i aterosklerotskog procesa, očekuje se kako će izraženost rezistina u serumu i aterosklerotskom plaku karotidne arterije biti veća kod plakova klasificiranih prema AHA klasifikaciji kao VI (kompleksni plak sa defektom površine, krvarenjem ili trombom) odnosno kod histološki nestabilnih plakova.

3. CILJEVI

3.1. Opći cilj

1) Istražiti povezanost izraženosti rezistina u serumu i aterosklerotskom plaku karotidne arterije s histološkom slikom plaka.

3.2. Specifični ciljevi

1) Istražiti razliku u izraženosti rezistina kod različitih histoloških slika plaka (AHA klasifikacija) odnosno razliku u izraženosti rezistina kod nestabilnih (vulnerabilnih) i stabilnih (nevulnerabilnih) plakova.

2) Istražiti razliku u koncentraciji rezistina u serumu kod bolesnika ovisno o histološkoj slici plaka.

3) Istražiti povezanost koncentracije rezistina u serumu sa simptomima bolesnika, rizičnim čimbenicima i upalnim pokazateljima.

4) Istražiti povezanost izraženosti rezistina u aterosklerotskom plaku karotidne arterije sa simptomima bolesnika, rizičnim čimbenicima i upalnim pokazateljima.

5) Istražiti povezanost rezistina s drugim čimbenicima: CRP, fibrinogen, HDL, LDL, kolesterol i leukociti.

4. MATERIJALI I METODE

U istraživanje su uključeni simptomatski i asimptomatski bolesnici hospitalizirani u Klinici za kirurgiju Kliničke bolnice Dubrava koji su imali značajno suženje karotidne arterije te time indikaciju za endarterektomiju i odstranjenje aterosklerotskog plaka. Istraživanje je provedeno prema principima Dobre kliničke prakse i odredbama Helsinške deklaracije. Svi bolesnici koji su bili potencijalni kandidati za uključivanje u studiju obaviješteni su o karakteru i ciljevima istraživanja te su uključeni nakon davanja pisanog pristanka. Liječenje bolesnika koji su bili uključeni u studiju bilo je u potpunosti jednako liječenju bolesnika koji nisu bili uključeni u studiju. Bolesnici su mogli u bilo kojem trenutku, bez dodatnih objašnjenja, odustati od sudjelovanja u istraživanju. Svi klinički, laboratorijski, histološki i imunohistokemijski rezultati uneseni su u medicinski dosje svakog pojedinog bolesnika. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Kliničke bolnice Dubrava i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

4.1. Plan istraživanja

U istraživanje je uključeno 78 asimptomatskih i simptomatskih bolesnika s dokazanim značajnim suženjem karotidne arterije hospitaliziranih u Klinici za kirurgiju Kliničke bolnice Dubrava.

Kriterij za uključivanje u istraživanje bila je prisutnost simptomatskog ili asimptomatskog 60-99 %-tnog suženja (stenoze) zajedničke (CCA) ili ekstrakranijalnog segmenta unutarnje karotidne arterije (ICA) zbog čega je u tih bolesnika indicirana karotidna endarterektomija (CEA). Suženje karotidne arterije smatrano je simptomatskim ukoliko je bolesnik imao naglo nastali žarišni neurološki simptom (moždani udar), a koji je po svojoj lokalizaciji odgovarao distribuciji pripadajuće karotidne arterije unutar 2 mjeseca od učinjene endarterektomije. U ovoj je studiji arbitrarno uzet vremenski interval od 2 mjeseca s obzirom kako su u duljem vremenskom periodu u plaku mogle nastupiti promjene koje su mogle dovesti do stabilizacije odnosno destabilizacije plaka. Simptomi koji odgovaraju ishemiji odnosno infarktu u distribucijskom području desne karotidne arterije su slabost (ili plegija) te parestezija ili gubitak osjeta lijeve strane tijela i desnostrana homonimna hemianopsija, dok simptomi ili znakovi koji odgovaraju distribucijskom području lijeve ICA su slabost (ili plegija), parestezija ili gubitak osjeta desne strane tijela, lijevostrana homonimna hemianopsija i afazija. Suženje je utvrđeno ultrazvučnom metodom odnosno kolor-doplerom (eng. Color Dopler Flow Imaging - CDFI) sa strane iskusnog sonografičara u Kliničkoj bolnici Dubrava. U slučajevima gdje gdje je bilo nužno bolje prikazati anatomske odnose, učinjena je digitalna

subtrakcijska angiografija (DSA), kontrastna MR angiografija (engl. Contrast Enhanced Magnetic Resonance Angiography - CEMRA) ili MSCT-angiografija (eng. Multislice computed Tomography Angiography - MSCTA). Klinička indikacija za karotidnu endarterektomiju postavljena je na temelju kliničke prezentacije i rezultata slikovnih metoda (CDFI i/ili DSA, CEMRA, MSCTA) prema važećim smjernicama za liječenje ekstrakranijalne bolesti karotidne arterije, a nakon pregleda neurologa i vaskularnog kirurga. U studiju nisu bili uključeni bolesnici koji nisu dali pisani pristanak za sudjelovanje u studiji, bolesnici s akutnom i/ili kroničnom infektivnom ili autoimunom bolešću, bolesnici s malignom bolešću, bubrežnom insuficijencijom III-IV stupnja prema međunarodnoj klasifikaciji (klirens kreatinina 200 mmol/L), jetrenom insuficijencijom umjerenog ili težećeg stupnja (prema klasifikaciji Child Pugh razred B ili C), nedavno traumom ili operacijom te stanjem nakon već učinjene endarterektomije karotidne arterije na istoj strani. Isključeni su i bolesnici na antikoagulantnoj terapiji, bolesnici sa sumnjom na kardiogeni uzrok embolije temeljenom na anamnezi i elektrokardiogramu (fibrilacija atrijska) te ehokardiografiji (aneurizma lijevog ventrikula, raniji veliki infarkt miokarda prednje stijenke, dilatacijska kardiomiopatija, aneurizma interatrijskog septuma, otvoreni foramen ovale).

4.2. Kliničke karakteristike i dijagnostička obrada bolesnika

Nakon utvrđivanja općih podataka i antropometrijskih čimbenika (dob, spol, tjelesna visina i težina te opseg struka) svim bolesnicima uzeta je detaljna anamneza.

U svih bolesnika utvrđeno je prisustvo promjenjivih i nepromjenjivih čimbenika rizika za aterosklerozu: arterijske hipertenzije, šećerne bolesti, pušenja, hiperlipoproteinemije i nasljeđa. Pozitivna obiteljska sklonost definirana je kao prisutnost preuranjene ateroskleroze u članova obitelji, muškaraca prije 55 i žena prije 65 godina starosti. Krvni tlak je mjereno živinim sfingomanometrom (Riester, Jungingen, Njemačka) kao srednja vrijednost od tri mjerenja u standardiziranim uvjetima u ležećem položaju. Arterijska hipertenzija definirana je prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije (eng. World Health Organization-WHO) (171) kao krvni tlak jednak ili veći od 140/90 mmHg ili ako je već ranije uvedena antihipertenzivna terapija. Hiperlipoproteinemija definirana je LDL kolesterolom većim od 3,5 mmol/L ili ako je bolesnik već bio na antilipemičnoj terapiji. Šećerna bolest (dijabetes) definirana je kod bolesnika koji već jesu na antihiperglikemijskoj terapiji odnosno imaju od ranije utvrđen dijabetes ili ako im je glukoza u krvi nakon osamsatnog gladovanja bila veća od 7,0 mmol/L odnosno nakon jela veća od 11,1 mmol/L.

Opseg struka je mjereno fleksibilnom mjernom trakom u horizontalnoj ravnini na razini zdjeličnog grebena. Indeks tjelesne mase (eng. body mass indeks - BMI) izračunat je prema Outletovoj formuli kao omjer tjelesne težine u kilogramima i kvadrata tjelesne visine izražene u metrima (kg/m^2).

U svih bolesnika utvrđena je dosadašnja medikamentna terapija: antihipertenzivna, antilipemička, antiagregacijska i antihiperglikemijska. Antihipertenzivna terapija klasificirana je prema skupinama lijekova (ACE inhibitori, AT inhibitori, blokatori kalcijevih kanala i beta blokatori), antilipemička terapija klasificirana je prema dozi i vrsti primjenjenog statina, antiagregacijska također prema vrsti (acetilsalicilna kiselina ili klopidogrel), a važno je naglasiti kako bolesnici koji su u antihiperglikemijskoj terapiji imali rosiglitazon nisu bili uključeni u studiju.

U bolesnika se utvrdilo i postojanje dosadašnjih akutnih odnosno kroničnih komplikacija ateroskleroze kao što su koronarna bolest srca, periferna arterijska bolest ili ateroskleroza intraabdominalnih ogranaka aorte.

Svi bolesnici su kardiološki pregledani te im je učinjena ehokardiografija kako bi se isključio kardijalni uzrok embolizma. Isključeni su bolesnici s paroksizmalnom, perzistentnom i permanentnom fibrilacijom atrijske kao i bolesnici s jasnom patologijom interatrijskog septuma (atrijski septalni defekt, aneurizma interatrijskog septuma (veća od 10 mm) te kontrastnom pretragom dokazan otvoren foramen ovale), dokazanim trombom u lijevom ventrikulu ili atriju, aneurizmom lijevog ventrikula bez vidljivog tromba, dilatacijom lijevog ventrikula (promjer na kraju dijastole iz parasternalne projekcije >65 mm) i ežekcijskom frakcijom <35 % mjerenoj prema Simpson metodi. Ehokardiografski pregled je učinjen na aparatu Vivid E9 (GE Healthcare). CDFI obje karotidne arterije izvršen je na komercijalno dostupnom aparatu GE LOGIQ E9 Doppler (SAD) s linearnom sondom od 9 MHz.

Stupanj suženja karotidne arterije utvrđen je sukladno angiografskim kriterijima North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) (23).

4.3. Laboratorijska analiza krvi

4.3.1. Standardna laboratorijska analiza krvi

Uzorci periferne venske krvi za laboratorijske testove uzeti su neposredno prije operacije, oko 8 sati ujutro, nakon prekonoznog gladovanja.

Uzorci pune krvi za kompletnu analizu krvne slike uzorkovani su u epruvete s K3EDTA antikoagulansom te su analizirani neposredno nakon uzorkovanja na ADVIA 2120i analizatoru (Siemens, County Dublin, Irska).

Uzorci krvi za biokemijske pretrage dobiveni su uzorkovanjem u epruvete bez antikoagulansa te su centrifugirani na 1370 x g 10 minuta nakon čega su iz seruma izrađene analize na AU 2700 plus analizatoru (Beckman Coulter, Tokyo, Japan)

Uzorci krvi za koagulacijske pretrage dobiveni su uzorkovanjem u epruvete s 3,8% natrij citratom kao antikoagulansom te su centrifugirani na 1790 x g 10 minuta nakon čega su iz plazme izrađene analize na BCS XP analizatoru (Siemens, Schwalbach, Njemačka).

4.3.2. Rezistin u serumu

Uzorci seruma dobiveni su centrifugiranjem na 1370 x g tijekom 10 minuta u 34 R Rottina Hettich centrifugi (Tuttlingen, Njemačka) te su pohranjeni na -80°C do trenutka analize.

Rezistin je određen komercijalnom ELISA metodom (eBioscience, Vienna, Austria). Svi su reagensi pripremljeni prema uputama proizvođača i cijeli postupak je izrađen prema uputama proizvođača. Metoda se zasniva na specifičnoj reakciji rezistina koji je prisutan u serumu bolesnika s protutijelima kojima je obložena mikrotitarska pločica. Biotinom konjugirano anti-humano protutijelo na rezistin se dodaje na kompleks rezistin-protutijelo. Nakon ispiranja, dodaje se streptavidin-HRP (streptavidin vezan na peroksidazu iz hrena) te se veže na humani rezistin vezan na primarno protutijelo. Nakon inkubacije mješavine, nevezano biotinom konjugirano anti-humano protutijelo na rezistin se uklanja ispiranjem.

HRP reagira s otopinom supstrata i stvara se obojani produkt koji se stvara proporcionalno s koncentracijom rezistina prisutnog u kalibratoru ili uzorku seruma. Reakcija se zaustavlja dodatkom fosforne kiseline i mjeri se apsorbancija na 450 nm s referentnom valnom duljinom od 620 nm. Za izradu kalibracijske krivulje korištena su razrjeđenja standarda rezistina koji je sastavni dio ELISA kita. Originalni standard od 4000 pg/mL korišten je za izradu sedam uzastopnih razrjeđenja pa je kalibracijska krivulja sadržavala 7 kalibracijskih točaka (2000 pg/mL, 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 63 pg/mL i 31 pg/mL). Svako razrjeđenje testirano je u duplikatu i kalibracijska krivulja izrađena je nanošenjem srednjih vrijednosti apsorbancija za svaku koncentraciju kalibratora na ordinatu i koncentracija kalibratora na apscisu grafa.

Za izračun rezultata korištena je prilagodba krivulje s 5 parametara. Prema podacima proizvođača, limit detekcije definiran je kao koncentracija analita koja rezultira apsorbancijom koja je značajno viša od srednje vrijednosti razrjeđenja (srednja vrijednost + 2 standardne devijacije) i iznosi 3,1 pg/mL. Izračunata laboratorijska međupreciznost iznosila je 5,1% a ukupna preciznost za test iznosila je 8,1%.

4.4. Sakupljanje uzoraka i histološka analiza karotidnih plakova

Neposredno nakon učinjene endarterektomije, aterosklerotski je plak ispran s 0,9 %-tnom fiziološkom otopinom te fiksiran kroz 24 sata u 5 mL 10 %-tnog puferiranog formalina. Ukoliko se radilo o izrazito kalcificiranom plaku, uz pomoć kemikalije za dekalcinaciju histoloških uzoraka (Osteosoft[®], Merck) eliminirali su se kalcifikati, dok je preostali histološki sastav ostao nepromijenjen.

Morfologija plaka određena je standardnom histološkom analizom 4 µm debelih rezova preparata bojanih hematoksilinom i eozinom (iz područja maksimalnog suženja ili s najvećom količinom plaka) i karakterizirani prema histološkoj klasifikaciji American Heart Association (AHA) te se utvrdila prisutnost krvarenja, tromboze, pjenastih stanica (makrofaga), fibroznog tkiva, neovaskularizacije, rupture fibrozne kape, kalcifikacija, veličine lipidne jezgre, ukupna infiltracija plaka upalnim stanicama (broj prisutnih makrofaga) (125).

4.5. Imunohistokemijska analiza

Za imunohistokemijsku analizu korišteni su dodatni 4 µm debeli rezovi reprezentativnih dijelova karotidnog plaka.

Materijal je fiksiran u 10 %-tnom puferiranom formalin i uklopljen u parafinske blokove.

Preparati su rezani na kliznom mikrotomu, na debljinu reza od 4 µm. Epitopi ciljanih antigena demaskirani su kuhanjem preparata u citratnom puferu (pH 6) u mikrovalnoj pećnici. Asimptomatski i simptomatski karotidni plakovi su obojeni primjenom primarnog poliklonalnog protutijela (razrjeđenje 1:200, vrijeme inkubacije 60 minuta) za ljudski rezistin (Resistin/RETN antitijela, eBioscience) nakon čega je slijedio EnVision sekundarno antitijelo-HRP (peroksidaza hrena-kompleks konjugata (DAKO) Hamburg, Njemačka). Diaminobenzidin (DAB) je korišten kao kromogen. Bojenje je provedeno u automatskom bojaču (Autostainer, DAKO; Hamburg, Njemačka) prema uputama proizvođača. Preparati su kontrastirani hematoksilinom. Izostavljanje primarnog protutijela služilo je kao negativna kontrola, dok su uzorci pozitivne kontrole predstavljali masno tkivo oko bubrega s ksantogranulomatoznom upalom i pozitivnim pjenastim stanicama. Izraženost rezistina procjenjivana je na temelju semi-kvantitativne ljestvice od strane dva iskusna vaskularna patologa koji nisu znali kliničke i histološke podatke o bolesniku. Bodovanje je bilo proizvoljno, kako slijedi: 0 - bez bojenja, 1 - rijetko, fokalno bojenje (<25 % pozitivnih stanica), 2 - visoko bojanje (>25 % pozitivnih stanica)

4.6. Statističke metode

Rezultati su izraženi kao brojevi (n) i postotci (%) za kategoričke varijable i kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija (SD) za kontinuirane varijable s normalnom raspodjelom ili kao medijan i interkvartilni raspon (IQR) za kontinuirane varijable koje nisu pokazale normalnu raspodjelu. Analiza raspodjele kontinuiranih varijabli učinjena je Shapiro-Wilk testom. Razlike u kontinuiranim varijablama koje su imale normalnu raspodjelu između skupina procjenjivane su parametrijskim statističkim metodama: neovisnim uzorcima t testa za 2 skupine i/ili analizom varijance (ANOVA) za 3 ili više skupina. Razlike u kontinuiranim varijablama koje nisu imale normalnu raspodjelu između skupina procjenjivane su neparametrijskim statističkim metodama: Mann-Whitneyevim testom za 2 skupine i/ili Kruskal-Wallisovim testom za 3 ili više skupina. Kvalitativne i kategoričke varijable uspoređene su Pearsonovim chi-kvadrat testom ili Fisherovim točnim testom. Sve statističke analize provedene su u SPSS, Verzija 22 (IBM, Armonk, New York, SAD). Dvostrana vjerojatnost manja od 0,05 smatrana je statistički značajnom ($p < 0.05$).

5. REZULTATI

5.1. Kliničke i demografske karakteristike bolesnika

Od moguća 84 kandidata za uključivanje u studiju, u konačnici je uključeno 78 bolesnika. Šest bolesnika je bilo isključeno iz studije zbog sljedećih razloga: dva bolesnika su odbila potpisati pisani pristanak, dva bolesnika su imala perzistentnu odnosno permanentnu fibrilaciju atriya, jedan bolesnik je imao kroničnu bubrežnu insuficijenciju III stupnja, a jedan je bolesnik imao kontrastnom pretragom dokazan otvoren foramen ovale.

Bolesnici su bili prosječne dobi od 67 godina. Od 78 bolesnika 48 (61,5 %) su bili muškarci. Ukupno je 40 bolesnika imalo simptomatsko suženje karotidne arterije.

U 64 bolesnika (82 %) prisutna je bila arterijska hipertenzija, u 45 bolesnika (58 %) šećerna bolest tip 2, u 69 bolesnika (69 %) dislipidemija.

Pušenje je bilo prisutno u 43 (55 %) bolesnika, 25 (32 %) bolesnika je imalo perifernu arterijsku bolest, 18 (23 %) bolesnika je imalo koronarnu bolest, a 46 (59 %) bolesnika imalo je jasnu obiteljsku sklonost kardiovaskularnim bolestima u anamnezi.

Na terapiji inhibitorima angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE inhibitori) i blokatorima angiotenzinskih II receptora (eng. angiotensin II receptor blockers - ARB) bilo je ukupno 63 bolesnika (80,8 %), dok je blokatore kalcijevih kanala koristilo 33 bolesnika (42,3 %), a beta blokatore 31 bolesnik (39,7 %).

Na terapiji statinima bilo je 58 bolesnika (74,4 %), a u skupini simptomatskih bolesnika 30 (75 %) ih je u terapiji imalo statin dok je u skupini asimptomatskih bolesnika njih 28 (73,3 %) u terapiji imalo statin.

Na terapiji acetilsalicilnom kiselinom bilo je 69 bolesnika (80,5 %). Antihiperглиkemijske lijekove uzimalo je 18 bolesnika (23,1 %), od kojih je 16 uzimalo metformin (88,8 %).

Kliničke i demografske karakteristike bolesnika uključenih u studiju prikazane su u tablici 3.

Tablica 3. Kliničke i demografske karakteristike bolesnika

Svi bolesnici (N = 78)	SV + SD
Dob (godine)	66,83 ± 8,455
Muški spol, N (%)	48 (61,5)
Ženski spol, N (%)	30 (38,5)
BMI (kg/m ²)	28,10 ± 3,40
Pušenje, n (%)	43 (55,1)
Opseg struka (cm)	101,27 ± 10,82
Sistolički tlak (mmHg)	135 (130-140)
Dijastolički tlak (mmHg)	80 (80-90)
Stabilnost plaka, nestabilan, N (%)	53 (67,9)
Pozitivna obiteljska anamneza, N (%)	46 (59,0)
Hipertenzija, N (%)	64 (82,1)
CAD, N (%)	18 (23,1)
PAB, N (%)	25 (32,1)
Aortna stenoza, N (%)	12 (15,4)
Dijabetes, N (%)	45 (57,7)
Hiperlipidemija, N (%)	69 (88,5)
BB, N (%)	31 (39,7)
Antihiperglikemik, N (%)	18 (23,1)
Inzulin, N (%)	11 (14,1)
ACE inhibitor, N (%)	63 (80,8)
CCB, N (%)	33 (42,3)
Statin, N (%)	58 (74,4)
Acetilsalicilna kiselina, N (%)	69(88,5)

Kratice: BMI - indeks tjelesne mase (eng. body mass index) , CAD - koronarna bolest srca (eng. Coronary artery disease), PAB - periferna arterijska bolest, BB - beta blokator, ACE - angiotenzin konvertirajući enzim (eng. angiotensin II converting enzyme), CCB - blokator kalcijских kanala, SV - srednja vrijednost, SD - standardna devijacija

Tablica 4. Kliničke karakteristike i terapija bolesnika podijeljenih u skupine prema simptomima

	Simptomatski (n = 40) SV + SD	Asimptomatski (n = 38) SV + SD	P
Dob (godine)	66,38 ± 9,298	67,32 ± 7,563	0,626
Muški spol, N (%)	28 (70,0)	20 (52,6)	0,115
BMI (kg/m ²)	27,80 ± 2,87	28,42 ± 3,90	0,422
Pušenje, N (%)	25 (62,5)	18 (47,4)	0,179
Opseg struka (cm)	100,50 ± 10,61	102,08 ± 11,12	0,523
Sistolički tlak (mmHg)	140 (130-140)	130 (123,75-140)	0,065
Dijastolički tlak mm Hg	80 (80-90)	82.5 (80-90)	0,817
Stabilnost plaka, nestabilan, N (%)	35 (87,5)	18 (47,4)	0,0002
CAS, 80 - 99%, N (%)	19 (47,5)	14 (36,8)	0,341
Ultrazvuk, meki plak, N(%)	37(69,8)	11(44)	0,029
Pozitivna obiteljska anamneza, N (%)	28 (70,0)	18 (47,4)	0,042
Hipertenzija, n(%)	35 (87,5)	29 (76,3)	0,198
CAD, N (%)	7 (17,5)	11 (28,9)	0,23
PAB, N (%)	10 (25,0)	15 (39,5)	0,171
Aortna stenoza, N (%)	7 (17,5)	5 (13,2)	0,595
Dijabetes, N (%)	22 (57,9)	23 (57,5)	0,972
Hiperlipidemija, N (%)	36 (90,0)	33 (86,8)	0,663
BB, N (%)	14 (35,0)	17 (44,7)	0,38
Antihiperlipemik, N (%)	11 (27,5)	7 (18,4)	0,341
Inzulin, N (%)	6 (15,0)	5 (13,2)	0,815
ACE inhibitor, N (%)	33 (82,5)	30 (78,9)	0,691
CCB, N (%)	18 (45,0)	15 (39,5)	0,621
Statin, N (%)	30 (75,0)	28 (73,7)	0,894
ASK, N (%)	36(90,0)	33(86,8)	0,663

Kratice: BMI - indeks tjelesne mase (eng. body mass index) , CAD - koronarna bolest (eng. Coronary artery disease), PAB - periferna arterijska bolest, BB - beta blokator, ACE - angiotenzin konvertirajući enzim (eng. angiotensin II converting enzyme), CCB - blokator kalcijских kanala, KV bolesti - kardiovaskularne bolesti, S - srednja vrijednost, SD - standardna devijacija

