

Универзитет у Београду

Фармацеутски факултет

Ана Б. Ружановић

**Клинички значај биохемијских параметара
инфламације, ћелијске адхезије и
деградације екстраћелијског матрикса код
пацијената са болешћу каротидних
артерија**

Докторска дисертација

Београд, 2026.

University of Belgrade

Faculty of Pharmacy

Ana B. Ružanović

**Clinical significance of biochemical
parameters of inflammation, cell adhesion
and extracellular matrix degradation in
patients with carotid artery disease**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2026.

МЕНТОРИ:

др сц. Снежана Јовичић, доцент
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

др сц. Игор Кончар, доцент
Универзитет у Београду – Медицински факултет

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др сц. Неда Милинковић, доцент
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

др сц. Андреја Димић, доцент
Универзитет у Београду – Медицински факултет

др сц. Марија Сарић-Матутиновић, научни сарадник
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет

Датум одбране: _____

Велику захвалност изражавам проф. др Светлани Игњатовић, свом првобитном ментору, без чије идеје и иницијативе не би било ове дисертације.

Надам се да ће овај, као и сав мој будући рад оправдати препознавање и усмерење које сам од ње добила.

Захваљујем се и својим менторима, члановима комисије и свим колегама са Катедре за Медицинску биохемију који су ми пружали подршку током целог процеса.

Сажетак

Стеноза каротидних артерија (СКА) подразумева присуство атеросклеротске стенозе значајног степена која сужава лумен једне или више каротидних артерија. Ово стање је повезано са широким спектром симптома у вези са исхемијом и представља један од најчешћих узрочника исхемијског možданог удара, док такође може да остане и асимптоматско, без значајних клиничких последица по пацијента. Највећи изазов у менаџменту СКА управо представља предвиђање ризика од možданог удара за појединачне пацијенте, како је ово кључни корак у одлучивању о терапији болести. Имајући у виду атеросклеротску основу СКА и утицај системске инфламације на дестабилизацију плака, циљ ове студије био је да се испитају биохемијски параметри инфламације, и са њима повезани параметри ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА. У ту сврху су анализирани вредности испитиваних параметара код СКА у односу на значајне клиничке и ултразвучне карактеристике каротидне стенозе. Недавни симптоми, тежина стенозе и морфологија плака коришћени су као сурогат маркери ризика од будућег možданог удара. Анализирани су њихове асоцијације са испитиваним параметрима, као и дијагностичка тачност појединачних параметара и мултипараметарских модела за дискриминацију ових карактеристика, а све у циљу индиректне процене везе ових параметара са ризиком од možданог удара.

Истраживање је дизајнирано као опсервациона студија пресека. Овом студијом било је обухваћено 119 пацијената са хемодинамски значајном стенозом каротидне артерије (>50%), као и две контролне групе: 133 пацијената без значајне СКА, а са другим кардиоваскуларним обољењима (КВБ) и 46 здравих испитаника. Сви испитаници су регрутовани на Клиници за васкуларну и ендоваскуларну хирургију Универзитетског клиничког центра Србије. Пацијенти са СКА су били сматрани симптоматским уколико су у претходних 6 месеци доживели блажи možдани удар, транзиторни исхемијски напад или реверзибилни исхемијски неуролошки дефицит, а асимптоматским ако нису. Степен каротидне стенозе процењен је методом *color flow doppler* ултразвука, а морфологија каротидног плака помоћу *B-mode duplex* ултразвука. Одређивани су специфични нерутински параметри инфламације: пентраксин-3 (*PTX-3*), серум амилоид А (*SAA*), фактор некрозе тумора- α (*TNF- α*), интерлеукин-1 β (*IL-1 β*), интерлеукин-6 (*IL-6*), мијелопероксидаза (*MPO*), фосфолипаза А2 повезана са липопротеином (*Lp-PLA2*), лецитину сличан рецептор за оксидоване липопротеине ниске густине-1 (*LOX-1*), солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан урокинази (*suPAR*); параметри ћелијске адхезије: Васкуларни ћелијски адхезиони молекул-1 (*VCAM-1*), селектин-Е (*sel-E*), селектин-П (*sel-P*); и параметри деградације екстраћелијског матрикса: матриксна металопротеиназа-2 (*MMP-2*), матриксна металопротеиназа-7 (*MMP-7*), матриксна металопротеиназа-9 (*MMP-9*). Њихове концентрације измерене су употребом „сендвич“ имунохемијске методе са ензимском детекцијом (*ELISA*), помоћу комерцијално доступних китова.

У присуству СКА испитивани параметри су имали вредности упоредиве са онима у другим КВБ, а само неки од њих су имали различите вредности у односу на здраве испитанике (*TNF- α* , *IL-6*, *suPAR*, *sel-E*, *sel-P*, *MMP-7*). Недавни симптоми, степен стенозе и морфологија плака нису били у међусобној асоцијацији у овој студији, што је омогућило независно испитивање односа биохемијских параметара са овим карактеристикама. Најјачу асоцијацију са недавним симптомима показали су *SAA* и *MPO*. *SAA* је био виши код симптоматских у односу на асимптоматске пацијенте у укупној групи ($p=0,013$), као и у подгрупама са тешком стенозом ($p=0,037$) и са нестабилним плаком ($p=0,030$). *MPO* је показао значај за пацијенте са умереном стенозом, како је код њих био у асоцијацији са недавним симптомима ($p=0,013$). Најзначајнију асоцијацију са степеном стенозе показали су *LOX-1* и *PTX-3*. *LOX-1* је био

асоциран са вишим степеном стенозе независно од симптоматског статуса и морфологије плака ($p < 0,001$). *PTX-3* је показао асоцијацију са степеном стенозе код укупних пацијената ($p = 0,038$) и одвојено код пацијената са нестабилним плаком ($p = 0,029$). Испитивани параметри су највећу повезаност са морфологијом плака показали код умерене стенозе, где су *suPAR* и *sel-P* били виши ($p = 0,026$ и $p = 0,003$ редом), а *sel-E* нижи ($p = 0,022$) код пацијената са нестабилним плаковима. *MPO* је био виши код калцификованих плакова ($p = 0,004$), код стабилних у односу на нестабилне плакове у тешкој стенози ($p = 0,004$), као и код недавно симптоматских пацијената ($p = 0,012$). Значајну дијагностичку тачност за дискриминацију недавних симптома код укупних пацијената са СКА имали су *SAA* ($AUC = 0,64$; $p = 0,019$) и *CRP* ($AUC = 0,62$; $p = 0,049$). Модел који је укључивао ова два параметра је имао површину испод *ROC* криве од 0,68 ($p = 0,004$). За исту дискриминацију били су значајни и модел без лабораторијских параметара који је укључивао стабилност плака и индекс телесне масе и имао површину испод криве од 0,66 ($p = 0,006$), као и комбиновани модел од наведених лабораторијских и не-лабораторијских параметара који је имао површину испод криве од 0,72 ($p < 0,001$). Независни предиктори у комбинованом моделу су били *SAA* ($OR = 2,6$; 95% $CI = 1,04-6,39$, $p = 0,041$) и стабилност плака ($OR = 2,5$; 95% $CI = 1,03-6,16$, $p = 0,043$). Значајан допринос лабораторијских параметара класификацији ризика и дискриминаторној моћи комбинованог модела показан је кроз вредности нето унапређења рекласификацијом (*NRI*), $NRI = 29\%$, и интегрисаног унапређења дискриминације (*IDI*), $IDI = 8\%$, док не-лабораторијски параметри нису имали овакав допринос. Значајну дијагностичку тачност за дискриминацију недавних симптома у групи са умереном стенозом имао је *MPO* ($AUC = 0,77$; $p = 0,017$). Модел који је укључивао *SAA* и *MPO* је имао површину испод *ROC* криве од 0,83 ($p = 0,004$). За исту дискриминацију био је значајан и комбиновани модел од наведених лабораторијских и не-лабораторијских параметара (степен стенозе и хроничне болести бубрега) који је имао површину испод криве од 0,88 ($p < 0,001$). Независни предиктор у комбинованом моделу је био једино *MPO* ($OR = 10,9$; 95% $CI = 1,21-144,5$, $p = 0,044$). Комбиновани модел је имао значајно већу површину испод криве од модела без лабораторијских параметара ($p = 0,046$). Значајан допринос лабораторијских параметара дискриминаторној моћи комбинованог модела показан је кроз вредности *IDI* = 20%, док не-лабораторијски параметри нису имали овакав допринос. Значајну дијагностичку тачност за дискриминацију пацијената са нестабилним плаком у групи са умереном стенозом су имали *sel-P* ($AUC = 0,76$; $p = 0,016$) и *sel-E* ($AUC = 0,75$; $p = 0,022$). Модел који је укључивао *suPAR* и *sel-P* је имао површину испод *ROC* криве од 0,84 ($p = 0,002$). За исту дискриминацију били су значајни модел без лабораторијских параметара који је укључивао пол и хиперлипидемију и имао површину испод криве од 0,73 ($p = 0,031$), као и комбиновани модел од наведених лабораторијских и нелабораторијских параметара који је имао површину испод криве од 0,90 ($p < 0,001$). Независни предиктори у комбинованом моделу су били *suPAR* ($OR = 13,6$; 95% $CI = 1,11-166,74$, $p = 0,041$) и *sel-P* ($OR = 58,5$; 95% $CI = 1,99-1720,25$, $p = 0,018$). Комбиновани модел је имао значајно већу површину испод криве од модела без лабораторијских параметара ($p = 0,041$). Значајан допринос лабораторијских параметара класификацији ризика и дискриминаторној моћи комбинованог модела показан је кроз вредности $NRI = 41\%$ и $IDI = 32\%$, док не-лабораторијски параметри нису имали овакав допринос.

Испитивани параметри инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса показују значајну асоцијацију са важним маркерима ризика од можданог удара код пацијената са СКА попут недавних симптома, тежине стенозе и нестабилности плака. Посебан потенцијал за даље испитивање у том контексту показали су *SAA*, *PTX-3*, *MPO*, *LOX-1*, *suPAR* и *sel-P*. Утврђене асоцијације указују на потенцијалну предиктивну вредност ових параметара у будућим проспективним истраживањима. Додатно, резултати овог истраживања истичу значај одвојене анализе подгрупа пацијената са СКА, а посебно пацијената са умереном стенозом код којих је системска инфламација у још јачој асоцијацији са недавним симптомима и нестабилношћу плака него код укупних пацијената.

Кључне речи: стеноза каротидних артерија; каротидна атеросклероза; симптоматски статус; тежина стенозе; стабилност плака; инфламаторни параметри, параметри ћелијске адхезије; параметри деградације екстраћелијског матрикса.

Научна област: Фармацеутске науке

Ужа научна област: Медицинска биохемија

Abstract

Carotid artery stenosis (CAS) is defined by the presence of significant atherosclerotic stenosis that results in narrowing of the lumen of one or more carotid arteries. This condition is related to a wide spectrum of ischemia-related symptoms and represents one of the most common causes of ischemic stroke, while it can also remain asymptomatic, without significant clinical consequences for the patient. The greatest challenge in the management of CAS lies in predicting the risk of stroke for individual patients, as this is the crucial step in therapeutic decision-making. Given the atherosclerotic nature of CAS and the impact of systemic inflammation on plaque destabilisation, this study aimed to investigate biochemical parameters of inflammation, as well as related parameters of cell adhesion and extracellular matrix degradation in patients with CAS. For that purpose, the values of investigated parameters in CAS were analysed with respect to the presence of the disease, demographic and risk factors, as well as in regard to the significant clinical and ultrasound characteristics of carotid stenosis. Recent symptoms, stenosis severity, and plaque morphology were used as surrogate markers of future stroke risk. Their associations with the investigated parameters were analysed, as well as the diagnostic accuracy of individual parameters and multiparametric models for the discrimination of these characteristics, all aiming to indirectly assess the relation of these parameters to the risk of stroke.

The study was designed as an observational cross-sectional study. The study population comprised 119 patients with hemodynamically significant carotid artery stenosis (>50%), as well as two control groups: 133 patients without significant CAS but with other cardiovascular conditions (CVDs), and 46 healthy subjects. All the subjects were recruited at the Clinic for Vascular and Endovascular surgery, University Clinical Center of Serbia. CAS patients were considered symptomatic if they had experienced a mild stroke, transitory ischemic attack, or reversible ischemic neurological deficit within the preceding 6 months, and asymptomatic otherwise. The degree of carotid stenosis was assessed using color flow Doppler ultrasound, and the plaque morphology was evaluated by B-mode duplex ultrasound. The specific non-routine parameters of inflammation: Pentraxin-3 (PTX-3), serum amyloid A (SAA), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), myeloperoxidase (MPO), lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2), lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1), soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR); cell adhesion: vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), selectin-E (sel-E), selectin-P (sel-P); and extracellular matrix degradation: matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), matrix metalloproteinase-7 (MMP-7), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) were assessed. Their concentration was measured by „sandwich“ enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) using commercially available kits.

The values of investigated parameters were comparable in CAS and other CVDs, while only a limited number showed difference compared with healthy subjects (TNF- α , IL-6, suPAR, sel-E, sel-P, MMP-7). Recent symptoms, stenosis degree, and plaque morphology were not mutually associated in this study, which allowed independent assessment of the relation of biochemical parameters to these characteristics. The strongest associations with recent symptoms were observed for SAA and MPO. SAA was higher in symptomatic compared to asymptomatic patients in overall CAS group ($p=0,013$), as well as in the subgroups of CAS patients with severe stenosis ($p=0,037$) and unstable plaque ($p=0,030$). MPO was significant for the patients with moderate stenosis, as it was associated with recent symptoms in this group ($p=0,013$). The most significant association with stenosis degree was shown for LOX-1 and PTX-3. LOX-1 was associated with higher degree of stenosis irrespective of symptomatic status and plaque morphology ($p<0,001$). PTX-3 showed association with stenosis degree in overall CAS patients ($p=0,038$) as well as in the subgroup of patients with unstable plaque ($p=0,029$). Investigated parameters showed the most relation to the plaque morphology in moderate stenosis, in which the levels of suPAR and sel-P were higher

($p=0,026$ and $p=0,003$), and sel-E lower ($p=0,022$) in patients with unstable plaques. MPO was higher in calcified plaques ($p=0,004$), in stable compared to unstable plaques in the subgroup with severe stenosis ($p=0,004$), as well as in the subgroup of recently symptomatic patients ($p=0,012$). SAA and CRP had significant diagnostic accuracy for discrimination of recent symptoms in overall CAS patients (AUC=0,64; $p=0,019$ and AUC=0,62; $p=0,049$). Model that included these two parameters had the area under the ROC curve (AUC) of 0,68 ($p=0,004$). For the same outcome, a model without laboratory parameters that included only plaque stability and body mass index was also significant with the AUC of 0,66 ($p=0,006$), as well as a model combined of the given laboratory and non-laboratory parameters that had the AUC of 0,72 ($p<0,001$). In the combined model, SAA (OR=2,6; 95% CI=1,04–6,39, $p=0,041$) and plaque stability (OR=2,5; 95% CI=1,03–6,16, $p=0,043$) were independent predictors. Significant contribution of laboratory parameters to risk classification and discriminatory power of the combined model were demonstrated by net reclassification improvement (NRI), NRI=29% and integrated discrimination improvement (IDI), IDI=8%, while non-laboratory parameters didn't provide such contribution. MPO had significant diagnostic accuracy for discrimination of recent symptoms in moderate stenosis (AUC=0,77; $p=0,017$). Model that included SAA and MPO had the AUC of 0,83 ($p=0,004$). For the same outcome, a model combined of the given laboratory parameters and non-laboratory parameters (stenosis degree and chronic kidney disease) that had the AUC of 0,88 ($p<0,001$) was also significant. In this model only MPO (OR=10,9; 95% CI=1,21–144,5, $p=0,044$) was independent predictor. The combined model had significantly greater AUC compared to the model without laboratory parameters ($p=0,046$). Significant contribution of laboratory parameters to discriminatory power of the combined model was demonstrated by IDI=20%, while non-laboratory parameters didn't provide such contribution. sel-P and sel-E had significant diagnostic accuracy for discrimination of unstable plaque in moderate stenosis (AUC=0,76; $p=0,016$ and AUC=0,75; $p=0,022$). Model that included suPAR and sel-P had the AUC of 0,84 ($p=0,002$). For the same outcome, a model without laboratory parameters that included only gender and hyperlipidemia was also significant with the AUC of 0,73 ($p=0,031$), as well as a model combined of the given laboratory and non-laboratory parameters that had the AUC of 0,90 ($p<0,001$). In the combined model, suPAR (OR=13,6; 95% CI=1,11–166,74, $p=0,041$) and sel-P (OR=58,5; 95% CI=1,99–1720,25, $p=0,018$) were independent predictors. The combined model had significantly greater AUC compared to the model without laboratory parameters ($p=0,041$). Significant contribution of laboratory parameters to risk classification and discriminatory power of the combined model was demonstrated by NRI=41% and IDI=32%, while non-laboratory parameters didn't provide such contribution.

Investigated parameters of inflammation, cell adhesion and extracellular matrix degradation show significant association with important markers of stroke risk in CAS patients including recent symptoms, stenosis severity, and plaque instability. Among these, SAA, PTX-3, MPO, LOX-1, suPAR and sel-P demonstrated particular potential for further research in this context. The observed associations suggest potential predictive value of these parameters in future prospective studies. In addition, the results of this study highlight the significance of separate subgroup analysis in CAS patients, particularly those with moderate stenosis in which the systemic inflammation shows an even stronger association with recent symptoms and unstable plaque than in the overall patients.

Key words: carotid artery stenosis; carotid atherosclerosis; symptomatic status; stenosis severity; plaque stability; inflammatory parameters; cell adhesion parameters; extracellular matrix degradation parameters.

Scientific field: Pharmaceutical sciences

Scientific subfield: Medical biochemistry

Листа скраћеница

Ћириличне скраћенице:

АСКА	Асимптоматска стеноза каротидне артерије
ДМ	Дијабетес мелитус
ДУС	Дуплекс ултрасонографија
ИТМ	Индекс телесне масе
КАЕ	Каротидна ендартеректомија
КАС	Каротидна ангиопластика
КВБ	Кардиоваскуларне болести
КТА	Компјутерско-томографска ангиографија
МРА	Магнетно-резонантна ангиографија
РИНД	Реверзibilни исхемијски неуролошки дефицит
СЗО	Светска здравствена организација
СКА	Стеноза каротидних артерија
ССКА	Симптоматска стеноза каротидне артерије
ТИН	Транзиторни исхемијски напад
ХББ	Хроничне болести бубрега

Латиничне скраћенице:

ACSRs	Студија асимптоматске каротидне стенозе и ризика од можданог удара	енг. <i>Asymptomatic Carotid Stenosis and Risk of Stroke</i>
ACST	Студија операције асимптоматске каротиде	енг. <i>Asymptomatic Carotid Surgery Trial</i>
AGE	Крајњи производи унапредовале гликације	енг. <i>Advanced glycation end products</i>
AHA	Америчко удружење за срце	енг. <i>American Heart Association</i>
ARIC	Студија ризика од атеросклерозе у заједницама	енг. <i>Atherosclerosis Risk in Communities</i>
BMT	Најбоља медикаментозна терапија	енг. <i>Best medical therapy</i>
CANTOS	Студија исхода тромбозе под антиинфламаторним третманом канакинумабом	енг. <i>Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study</i>
CI	Интервал поузданости	енг. <i>Confidence interval</i>
cIMT	Дебљина каротидне интима медије	енг. <i>Carotid intima media thickness</i>
CREST	Студија ревакуларизације каротидне артерије: ендартеректомија у поређењу са стентирањем	енг. <i>The Carotid Revascularization Endarterectomy Versus Stenting Trial</i>
CRP	Ц-реактивни протеин	енг. <i>C-reactive protein</i>
DWI MR	Дифузионо-пондерисана магнетна резонанца	енг. <i>Diffusion-weighted imaging magnetic resonance</i>
ECST	Европска студија каротидне операције	енг. <i>The European Carotid Surgery Trial</i>
eNOS	Ендотелна азот-моноксид синтаза	енг. <i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
ESC	Европско друштво за кардиологију	енг. <i>European Society of Cardiology</i>
ESL-1	Е-селектин лиганд-1	енг. <i>E-selectin ligand-1</i>
ESVS	Европско удружење васкуларне хирургије	енг. <i>European Society of Vascular Surgery</i>

FGF2	Фибробластни фактор раста 2	енг. <i>Fibroblast growth factor 2</i>
HDL	Липопротеинске честице високе густине	енг. <i>High density lipoprotein</i>
IDI	Интегрисано унапређење дискриминације	енг. <i>Integrated discrimination improvement</i>
IFN-γ	Интерферон- γ	енг. <i>Interferon-γ</i>
IL-10	Интерлеукин-10	енг. <i>Interleukin-10</i>
IL-1β	Интерлеукин-1 β	енг. <i>Interleukin-1β</i>
IL-6	Интерлеукин-6	енг. <i>Interleukin-6</i>
iNOS	Индуцибилна азот-моноксид синтаза	енг. <i>Inducible nitric oxide synthase</i>
JUPITER	Интервенциона студија о оправданости примене статина у превенцији: процена ефекта розувастатина	енг. <i>Justification for the Use of Statin in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin</i>
LAA	Атеросклероза великих артерија	енг. <i>Large artery atherosclerosis</i>
LDL	Липопротеинске честице ниске густине	енг. <i>Low density lipoprotein</i>
LIF	Инхибиторни фактор леукемије	енг. <i>Leukemia inhibitory factor</i>
LIPID	Студија дугорочне интервенције правастатином у исхемијској болести	енг. <i>Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease</i>
LOX-1	Лецитину сличан рецептор за оксидовани <i>LDL</i>	енг. <i>Lecitine-like oxidized LDL receptor</i>
Lp-PLA2	Фосфолипаза А2 повезана са аполипопротеином	енг. <i>Lipoprotein-associated phospholipase A2</i>
MCP-1	Моноцитни хемоатрактантни протеин-1	енг. <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MMP-2	Матриксна металопроотеиназа-2	енг. <i>Matrix metalloproteinase-2</i>
MMP-7	Матриксна металопроотеиназа-7	енг. <i>Matrix metalloproteinase-7</i>
MMP-9	Матриксна металопроотеиназа-9	енг. <i>Matrix metalloproteinase-9</i>
MPO	Мијелопероксидаза	енг. <i>Myeloperoxidase,</i>

NASCET	Северно америчка студија симптоматске каротидне ендартеректомије	енг. <i>The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial</i>
NK	Њелије природне убице	енг. <i>Natural killer</i>
NRI	Нето унапређење рекласификацијом	енг. <i>Net reclassification improvement</i>
OR	Однос шанси	енг. <i>Odds ratio</i>
PAR1	Протеиназом активиран рецептор 1	енг. <i>Proteinase-activated receptor 1</i>
PSGL-1	П-селектин гликопротеински лиганд-1	енг. <i>P-selectin glycoprotein ligand-1</i>
PTX-3	Пентраксин-3	енг. <i>Pentraxin-3</i>
ROC	ROC анализа, ROC крива	енг. <i>Receiver operating characteristic</i>
SAA	Серумски амилоид А	енг. <i>Serum amyloid A</i>
SAPPHIRE	Студија стентирања и ангиопластике са заштитом код пацијената са високим ризиком за ендартеректомију	енг. <i>The Stenting and Angioplasty with Protection in Patients at High Risk for Endarterectomy</i>
SCORE	Систематична евалуација коронарног ризика	енг. <i>Systematic Coronary Risk Evaluation</i>
Sel-E	Селектин-Е	енг. <i>Selectin-E</i>
Sel-P	Селектин-П	енг. <i>Selectin-P</i>
SRU	Друштво радиолога за ултразвук	енг. <i>Society of Radiologists in Ultrasound</i>
suPAR	Солубилне рецептор за активатор плазминогена сличан урокинази	енг. <i>Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor</i>
TGF-β	Трансформишући фактор раста- β	енг. <i>Transforming growth factor-β</i>
TIMPs	Ткивни инхибитори матриксних металопроотеиназа	енг. <i>Tissue inhibitors of metalloproteinases</i>
TIMP-2	Ткивни инхибитор матриксних металопроотеиназа-2	енг. <i>Tissue inhibitor of metalloproteinases-2</i>

<i>TLR</i>	Толу сличан рецептор	енг. <i>Toll-like receptor</i>
<i>TNF-α</i>	Фактор некрозе тумора алфа	енг. <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
<i>TNFR1</i>	<i>TNF-α</i> рецептор типа 1	енг. <i>TNF-α receptor 1</i>
<i>TNFR2</i>	<i>TNF-α</i> рецептор типа 2	енг. <i>TNF-α receptor 2</i>
<i>TOAST</i>	Студија лечења акутног мозданог удара <i>ORG 10172</i>	енг. <i>The Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment</i>
<i>uPAR</i>	Рецептор за активатор плазминогена сличан урокинази	енг. <i>Urokinase-type plasminogen activator receptor</i>
<i>VA-HIT</i>	Студија интервенције на <i>HDL</i> код ветерана	енг. <i>The Veterans Affairs HDL Intervention Trial</i>
<i>VCAM-1</i>	Васкуларни ћелијски адхециони молекул-1	енг. <i>Vascular cell adhesion molecule-1</i>
<i>WOSCOPS</i>	Студија превенције коронарне болести у западном делу Шкотске	енг. <i>The West of Scotland Coronary Prevention Study</i>
<i>ZEUS</i>	Студија о кардиоваскуларним исходима са зилтивекимабом	енг. <i>Zlitivekimab Cardiovascular Outcomes Study</i>

Садржај

1. Увод.....	1
1.1. Појам и значај стенозе каротидних артерија.....	1
1.2. Епидемиологија стенозе каротидних артерија.....	3
1.3. Фактори ризика за стенозу каротидних артерија.....	4
1.3.1. Утицај старости.....	4
1.3.2. Утицај пола.....	5
1.3.3. Утицај хипертензије.....	6
1.3.4. Утицај пушења.....	7
1.3.5. Утицај неповољног липидног профила.....	8
1.3.6. Утицај дијабетеса мелитуса.....	8
1.3.7. Утицај хроничне бубрежне болести.....	9
1.4. Симптоми и манифестације стенозе каротидних артерија.....	9
1.4.1. Акутни мождани удар.....	9
1.4.2. Транзиторни исхемијски напад.....	11
1.4.3. Офталмолошки симптоми.....	11
1.4.4. Когнитивни симптоми.....	12
1.5. Значајни клинички и ултразвучни параметри стенозе каротидних артерија.....	12
1.5.1. Симптоматски статус.....	12
1.5.2. Тежина стенозе.....	13
1.5.3. Стабилност плака.....	14
1.6. Дијагностика стенозе каротидних артерија.....	16
1.7. Скрининг за асимптоматску стенозу каротидних артерија.....	17
1.8. Терапијски приступи за стенозу каротидних артерија.....	17
1.8.1. Фармаколошка терапија стенозе каротидних артерија.....	18
1.8.2. Хируршка терапија стенозе каротидних артерија.....	21
1.9. Потенцијал серумских биомаркера у стенози каротидних артерија.....	24
1.9.1. Реактанти акутне фазе.....	25
1.9.2. Цитокини.....	30
1.9.3. Ензими.....	34
1.9.4. Рецептори.....	37
1.9.5. Адхезивни молекули.....	40
1.9.6. Матриксне металопротеиназе.....	44
2. Циљеви научног истраживања.....	49

3. Материјал и методе.....	50
3.1. Материјал.....	50
3.2. Методе.....	51
3.2.1. Ултразвучно испитивање каротидних артерија.....	51
3.2.2. Лабораторијска анализа серумских параметара.....	54
3.3. Статистичка анализа података.....	59
4. Резултати.....	62
4.1. Анализа концентрације испитиваних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у серуму пацијената са СКА, пацијената са другим КВБ и здравих испитаника.....	62
4.2. Испитивање демографских карактеристика и фактора ризика, присуства коморбидитета и заступљености употребе терапије код испитаника, као и повезаности ових фактора са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса.....	71
4.2.1. Испитивање демографских карактеристика и фактора ризика код испитаника, као и њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса.....	71
4.2.2. Испитивање заступљености кардиоваскуларних коморбидитета код пацијената са СКА, као и њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА.....	77
4.2.3. Испитивање заступљености употребе терапије у различитим групама испитаника, као и њене повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА.....	79
4.3. Анализа клиничких и ултразвучних параметара пацијената са болешћу каротидне артерије и утврђивање њихове везе са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса.....	81
4.3.1. Испитивање ултразвучних карактеристика каротидног плака и вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на симптомаски статус пацијената са СКА.....	81
4.3.2. Испитивање морфолошких карактеристика плака и вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на тежину стенозе каротидне артерије.....	92
4.3.3. Испитивање вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на ултразвучну карактеризацију морфологије плака пацијената са стенозом каротидне артерије.....	96
4.4. Испитивање дијагностичке тачности анализираних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса за детекцију значајних клиничких индикатора ризика код различитих група пацијената са СКА.....	101

4.5. Формулација модела за предвиђање вероватноће присуства недавних симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА и испитивање њихове дијагностичке тачности.....	107
4.5.1. Формулација модела за предвиђање вероватноће присуства симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА	107
4.5.2. Испитивање дијагностичке тачности модела за предвиђање вероватноће појаве симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА	113
4.6. Одређивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА и испитивање њихове повезаности са анализираним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса, као и са значајним клиничким и ултразвучним карактеристикама СКА	117
4.6.1. Испитивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА.....	117
4.6.2. Анализа повезаности рутинских лабораторијских параметара са испитиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА	122
4.6.3. Анализа повезаности рутинских лабораторијских параметара са значајним клиничким и ултразвучним карактеристикама СКА	128
5. Дискусија	143
5.1. Анализа концентрације испитиваних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса и њихових корелација у различитим групама испитаника	145
5.2. Испитивање демографских карактеристика и фактора ризика, присуства коморбидитета и заступљености употребе терапије код испитаника, као и повезаности ових фактора са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса	150
5.2.1. Испитивање демографских карактеристика и фактора ризика код испитаника, као и њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса	151
5.2.2. Испитивање заступљености кардиоваскуларних коморбидитета као и њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА	153
5.2.3. Испитивање заступљености употребе терапије у различитим групама испитаника, као и њене повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА.....	154
5.3. Анализа клиничких и ултразвучних параметара пацијената са болешћу каротидне артерије и утврђивање њихове везе са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса	155
5.3.1. Испитивање вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на симптоматски статус пацијената са стенозом каротидне артерије	156

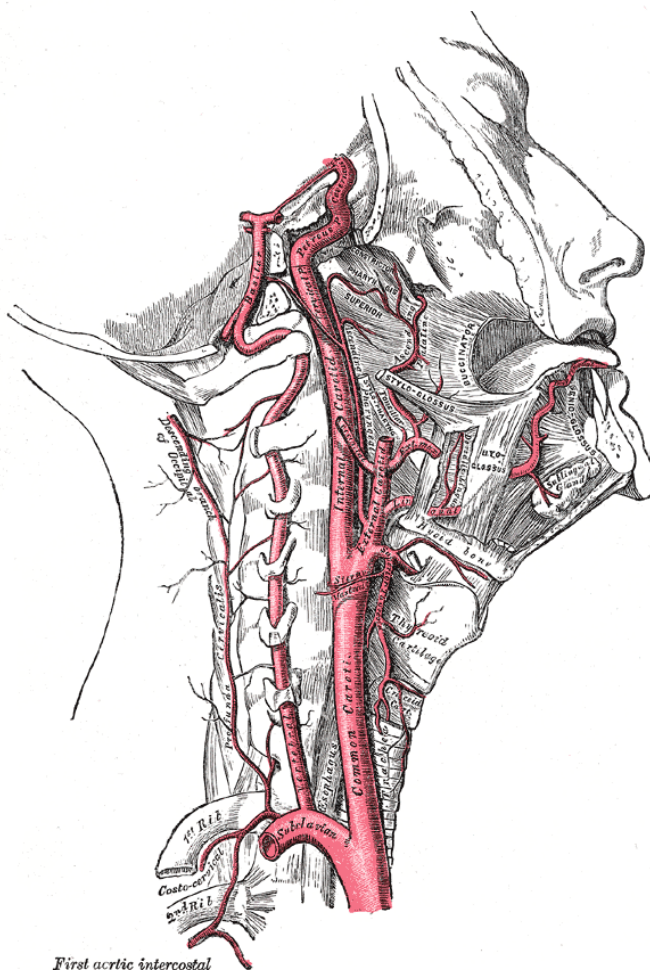
5.3.2. Испитивање вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на тежину стенозе каротидне артерије	160
5.3.3. Испитивање вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на ултразвучну карактеристизацију морфологије плака пацијената са стенозом каротидне артерије	165
5.4. Испитивање дијагностичке тачности анализираних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса за детекцију значајних клиничких индикатора ризика код различитих група пацијената са СКА	169
5.5. Формулација модела за предвиђање вероватноће присуства симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА и испитивање и поређење њихове дијагностичке тачности.....	171
5.5.1. Формулација модела за предвиђање вероватноће присуства симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА	172
5.5.2. Испитивање дијагностичке тачности модела за предвиђање вероватноће појаве симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА и њихово поређење .	176
5.6. Одређивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА и испитивање њихове повезаности са анализираним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса, као и са значајним клиничким и ултразвучним карактеристикама СКА	179
5.6.1. Испитивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА.....	180
5.6.2. Анализа повезаности рутинских лабораторијских параметара са испитиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА	181
5.6.3. Анализа повезаности рутинских лабораторијских параметара са значајним клиничким и ултразвучним карактеристикама СКА	187
5.7. Снага и ограничења истраживања	195
6. Закључци.....	196
7. Литература	199

1. Увод

1.1. Појам и значај стенозе каротидних артерија

Болест каротидних артерија најчешће се односи на атеросклеротичну стенозу локализовану у каротидним артеријама, што представља значајан фактор ризика за развој исхемијског мозданог удара. За означавање овог облика болести често се користи термин стеноза каротидних артерија (СКА) (1, 2).

Каротидне артерије су парне артерије које носе оксигенисану крв из аорте ка врату, лицу и мозгу. Обе почињу као заједничке каротидне артерије, лева директно из лука аорте, а десна преко брахиоцефаличне артерије, а затим се свака од њих у висини трећег до четвртог цервикалног пршљена грана на спољашњу и унутрашњу каротидну артерију. Спољашње каротиде се гранају на више артерија које исхрађују врат и лице, а унутрашње каротиде оксигенисаном крвљу снабдевају орбиту, хипофизу, и велики део фронталног, паријеталног и темпоралног режња обе хемисфере кортекса укључујући се у Вилисов круг (3). Анатомски положај ових артерија је приказан на Слици 1.



Henry Vandyke Carter, Public domain, via Wikimedia Commons

Слика 1. Анатомски положај каротидних артерија и њихових грана

Каротидне артерије су предиспониране за развој атеросклерозе услед своје величине и близине аорте што све условљава велику брзину протока, као и услед рачвања које условљава турбулентан проток крви (4). Штавише, сама структура зида каротидних артерија додатно подржава настанак мање стабилних плакова, како је она више еластична а мање мишићна у односу на друге велике артерије попут коронарне и феморалне. Ово све утиче на ранији развој лезија пенестих ћелија и плакова са већим липидним језгром, уместо стабилованих, фиброзовних плакова (5).

Специфичне манифестације стенозе заједничке, унутрашње или спољашње каротидне артерије зависе од саме локализације стенозовних промена. У складу са тим, највећи ризик од можданог удара потиче од стенозе заједничке и унутрашње каротидне артерије, па је она у фокусу већине студија које се баве СКА, док се у њеном одсуству стеноза спољашње каротиде ретко разматра као клинички значајна, иако се и она рутински испитује у оквиру ултразвучног прегледа каротидних артерија (6, 7).

Када је присутна значајна стеноза унутрашње каротиде, тада је важност утврђивања степена стенозе заједничке и спољашње каротиде у томе што се оне као додатни фактори повезују са повећаним ризиком од симптома. Такође, спољашња каротидна артерија је и битна колатерала за офталмичну и церебралну артерију које су гране унутрашње каротиде, па се у присуству оклузије обе унутрашње, понекад разматра и реваскуларизација спољашње каротидне артерије (7, 8).

Узимајући у обзир сам природни ток атеросклерозе и подложност каротидних артерија том процесу, њихова стеноза се сматра нормалном манифестацијом старења васкуларног система која углавном не носи са собом повећани ризик од можданог удара и не сматра се патолошком (9). Из овог разлога, да би се могло говорити о СКА, неопходно је дефинисати који степен СКА се сматра клинички значајним. Иако по овом питању и даље не постоји апсолутни консензус, најшире је прихваћена стратификација стенозе унутрашње каротидне артерије од стране Друштва радиолога у ултразвуку (*eng. Society of Radiologists in Ultrasound, SRU*) из 2002. где се нормалним степеном стенозе унутрашње каротидне артерије сматра <50%, док сваки већи степен захтева медицинску пажњу и праћење или терапијско деловање (10).

Узимајући у обзир све наведено, СКА може уже да се дефинише као присуство атеросклеротичне стенозе унутрашње каротидне артерије степена $\geq 50\%$ које је у вези са ризиком од настанка симптома, а пре свега можданог удара (1).

У Србији, последњи подаци Министарства здравља из 2003. указали су да је мождани удар био узрок 12% од укупног броја смртних исхода код мушкараца и 18% код жена, при чему је код жена мождани удар био први најчешћи узрок смрти (1). На нивоу Европе се процењује да је мождани удар одговоран за око 1,1 милион смртних случајева годишње што га ставља на друго место најчешћих узрока смрти, док се годишњи трошкови здравственог система који настају као директне или индиректне последице можданог удара процењују на 45 милијарди евра (11).

Учешће СКА као узрока исхемијског можданог удара се према различитим студијама процењује на 10–20%, што СКА чини једним од најзначајнијих фактора ризика од можданог удара, и подвлачи важност адекватног праћења и терапије ових пацијената са циљем првенствено превенције можданог удара (12, 13).

1.2. Епидемиологија стенозе каротидних артерија

Преваленца СКА условљена је пре свега заступљеношћу фактора ризика који зависе од социјалних аспеката, али је условљена и индивидуалним факторима као што су генетска предиспозиција, раса и пол. Најмања је у афричким и источномедитеранским државама, док је највећа у државама западног Пацифика. Регион европских држава, међу које спада и Србија према подели коју је усвојила Светска здравствена организација (СЗО), налази се на трећем месту од шест региона. Према проценама из 2015. године, око 176,3 милиона људи у Европи има повећану дебљину каротидне интима медије (енг. *Carotid intima media thickness, cIMT*), док је процењено да 137,6 милиона има каротидни плак (14).

Не постоји велики број опсежних студија о епидемиологији СКА, а најскорија је мета-анализа *Song*-а и сарадника из 2020. која је на глобалном нивоу процењивала преваленцу СКА према категоријама старости и према полу. По њеним подацима, ипсилатералну СКА већу од 50% у општој популацији на светском нивоу има 1,8% мушкараца и 1,2% жена између 30 и 79 година. Најнижа преваленца је у популацији старости 30–34 година, где она износи 0,5% за мушкарце и 0,3% за жене, а највиша преваленца је присутна у популацији старости 75–79 година, где она износи 6,9% за мушкарце и 4,3% за жене (14).

СКА је атеросклеротска болест, која се као таква одликује хроничним прогресивним током, због чега је при истраживању њене епидемиологије подједнако значајно испитати и епидемиологију стања која јој претходе, како она представљају значајан фактор ризика за њен настанак. У овом контексту, иста студија је испитивала и преваленцу присуства каротидног плака (дефинисаног као фокална дебљина каротидне интима медије од 1.5 mm или више), као и преваленцу повећане *cIMT*, која представља најранији стадијум атеросклеротске болести каротида и дефинише се као дебљина каротидне интима медије од 1.0–1.5 mm (15).

Преваленца ових стања каротидне артерије се смањује са њиховом тежином, како повећана *cIMT* не прогредира увек у каротидни плак, као што ни каротидни плак не прогредира увек у СКА (16). Такође, она се значајно повећава са годинама и виша је у мушкој популацији. Тако је процењено да 25% мушкараца и 17% жена светске популације старости 30–79 година има присутан каротидни плак, при чему је он присутан код 7,5% мушкараца и 4,1% жена старости 30–35 година, и чак 69% мушкараца и 54% жена старости 75–79 година (14).

Процент опште популације са повећаном *cIMT* је највећи, и он износи 32% за мушкарце и 23% за жене. Овај проценат је најмањи у групи старости 30–35 година, где износи 12% и 7% за мушкарце и жене, док у популацији старости 75–79 година, 75% мушкараца и 63% жена има повећану *cIMT* (14).

Дакле, СКА нема високу преваленцу у општој популацији, али ова информација не значи да она представља низак ризик по светско здравље, како треба узети у обзир и да њена заступљеност код старијих од 70 година јесте значајна, као и да је преваленца блажих атеросклеротских промена на каротидама које представљају ризик за развој СКА, али и других кардиоваскуларних болести (КВБ), такође прилично значајна. Оно што је посебно вредно пажње у контексту значајног терета од ове болести за светски здравствени систем је чињеница да се бележи пораст преваленце како повећане *cIMT* и каротидног плака, тако и СКА. Према резултатима поменуте мета-анализе, између 2000. и 2020. године овај пораст преваленце је забележен у свим старосним категоријама и код оба пола, а највећи је био у популацији старости 50–70 година где се кретао између 68% и 85%. Овакав тренд се приписује демографском старењу светске популације и повећању фактора ризика (14).

На нивоу Републике Србије нема прецизних и новијих података о самој преваленци СКА, али национални водич за ову болест из 2013. године је, у складу са поменутиим светским трендом, утврдио пораст преваленце ове болести, и то не само код старије, већ и код популације млађе од 50 година, што је такође објашњено повећаним присуством фактора ризика (1).

1.3. Фактори ризика за стенозу каротидних артерија

СКА је у основи атеросклеротска болест, и фактори ризика који убрзавају напредак атеросклерозе представљају уједно и факторе ризика за њен развој. Ови заједнички фактори нису сви подједнако важни за појединачне атеросклеротске болести услед разлика у локализацији и грађи захваћених артерија које доводе до суптилних разлика у подложности њиховом деловању (17). Тако се за СКА као најзначајнији издвајају старост, хипертензија, мушки пол, пушење, дијабетес мелитус (ДМ), хиперлипидемија, хроничне болести бубрега (ХББ) и бела раса, а у задње време се додатно скреће пажња и на неklasичне факторе ризика који као последица савременог живота доприносе ризику од КВБ (14,18–20). Сви ови фактори делују тако што подржавају механизме оштећења васкуларног система као што су оксидативни, механички стрес и инфламација, или делују смањујући адаптивну способност васкулатуре на ове стресоре. При томе су неки од њих биолошки предодређени и зато непроменљиви, попут старости, пола и расе, док на остале може да се утиче (21). Пошто смањење фактора ризика значајно доприноси олакшавању терета од СКА за опште здравље, акценат како примарне, тако и секундарне превенције ставља се на смањење ових променљивих фактора (22).

1.3.1. Утицај старости

Процес старења носи са собом бројне структурне и функционалне промене у васкуларном систему које чак и у одсуству других фактора ризика, стварају окружење погодно за развој каротидног плака и даљи напредак стенозе, због чега се СКА сматра једном од најчешћих болести у вези са старењем (9).

Са годинама долази до макроскопских промена у каротидним артеријама које подразумевају повећање волумена самог крвног суда, повећање дијаметра и ротације заједничке и унутрашње каротиде на бифуркацији и углава унутрашњих каротида, што све мења локалну хемодинамику у правцу повећане турбуленције протока и подржава развој атеросклерозе (23). Такође, измењена диференцијација ћелија крвног суда доводи до повећане ригидности услед губитка еластичности и ово смањује његову способност да се прилагођава флукуацији крвног притиска (24). Долази и до промена на нивоу екстраћелијског матрикса услед фрагментације еластина, акумулације колагена и унакрсног повезивања протеина матрикса (25).

Старење је у вези са ендотелном дисфункцијом и тако што као продужени стрес стимуланс активира ендотелне ћелије и доводи до њихове апоптозе угрожавајући интегритет ендотела. Додатно, у старости је присутна повећана синтеза вазоконстриктора и смањена синтеза простагландина. Експресија ендотелне азот-моноксид синтазе (*eNOS*) је нижа, а експресија индуцибилне азот моноксид синтазе (*iNOS*) је виша, док су и други ензими оксидативног стреса усходно регулисани, а антиоксидативни капацитет је смањен. Такође, нискостепена

инфламација у вези са старашћу је узрок повећане експресије фактора некрозе тумора- α (*TNF- α*), интерлеукина- 1β (*IL-1 β*), интерлеукина-6 (*IL-6*) и васкуларног ћелијског адхезионог молекула-1 (*VCAM-1*), а са годинама се смањује експресија интерлеукина-10 (*IL-10*) и адипонектина (9).

Удружени утицај наведених промена објашњава везу између старости и прогресије атеросклерозе каротидних артерија, што је више пута потврђено у различитим епидемиолошким студијама које су показале линеарни пораст *cIMT* са годинама у здравој популацији (20, 26). Штавише, осим што је старење независни и непроменљиви фактор ризика за сам развој СКА, оно додатно представља предиспозицију за развој плака компликованог и вулнерабилног фенотипа. Тако је показано да су плакови старијих пацијената под већим степеном инфламације, да су мање фиброзни, са нижим садржајем еластина, глатких мишићних ћелија, а вишим степеном калцификације и хеморагије што их све чини подложнијим руптури (9).

1.3.2. Утицај пола

Као и код других атеросклеротских КВБ, мушки пол се на основу резултата бројних епидемиолошких студија доводи у везу са већим ризиком и од развоја СКА. Главним узроком овога се сматра утицај полних хормона, на првом месту естрогена, али свој утицај у овоме имају и анатомске разлике у грађи каротида у односу на пол (27), генетски фактори везани за пол, као и разлике у заступљености других фактора ризика између мушкараца и жена, као што су нпр. већа стопа хипертензије и пушења код мушкараца (9).

Естрадиол остварује свој атеропротективни ефекат инхибицијом накупљања инфламаторних ћелија на место лезије, спречавањем адхезије моноцита на ендотел и инхибицијом преузимања холестерола из липопротеинских честица ниске густине (енг. *Low density lipoprotein, LDL*) од стране макрофага, чиме смањује настанак пенастих ћелија, чему додатно доприноси и његов ефекат на ефлукс холестерола из васкуларних глатких мишићних ћелија (28). Познато је и да активација естрогенског рецепторског пута у макрофагама доводи до разрешења инфламације (29). У складу са тим је показана веза између вишег нивоа естрадиола и присуства стабилних карактеристика каротидног плака, као и обрнута корелација његовог нивоа са прогресијом *cIMT*-а независно од година старости и индекса телесне масе (ИТМ) (28, 30).

Са друге стране, резултати испитивања утицаја тестостерона на кардиоваскуларно здравље су опречни. Познато је да тестостерон има антиатерогена и имуносупресивна дејства кроз повећану ендотелну продукцију азот-мооксида, подржавање пролиферације ендотелних ћелија и смањење активације макрофага (31). Тако је показано и да је инциденца атеросклерозе нижа код мушкараца са вишим нивоом циркулишућег тестостерона (32). Ипак, код жена је виши ниво тестостерона у позитивној корелацији са количином висцеларног масног ткива и метаболичким синдромом (33). Такође је показано да са порастом нивоа слободног тестостерона расту *cIMT* и величина каротидног плака, као и да је он у негативној корелацији са калцификацијом плакова која је одлика веће стабилности (28, 30). Такође, у једној студији је супституциона терапија тестостероном код мушкараца била у вези са вишим ризиком од можданог удара после 65. године (34).

Утицај пола на ток атеросклерозе се остварује и услед разлика у регулацији бројних гена од значаја код мушкараца и жена. Примећен је већи степен метилације гена у плаковима жена који указује на већу стабилност њихових генома, а различита експресија регулаторних гена у

односу на пол је посебно примећена везано за функцију васкуларних глатких мишићних ћелија. Осим тога, постоји и значајна разлика у експресији неких гена укључених у системску инфламацију која доводи до вишег нивоа *CD16* моноцита, експресије *CCR2* на моноцитима и *TLR4* на неутрофилима, као и неких цитокина и хемокина код мушкараца у односу на жене, што све повећава ризик од развоја атеросклерозе за мушкарце (28, 35). Наведене разлике условљавају вишу преваленцу СКА код мушкараца, али она зависи и од старости, како је показано и у једном од првих истраживања на ову тему, *Tromsø* студији из 2007. године. Ту је показано да је после 75-те године живота, преваленца СКА била већа код жена, што се објашњава губитком протективног дејства естрогена и генерално дужег животног века код жена (36).