Tablica 5. Kliničke karakteristike bolesnika podijeljenih u skupine prema stabilnosti aterosklerotskog plaka

	Stabilan plak (N = 25) SV + SD	Nestabilan plak (N = 53) SV + SD	p
Dob (godine)	67,52 ± 6,83	66,51 ± 9,16	0,625
Muški spol, N (%)	11 (44,0)	37 (69,8)	0,029
BMI, (kg/m ²)	28,47 ± 3,70	27,93 ± 3,28	0,52
Pušenje, N (%)	12 (48,0)	31 (58,5)	0,385
Opseg struka, (cm)	103,16 ± 10,26	100,38 ± 11,06	0,292
Sistolički tlak, (mmHg)	140 (130 - 142,5)	130 (130 - 140)	0,426
Dijastolički tlak, (mmHg)	90 (80 - 90)	80 (80 - 90)	0,795
Moždani udar, N (%)	5 (20,0)	35 (66,0)	0,0002
Obiteljska anamneza za KV bolesti, N (%)	11 (44,0)	35 (66,0)	0,065
CAS, 80 – 99 %, N (%)	11 (44,0)	22 (41,5)	0,835
Ultrazvuk	37 (69,8)	11(44,0)	0,029
Hipertenzija, N (%)	20 (80,0)	44 (83,0)	0,746
CAD, N (%)	6 (24,0)	12 (22,6)	0,894
PAB, N (%)	7 (28,0)	18 (34,0)	0,598
Šećerna bolest, N (%)	15 (60,0)	30 (56,6)	0,777
Hiperlipidemija, N (%)	22 (88,0)	47 (88,7)	0,93

Kratice: BMI - indeks tjelesne mase (eng. body mass index), CAD - koronarna bolest (eng. Coronary artery disease), PAB - periferna arterijska bolest, KV bolesti - kardiovaskularne bolesti, SV - srednja vrijednost, SD - standardna devijacija

Tablica 6. Laboratorijski pokazatelji svih bolesnika

Svi bolesnici (N = 78)	SV + SD
Ukupni kolesterol (mmol/L)	4,94 ± 1,45
HDL (mmol/L)	1,26 ± 0,29
LDL (mmol/L)	2,78 (1,89 - 3,80)
Trigliceridi (mmol/L)	1,59 (1,15 - 2,11)
hsCRP (mg/L)	2,45 (1,18 - 4,43)
Fibrinogen (g/L)	4,21 ± 0,95
HbA1c (%)	6,30 (5,70 - 7,23)
Leukociti	7,60 (6,13 - 9,03)
Limfociti	2,10 (1,50 - 2,53)
Neutrofili	4,65 (3,40 - 6,33)
Rezistin (ng/mL)	6,643 (4,413 - 10,213)

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; HbA1c - glikirani hemoglobin; LDL - lipoprotein male gustoće, SV - srednja vrijednost, SD - standardna devijacija

Tablica 7. Laboratorijski pokazatelji bolesnika podijeljenih u skupine prema simptomima

	Simptomatski (N = 40) SV + SD	Asimptomatski (N = 38) SV + SD	p
Ukupni kolesterol, (mmol/L)	4,94 ± 1,43	4,94 ± 1,48	0,989
HDL, (mmol/L)	1,23 ± 0,24	1,29 ± 0,33	0,384
LDL, (mmol/L)	2,71 (1,83 - 3,75)	2,87 (1,97 - 4,01)	0,861
Trigliceridi, (mmol/L)	1,60 (1,35 - 2,02)	1,52 (1,52 - 2,17)	0,436
hsCRP, (mg/L)	2,00 (1,10 - 3,56)	2,90 (1,20 - 5,28)	0,31
Fibrinogen, (g/L)	4,05 ± 0,86	4,39 ± 1,02	0,108
HbA1C, (%)	6,25 (5,70 - 7,58)	6,40 (5,70 - 7,16)	0,753
Leukociti	7,65 (6,05 - 9,575)	7,60 (6,13 - 8,80)	0,764
Limfociti	2,20 (1,43 - 2,50)	2,10 (1,78 - 2,60)	0,892
Neutrofili	4,70 (3,33 - 6,78)	4,45 (3,48 - 5,90)	0,515
Rezistin, (ng/mL)	8789 (5933 - 11105)	4683 (3876 - 8487)	0,0003

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; HbA1c - glikirani hemoglobin; LDL - lipoprotein male gustoće, SV - srednja vrijednost, SD - standardna devijacija

Tablica 8. Neprilagođeni i prilagođeni Spearmanovi korelacijski koeficijenti između serumske koncentracije rezistina i laboratorijskih pokazatelja u svih bolesnika

	Svi bolesnici			
	Neprilagođeni koeficijenti		Prilagođeni koeficijenti	
	rs	P	rs	p
Opseg struka	0,197	0,083	0,274	0,017
HDL	-0,104	0,367	-0,014	0,903
LDL	0,153	0,181	0,165	0,157
Trigliceridi	0,171	0,135	0,040	0,734
Ukupni kolesterol	0,111	0,335	0,175	0,132
Leukociti	0,342	0,002*	0,287	0,012
Neutrofili	0,350	0,002*	0,270	0,019
hsCRP	0,059	0,609	-0,065	0,555

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; LDL - lipoprotein male gustoće; rs - Spearmanov korelacijski koeficijent.

*Značajne p vrijednosti za prilagođene i neprilagođene Spearmanove korelacije za serumske koncentracije rezistina. Prilagodbe su učinjenje za dob, spol i indeks tjelesne mase.

Tablica 9. Neprilagođeni i prilagođeni Spearmanovi korelacijski koeficijenti između serumske koncentracije rezistina i laboratorijskih pokazatelja ovisno o simptomima

	Ishemijski moždani udar			
	Neprilagođeni koeficijenti		Prilagođeni koeficijenti	
	rs	P	rs	p
Opseg struka	0,470	0,002*	0,485	0,002*
HDL	-0,293	0,067	-0,227	0,177
LDL	0,221	0,171	0,075	0,657
Trigliceridi	0,395	0,012	0,225	0,181
Ukupni kolesterol	0,170	0,295	0,093	0,585
Leukociti	0,463	0,003	0,315	0,058
Neutrofili	0,451	0,004	0,242	0,149
hsCRP	0,275	0,086	-0,055	0,747

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; LDL - lipoprotein male gustoće; rs - Spearmanov korelacijski koeficijent.

*Značajne p vrijednosti za prilagođene i neprilagođene Spearmanove korelacije za serumske koncentracije rezistina. Prilagodbe su učinjenje za dob, spol i indeks tjelesne mase.

Tablica 10. Neprilagođeni i prilagođeni Spearmanovi korelacijski koeficijenti između serumske koncentracije rezistina i laboratorijskih pokazatelja ovisno o stabilnosti plaka

	Bolesnici s plakom nestabilnog fenotipa			
	Neprilagođeni koeficijenti		Prilagođeni koeficijenti	
	rs	P	rs	p
Opseg struka	0,504	<0,001*	0,550	<0,001*
HDL	-0,165	0,237	-0,177	0,418
LDL	0,132	0,347	0,095	0,510
Trigliceridi	0,465	<0,001*	0,305	0,032*
Ukupni kolesterol	0,146	0,298	0,137	0,342
Leukociti	0,469	<0,001*	0,379	0,007*
Neutrofili	0,420	0,002*	0,317	0,025*
hsCRP	0,170	0,224	0,134	0,353

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; LDL - lipoprotein male gustoće; rs - Spearmanov korelacijski koeficijent.

*Značajne p vrijednosti za prilagođene i neprilagođene Spearmanove korelacije za serumske koncentracije rezistina. Prilagodbe su učinjenje za dob, spol i indeks tjelesne mase.

Tablica 11. Multipla linearna regresijska analiza između serumske koncentracije rezistina i laboratorijskih pokazatelja + dob, spol i indeks tjelesne mase u svih bolesnika

	Svi bolesnici	
	β	p
Opseg struka	0,216	0,046*
HDL	0,100	0,392
LDL	0,139	0,184
Trigliceridi	-0,051	0,639
Kolesterol	0,155	0,145
Leukociti	0,231	0,036*
Limfociti	-0,194	0,119
Neutrofili	0,128	0,586
hsCRP	-0,104	0,327
HbA1c	0,008	0,940
Dob	0,112	0,318
Spol	0,258	0,016*
BMI	-0,160	0,332
R ²	0,212	

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; LDL - lipoprotein male gustoće; HbA1c - glikirani hemoglobin, BMI - indeks tjelesne mase

Tablica 12. Multipla linearna regresijska analiza između serumske koncentracije rezistina i laboratorijskih pokazatelja + dob, spol i indeks tjelesne mase u bolesnika s moždanim udarom

	Bolesnici s moždanim udarom	
	β	p
Opseg struka	0,509	0,001*
HDL	-0,206	0,147
LDL	-0,003	0,982
Trigliceridi	0,015	0,962
Kolesterol	-0,038	0,800
Leukociti	0,281	0,052
Limfociti	0,139	0,346
Neutrofili	0,273	0,052
hsCRP	0,038	0,788
HbA1c	-0,008	0,958
dob	-0,066	0,660
spol	0,256	0,770
BMI	-0,298	0,955
R ²	0,259	

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; LDL - lipoprotein male gustoće; HbA1c - glikirani hemoglobin, BMI - indeks tjelesne mase

Tablica 13. Multipla linearna regresijska analiza između serumske koncentracije rezistina i laboratorijskih pokazatelja + dob, spol i indeks tjelesne mase u bolesnika s plakom nestabilnog fenotipa

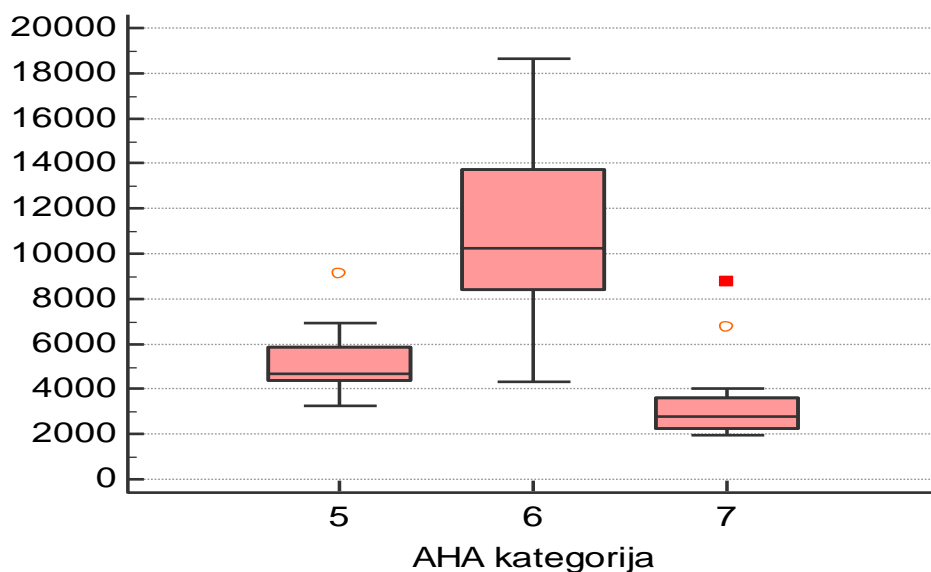
	Bolesnici s nestabilnim plakom	
	β	p
Opseg struka	0,727	<0,001
HDL	0,040	0,736
LDL	0,015	0,891
Trigliceridi	0,002	0,988
Kolesterol	0,035	0,752
Leukociti	0,284	0,013*
Limfociti	-0,084	0,496
Neutrofili	0,088	0,676
hsCRP	0,080	0,473
HbA1c	-0,038	0,735
dob	0,92	0,403
spol	0,059	0,625
BMI	-0,357	0,023*
R ²	0,452	

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; LDL - lipoprotein male gustoće; HbA1c - glikirani hemoglobin, BMI - indeks tjelesne mase

Tablica 14. Multipla linearna regresijska analiza između serumske koncentracije rezistina i laboratorijskih pokazatelja + dob, spol i indeks tjelesne mase u bolesnika s dijabetesom

	Bolesnici s dijabetesom	
	β	p
Opseg struka	0,847	0,001*
HDL	-0,076	0,580
LDL	0,146	0,281
Trigliceridi	-0,095	0,489
Kolesterol	0,113	0,405
Leukociti	-0,044	0,760
Limfociti	-0,078	0,571
Neutrofili	-0,005	0,974
hsCRP	-0,137	0,317
HbA1c	0,023	0,872
dob	0,96	0,490
spol	0,162	0,271
BMI	-0,644	0,003*
R ²	0,308	

Kratice : HDL - lipoprotein visoke gustoće; hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein; LDL - lipoprotein male gustoće; HbA1c - glikirani hemoglobin, BMI - indeks tjelesne mase



Slika 5. Izraženost rezistina u serumu kod plakova kategoriziranih prema AHA klasifikaciji. Koncentracija rezistina u serumu statistički se značajno razlikovala između različitih kategorija stabilnosti plaka (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Medijan koncentracije rezistina za kategorije V, VI i VII bio je 4702, 13724 i 3630 sa statistički značajnom razlikom između sve tri kategorije u međusobnim usporedbama ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru).

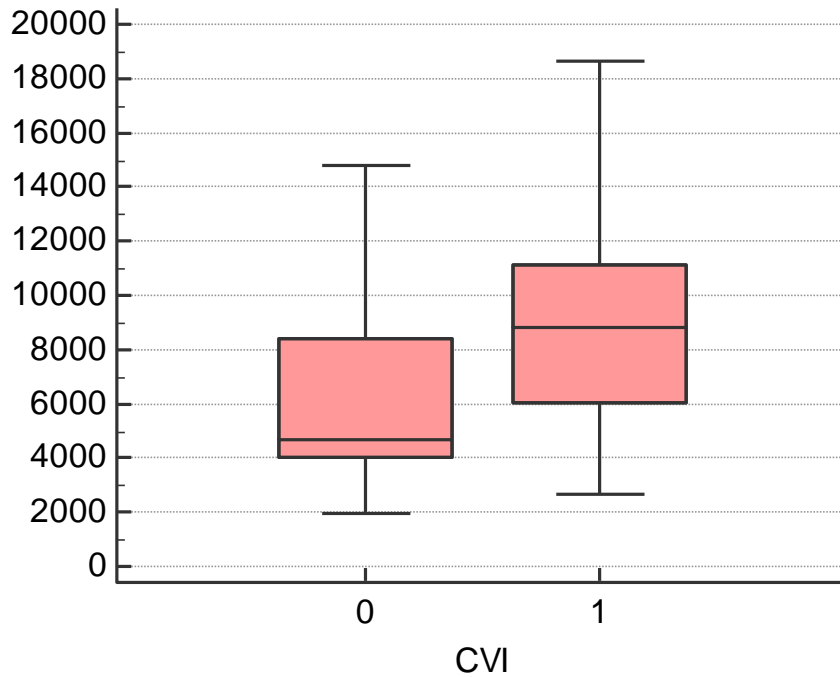
Tablica 15: Serumaska koncentracija rezistina u odnosu na plak kategoriziran prema AHA klasifikaciji

	AHA V	AHA VI	AHA VII	p vrijednost
Aritmetička sredina \pm standardna devijacija	5120 \pm 1235	10605 \pm 3497	3558 \pm 2088	Ukupni $p < 0,001^*$ $p < 0,016^{**}$ za sve tri međusobne usporedbe
Medijan i interkvartilni raspon	4702 (4382 - 5861)	10219 (8394 - 13724)	2780 (2223 - 3630)	

*statistički značajno na razini $p < 0,05$

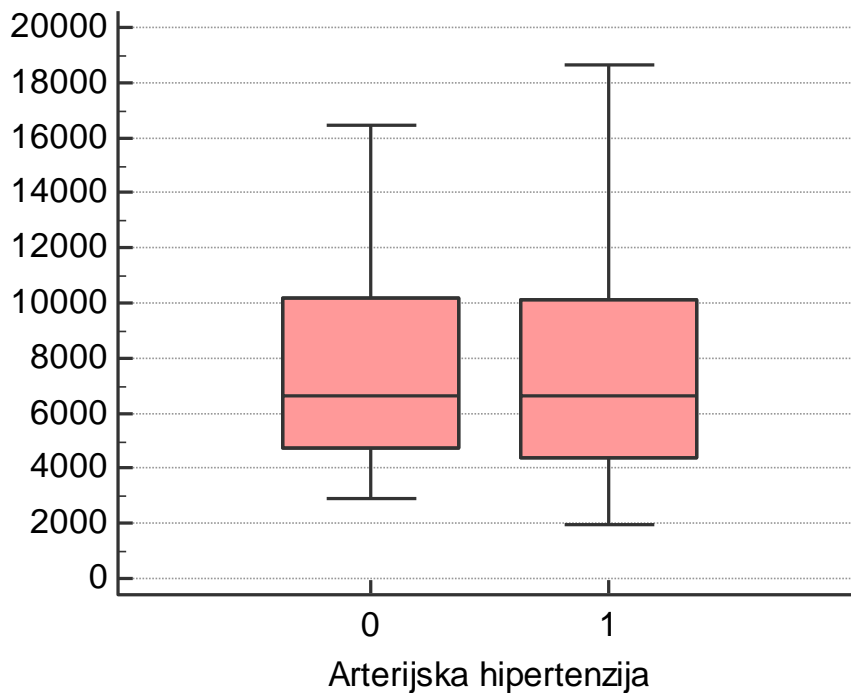
**statistički značajno na razini $p < 0,05$ uz Bonferronijevu korekciju za tri istovremene usporedbe

Korišten je Kruskal Wallis ANOVA test s naknadnim testom po Conoveru. Gledano u usporedbi AHA VII vs. AHA V i VI, koncentracija rezistina statistički se značajno razlikovala (Medijan 2780 vs 7201, $p < 0,001$, Mann Whitney U test).



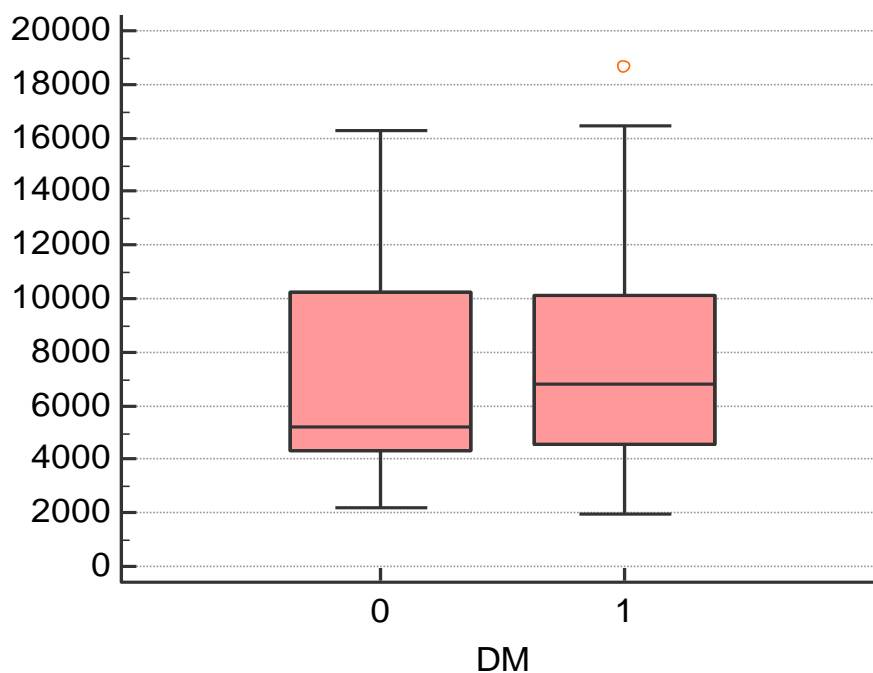
Slika 6. Povezanost koncentracije rezistina sa simptomima bolesnika.

U usporedbi simptomatskih (CVI) i asimptomatskih bolesnika, bila je prisutna statistički značajna razlika u koncentraciji rezistina s time da su simptomatski bolesnici imali višu koncentraciju rezistina u serumu (medijan 8788 vs 4683, $p < 0,001$, Mann Whitney U test).



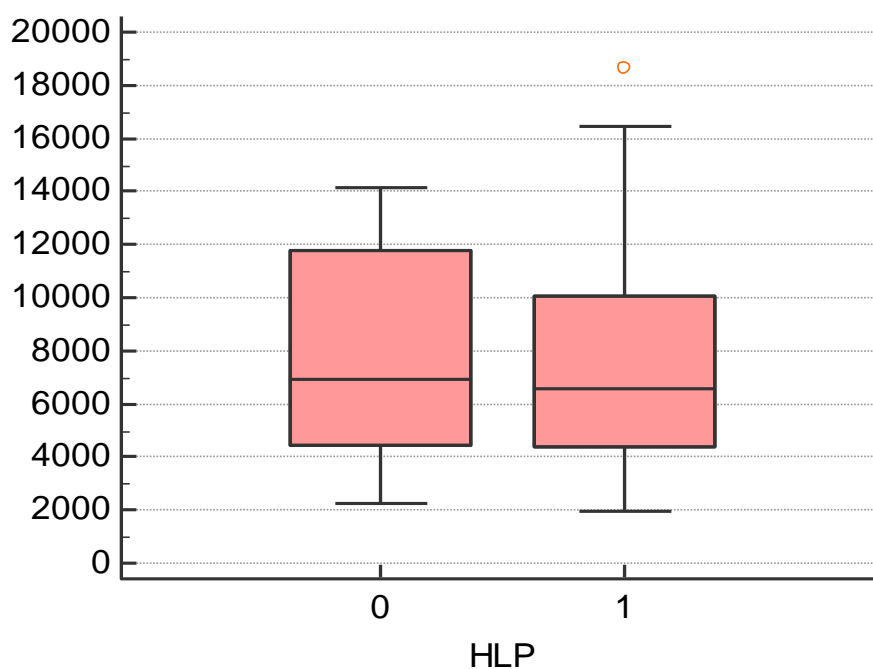
Slika 7. Usporedba koncentracije rezistina u serumu u bolesnika s i bez arterijske hipertenzije.

U bolesnika s i bez arterijske hipertenzija nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji rezistina u serumu (medijan 6642 vs 6637, $p = 0,896$, Mann Whitney U test).