Такође, у контексту СКА, пол није битан само као фактор ризика за себе, већ се претпоставља и да утицај других фактора ризика зависи од пола. Тако је скорашња студија показала да је утицај пушења и конзумације алкохола повезан са бржом прогресијом *cIMT*-а у већој мери код жена него код мушкараца, док је утицај хипертензије јачи код мушкараца. Слично, за формирање каротидног плака, дислипидемија је била јачи предиспонирајући фактор за мушкарце, а ДМ за жене (37).

1.3.3. Утицај хипертензије

При разматрању фактора ризика за СКА, посебни акценат се ставља на хипертензију, како је она најзаступљенија од свих променљивих фактора ризика, док истовремено антихипертензивна терапија представља важну окосницу у превенцији саме СКА (38). Додатно, значај адекватне терапијске контроле хипертензије је можда и већи за СКА него за неке друге КВБ, на шта указују налази неколико студија у којима је показани ефекат успешне антихипертензивне терапије на смањење ризика од можданог удара изостао по питању коронарних догађаја (38).

Веза између хипертензије и атеросклерозе је добро установљена, а она потиче из заједничких механизма везаних за оштећење ендотела који су присутни у оба стања и међусобно се појачавају. Задебљање зида артерија присутно код хипертензије, осим што услед повећаног отпора протоку повећава вероватноћу од настанка плака и од његове руптуре, додатно још и отежава допремање кисеоника до ћелија артеријског зида. Овиме се повећава степен непотпуне оксидације што доприноси оксидативном стресу који изазива и нискостепену системску инфламацију присутну у атеросклерози (39).

Како је показано у Фрамингамској студији, ризик од кардиоваскуларних догађаја расте линеарно са крвним притиском, и повишен ризик постоји не само код хипертензивних пацијената, већ и код оних са високим нормалним вредностима крвног притиска (40). Бројне студије које су испитивале утицај већег броја фактора ризика истичу хипертензију као један од најзначајнијих, како за настанак новог каротидног плака, тако и за прогресију стенозе и руптуру плака, и потврђују да је она независтан фактор у односу на остале битне чиниоце попут година, пола, пушачког статуса и сл. (14, 37, 41–43) Неке студије су дефинисале и поткатегорије пацијената које имају највећу корист од контроле хипертензије за смањење ризика од СКА. Тако је једна новија проспективна студија утврдила да су то старије жене са високим ИТМ (41).

У већини ових истраживања, хипертензија се дефинише према смерницама *American Heart Association (AHA)* и *European Society of Cardiology (ESC)* (44, 45) које дефинишу хипертензију помоћу вредности систолног и дијастолног крвног притиска. Ипак, ово можда није најбољи

начин дефинисања хипертензије у контексту ризика од КВБ. На то указује постојање доказа да би коришћење пулног притиска као параметра за предвиђање ризика од СКА показало још јачу корелацију хипертензије са степеном стенозе каротидних артерија. Пулсни притисак најбоље одражава ригидност артерија која уз пораст систолног притиска доводи до пада дијастолног, због чега је могуће да изоловано разматрање систолног притиска потцењује праву ригидност артерија, а самим тим и утицај присутне хипертензије (42).

1.3.4. Утицај пушења

Различите компоненте дуванског дима доприносе атерогеном окружењу кроз оштећење ендотелне функције, утицај на метаболизам липида и повећање степена инфламације и оксидативног стреса. Код пушача је присутна смањена биорасположивост азот-мооксида у ендотелу, затим дисфункција липопротеина која се манифестује проатерогеним липидним профилем, а слободни радикали и оксиданси из дуванског дима додатно доприносе оксидативном стресу на системском нивоу и индукују системску инфламацију. Тако се пушчки статус повезује са леукоцитозом, већом продукцијом пероксида из полиморфонуклеара, вишим нивоима *TNF- α* , *IL-6* и повећаном експресијом адхезивних молекула на ендотелу (46). Додатно, повећана коагулабилност као последица активације тромбоцита и коагулационе каскаде уз смањење фибринолизе под утицајем пушења повећава и ризик од нежељених кардиоваскуларних и цереброваскуларних догађаја код пацијената са различитим атеросклеротским болестима, укључујући и СКА (47).

Утицај пушења овим вишеструким механизмима на кардиоваскуларно здравље у великој мери одређује ризик од развоја атеросклерозе. Показано је да пушење повећава ризик од развоја атеросклерозе два пута код особа старијих од 60 година, док је ризик код пушача млађих од 60 година, чак пет пута већи него код непушача (48). Утврђена је веза између пушења и степена прогресије *cIMT* што указује да је ефекат пушења присутан и у раним фазама развоја СКА (49), а већина студија показује и да је пушење још јачи предиктор за стенозу високог степена (19). Степен стенозе показује јаку линеарну корелацију са трајањем пушења, како он према једној студији расте за 0,34% са сваком годином пушења (50). Осим што је на овај начин пушчки статус у вези са напретком стенозе у свим фазама, он се повезује и са присуством фенотипски нестабилнијих плакова, односно плакова ниже ехогености при ултразвучном испитивању (47).

Код оцењивања утицаја пушења, значајно је узети у обзир пушачки стаж у годинама, и количину дневно попушених цигарета, јер они показују већу асоцијацију са различитим параметрима СКА од самог статуса пушења (42, 43). Када су у питању бивши пушачи, резултати студија су различити. Има студија које показују да је преваленца клинички значајне СКА значајно виша код бивших пушача него код непушача (50), док према другим бивши пушачи имају сличан ризик као непушачи и он је значајно нижи од ризика код тренутно активних пушача (19). Ово вероватно зависи од тога колико година је прошло од престанка пушења, како једна студија показује да се ризик од можданог удара након 2–5 година од престанка пушења смањује на ону висину присутну код непушача (42). Такође, и пасивно пушење би требало узети у обзир када се говори о факторима ризика, како је показано да оно повећава ризик од можданог удара чак 20–30% у зависности од дужине изложености (46).

1.3.5. Утицај неповољног липидног профила

Између дислипидемије и атеросклерозе постоји чврста узрочна повезаност због чега неповољан липидни профил представља један од најважнијих фактора ризика и за развој СКА, док је лечење дислипидемије битан део терапијског приступа за ову болест (43, 51). Бројна истражвања су показала да је неповољан липидни профил у вези са убрзаним формирањем каротидног плака (43, 52), а његови поједини параметри се повезују са различитим клиничким аспектима СКА. Тако се више концентрације триглицерида асоцирају са субклиничком СКА (53), а нижи ниво холестерола у оквиру липопротеина високе густине (енг. *High density lipoprotein, HDL*) са ризиком од брже прогресије СКА (30), као и са присуством каротидних плакова нестабилног фенотипа (43), док ризик од исхемијског možданог удара расте са концентрацијом *LDL*-холестерола (54).

Када је у питању стабилност каротидног плака, неколико скорашњих студија нуди доказе да је однос *LDL*-холестерол/*HDL*-холестерол још бољи показатељ ризика за развој вулнерабилних карактеристика, како је он у јачој вези са функционалношћу *HDL* честице од саме њене концентрације (43, 52).

Једна студија је показала како пацијенти са лошијим липидним статусом имају и лошију контролу других фактора ризика (55), а пошто је ризик од možданог удара мањи што је већи број фактора ризика контролисан, могуће је претпоставити да и то доприноси утицају неповољног липидног статуса на ризик од СКА у различитим студијама (54).

1.3.6. Утицај дијабетеса мелитуса

Постоји јака корелација између преваленци ДМ и СКА (56) и ДМ је у бројним истраживањима признат као значајан фактор ризика за ову болест (14, 18, 37, 43, 57). Хронична хипергликемија присутна у ДМ индукује гликацију протеина и продукцију крајњих продуката узнапредовале гликације (енг. *Advanced glycation end products, AGE*) који истовремено доводе до оштећења ендотела и смањења еластичности, али и до ендотелне активације која доприноси локалној инфламацији. *AGE* такође утичу на проатерогене промене у метаболизму липида и доприносе оксидативном стресу, уз ослабљену антиоксидативну заштиту (43, 58). Штавише, пацијенти са ДМ имају смањену еластичност каротида (59), а ДМ се повезује и са функционалним променама у каротидним артеријама које доприносе турбулентном протоку, а које се јављају и пре развоја атеросклерозе значајнијег степена (57). Осим што је хипергликемија сама по себи узрочно повезана са СКА, она доприноси и развоју других фактора ризика атеросклерозе као што су хипертензија, дислипидемија и ХББ (59).

У односу на особе без ДМ, пацијенти са ДМ типа 2 имају 2–4 пута већи ризик од развоја КВБ (58). Присуство ДМ утиче на СКА још од формирања најранијих лезија, како је мета анализа показала да је *cIMT* повећан чак и код деце са ДМ типа 1 (60). ДМ је у вези и са убрзаном прогресијом *cIMT* (37), са којом корелира и гликемијска контрола (57), па тако је он и значајан независан предиктор присуства каротидног плака (56). Иако има студија које показују да су код пацијената са ДМ чешће присутни стабилнији, ехогени и калцификовани каротидни плакови (57), показано је да у општој популацији ДМ повећава ризик од možданог удара (56), као и да је стопа преживљавања možданог удара нижа код пацијената са ДМ (57). Штавише, код пацијената са ДМ типа 2 највећа стопа морталитета потиче од КВБ (58).

1.3.7. Утицај хроничне бубрежне болести

Значајан проценат пацијената са исхемијским можданим ударом има и ХББ (18), а за пацијенте у раним стадијумима ХББ је показано да је ризик од кардиоваскуларног морталитета још већи него ризик од прогресије до тешке бубрежне инсуфицијенције (61). Ову повезаност објашњавају бројни патофизиолошки механизми присутни код пацијената са ХББ који такође доприносе и развоју атеросклерозе кроз деловање уремијских токсина на ендотелну функцију директно, вазоконстрикторном активношћу и кроз активацију оксидативног стреса и инфламације. Ово доводи до промена на нивоу ендотела које укључују очвршћавање екстрацелуларног матрикса и пролиферацију мезанглијалних ћелија, што све доприноси и задебљању и губитку еластичности зида каротидне артерије (18, 62).

Ипак, како је хипертензија један од кључних фактора ризика који условљава развој и ХББ и атеросклерозе, поставља се питање да ли је то оно што у највећој мери доприноси преклапању преваленце ових стања, или су ХББ независтан фактор ризика од КВБ и у одсуству хипертензије (62, 63).

Без обзира на питање узрочности између ХББ и развоја СКА, постоје докази да су морфолошке карактеристике које утичу на стабилност каротидног плака измењене у присуству ХББ. Оне најпре потичу од повећане калцификације која настаје услед поремећаја равнотеже калцијума и фосфата и њихове акумулације у атеросклеротским плаковима, присутне код ХББ. Ова калцификација додатно доприноси инфламацији и индукује апоптозу глатких мишићних ћелија, чиме све повећава нестабилност плака (64). Тако има студија које показују да плакови пацијената са ХББ имају значајно виши степен микрокалцификације, смањену целуларност, мањи садржај колагена и вишу стопу руптуре (65).

1.4. Симптоми и манифестације стенозе каротидних артерија

СКА може да доведе до различитих симптома који су у неким случајевима последица исхемијског оштећења услед хипоперфузије изазване значајним степеном стенозе, али још чешће, који су последица тромбоемболијског догађаја услед нестабилности плака (66). Ипак, чак и тешка СКА може да остане асимптоматска, уколико су развијене колатерале Вилисовог круга које очувавају перфузију, и уколико не дође до дестабилизације и руптуре присутног плака (67). Зато се пресудним факторима који утичу на ризик од симптома сматрају тежина стенозе и стабилност плака, док природа и тежина самих симптома зависе од локализације и величине насталог емболуса (68).

1.4.1. Акутни мождани удар

Акутни мождани удар је фокални или глобални поремећај мождане функције узрокован неуспехом да се снабдевањем крвљу задовоље метаболичке потребе неурона (69).

Висока инциденца и висока стопа морбидитета и морталитета који из њега произилазе чине акутни мождани удар изузетно значајним са аспекта глобалног здравља. Процењује се да се на нивоу Европе годишње догоди око 1,4 милиона случајева можданог удара (70), а услед демографског старења предвиђа се тренд пораста инциденце и у Европи и у САД (11). На

нивоу Србије нема новијих података, али у 2009, мождани удар је био други најчешћи узрок смртог исхода (69). Стопа смртности од можданог удара се процењује на око 10–30%, а највећа је у првих месец дана (1, 69), док преживљени мождани удар и даље представља висок ризик од поновљеног исхемијског догађаја (1). Неуролошки дефицити који настају као последица можданог удара најчешће настају без упозорења и могу бити трајно онеспособљавајући. Тако је према степену узроковања трајног инвалидитета мождани удар на првом месту, због чега индиректни трошкови који из њега проистичу у великој мери премашују директне. Мождани удар је такође и други најважнији узрок деменције, први узрок епилепсије у старости и један од значајнијих узрочника депресије у старијој популацији (69).

Исхемијски догађај који је праћен истим симптомима као у можданом удару, може да резултује и неуролошким дефицитом који траје дуже од 24 часа, али спонтано пролази након одређеног периода, а најчешће до седам дана од настанка. У овом случају говори се о реверзибилном исхемијском неуролошком дефициту (РИНД). Овај догађај представља веома значајан индикатор ризика од развоја можданог удара при чему овај ризик расте са већом дужином трајања неуролошког дефицита (71).

Акутни мождани удар се класификује у две главне групе према механизму настанка. Прва група је акутни исхемијски мождани удар који настаје услед оклузије крвног суда и јавља се у око 80% случајева, а друга група је акутни хеморагијски мождани удар који настаје услед интрацеребралне или субарахноидалне хеморагије и који се јавља у око 20% случајева (72). СКА се сматра узрочником око 20% случајева исхемијског можданог удара (66).

Током 1990-тих, развијена је *TOAST (The Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment)* етиолошка класификација исхемијског можданог удара која разликује мождани удар услед атеросклерозе великих артерија, (енг. *Large artery atherosclerosis, LAA*), кардиоемболије, оклузије малих крвних судова, мождани удар друге етиологије (артеритиса, дисекције) и неутврђене етиологије. По овој подели, исхемијски мождани удар услед СКА спада у прву групу, *LAA*, којој је иста студија приписала 16,6% свих случајева можданог удара, при чему је СКА била узрок 8%, а каротидна оклузија 3,5% случајева (73). Механизми инфаркта мозга у СКА могу да буду церебрална хипоперфузија услед стенозе која успорава проток, артерео-артеријска тромбоемболизација услед нестабилности плака и њихово удружено деловање како успорени проток крви отежава уклањање емболуса у дисталним крвним судовима (67, 74, 75). Ипак, руптура плака и тромбоемболизација су најчешћи узрок исхемије у СКА (68, 74). Емболијски догађаји у СКА често имају карактеристичан образац где след мањих емболуса оклудира дисталне делове можданих артерија, што се уочава приликом МРА. Склоност ка рекуренцији исхемијских догађаја изазваним СКА чине да се претходно симптоматски статус сматра индикатором ризика од новог симптома (74).

Иако су тромбоемболијски догађаји главни механизам развоја симптома у СКА, у ситуацијама када су присутни додатни фактори који ремете хемодинамику у артеријама мозга, попут оклузије контралатералне каротиде или одсуства колатерала спољашњих каротида или Вилисовог круга, симптоми могу да настану и услед хемодинамски условљене хипоперфузије. Овакви симптоми се обично јављају и више пута дневно, често приликом преласка из седећег у стајаћи положај, али се не манифестују лако вртоглавицом као ортостатска хипотензија, већ дрхтањем контралатералних екстремитета, по чему их је могуће специфично препознати (68).

1.4.2. Транзиторни исхемијски напад

Транзиторни исхемијски напад (ТИН) настаје услед хипоперфузије и микроемболије у церебралним артеријама, често као последице СКА и обично се јавља нагло, манифестујући се као фокални неуролошки дефицит са негативним симптомима, док се позитивни симптоми јављају изузетно ретко. ТИН се одликује разноликим манифестацијама, и дијагностика овог симптома се најчешће заснива само на анамнези, што доводи до тешког диференцирања од сличних стања и до непоузданости података о његовој правој инциденци (69). Додатно, различите дефиниције ТИН су у употреби. Традиционално се ТИН диференцира од можданог удара временски-зависном дефиницијом по којој симптоми код ТИН потпуно пролазе до 24. сата од настанка, док код можданог удара трају дуже. Ова дефиниција је углавном замењена ткивно-зависном према којој се без обзира на трајање симптома ТИН разликује од можданог удара по томе што не оставља инфарктне лезије видљиве помоћу дифузионо-пандерисане магнетне резонанце (енг. *Diffusion-weighted imaging magnetic resonance, DWI MR*) (76). Ипак, неке смернице попут водича Европског удружења васкуларне хирургије (енг. *European Society of Vascular Surgery, ESVS*) из 2023. и даље користе временски-зависну дефиницију ТИН (11). У сваком случају, препознавање ТИН је значајно, како овај симптом често најављује мождани удар. Према различитим истраживањима, ТИН је код 2–5% пацијената праћен исхемијским можданим ударом у наредних месец дана, а чак 40–50% исхемијских можданих удара је претхођено са ТИН-ом (69).

1.4.3. Офталмолошки симптоми

Васкуларни догађаји који воде порекло од унутрашње каротидне артерије могу да оставе последице на различите органе које она исхрањује, па тако осим што доводе до неуролошких симптома, могу да имају и офталмолошке презентације (77). Оклузивна СКА може да доведе до формирања ретиналних плакова, исхемијске оптичке неуропатије, *rubeosis iridis*-а, неоваскуларног глаукома, ретинопатије венске стазе и асиметричне дијабетичне или хипертензивне неуропатије (78). Окуларни симптоми СКА најчешће настају акутно услед емболизације пореклом из улцерисаног каротидног плака који оклудира централну ретиналну артерију или неку њену грану. Овако настају ретинални плакови који могу да доведу до стања привременог или чак трајног монокуларног губитка вида (77). Монокуларни губитак вида услед ретиналне емболије је међу најчешћим манифестацијама СКА. Када је нагли губитак вида привремен, означава се као *amaurosis fugax*, док код трајног губитка вида говоримо о ретиналном инфаркту (68). Према резултатима различитих студија, 68–82% пацијената који се презентују са *amaurosis fugax*-ом имају присутну значајну стенозу каротидне артерије (77).

Ређе настају и мање су препознати симптоми који су последица хроничне исхемије. Они се развијају када је присутна озбиљна каротидна стеноза, па се велики део протока кроз дату каротиду усмерава на различите колатерале Вилисовог круга, што смањује исхрањивање офталмичке артерије (68). На овај начин услед хипоперфузије антериорног сегмента ока настају *rubeosis iridis* и неоваскуларни глауком, а услед хипоперфузије постериорног сегмента ока настаје ретинопатија венске стазе. Исхемијска оптичка неуропатија може да настане и услед смањене перфузије и услед емболизације (77).

Значај препознавања офталмолошких проблема који воде порекло од СКА је у томе што они често настају пре других клиничких знака, па могу да укажу на пацијенте које треба подвргнути даљем испитивању (77).

1.4.4. Когнитивни симптоми

Смањена церебрална перфузија присутна код СКА високог степена доводи до исхемијског оштећења неурона, што заједно са вишеструким мањим оштећењима који настају услед поновљених епизода емболизације и лакунарних инфаркта у СКА може да допринесе оштећењу когнитивне функције и развоју васкуларне деменције (11, 79). Такође, „тихи инфаркти“ који се уочавају методама визуелизације као инфарктне лезије на мозгу код пацијената без историје ТИН или можданог удара, а који често настају услед СКА, сматрају се једним од важних узрока когнитивног оштећења (80).

У складу са овим, бројне студије показују везу између СКА и когнитивне функције (79–82), и СКА је призната као независни фактор ризика за опадање когнитивне функције у популационим студијама (83). Штавише, једна мета-анализа је показала да је у већини студија након хируршке терапијске процедуре за СКА у виду каротидне ендартеректомије (КАС) дошло и до побољшања когнитивне функције (79).

Ипак, иако је асоцијација СКА са смањењем когнитивне функције показана у највећем броју мета-анализа и постоје предложени механизми који је објашњавају, нема доказа да је ова веза узрочна, па је могуће и да је СКА само маркер стања оштећене когнитивне функције (11).

1.5. Значајни клинички и ултразвучни параметри стенозе каротидних артерија

1.5.1. Симптоматски статус

Симптоматска стеноза каротидне артерије (ССКА) подразумева презентацију симптома неуролошке исхемије у претходних 6 месеци у присуству хемодинамски значајне СКА уз искључивање других могућих узрока (84). Симптоми који се узимају у обзир су претходни мождани удар, ТИН или други неуролошки исхемијски догађаји, као и офталмолошки симптоми исхемије ипсилатерално од СКА (84). Према томе, асимптоматска стеноза каротидне артерије (АСКА) представља присуство СКА код пацијената без презентације симптома који могу да се јој се припишу у претходних шест месеци (84). АСКА се најчешће открива случајно приликом ултразвучног прегледа из других разлога (85).

Презентација недавних фокалних неуролошких симптома приписаних СКА се сматра једним од најјачих показатеља присуства „високоризичне“ СКА (86), из разлога што је мождани удар ретко ненајављен претходном исхемијском епизодом (87). Симптоматски плакови могу да буду показатељ присуства плака нестабилног фенотипа или присуства карактеристика „вулнерабилног пацијента“. Показано је да они указују на већи ризик од можданог удара

него асимптоматски плакови, али да је овај ризик временски завистан, због чега се за дефинисање ССКА у обзир узима период од 6 месеци (88).

Показано је да око 25% пацијената са СКА који су доживели неки од неуролошких исхемијских симптома доживи мождани удар у наредне три године упркос фармаколошкој терапији, док је овај проценат код асимптоматских пацијената са сличним степеном стенозе око 6% (89).

Овакав однос ризика код ССКА и АСКА је један од главних разлога зашто је потребан другачији терапијски приступ код ових група пацијената (90).

1.5.2. Тежина стенозе

Степен стенозе каротидне артерије је параметар којим се тежина стенозе описује као део лумена артерије оклудиран стенозом изражен у процентима. *The European Carotid Surgery Trial (ECST)* и *The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET)*, као две највеће клиничке студије које су се бавиле између осталог и критеријумима одређивања степена стенозе, усвојиле су различите начине рачунања, а више је у употреби *NASCET* метода која дефинише степен стенозе као количник пречника резидуалног лумена на месту стенозе и пречника дела артерије изнад стенозе који није захваћен болешћу (91, 92). Примарно у *NASCET* и *ECST* студијама за одређивање степена стенозе је коришћен ангиограм, али услед инвазивности и ризика које ангиографија носи, данас се најчешће степен стенозе одређује ултразвучним методама, пре свега колор доплер ултразвуком (енг. *Color doppler ultrasound, color DUS*) за који постоје консензус критеријуми одређивања степена стенозе у слагању са оним у *NASCET* и *ECST* студијама (10).

На основу *NASCET* критеријума, Друштво радиолога за ултразвук (енг. *Society of Radiologists in Ultrasound, SRU*) је стенозу степена $\leq 49\%$ класификовало као благу, стенозу, $50\text{--}69\%$ као умерену, а стенозу $\geq 70\%$ као високу или тешку (93). Тешка стеноза има добро установљену везу са ризиком од исхемијских догађаја, због чега је степен стенозе инкорпориран у многе смернице као критеријум у одлучивању терапијског метода (94). И скорашња мета-анализа проспективних и ретроспективних студија је указала да стопа можданог удара расте са степеном стенозе (95). Такође, показана је и виша стопа неуролошких дефицита блажих од можданог удара попут ТИН и *amaurosis fugax*-а код асимптоматских пацијената са вишим степеном стенозе (96, 97).

Ипак, колико год се тежина стенозе традиционално сматрала најважнијим показатељем ризика од можданог удара поред недавних симптома, последњих година се све више указује на потребу да се за процену ризика у обзир узму и други аспекти СКА, зато што степен стенозе није сам по себи у толикој мери повезан са развојем можданог удара да би довољно сигурно предвидео будуће исхемијске догађаје (98). Пошто је највећи број симптома СКА тромбоемболијског порекла, сама нестабилност плака према руптури у великој мери одређује ризик од можданог удара, и то је разлог зашто се он догађа и код пацијената са умереним и чак ниским степеном стенозе (99). Тако је показано да је трогодишњи ризик од можданог удара код пацијената са СКА $20\text{--}49\%$ чак око 7% (99).

Заправо, ни повезаност тежине стенозе са ризиком од симптома није независна од вулнерабилности плака. Показано је да нестабилни плакови чешће прогредирају ка већем степеном стенозе од стабилних, и да можда већа брзина њихове прогресије ка оклузији утиче на одсуство развијених колатерала (100). Такође, морфолошки показатељи нестабилности плака су чешће присутни код стенозе вишег степена. Са друге стране, како ипак и плакови

који изазивају било који степен стенозе могу да презентују нестабилан фенотип, евалуирање ризика на основу степена стенозе и стабилности плака одвојено често доводи до контрадикторних резултата у различитим студијама (98).

Штавише, резултати мета-анализе засноване на рандомизованим контролним студијама, *Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study (ACAS)* и *Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST)*, нису показали да степен стенозе утиче на ризик од možданог удара код пацијената на одговарајућој фармаколошкој терапији и *ESVS* смернице више не узимају степен стенозе као значајан показатељ ризика за ове пацијенте, већ предлажу друге ултразвучне параметре (11).

Све у свему, иако постоје супротстављени докази о значају тежине стенозе као предиктора možданог удара и других симптома код пацијената са СКА, чињеница је да она и даље чини основу одлучивања о терапији ове болести. Ипак, широко је прихваћено мишљење да је за бољу евалуацију будућег ризика потребно узети у обзир више додатних маркера нестабилности плака (101).

1.5.3. Стабилност плака

Емболизација и тромбоза услед руптуре плака су главни механизми настанка симптома у СКА (66). Руптури плака претходи низ молекуларних и целуларних промена који условљавају његову дестабилизацију (102).

Кључну улогу у одржавању стабилности плака има фиброзна капа која чини баријеру између липидног некротичног језгра, које је између осталог богато ткивним фактором, и коагулантних фактора из циркулације. Нарушавање интегритета ове фиброзне капе доводи до формирања тромба који може да доведе до локалне опструкције лумена артерије, или чешће до дисталне емболизације, а додатно као извор емболуса може да послужи и садржај плака ослобођен руптуром (103). Из овог разлога дестабилизација плака подразумева пре свега промене које могу да утичу на интегритет фиброзне капе, а то су на првом месту раст липидног некротичног језгра и истањивање саме фиброзне капе. Важну улогу у оба ова процеса има интензивна инфламација. У условима интензивне инфламације је повећана инфилтрација макрофага које преузимају оксидовани холестерол и некротизирају па даље доприносе оксидативном оштећењу и постају нови извор инфламације. Она је поново праћена додатним приливом инфламаторних ћелија, што све у великој мери повећава волумен липидног језгра и некрозу унутар њега, а оно онда врши већи притисак истезања на фиброзну капу (66). Штавише, слободни холестерол и ћелијски дебрис ослобођени некрозом у липидном језгру омогућавају формирање кристала холестерола који онда заузимају још већи волумен, а својом оштрином доприносе оштећењу фиброзног ткива капе (103).

Додатно, у инфламацији локално присутни цитокини између осталог индукују смањење синтезе колагена и повећање експресије молекула укључених у деградацију екстраћелијског матрикса, што су два главна разлога слабљења фиброзне капе (104).

Када дејством наведених фактора дође до руптуре плака, даљи развој симптома зависи од равнотеже про- и антикоагулантних фактора у плаку и циркулацији и од карактеристика локалног протока који сви утичу на величину формираног тромба и могућност емболизације (89).

Из свега наведеног проистиче да се стабилни плакови одликују малим липидним језгром са ниским степеном некрозе и присуством дебеле фиброзне капе ненарушеног интегритета,

односно нижим степеном инфламације у самом плаку. Код каротидних плакова се често као један вид заштите од биомеханичког стреса јавља и калцификација плака која доприноси структурној стабилности фиброзне капе. Процес васкуларне калцификације у пределу атеросклеротске лезије је динамичан и настаје међусобним утицајем инфламације и регулације путева изградње костију, па осим што механички стабилизује плак такође је показано да је калцификација и у вези са смањеном инфламацијом унутар самог плака (105).

Дакле, постоје карактеристике плака које јасно индикују његову нестабилност и то је омогућило увођење појма вулнерабилног плака. Првобитно је вулнерабилни плак дефинисан као онај плак за који постоји висок ризик од руптуре и последичних кардиоваскуларних догађаја, али је ова дефиниција проширена тако да осим подложности плака руптури обухвати и склоност ка тромбози изазваној ерозијом, или генералније, склоност ка брзом напретку до лезије која изазива симптом, с обзиром да нису сви симптоми увек везани само за руптуру плака (2). Тако, главне хистоморфолошке особине вулнерабилног плака обухватају велико липидно некротично језгро (>40% волумена плака), фиброзну капу дебљине <200 μm , присуство активне инфламације евидентне услед инфилтрације леукоцита и појачану неоваскуларизацију (17, бб), а додатно су индикативни и хеморагија унутар плака, смањен садржај глатких мишићних ћелија, ендотелна денудација са површинском агрегацијом тромбоцита, пукотине на фиброзној капи, неравна површина плака и присуство улцерација (2, 101).

Ове карактеристике могу да се најпоузданије детектују хистопатолошки након оперативног уклањања каротидног плака, али постоје и технике визуелизације, пре свега МРА и ултразвучне методе, које могу да детектују различите вулнерабилне карактеристике и чији налази добро корелирају са хистопатолошким (104). Метода избора за морфолошку карактеризацију плака је дуплекс ултразвук, који даје увид у стабилност плака мерењем његове ехогености (100). Ехогеност плака се одређује у односу на способност различитих компонената у структури плака да формирају ехо, односно узврате сигнал при ултразвучном испитивању, при чему „тврде компоненте“ попут фиброзног и калцификованог ткива стварају ехо, односно оне су ехогене, док „меке компоненте“ које су превасходно липидне, не стварају ехо, односно оне су ехолуцентне, из чега се може закључити да су плакови са дебљом фиброзном капом, вишом стопом калцификације и мањег липидног језгра, тј. стабилнији плакови ехогени, док су нестабилни плакови са танком фиброзном капом и великим липидним језгром ехолуцентни. Осим одређивања да ли је плак ехоген или ехолуцентан, дуплекс ултразвук може да процени и оптерећење артерије плаком и текстуру плака, али теже детектује улцерације (106). За разлику од других метода које могу да послуже за карактеризацију плака, као што су ангиографија и МРА, ултразвучне методе нису инвазивне ни скупе, нити захтевају излагање јонизујућем зрачењу (107), али њихов главни недостатак је у томе што ултразвук има мањи контраст при снимању меких ткива и у великој мери зависи од искуства и обучености оператора. (106) Ипак, показано је добро слагање ултразвучне оцене са хистопатолошким анализама плакова, као и са периперативним макроскопским налазима морфологије плака (100). Субјективна процена оператора укључена у ултразвучну анализу плака такође не утиче на поузданост ове методе, како је у мета-анализи показано и добро слагање између субјективне процене ехогености од стране радиолога и компјутерске квантификације на основу *grey-median* скале (108).

Велики број студија је уочио да могућност руптуре плака зависи од композиције самог плака у много већој мери него што зависи од степена стенозе (105, 109, 110) и да постоји повезаност између инциденције неуролошких догађаја и ултразвучно детектоване ехолуценције плака (2, 96).

У највећој студији која је пратила природни ток асимптоматске СКА примећена је значајно виша годишња стопа можданог удара код пацијената са ехолуцентним у односу на оне са

ехогеним плаковима (111), а и једна од највећих студија на симптоматским пацијентима са СКА је показала асоцијацију морфологије плака са ризиком од можданог удара (112). Такође, мета-анализа која је узимала у обзир и симптоматске и асимптоматске пацијенте је потврдила везу између ехолуценције плака и ризика од можданог удара и израчунала да пацијенти са ехолуцентним плаковима имају више од два пута већи ризик од можданог удара него пацијенти са ехогеним плаковима (108).

Морфолошке карактеристике вулнерабилног плака одражавају активност патолошких процеса који дестабилизују плак без обзира на његову величину и степен стенозе који је присутан, па зато не постоји асоцијација између њихове преваленце и степена стенозе (113). Плакови који не изазивају значајну стенозу такође могу да буду вулнерабилни, што је и даље индикатор повећаног ризика и код оваквих плакова (99) и што објашњава зашто многи плакови који не изазивају значајан степен стенозе могу да буду симптоматски, док и код многих пацијената код којих је присутна тешка стеноза, симптоми изостају (106). Тако је и једна студија на домаћој популацији која је постоперативно испитивала морфологију плака код асимптоматских пацијената са степеном стенозе >70%, уочила да је 78% плакова било стабилно, а само 22% нестабилно (104).

Упркос овоме, морфологија плака се ретко узима у обзир при доношењу терапијских одлука (101). Важан разлог за ово је фактор тајминга, јер да би нашле место у клиничкој употреби као маркер будућег ризика, карактеристике вулнерабилног плака би морале да се презентују довољно дуго пре појаве симптома да би се детектовале на време да се предузму терапијске мере, а многе од њих се често јаве тек непосредно пре руптуре плака и последичног догађаја (89). Заправо, добро утврђена веза морфологије каротидног плака са ризиком од можданог удара вероватно великим делом потиче од тога што је вулнерабилност плака у једном васкуларном кориту у корелацији са вулнерабилношћу плакова широм васкулатуре па је као таква често маркер системских процеса који утичу на дестабилизацију плака и дефинишу „вулнерабилног пацијента“ (114).

1.6. Дијагностика стенозе каротидних артерија

Из саме претходно објашњене дефиниције СКА следи да се дијагностика ове болести заснива на утврђивању присуства значајне стенозе каротидне артерије, што се може постићи различитим методама визуелизације. Степен стенозе је могуће утврдити употребом дуплекс ултрасонографије (ДУС), магнетно-резонантне (МР) ангиографије или компјутерско-томографске (КТ) ангиографије. Ове неинвазивне методе су замениле класичну инвазивну ангиографију која се сматра златним стандардом, али носи највећи степен ризика у односу на неинвазивне методе (106). У првој линији за одређивање степена стенозе каротидне артерије се користи дуплекс ултрасонографија јер је доступна и повољна, а довољно поуздана и прецизна, али приликом доношења важних терапијских одлука препоручљиво је њене налазе потврдити употребом МР, КТ или инвазивне ангиографије, као и када је ДУС контраиндикована. ДУС је метод који применом Доплеровог принципа одређује брзину протока кроз артерију и комбинује ове информације са дводимензионалном сликом дате артерије да би проценио њен дијаметар из кога се даље рачуна степен стенозе (115).

Одређивање присуства и тежине стенозе каротидне артерије индиковано је када се из различитих разлога сумња на могући развој СКА, када се испитује етиологија неуролошких или неких офталмолошких симптома, када се прати позната стеноза, или при доношењу одлука за хируршку или ендоваскуларну процедуру (1, 11).

Код асимптоматских пацијената, препоручује се испитивање каротидних артерија ДУС методом као почетни дијагностички тест ако се сумња на постојање стенозе у случају да постоји систолни шум над каротидном артеријом, ако је присутно више значајних фактора ризика за ову болест укључујући и позитивну породичну анамнезу, затим код пацијената који имају коронарну, периферну артеријску или анеуризматску болест, као и када се прати позната стеноза каротидне артерије, било да је хемодинамски значајна или није (1, 11).

Код симптоматских пацијената који се презентују са фокалним неуролошким симптомима или са неспецифичним неуролошким симптомима који могу да буду узроковани исхемијом се примарно препоручује ДУС, а МР и КТ ангиографија у случају када ДУС не може да се уради или када даје неодређене резултате. Друге неинвазивне методе могу да се користе и као допунске методе да потврде иницијалне ДУС налазе. У случају да се не детектује каротидна стеноза довољног степена да буде узрок презентованих симптома, даље могу да се испитују интракранијалне артерије МР или КТ ангиографским методама, или да се испита могући кардиоемболијски узрок ултразвуком срца (1, 11).

1.7. Скрининг за асимптоматску стенозу каротидних артерија

Европски водич за СКА из 2023. поводом скрининга за асимптоматску СКА закључује да је значај превенције можданог удара свакако довољно велики да оправда потребу за скринингом, да је ДУС довољно приступачна и поуздана метода за одређивање тежине стенозе са високом осетљивошћу и специфичношћу, али да мала преваленца у општој популацији доводи до ниске позитивне предиктивне вредности, што значајно умањује клиничку ефикасност и економичност скрининга. Постоје докази да би селективни скрининг ризичне популације дефинисане присутним факторима ризика имао већу ефикасност у откривању асимптоматске СКА, али како нема доказа да скрининг заиста доприноси превенцији можданог удара, већина водича се слаже да нема потребе за његовим увођењем (11).

Национални водич из 2013. такође даје препоруке против скрининга опште популације, оправдавајући их пре свега чињеницом да не постоји скрининг програм који заиста утиче на смањење ризика од можданог удара (1).

1.8. Терапијски приступи за стенозу каротидних артерија

Терапији болести каротидне артерије се приступа помоћу различитих модалитета који за циљ имају примарну превенцију развоја симптома, а пре свега можданог удара, код пацијената са асимптоматском СКА, односно секундарну превенцију можданог удара код пацијената са симптоматском СКА. Главни терапијски приступи су фармаколошки и оперативни, а у сваком случају се препоручују и хигијенске мере за смањење фактора ризика, на првом месту престанак пушења (115). Избор одговарајућег терапијског приступа је кључан корак у менаџменту ове болести, и он зависи од процене ризика од развоја можданог удара за појединачног пацијента, као и од односа користи и ризика које фармаколошке или хируршке терапије носе за тог пацијента. Главни чиниоци на основу којих се процењују ризици и корист, односно на основу којих се доносе одлуке о избору терапије су, према већини водича, претходно симптоматски статус и тежина стенозе, док се конкретни критеријуми одлучивања делимично разликују између водича (117, 118).

Највећи број истраживања која су се бавила проценом ризика од развоја можданог удара код СКА пацијента, проценом користи од различитих фармакотерапеутика, као и проценом користи и ризика који носе различите хируршке процедуре, била су спроведена одвојено на асимптоматским и симптоматским пацијентима, и у многим случајевима су долазила до различитих закључака у ове две групе, што оправдава формирање различитих препорука у односу на симптоматски статус. Како се сматра и да се пацијенти са умереном и тешком стенозом разликују по стопи ризика од развоја симптома, тако је и оправданост преузимања ризика од хируршких интервенција различита код пацијената са умереном и тешком стенозом, што се узима у обзир заједно са симптоматским статусом (1, 11).

1.8.1. Фармаколошка терапија стенозе каротидних артерија

Оптимална фармаколошка терапија СКА се сматра корисном за све пацијенте, без обзира на тежину стенозе и симптоматски статус, тако да је она индикована и код асимптоматске и код симптоматске стенозе >50%, као самостална терапија за пацијенте са нижим ризиком, или након оперативне интервенције код пацијената са вишим ризиком (119). Иако су различити водичи неусклађени по томе како дефинишу пацијенте са високим ризиком, као и по препорукама у вези индикација за оперативни третман, бенефити фармаколошке терапије и за асимптоматске и за симптоматске пацијенте су признати у свим водичима као прва линија одбране у терапији СКА. У овом контексту дефинисан је појам „најбоље медикаментозне терапије (енг. *Best medical therapy, BMT*)“ под којим се најчешће подразумева терапија ниским дозама аспирина или неким другим антиромбоцитним леком уз терапију статинима без обзира на ниво холестерола, затим терапију хипертензије и дијабетеса код пацијената код којих су оне иначе индиковане, као и примену хигијенских мера, а пре свега престанка пушења (120). Раније је најбоља медикаментозна терапија подразумевала углавном само терапију ниским дозама аспирина, како је било и осамдесетих година, у време спровођења великих истраживања на тему адекватног терапијског приступа СКА, попут *NASCET*, *ECST* и *ACAS* студија (117). Резултати *NASCET* студије су показали да за симптоматске пацијенте са тешком стенозом који су на најбољој медикаментозној терапији, двогодишњи ризик од можданог удара износи 26%, што је указало на потребу увођења и оперативног третмана за ове пацијенте (121). *ACSRS (Asymptomatic Carotid Stenosis and Risk of Stroke)* студија из деведесетих година у којој испитаници такође нису користили терапију статинима, показала је да је годишњи ризик од можданог удара за асимптоматске пацијенте са тешком стенозом који се лече само фармаколошком терапијом 1,6% (111). Са увођењем статинске терапије, сматра се да је природни ток СКА значајно измењен, и тренд смањења смртности од можданог удара као последице СКА се великим делом приписује успеху фармаколошког приступа терапији ове болести. Из ових разлога постоје научне струје које заговарају да је код свих асимптоматских пацијената довољно само фармаколошко лечење, и да узимајући у обзир успешност савременог концепта најбоље медикаментозне терапије, нема потребе излагати асимптоматске пацијенте ризику, а здравствени систем трошку од превентивних оперативних процедура. Ово виђење се оправдава проценама да је само уз најбољу фармаколошку терапију годишњи ризик од можданог удара за асимптоматске пацијенте 0,5–1% (122, 123).

1.8.1.1. Антиагрегациони лекови у терапији стенозе каротидних артерија

Познато је да инхибиција агрегације тромбоцита под дејством антиагрегационих лекова има потенцијал за профилаксу настанка акутних тромботичних догађаја у атеросклеротским болестима генерално. Ипак, ефикасност појединих лекова из ове групе на појединим КВБ се разликује и кроз године уназад обављене су бројне студије које су ово истраживале, као и бројне мета анализе ових студија, и резултат је то да је већина националних водича усклађена по овом питању (1, 11). Корисност аспирина у спречавању инфаркта миокарда, можданог удара и васкуларне смрти је доказана у великој мета анализи која је показала да ова терапија смањује ризик од наведених догађаја за четвртину код високо ризичних пацијената, односно оних који су већ имали оклузивни догађај. Показано је да код ових пацијената корист од аспиринске терапије превазилази ризик од крварења, као и да су ниске дозе аспирина довољно ефикасне у ову сврху, па је према томе аспирин најшире прихваћен као лек избора и код пацијената са СКА (124).

Према смерницама водича Европског друштва васкуларних хирурга из 2023. године, као и према националним смерницама из 2013, антиагрегациона терапија се препишује и асимптоматским и симптоматским пацијентима, без обзира на то да ли се они упућују и на инвазивну терапију или не. Препоруке које се односе на врсту и дозу лека се разликују у односу на то да ли се планира и инвазивна процедура и ког типа, а у неким случајевима се разликују и за симптоматске и асимптоматске пацијенте (1, 11).

Према оба водича, свим асимптоматским пацијентима који се усмеравају само на медикаментозну терапију, препоручује се терапија ниским дозама аспирина (75–325 *mg* дневно), али не као мера превенције можданог удара, како њена корист у ту сврху код асимптоматских пацијената још није доказана, већ као мера превенције инфаркта миокарда и других кардиоваскуларних догађаја. За пацијенте код којих је аспирин контраиндикован, оба водича препоручују клопидогрел у дози од 75 *mg* као први следећи избор, а ако је и клопидогрел контраиндикован, европски водич препоручује дипиридамол у дози од 200 *mg* два пута на дан, док национални водич препоручује тиклопидин у дози од 250 *mg* два пута на дан (1, 11).

Симптоматски пацијенти са блажим симптомима који се не усмеравају на инвазивну, већ само на медикаментозну терапију, према оба водича се првобитно усмеравају на комбиновану антиагрегациону терапију и то: према европском, на терапију аспирином и клопидогрелом, а према националном, аспирином и дипиридамомол продуженог дејства. Касније се ова терапија мења монотерапијом: према европском водичу клопидогрелом, а према националном водичу или аспирином или клопидогрелом (1, 11). Комбинована терапија аспирином и клопидогрелом се не започиње за мање од три месеца након симптома према препорукама националног водича (1).

Асимптоматским пацијентима који се усмеравају на КАЕ, препоручује се такође ниска доза аспирина (75–325 *mg*) и то пре, током и након саме интервенције. Ова препорука налази се како у европском, тако и у националном водичу (1,11). Симптоматским пацијентима се антиагрегациона терапија препишује само ако се ултразвучно утврди одсуство интракранијалног крварења, и онда се одлука о типу терапије који неће условити одлагање операције доноси од стране неуролога и васкуларног хирурга за сваког пацијента појединачно. Ово препоручује европски водич који даље каже да ако се донесе одлука о увођењу монотерапије, то треба да буде аспирин у ниским дозама, и да дата терапија треба да се настави и током операције, као и дугорочно после (11). Према препорукама националног водича, аспирин у дозама 75–325 *mg* и клопидогрел у дози од 75 *mg* дневно

треба да се дају са циљем превенције исхемијских догађаја током првог месеца након интервенције (1).

За пацијенте усмерене на каротидну ангиопластику (КАС), према оба водича препоручује се комбинована терапија аспирином и клопидогрелом која треба да се започне пре операције (по препорукама европског водича најмање три дана пре) и да се примењује још најмање месец дана касније, након чега се наставља са дугорочном терапијом ниским дозама аспирина (1,11).

1.8.1.2. Антихипертензивни у терапији стенозе каротидних артерија

Као што је претходно описано, хипертензија представља променљиви фактор ризика који је у чврстој узрочној повезаности са развојем СКА, па тако антихипертензивна терапија има важну улогу у примарној и у секундарној превенцији исхемијског можданог удара што је доказано у неколико мета-анализа (125, 126). Предмет интензивног истраживања на овом пољу је утврђивање тачног типа антихипертензивног лека који доводи до највећег смањења ризика од можданог удара, али консензус још увек није постигнут (118, 127).

По питању лечења хипертензије код пацијената са СКА, национални водич из 2013. и европски из 2023. године се донекле разликују у препорукама у односу на симптоматски статус. Према европском водичу, антихипертензивна терапија је препоручена за пацијенте како са асимптоматском, тако и са симптоматском СКА и придруженом хипертензијом, уз напомену да брзом снижавању крвног притиска у раном периоду након појаве симптома код симптоматских пацијената које очекује инвазивна терапија треба приступити опрезно (11). Са друге стране, национални водич препоручује ову терапију асимптоматским пацијентима са удруженом хипертензијом, а за симптоматске наводи да ова терапија јесте индикована, али да лечење хипертензије код ових пацијената може да носи ризик од погоршања церебралне исхемије што додатним истраживањима треба евалуирати. За пацијенте који се упућују и на инвазивну терапију, антихипертензивни се препоручују и пре и дугорочно после саме интервенције. Терапијски циљ је да се крвни притисак одржава испод вредности 140/90 *mmHg* за пацијенте са СКА и антихипертензијом, а ако је додатно присутан и дијабетес, онда би крвни притисак требало да се одржава испод 130/90 *mmHg* (1). Постоје и истраживања која тврде да би смањење ризика од можданог удара било веће када би усвојене циљне вредности крвног притиска биле још ниже, али докази на којима се заснива ова претпоставка и даље нису достигли довољну јачину да би били усвојени у водичима (124).

1.8.1.3. Статини у терапији стенозе каротидних артерија

Корисност статинске терапије у превенцији можданог удара почива на чврстим доказима из бројних мета-анализа, а показано је и да има способност стабилизације каротидног плака, као и успоравања или чак реверзије прогресије каротидне стенозе. Такође, неке студије показују и нижу стопу компликација и фаталних исхода КАЕ код пацијената на статинима (127).

Иако се за пацијенте са СКА често поставља циљна вредност *LDL*-холестерола приликом увођења статина, многи докази указују на то да способност ових лекова за смањење ризика од можданог удара није у вези са снижавањем *LDL*-холестерола, већ се остварује захваљујући додатним анти-инфламаторним ефектима статина који стабилизују каротидни плак (128).

Према европском водичу, терапија статинима се препоручује и асимптоматским и симптоматским пацијентима са СКА ради дугорочне превенције кардиоваскуларних догађаја, укључујући и мождани удар, као део терапијског режима самосталне *ВМТ*, али и код пацијената који се упућују на КАЕ или КАС, и то и пре- и постоперативно. Код асимптоматских пацијената који су нетолерантни на статине, препоручује се терапија *PCSK9* инхибиторима, а симптоматским пацијентима који помоћу статина не достигну циљне вредности липида, по новој препоруци уведеној 2023, преписује се езетимиб, док *PCSK9* инхибитори могу да се преписују и овим пацијентима у случају нетолеранције статина, са или без езетимиба (11).