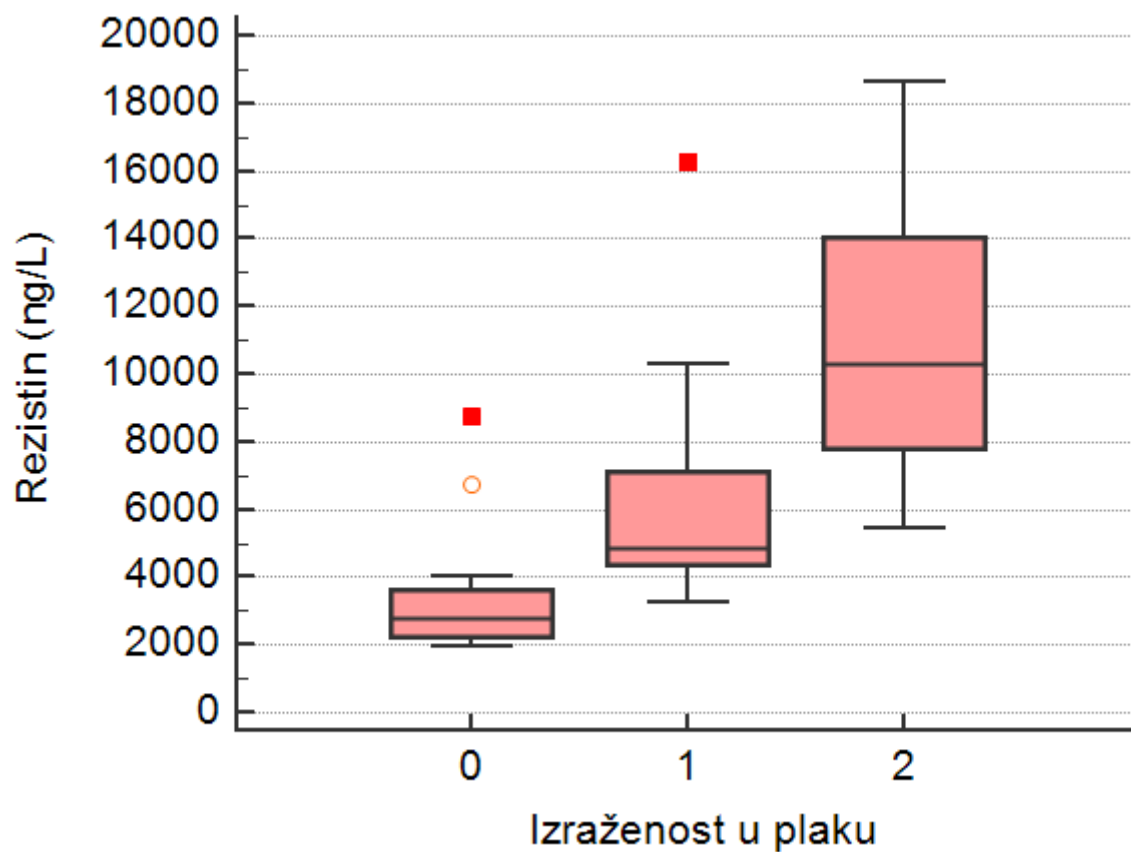
Slika 8. Usporedba koncentracije rezistina u bolesnika s i bez šećerne bolesti tip 2 (dijabetesa).

U bolesnika s i bez šećerne bolesti nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji rezistina u serumu (medijan 6787 vs 5209, $p = 0,457$, Mann Whitney U test).



Slika 9. Usporedba koncentracije rezistina u serumu u bolesnika s i bez hiperlipoproteinemije.

U bolesnika s i bez hiperlipoproteinemije nije bilo statistički značajne razlike u koncentraciji rezistina u serumu (medijan 6591 vs 6901, $p = 0,766$, Mann Whitney U test).

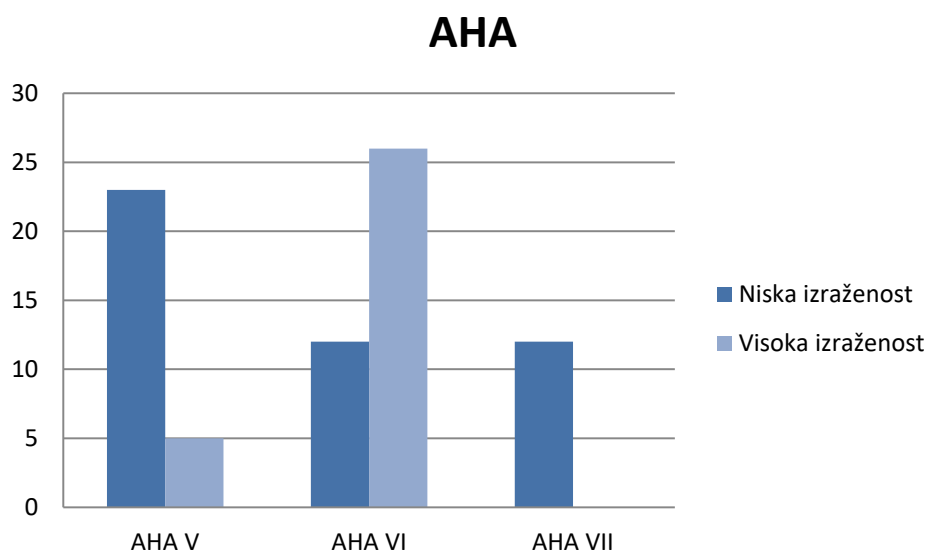


Slika 10. Usporedba koncentracije rezistina u serumu u bolesnika s imunohistokemijskom izraženošću rezistina u aterosklerotskom plaku.

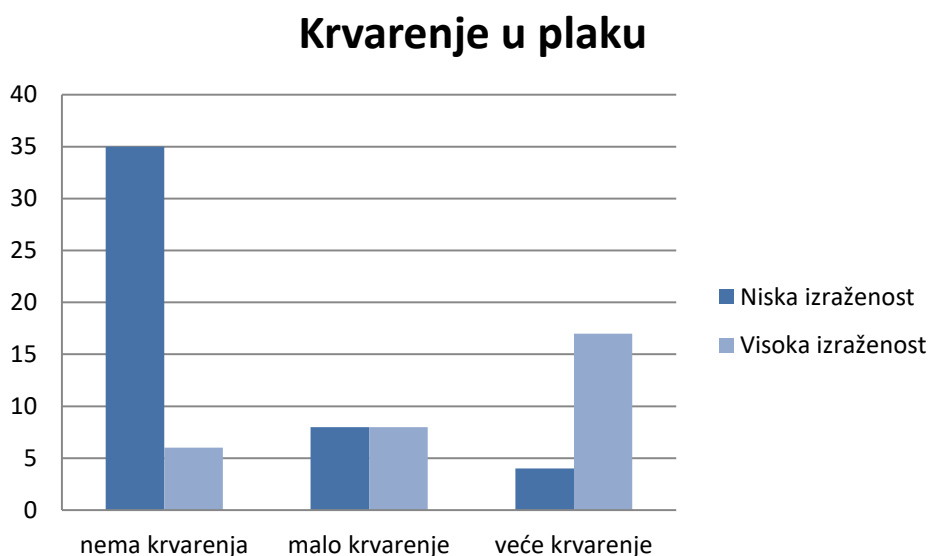
Izraženost rezistina u plaku statistički značajno je pozitivno korelirala sa serumskom koncentracijom rezistina ($P < 0.001$, $Rho = 0.74$, Spearmanova rank korelacija).

Tablica 15. Prevalencija histoloških karakteristika plaka ovisno o simptomima bolesnika

	Svi bolesnici (N = 78)	Simptomatski (N = 40)	Asimptomatski (N = 38)	p
AHA klasifikacija plaka				
V	28 (35,9)	12 (30,0)	16 (42,1)	0,025*
VI	38 (48,7)	25 (62,5)	13 (34,2)	
VII	12 (15,4)	3 (7,5)	9 (23,7)	
Krvarenje				
Nema krvarenja	41 (52,6)	14 (35,0)	27 (71,1)	0,0004*
Malo krvarenje	16 (20,5)	8 (20,0)	8 (21,1)	
Veliko krvarenje	21 (26,9)	18 (45,0)	3 (7,9)	
Tromb				
Bez tromba	62 (79,5)	28 (70,0)	34 (89,5)	0,049*
Mali tromb	16 (20,5)	12 (30,0)	4 (10,5)	
Veliki tromb	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Lipidna jezgra				
No lipid core	12 (15,4)	3 (7,5)	9 (23,7)	0,002*
Small lipid core	32 (41,0)	12 (30,0)	20 (52,6)	
Large lipid core	34 (43,6)	25 (62,5)	9 (23,7)	
Fibrožno tkivo				
Vrlo malo fibroznog tkiva	26 (33,3)	14 (35,0)	12 (31,6)	0,520
~50 % fibroznog tkiva	45 (57,7)	24 (60,0)	21 (55,3)	
Predominantno fibrozan	7 (9,0)	2 (5,0)	5 (13,2)	
Pjenaste stanice				
Nema	33 (42,3)	14 (35,0)	19 (50,0)	0,455
<50 stanica	40 (51,3)	23 (57,5)	17 (44,7)	
Najmanje 50 stanica	5 (6,4)	3 (7,5)	2 (5,3)	
Neovaskularizacija				
Nema	60 (76,9)	31 (77,5)	29 (76,3)	1,000
<10 po rezu	18 (23,1)	9 (22,5)	9 (23,7)	
Najmanje 10 po rezu	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Kalcifikacije				
Nema	53 (67,9)	29 (72,5)	24 (63,2)	0,143
Mjestimični kalcifikati	13 (16,7)	8 (20,0)	5 (13,2)	
Kalcificirani čvorići	12 (15,4)	3 (7,5)	9 (23,7)	
Upalne stanice				
Nema	12 (15,4)	2 (5,0)	10 (26,3)	0,037*
Pojedinačne stanice	19 (24,4)	9 (22,5)	10 (26,3)	
2 - 5 skupine od >50 stanica	23 (29,5)	13 (32,5)	10 (26,3)	
>5 skupina od >50 stanica	24 (30,8)	16 (40,0)	8 (21,1)	
Infiltracija kape				
Nema	18 (23,1)	5 (12,5)	13 (34,2)	0,006*
<10 stanica u kapi	29 (37,2)	15 (37,5)	14 (36,8)	
10 - 50 stanica u kapi	16 (20,5)	7 (17,5)	9 (23,7)	
>50 stanica u kapi	15 (19,2)	13 (32,5)	2 (5,3)	
Ruptura				
Intaktna kapa	39 (50,0)	16 (40,0)	23 (60,5)	0,001*
Vjerojatno intaktna	13 (16,7)	3 (7,5)	10 (26,3)	
Vjerojatno rupturirana	12 (15,4)	9 (22,5)	3 (7,9)	
Definitivno rupturirana	14 (17,9)	12 (30,0)	2 (5,3)	
Ukupna nestabilnost				
Definitivno stabilan	10 (12,8)	2 (5,0)	8 (21,1)	0,0002*
Vjerojatno stabilan	15 (19,2)	3 (7,5)	12 (31,6)	
Vjerojatno nestabilan	37 (47,4)	21 (52,5)	16 (42,1)	
Definitivno nestabilan	16 (20,5)	14 (35,0)	2 (5,3)	
Imunohistokemija				
Visoka (>25 % pozitivnih stanica)	31 (39,7)	20 (50,0)	11 (28,9)	0,068*
Niska (0 - 25% pozitivnih stanica)	47 (60,3)	20 (50,0)	27 (71,1)	

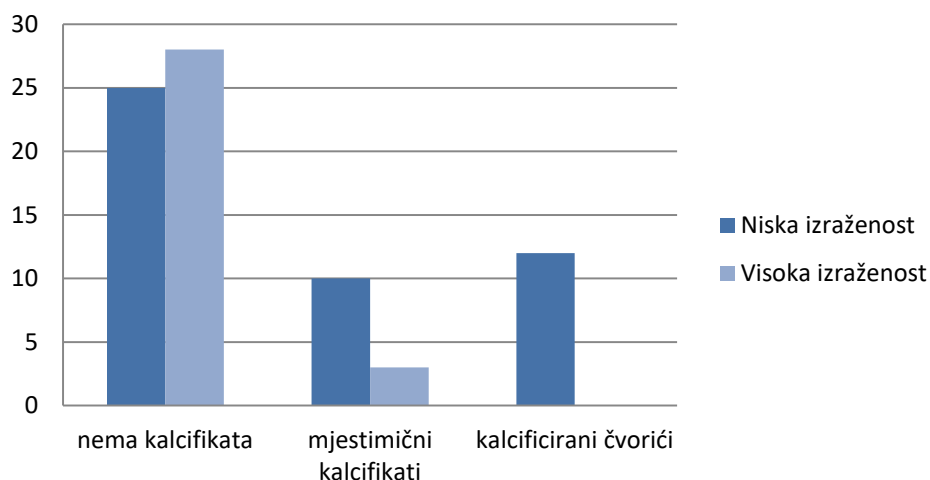


Slika 11. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o AHA klasifikaciji plaka. Izraženost rezistina statistički je ($p = 0,025$) značajno bila veća u plakovima kategoriziranim kao VI prema AHA klasifikaciji.



Slika 12. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o stupnju krvarenja u plaku. Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana sa stupnjem krvarenja (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend većeg stupnja krvarenja s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,001$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

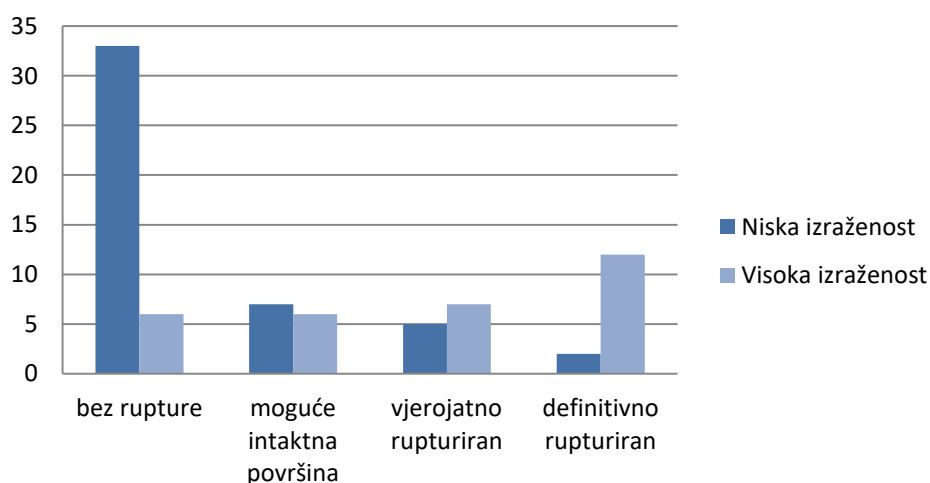
Kalcificiranost plaka



Slika 13. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o kalcificiranosti plaka.

Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana sa stupnjem kalcifikacija (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend manjeg stupnja kalcifikacija s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,001$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

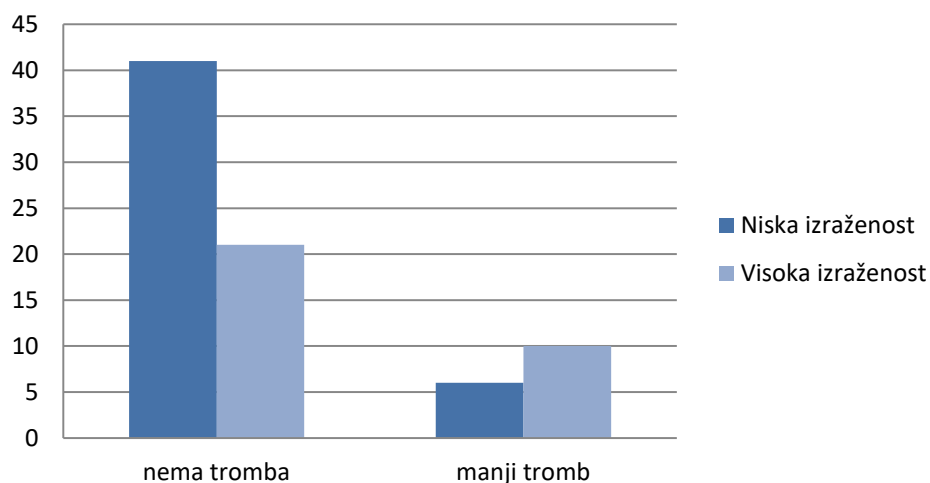
Ruptura plaka



Slika 14. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno u rupturi plaka.

Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana sa stupnjem rupture (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend većeg stupnja rupture s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,001$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

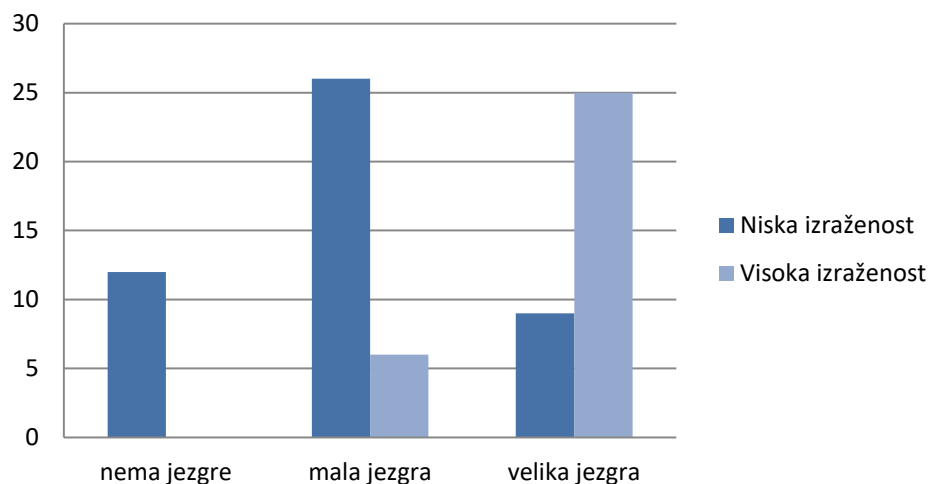
Tromboza plaka



Slika 15. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o trombozi plaka.

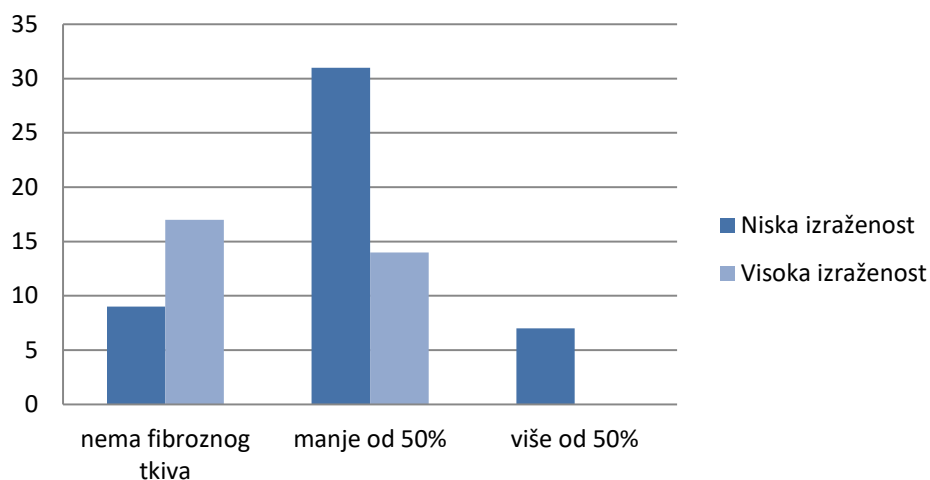
Izraženost rezistina u plaku nije bila statistički značajno povezana sa stupnjem tromba (ukupni $p = 0,052$, Kruskal Wallis ANOVA test; $p = 0,093$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

Lipidna jezgra



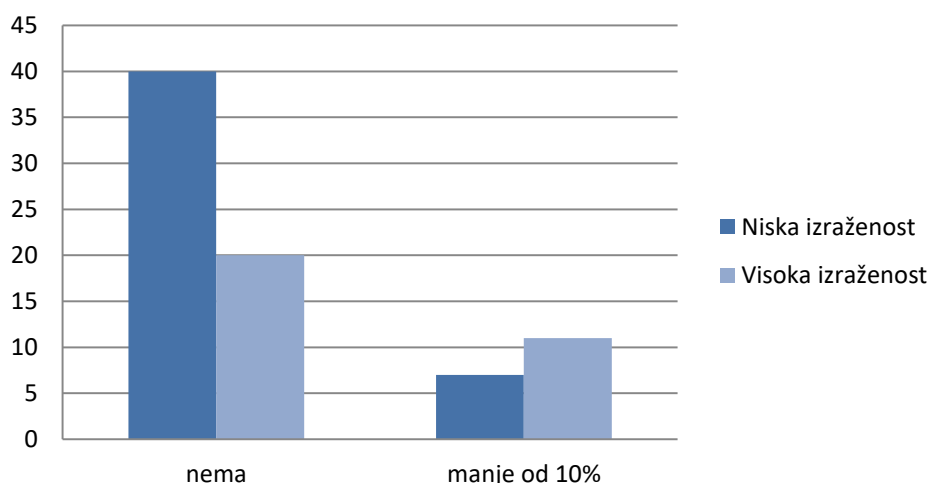
Slika 16. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o prisustvu i veličini lipidne jezgre. Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana s veličinom lipidne jezgre (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend većeg stupnja lipidne jezgre s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,001$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

Fibrožno tkivo



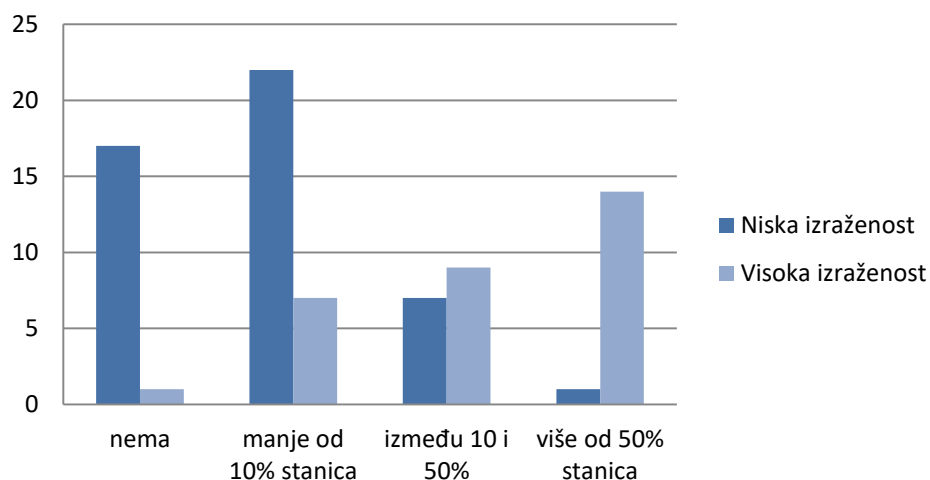
Slika 17. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o količini fibroznog tkiva u plaku. Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana sa stupnjem fibroznog tkiva (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend manjeg stupnja fibroznog tkiva s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,001$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

Neovaskularizacija



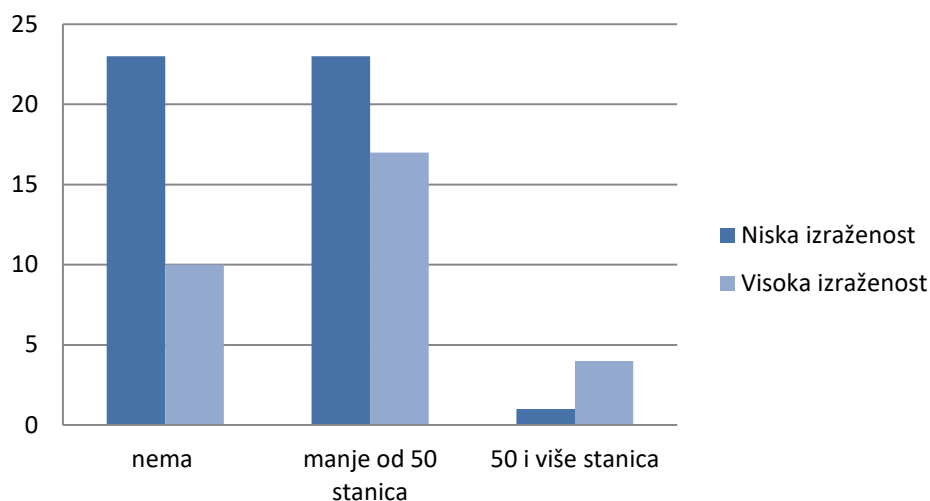
Slika 18. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o stupnju neovaskularizacije. Izraženost rezistina u plaku nije bila statistički značajno povezana sa stupnjem neovaskularizacije (ukupni $p = 0,109$, Kruskal Wallis ANOVA test; $p = 0,172$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