Национални водич Републике Србије из 2013. године дели ове препоруке са европским водичем, и у њему су јасно наведене и циљне вредности *LDL*-холестерола од $2,60 \text{ mmol/L}$ са степеном препоруке I, уз навод да за пацијенте који су претходно доживели мождани удар ове вредности треба да буду $\leq 1,80 \text{ mmol/L}$, за шта је степен препоруке IIa. Са друге стране, у овом водичу није прецизирано који терапеутик треба увести у случају неефикасности или нетолеранције статина, већ само стоји да у том случају треба увести помоћна средства (1).

1.8.2. Хируршка терапија стенозе каротидних артерија

Резултати великих истраживања асимптоматске СКА, попут *ACST* студије, показали су да није могуће искључити ризик од можданог удара за све пацијенте на фармаколошкој терапији, упркос потврђеној користи од *ВМТ*, те да би код неких пацијената највећа корист била од инвазивног вида терапије (119). У ову сврху укључују се оперативне процедуре којима се постиже реваскуларизација каротида – КАЕ и КАС. Обе ове процедуре су профилактичке, а нису мере које лече узрок болести, тако да се одлука о упућивању пацијената на овакав вид терапије у великој мери ослања на процену ризика од можданог удара и процену односа користи и ризика од саме процедуре за датог пацијента (122).

У контексту користи и ризика од операције разматрају се фактори попут системских коморбидитета, претходне операције или радиотерапије, анатомских карактеристика каротидних артерија, старости и пола, док су критеријуми оцењивања ризика од можданог удара и даље актуелан предмет истраживања и тема научне дебате (129).

Ово је разлог великог неслагања националних водича по питању препорука за оперативни вид лечења СКА, при чему се она у највећој мери односе на лечење асимптоматских пацијената са умереном и тешком стенозом, док је индикација инвазивног лечења симптоматске СКА углавном општеприхваћена (124).

Поменуто разлижење у националним водичима се огледа и у разликама рутинске праксе широм света. Тако се на пример процењује да је проценат каротидних реваскуларизација које се спроводе на асимптоматским пацијентима у САД-у 90%, док је у Великој Британији око 15%, а у Данској 0% (124). Другачије и непотпуне дефиниције високог ризика од можданог удара које омогућавају различита тумачења доводе и до разлика у пракси у оквиру различитих институција у истој држави, чак и у пракси појединачних хирурга унутар исте институције. Тако се према истраживањима, проценат асимптоматских пацијената са <80% каротидне стенозе који се упућују на операцију креће од 0% до 100% у односу на појединачне институције и хирурге (130).

У закључку, иако су бројне велике студије спровођене у последњих 40 година доказивале предност инвазивних интервенција у односу на фармаколошку терапију код пацијената са СКА, многе новије студије су оповргавале ову тврдњу. Чињеница је да су и једне и друге

имале недостатке у дизајну или спровођењу, укључујући неуниформну селекцију испитаника, неуједначеност степена вештине укључених хирурга, затим неуједначеност примењиване фармаколошке терапије и проблем комплијансе, што је све могло да утиче на њихове крајње закључке (131). У сваком случају, тренутно не постоје препоруке засноване на доказима првог нивоа ни за то да је *ВМТ* довољна превентивна мера, али ни за то да хируршки приступ има већу корист у превенцији код асимптоматских пацијената (11, 118).

1.8.2.1. Каротидна ендартеректомија

КАЕ представља отворену хируршку процедуру приликом које се из стенозом захваћене заједничке или унутрашње каротидне артерије уклања каротидни плак (132). Упркос високој инвазивности и пратећим ризицима, докази о успешности ове процедуре у дугорочној превенцији можданог удара су веома добро утемељени, па је она усвојена у већини водича као први избор за пацијенте са процењеним високим ризиком од можданог удара који немају контраиндикације за ову процедуру (1, 11).

Тако је беневит од КАЕ за претходно симптоматске пацијенте са СКА установљен у великим студијама које су поставиле темеље смерницама за терапију ове болести, *NASCET* и *ECST*, где је показана предност ове процедуре у односу на терапију антиагрегационим лековима када је у питању смањење ризика од развоја можданог удара. Према резултатима *NASCET* студије, двогодишњи ризик од можданог удара после КАЕ је 9%, што је за 17% мање него на терапији аспирином, док је према *ECST* студији трогодишњи ризик за пацијенте са тешком стенозом после КАЕ био 15%, што је за 12% мање него на терапији аспирином (11).

Највећа студија која је испитивала беневит од КАЕ за асимптоматске СКА пацијенте, *ACAS*, показала је да је петогодишњи ризик од можданог удара после КАЕ 5%, што је било за 6% мање него у групи која се лечила само антиагрегационом терапијом, из чега се може закључити да је у свим овим студијама и на симптоматским као и на асимптоматским пацијентима показано релативно смањење ризика око 50% после КАЕ у односу на медикаментозну терапију (11).

Веома важан налаз ових студија била је зависност успешности КАЕ у превенцији можданог удара од присутног степена стенозе, како је демонстрирано да је смањење ризика било значајно веће код пацијената са тешком у односу на оне са умереном стенозом, док код пацијената са стенозом <50% уопште није показана корист од КАЕ (122).

Према националном водичу из 2013. године, инвазивна терапија СКА је апсолутно индикована код симптоматских пацијената са тешком стенозом под условом да је ризик од операције низак и да је предвиђена стопа морталитета и периоперативног можданог удара мања од 6%. У овом случају и када нема контраиндикација, као најбољи избор терапије препоручује се КАЕ. Препоруке овог водича за асимптоматске пацијенте наводе да се одлука о инвазивном лечењу разматра у контексту индивидуалних фактора попут присутних коморбидитета, очекиваног животног века и анатомских карактеристика артерије уз оцењивање односа ризика и добити од интервенције (1).

Када су у питању симптоматски пацијенти, препоруке националног водича су у складу са европским из 2023, с тим да се у европском водичу додатно прави разлика између пацијената са тешком стенозом, за које се каже да је под датим условима КАЕ препоручена, док под истим условима за пацијенте са умереном стенозом КАЕ треба размотрити. Европски водич такође додатно наводи да је КАЕ први избор за пацијенте старије од 70 година, као и за пацијенте којима се операција изводи у прве две недеље од појаве симптома (11).

За пацијенте са асимптоматском стенозом >60%, водич европског друштва наводи да се инвазивно лечење разматра само ако је присутан додатни ултразвучни или клинички показатељ високог ризика од можданог удара, под условом да је процењени ризик од можданог удара <3% (дакле још нижи него код симптоматских пацијената), и под условом да је очекивано преживљавање за пацијента дуже од 5 година. Такође, за асимптоматске пацијенте који имају тешку СКА и показују опадање когнитивне функције, операција не треба да се разматра осим ако се не установи узрочна веза когнитивних симптома и присутне стенозе. Оно што је посебно значајно истаћи је да се у овом најновијем водичу препоручује да процењивање присуства ултразвучних и клиничких фактора који указују на повећани ризик код асимптоматских пацијената треба да врши мултидисциплинарни тим, али се нигде не наводи прецизно и које су то карактеристике (11).

1.8.2.2. Каротидна ангиопластика

КАС је ендоваскуларна ангиопластична процедура постављања стента у стенозом захваћен део каротидне артерије која се изводи трансфеморалним или трансцервикалним приступом. Представља мање инвазивну алтернативу КАЕ, са очекиваним лакшим опоравком и препоручује се пацијентима који су услед присуства одређених анатомских карактеристика и коморбидитета под високим ризиком од компликација КАЕ (132, 133).

Национални водич из 2013. године наводи да је КАС индикована за симптоматске пацијенте са стенозом >70% под условом да је предвиђена стопа морталитета и перипроцедуралног можданог удара <6%, као и за асимптоматске пацијенте са тешком стенозом у присуству додатних карактеристика које указују на висок ризик од можданог удара, под условом да је стопа морталитета и перипроцедуралног можданог удара <3% и да је очекивани животни век након процедуре дужи од пет година, што је у складу и са препорукама водича европског друштва из 2023 (1, 11).

Главно ограничење за извођење КАС је висок ризик од компликација ендоваскуларног лечења, а пре свега перипроцедуралног можданог удара, који је посебно велики за одређене подгрупе пацијената, као што су они старији од 70 година и пацијенти чије анатомске карактеристике аорте, супраортних крвних судова и каротидне артерије попут високе калцификације и степена торзије отежавају безбедно извођење процедуре (133).

Ефикасност КАЕ и КАС у превенцији можданог удара код пацијената са СКА је поређена у великим студијама попут *SAPPHIRE (The Stenting and Angioplasty with Protection in Patients at High Risk for Endarterectomy)* и *CREST (The Carotid Revascularization Endarterectomy Versus Stenting Trial)*. *SAPPHIRE* студија је имала важне недостатке у дизајну и спровођењу, пре свега у вези са рандомизацијом пацијената, непотпуним информацијама о употреби антиагрегационе терапије међу испитаницима, искусношћу укључених хирурга и интересима спонзора из индустрије. Са друге стране, *CREST* студија је пратила много ригорозније протоколе, па се упркос томе што је и у њој постојала значајна разлика у употреби антиагрегационе терапије међу рандомизованим групама, она сматра најпоузданијом и најзначајнијом оваквом студијом. Ипак, закључак обе студије је био да нема разлике у ефикасности између КАЕ и КАС, мада је у *CREST* студији показана разлика у безбедности ове две процедуре. У њој је стопа периоперативног можданог удара била већа код симптоматских и старијих пацијената који су подвргнути КАС у односу на ову стопу при подвргавању КАЕ. Управо из овог разлога се у клиничкој пракси одлука о избору између КАЕ и КАС доноси пре свега на основу размотрених ризика од обе процедуре, при чему се пацијентима без контраиндикација за КАЕ, примарно препоручује она као безбеднија, док се

КАС препоручује као друга опција код пацијената који нису у повећаном ризику при интраваскуларној операцији (122).

1.9. Потенцијал серумских биомаркера у стенози каротидних артерија

Када је у питању потенцијална улога серумских биомаркера у СКА, акценат није на дијагностици. Дијагностика се у потпуности ослања на ултразвучно испитивање, а имајући у виду саму дефиницију болести, то и јесте једини и довољан вид дијагностиковања. Оно што је у главном фокусу унапређења бриге о пацијентима са СКА је предвиђање ризика од можданог удара и других будућих симптома, са циљем успешнијег доношења одлуке о упућивању пацијента на фармаколошку или хируршку терапију. На овом пољу постоји очигледна потреба за новим биомаркерима, што ултразвучним, што лабораторијским, и она је истакнута и у најважнијим клиничким водичима за СКА (1, 11).

У светлу овога важан је увид да је атеросклероза мултифакторска хронична болест која је присутна системски, а да је СКА њена локална манифестација, док симптоми чији ризик треба предвидети, настају нагло и условљено са оба ова фактора – и системском активношћу атеросклерозе и величином и грађом каротидног плака (110, 134). Уопштено гледано, ултразвучни параметри одражавају ризик који потиче од локалног аспекта атеросклерозе у каротидној артерији, а серумски биомаркери могу да рефлектују ризик који потиче од системске активности атеросклерозе. Ипак, интегрисање ултразвучних и серумских параметара у предвиђању ризика је комплексно зато што њихов однос није независан. Морфологија каротидног плака, како је у многим истраживањима показано, је сама по себи биомаркер системске активности атеросклерозе који говори и о ризику од развоја симптома услед руптуре плакова на другим локацијама (135, 136), али то није искључиво ни тако, јер је активност атеросклерозе динамична и склона другачијем току у различитим крвним судовима на шта утичу локални фактори попут карактеристика протока, суптилних разлика у грађи васкуларног зида, и локалном одговору имуних ћелија. Тако су могући и случајеви да се каротидни плак након одређене прогресије стабилизује на макроплану, док активност болести на системском нивоу и даље остаје висока и доводи до дестабилизације других плакова (137). Такође, стабилизовани плакови и без руптуре могу да доведу до симптома услед ерозије која може да настане под утицајем системских фактора од којих је најзначајнија инфламација (138).

Дакле, несумњиво је да је значај ултразвучног испитивања за предвиђање симптома веома велики и да је доступност каротидне артерије за ове неинвазивне методе визуелизације велика предност у односу на коронарну артеријску болест због могућности непосредног праћења промене морфологије плака као корисне информације у процени ризика. Ипак, пресудан утицај на ризик има и системска активност атеросклерозе која може да се процени на основу серумских биомаркера тако да би најбоље решење било користити обе ове врсте ресурса и интегрисати их у један приступ где би могли у комбинацији да дају значајније информације него појединачно (135).

Закључак је да дефинитивно постоји место за серумске биомаркере у унапређењу предвиђања ризика за пацијенте са СКА, али иако је ова потреба широко препозната, многе су и препреке на путу ка употреби серумских биомаркера у ову сврху. Из свега раније објашњеног о улози инфламаторног процеса у развоју симптома каротидног плака, јасно је да су од потенцијалних серумских биомаркера управо параметри инфламације они кључни показатељи ризика, а уз њих и пратећи биомаркери ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса (139). Ово поставља проблем специфичности, како су

инфламаторни молекули неизбежно укључени у многе друге физиолошке и патолошке процесе (140, 141). Такође, сложености проблема доприноси и то што се ови молекули налазе у комплексним односима где се често међусобно регулишу, док ниво свакога од њих зависи од више фактора и често у различитим окружењима они преузимају супротне улоге, па у једним условима делују дестабилишуће док у другим делују протективно (142–144). Ту је и чињеница да се многи од ових маркера појачано ослобађају при руптури плака, па је у ретроспективном дизајну истраживања тешко одредити да ли је њихов пораст у вези са ризиком од развоја симптома, или је само његов пратећи догађај (140). Наравно, веома су значајни и аналитички аспекти које треба превазићи зарад увођења ових серумских биомаркера у праксу, с обзиром да до сада за већину ових параметара не постоје стандардизоване и лако доступне методе, као ни референтне вредности (145).

С обзиром на све наведено, може се рећи да је пут до интеграције серумских биомаркера СКА у клиничку праксу дуг али неопходан у постизању свеобухватније процене ризика која би могла да води успешнијем избору терапијског приступа.

1.9.1. Реактанти акутне фазе

Протеини који као реактанти акутне фазе учествују у неспецифичној одбрани у стањима акутне инфламације могу да буду укључени у прогресију атеросклерозе ако су њихови нивои макар умерено повишени и у присуству хроничне нискостепене инфламације, када кроз хемотаксу и активацију леукоцита доприносе њеном одржавању. Такође, њихово проинфламаторно дејство може да утиче на дестабилизацију плака чиме протеини акутне фазе могу да буду укључени и у развој акутних симптома атеросклеротских болести, а осим тога, постоје и бројни докази да епизода акутне инфламације различитог узрока, праћена високим порастом протеина акутне фазе може да буде окидач за дестабилизацију и руптуру плака са последичном емболијом или тромбозом. Ово је основа по којој се протеини акутне фазе сматрају потенцијално веома корисним биомаркерима за предвиђање ризика од КВБ и њихових акутних компликација, иако не постоје поуздани докази о узрочној вези између протеина акутне фазе и руптуре или ерозије плака (146, 147).

Досадашња истраживања у овом правцу су била највише фокусирана на Ц-реактивни протеин (*енг. C-reactive protein, CRP*), који је најистраживанији од свих серумских параметара у контексту атеросклеротских болести, а осим њега до сада су значајан потенцијал показали и други попут пентраксина-3 (*енг. Pentraxin-3, PTX-3*) и серумски амилоид А (*енг. Serum amyloid A, SAA*). Такође је битно поменути и да је највећи број резултата истраживања за ове параметре добијен из популације пацијената са коронарном болешћу, док су истраживања на пацијентима са СКА знатно ређа, тако да су многе потенцијалне разлике у значају ових параметара у односу на локализацију атеросклерозе такође непознате (148).

1.9.1.1. Ц-реактивни протеин

Ц-реактивни протеин је протеин из фамилије пентраксина, лиганд-везујућих протеина који су зависни од калцијума. Убраја се у кратке пентраксине и састоји се од пет идентичних субјединица које су симетрично распоређене у виду прстена, а чине их негликозилирани полипептидни ланци (149).

CRP је позитиван реактант акутне фазе који се у највећој мери синтетише у хепатоцитима под транскрипционом контролом инфламаторних цитокина, пре свега *IL-6*, а затим и других попут *IL-1β* и *TNF-α*. Такође у значајно мањој мери може да се синтетише и локално у макрофагама, васкуларним глатким мишићним ћелијама и адипоцитима под дејством инфламаторних стимулуса (150).

У инфламацији *CRP* учествује у неспецифичној одбрани. Везује се за различите ендogene и екзогене лиганде након чега активира комплемент и промовише фагоцитозу од стране неутрофила и макрофага. Даље активира неутрофиле и моноците и стимулише ослобађање инфламаторних цитокина *IL-6*, *IL-1β*, *TNF-α* и хемоатрактаната попут моноцитног хемоатрактантног протеина-1 (енг. *Monocyte chemoattractant protein-1*, *MCP-1*), подстичући даљу инфламацију (151).

Осим у инфламацији, *CRP* као део имуног одговора учествује и у уклањању оштећених ћелија, опоравку ткива и зацељивању рана (152).

Наведене функције *CRP*-а у инфламаторном одговору су уско повезане и са његовом улогом у развоју, прогресији и акутним компликацијама атеросклерозе. Осим поменуте улоге у одржавању инфламације кроз регрутацију и активацију имуних ћелија, *CRP* доприноси ендотелној дисфункцији кроз смањење биоактивности *eNOS* и оштећење ендотелног гликокаликса, затим кроз индуковање протромботског стања стимулацијом ослобађања ткивног фактора, кроз смањење фибринолизе услед повећања активности инхибитора активатора плазминогена-1. Такође он делује и кроз ремоделовање екстрацелуларног матрикса стимулацијом ослобађања матриксне металопротеиназе-9 (енг. *Matrix metalloproteinase-9*, *MMP-9*) из леукоцита, као и кроз допринос преузимању *LDL*-холестерола од стране макрофага преко повећања експресије лецитину сличног рецептора за оксидовани *LDL* (енг. *Lecitine-like oxidized LDL receptor*, *LOX-1*) (153).

На основу резултата хистопатолошких анализа хуманих атеросклеротских плакова где се *CRP* локализује екстрацелуларно, у близини липидних депозита, претпоставља се да он доспева у плак везан са *LDL*-холестеролом у комплексу који се касније фагоцитује од стране макрофага и постаје део некротичног језгра плака (150).

Као серумски маркер атеросклерозе, *CRP* је најистраживанији инфламаторни молекул чија је веза са различитим КВБ показана у бројним епидемиолошким и клиничким истраживањима (148). Тако су различите студије показале да је *CRP* независни предиктор КВБ (154), да корелира са обимом атеросклерозе (153), али и да има улогу у руптури нестабилног плака (154, 155), а најјаче потврђен је потенцијал *CRP*-а као предиктивног биомаркера за будуће кардиоваскуларне догађаје, показан у око 20 различитих проспективних студија (155). Тако је у великим проспективним и епидемиолошким студијама ниво *CRP*-а доведен у везу са будућим развојем možданог удара како код пацијената са СКА и другим КВБ, тако и код здравих особа (144, 156).

Ипак, као што је случај са свим инфламаторним параметрима, узрочна веза између *CRP*-а и атеросклерозе се доводи у питање и поред обиља резултата истраживања на ову тему (148, 154, 155, 157). Разлог је у контрадикторности добијених резултата и у ограничењима

различитих типова студија тако да тренутно не постоји довољно јака основа за тврђење праве каузалности између нивоа *CRP*-а и кардиоваскуларних догађаја. У сваком случају, одсуство узрочне везе не спречава употребу *CRP*-а као предиктивног биомаркера, у чему његов потенцијал јесте показан (148).

У контексту атеросклерозе, *CRP* је највише истраживан код пацијената са коронарном болешћу где је показано да има предиктивну вредност за будући развој болести, као и да може да се користи за процену ризика од руптуре плака (149, 153).

У вези са СКА, са повећаним нивоом *CRP*-а показан је повећан ризик од развоја каротидне атеросклерозе (158), такође постоје и налази његове асоцијације са присуством и прогресијом болести (154), показано је и његово присуство у новоформираним крвним судовима и имуним ћелијама унутар активног плака (159), као и корелација са вулнерабилношћу плака (160), а такође и веза са ризиком од možданог удара (140, 143) и ризиком од рестенозе након КАЕ (161).

1.9.1.2. Пентраксин-3

Попут *CRP*-а, и *PTX-3* припада фамилији пентраксина и ова два протеина имају хомологне карбокси-терминалне регионе, док је дужина аминокиселинског региона скоро двоструко већа код *PTX-3* у односу на *CRP*, због чега се он сврстава у дуге пентраксине. *PTX-3* се синтетише и депонује у виду мономера који се након ослобађања организују у пентамерну структуру која је сијализована у различитом степену у зависности од тренутног стања инфламације (162).

За разлику од *CRP*-а, продукција *PTX-3* није индукована од стране *IL-6* и не одвија се у јетри, већ одговара на друге инфламаторне сигнале и продукује се локално у великом броју ткива. Тако се он синтетише под контролом транскрипционог фактора *NF-κB* у одговору на стимулацију од стране *IL-1β*, *TNF-α* и лиганата за Толу сличан рецептор (енг. *Toll-like receptor, TLR*) у моноцитима, ендотелним ћелијама, фибробластима, глатким мишићним ћелијама, адипоцитима и др. У полиморфонуклеарним ћелијама, пре свега неутрофилима, синтетисани *PTX-3* се депонује интрацелуларно у гранулама из којих се ослобађа у стању инфламације (162, 163). Као протеин акутне фазе, расте још брже од *CRP*-а и достиже пик за 6–8 сати од акутне инфекције. Као део одговора урођеног имунитета укључен је у активацију комплемента класичним и лецитинским путем, али има и могућност спречавања активације комплемента кроз интеракцију са факторима *H* и *C4b*. Има и способност активације макрофага што доводи до повећане фагоцитозе и уклањања оштећених ћелија, као и секреције инфламаторних цитокина (162).

Ефекти које остварује *PTX-3* утичу и на ендотелну функцију, доприносећи развоју и прогресији атеросклерозе. Тако ометањем функције цитоскелета ендотелних ћелија *PTX-3* спречава њихову деобу, затим омета синтезу азот-моноксида и његову молекуларну сигнализацију, а стимулише синтезу матриксних металопротеиназа и својим индиректним ефектима повећава генерацију реактивних врста кисеоника (164).

По питању потенцијалне улоге као биомаркера у КВБ, за *PTX-3* се везују контрадикторни докази и опречни ставови, пре свега зато што још увек није разјашњено да ли у стању хроничне инфламације ниског степена он помаже њеном одржавању, да ли је изван било какве механистичке повезаности, или је чак део протективног одговора на њу (162). Са једне стране показан је његов значајно виши ниво код пацијената са коронарном и периферном артеријском болешћу (163), као и висока експресија унутар атеросклеротског плака где је

локализован у зонама са макрофагама и ендотелним, али не и глатким мишићним ћелијама (162, 165). Многе студије су повезале *PTX-3* са вулнерабилним фенотипом плака (162, 163), а неке су показале и његов пораст у циркулацији након акутних догађаја попут инфаркта миокарда и možданог удара (162, 166).

Са друге стране, постоје и многи докази, пре свега из студија на животињама, о улози *PTX-3* у ограничавању прекомерне инфламације, опоравку и зацелењу ткива. Показан је и његов *in vivo* атеропротективни ефекат, како су у једној студији мишеви дефицијентни за *PTX-3* развијали веће атеросклеротске лезије са већом инфилтрацијом леукоцита, вишим степеном инфламације и депозиције комплемента (163). Додатно је показано да неки антиинфламаторни цитокини, попут *IL-10* стимулишу експресију *PTX-3*, док је неки проинфламаторни сигнали попут интерферона- γ (енг. *Interferon- γ* , *IFN- γ*) смањују (165). Такође је показан и антиангиогени ефекат који *PTX-3* остварује преко неутрализације фибробластног фактора раста 2 (*Fibroblast growth factor 2*, *FGF2*), а примећена је и позитивна корелација *PTX-3* са *HDL*-холестеролом и адипонектином (162).