Infiltracija kape plaka



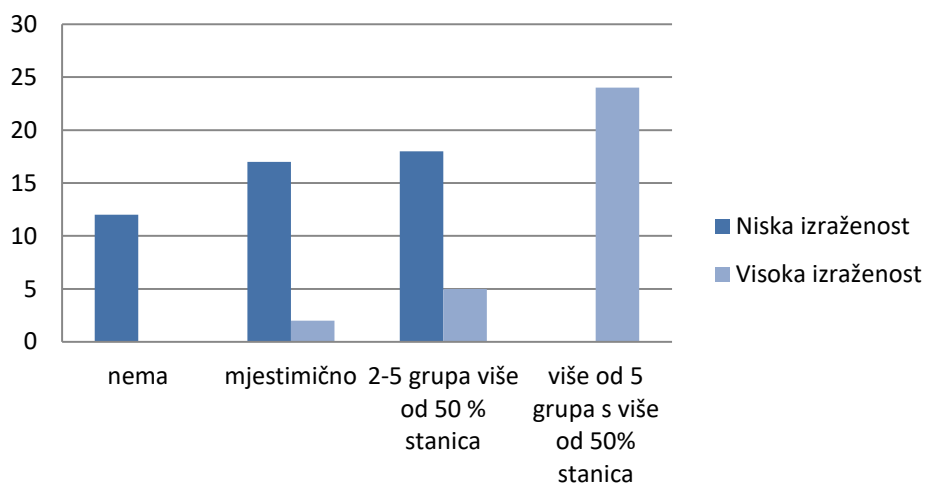
Slika 19. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o stupnju infiltracije fibrozne kape plaka upalnim stanicama. Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana sa stupnjem infiltracije površine odnosno fibrozne kape plaka (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend većeg stupnja infiltracije površine s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,001$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

Pjenaste stanice



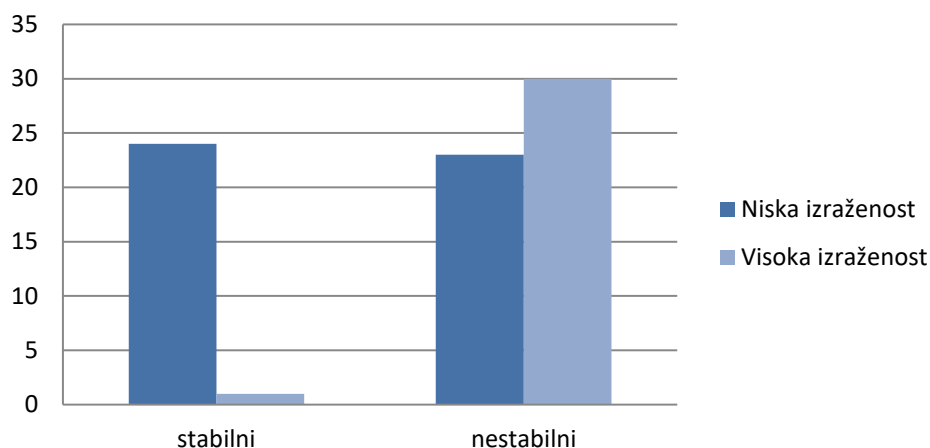
Slika 20. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisno o količini pjenastih stanica u plaku. Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana s količinom pjenastih stanica u plaku (ukupni $p = 0,006$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend veće količine pjenastih stanica s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p = 0,015$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

Upalne stanice

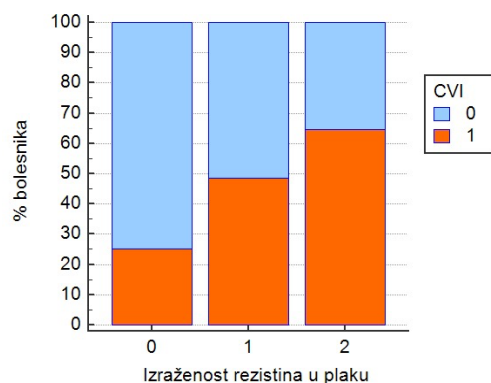


Slika 21. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisna o količini upalnih stanica u plaku. Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana sa stupnjem upale (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend većeg stupnja upale s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,001$, Jonckheere-Terpstra test za trend).

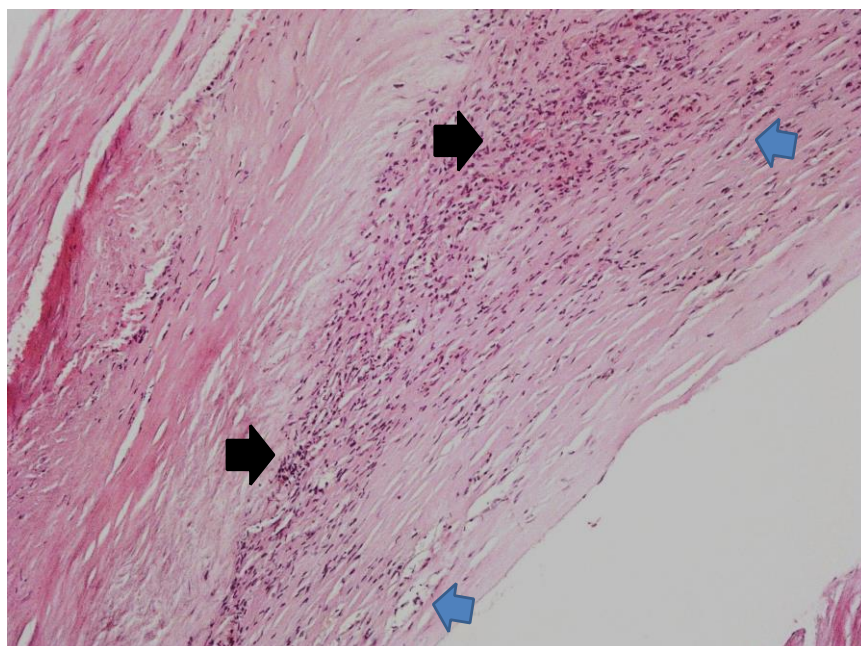
Stabilnost plaka



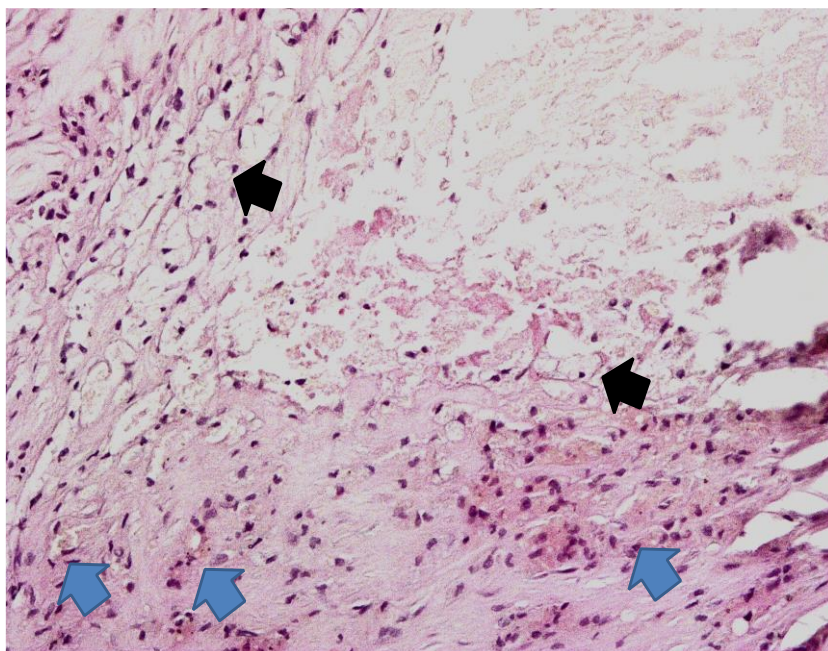
Slika 22. Imunohistokemijska izraženost rezistina u plaku ovisna o ukupnoj stabilnosti plaka. Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana sa stupnjem sveukupne nestabilnosti (ukupni $p < 0,001$, Kruskal Wallis ANOVA test). Statistički značajna razlika bila je prisutna između niske i visoke izraženosti rezistina ($p < 0,016$, post-hoc test prema Conoveru). Bio je također prisutan statistički značajan trend većeg stupnja sveukupne nestabilnosti s višim stupnjem izraženosti rezistina u plaku ($p < 0,001$, Jonckheere-Terpstra test za trend).



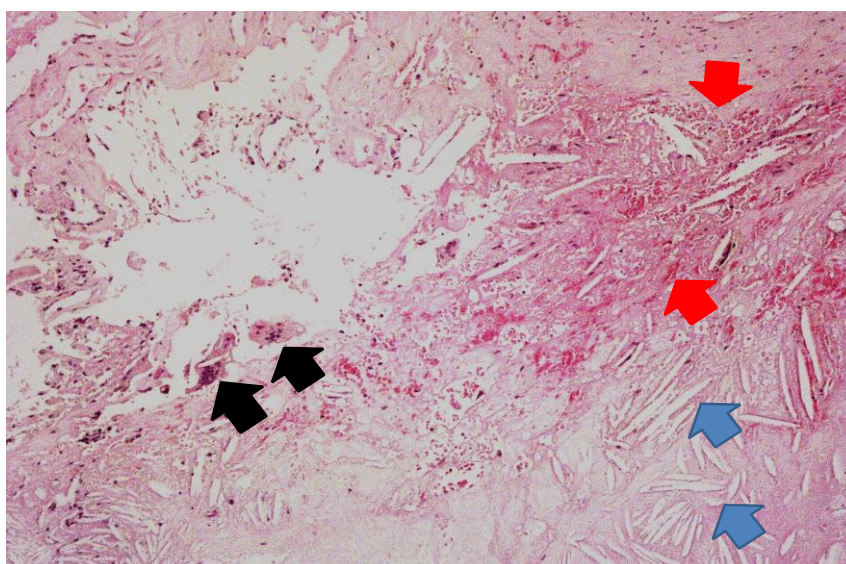
Slika 23. Povezanost imunohistokemijske izraženosti rezistina u plaku s moždanim udarom. Izraženost rezistina u plaku bila je statistički značajno povezana sa simptomatskom bolesti (CVI u 25 %, 48,6 % i 64,5 % bolesnika s negativnom, slabom i jakom izraženosti rezistina u plaku, $p = 0,019$, χ^2 test za trend). 0 - asimptomatski, 1- simptomatski



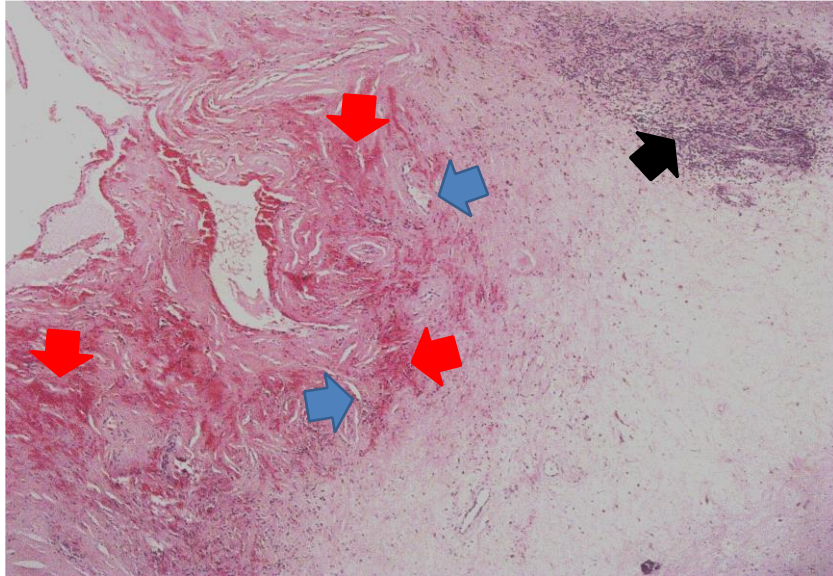
Slika 24. Stijenka arterije s aterosklerotskim plakom prožetim srednje gustim mononuklearnim upalnim infiltratom (crne strelice) sa sitnim vaskularnim prostorima (plave strelice). HE, x 200.



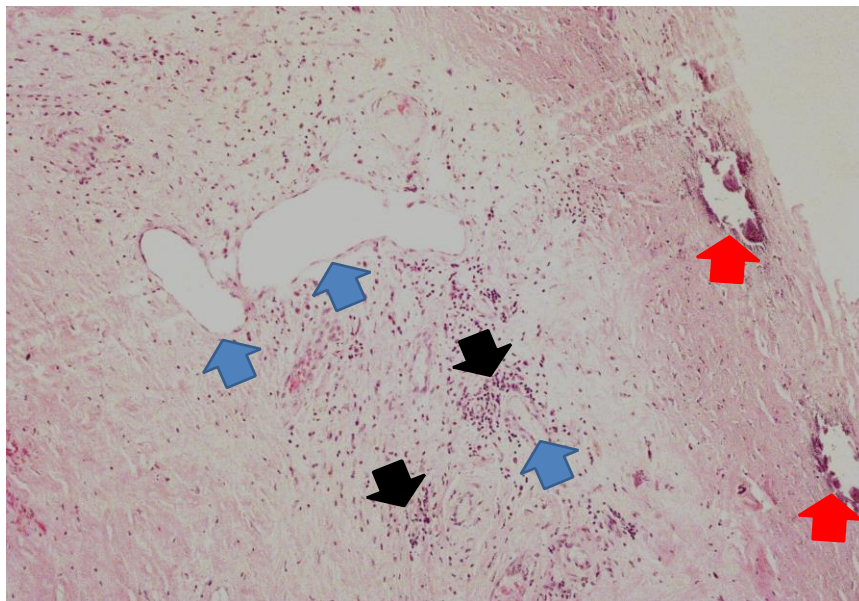
Slika 25. Aterosklerotski plak prožet oskudnim mononuklearnim upalnim infiltratom s mjestimičnim pjenastim makrofagima (crna strelica), oskudnim žarištima ekstravazata eritocita i neovaskularizacijom (plava strelica). HE x400.



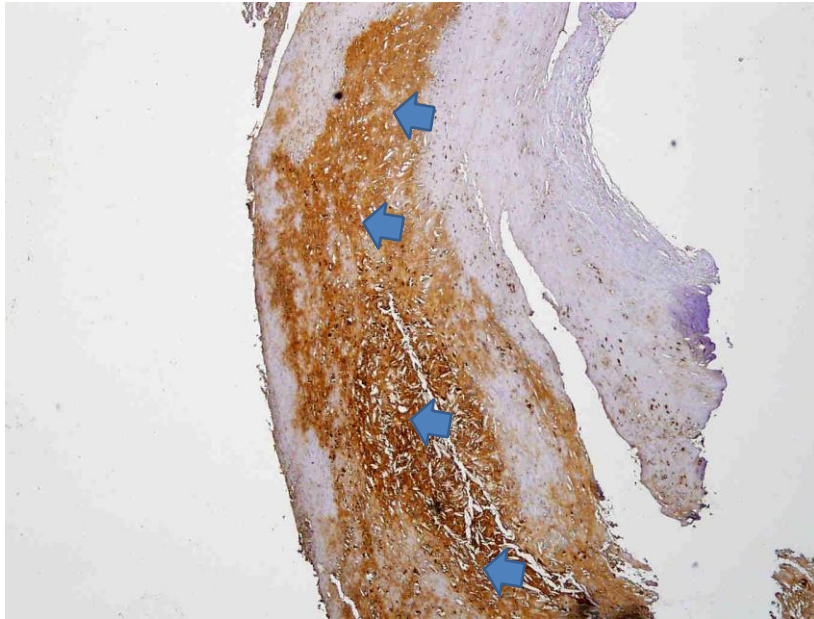
Slika 26. Aterosklerotski plak sa pukotinama kolesterolskih kristala (plava strelica), žarištima krvarenja (crvena strelica) i reakcijom orijaških stranica tipa stranog tijela (crna strelica). HE x400.



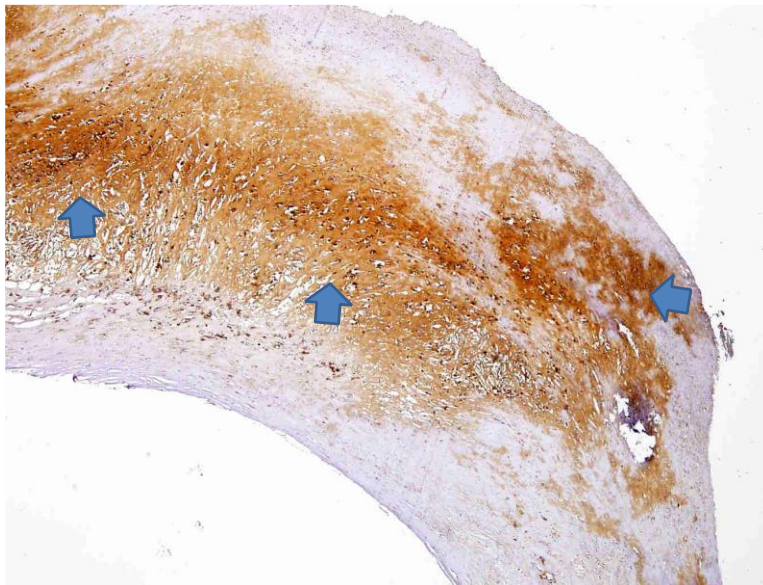
Slika 27. Aterosklerotski plak prožet žarišnim gustim mononukleranim upalnim infiltratom (crna strelica) uz mjestimično formiranje vaskularnih prostora (plave strelice) i područjima krvarenja (crvene strelice). HE, x 400.



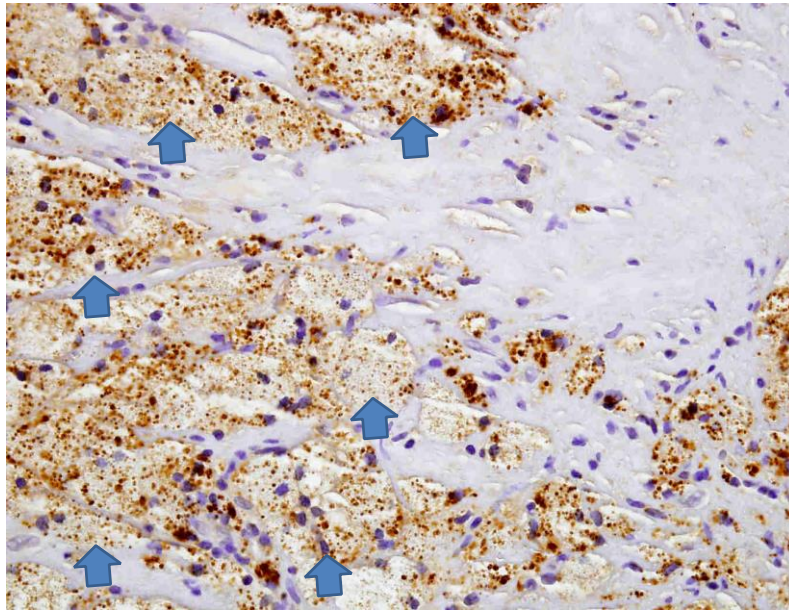
Slika 28. Aterosklerotski plak s dilatiranim vaskularnim prostorima obloženima urednim endotelom (plave strelice), žarišnim srednje gustim mononukleranim upalnim infiltratom (crne strelice) i mjestimičnim kalcifikatima (crvene strelice). HE x200.



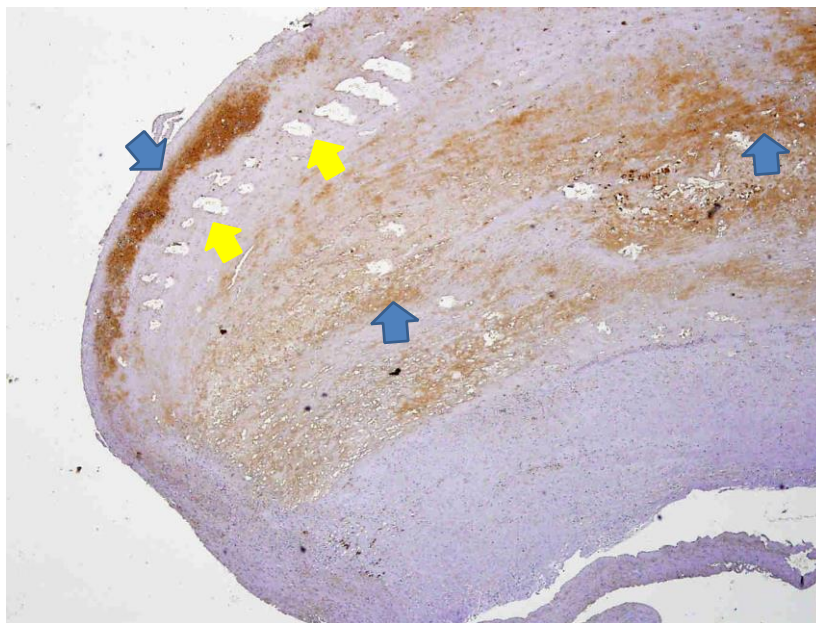
Slika 29. Stijenka krvne žile s aterosklerotskim plakom. Pozitivno bojenje na rezistin u plaku (plave strelice). Imunohistokemijsko bojenje, rezistin, x40.



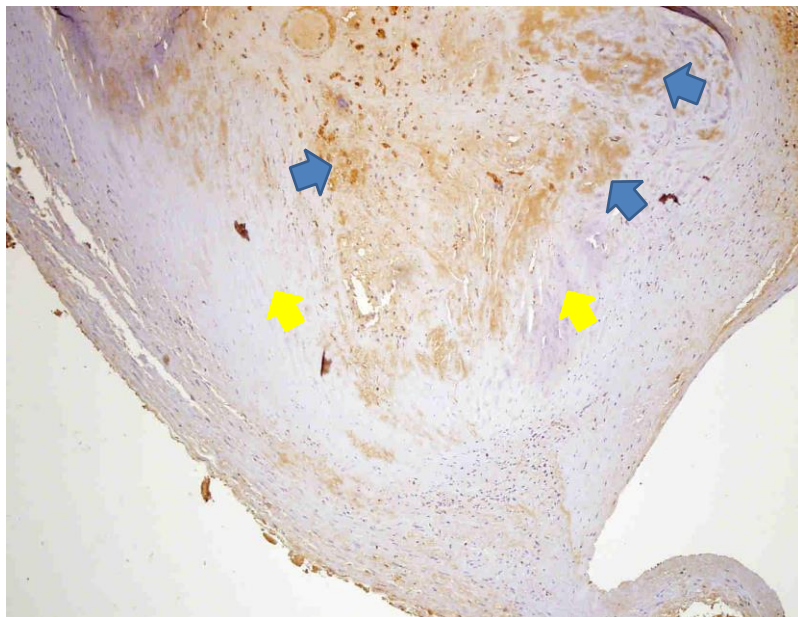
Slika 30. Stijenka krvne žile s aterosklerotskim plakom. Pozitivno bojenje na rezistin u plaku (plave strelice). Imunohistokemijsko bojenje, rezistin, x40.



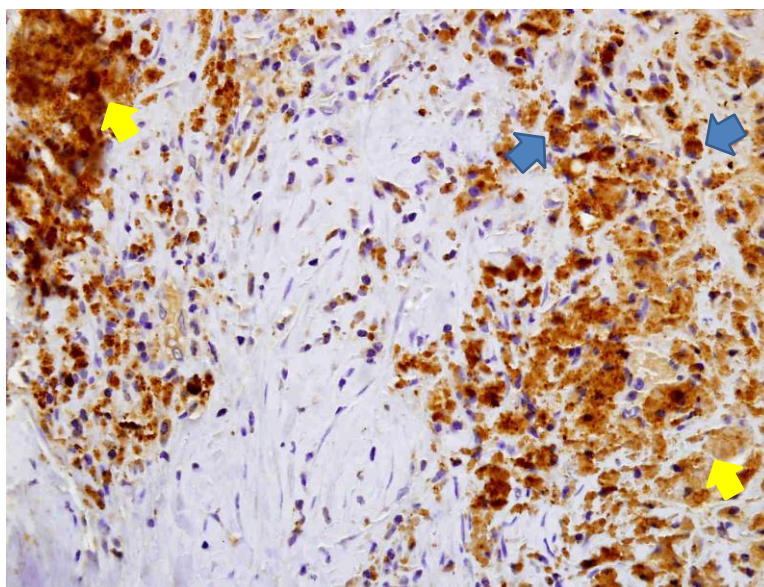
Slika 31. Pozitivno bojenje na rezistin u pjenastim stanicama (makrofagima) aterosklerotskog plaka (plave strelice). Imunohistokemijsko bojenje, rezistin, x400.



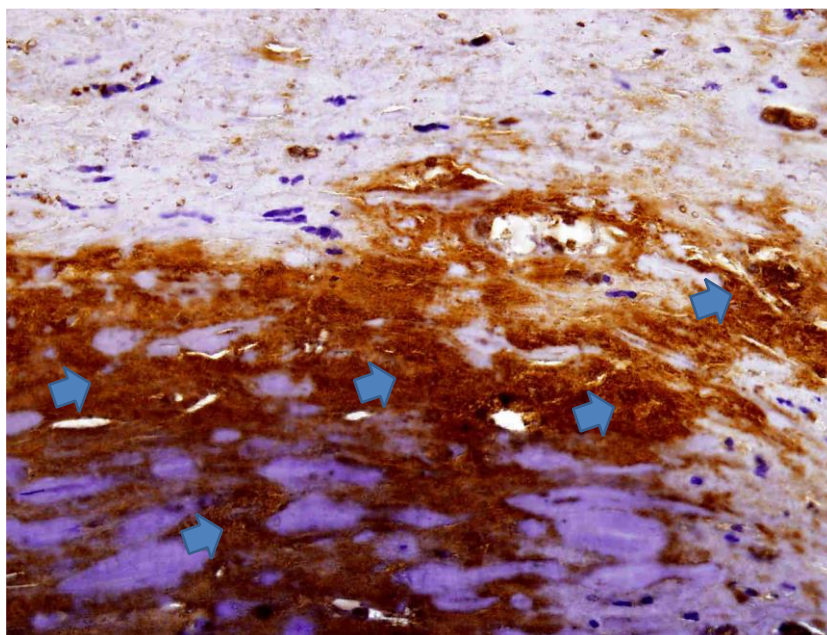
Slika 32. Stijenka krvne žile s aterosklerotskim plakom. Pozitivno bojenje na rezistin u lipidima plaka (plave strelice). Negativna reakcija u vezivno promijenjenom dijelu plaka sa neovaskularizacijom (žute strelice). Imunohistokemijsko bojenje, rezistin, x100.



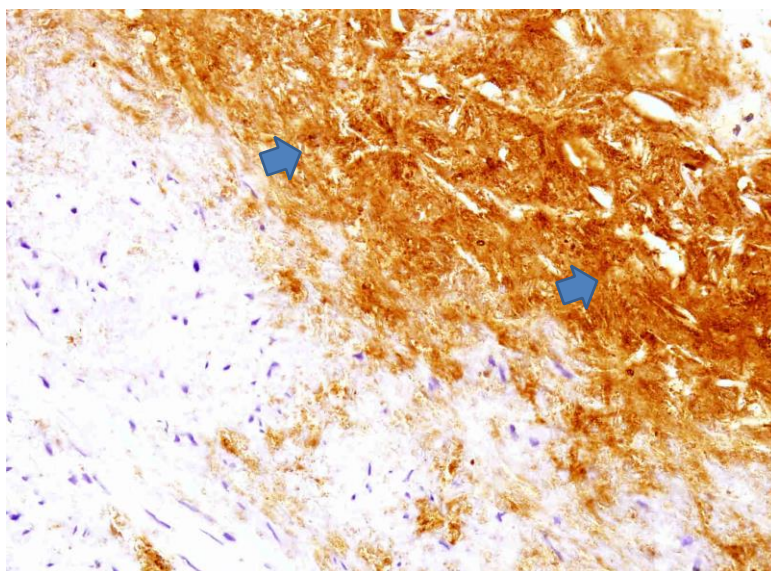
Slika 33. Stijenka krvne žile s aterosklerotskim plakom. Pozitivno bojenje na rezistin u lipidima plaka (plave strelice). Negativna reakcija u vezivno promijenjenom dijelu plaka (žute strelice). Imunohistokemijsko bojenje, rezistin, x100.



Slika 34. Pozitivno bojenje na rezistin u pjenastim stanicama (makrofagima) aterosklerotskog plaka (plave strelice) i ekstracelularnim lipidima (žute strelice). Imunohistokemijsko bojenje, rezistin, x400.



Slika 35. Pozitivno bojenje na rezistin u ekstracelularnim lipidima aterosklerotskog plaka (plave strelice). Imunohistokemijsko bojenje, rezistin, x400.



Slika 36. Pozitivno bojenje na rezistin u ekstracelularnim lipidima aterosklerotskog plaka (plave strelice). Imunohistokemijsko bojenje, rezistin, x400.

6. RASPRAVA

Prosječna dob ispitivanih bolesnika ($66,83 \pm 8,455$) kao i odnos spolova (muški spol : ženski spol=61,5:38,5 %) slična je prosječnoj dobi i odnosu spolova bolesnika uključenih u NASCET studiju (prosječna dob 65 godina, muški:ženski = 69:31 %) (23).

U našoj studiji je većina bolesnika (82,1 %) imala arterijsku hipertenziju. Naime, prevalencija arterijske hipertenzije u općoj populaciji je između 30 i 40 %, a prevalencija raste s dobi bolesnika te se procjenjuje kako je prevalencija arterijske hipertenzije >60 % u bolesnika starijih od 60 godina (171,172).

S obzirom kako su bolesnici u našoj studiji bili prosječne dobi iznad 60 godina, ovako visok postotak nije iznenađujući. Arterijska hipertenzija jedan je od značajnijih čimbenika rizika za aterosklerotsku bolest karotidnih arterija. Snažna pozitivna povezanost između vremenski integriranog mjerenja sistoličkog tlaka i aterosklerotske bolesti karotidnih arterija je podsjetnik na važnost sistoličkog tlaka u određivanju rizika za vaskularne bolesti (173).

Framinghamska studija je također pokazala povezanost između arterijske hipertenzije i ateroskleroze karotidnih arterija (174), a u skladu s Framinghamskom studijom je i studija Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP) u kojoj je arterijski tlak bio najznačajniji predskazatelj suženja karotidne arterije (175).

Povezanost između pravilnog liječenja hipertenzije i smanjenja rizika od moždanog udara poznata je već niz godina. Projekt INDANA (INDividual Data ANalysis of Antihypertensive intervention trials) analizirao je učinke lijekova koji snižavaju krvni tlak kod preživjelih od moždanog udara ili TIA-e, i pokazao kako je pravilno liječenje arterijske hipertenzije povezano s 30 % manjom učestalosti ponove pojave moždanog udara (176).

Ovi podaci su u skladu s onima koji su objavljeni u meta-analizi, što ukazuje na to kako je smanjenje rizika uglavnom posljedica smanjenja sistoličkog arterijskog tlaka i kako je vaskularna prevencija pozitivno povezana sa stupnjem smanjenja sistoličkog arterijskog tlaka (177). U studiji INTERSTROKE u kojoj su ispitivani rizični čimbenici za moždani udar u 22 zemlje, arterijska hipertenzija je bila daleko najvažniji čimbenik rizika za moždani udar: korištenjem definicije hipertenzije koja je uključivala anamnestički podatak o hipertenziji, kao i mjerenje krvnog tlaka od 160/90 mm Hg, rizik koji se može pripisati populaciji ili udio moždanog udara u populaciji koji se može pripisati hipertenziji bio je 54 % (178).

Povišen arterijski tlak povećava rizik od moždanog udara u općoj populaciji za 2 - 4 puta, a rizik raste s porastom vrijednosti arterijskog tlaka iznad 140/90 mm Hg (179,180).

Arterijska hipertenzija ubrzava proces ateroskleroze, a ateroskleroza ima značajnu ulogu u samoj patogenezi arterijske hipertenzije te njenih posljedica.

U ovoj je studiji šećernu bolest tip 2 imalo ukupno 45 bolesnika (57,7 %), za razliku od studije NASCET gdje je šećernu bolest imalo 23 % bolesnika (20) što je u skladu s porastom prevalencije šećerne bolesti u svijetu u posljednjih nekoliko desetljeća.

Procijenjuje se kako će do 2030. godine u svijetu 439 milijuna ljudi imati šećernu bolest. Ovo globalno povećanje uključuje povećanje porast broja oboljelih za 69 % u zemljama u razvoju i porast broja oboljelih za 20 % u razvijenim zemljama. Ovo značajno povećanje prevalencije šećerne bolesti tip 2 može se pripisati porastu prevalencije pretilosti (181).

Šećerna bolest tip 2 koja je češća od šećerne bolesti tip 1 povezana je s pretilošću, perifernom arterijskom bolesti, aterosklerozom velikih arterija i moždanim udarom (182).

Vrijednosti glikiranog hemoglobina (HbA1c) u ovoj studiji nisu se značajno razlikovale između asimptomatskih i simptomatskih bolesnika (6,4 % : 6,25 %) što je u skladu s dosadašnjim spoznajama kako sama stroga regulacija glikemije nije dovoljna za smanjenje cerebrovaskularnog rizika što je velikim dijelom povezano s istovremenom prisutnošću drugih čimbenika rizika. Naime, u studiji United Kingdom Transient Ischemic Attack (UK-TIA) dokazano je kako je liječenje arterijske hipertenzije u osoba sa šećernom bolesti tip 2 važnije od kontrole glikemije (183).

Nedavno objavljena meta-analiza 11 randomiziranih kontroliranih ispitivanja u kojima je sudjelovalo više od 1500 bolesnika s akutnim ishemijskim moždanim udarom nije ukazala na koristi od intenzivne kontrole glikemije. Bolesnici uključeni u ispitivanja bili su nasumično raspoređeni u skupinu s intenzivnim promatranjem inzulinske terapije ili u kontrolnu skupinu. Nije bilo razlike u kombiniranim ishodima smrti ili ovisnosti između ispitivane i kontrolne skupine, a nije bilo ni razlike u konačnom neurološkom deficitu. Ispitivana je skupina imala višu stopu simptomatske hipoglikemije (184).

U ovom istraživanju bolesnici su također imali veću učestalost hiperlipoproteinemije u usporedbi s NASCET studijom (88,5 % vs 37,0 %), a nije nađeno statistički značajne razlike između asimptomatskih i simptomatskih bolesnika (86,8 % vs 90 %) (20).

Opservacijske studije o povezanosti hiperlipoproteinemije i moždanog udara nisu jednoznačne, a ta se razlika može objasniti različitim podtipovima moždanog udara.

Odnos između hiperlipoproteinemije i aterosklerotskih događaja koji uključuju ishemijski moždani udar dobro je poznata, međutim povezanost hiperlipoproteinemije s drugim podtipovima moždanog udara nije do kraja razjašnjena. U studiju Eurostroke Project bilo je uključeno 22183 bolesnika te se nije našla značajna povezanost između vrijednosti ukupnog kolesterola i ishemijskog moždanog udara (185).

U studiju The Atherosclerosis Risk in Communities bilo je uključeno 14175 muškaraca i žena srednje životne dobi bez ranije klinički poznatih kardiovaskularnih bolesti te se nije utvrdila značajna povezanost između vrijednosti LDL-a i ishemijskog moždanog udara (186).

U meta-analizi 45 prospektivnih studija u koju je bilo uključeno 450000 osoba od kojih je 13000 imalo moždani udar nije nađena značajna povezanost povišenih vrijednosti ukupnog kolesterola i moždanog udara (187). Međutim, u studiji Asia Pacific Cohort Studies Collaboration u koju je bilo uključeno 2352033 osoba iz Azije i Novog Zelanda dokazano je kako za svaki porast kolesterola za 1 mmol/L raste vjerojatnost za ishemijski moždani udar za 25 % (188).

U studiju Women's Health Study bilo je uključeno 27937 žena starijih od 45 godina, te je dokazano kako su ukupne vrijednosti kolesterola i LDL-a snažan rizični čimbenik za ishemijski moždani udar (189).

Povezanost između lipida i cerebrovaskularne bolesti je složena te se može zaključiti kako postoje naznake izravne povezanosti vrijednosti kolesterola i ishemijskog moždanog udara odnosno aterosklerotske bolesti, osobito u međudjelovanju s drugim rizičnim čimbenicima poput arterijske hipertenzije kako je i dokazano u najvećoj meta-analizi u koju je bilo uključeno 61 studija i ukupno 900000 osoba u dobi između 40 i 59 godina (190).

Mathiesen i suradnici su objavili kako su vrijednosti ukupnog kolesterola, LDL-a, sistolički arterijski tlak i pušenje povezani s aterosklerotskom bolesti karotidnih arterija u muškaraca i žena (191).

U ovom trenutku nema randomiziranih studija u koje su uključeni samo bolesnici s aterosklerotskom bolesti karotidnih arterija u kojima bi se pratilo da li terapija statinima smanjuje učestalost ishemijskog moždanog udara kod takvih bolesnika. Međutim, u studiji The Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) identificirana je podgrupa od 1007 bolesnika sa suženjem karotidne arterije te je dokazano kako terapija atorvastatinom dovodi do apsolutnog smanjenja rizika za moždani udar za 33 % (192).

U bolesnika sa šećernom bolesti tip 2 uočeno je smanjenje IMT karotidne arterije sa smanjenjem vrijednosti LDL-a i sistoličkog arterijskog tlaka (193).

Kitagami i suradnici (194) objavili su kako su povišene vrijednosti triglicerida neovisan čimbenik rizika za napredovanje aterosklerotske bolesti karotidnih arterija u bolesnika s umjerenom do teškom stenozom karotidne arterije koji su liječeni CEA, CAS ili medikamentnom terapijom s dobro kontroliranim vrijednostima LDL-a. Rezultati upućuju na to kako je kontrola vrijednosti triglicerida barem unutar normalnih granica važna za sprečavanje napredovanja aterosklerotske bolesti karotidnih arterija.

Pušača je u našoj studiji bilo 55,1 %, a u simptomatskoj je skupini bilo 62,5 % pušača.

Pušenje je dokazan značajan čimbenik rizika za moždani udar i za aterosklerotsku bolest karotidnih arterija.

U studiji u koju je bilo uključeno 93695 osoba iz 8 europskih zemalja dokazano je kako je pušenje značajan čimbenik rizika za moždani udar (195). Babiker i suradnici (196) pokazali su kako pušenje ima značajan utjecaj na napredovanje aterosklerotske bolesti karotidnih arterija i samu hemodinamiku karotidne arterije.

Unatoč rastućem broju kampanja za smanjenje pušenja u posljednjih dvadesetak godina i nedvojbeno i u mnogim studijama dokazane povezanosti između pušenja i moždanog udara te aterosklerotske bolesti karotidnih arterija, pušenje i dalje predstavlja velik javno-zdravstveni problem.

U ovoj je studiji 82,1 % bolesnika bilo liječeno antihipertenzivnom terapijom. Najčešće korišteni antihipertenzivi u ovoj studiji su bili ACE inhibitori i blokatori angiotenzin II receptora (ukupno 80,8 %), blokatori kalcijevih kanala (42,3 %) te beta blokatori (39,7 %).

S obzirom kako trenutne smjernice preporučuju razmatranje uvođenje spomenutih lijekova s naglaskom na ACE inhibitore i blokatore angiotenzin II receptora ovakva raspodjela terapije među bolesnicima u ovoj studiji je očekivana.

Prosječne vrijednosti sistoličkog arterijskog tlaka bile su 135 mm Hg, a dijastoličkog 80 mm Hg. U simptomatskoj skupini bolesnika prosječne vrijednosti arterijskog tlaka bile su nešto više nego li u asimptomatskoj te su vrijednosti sistoličkog arterijskog tlaka bile 140 mm Hg, a dijastoličkog 80 mm Hg. Prema trenutno važećim smjernicama (86), ciljne vrijednosti sistoličkog arterijskog tlaka u bolesnika starijih od 65 godina su od 130 do 139 mmHg, a dijastoličkog arterijskog tlaka <80 mm Hg.

Mali broj studija pokazao je učinak različitih antihipertenziva na IMT karotidne arterije i samo nekoliko na karotidni plak. Smanjenje arterijskog tlaka smanjuje IMT i može odgoditi initalni aterosklerotski proces. Međutim, učinak vrste lijeka na IMT i smanjenje aterosklerotskog procesa nije posve jasan s obzirom kako je većina bolesnika liječena kombinacijom različitih antihipertenziva. U studiji Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP) pokazalo se kako liječenje izolirane sistoličke hipertenzije u osoba starijih od 60 godina dovodi do smanjenja učestalosti moždanog udara za 36 % (175).

Meta-analiza 14 randomiziranih kliničkih studija pokazala je kako smanjenje dijastoličkog arterijskog tlaka od 5 - 6 mmHg uzrokuje značajno smanjenje učestalosti moždanog udara za 42 % (197).

U ovoj je studiji statinima liječeno 74,4 % bolesnika, a nije bilo značajne razlike u upotrebi statina između asimptomatskih i simptomatskih bolesnika.

Nedavna ispitivanja su pokazala kako statini mogu smanjiti rizik od moždanog udara u bolesnika s i bez koronarne bolesti. Donedavno su podaci o potencijalnoj koristi statina u smanjenju rizika od recidiva moždanog udara bili ograničeni i neperspektivni, a to se može objasniti činjenicom kako su u ispitivanjima korištene niže doze statina nego li se sada preporučuju. Prema trenutnim smjernicama kod visokorizičnih bolesnika (63) preporuča se smanjenje vrijednosti LDL <1,8 mmol/L odnosno smanjenje od 50 % u odnosu na inicijalne vrijednosti prije početka terapije statinima. U ovoj studiji prosječna je vrijednost LDL-a bila 2,78 mmol/L, a nije bilo značajne razlike između asimptomatskih i simptomatskih bolesnika. Ograničenja ove studije su ta da nisu svi bolesnici bili liječeni maksimalnom tolerabilnom dozom statina, te bi u sljedećim ispitivanjima svakako bilo potrebno ispitati učinak maksimalne tolerabilne doze statina na ishode bolesnika kao i na samu morfologiju aterosklerotskog plaka. Budući da statini imaju izvrstan profil sigurnosti i jednostavnu primjenu, liječnici bi trebali razmotriti primjenu statina, u dozama koje su pokazale učinkovitost u kliničkim ispitivanjima, u svih visokorizičnih bolesnika.

Acetilsalicilnom kiselinom (ASK) liječeno je 88,5 % bolesnika. Simptomatski bolesnici liječeni su acetilsalicilnom kiselinom u 90 % slučajeva, a asimptomatski u 86,8 % slučajeva. Razlog zašto svi bolesnici nisu liječeni acetilsalicilnom kiselinom iako to trenutno važeće smjernice preporučuju je suradljivost bolesnika u uzimanju terapije. Naime, važno je naglasiti kako je svim bolesnicima terapija propisana, no nisu je svi uzimali, a razlozi nisu bili medicinske (npr. kontraindikacija za uzimanje lijeka) nego osobne prirode (većina ih je navela strah od krvarenja). Iako u randomiziranim studijama nije dokazana korist antiagregacijske terapije u prevenciji moždanog udara u bolesnika s asimptomatskom aterosklerotskom bolesti karotidnih arterija, prema trenutnim smjernicama kod tih se bolesnika preporuča doživotno uzimanje antiagregacijske terapije u svrhu prevencije moždanog udara (63).

U ovoj studiji nije nađena značajna povezanost između stupnja stenozе karotidne arterije i kliničkih simptoma. Bolesnici su podijeljeni u dvije skupine. U jednoj su skupini bili bolesnici sa stenozom karotidne arterije od 60 do 80 %, a u drugoj oni sa stenozom karotidne arterije od 80 do 99 %. U skupini simptomatskih bolesnika 47,5 % ih je imalo stupanj stenozе od 80 do 99 %, a u skupini asimptomatskih bolesnika stupanj stenozе od 80 do 99% je imalo njih 36,8 %. Ovi su rezultati u skladu s dosadašnjim istraživanjima jer je više studija pokazalo kako čak i do 80 % bolesnika s jasno definiranim neurološkim simptomima nema značajno suženje ICA, a ukoliko se u takvih bolesnika ne može naći drugi uzrok nastanka embolusa (npr. Fibrilacija atriya), za pretpostaviti je kako embolizacija često nastaje zbog lezija u ICA koje ne dovode do hemodinamski značajnih promjena u protoku (30).

Trideset i sedam (69,8 %) simptomatskih i 11 (44 %) asimptomatskih bolesnika imalo je meke (hipoehogene) plakove što je također statistički značajna razlika ($p = 0,029$). U ranijim studijama dokazano je kako je ultrazvuk korisna metoda za razlikovanje stabilnih od nestabilnih plakova. Hipoechogenost plaka potencijalni je ultrazvučni marker vulnerabilnosti plaka i prediktor simptomatologije, a nalaz dobro korelira s upalnim pokazateljima (198).

Ding i suradnici (199) u svojoj su studiji pokazali kako su plakovi simptomatskih bolesnika bili uglavnom hipoehogeni, a asimptomatskih uglavnom hiperehogeni.

Zaključak je kako povezanost između stupnja stenoze karotidne arterije i simptomatologije nije tako jasna i jednoznačna kako bi se moglo očekivati.

U ovoj studiji, svi kirurški uzorci dobiveni iz CEA bili su reprezentativni za napredne (tip V - VII) aterosklerotske lezije te je nađena značajna povezanost između kliničke prezentacije i histološke slike plaka indikativne za nestabilnost. Plakovi su podijeljeni u skupine sa stabilnim i nestabilnim fenotipom te su analizirani ovisno o prisutnosti krvarenja u plak, tromba na površini plaka, lipidne jezgre, fibroznog tkiva, pjenastih stanica, neovaskularizacije, kalcifikacija, infiltracije kape i upalnih stanica. Među simptomatskim bolesnicima, 30 % ih je imalo plak klasifikacije AHA V, 62 % plak klasifikacije AHA VI, a 3 % plak klasifikacije AHA VII. Rezultati predstavljaju statistički značajnu razliku u usporedbi s asimptomatskim bolesnicima.

Van Lammeren i suradnici su u svom radu pokazali kako se karakteristike aterosklerotskog plaka mijenjaju s dobi (200). Naime, pokazali su kako stariji bolesnici češće imaju aterosklerotske plakove s nestabilnim fenotipom te time pokušali objasniti porast incidencije moždanog udara nakon implantacije potpornice u karotidnu arteriju s dobi.

U meta-analizi 21 studije Golledge i suradnici su pokazali kako je ulceracija plaka vidljiva u 48 % simptomatskih bolesnika te 31 % asimptomatskih bolesnika što je bilo statistički značajno (201).

U većini studija je pokazano da je u simptomatskih bolesnika fibrozna kapa tanja te time sklonija rupturi što je sukladno s rezultatima naše studije (202).

Također je pokazano kako je u simptomatskih bolesnika veća infiltracija plaka upalnim stanicama što je sukladno s rezultatima naše studije (203).

Komplicirani tip AHA VI bio je rupturirani plak s površinskim oštećenjima, krvarenjem i trombozom. Ova vrsta lezija kod značajnog suženja karotidne arterije bila je podložna većem protoku krvi u karotidnoj bifurkacijskoj regiji. Sile smicanja (eng. shear stress) potaknule su pucanje fibrozne kape, a visok tlak u lumenu žile vrlo vjerojatno je uzrokovao puknuće vasa vasorum i krvarenje unutar plaka. S obzirom na navedeno statistički neznačajna razlika u neovaskularizaciji između stabilnog i nestabilnog plaka može se objasniti tehničkim

ograničenjima za detekciju neovaskularizacije uslijed već formiranog tromba odnosno krvarenja odnosno vremenskim razdobljem uzimanja plaka. Za naglasiti je kako su svi simptomatski bolesnici u studiji operirani unutar 2 mjeseca od pojave simptoma, no to vremensko razdoblje nije bilo jednako za sve bolesnike.