Противречност ових резултата може да се објасни разликама у типу студије и тиме да су можда различите улоге *PTX-3* изражене физиолошки и у присуству болести, односно у раној и унапредовалој атеросклерози. Тако је на пример у једној студији демонстрирано да су рани извор *PTX-3* у плаку неутрофили, и да *PTX-3* ослобођен из неутрофилних гранула инхибира агрегацију тромбоцита и експресију адхезивних молекула, док се у каснијим фазама *PTX-3* примарно ослобађа из макрофага и ендотелних ћелија и испољава проинфламаторни ефекат (162).

У сваком случају, наведени налази захтевају даља разјашњења и *PTX-3* је и даље актуелни предмет истраживања. На пољу каротидне стенозе, за *PTX-3* не постоји много резултата и за сада је показана његова корелација са дебљином каротидне интима медије у почетној фази развоја благе стенозе (162), затим да је његов ниво у локалном узорку из каротидне циркулације значајно виши него у системском што говори о локалној продукцији у СКА (167), а највише има налаза који повезују *PTX-3* са присуством вулнерабилног плака (143).

1.9.1.3. Серумски амилоид А

SAA је фамилија малих протеина од којих су *SAA1* и *SAA2* протеини акутне фазе, *SAA3* постоји само као псеудоген који се не експримира код људи, а *SAA4* је конститутивно присутан у занемарљиво малим количинама у оквиру *HDL* честица, тако да се под термином *SAA* подразумевају збирно протеини *SAA1* и *SAA2*, који имају скоро идентичну структуру. Мономер *SAA* садржи четири α -хеликса организована у купасту структуру, од којих два садрже и хидрофобне и хидрофилне групе које омогућавају овом протеину асоцијацију са липидима. Као протеин акутне фазе, синтетише се у јетри под дејством инфламаторних сигнала попут *IL-6*, *IL-1 β* , *TNF- α* и *IFN- γ* када његов ниво расте и преко хиљаду пута (168). Иако је јетра главни извор *SAA* у стању акутне инфламације, он се такође ослобађа и локално у танком цреву, бубрезима, плућима, али и ендотелним, глатким мишићним ћелијама, макрофагама и адипоцитима (169), а претпоставља се и да је локална продукција главни извор *SAA* у стањима хроничне инфламације ниског степена, као на пример из адипоцита у гојазности (170, 171).

Као део одбране од инфекције *SAA* има улогу у препознавању образаца на бактеријским ћелијама, када се понаша као опсонин и помаже у преузимању патогена од стране леукоцита. Осим тога, има способност интеракције са различитим рецепторима попут *SR-B1*, *TLR2*, *NLRP3*, *AP-1*, *RAGE*, *FPRL1* преко чега може да утиче на ефлукс холестерола, индукцију

цитокина, активацију *NLRP3* инфламазома, функцију *NOS*, активацију *NF-κB* и стимулацију *MMP-9* (172).

У циркулацији се око 95% *SAA* синтетисаног у јетри налази у асоцијацији са *HDL* честицама што повећава његову стабилност, а само мали проценат мономера *SAA* циркулише слободан. На основу неколико студија, претпоставља се да везивање за *HDL* неутралише проинфламаторне ефекте које показују слободни мономери *SAA*, тако да постоји могућност да се преко везивања и дисоцијације са липидима заправо регулише деловање овог протеина, али и даље није разјашњено који све фактори могу да утичу на ово, као ни да ли се локално секретован *SAA* који није пореклом из јетре везује за *HDL* и да ли показује инфламаторне ефекте (168).

Умерени и перзистентни пораст *SAA* је примећен и у присуству хроничне инфламације ниског степена као што је случај код атеросклерозе, па тако бројни епидемиолошки подаци показују његову корелацију са метаболичким факторима ризика и повезују *SAA* са КВБ (170). Досадашњи резултати указују на то да за предвиђање ризика од будућег развоја КВБ и кардиоваскуларних догађаја *SAA* има потенцијал какав и *CRP*, а у једној студији је показано и да је он независно повезан са венским тромбоемболизмом у коронарној болести, док *CRP* није (169). Остаје отворено питање да ли је у основи ове везе са атеросклеротским болестима узрочна повезаност или је пораст *SAA* само пратећи феномен који може да се користи као биомаркер, иако су предложени бројни механизми којима *SAA* може да допринесе развоју и прогресији атеросклерозе, осим описане активације леукоцита и последичне секреције инфламаторних цитокина и хемоатрактаната (170).

Тако је у значајним *in vivo* студијама показано да је умерени и дуготрајни пораст *SAA* повезан са напретком атеросклерозе кроз повећање интраваскуларне ретенције *LDL*-холестерола захваљујући повећаној експресији бигликана услед активације трансформишућег фактора раста- β (енг. *Transforming growth factor- β , TGF- β*), а показано је и да *SAA* повећава експресију адхезивних молекула и проинфламаторних цитокина. У *in vitro* истраживањима показано је и да *SAA* стимулише ангиогенезу, а претпоставља се и да прекомерно везивање *SAA* за *HDL* у условима његове високе концентрације доводи до дисфункције *HDL* честица (171).

Доношење једнозначних закључака на основу ових истраживања је отежано бројним непознаницама везаним за *SAA*. Као прво, резултати *in vitro* студија нису потпуно поуздани, с обзиром да је тек недавно откривено да рекомбинантни *SAA* који је у њима коришћен показује проинфламаторне ефекте који изостају код *SAA* изолованог из биолошког материјала (168). Затим, *SAA* постоји у различитим изоформама које нису довољно окарактерисане, а њихов утицај може да буде значајан (172). Такође, осим што учествује у амплификацији инфламације, могуће је и да је *SAA* један од сигнала који негативном повратном спрегом заустављају инфламацију, па ова двојака улога у различитом окружењу може да отежава тумачење. Такође, и даље се не зна у којој се мери локално синтетисани *SAA* везује за *HDL* (168). Једна интересантна студија је показала и да је у гојазности значајан део *SAA* асоциран са липопротеинима који садрже апо-Б, што изостаје у одсуству гојазности, а може да утиче на метаболизам холестерола. Додатно се поставља и питање ткивно-специфичних ефеката овог протеина који нису детаљно испитани (169).

У вези са каротидном болешћу, подаци о *SAA* су прилично оскудни и за сад је показано само да су јако високе вредности (преко 10 *mg/L*) у асоцијацији са већим бројем нових церебралних лезија током КАС, да је виши ниво *SAA* повезан са прогресивном атеросклерозом, као и да је *SAA* виши код атеротромбоемболијског него код кардиоемболијског можданог удара (161).

1.9.2. Цитокини

Различити цитокини су главни посредници у комуникацији инфламаторних ћелија и осталих ткива који као сигнали служе прилагођавању имуног одговора тренутним потребама и као такви активно учествују у свим фазама развоја атеросклерозе. Сигнални путеви регулисани цитокинима доводе до експресије бројних других молекула укључених у процесе који се одвијају у активном плаку, па тако они представљају узводни сигнал у односу на већину других молекула који могу да буду потенцијални биомаркери атеросклерозе и из овог разлога је узрочна веза између цитокина и КВБ јасно установљена у бројним истраживањима за разлику од других серумских параметара. Ова узрочна веза је искоришћена у терапијске сврхе и постоји више лекова у фази клиничких испитивања, као и регистрованих лекова који утицајем на ниво одређених цитокина између осталог повољно утичу и на кардиоваскуларни ризик, али упркос томе, њихова улога као биомаркера још увек није јасна, захваљујући многим отежавајућим факторима. Као прво, цитокини не могу да буду специфични за атеросклерозу јер учествују у свим стањима у којима долази до активације имунитета, како физиолошким тако и патолошким. Такође, многи од њих имају улоге које нису потпуно разјашњене и често могу да имају и про- и антиатерогени ефекат у зависности од контекста, захваљујући веома сложеној регулацији. Осим тога, треба узети у обзир да они делују и локално на месту синтезе и системски, и да ова два нивоа њиховог дејства могу да имају потпуно различите ефекте. Додатно ограничење је и то што није установљена ни поуздана метода њиховог одређивања која је погодна за рутински рад (173).

1.9.2.1. Интерлеукин-6

IL-6 је најважнији члан суперфамилије *IL-6* у коју поред њега спада још неколико цитокина попут *IL-11* и инхибиторног фактора леукемије (енг. *Leukemia inhibitory factor, LIF*) који сви деле сличности у структури и интраћелијском сигналном путу (173). То је гликопротеин чија се структура састоји од једног ланца и има масу од 26 *kDa*, а пресудну улогу има у инфламаторном одговору где учествује у регулацији и урођеног и стеченог имунитета, као и у индукцији одговора акутне фазе. *IL-6* доводи до регрутације, активације и диференцијације неутрофила, а повећава и њихово преживљавање, као и преживљавање ћелија природних убица (енг. *Natural killer, NK cells*). Такође повећава регрутацију моноцита и Т ћелија, а има улогу и у контроли диференцијације Т ћелија. Овај цитокин је и главни сигнал који стимулише синтезу *CRP*-а у јетри, као и већине других позитивних реактаната акутне фазе (175). Секретује се примарно од стране инфламаторних ћелија, највише неутрофила и макрофага, али и од стране активираних Т и Б лимфоцита, у одговор на препознавање патогених образаца или на друге сигнале за активацију ових ћелија. Такође делимично је индукован и од стране других цитокина попут *IL-1*, *IL-1β* или *TNF-α*. Осим тога, продукује се и локално у многим ткивима као одговор на инфламаторно оштећење, па тако и у ендотелним и васкуларним глатким мишићним ћелијама под утицајем инфламаторних стимулуса, ангиотензина II, оксидативног стреса и васкуларног оштећења (176).

Секретовани *IL-6* даље делује преко два пута која су активна у различитим условима и делују на различита ткива са потенцијално другачијим ефектима. Класични пут подразумева везивање *IL-6* за свој специфични мембрански рецептор и даљи пренос сигнала преко трансдукционог протеина *gp130*. На овај начин *IL-6* делује само на мањи број ћелија које експримирају његов мембрански рецептор (хепатоците, неутрофиле, моноците, Т и Б ћелије) и у базалним нивоима остварује своје физиолошке функције у регулацији имуног одговора и регенерацији ткива. Са друге стране, цитокини ослобођени у епизодама јаке инфламације

стимулишу стварање солубилне форме рецептора за *IL-6* под дејством металопротеиназа које одвајају мембрански рецептор са мембране. Ова солубилна форма рецептора у циркулацији може да гради комплекс са *IL-6*, а овај комплекс може да оствари утицај на било коју ћелију која експримира *gp130*, па тако у стањима инфламације *IL-6* овим транс-сигналним путем делује на велики број ткива, укључујући и ендотел, глатке мишићне ћелије, адипоците и др. Досадашња истраживања показују да се већина штетних ефеката *IL-6* у неконтролисаном и хроничној инфламацији остварује овим путем (175).

Овај комплексан начин регулације деловања *IL-6* делимично отежава тумачење резултата *IL-6* измереног у циркулацији, и додатна разјашњења ових путева су тренутно циљ интензивног истраживања (152).

Многи ефекти *IL-6* су везани за ендотелну функцију и они представљају основу његове улоге у развоју и прогресији атеросклерозе. *IL-6* доводи до активације ендотелних ћелија, стимулише васкуларну продукцију цитокина и слободних радикала, смањује експресију *eNOS* (177), затим стимулише пролиферацију и миграцију, а смањује контрактилност васкуларних глатких мишићних ћелија. Такође има и прокоагулантно дејство кроз повећање експресије ткивног фактора на моноцитима и нисходно регулише антитромбин и протеин *S* (176).

У више студија је показано и његово присуство унутар атеросклеротског плака где се локализује са макрофагама и у близини рецептора за ангиотензин II типа 1, што упућује на потенцијалну улогу *IL-6* у дестабилизацији плака (155, 178).

За разлику од других инфламаторних сигнала нисходних у односу на *IL-6* за које се поставља питање узрочне везе са развојем атеросклерозе, за *IL-6* је она добро утврђена кроз различите геномске и студије Менделове рандомизације (176).

Ово је довело чак и до развоја терапија које циљају, примарно или секундарно, на супресију овог цитокина. Тако је у *CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study)* студији у којој је испитиван антиинфламаторни лек који смањује ниво *IL-1 β* , па последично у мањој мери и *IL-6*, показано да је снижење *IL-6* било независно повезано са смањењем стопе инфаркта миокарда и možданог удара (179), а тренутно је у току и велико клиничко испитивање, *ZEUS (Ziltivekimab Cardiovascular Outcomes Study)* студија, која истражује успешност моноклоналног антитела које блокира *IL-6* у смањењу стопе инфаркта миокарда, možданог удара и кардиоваскуларне смртности код пацијената са атеросклеротским болестима (180).

Упркос томе што је *IL-6* овако добра потенцијална терапијска мета, његова употреба као маркера за предвиђање ризика за сада показује више потешкоћа. Иако је до данас показано да ниво *IL-6* може да се користи за предвиђање будуће КВБ, генералне смртности, лошег исхода акутне коронарне исхемије, као и да је значајан предиктор прогресије плака (176, 181), многе студије нису потврдиле ове налазе, а чињеница да *IL-6* такође може да делује и анти-инфламаторно и помаже разрешењу инфламације, као и постојање аналитичких препрека додатно ограничава употребу *IL-6* као маркера ризика (152).

1.9.2.2. Фактор некрозе тумора- α

TNF- α је кључни проинфламаторни цитокин са плеотропним дејством који има улогу у регулацији имуног система кроз активацију сигналних путева који контролишу миграцију, пролиферацију, преживљавање и апоптозу имуних ћелија и тако учествује у процесима инфламације и оштећења ткива. Након синтезе уграђује се у мембрану као трансмембрански полипептид од 26 *kDa* који се затим под дејством *TNF- α* конвертујећењег ензима ослобађа у циркулацију као солубилни мономер од 17 *kDa*. Уобичајена форма *TNF- α* у циркулацији су хомотримери који се формирају од оваквих мономера. Активну улогу остварују и мембранска и солубилна форма овог цитокина и то преко два различита рецептора означена као *TNF- α* рецептор типа 1 (енг. *TNF- α receptor 1, TNFR1*) преко кога се остварује већина биолошких улога, и као *TNF- α* рецептор типа 2 (енг. *TNF- α receptor 2, TNFR2*) за који *TNF- α* има већи афинитет. *TNFR1* се експримира на већини ћелија и преко њега се индукује преживљавање или апоптоза ћелије, док је *TNFR2* експримиран само на неким класама леукоцита, ендотелним и ћелијама нервног система и његова активација не може директно да доведе до ћелијске смрти, већ је укључена у пролиферацију и имуномодулацију (182).

Примарни извор *TNF- α* су ћелије имуног система – макрофаге, лимфоцити и мастоцити, али и ендотелне, епителне, глатке мишићне ћелије, миоцити и остеокласти такође могу да га експримирају (142).

TNF- α је механистички укључен у бројне процесе повезане са развојем и прогресијом атеросклерозе преко интеракције са инфламаторним ћелијама, утицаја на ендотелну функцију, вазодилатацију и метаболизам глатких мишићних ћелија. Тако он доприноси генерисању реактивних врста кисеоника кроз локално повећање активности *NADPH*-зависних оксидаза, има утицај на смањење биорасположивости азот монооксида и преко смањења продукције и преко убрзања његове разградње, као и способност да индукује продукцију вазоконстриктора циклооксигеназним путем. Такође повећава пермеабилност ендотела кроз дестабилизацију цитоскелета ендотелних ћелија и разградњу гликокаликса и помаже задржавању *LDL* честица у субендотелу. Стимулација ендотелних ћелија од стране *TNF- α* повећава експресију ткивног фактора и адхезивних молекула и омета сигнални пут инсулина у овим ћелијама, доприносећи васкуларној инсулинској резистенцији, а такође може и да индукује њихову апоптозу. У васкуларним глатким мишићним ћелијама индукује продукцију матриксних металопротеиназа и подстиче миграцију и пролиферацију ових ћелија (142).

Како је ова каузална природа везе *TNF- α* са атеросклерозом добро утврђена, многа истраживања су била усмерена на то како да се она искористи или у својству биомаркера или у терапијске сврхе, међутим на овим пољима постоји неколико непревазиђених ограничења. Главна препрека за употребу *TNF- α* као биомаркера атеросклерозе, иако је показано да виши ниво овог молекула постоји у присуству КВБ и да је у вези са величином и стабилношћу плака (161), је непостојање поуздане методе која би одговарала рутинској пракси, као и ниска специфичност, тако да још није решено питање његове практичне употребе (183).

Терапија заснована на блокирању *TNF- α* је показала корист у смањењу оштећења након можданог удара у преклиничким студијама (184), а систематским прегледом литературе показано је и да успешно смањује кардиоваскуларни ризик код пацијената са реуматоидним артритисом (185), ипак употреба ове терапије је веома ограничена због тога што системска блокада *TNF- α* повећава ризик од срчане инсуфицијенције (142).

У закључку, *TNF- α* има велики потенцијал за даље истраживање, посебно у вези са можданим ударом, због своје локалне продукције и физиолошке улоге у нервном систему,

као и утврђене узрочне повезаности са атеросклерозом, због чега може да буде значајан и код пацијената са СКА. За сада у популацији пацијената са СКА нема много резултата везаних за овај параметар и није установљен начин на који он може да се искористи за предвиђање нестабилности плака и последичних симптома (184, 186).

1.9.2.3. Интерлеукин-1 β

IL-1 β је најбоље проучен цитокин из фамилије *IL-1* који може да делује удаљено од места синтезе, док се његова друга изоформа, *IL-1 α* , налази на површини ћелија и делује локално (187). *IL-1 β* је важан посредник урођеног имуног одговора укључен у пролиферацију, диференцијацију и апоптозу ћелија. Продукује се од стране различитих класа леукоцита и ћелија ендотела и епитела након индукције од стране бројних микробних продуката, молекуларних образаца патогена и молекуларних образаца оштећења, али и од стране других цитокина попут *IL-18* и *TNF- α* , док може и да самоиндукује сопствену продукцију (188). Синтезише се у неактивном прекурсорском облику од 31 *kDa* и активира се протеолитичком разградњом до пептида од 17 *kDa*. Ову активацију могу да катализују различити протеолитички ензими попут еластазе и неколико каспаза, али квантитативно је најзначајнија активација од стране каспазе-1 која се активира од стране инфламазома. Улога *IL-1 β* као молекула на раскрсници инфламације и атерогенезе види се управо на овом нивоу активације инфламазома. Осим што инфламазом може да буде активиран од стране патогених компоненти у акутној инфекцији, у присуству атеросклеротских лезија, кристали холестерола пореклом из плака такође могу да активирају инфламазом, а хипоксија и ацидоза које су често присутне локално у близини узапредовалог плака могу да повећају експресију инфламазома, што даље преко активације *IL-1 β* индукује и многе друге инфламаторне молекуле (187).

Циркулишући *IL-1 β* може да се веже за *IL-1* рецептор 1 и тако доведе до активације *NF- κ B* и *MAPK* сигналних путева који даље доводе до транскрипције гена за друге инфламаторне молекуле, што све резултује регрутацијом и активацијом леукоцита, односно појачавањем инфламаторног одговора. Такође *IL-1 β* може да се веже и за *IL-1* рецептор 2 који нема цитоплазматски домен, па може само да веже лиганд, али не и да спроведе било какав сигнал, тако да се везивањем за њега ефекат *IL-1 β* негативно регулише (189). Учешће *IL-1 β* у атерогенези остварује се преко путева активираних везивањем за *IL-1* рецептор 1. Тако он у ендотелним ћелијама индукује циклооксигеназу-2 и последичну синтезу простагландина, затим повећава индуцибилну форму *NOS*, повећава експресију других цитокина, хемокина, адхезивних и тромбогених молекула, а аутокринно може да повећа продукцију фактора раста пореклом из тромбоцита који стимулише пролиферацију васкуларних глатких мишићних ћелија (187).

Узрочна веза *IL-1 β* са атеросклерозом је показана и експериментално у бројним животињским студијама које где је његово инјектовање доводило до локалне хиперплазије здравих артерија код свиња, а код мишева са хиперлипидемијом доприносило развоју почетних лезија. Показано је и да је његова продукција у вези са дестабилизацијом плака, како је утишавање инфламазома у једној студији довело до формирања стабилнијих плакова са више колагена и глатких мишићних ћелија (190).

Ово је дало основу бројним клиничким испитивањима антиинфламаторних лекова који различитим механизмима смањују ниво и ефекат *IL-1 β* па могу да се користе код пацијената са аутоимуним али и другим инфламаторним болестима. Регистрована су три оваква лека, канакинумаб, анакинра и рилонацепт, док је за канакинумаб доказано и да повољно утиче на

кардиоваскуларни ризик. Канакинумаб је хумано моноклонско антитело које неутралише *IL-1 β* и његова ефикасност у секундарној превенцији инфаркта миокарда је испитивана у великој *CANTOS* студији на 10 000 испитаника који су имали претходни инфаркт миокарда и који су сви користили стандардну терапију високим дозама статина, аспирина и антихипертензива. Показано је да је код ових пацијената, без ефекта на ниво параметара липидног профила, употреба канакинумаба за 15% смањила стопу нефаталног инфаркта миокарда, можданог удара и кардиоваскуларне смрти (179).

Велика истраживања ексклузивно на пацијентима са СКА која укључују *IL-1 β* нису спровођена, па не постоји пуно података о његовој специфичној вези са овом болешћу. Свеједно, могуће је претпоставити да он има потенцијал у предвиђању можданог удара и код ових пацијената, како је један од исхода у поменутој клиничкој студији био и мождани удар. У тој студији је било показано да је стопа можданог удара била нижа са смањењем нивоа *IL-1 β* . У прилог потенцијалној предиктивној вредности *IL-1 β* за мождани удар код пацијената са СКА говори и чињеница да је локално синтетисан *IL-1 β* укључен у физиологију централног нервног система и да се ниво његове локалне продукције значајно мења у патолошким стањима на нивоу централног нервног система (189).

1.9.3. Ензими

Бројни ензими укључени у оксидативни стрес, инфламаторни одговор, метаболизам липида, регулацију васкуларног тонуса и ремоделовање састава атеросклеротског плака могу да имају промењен ниво код пацијената са СКА и да тако рефлектују интензитет активности ових процеса који су укључени у прогресију плака и ризик од руптуре. Многи су примери ензима који су испитивани као потенцијални биомаркери за предвиђање кардиоваскуларног ризика, али су истраживања специфично у популацији пацијената са СКА далеко малобројнија, и за сада не постоји консензус око конкретне употребе и једног оваквог маркера. Испитивање ензима у ове сврхе је додатно компликовано у односу на остале биомаркере зато што постоје непознанице везане за многе полиморфизме који потенцијално могу да утичу на активност испитиваних ензима, као и због тога што нема консензуса око мерења масе и активности за сваког од њих. Ово су разлози зашто је поређење резултата различитих студија и доношење обједињених закључака везано за различите ензиме као биомаркере СКА веома тешко (155).

1.9.3.1. Фосфолипаза А2 повезана са аполипопротеином

Фосфолипаза А2 повезана са аполипопротеином (енг. *Lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2*) је калцијум-независна серин липаза која катализује реакције хидролизе масних киселина са *sn-2* позиције фосфолипида. Има молекуларну масу од око 45 *kDa* и отворену конформацију места за везивање супстрата тако да може да делује на масне киселине различите дужине ланца у оквиру различитих фосфолипида. Откривена је *in vitro* као хидролаза која делује на активирајући фактор за тромбоците због чега је првобитно била претпостављена њена атеропротективна улога. *Lp-PLA2* се продукује од стране инфламаторних ћелија у циркулацији системски, али и локално у васкуларном ендотелу, а да би ниво локалне експресије *Lp-PLA2* у ендотелним ћелијама био значајан, потребно је да дође до њихове активације под дејством одговарајућег инфламаторног стимулуса (191). Секретована *Lp-PLA2* се у циркулацији везује за аполипопротеин Б-100 у оквиру различитих

липопротеинских честица тако да се око две трећине овог ензима у циркулацији налази везано за *LDL*, око једна трећина везано за *HDL*, а при високим концентрацијама *Lp(a)*, мерљива количина *Lp-PLA2* се везује и за ову честицу (192).