Gasbarrino i suradnici (204) također nisu našli statistički značajnu razliku u stupnju neovaskularizacije između stabilnog i nestabilnog fenotipa plaka. Međutim, u tom istraživanju nestabilnost plaka nije bila povezana sa cerebrovaskularnom simptomatologijom. Utvrđeno je kako je relativno visok udio stabilnih plakova simptomatičan (64,6 %), samo za oko 10 % niži od nestabilnih plakova. Većina ispitanika sa simptomatskim stabilnim plakovima u studiji koju su proveli Gasbarrino i suradnici (204) imala je simptome uzrokovane TIA-om, dok je većina ispitanika koji su imali simptomatske nestabilne plakove imala moždani udar. U našu su studiju bili uključeni bolesnici samo s ishemijskim moždanim udarom, a s obzirom kako je i u spomenutoj studiji nestabilan fenotip plaka bio povezan s moždanim udarom možemo reći kako su rezultati sukladni. Upala i neovaskularizacija su prepoznata obilježja nestabilnosti plaka. Demeure i suradnici (205) u svom su radu pokazali kako upala nije sustavno povezana sa stupnjem neovaskularizacije unutar plaka, što upućuje na vremensko odvajanje tih procesa. Također su utvrdili kako je upala unutar plaka povezana sa simptomatologijom dok neovaskularizacija nije. S obzirom na dobivene rezultate, možemo naglasiti važnost prepoznavanja neovaskularizacije prije same histološke analize. U novije vrijeme došlo je do značajnog poboljšanja neinvazivnih metoda odnosno CEUS za identificiranje neovaskularizacije plaka. Povećano nakupljanje kontrasta povezano je s povećanom neovaskularizacijom identificiranom histološkom tehnikom. Studije su potvrdile povezanost povećanog nakupljanja kontrasta s kliničkim simptomima te je potvrđeno kako eholucentni plakovi imaju povećan stupanj nakupljanja kontrasta (35, 36, 37). Mauriello i suradnici (206) u svom su istraživanju, u kojem je sudjelovalo 127 bolesnika, pokazali kako se akutni trombotski plakovi koji su uglavnom promatrani na bifurkaciji karotidne arterije u 65 % slučajeva pojavljuju kod bolesnika sa stenozom karotidne arterije ≤ 70 %. U našem je istraživanju više od 60 % asimptomatskih bolesnika imalo fenotipski stabilan plak dok je 11,6 % imalo plak s trombom, a 26,8 % pokazali su neke od karakteristika potencijalne nestabilnosti. Howard i suradnici (207) u svojoj su studiji pokazali kako je nestabilnost plaka povezana s cerebrovaskularnom simptomatologijom te kako nekoliko značajki, uključujući prisutnost upalnih stanica unutar plaka i veliku lipidnu jezgru, imaju vremensku povezanost s budućim rizikom od moždanog udara jer je najveća povezanost utvrđena u plakovima uklonjenim unutar 30 dana od cerebrovaskularnog događaja.

Opisano je kako je upala, s naglaskom na makrofage, važna odrednica nestabilnog aterosklerotskog plaka jer ista doprinosi veličini nekrotične jezgre, neovaskularizaciji, te stanjivanju fibrozne kape uslijed otpuštanja MMP (208, 209, 210).

Utječe li terapija statinima na morfologiju karotidnog plaka nije do kraja razjašnjeno. Kunte i suradnici (211) u svom su radu sugerirali kako upotreba statina smanjuje upalni odgovor u aterosklerotskom plaku karotidne arterije te kako su pozitivni učinci statina u prevenciji cerebrovaskularnih događaja uzrokovani protuupalnim učinkom statina na aterosklerotski plak. Makris i suradnici (212) navode kako bi statini mogli imati pozitivan učinak na morfologiju plaka i smanjenje upalnog odgovora. Verhoeven i suradnici (213) u svojoj su studiji ukazali na potencijalne pleotropne učinke statina na fenotip plaka, no upotreba statina ne smanjuje samu prisutnost makrofaga nego se njihova aktivacija možda može smanjiti upotrebom statina.

U studiji koju su proveli Howard i suradnici (207) prethodna terapija statinima pokazala je minimalan učinak na povezanost histoloških karakteristika plaka s predviđenim rizikom za moždani udar. Važno je napomenuti kako i dalje ostaje neizvjesno može li bilo koja individualna karakteristika plaka predvidjeti buduće moždane udare neovisno o dobi, spolu i tradicionalnim čimbenicima rizika. Za buduća istraživanja važno je imati na umu kako je potrebno dodatno razvijati trenutni koncept nestabilnosti plaka. Poznato je kako su prisutna izraženost rezistina u aterosklerotskom plaku i njegova proaterogena djelovanja najvjerojatnije povezana s povećanom infiltracijom makrofaga, povećanjem proinflamatornih citokina i adhezijskih molekula u ljudskim endotelnim stanicama te povećanom proliferacijom glatkih mišićnih stanica i stvaranjem pjenastih stanica (163, 166, 214, 215). Rezultati imunohistokemije za rezistin u aterosklerotskom plaku karotidne arterije u ovom istraživanju dokazuju kako je rezistin povezan s nestabilnošću aterosklerotskog plaka.

Ključni stanični element u plaku odgovoran za vezu između upale, povećane izraženosti rezistina i destabilizacije plaka je makrofag: stanica za koju se od ranije zna da svojim djelovanjem i odnosom s ostalim vrstama stanica, upalnim citokinima i faktorima rasta zauzima središnje mjesto u patogenezi destabilizacije plaka. Rezultati ovog istraživanja također podupiru dosadašnje spoznaje o važnoj ulozi makrofaga u razvoju nestabilnog plaka.

Povećana infiltracija makrofagima i leukocitima te povišen stupanj upale sve su češći kod nestabilnih, simptomatskih plakova. Također je pokazana pozitivna povezanost između serumske koncentracije rezistina i njegove imunohistokemijske izraženosti u aterosklerotskom plaku. Visoka imunohistokemijska izraženost rezistina prisutna je u nestabilnim plakovima, a dijelovi plaka s najvećom izraženošću su lipidna jezgra i makrofagi. Prema intenzitetu imunofluorescentnog bojenja plakovi su semikvantitativno podijeljeni u tri

skupine: nema izraženosti rezistina, niska izraženost rezistina (<25 % pozitivnih stanica) i visoka izraženost rezistina (>25 % pozitivnih stanica). U nestabilnom fenotipu aterosklerotskog plaka visoka izraženost rezistina bila je prisutna u 56,6 % plakova, a u stabilnom fenotipu plaka u 4 % plakova što je statistički značajna razlika. U skupini simptomatskih bolesnika 50 % bolesnika je imalo plak s visokom izraženošću rezistina dok je u skupini asimptomatskih bolesnika 28,9 % bolesnika imalo plak s visokom izraženošću rezistina. Značajna razlika u intenzitetu imunofluorescentnog bojenja rezistina također je opažena ovisno o AHA klasifikaciji plaka. Visoki (>25 % pozitivnih stanica) intenzitet bojenja najčešće je opažen u plakova klasificiranih kao AHA VI. Nadalje, prema semikvantitativnoj ljestvici histoloških obilježja plaka, značajna razlika u imunobojanju rezistina također je primijećena u vezi prisutnosti/odsutnosti krvarenja u plak, tromba, lipidne jezgre, fibroznog tkiva, kalcifikacija, upalnih stanica, infiltracije fibrozne kape i rupture. Niska izraženost rezistina opažena je u karotidnim plakovima s kalcificiranim čvorićima (bez izraženosti) i predominantno fibroznim plakovima (0 - 25 % pozitivnih stanica), dok je najveća (>25 % pozitivnih stanica) izraženost opažena u plakovima s velikom lipidnom jezgrom i većom infiltracijom upalnim stanicama.

Povezanost makrofaga s upalom, pojačanom imunohistokemijskom izraženosti rezistina i destabilizacijom plaka dokazana je u više radova, međutim, prema pregledanoj literaturi, do sada nije objavljen klinički rad koji bi pokazao vezu između kliničke prezentacija nestabilnog plaka i imunohistokemijske izraženosti rezistina u plaku. Kushiya i suradnici (216) u svojoj su studiji pokazali kako rezistinu slična molekula RELM β potiče pretvaranje makrofaga u pjenaste stanice doprinoseći time napredovanju aterosklerotske lezije i nestabilnosti plaka. Zhang i suradnici (217) u svojoj su studiji pokazali kako je rezistinu slična molekula RELM α izražena u aterosklerotskim plakovima aorte te su sugerirali kako izraženost RELM α ima značajan utjecaj na razvoj ateroskleroze. Rezultati analize serumskih vrijednosti rezistina određene ELISA metodom povezane su s rezultatima imunohistokemijske analize rezistina u aterosklerotskom plaku. Nađena je statistički značajna razlika u vrijednostima rezistina između simptomatskih i asimptomatskih bolesnika odnosno vrijednosti rezistina u serumu bile su značajno povezane s cerebrovaskularnom simptomatologijom. Više je dokaza koji povezuju povišene vrijednosti rezistina s aterosklerotskom bolesti. U nekoliko je studija dokazana povezanost rezistina s koronarnom arterijskom bolesti kao i s predviđanjem akutnih komplikacija ateroskleroze u koje je uključen i ishemijski moždani udar i ukupna kardiovaskularna smrtnost (218, 219, 220). Efstathiou i suradnici (221) u svojoj su studiji ukazali na povezanost visokih vrijednosti rezistina u plazmi s lošom prognozom nakon moždanog udara. No u toj studiji nije

razjašnjeno je li rezistin samo čimbenik stupnja upalnog zbivanja te posljedične prognoze moždanog udara ili je rezistin uzročni čimbenik u moždanom udaru. Kako vrijednosti rezistina prije moždanog udara nisu bile dostupne, ostalo je nejasno rastu li vrijednosti rezistina kao odgovor na ishemijsko zbivanje ili je rezistin čimbenik koji kod pojedinca predviđa vjerojatnost moždanog udara. S obzirom kako je limitacija i ove studije nedostupnost vrijednosti rezistina u serumu simptomatskih bolesnika prije moždanog udara, ne možemo sa sigurnošću tvrditi kako je rezistin stvaran čimbenik rizika za moždani udar. Međutim, kako vrijednosti rezistina u serumu nisu određivane u samoj akutnoj fazi nego unutar 2 mjeseca od akutnog ishemijskog moždanog udara, ostaje pitanje jesu li one i ranije bile visoke ili samo ostaju visoke kroz neko vrijeme nakon akutnog događaja.

U cilju dobivanja daljnjeg uvida u ulogu visoke koncentracije rezistina u serumu/plazmi koja prethodi ili slijedi ishemijske događaje potrebne su kohortne studije koje bi utvrdile vrijednosti rezistina kod bolesnika s visokim kardiovaskularnim rizikom prije i nakon akutnih komplikacija ateroskleroze. Kako bi se utvrdilo koliko dugo vrijednosti rezistina ostaju povišene i predviđaju li potencijalnu ponovnu pojavu akutnih komplikacija ateroskleroze potrebno je dugogodišnje praćenje takvih bolesnika. U ovoj su studiji serumske koncentracije rezistina bile statistički značajno više kod muškaraca nego li kod žena (8,509 [4,915 - 11,105] ng/mL vs 4,778 [4,275 - 7,306] ng/mL, $p = 0,01$). He i suradnici (222) u svom su radu istraživali povezanost vrijednosti rezistina u serumu sa subkliničkom aterosklerozom kod muškaraca koji puše. U studiju je bilo uključeno 50 muškaraca, trenutnih pušača, te je pokazano kako su serumske vrijednosti rezistina povezane s prisustvom znakova subkliničke ateroskleroze kod muškaraca, a ta je povezanost bila neovisna o ostalim čimbenicima rizika za kardiovaskularne bolesti.

U našu je studiju bilo uključeno 43 pušača, od čega je 76,7 % bilo muškaraca. Nije se našla statistički značajna razlika između serumskih koncentracija rezistina kod muškaraca pušača i kod muškaraca koji nisu pušili što može dijelom biti i zbog relativno malog broja bolesnika koji nisu pušili. S druge strane, u studiji koju su proveli Hsu i suradnici (223) nije bilo značajne razlike u vrijednostima rezistina između muškaraca i žena, a ta je studija pokazala kako je rezistin prognostički čimbenik za perifernu aterosklerotsku bolest u bolesnika s arterijskom hipertenzijom. U našoj su studiji muškarci također češće imali moždani udar, ali ta se razlika nije pokazala statistički značajnom. Badoer i suradnici (224) u svom su istraživanju pokazali kako su vrijednosti cirkulirajućeg rezistina povezane s arterijskom hipertenzijom u ljudi. Takata i suradnici (225) u svom su istraživanju našli kako su serumske vrijednosti rezistina povišene u bolesnika s arterijskom hipertenzijom i šećernom bolesti tip 2 za razliku od bolesnika s arterijskom hipertenzijom koji nisu imali šećernu bolest.

Papadopoulos i suradnici pokazali su kako su vrijednosti rezistina u plazmi povećane u mladog zdravog potomstva pojedinaca s esencijalnom arterijskom hipertenzijom u usporedbi s mladim zdravim potomcima bez obiteljske anamneze arterijske hipertenzije (226). Precizni mehanizmi utjecaja rezistina na arterijski tlak nisu razjašnjeni. U našoj je studiji 82,1 % bolesnika imalo arterijsku hipertenziju, a primijećeno je kako su ti bolesnici imali nešto više vrijednosti rezistina u usporedbi s bolesnicima bez arterijske hipertenzije, no ta razlika nije bila statistički značajna te se ista može objasniti malom veličinom uzorka. Povezanost povišenih vrijednosti rezistina i inzulinske rezistencije u ljudi nije do kraja razjašnjena.

Iako je u nekoliko studija objavljena pozitivna povezanost između vrijednosti rezistina, pretilosti i inzulinske rezistencije (227, 228), druge studije nisu dokazale povezanost između vrijednosti rezistina i pretilosti, inzulinske rezistencije i šećerne bolesti tip 2 (229, 230). U našoj su studiji prosječne vrijednosti rezistina u serumu bolesnika sa šećernom bolesti bile više (7821,0 ng/L vs 7185,93 ng/L), no ta razlika nije bila statistički značajna. Velika populacijska studija pokazala je snažnu pozitivnu povezanost između vrijednosti cirkulirajućeg rezistina i serumskih koncentracija triglicerida (231). U našoj studiji prosječne vrijednosti triglicerida su bile 1,59 mmol/L što predstavlja vrijednosti koje su unutar referentnih prema našem laboratoriju te nije nađena značajna povezanost između vrijednosti triglicerida i serumskih vrijednosti rezistina. Owecki i suradnici (232) u svom su istraživanju pokazali kako su vrijednosti rezistina u serumu povezane s vrijednostima HDL-a te obrnuto povezane s vrijednostima LDL-a u pretilih bolesnika sa šećernom bolesti tip 2. U našoj studiji vrijednosti rezistina nisu bile statistički značajno povezane s vrijednostima LDL-a, HDL-a i kolesterola, a mogući razlog takvim rezultatima koji nisu u korelaciji sa spomenutima je taj da se radi o različitim populacijama bolesnika odnosno u naše su istraživanje bili uključeni bolesnici s dokazano značajnim suženjem karotidne arterije, a za takvu populaciju do sada nema objavljenih rezultata o povezanosti rezistina i lipidnog profila. Osim toga, velik dio naših ispitanika kod uključivanja u studiju već je koristio statine te su prosječne vrijednosti kolesterola bile 4,94 mmol/L što je unutar referentnih vrijednosti našeg laboratorija. Prosječne vrijednosti LDL-a bile su 2,78 mmol/L što je također unutar referentnih vrijednosti našeg laboratorija iako više od preporučenih 1,8 mmol/L za visokorizične bolesnike. Prosječne vrijednosti HDL-a bile su 1,26 mmol/L što je također unutar referentnih vrijednosti našeg laboratorija. Zhang i suradnici (233) pokazali su kako su vrijednosti rezistina u serumu u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolesti na hemodijalizi bile pozitivno povezane s vrijednostima CRP-a. U našem istraživanju vrijednosti CRP-a nisu bile značajno povezane sa serumskim vrijednostima rezistina, a razlog može biti taj što je isključni kriterij za našu studiju bila kronična bubrežna bolest na hemodijalizi. Većina bolesnika u našoj studiji u

terapiji je imala acetilsalicilnu kiselinu koja je mogla utjecati na vrijednosti CRP-a. Naime, učinak acetilsalicilne kiseline na vrijednosti CRP-a u studijama nije dao jednoznačne rezultate. Neke su studije pokazale kako acetilsalicilna kiselina snižava vrijednosti CRP-a (234 -239) dok se u drugim studijama acetilsalicilna kiselina pokazala neučinkovitom u snižavanju CRP-a (240-243). De Luis i suradnici (244) u svom su istraživanju, u koje je bilo uključeno 46 pretilih bolesnika ($BMI >40 \text{ kg/m}^2$), pokazali kako su vrijednosti serumskog rezistina povezane s vrijednostima fibrinogena. U našem istraživanju vrijednosti serumskog rezistina nisu bile statistički značajno povezane s vrijednostima fibrinogena. Razlog oprečnim rezultatima je taj kako je isključni kriterij za našu studiju bila pretilost ($BMI >35 \text{ kg/m}^2$) te kako se radilo o različitim populacijama bolesnika, prosječni indeks tjelesne mase u našoj je studiji bio $28,1 \text{ kg/m}^2$). Norata i suradnici (245) pokazali su pozitivnu povezanost između vrijednosti rezistina u serumu i opsega struka. Ti su rezultati u skladu s našim istraživanjem jer su i u našem istraživanju, u kojem su prosječne vrijednosti opsega struka bile $101,27 \pm 10,82 \text{ cm}$, vrijednosti rezistina bile povezane s opsegom struka. Za naglasiti je kako ovaj podatak ukazuje da je većina naših bolesnika imala veće vrijednosti opsega struka od poželjnih (prema trenutnim smjernicama poželjna vrijednost za muškarce je $\leq 94 \text{ cm}$, a za žene $\leq 80 \text{ cm}$).

U našoj su studiji vrijednosti rezistina u serumu bile pozitivno povezane s vrijednostima leukocita što je u skladu sa studijom koju su proveli Kunnari i suradnici (246). U toj je studiji broj leukocita naj snažnije predviđao vrijednosti rezistina u serumu u linearnoj regresijskoj analizi. S obzirom kako su kod ljudi glavni izvor rezistina monociti i makrofagi, ovakav rezultat je očekivan.

7. ZAKLJUČAK

- 1) Povišene vrijednosti, odnosno izraženost rezistina u serumu, povezane su s kliničkim simptomima ishemijskog moždanog udara. U ovoj se studiji potvrdila statistički značajna razlika vrijednosti rezistina u serumu između simptomatskih i asimptomatskih bolesnika.
- 2) Vrijednosti rezistina u serumu bile su veće u bolesnika koji su temeljem patohistološke analize imali plakove klasificirane kao AHA VI.
- 3) Veća imunohistokemijska izraženost rezistina u aterosklerotskom plaku karotidne arterije povezana je s povišenim vrijednostima rezistina u serumu.
- 4) Veća imunohistokemijska izraženost rezistina u aterosklerotskom plaku karotidne arterije povezana je s većom vjerojatnošću za nestabilan fenotip plaka. U ovoj je studiji imunohistokemijska izraženost rezistina bila povezana sa stupnjem krvarenja u plak, rupturom plaka, veličinom lipidne jezgre, infiltracijom kape plaka, količinom pjenastih stanica te količinom upalnih stanica u plaku.

8. KRATKI SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU

Osnovni cilj ovog istraživanja bio je istražiti povezanost izraženosti rezistina u serumu i aterosklerotskom plaku karotidne arterije s kliničkom slikom i histološkim izgledom plaka.

U istraživanje je uključeno 78 bolesnika sa značajnim (>60 %) unilateralnim suženjem karotidne arterije hospitaliziranih radi karotidne endarterektomije. Bolesnici su podijeljeni na dvije skupine: asimptomatski i simptomatski bolesnici. Na temelju histološke analize i karakteristika plakovi su prema svojim značajkama podijeljeni temljem AHA klasifikacije u skupine od I - VIII, odnosno na one s nestabilnim i stabilnim fenotipom.

Imunohistokemija je učinjena s primarnim protutijelom za ljudski rezistin (Resistin/RETN antibody, eBioscience), a izraženost rezistina utvrđena je semikvantitativno. Serumaska koncentracija rezistina određena je ELISA metodom.

Potvrđena hipoteza kako je rezistin više izražen u karotidnim plakovima simptomatskih bolesnika i u histološki nestabilnim plakovima ukazuje na njegovu povezanost s procesom destabilizacije plaka. Značajna povezanost rezistina s histološkom slikom plaka i sa simptomatologijom upućuje na to kako bi se rezistin potencijalno mogao koristiti kao jedan od histoloških markera nestabilnosti plaka. Značajna povezanost rezistina sa simptomima bolesnika također ukazuje na potencijalnu iskoristivost rezistina u stratificiranju visokorizičnih bolesnika. S obzirom na navedeno, bit će potrebna daljnja istraživanja u svrhu otkrivanja potencijalnih lijekova čija bi svrha bila smanjivanje vrijednosti rezistina u serumu te posljedično smanjenje kardiovaskularnog rizika.

9. KRATKI SADRŽAJ I NASLOV DISERTACIJE NA ENGLESKOM JEZIKU

Ivana Jurin, MD: Expression of resistin in atherosclerotic plaque; 2019

The principal aim of this study was to investigate the correlation between serum and atherosclerotic plaque expression of resistin and clinical symptomatology as well as histological features of atherosclerotic plaque. The study included 78 patients with significant (>60 %) unilateral stenosis of carotid artery hospitalized due to carotid endarterectomy. Patients were divided into two groups based on clinical symptoms. Based on the histological features, the plaques were divided into groups I-VIII according AHA classification and into groups with unstable and stable plaque phenotype.

Immunohistochemistry was performed with the primary antibody for human resistin (Resistin/RETN antibody, eBioscience), and the resistin expression was determined semi-quantitatively. The serum concentration of resistin was determined by the ELISA method.

A confirmed hypothesis that expression of resistin is higher in unstable plaques indicates its association with the plaque destabilization process and suggests that resistin could potentially be used as one of the histological markers of plaque instability. Significant correlation of resistin with the symptoms of the patient also indicates potential utilization of resistin to stratify high-risk patients. Further research will be required to detect potential drugs whose purpose would be to reduce serum resistin values and consequently reduce cardiovascular risk.

10. POPIS LITERATURE

1. WHO MONICA Project, Principal Investigators. The World Health Organization MONICA Project (Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. *J Clin Epidemiol.* 1988;41:105-114.
2. Demarin V. Stroke. *Period Biol.* 2012;114:237-8.
3. Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Warlow C, Jones L, McPherson K. A prospective study of acute cerebrovascular disease in the community: the Oxfordshire Community Stroke Project 1981-86. 1. Methodology, demography and incident cases of first-ever stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1988;51:1373-80.
4. Croatian public health institute. Publication for 2017. Zagreb: Croatian public health institute, 2017.
5. Demarin V. Moždani udar - rastući medicinski i socijalno ekonomski problem. U: Demarin V, Trkanjec Z, Vuković V. *Acta Clin Croat.* Drugi kongres Hrvatskoga društva za neurovaskularne poremećaje Hrvatskoga liječničkog zbora s međunarodnim sudjelovanjem; 2004; Zagreb, Hrvatska. 2004. Str. 9-13.
6. Kadojić D, Dikanović M, Bitunjac M, Vuletić V, Čengiđ Lj, Rostohar Bijelić B. Epidemiology of stroke. *Period Biol.* 2012;114:253-257.
7. Kadojić D. Kliničko značenje proučavanja epidemiologije moždanog udara. U: Demarin V, Trkanjec Z, Vuković V. *Acta Clin Croat.* Drugi kongres Hrvatskoga društva za neurovaskularne poremećaje Hrvatskoga liječničkog zbora s međunarodnim sudjelovanjem; 2004; Zagreb, Hrvatska. 2004. Str. 22.
8. American Heart Association. *Heart Disease and Stroke Statistics — 2005 Update.* Dallas, Texas.: American Heart Association; 2005.
9. Barnett HJM, Gunton RW, Eliasziw M, Fleming L, Sharpe B, Gates P, i sur. Causes and Severity of Ischemic Stroke in Patients With Internal Carotid Artery Stenosis. *JAMA.* 2000;283(11):1429-1436.

10. Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors JJ, Culebras A, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2013;44:2064–89.
11. Shrikhande GV, McKinsey JF. Choosing the appropriate intervention for symptomatic and asymptomatic carotid disease in the era of multiple therapies: integration of risk profile and technical data. *Semin Vasc Surg*. 2011;24:53-9.
12. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet*. 1998;351:1379-87.
13. Schneider PA, Naylor AR. Asymptomatic carotid artery stenosis--medical therapy alone versus medical therapy plus carotid endarterectomy or stenting. *J Vasc Surg*. 2010;52:499-507.
14. Young B, Moore WS, Robertson JT, Toole JF, Ernst CB, Cohen SN, et al. An analysis of perioperative surgical mortality and morbidity in the asymptomatic carotid atherosclerosis study. Acas investigators. Asymptomatic carotid atherosclerosis study. *Stroke*. 1996;27:2216-2224.
15. Halliday AW, Thomas D, Mansfield A. The asymptomatic carotid surgery trial (ASCT). Rationale and design. Steering committee. *Eur J Vasc Surg*. 1994;8:703-710.
16. Goessens BM, Visseren FL, Kappelle LJ, Algra A, van der Graaf Y. Asymptomatic carotid artery stenosis and the risk of new vascular events in patients with manifest arterial disease: The SMART study. *Stroke*. 2007;38:1470-1475.
17. Clinical alert: Benefit of carotid endarterectomy for patients with high-grade stenosis of the internal carotid artery. National institute of neurological disorders and stroke and trauma division. North american symptomatic carotid endarterectomy trial (NASCET) investigators. *Stroke*. 1991;22:816-817.
18. Endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis. Executive Committee for the Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. *JAMA*. 1995;273:1421-8.

19. Nicolaides AN, Kakkos S, Griffin M, Geroulakos G, Ioannidou E. Severity of asymptomatic carotid stenosis and risk of ipsilateral hemispheric ischaemic events: Results from the ACSRS study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006;31: 275-284.
20. Sprynger M RF, Moonen M, Aboyans V, Edvardsen T, Alcantara M, Brodmann M, i sur. EACVI recommendations on echovascular imaging assessment of arterial diseases: partim I
21. Mathiesen EB, Bonaa KH, Joakimsen O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis: The tromso study. *Circulation.* 2001;103:2171-2175.
22. Grant EG, Benson CB, Moneta GL, Alexandrov AV, Baker JD, Bluth EI, i sur. Carotid aretry stenosis: Gray - scale and doppler us diagnosis--society of radiologists in ultrasound consensus conference. *Radiology.* 2003; 229: 340-346.
23. Collaborators NASCET; North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med.* 1991; 325(7):445-53.
24. ECST Collaborative Group. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST) *Lancet.* 1998;351(9113):1379–1387.
25. Williams M A, Nicolaides A N. Predicting the normal dimensions of the internal and external carotid arteries from the diameter of the common carotid. *Eur J Vasc Surg.* 1987;1(2):91–96.
26. Davies K N, Humphrey P R. Complications of cerebral angiography in patients with symptomatic carotid territory ischaemia screened by carotid ultrasound. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1993;56(9):967–972.
27. Serfaty JM, Nonent M, Nighoghossian N, Rouhart F, Derex L, Rotaru C, i sur. Plaque density on CT, a potential marker of ischemic stroke. *Neurology* 2006;66:118-120.

28. Wardlaw J, Chappell F, Stevenson M, de Nigris E, Thomas S. Accurate, practical and cost-effective assessment of carotid stenosis in the UK. *Health Technol Assess* 2006;10:30.
29. Bivard A, Spratt N, Levi C, Parsons M. Perfusion computer tomography: imaging and clinical validation in acute ischaemic stroke. *Brain* 2011;134(11):3408–3416.
30. Jaff MR, Goldmakher GV, Lev MH, Romero JM. Imaging of the carotid arteries: the role of duplex ultrasonography, magnetic resonance arteriography, and computerized tomographic arteriography. *Vasc Med*. 2008;13(4):281–292.
31. Johnston DC, Goldstein LB. Clinical carotid endarterectomy decision making: noninvasive vascular imaging versus angiography. *Neurology*. 2001;56(8):1009–1015.
32. Qureshi AI, Suri MF, Ali Z. Role of conventional angiography in evaluation of patients with carotid artery stenosis demonstrated by Doppler ultrasound in general practice. *Stroke*. 2001;32(10):2287–2291.
33. Brkljačić, B. Doplerski pregled karotidnih i vertebralnih arterija i transkranijski doplerski pregled .U: *Vaskularni ultrazvuk*. Zagreb, Medicinska naklada, 2010; 161-209.
34. Fisher M, Paganini-Hill A, Martin A, Cosgrove M, Toole JF, Barnett HJ, i sur. Carotid plaque pathology: Thrombosis, ulceration, and stroke pathogenesis. *Stroke*. 2005;36:253-257.
35. Shalhoub J, Owen DRJ, Gauthier T. The use of contrast enhanced ultrasound in carotid arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*.2010; 39:381-387.
36. Clevert DA, Sommer WH, Helck A: Improved carotid atherosclerotic plaques imaging with contrast-enhanced ultrasound (CEUS). *Clin Hemorheol Microcirc*. 2011; 48 (1):141-148.
37. Shah F, Balan P, Weinberg M, Reddy V, Neems R, Feinstein M, i sur. Contrast-enhanced ultrasound imaging of atherosclerotic carotid plaque neovascularisation: A new surrogate marker of atherosclerosis? *Vasc Med*. 2007;12:291-8.

38. Owen DR, Shalhoub J, Miller S, Gauthier T, Doryforou O, Davies AH, i sur. Inflammation within carotid atherosclerotic plaque: Assessment with late-phase contrast-enhanced US. *Radiology* 2010;255:638-44.
39. Cosgrove D. Ultrasound contrast agents: An overview. *Eur J Radiol.* 2006;60:324-30.
40. Hvattum E, Normann PT, Oulie I, Uran S, Ringstad O, Skotland T. Determination of perfluorobutane in rat blood by automatic headspace capillary gas chromatography and selected ion monitoring mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2001;24(3):487–94.
41. Toft KG, Hustvedt SO, Hals P-A, Oulie I, Uran S, Landmark K, i sur. Disposition of perfluorobutane in rats after intravenous injection of Sonazoid; *Ultrasound Med Biol.* 2006;32(1):107–14.
42. Hutter JC, Luu HM, Mehlhaff PM, Killam AL, Dittrich HC. Physiologically based pharmacokinetic model for fluorocarbon elimination after the administration of an octafluoropropane albumin microsphere sonographic contrast agent. *J Ultrasound Med.* 1999; 18(1):1–11.
43. Yuan C, Mitsumori LM, Ferguson MS, Polissar NL, Echelard D, Ortiz G, i sur. In vivo accuracy of multispectral magnetic resonance imaging for identifying lipid-rich necrotic cores and intraplaque hemorrhage in advanced human carotid plaques. *Circulation.* 2001;104:2051-6.
44. Altaf N, Goode SD, Beech A, Gladman JR, Morgan PS, Mac Sweeney ST, i sur. Plaque hemorrhage is a marker of thromboembolic activity in patients with symptomatic carotid disease. *Radiology.* 2011;258:538-45.
45. Chu B, Kampschulte A, Ferguson MS, Kerwin WS, Yarnykh VL, O'Brien KD, i sur. Hemorrhage in the atherosclerotic carotid plaque: A high-resolution MRI study. *Stroke.* 2004;35:1079-84.
46. Kampschulte A, Ferguson MS, Kerwin WS, Polissar NL, Chu B, Saam T, i sur. Differentiation of intraplaque versus juxtaluminal hemorrhage/thrombus in advanced human

carotid atherosclerotic lesions by in vivo magnetic resonance imaging. *Circulation*. 2004;110:3239-44.

47. Ota H, Yarnykh VL, Ferguson MS, Underhill HR, Demarco JK, Zhu DC, et al. Carotid intraplaque hemorrhage imaging at 3.0-T MR imaging: Comparison of the diagnostic performance of three T1-weighted sequences. *Radiology*. 2010;254:551-63.

48. Altaf N, Beech A, Goode SD, Gladman JR, Moody AR, Auer DP, et al. Carotid intraplaque hemorrhage detected by magnetic resonance imaging predicts embolization during carotid endarterectomy. *J Vasc Surg*. 2007;46:31-6.

49. Wasserman BA, Smith WI, Trout HH 3rd, Cannon RO 3rd, Balaban RS, Arai AE. Carotid artery atherosclerosis: In vivo morphologic characterization with gadolinium-enhanced double-oblique MR imaging-initial results. *Radiology*. 2002;223:566-73.

50. Lovett JK, Rothwell PM. Site of carotid plaque ulceration in relation to direction of blood flow: An angiographic and pathological study. *Cerebrovasc Dis*. 2003;16:369-75.

51. Homburg PJ, Rozie S, van Gils MJ, van den Bouwhuisen QJ, Niessen WJ, Dippel DW, et al. Association between carotid artery plaque ulceration and plaque composition evaluated with multidetector CT angiography. *Stroke*. 2011;42:367-72.

52. de Weert TT, Cretier S, Groen HC, Homburg P, Cakir H, Wentzel JJ, et al. Atherosclerotic plaque surface morphology in the carotid bifurcation assessed with multidetector computed tomography angiography. *Stroke*. 2009;40:1334-40.

53. Saba L, Montisci R, Sanfilippo R, Mallarini G. Multidetector row CT of the brain and carotid artery: A correlative analysis. *Clin Radiol*. 2009;64:767-78.

54. Shindo A, Tanemura H, Yata K, Hamada K, Shibata M, Umeda Y, et al. Inflammatory biomarkers in atherosclerosis: pentraxin 3 can become a novel marker of plaque vulnerability. *PLoS ONE*. 2014; 9(6): e100045.

55. Pelisek J, Rudelius M, Zepper P. Multiple biological predictors for vulnerable carotid lesions. *Cerebrovascular Diseases*. 2009;28(6):601-610.

56. Johnson JL, Jenkins NP, Huang WC. Relationship of MMP-14 and TIMP-3 expression with macrophage activation and human atherosclerotic plaque vulnerability. *Mediators of Inflammation*. 2014;2014:17.
57. Cheng C, Tempel D, van Haperen R. Activation of MMP8 and MMP13 by angiotensin II correlates to severe intra-plaque hemorrhages and collagen breakdown in atherosclerotic lesions with a vulnerable phenotype. *Atherosclerosis*. 2009;204(1):26–33.
58. Puz P, Lasek-Bal A, Ziaja D, Kazibutowska Z, Ziaja K. Inflammatory markers in patients with internal carotid artery stenosis. *Archives of Medical Science*. 2013;9(2):254–260.
59. Garcia BA, Ruiz C, Chacon P, Sabin JA, Matas M. High-sensitivity C-reactive protein in high-grade carotid stenosis: risk marker for unstable carotid plaque. *Journal of Vascular Surgery*. 2003;38(5):1018–1024.
60. Koutouzis M, Rallidis LS, Peros G. Serum interleukin-6 is elevated in symptomatic carotid bifurcation disease. *Acta Neurologica Scandinavica*. 2009;119(2):119–125.
61. Edsfeldt A, Nitulescu M, Grufman H. Soluble urokinase plasminogen activator receptor is associated with inflammation in the vulnerable human atherosclerotic plaque. *Stroke*. 2012;43(12):3305–3312.
62. Abbas A, Aukrust P, Russell D. Matrix metalloproteinase 7 is associated with symptomatic lesions and adverse events in patients with carotid atherosclerosis. *PLoS ONE*. 2014;9:1.
63. Aboyans V, Ricco JB. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS) Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *European Heart Journal*. 2018; 39(9): 763–816.

64. Azzini C, Gentile M, De Vito A. Very Early Carotid Endarterectomy After Intravenous Thrombolysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2016;51: 482–6.
65. Furei KL, Kasner SE, Adams RJ. American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular Nursing, Council on Clinical Cardiology, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke or transient ischaemic attack: a guideline for healthcare professional from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2011;42:227–76.
66. Ederle J, Featherstone RL, Brown MM. Metaanalysis of procedurale stroke and death among octogenarians: carotid stenting versus carotid endarterectomy. *J Am Coll Surg*. 2009;208:1124–31.
67. Yadav JS, Wholey MK, Kuntz RE. Protected carotid artery stenting versus endarterectomy in high-risk patients. *N Engl J Med* .2014;351: 1493–501.
68. Furei KL, Kasner SE, Adams RJ. American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular Nursing, Council on Clinical Cardiology, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke or transient ischaemic attack: a guideline for healthcare professional from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2011;42:227–76.
69. Ricotta JJ, Aburahma A, Ascher E, Eskandari M, Faries P, Lal BK. Updated society for vascular surgery guidelines for management of extracranial carotid disease. *J Vasc Surg*. 2011;54:e1–31.
70. Halliday AW, Bulbulia R, Gray W. ACST-2 Collaborative Group. Status report and interim results from the asymptomatic carotid surgery trial-2 (ACST-2). *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2013;46:510–18.
71. Brott TG, Hobson RW 2nd, Howard G. CREST investigators. Stenting versus endarterectomy for treatment of carotid artery stenosis. *N Engl J Med*. 2010;363:11–23.
72. Yadav JS, Wholey MK, Kuntz RE. Protected carotid artery stenting versus endarterectomy in high-risk patients. *N Engl J Med*. 2014;351: 1493–501.

73. Bond R, Rekasem K, Naylor AR. Systematic review of randomized trial of carotid endarterectomy with primary closure and patch angioplasty with saphenous vein, jugular vein, and polytetrafluorethylene: Long-term follow-up. *J Vasc Surg.* 1998;222.
74. Chaturvedi S, Bruno A, Feasby T, Holloway R, Benavente O, Cohen SN, et al. Carotid endarterectomy--an evidence-based review: Report of the therapeutics and technology assessment subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2005;65:794-801.
75. Nikol S, Huehns TY, Höfling B. Molecular biology and post-angioplasty restenosis. *Atherosclerosis.* 1996;123:17-31.
76. Kraitzer A, Kloog Y, Zilberman M. Approaches for prevention of restenosis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;85:583-603.
77. Frericks H, Kievit J, van Baalen JM, van Bockel JH. Carotid recurrent stenosis and risk of ipsilateral stroke: a systematic review of the literature. *Stroke.* 1998;29:244-50.
78. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ.* 2002;324:71-86.
79. Sacco RL, Diener HC, Yusuf S, Cotton D, Ounpuu S, Lawton WA, et al. Aspirin and extended-release dipyridamole versus clopidogrel for recurrent stroke. *N Engl J Med* 2008;359:1238-51.
80. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet.* 1996;348:1329-39.
81. Bhatt DL, Flather MD, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, et al. Patients with prior myocardial infarction, stroke, or symptomatic peripheral arterial disease in the CHARISMA trial. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49:1982-8.

82. Markus HS, Droste DW, Kaps M, Larrue V, Lees KR, Siebler M, i sur. Dual antiplatelet therapy with clopidogrel and aspirin in symptomatic carotid stenosis evaluated using Doppler embolic signal detection: the Clopidogrel and Aspirin for Reduction of Emboli in Symptomatic Carotid Stenosis (CARESS) trial. *Circulation*. 2005;111:2233–40.
83. Amarenco P, Labreuche J, Lavallee P, Touboul PJ. Statins in stroke prevention and carotid atherosclerosis: systematic review and up-to-date meta-analysis. *Stroke*. 2004;35:2902–9.
84. Huang Y, Li W, Dong L, Li R, Wu Y. Effect of statin therapy on the progression of common carotid artery intima-media thickness: an updated systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Atheroscler Thromb*. 2013;20:108–21.
85. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, i sur. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2017;376:1713–22.
86. Williams B, Mancia G, Spiering W, Rosei EA, Azizi M, Burnier M, i sur. 2018 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2018; 39(33):3021–3104.
87. Zanchetti A, Hennig M, Hollweck R, Bond G, Tang R, Cuspidi C, i sur. Baseline values but not treatment-induced changes in carotid intima-media thickness predict incident cardiovascular events in treated hypertensive patients: findings in the European Lacidipine Study. *Atherosclerosis (ELSA)*. *Circulation*. 2009;120:1084–1090.
88. Zanchetti A, Crepaldi G, Bond MG, Gallus G, Veglia F, Mancia G, i sur, PHYLLIS Investigators. Different effects of antihypertensive regimens based on fosinopril or hydrochlorothiazide with or without lipid lowering by pravastatin on progression of asymptomatic carotid atherosclerosis: principal results of PHYLLIS—a randomized double-blind trial. *Stroke*. 2004;35:2807–2812.
89. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of hdl metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res*. 2005;96:1221-1232 75.

90. Cooper CJ, Yasin M, Eaton GM, Lauer MA, Sheldon WS, Grines CL, i sur. Effect of recombinant apoA-I milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;290:2292-2300.
91. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, i sur. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *European Heart Journal*. 2016; 37(29):2315–2381
92. Junqueira LC, Carneiro J. *Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Žilni sustav. U: Osnove histologije, Školska knjiga, Zagreb, 1999;216-232.*
93. Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis*. 1997;39:287-324.
94. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med*. 1990;323:27-36.
95. Reiner Ž. Ateroskleroza. U: Božidar Vrhovac i sur. *Interna medicina*. 3.izd. Zagreb: Naklada Ljevak. 2003:584-588.
96. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20:1262–1275.
97. Simionescu N, Vasile E, Lupu F, Popescu G, Simionescu M. Prelesional events in atherogenesis. Accumulation of extracellular cholesterol-rich liposomes in the arterial intima and cardiac valves of the hyperlipidemic rabbit. *The American journal of pathology*. 1986; 123:109–125.
98. Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease. *N. Engl J Med*. 1999;304: 115-125.

99. Wilson AM, Ryan MC, Boyle AJ. The novel role of C-reactive protein in cardiovascular disease: risk marker or pathogen. *Int J Cardiol* 2006 ;106:291-297.
100. Seidman MA, Mitchell RN, Stone JR. Pathophysiology of Atherosclerosis. *Cellular and Molecular Pathobiology of Cardiovascular Disease*. 2014: 221–237.
101. Wang T, Palucci D, Law K, Yanagawa B, Yam J, Butany J. Atherosclerosis: pathogenesis and pathology. *Diag Histopathol* 2012;18:461–7.
102. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1262-75.
103. Virmani R, Joner M, Sakakura K. Recent highlights of ATVB: calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34:1329-32.
104. Parmar JP, Rogers WJ, Mugler JP 3rd, Baskurt E, Altes TA, Nandalur KR, et al. Magnetic resonance imaging of carotid atherosclerotic plaque in clinically suspected acute transient ischemic attack and acute ischemic stroke. *Circulation*. 2010;122:2031-8.
105. Takaya N, Yuan C, Chu B, Saam T, Underhill H, Cai J, et al. Association between carotid plaque characteristics and subsequent ischemic cerebrovascular events: a prospective assessment with MRI-- initial results. *Stroke*. 2006;37:818-23.
106. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang Y, Smialek JE, Virmani R. Plaque rupture and sudden death related to exertion in men with coronary artery disease. *JAMA*. 1999;281:921-6.
107. Mofidi R, Crotty TB, McCarthy P. Association between plaque instability, angiogenesis and symptomatic carotid occlusive disease. *Br J Surg*. 2001;88:945-50.
108. Van Hinsbergh VWM, Eringa EC, Daemen M. Neovascularization of atherosclerotic plaque: interplay between atherosclerotic lesion, adventitia- derived microvessels and perivascular fat. *Curr Opin Lipidol*. 2014;26(5):406-411.

109. Kolodgie FD, Yahagi K, Mori H, Romero ME, Trout HH, Finn AV, et al. High-risk carotid plaque: lessons learned from histopathology. *Seminars in Vascular Surgery*. 2017; 30(1): 31–43.
110. Saam T, Hatsukami TS, Takaya N. The vulnerable, or high-risk, atherosclerotic plaque: noninvasive MR imaging for characterization and assessment. *Radiology*. 2007;244:64-77.
111. Takaya N, Yuan C, Chu B. Presence of intraplaque hemorrhage stimulates progression of carotid atherosclerotic plaques: a high-resolution magnetic resonance imaging study. *Circulation*. 2005;111:2768-75.
112. Hishikawa T, Iihara K, Yamada N. Assessment of necrotic core with intraplaque hemorrhage in atherosclerotic carotid artery plaque by MR imaging with 3D gradient-echo sequence in patients with high-grade stenosis. *J Neurosurg*. 2010;113:890-6.
113. Herrick S, Blanc-Brude O, Gray A, Laurent G. Fibrinogen. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999; 31:741-6.
114. Redgrave JN, Gallagher P, Lovett JK. Critical cap thickness and rupture in symptomatic carotid plaques: the oxford plaque study. *Stroke*. 2008;39:1722-9.
115. Mauriello A, Sangiorgi GM, Virmani R. A pathobiologic link between risk factors profile and morphological markers of carotid instability. *Atherosclerosis*. 2010;208:572-80.
116. Mauriello A, Sangiorgi G, Virmani R. Evidence of a topographical link between unstable carotid plaques and luminal stenosis: can we better stratify asymptomatic patients with significant plaque burden? *Int J Cardiol*. 2012;155:309-11.
117. Kramer MC, Rittersma SZ, de Winter RJ. Relationship of thrombus healing to underlying plaque morphology in sudden coronary death. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:122-32.
118. Avril G, Batt M, Guidoin R. Carotid endarterectomy plaques: correlations of clinical and anatomic findings. *Ann Vasc Surg*. 1991;5:50-4.

119. Farb A, Burke AP, Tang AL. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation*. 1996;93:1354-63.
120. Detrano R, Guerci AD, Carr JJ. Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. *N Engl J Med*. 2008;358:1336-45.
121. Mauriello A, Servadei F, Sangiorgi G. Asymptomatic carotid plaque rupture with unexpected thrombosis over a non-canonical vulnerable lesion. *Atherosclerosis*. 2011;218:356-62.
122. Vengrenyuk Y, Carlier S, Xanthos S. A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:14678-83.
123. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*. 2014;41:14-20.
124. Salpeter SJ, Pozniak Y, Merquiol E. A novel cysteine cathepsin inhibitor yields macrophage cell death and mammary tumor regression. *Oncogene*. 2015;34:6066-6078.
125. Herbert C. Sary. Natural History and Histologicalal Classification of Atherosclerotic Lesions : An Update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1177-1178.
126. Kim KH, Lee K, Moon YS, Sul HS. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem*. 2001;276:11252-11256.
127. Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B. FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. *EMBO J*. 2000;19:4046-4055.
128. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409:307-312.