У оксидованим липопротеинским честицама, *Lp-PLA2* катализује ослобађање оксидованих неестерификованих масних киселина и настанак лизофосфатидилхолина. Оба ова продукта имају штетна дејства која могу локално да допринесу развоју и напредовању атеросклеротског плака. Оксидоване масне киселине покрећу инфламаторну каскаду индукујући експресију адхезивних молекула на ендотелним ћелијама и ослобађање цитокина и хемокина, свеукупно олакшавајући пролаз инфламаторних ћелија у субендотелни простор. Лизофосфатидилхолин је укључен у генерацију слободних радикала преко активације *NADPH* оксидазе и декупловања *eNOS*. Такође, у високим концентрацијама лизофосфатидилхолин утиче и на преживљавање ендотелних и васкуларних глатких мишићних ћелија индукујући апоптозу, што унутар плака резултује растом некротичног језгра и његовом дестабилизацијом. Наведене улоге чине *Lp-PLA2* посредником између оксидације липида и инфламације у процесу атеросклерозе, како су главни извор овог ензима унутар плака активирани макрофаге и преузете *LDL* честице, а главни производи његове активности доприносе одржавању инфламације, регрутацији нових макрофага и оксидативном стресу, што све индукује даљу продукцију *Lp-PLA2*. Додатно је изражен и споредни атерогени ефекат преко измене функционалности *HDL*-а која доводи до смањења протективног дејства оних честица које су носиоци *Lp-PLA2* (193).

Спроведена су бројна епидемиолошка истраживања у којима је *Lp-PLA2* испитиван као предиктор развоја атеросклерозе, али она нису дала једнозначне резултате (158). Са друге стране, многе проспективне студије на различитим здравим и популацијама пацијената су утврдиле да постоји значајан потенцијал *Lp-PLA2* у предвиђању кардиоваскуларних догађаја, укључујући и мождани удар. Пример су *The West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS)* (194), Ротердамска студија (195), *Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC)* (196), *Justification for the Use of Statin in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER)* (197), Брунико студија (198), *The Veterans Affairs HDL Intervention Trial (VA-HIT)* (199), и *Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID)* студија (200), а веза између активности *Lp-PLA2* и кардиоваскуларних догађаја је потврђена и у једној мета анализи (201).

Показано је и да генетски фактори који условљавају висину ензимске активности *Lp-PLA2* утичу на предиспонираност акутним коронарним догађајима (192), а инхибиција овог ензима је испитивана и у терапијске сврхе, али испитивани селективни инхибитор *Lp-PLA2*, дарапладиб, није показао ефикасност у смањењу ризика од коронарних догађаја (202).

Иако постоји обиље резултата добијених на групама пацијената са различитим КВБ, као и појединачно на пацијентима са коронарном болешћу, за *Lp-PLA2* не постоји много истраживања која су се фокусирали на пацијенте са СКА. Ипак, с обзиром да у наведеним студијама овај параметар јесте показао потенцијал у предвиђању можданог удара код КВБ, може се претпоставити да би ова повезаност могла да буде значајна и специфично код пацијената са каротидном атеросклерозом.

1.9.3.2. Мијелопероксидаза

Мијелопероксидаза (*енг. Myeloperoxidase, MPO*) је ензим из фамилије хем пероксидаза. Његова структура се састоји од два идентична мономера који имају по један гликозилирани тежак α ланац и по један лак β ланац и међусобно су повезани једном дисулфидном везом. Оба тешка ланца садрже по један молекул хема и место за везивање калцијума, а укупни протеин има масу од 146 *kDa*. Примарно се секретује из азурофилних гранула неутрофила где чини значајан проценат укупних протеина, а експримира се и у лизозомима моноцита одакле се губи након њихове диференцијације у макрофаге. Под патолошким условима какви постоје и у атеросклеротској лезији, показано је да се *MPO* ипак налази и у локално присутним макрофагама, које вероватно преузимају део секретованог ензима из неутрофила. Такође је показано да га експримирају и ендотелне ћелије и тромбоцити (203).

Основна улога *MPO* у неутрофилима је учешће у фагоцитози, како продукти активности овог ензима имају значајно антимикубно дејство. *MPO* катализује неколико различитих оксидативних реакција у зависности од доступних супстрата, а за његову активност је неопходно присуство водоник-пероксида чији је извор најчешће активност *NADPH* оксидазе (204). У реакцији *MPO* између осталог настаје и хипохлораста киселина која је веома реактивна и може да даје хлорисане секундарне продукте са остацима цистеина и метионина у бројним протеинима, тако доводећи и до инактивације неких важних ензима, а такође реагујући са глутатионом она доприноси и нарушавању оксидативне равнотеже. Различити продукти *MPO* доводе и до формирања модификованог *LDL*-а који може бити хлорован, нитрован или карбаминован, а све ове модификације повећавају преузимање *LDL*-а од стране *scavenger* рецептора на макрофагама. Карбаминовани *LDL* додатно има цитотоксично дејство и доводи до апоптозе ендотелних ћелија. Додатно и *HDL* честице могу да буду хлороване или нитроване од стране продуката реакција *MPO* и овакве честице услед измењене структуре аполипопротеина *A1* и измењене активности параоксоназе губе способност реверзног транспорта холестерола, као и своје анти-инфламаторно дејство, а повећавају експресију адхезивних молекула. Деловање *MPO* значајно доприноси и ендотелној дисфункцији кроз смањење биорасположивости азот-моноксида кроз интеракцију продуката активности *MPO* са самим азот-моноксидом, са *eNOS* и са аргинином. У ширем контексту сви ови механизми доприносе развоју атеросклерозе и дестабилизацији плака кроз оксидативно оштећење, разградњу колагена и еластина и апоптозу ендотелних ћелија (203).

Независна веза између нивоа циркулишуће *MPO* и присуства коронарне болести је утврђена у неколико студија (205, 206), а показана је и висока локална концентрација овог ензима на местима руптуре и ерозије плака (207, 208). Такође, проспективне студије су показале да *MPO* има предиктивни потенцијал за развој коронарне болести код здравих особа (209, 210), као и да може да допринесе предвиђању ризика од укупног и коронарног морталитета код пацијената са коронарном болешћу (211).

Осим у коронарној, ниво *MPO* је био виши у односу на здраву популацију и код других КВБ попут периферне артеријске и анеуризматске болести (204), као и након можданог удара, где је корелирао и са његовом тежином (212). Како у развоју догађаја који доводе до можданог удара, тако и у оштећењу мозга након њега, показано је да *MPO* има механистичку улогу посредовану продукцијом хипохлорасте киселине која делује индиректно цитотоксично на неуроне и астроците, а посредује и у оксидативном оштећењу крвно-мождане баријере и продуженој инфилтрацији неутрофила (213).

Ова механистичка веза са оштећењем након можданог удара је била и основа развоја инхибитора *MPO* са потенцијалном применом у опоравку од можданог удара, али због проблема са безбедношћу ових инхибитора уочених у претклиничким истраживањима, ни

један од њих није одобрен за клиничку употребу (213). Досадашња генетска истраживања нису дала дефинитиван одговор на питање узрочности везе између *MPO* и развоја можданог удара. Иако има студија које показују да је експресија одређених гена који повећавају активност *MPO* виша код пацијената који су доживели мождани удар него код здравих контрола (214), студије менделовске рандомизације нису успеле да ово потврде (211).

У закључку, потенцијал *MPO* у предвиђању ризика од можданог удара је показан као обећавајући (215), али питање његове конкретне употребе као биомаркера остаје нерешено што даје основе за даље испитивање његовог предиктивног потенцијала за развој можданог удара код СКА, посебно узимајући у обзир да нема много података који су добијени искључиво на овим пацијентима.

1.9.4. Рецептори

Многи кључни молекули у метаболизму липида, као и у инфламаторним, хемостатским и другим процесима укљученим у формирање, прогресију и дестабилизацију атеросклеротског плака су мембрански рецептори који су добро изучени и за које је механистичка веза са атеросклеротским болестима евидентна. Они од њих који постоје и у солубилној форми зато могу да представљају потенцијално корисне биомаркере атеросклеротских болести, и као такви они јесу предмет интензивног истраживања. Међутим, детаљни механизми ослобађања солубилних форми рецептора и њихове улоге су далеко мање познати, и на овом пољу има простора за много нових знања која су неопходна да би омогућила боље разумевање ових солубилних форми у функцији биомаркера. На првом месту је важно установити корелацију између нивоа експресије мембранских рецептора и концентрације њихових циркулишућих форми и у проспективним студијама показати асоцијацију ових концентрација са клиничким аспектима конкретних болести (143).

1.9.4.1. Лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL*-1

LOX-1 је један од *scavenger* рецептора који учествују у нерегулисаном везивању и интернализацији *LDL* честица. Присутан је на различитим ћелијама од којих су многе попут макрофага, тромбоцита и васкуларних глатких мишићних ћелија важне за развој атеросклерозе, али је од највећег значаја његово присуство на васкуларним ендотелним ћелијама где он представља главни *scavenger* рецептор. Тако се *LOX-1* највише експримира у ткивима богатим васкулатуром попут јетре, мозга, плућа и плаценте. Припада фамилији лектина Ц-типа и представља трансмембрански гликопротеин од 50 *kDa*. Иако је базална експресија овог рецептора ниска, усходно је регулишу бројни стимулуси: оксидовани *LDL*, хипергликемија, узнапредовали производи гликације, проинфламаторни цитокини попут *TNF- α* , *IL-1 β* , *IFN- γ* , *CRP*, лизофосфатидилхолин, и фактори повезани са хипертензијом попут механичког стреса услед убрзаног протока у крвним судовима, ангиотензина II и неких вазоконстриктора. Овај мембрански рецептор је подложен протеолизи у тзв. *NECK* региону који је лоциран у екстрацелуларном домену и на овај начин се ослобађа солубилна форма рецептора која нема биолошку активност, али за коју је показано да својом концентрацијом одражава експресију мембранског рецептора на ендотелу. Тачан молекуларни механизам ослобађања солубилне форме *LOX-1* није у потпуности расветљен, али се претпоставља да у њему важну улогу имају *TNF- α* конвертујући ензим, *IL-8*, *IL-18* и слободни радикали (216).

Из саме улоге *LOX-1* јасно је да је овај молекул умешан у саму основу формирања атеросклеротског плака кроз нерегулисано преузимање *LDL*-а директно у субендотелни простор. Подједнако је значајно и то што се на нивоу овог молекула инфламаторни сигнали директно повезују са депозицијом липида у ендотелу, а штавише, показано је и да активација овог рецептора након везивања лиганда доводи до даљег пропагирања инфламације. Везивањем лиганда за овај рецептор, активирају се интрацелуларни путеви који резултују индукцијом адхезивних молекула и матриксних металопротеиназа, као и ослобађањем супероксидног анјона, проинфламаторних цитокина и стимулацијом неоангиогенезе (217). Заиста, висока експресија *LOX-1* је претхоно описана на ендотелним ћелијама на месту формирања раних атеросклеротских лезија (218, 219), као и у вези са самим присуством фактора ризика попут хипертензије, хиперхолестеролемије и пушења (220), што додатно говори у прилог овој механистичкој вези. Ипак, питање може ли солубилна форма овог рецептора да се користи као биомаркер у одређеним атеросклеротским болестима остаје отворено.

У вези са тим, до сада је показано да је ниво *LOX-1* виши код пацијената након можданог удара у односу на здраве контроле (221, 222) и то одвојено у групама пацијената са различитим типом можданог удара – исхемијским и хеморагијским (222), а затим и да је ниво *LOX-1* виши код пацијената са лошијим функционалним исходом можданог удара (221). Највећи потенцијал солубилни *LOX-1* је показао као биомаркер код акутног коронарног синдрома као значајан предиктор вулнерабилности коронарног плака, како је у једној студији уочено да његов ниво након инфаркта миокарда достиже пик значајно раније него тропонин Т (223). Постоје и резултати других студија који указују на његов прогностички значај у инфаркту миокарда (224, 225) као и налази да је његов ниво виши код пацијената са акутним коронарним синдромом који је рекурентан (225).

Наведени резултати охрабрују даље истраживање, али да би *LOX-1* могао да се укључи у рутинску праксу као биомаркер потребно је решити многе непознанице везане за тачан механизам и све факторе који утичу на ослобађање солубилне форме рецептора у циркулацију, затим и да се дефинитивно установи јачина корелације солубилне и локално експримиране форме, а пре свега да се дефинише у ком клиничком сетингу он може да буде користан (145). Код пацијената са СКА још увек не постоји довољно истраживања на ову тему (226) и с обзиром да је већина досадашњих истраживања везана за акутне кардиоваскуларне догађаје, потребне су посебно дизајниране студије које би могле да укажу на улогу овог потенцијалог биомаркера у праћењу хроничног тока препознате болести, што би могло да нађе примену код пацијената СКА.

1.9.4.2. Рецептор за активатор плазминогена сличан урокинази

Рецептор за активатор плазминогена сличан урокинази (енг. *urokinase-type plasminogen activator receptor, uPAR*) је протеин који се експримира на мембрани различитих врста ћелија укључујући пре свега моноците, макрофаге, неутрофиле, активирани Т лимфоците, али и ендотелне ћелије, фибробласте, васкуларне глатке мишићне ћелије, кардиомиоците и ћелије реналног тубула (227).

Везивањем његовог лиганда, активатора плазминогена урокиназног типа, долази до активације овог рецептора и даљег превођења плазминогена у плазмин и последичне активације фибринолизе, што је његова главна улога. Настали плазмин не доводи само до деградације фибрина, већ и екстрацелуларног матрикса кроз активацију матриксних металопротеиназа (228), а интрацелуларни пут са којим је *uPAR* повезан кроз регулацију

везивања интегрина учествује и у ћелијској сигнализацији, у модулацији ћелијске адхезије, миграције и пролиферације. Ово све омогућава инфилтрацију имуних ћелија у инфламацији, а у присуству атеросклеротског плака иста ова дејства повећавају његову склоност ка руптури (229).

Експресија овог рецептора је ниска у базалним условима, а расте у инфламацији у вези са пролиферацијом и активацијом леукоцита, тако да *uPAR* представља једну од спона између инфламације и последичне дестабилизације плака (230).

За мембрану ћелије *uPAR* је везан преко гликозил фосфатидилинозитола, а у својој структури има три хомологна домена са посебним везним регионом између прва два. И овај везни регион је као и гликозил фосфатидилинозитол подложен дејству различитих протеаза укључујући плазмин, катепсин Г, матриксне металопроотеиназе и фосфолипазе Ц и Д (које делују само на гликозил фосфатидилинозитол). Тако се дејством ових протеаза ослобађа солубилна форма рецептора, *suPAR*, која може да има различиту структуру у зависности од места протеолизе и степена гликозилације (229).

Дакле, повећање нивоа солубилне форме рецептора је условљено повећаном продукцијом леукоцита на којима се *uPAR* највише испољава, а затим продукцијом цитокина попут TNF- α , IL-1 β , IL-8, васкуларног ендотелног фактора раста као и фактора раста пореклом из тромбоцита који сви индукују његову експресију. Додатно порасту нивоа *suPAR* доприноси и појачана секреција различитих протеаза које делују на мембранску форму рецептора. Дакле, може се приметити да су сви наведени фактори у вези са инфламаторним и пролиферативним процесима (228, 229).

Иако се о биолошкој улози солубилне форме рецептора мање зна него о улози мембранске форме, за сада је извесно да она делује хемотаксно за моноците, а претпоставља се и да спречава ефероцитозу неутрофила и промовише ангиогенезу (229, 231).

С обзиром на наведене особине овог молекула, *suPAR* се сматра маркером хроничне системске инфламације и као такав је изучаван у контексту различитих болести где је показано да може да буде добар предиктивни маркер, иако нема значаја као дијагностички.

Тако је претпостављено да ниво *suPAR* у системској циркулацији представља одраз хроничног оштећења органа какви су ендотелна дисфункција или оштећења микроциркулације, а што претходи клиничкој манифестацији болести. На основу тога предложено је да он има предиктивну улогу у ДМ, бубрежним болестима, атеросклерози и канцеру (231).

У оквиру овога, налази о потенцијалу који *suPAR* има као маркер у КВБ су бројни. У великој проспективној студији је показано да *suPAR* може да предвиди кардиоваскуларне догађаје код опште популације (232), а у једној мета анализи да може да предвиди и развој КВБ код бубрежних пацијената (233). Такође, налази студије на пацијентима са периферном артеријском болешћу указују на то да је ниво *suPAR* у вези са развојем компликација и кардиоваскуларним морталитетом (234), а веза са морталитетом је показана и код пацијената са акутним инфарктом миокарда (235). И студија у којој је *suPAR* комбинован са *SCORE* (енг. *Systematic Coronary Risk Evaluation*) моделом је показала да укључивањем *suPAR* предвиђање кардиоваскуларног ризика путем овог модела унапређује (231). Ове резултате подржавају и хистолошке студије у којима је потврђена висока експресија *suPAR* у вези са инфламаторном активношћу унутар атеросклеротског плака, како се он претежно локализовао у близини места руптуре плака и корелирао позитивно са макрофагама, а негативно са садржајем глатких мишићних ћелија у плаку (228).

Код пацијената са СКА је до сада показано да је *suPAR* у вези са присуством плака, са симптоматском стенозом и нестабилним плаком (228, 236), да присуство плака и високе вредности *suPAR* предвиђају ризик од можданог удара независно од традиционалних фактора ризика (237), али ови резултати долазе из мањих студија, док опсежније студије специфично на овој популацији не постоје.

Важно је истаћи и да *suPAR* посебно привлачи пажњу захваљујући додатним повољним карактеристикама које има као биомаркер, а које се највише односе на његову стабилност у односу на бројне утицаје. На првом месту је особина овог параметра да остаје непромењен током и након акутних догађаја какав је инфаркт миокарда (231), затим то што нема циркардијалне варијације, није у вези са телесном температуром, менструалним циклусом, употребом антиинфламаторних лекова, као и то што задржава прогностичку вредност и код пацијената са ниском гломеруларном филтрацијом, упркос томе што се секретује бубрезима и измењен је код бубрежних пацијената (229). Додатно може бити од значаја и то што се у мерљивим количинама секретује у урину и саливи (227).

1.9.5. Адхезивни молекули

Адхезивни молекули су различити специјализовани протеини који се експримирају на површини ендотела где учествују у „котрљању“, адхезији и коначно трансмиграцији инфламаторних ћелија кроз ендотел. Њихову експресију као последицу инфламације индукују различити цитокини, реактивне врсте кисеоника и транскрипциони фактори, тако да је она повишена у присуству фактора ризика као што су пушење, артеријска хипертензија, дислипидемија и дијабетес мелитус. Хронична активација ендотела под утицајем ових стимулуса присутна је у раним фазама развоја атеросклерозе, а одликује се и високом експресијом адхезионих молекула који су укључени у селективну регрутацију леукоцита из циркулације у унутрашњост атеросклеротских лезија, доприносећи даљем оштећењу ендотела. Адхезиони молекули на активираним ендотелу могу даље да стимулишу секрецију цитокина, одржавајући инфламацију, а такође се и протеолитички ослобађају у циркулацију у солубилној форми која се састоји од њихових екстрацелуларних домена. Неке од ових солубилних форми адхезионих молекула су присутне у мерљивим концентрацијама чак и у стању блаже инфламације, што даје основу за њихово испитивање у својству потенцијалних биомаркера различитих болести у којима се јавља хронична нискостепена инфламација, укључујући и атеросклерозу. Докази из досадашњих истраживања на ову тему су бројни, али супротстављени и неопходни су нови налази из опсежнијих студија на различитим популацијама. Механистичка основа повезаности нивоа експресије адхезионих молекула и прогресије атеросклеротских болести свакако постоји, али фактори који потенцијално утичу на протеолитичко ослобађање солубилних форми остају неразјашњени, тако да улога солубилних адхезионих молекула као потенцијалних биомаркера остаје значајна тема истраживања (143, 238).

1.9.5.1 Селектин-П

Селектин-П (*енг. Selectin-P, Sel-P*) је ћелијски адхезиони молекул који се синтетише у ендотелним ћелијама где се депонује у *Weibel-Palade*-овим телашцима, и у тромбоцитима где се депонује у α -гранулама, а по активацији ових ћелија се фосфорилише и транслоцира на њихове мембране (239). Има молекуларну масу од 140 *kDa* и припада фамилији селектина који су сви трансмембрански протеини који садрже калцијум-зависни лектински домен, модул сличан епидермалном фактору раста, трансмембрански домен и цитоплазматски реп (240).

Лектински домен овог селектина има јак афинитет везивања за П-селектин гликопротеински лиганд-1 (*PSGL-1*), молекул конститутивно експримиран на моноцитима, неутрофилима, еозинофилима и хематопоезним прогениторима. Интеракција између *PSGL-1* и *sel-P* експримираног на активираним ендотелу има важну улогу у иницијацији адхезионе каскаде и тако омогућава васкуларну регрутацију леукоцита током инфламаторног одговора. На овај начин и активирани тромбоцити везани за ендотел могу да везују леукоците помоћу *sel-P* даље појачавајући њихову адхезију. Формирање агрегата тромбоцита и леукоцита овим механизмом представља њихов најзначајнији вид интеракције која утиче и на активност леукоцита. Тако је показано да везивање тромбоцитног *sel-P* за *PSGL-1* на моноцитима и неутрофилима повећава не само њихову адхезиону способност, већ и фагоцитну моћ неутрофила и продукцију цитокина од стране моноцита (241).

Ниво мембранске експресије *sel-P* се повећава при повреди ендотела која га активира и која доводи и до активације тромбоцита, али и у хроничној инфламацији када се ендотел активира услед оштећења, а тромбоцити услед стимулације њихових инфламаторних рецептора, попут фрактакалинског рецептора који везује фрактакалин експримиран на ендотелним ћелијама под инфламацијом (242). Показано је и да је редистрибуција *sel-P* из депоа до мембране индукована од стране тромбина, хистамина и компонената комплемента, као и да је експресија *sel-P* повећана у стањима хипертензије и хиперлипидемије (141).

У стањима која повећавају експресију *sel-P* често је повећана и активност протеаза које могу да ослободе ектоплазматски део *sel-P* као циркулаторну форму. На овај начин *sel-P* доспева у циркулацију као солубилна форма која потиче и из тромбоцита и из ендотела, а чија концентрација одражава ниво експресије у овим ткивима. Да ли солубилна форма *sel-P* може да се веже за *PSGL-1* на леукоцитима и оствари биолошки ефекат и даље није јасно утврђено, али се претпоставља да не може, с обзиром да је солубилна форма *sel-P* мономерна, док је на мембрански *sel-P* активан као димер. Иако је претходно у неколико *in vivo* истраживања указано на могућу биолошку активност и солубилног *sel-P*, њихови закључци су били оспоравани услед присутних методолошких недостатака (243, 244).

У светлу свега наведеног, *sel-P* може да се посматра као молекул који пре свега има улогу у интеракцији тромбоцита, леукоцита и ендотела због чега се из аспекта КВБ ниво његовог солубилног облика сматра потенцијалним биомаркером који повезује тромбозу и инфламацију (241), а у литератури је најчешће истраживан као маркер активације тромбоцита и атеротромботских болести (245).

Докази о потенцијалу *sel-P* као биомаркера КВБ су бројни и утврђени у различитим врстама студија. Тако је у проспективном истраживању показано да је концентрација солубилног *sel-P* у здравој популацији повезана са повећањем *cIMT* као маркера субклиничке атеросклерозе (246), а најзначајнији су резултати који указују на повезаност нивоа солубилног *sel-P* и будућих кардиоваскуларних догађаја, како код здраве популације, тако и код пацијената. Тако је анализом резултата добијених у проспективној *Women's Health* студији утврђено да

се са повећањем вредности *sel-P* за један квартил, ризик од будућег кардиоваскуларног догађаја повећава за 28% (247). Додатно, у рандомизованој контролисаној студији на пацијентима са хипертензијом (248), као и у ретроспективној студији на пацијентима са претходном тромбозом (249) показана је веза концентрације *sel-P* и инфаркта миокарда.

Иако не постоје опсежна истраживања спроведена искључиво на пацијентима са СКА, неколико студија је дало значајне резултате који повезују *sel-P* са исхемијским možданим ударом. Тако постоје налази повећане експресије *sel-P* на тромбоцитима код пацијената након исхемијског možданог удара, при чему је ниво експресије значајно виши код пацијената са лошијим исходом у односу на оне са бољим (250). Код пацијената са СКА је ниво солубилног облика *sel-P* у једној мањој студији пресека био виши него код контрола (251), а у другој мањој студији која је заједно испитивала симптоматске и асимптоматске пацијенте подељене у две групе према присуству микроемболијских сигнала, показано је да је солубилни *sel-P* био виши код оних са микроемболијским сигнаlima него код оних без (252).