129. Vamecq J, Latruffe N. Medical significance of peroxisome proliferator-activated receptors. *Lancet*. 1999;354:141-8.
130. Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY, et al. A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2001; 98(2):502-6.
131. Schwartz DR, Lazar MA. Human resistin: found in translation from mouse to man. *Trends Endocrinol Metab*. 2011;22:259–265.
132. Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, Scherer PE, Shapiro L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science*. 2004;304:1154–8.
133. Ghosh S, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ehtesham NZ. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene*. 2003;305: 27–34.
134. Lu SC, Shieh WY, Chen CY, Hsu SC, Chen HL. Lipopolysaccharide increases resistin gene expression in vivo and in vitro. *FEBS Lett*. 2002; 530: 158–162.
135. Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 309: 286–290.
136. Tomaru T, Steger DJ, Lefterova MI, Schupp M, Lazar MA. Adipocyte-specific expression of murine resistin is mediated by synergism between peroxisome proliferator activated receptor gamma and CCAAT/enhancer-binding proteins. *J Biol Chem*. 2009;284:6116-6125.
137. Hsieh YY, Shen CH, Huang WS, Chin CC, Kuo YH, Hsieh MC, et al. Resistin-induced stromal cell-derived factor-1 expression through Toll-like receptor 4 and activation of p38 MAPK/NFkappaB signaling pathway in gastric cancer cells. *J Biomed Sci*. 2014;21:59.
138. Benomar Y, Gertler A, De Lacy P, Crépin D, Ould Hamouda H, Riffault L, et al. Central resistin overexposure induces insulin resistance through Toll-like receptor 4. *Diabetes*. 2013;62:102–14.

139. Daquinag AC, Zhang Y, Amaya-Manzanares F, Simmons PJ, Kolonin MG. An isoform of decorin is a resistin receptor on the surface of adipose progenitor cells. *Cell Stem Cell*. 2011;9:74–86.
140. Lee S, Lee HC, Kwon YW, Cho Y, Kim J, Lee S, i sur. Adenylyl cyclase-associated protein 1 is a receptor for human resistin and mediates inflammatory actions of human monocytes. *Cell Metab*. 2014;19:484–97.
141. Chakraborty C. Biochemical and Molecular Basis of Insulin Resistance. *Current Protein and Peptide Science*. 2006; 7(2): 113–121.
142. Heilbronn L, Rood J, Janderova L, Albu DE, Kelley E, Ravussin SR, i sur. Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:1844–1848.
143. Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, i sur. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest*. 2004;114:232–239.
144. Kusminski CM, McTernan PG, Kumar S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and Type II diabetes. *Clin Sci*. 2005;109:243–256.
145. Silha JV, Krsek M, Skrha JV, Sucharda P, Nyomba B, Murphy LJ. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *Eur J Endocrinol*. 2003;149:331–335.
146. Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;285:561–564.
147. Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res*. 2002;10:1–5.
148. Menzaghi C, Coco A, Salvemini L, Thompson R, De Cosmo S, Doria A, i sur. Heritability of serum resistin and its genetic correlation with insulin resistance-related features in nondiabetic Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:2792–5.

149. Azuma K, Oguchi S, Matsubara Y, Mamizuka T, Murata M, Kikuchi H, i sur. Novel resistin promoter polymorphisms: association with serum resistin level in Japanese obese individuals. *Horm Metab Res.* 2004;36:564–70.
150. Cho YM, Youn BS, Chung SS, Kim KW, Lee HK, Yu KY, i sur. Common genetic polymorphisms in the promoter of resistin gene are major determinants of plasma resistin concentrations in humans. *Diabetologia.* 2004;47:559–65.
151. Mattevi VS, Zembruski VM, Hutz MH. A resistin gene polymorphism is associated with body mass index in women. *Hum Genet.* 2004;115:208–12.
152. Hivert MF, Manning AK, McAteer JB, Dupuis J, Fox CS, Cupples LA, i sur. Association of variants in RETN with plasma resistin levels and diabetes-related traits in the Framingham Offspring Study. *Diabetes.* 2009;58:750–6.
153. Gouni-Berthold I, Giannakidou E, Faust M, Kratzsch J, Berthold HK, Krone W. Resistin gene 3'-untranslated region +62G → A polymorphism is associated with hypertension but not diabetes mellitus type 2 in a German population. *J Intern Med.* 2005;258:518–26.
154. Kusminski CM, McTernan PG, Kumar S. Role of resistin in obesity, insulin resistance and type II diabetes. *Clin Sci (Lond).* 2005;109:243–56.
155. El-Shal AS, Pasha HF, Rashad NM. Association of resistin gene polymorphisms with insulin resistance in Egyptian obese patients. *Gene.* 2013;515:233–8.
156. Conneely KN, Silander K, Scott LJ, Mohlke KL, Lazaridis KN, Valle TT, i sur. Variation in the resistin gene is associated with obesity and insulin-related phenotypes in Finnish subjects. *Diabetologia.* 2004;47:1782–8.
157. Osawa H, Yamada K, Onuma H, Murakami A, Ochi M, Kawata H, i sur. The G/G genotype of a resistin single-nucleotide polymorphism at –420 increases type 2 diabetes mellitus susceptibility by inducing promoter activity through specific binding of Sp1/3. *Am J Hum Genet.* 2004;75:678–86.

158. Wen Y, Lu P, Dai L. Association between resistin gene -420 C/G polymorphism and the risk of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Acta Diabetol.* 2013;50:267–72.
159. Johnson AM, Olefsky JM. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell.*2013;152:673–684.
160. Filkova M, Haluzik M, Gay S, Senolt L. The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies. *Clin Immunol.* 2009;133:157–170.
161. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol.* 2005;174:5789–5795.
162. Mu H, Ohashi S, Yan H, Chai H, Yang P, Lin Q , i sur. Adipokine resistin promotes in vitro angiogenesis of human endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2006;70: 146-157.
163. Verma S, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Weisel RD, i sur. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation.* 2003;108:736–740.
164. Jiang C, Zhang H, Zhang W, Kong W, Zhu Y, Zhang H, i sur. Homocysteine promotes vascular smooth muscle cell migration by induction of the adipokine resistin. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009;297:C1466–C1476.
165. Jamaluddin MS, Yan S , Lü J, Liang Z,Yao Q ,Chen C. Resistin increases monolayer permeability of human coronary artery endothelial cells. *PLoSOne.* 2013; 8:e84576.
166. Cho Y, Lee SE, Lee HC, Hur J, Lee S, Youn SW, i sur. Adipokine resistin is a key player to modulate monocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells, leading to progression of atherosclerosis in rabbit carotid artery. *J Am Coll Cardiol.*2011;57:99–109.
167. Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. Resistin: functional roles and Therapeutic considerations for cardiovascular disease. *Br J Pharmacol.* 2012;165:622–63.
168. Qiu W, Chen N, Zhang Q, Zhuo L, Wang X, Wang D, i sur. Resistin increases platelet P-selectin levels via p38 MAPK signal pathway. *Diab Vasc Dis Res.* 2014;11:121–124.

169. Langheim S, Dreas L, Veschini L, Maisano F, Foglieni C, Ferrarello S, i sur. Increased expression and secretion of resistin in epicardial adipose tissue of patients with acute coronary syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;298:H746–H753.
170. Chen C, Jiang J, Lu JM, Chai H, Wang X, Lin PH, i sur. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299:H193–H201.
171. Whitworth JA. World health organization (WHO)/international society of hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens*. 2003;21:1983-1992.
172. Chow CK, Teo KK, Rangarajan S, Islam S, Gupta R, Avezum A, i sur. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries. *JAMA*. 2013;310:959–968.
173. Wilson PW, Hoeg JM, D'Agostino RB, Silbershatz H, Belanger AM, Poehlmann H, i sur. Cumulative effects of high cholesterol levels, high blood pressure, and cigarette smoking on carotid stenosis. *N Engl J Med*. 1997;337:516-22.
174. Kannel WB. Fifty years of Framingham Study contributions to understanding hypertension. *J Hum Hypertens*. 2000;14:83–90.
175. Sutton-Tyrrell K, Alcorn HG, Wolfson SK, Jr., Kelsey SF, Kuller LH. Predictors of carotid stenosis in older adults with and without isolated systolic hypertension. *Stroke*. 1993;24:355-361.
176. Gueyffier F, Boissel JP, Boutitie F, Pocock S, Coope J, Cutler J, i sur. Effect of antihypertensive treatment in patients having already suffered from stroke. Gathering the evidence. *Stroke*. 1997;28:2557–62.
177. Rashid P, Leonardi-Bee J, Bath P. Blood pressure reduction and secondary prevention of stroke and other vascular events: a systematic review. *Stroke*. 2003;34:2741–8.

178. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, *i sur*. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the interstroke study): A case-control study. *Lancet*.2010;376:112–123.
179. Grassi G, Quarti-Trevano F, Dell'oro R, Mancia G. Antihypertensive treatment and stroke prevention: from recent meta-analyses to the PROFESS trial. *Curr Hypertens Rep*. 2009;11:265–70.
180. D'Agostino RB, Wolf PA, Belanger AJ, Kannel WB. Stroke risk profile: adjustment for antihypertensive medication. The Framingham Study. *Stroke*. 1994;25:40–3.
181. Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, Butler J, Dracup K, Ezekowitz MD, *i sur*. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123:933–944.
182. Putaala J, Liebkind R, Gordin D, Thorn LM, Haapaniemi E, Forsblom C, *i sur*. Diabetes mellitus and ischemic stroke in the young: clinical features and long-term prognosis. *Neurology*. 2011;76:1831–1837.
183. United kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: Interim results. UK-TIA study group. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1988;296:316-320.
184. Bellolio MF, Gilmore RM, Ganti L. Insulin for glycaemic control in acute ischaemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;1:Cd005346.
185. Bots ML, Elwood PC, Nikitin Y, Salonen JT, Freire de Concalves A, Inzitari D, *i sur*. Total and HDL cholesterol and risk of stroke. EUROSTROKE: a collaborative study among research centres in Europe. *J Epidemiol Community Health*. 2002;56 Suppl 1:i19–i24.
186. Shahar E, Chambless LE, Rosamond WD, Boland LL, Ballantyne CM, McGovern PG, *i sur*; Atherosclerosis Risk in Communities Study. Plasma lipid profile and incident ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Stroke*. 2003;34:623–631.

187. Cholesterol, diastolic blood pressure, and stroke: 13,000 strokes in 450,000 people in 45 prospective cohorts. Prospective studies collaboration. *Lancet*. 1995;346:1647-1653.
188. Zhang X, Patel A, Horibe H, Wu Z, Barzi F, Rodgers A, i sur; Asia Pacific Cohort Studies Collaboration. Cholesterol, coronary heart disease, and stroke in the Asia Pacific region. *Int J Epidemiol*. 2003;32:563–572.
189. Kurth T, Everett BM, Buring JE, Kase CS, Ridker PM, Gaziano JM. Lipid levels and the risk of ischemic stroke in women. *Neurology*. 2007;68:556–562.
190. Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, i sur. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: A meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Lancet*. 2007;370:1829-1839.
191. Mathiesen E B, Joakimsen O, Bønaa K H. Prevalence of and risk factors associated with carotid artery stenosis: the Tromsø Study. *Cerebrovasc Dis*. 2001;12(1):44–51.
192. Sillesen H, Amarenco P, Hennerici MG, Callahan A, Goldstein LB, Zivin J, i sur. Atorvastatin reduces the risk of cardiovascular events in patients with carotid atherosclerosis: A secondary analysis of the stroke prevention by aggressive reduction in cholesterol levels (SPARCL) trial. *Stroke*. 2008;39:3297-3302.
193. Vouillarmet J, Helfre M, Maucort-Boulch D, Riche B, Thivolet C. Carotid atherosclerosis progression and cerebrovascular events in patients with diabetes. *J Diabetes Complications*. 2016;30:638-43.
194. Kitagami M, Yasuda R, Toma N, Shiba M, Nampei M, Yamamoto Y, i sur. Impact of hypertriglyceridemia on carotid stenosis progression under normal low-density lipoprotein cholesterol levels. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017;26:1793-800.
195. Asplund K, Karvanen J, Giampaoli S, Jousilahti P, Niemelä M, Broda G, i sur. Relative risks for stroke by age, sex, and population based on follow-up of 18 European populations in the MORGAM Project. *Stroke*. 2009;40:2319–2326.

196. Babiker MS. The Effects of Smoking on Carotid Artery Hemodynamics. *Journal of Diagnostic Medical Sonography*. 2016; 32(3) :149–152.
197. Collins R, Peto P, MacMahon S, Herbert P, Fiebach N, Eberlein K. Blood pressure, stroke and coronary heart disease. II Short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. *Lancet*. 1990; 335: 827-838.
198. Giannoukas AD, Sfyroeras GS, Griffin M, Saleptsis V, Antoniou GA, Nicolaidis AN. Association of plaque echostructure and cardiovascular risk factors with symptomatic carotid artery disease. *Vasa*. 2009;38:357-364
199. Ding S, Zhang M, Zhao Y, Chen W, Yao G, Zhang C, i sur. The role of carotid plaque vulnerability and inflammation in the pathogenesis of acute ischemic stroke. *Am J Med Sci*. 2008;336:27-31.
200. Van Lammeren GW, Reichmann BL, Moll FL, Bots ML, de Kleijn DP, de Vries JP, i sur. Atherosclerotic Plaque Vulnerability as an Explanation for the Increased Risk of Stroke in Elderly Undergoing Carotid Artery Stenting. *Stroke*. 2011; 42(9): 2550–2555.
201. Golledge J, Greenhalgh RM, Davies AH. The symptomatic carotid plaque. *Stroke*. 2000;31:774-781.
202. Hatsukami TS, Ferguson MS, Beach KW, Gordon D, Detmer P, Burns D, i sur. Carotid plaque morphology and clinical events. *Stroke*. 1997;28:95-100.
203. Jander S, Sitzer M, Schumann R, Schroeter M, Siebler M, Steinmetz H, i sur. Inflammation in high-grade carotid stenosis: A possible role for macrophages and t cells in plaque destabilization. *Stroke*. 1998;29:1625-1630.
204. Gasbarrino K, Mantzoros C, Gorgui J, Veinot JP, Lai C, Daskalopoulou SS. Circulating Chemerin Is Associated With Carotid Plaque Instability, Whereas Resistin Is Related to Cerebrovascular Symptomatology. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2016; 36(8) :1670–1678.

205. Demeure F, Bouzin C, Roelants V, Bol A, Verhelst R, Astarci P, i sur. Head-to-head comparison of inflammation and neovascularization in human carotid plaques implications for the imaging of vulnerable plaques. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2017;10(5):pii: e005846.
206. Mauriello A, Sangiorgi G, Virmani R, Servadei F, Trimarchi S, Holmes DR Jr, i sur. Evidence of a topographical link between unstable carotid plaques and luminal stenosis: can we better stratify asymptomatic patients with significant plaque burden? *Int J Cardiol*. 2012;155:309-11.
207. Howard DP, van Lammeren GW, Rothwell PM, Redgrave JN, Moll FL, de Vries JP, i sur. Symptomatic carotid atherosclerotic disease: correlations between plaque composition and ipsilateral stroke risk. *Stroke*. 2014;46(1):182-189.
208. Tabas I, Bornfeldt KE. Macrophage Phenotype and Function in Different Stages of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2016;118:653-67.
209. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S, Gordon S, i sur. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*. 2014;41:14-20.
210. Evans NR, Tarkin JM, Chowdhury MM, Warburton EA, Rudd JH. PET Imaging of Atherosclerotic Disease: Advancing Plaque Assessment from Anatomy to Pathophysiology. *Curr Atheroscler Rep*. 2016;18:30.
211. Kunte H, Amberger N, Busch MA, Rückert RI, Meiners S, Harms L. Markers of instability in high-risk carotid plaques are reduced by statins. *J Vasc Surg*. 2008;47:513-22.
212. Makris GC, Lavid A, Nicolaides AN, Geroulakos G. The effect of statins on carotid plaque morphology: a LDL-associated action or one more pleiotropic effect of statins? *Atherosclerosis*. 2010;213:8-20.
213. Verhoeven BA, Moll FL, Koekkoek JA, van der Wal AC, de Kleijn DP, de Vries JP, i sur. Statin treatment is not associated with consistent alterations in inflammatory status of carotid atherosclerotic plaques: a retrospective study in 378 patients undergoing carotid endarterectomy. *Stroke*. 2006;37:2054-60.

214. Park HK, Ahima RS. Resistin in rodents and humans. *Diabetes Metab J.* 2013; 37:404-14.
215. Xu W, Yu L, Zhou W, Luo M. Resistin increases lipid accumulation and CD36 expression in human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 351:376-82.
216. Kushiyama A, Sakoda H, Oue N, Okubo M, Nakatsu Y, Ono H, i sur. Resistin-Like Molecule Is Abundantly Expressed in Foam Cells and Is Involved in Atherosclerosis Development. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2016; 33(8):1986–1993.
217. Zhang H, Li X, He Z, Xu L, JinQ, Tan H. Resistin-Like Molecule alpha Enhances the Proliferation and Migration of Aortic Vascular Smooth Muscle Cells. *Cardiology.* 2013; 126(2), 91–95.
218. Sinan UY, Canbolat IP, Baydar O, Oktay V, Imre G, Kocas C, i sur. Relationship between increased serum resistin level and severity of coronary artery disease. *Angiology.* 2014;65:239–242.
219. Muse ED, Feldman DI, Blaha MJ, Dardari ZA, Blumenthal RS, Budoff MJ, i sur. The association of resistin with cardiovascular disease in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2015;239:101–108
220. Prugger C, Luc G, Haas B, Morange PE, Ferrieres J, Amouyel P, i sur. Multiple biomarkers for the prediction of ischemic stroke: the PRIME study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33:659–666.
221. Efstathiou SP, Tsiakou AG, Tsioulos DI, Panagiotou TN, Pefanis AV, Achimastos AD, i sur. Prognostic significance of plasma resistin levels in patients with atherothrombotic ischemic stroke. *Clin Chim Acta.* 2007;378:78–85.
222. He Y, Bai XY, Li FX, Fan LH, Ren J, Liang Q, i sur. Resistin may be an independent predictor of subclinical atherosclerosis formale smokers. *Biomarkers.* 2017; 22:3-4: 291-295.

223. Hsu BG, Lee CJ, Yang CF, Chen YC, Wang JH. High serum resistin levels are associated with peripheral artery disease in the hypertensive patients. *BMC cardiovascular disorders*. 2017; 17(1):80
224. Badoer E, Kosari S, Stebbing MJ. Resistin, an adipokine with non-generalized actions on sympathetic nerve activity. *Front Physiol*. 2015;6:321
225. Takata Y, Osawa H, Kurata M, Kurokawa M, Yamauchi J, Ochi M, i sur. Hyperresistinemia is associated with coexistence of hypertension and type 2 diabetes. *Hypertension*. 2008;51:534–539.
226. Papadopoulos DP, Makris TK, Krespi PG, Poulakou M, Stavroulakis G, Hatzizacharias AN, i sur. Adiponectin: insulin and resistin plasma levels in young healthy offspring of patients with essential hypertension. *Blood Press*. 2008;17:50–54.
227. Yamauchi D, Bovenkerk JE, Juliar BE, Watson W, Kerr K, Jones R, i sur. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:5452–5455.
228. Azuma K, Katsukawa F, Oguchi S, Murata M, Yamazaki H, Shimada A, i sur. Correlation between serum resistin level and adiposity in obese individuals. *Obes Res*. 2003;11:997–1001.
229. Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Estrada E, Seip R, i sur. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol*. 2003;Metab.88:4848–4856.
230. Amirhakimi A, Karamifar H, Moravej H, Amirhakimi G. Serum resistin level in obese male children. *J Obes*. 2011;2011:953410.
231. Norata GD, Ongari M, Garlaschelli K, Raselli S, Grigore L, Catapano AL. Plasma resistin levels correlate with determinants of the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2007;156:279–284

232. Owecki M, Nikisch E, Miczke A, Pupek-Musialik D, Sowinski J. Serum resistin is related to plasma HDL cholesterol and inversely correlated with LDL cholesterol in diabetic and obese humans. *Neuro Endocrinol Lett.* 2010;31:673–678.
233. Zhang H, Li X, Kan Y, Yang F, Hou Y, DU Y. Analysis of the correlation between serum resistin and the variability of erythropoietin responsiveness in patients with chronic kidney disease. *Exp Ther Med.* 2015;10(5):1925-1930.
234. Chen YG, Xu F, Zhang Y, Ji QS, Sun Y, Lu RJ, i sur. Effect of aspirin plus clopidogrel on inflammatory markers in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Chin Med J.* 2006;119:32–36.
235. Woodward M, Lowe GD, Francis LM, Rumley A, Cobbe SM; CADET Study Investigators. A randomized comparison of the effects of aspirin and clopidogrel on thrombotic risk factors and C-reactive protein following myocardial infarction: The CADET trial. *J Thromb Haemost.* 2004;11:1934–1940.
236. Ikonimidas I, Andreotti F, Economou E, Stefanadis C, Toutouzas P, Nihoyannopoulos P. Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. *Circulation.* 1999;100:793–798.
237. Backes JM, Howard PA, Moriarty PM. Role of C-reactive protein in cardiovascular disease. *Ann Pharmacother.* 2004;38: 110–118.
238. Prasad K. C-reactive protein (CRP)-lowering agents. *Cardiovasc Drug Rev.* 2006;24:33–50.
239. Kennon S, Price CP, Mills PG, Ranjadayalan K, Cooper J, Clarke H, i sur. The effect of aspirin on C-reactive protein as a marker of risk in unstable angina. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:1266–1270.
240. Feldman M, Jialal I, Devaraj S, Cryer B. Effects of low dose aspirin on serum C-reactive protein and thromboxane B2 concentrations: A placebo-controlled study using a highly sensitive C-reactive protein assay. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37: 2036–2041.

241. Feng D, Tracy RP, Lipinska I, Murillo J, McKenna C, Tofler GH. Effect of short-term aspirin use on C-reactive protein. *J Throm.* 2000;9:37–41.
242. Monakier D, Mates M, Klutstein MW, Balkin JA, Rudensky B, Meerkin D, et al. Rofecoxib, a COX-2 inhibitor lowers C-reactive protein and interleukin-6 levels in patients with acute coronary syndromes. *Chest.* 2004;125:1610–1615.
243. Takeda T, Hoshida S, Nishino M, Tanouchi J, Otsu K, Hori M. Relationship between effects of statins, aspirin and 5 α -reductase inhibitors on high sensitive C-reactive protein levels. *Atherosclerosis.* 2003;169:155–158.
244. De Luis DA, González Sagrado M, Conde R, Aller R, Izaola O. Resistin levels and inflammatory markers in patients with morbid obesity. *Nutr. Hosp.* 2010;25(4): 630-634.
245. Norata GD, Ongari M, Garlaschelli K, Raselli S, Grigore L, Catapano AL. Plasma resistin levels correlate with determinants of the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2007;156:279 –284.
246. Kunnari A, Ukkola O, Päivänsalo M, Kesäniemi YA. High serum resistin level is associated with enhanced highly sensitive C-reactive protein and leukocytes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91:2755-60.

11. KRATKA BIOGRAFIJA

Ivana Jurin, dr. med, rođena je 19.12.1981. godine u Zagrebu. U Zagrebu je 1996. godine završila osnovnu školu „Vrbani“, a 2000. godine maturirala je u Petoj gimnaziji. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2000. godine, a diplomirala je u srpnju 2006. godine. Obavezni pripravnički staž u trajanju od jedne godine obavila je u Dječjoj bolnici Srebrnjak, a državni ispit položila je u rujnu 2007. godine. Specijalizaciju iz interne medicine započela je 2007. godine u Kliničkoj bolnici Dubrava, a završila 2012. godine. Od tada je stalno zaposlena u Zavodu za kardiovaskularne bolesti Kliničke bolnice Dubrava, a subspecijalistički ispit iz kardiologije položila je 2017. godine. Akademske godine 2017/2018. završila je doktorski studij Biomedicina i zdravstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Aktivno je sudjelovala na više domaćih i međunarodnih stručnih sastanaka i kongresa. Autorica i koautorica je nekoliko radova objavljenih u CC-u te autorica i koautorica više desetaka kongresnih sažetaka.

Udana je i majka dvojice sinova, Viktora i Tome.