1.9.5.2. Селектин-Е

Селектин-Е (*Sel-E*) је још један адхезивни молекул из фамилије селектина који се експримира на васкуларном ендотелу. Експримација *Sel-E* је конститутивна у хематопоезним ткивима, док је на остатку ендотела индукована у стању оксидативног стреса и од стране инфламаторних стимулуса: *TNF- α* , *IL-1 β* и липополисахарида (253). Структура овог протеина се састоји од аминокиселинског терминалног, калцијум-зависног лектинског домена, домена сличног епидермалном фактору раста, шест понављајућих домена сличним регулатору комплемента, трансмембранског домена и карбокси-терминалног цитоплазматског репа. Највећа разлика у структури *Sel-E* у односу на *Sel-P* је у броју понављања домена сличног регулатору комплемента, који је мањи код *Sel-E*, што условљава нешто слабије везивање лиганда (254). Са површине ћелија *Sel-E* може да се протеолитички ослободи у својој солубилној форми, али је сам механизам овог ослобађања недовољно истражен, па тако није позната ни протеаза која га врши, као ни услови под којима долази до ослобађања солубилне форме (253).

У хематопоезним ткивима *Sel-E* учествује у пролиферацији стем ћелија, али главну улогу има у хемотакси и адхезији леукоцита на ендотел у стању инфламације. *Sel-E* се синтетише *de novo* по индукцији одговарајућег гена од стране инфламаторног стимулуса, и након неколико сати се испољава на ендотелу где служи као рецептор за лиганде на леукоцитима, *PSGL-1*, *CD44* и Е-селектин лиганд-1 (*ESL-1*). Везивањем ових лиганда долази до успоравања и „котрљања“ леукоцита, као и активације интегрина који омогућавају коначно чврсто везивање и миграцију леукоцита кроз ендотел. Везивање *Sel-E* са одговарајућим лигандима доводи до активације интрацелуларних путева који делују на организацију цитоскелета и регулацију функције леукоцита, учествујући у њиховој активацији и даљем инфламаторном одговору. Након приближно 24 часа, *Sel-E* се уклања интернализацијом у ћелије и протеолитичким ослобађањем (253).

Из овог разлога *Sel-E* се може сматрати маркером активације ендотела у одговору на инфламацију у различитим болестима где се она јавља, укључујући и атеросклерозу. Више вредности *Sel-E* су примећене у присуству различитих фактора ризика за КВБ као што су хипертензија, хиперлипидемија, гојазност, неалкохолна масна јетра и дијабетес мелитус (255). До сада највише доказа постоји за узрочну везу између *Sel-E* и венске тромбозе, где је на мишићем моделу показано да *Sel-E* служи као важан регулатор у формирању тромба (256), што је довело и до развоја терапеутика који деловањем на *Sel-E* спречавају тромбозу (257).

Веза између нивоа солубилног *Sel-E* и кардиоваскуларних догађаја је утврђена и у проспективним студијама на пацијентима са крајњим стадијумом бубрежне инсуфицијенције код којих је вредност *Sel-E* у највишем терцилу била повезана са фаталним и нефаталним догађајима у наредне две године (258) и на пацијентима са атријалном фибрилацијом где је након праћења од годину и по дана вредност *Sel-E* у највишем терцилу такође била повезана са развојем кардиоваскуларних догађаја (259). И у различитим студијама пресека показан је виши ниво *Sel-E* код пацијената са коронарном болешћу у односу на контроле, као и у популацијама испитаника који су доживели инфаркт миокарда, мождани удар или ТИН, у односу на оне који нису (255).

Значајно је мањи број студија са фокусом на СКА, али је у њима показан виши ниво *Sel-E* у циркулацији испитаника са атеросклерозом заједничке каротиде (260), са плаком на почетном делу унутрашње каротиде (261), као и асоцијација овог параметра са дебљином каротидне интима медије (260) и асоцијација генетске варијанте овог протеина са присуством СКА (262).

1.9.5.3. Васкуларни ћелијски адхезиони молекул-1

VCAM-1 је адхезивни молекул који учествује у чвршћем везивању и трансмиграцији леукоцита кроз ендотел који се дешавају након почетне фазе котрљања посредоване селектинима (263). То је трансмембрански сијалогликопротеин који има масу око 110 *kDa* и припада суперфамилији имуноглобулина. Састоји се од кратког аминокиселинског терминалног интрацелуларног дела, трансмембранског домена и екстрацелуларног дела који се састоји од домена сличних имуноглобулинима, којих у зависности од алтернативног исецања може да има шест или седам и унутар којих су присутне петље формиране дисулфидним везама (264). *VCAM-1* се у највећој мери експримира на активираним ендотелним ћелијама, али у различитим хроничним инфламаторним стањима присутан је и на макрофагама, фибробластима, миобластима, купферовим ћелијама, ћелијама канцера и другим. Његова експресија је индукована као последица активације путева *NFκB*, *AP-1* и интерферон регулаторног фактора-1 од стране проинфламаторних цитокина у условима јаког притиска протока на крвни суд, али и од стране оксидованог *LDL*-а, 25-хидрохолестерола, агониста *TLR*, оксидативног стреса и узнапредовалих продуката гликације. Лиганди преко којих се леукоцити везују за *VCAM-1* су различити интегрини од којих је најважнији $\alpha 4\beta 1$, затим галектин-3 и остеонектин, а њихово везивање активира два различита пута од којих један доводи до продукције реактивних врста кисеоника, активације матриксних металопроотеиназа и дисрупције ћелијских спојева, док други пут резултује формирањем актинских влакана, свеукупно олакшавајући миграцију леукоцита кроз ендотел (265).

Солубилна форма овог адхезионог молекула има око 100 *kDa* и настаје протеолитичким деловањем *TNF-α* конвртујућег ензима у близини трансмембранског домена. И друге протеазе попут ткивног инхибитора металопроотеиназе-3, *ADAM-8* и *ADAM-9* у мањој мери доприносе овом ослобађању (264, 265).

И солубилни молекул, и ниво експресије *VCAM-1* су истраживани у атеросклерози као биомаркери активације ендотела у инфламацији. Присуство овог адхезионог молекула показано је унутар плака на ендотелним ћелијама, али и глатким мишићним и макрофагама (266) и показано је да је *VCAM-1* најпревалентнији адхезиони молекул у атеросклеротским лезијама (267).

Ниво солубилног *VCAM-1* је у многим студијама повезан са различитим КВБ: есенцијалном хипертензијом, типом 2 дијабетеса мелитуса (268), периферном артеријском болешћу (269),

коронарном болешћу (260, 270), инфарктом миокарда (271) исхемијском кардиомиопатијом (272) и атријалном фибрилацијом (273). Додатно, постоје и докази из проспективних студија о потенцијалу овог параметра као предиктора будућих кардиоваскуларних догађаја код пацијената са коронарном болешћу, мада нису бројни (271, 274).

Неколицина мањих студија на пацијентима са СКА је дала резултате који охрабрују даље истраживање на овој популацији. Тако постоје налази о већој инциденци атеросклерозе заједничке каротидне артерије код пацијената са вишим концентрацијама *VCAM-1* (275), а показано је и да је присуство нестабилних карактеристика плака повезано са нивоом овог параметра (167). Претпостављена је и јака механистичка повезаност *VCAM-1* са развојем последица можданог удара, како је он укључен у неуроинфламацију која је главни узрок смрти неурона након исхемијског оштећења мозга (264). По том основу је предложена и прогностичка улога солубилног *VCAM-1* као биомаркера, посебно с обзиром на то да је показано да његов ниво расте након можданог удара (276), као и да корелира са тежином тог догађаја (277).

1.9.6. Матриксне металопротеиназе

Матриксне металопротеиназе су фамилија која укључује 28 цинк-зависних ендопептидаза које делују на протеине екстрацелуларног матрикса и тако учествују у различитим процесима који су удружени са ремоделовањем ткива попут ангиогенезе и зарастања рана. Њихова основна грађа се састоји из каталитичког домена у коме се налази јон цинка, хемопексину-сличног домена који је важан за регулацију активности ензима и интеракцију са супстратима, сигналног пептида и пропептида, са додатним специфичностима у структури појединачних металопротеиназа које утичу на њихову супстратну специфичност. Разлике у афинитету према различитим протеинима екстрацелуларног матрикса и разлике у месту деловања су условиле класификацију матриксних металопротеиназа на колагеназе, стромелизине, желатиназе, матрилизине и мембрански тип матриксних металопротеиназа.

Ови ензими се синтетишу у ендотелним ћелијама, васкуларним глатким мишићним ћелијама, фибробластима, остеобластима, макрофагама, неутрофилима и лимфоцитима, и од свих 28 представника, њих 14 се експримира у васкулатури. Синтетишу се као инактивни зимогени и активирају се протеолитичким уклањањем од стране плазмина, других матриксних металопротеиназа или аутолитички. Осим активатора важни регулатори њихове активности су и инхибитори од којих су локално у ткивима најважнији ткивни инхибитори металопротеиназа (енг. *Tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs*), а у серуму $\alpha 2$ -макроглобулин. Деловање матриксних металопротеиназа је захваљујући овоме другачије регулисано у различитим ткивима, па је и учешће матриксних металопротеиназа у различитим патолошким процесима често последица управо нарушене равнотеже између ендогених ткивних инхибитора и ензима. Осим протеина екстрацелуларног матрикса, открива се и све више других супстрата на које матриксне металопротеиназе активно делују, укључујући цитокине и њихове рецепторе, везујуће протеине за цитокине, хемокине, ћелијске адхезионе молекуле, факторе раста и њихове рецепторе. Додатно се откривају и механизми интрацелуларне активације ових ензима и њиховог деловања унутар различитих ћелија, тако да се добија и нови увид у сложене улоге које имају матриксне металопротеиназе. Опсежно су истраживане на пољу атеросклеротских болести, како учествују у васкуларној инфламацији, ендотелној дисфункцији, миграцији глатких мишићних ћелија, васкуларној калцификацији, деградацији екстрацелуларног матрикса и дестабилизацији плака, док се у мерљивим количинама секретују у циркулацију. И даље,

услед непотпуности досадашњих сазнања и недостатка опсежних проспективних студија, њихова улога као биомаркера још није установљена (278).

1.9.6.1. Матриксна металопротеиназа-2

MMP-2 која је позната и под називом желатиназа А, делује на велики број протеина екстрацелуларног матрикса од којих су најзначајнији колагени: I, IV, V, VII, X, XI, затим еластин, фибронектин, ламинин и прекурсор амилоид-Б протеина. Оваква супстратна специфичност је условљена постојањем фибронектинског-тип II домена у оквиру каталитичког домена по коме се структура желатиназа издваја у односу на остале матриксне металопротеиназе (278, 279). Овај протеин масе 72 *kDa* се експримира на ендотелним и васкуларним глатко-мишићним ћелијама, на леукоцитима, дермалним фибробластима и тромбоцитима одакле се и секретује, при чему највећи део *MMP-2* у циркулацији потиче из дермалних фибробласта и леукоцита (278). Експресију *MMP-2* на овим ћелијама индукују различити цитокини попут *IL-1 β* и *TNF- α* , затим фактори раста и слободни радикали. Секретује се у облику проензима који захтева протеолитичку активацију од стране *MMP-14* или плазмине, а његову активност регулише ткивни инхибитор матриксних металопротеиназа-2 (*TIMP-2*) који својим везивањем блокира активни центар *MMP-2* (280).

Разградња протеина екстрацелуларног матрикса под дејством *MMP-2* укључена је у многе физиолошке процесе попут ремоделовања ткива, ангиогенезе и ембрионског развоја (280), али је и значајан механизам у развоју различитих патолошких стања, попут атеросклерозе. Како су супстрати *MMP-2* – колаген типа IV и ламинин, једни од главних компоненти базалне мембране између интима и медије васкуларног зида, њиховом разградњом *MMP-2* учествује у васкуларном ремоделовању које резултује оштећењем ћелијских спојева ендотела и повећањем пермеабилности за различите медијаторе инфламације. Ово такође и олакшава миграцију ендотелних ћелија и промовише миграцију и пролиферацију васкуларних глатких мишићних ћелија, што доприноси задебљању васкуларног зида. Исти процес разградње желатина у екстрацелуларном матриксу фиброзне капе атеросклеротског плака доприноси његовој дестабилизацији, док *MMP-2* и учешћем у неоваскуларизацији у плаку повећава ризик од његове руптуре (278).

Осим што разграђује протеине екстрацелуларног матрикса, *MMP-2* учествује у протеолизи различитих хемокина, цитокина, фактора раста и рецептора чиме је укључен и у регулацију инфламације. Неки примери његових супстрата су везујући протеин за инсулину сличан фактор раста, рецептор фибробластног фактора раста, *IL-1*, *TNF- α* , *IL-8* и гранулоцитни хемотаксни протеин-2 (281). Такође, *MMP-2* има утицај и на развој ендотелне дисфункције кроз смањење расположивог азот-моноксида услед разградње *eNOS* и њеног кофактора, *heat shock* протеина 90 (282). Додатно, *MMP-2* има улогу и у тромбогенези тако што разграђује протеиназом активирајући рецептор 1 (*PAR1*) и подстиче агрегацију тромбоцита (278).

Протеолитичко дејство *MMP-2* на наведене молекуле се одвија након секретовања и активације овог ензима, али новија истраживања показују да он потенцијално може да остварује и интрацелуларне ефекте у ћелијама које га синтетишу, што чини схватање свеукупног дејства *MMP-2* и тумачење његовог нивоа још комплекснијим. Сигнална секвенца која усмерава *MMP-2* у ендоплазматски ретикулум одакле ће се даље секретовати може да има варијације у структури које доводе до тога да *MMP-2* остаје у ћелији, а експресија ових варијанти може да буде индукована у одговору на оксидативни стрес, док неки молекули попут хипохлорасте киселине настале дејством мијелопероксидазе могу и да интрацелуларно активирају *MMP-2*. Иако ови налази упућују на потенцијално важно улогу

MMP-2 и интрацелуларно, а не само након секреције, супстрати на које *MMP-2* делује у различитим ћелијама, као и ефекти које остварује нису довољно истражени и за сад је једино показано да у кардиомиоцитима може да разграђује тропонин I и утиче на реперфузиону повреду ткива (283).

Са друге стране, циркулишући ниво *MMP-2* је у великом броју студија испитиван као биомаркер при чему је у многим показана његова повезаност са атеросклерозом. Позитивна корелација *MMP-2* са показатељима субклиничке атеросклерозе као што су *cIMT* и калцификација аорте указује да је активност овог молекула укључена у рану фазу формирања атеросклеротских лезија (284, 285).

Значајно виши ниво *MMP-2* је такође забележен код пацијената са историјом кардиоваскуларних догађаја у односу на оне без овакве историје (286), као и код пацијената са коронарном болешћу (287) и акутним коронарним синдромом (288) у односу на здраву популацију. Даље, активна синтеза *MMP-2* унутар плака је показана у аорти (289), а на каротидним плаковима је показано да је њена експресија највиша у вулнерабилним регионима плака (290). Заиста, веза нестабилности плака са нивоом *MMP-2* у циркулацији је примећена у већем броју студија (287,291), а постоје и докази из *in-vivo* истраживања да *MMP-2* секретован из тромбоцита делује протромботски (292). У складу са овим, неколико студија указује и на предиктивну и прогностичку вредност *MMP-2* као биомаркера атеросклерозе. Тако је ниво *MMP-2* предложен као предиктор раног клиничког исхода код пацијената на терапији доксициклином (293), затим као предиктор mortalитета код пацијената са акутним коронарним синдромом (294) и као предиктор кардиоваскуларног mortalитета код пацијената са типом 1 ДМ (295), а повезан је и са вишом инциденцом кардиоваскуларних догађаја код пацијената (296).

Знатно мање резултата испитивања *MMP-2* као биомаркера је везано за СКА и они углавном потичу из студија мањег обима које захтевају даљу потврду. Међу њима су студије које повезују присуство нестабилног плака са вишом концентрацијом *MMP-2* у циркулацији (297, 298) и са вишом активношћу *MMP-2* унутар плака (297), као и студије које указују да је ниво *MMP-2* виши код симптоматских у односу на асимптоматске пацијенте (299, 300).

1.9.6.2. Матриксна металопротеиназа-7

Структура *MMP-7* се разликује од структуре осталих матриксних металопротеиназа по томе што јој недостаје хемопексину сличан домен, због чега се сврстава у групу матрилизина заједно са *MMP-26* и другачије се назива матрилизин-1. Хемопексину сличан домен је важан за везивање супстрата, тако да његово одсуство утиче на супстратну специфичност *MMP-7* чији су главни супстрати међу компонентама екстрацелуларног матрикса ламинин и ентактин, а делује и на колаген IV, агрекан, фибронектин, витронектин и верзикан. Додатно, *MMP-7* може да разграђује и везујући протеин за инсулину сличан фактор раста-1 који је често присутан и у екстрацелуларном простору где има регулаторну улогу у пролиферацији и диференцијацији ћелија. *MMP-7* се експримира у епителним ћелијама гастроинтестиналног тракта и респираторног система, у утерусу и простати, али и у леукоцитима, ендотелним ћелијама крвних судова, као и васкуларним глатким мишићним ћелијама, одакле се секретује у екстрацелуларни простор и у циркулацију (278).

Као и за *MMP-2*, постоје докази да *MMP-7* може да се активира и интрацелуларно и да ту остварује различити ефекат у ткивима. Тако је показано да у кардиомиоцитима учествује у протеолизи митохондријалних протеина чиме доприноси њиховој дисфункцији (301), а постоје и налази о активности *MMP-7* у цитосолу неурона где разграђује протеин неопходан

за егзоцитозу синаптичких везикула, чиме доприноси синаптичкој дисфункцији (302). Овим механизмима, интрацелуларна активност *MMP-7* је укључена у оштећење функционалности ткива као последице инфаркта миокарда и možданог удара. Улога *MMP-7* у патолошким процесима је највише изучавана на пољу малигнитета, али познати су и бројни механизми којим овај ензим учествује у развоју КВБ. Његова експресија у моноцитима је индукована под дејством инфламаторних сигнала, оксидованих *LDL* честица и хипоксије, а његово протеолитичко деловање на протеине присутне у фиброзној капи плака, уз изазивање апоптозе васкуларних глатких мишићних ћелија доводи до дестабилизације атеросклеротског плака (303, 304). Додатно, *MMP-7* разграђује и аполипопротеин А-IV, доприносећи развоју хиперлипидемије (305), а делује и хемотаксно на дендритске ћелије, подржавајући инфламацију у нервном систему (306).

Ипак, до данас не постоји велики број студија о *MMP-7* у клиничкој атеросклерози (307). Неколико истраживања је потврдило да *MMP-7* има значајну улогу и повишену експресију у присуству фактора ризика као што су хронична болест бубрега и дијабетес, па да то може бити један од механизма којима преко којих доприноси и атеросклеротским болестима (308,309). Посебно у бубрежним болестима, висока експресија *MMP-7* се повезује са деструкцијом паренхима и профибротским ефектом (310). Код пацијената са типом 2 дијабетеса, виши ниво *MMP-7* је био повезан са атеросклерозом вишег степена и са већом фреквенцом коронарних догађаја (311). Ови налази су у складу са претпоставком да *MMP-7* учествује у дестабилизацији плака, како су у различитим студијама показане високе активности овог ензима у нестабилним плаковима и његова локализација управо у вулнерабилним деловима плака (304, 312).

И у каротидној атеросклерози, висока експресија *MMP-7* је присутна у плаковима нестабилног фенотипа (313), а њен висок ниво у плазми је у корелацији са каротидном калцификацијом, као знаком унапредовалог и вулнерабилног плака (308). Постоје и налази о вишој експресији *MMP-7* у симптоматским плаковима, а у истој студији је показана и потенцијално предиктивна вредност *MMP-7* као биомаркера, како је током вишегодишњег праћења њен циркулишући ниво био независно асоциран са морталитетом (307).

1.9.6.3. Матриксна металопротеиназа-9

MMP-9 је још једна матриксна металопротеиназа која се сврстава у желатиназе и другачије се назива желатиназа-Б. Као и *MMP-2*, у каталитичком домену садржи фибронектински тип-II домен који јој омогућава везивање за желатине, а додатно *MMP-9* има и О-гликозилирани домен који се налази између хемопексинског домена и активног центра и неопходан је за активност (314). Синтетише се у бројним ћелијама укључујући и ендотелне, васкуларне глатке мишићне и различите типове леукоцита (278, 314). У овим ћелијама његова синтеза се индукује под дејством транскрипционих фактора *NF-κB*, *AP-1* и протеина специфичности-1 (*SP-1*), активираних од стране бројних фактора раста (*TGF-β*, *VEGF*) и цитокина (*IL-1*, *TNF-α*, *IL-13*) (297, 303, 314). Када се секретује из ћелија, *MMP-9* је у форми неактивног зимогена, а његову протеолитичку активацију могу да катализују *MMP-2*, *MMP-3*, *MMP-13*, *MMP-17*, *MMP-26*, активатор плазминогена урокиназног типа, активатор плазминогена ткивног типа и плазмин (314). Активирани *MMP-9* потом може да деградира протеине екстрацелуларног матрикса: колаген I, колаген IV, колаген V, желатине, еластин, витронектин, фибронектин, ламинин, а може и да делује на бројне друге протеине са значајним функцијама, па тако утиче на ослобађање везаног *TNF-α*, потенцијацију дејства *IL-8* и гранулоцитног хемотаксног протеина-2, затим на *ICAM-1*, про-*TGF-β*, плазминоген, итд (279). Осим наведених активности секретоване *MMP-9*, постоје налази и о њеној интрацелуларној активацији и

деловању унутар неких типова ћелија. Тако је показано да се у možданој исхемији *MMP-9* активира у ћелијама мозга, да разграђује митохондријалне протеине у кардиомиоцитима и да унутар леукоцита протеолитички инактивира АМП-активiranу протеин киназу, важну за енергетску хомеостазу ових ћелија (283).

Сва поменута дејства *MMP-9*, осим своје најважније улоге у физиолошком ремоделовању ткива, имају улогу и у атеросклерози, како многи фактори који учествују у њеном развоју, повећавају и експресију *MMP-9* у ћелијама од значаја. Показано је да је експресија *MMP-9* у ендотелним ћелијама осетљива на образац протока и повећана када је он осцилаторан, а да је секреција *MMP-9* из васкуларних глатких мишићних ћелија повећана као последица њихове интеракције са макрофагама у условима хипергликемије (314). Разградња екстрацелуларног матрикса у васкулатури под дејством *MMP-9* омогућава миграцију глатких мишићних ћелија и стимулише њихову пролиферацију што је значајно за развој плака (278). Такође, и разградња протеина екстрацелуларног матрикса и деловање на активност различитих регулаторних и гласничких молекула присутних у том матриксу утичу на међућелијску сигнализацију између ендотелних, глатких мишићних ћелија и тромбоцита (278, 300). Додатно, активност *MMP-9* значајно учествује у дестабилизацији плака, кроз разградњу колагена у фиброзној капи, и кроз допринос неоваскуларизацији преко повећања биорасположивости *VEGF* његовим ослобађањем из екстрацелуларног матрикса (278).

У КВБ, *MMP-9* је највише истраживана од свих матриксних металопроотеиназа, при чему су показани многи значајни резултати. Унутар атеросклеротског плака показано је да *MMP-9* потиче углавном из макрофага (314) и да је њена активност највиша у плаковима са високим садржајем макрофага (315), као и да њен ниво корелира са величином некротског језгра плака (316). Повишена концентрација *MMP-9* у циркулацији показана је и код пацијената са стабилном коронарном атеросклерозом (317) и код пацијената са акутним коронарним синдромом (288). За нестабилност плака утврђена је јака веза са локалном експресијом и активношћу *MMP-9* (312, 318, 319), а у многим студијама је показано да њен ниво у циркулацији може да предвиди ризик од развоја КВБ (320) и да је повезан са лошим кардиоваскуларним исходом (321), будућом кардиоваскуларном смрћу (322) и морталитетом било ког узрока (323).

И у каротидној болести налази су бројни. У студији која је укључивала мишеве дефицијентне за *MMP-9*, показано је да ова дефицијенција доводи до формирања мањих и стабилнијих каротидних плакова (324). Виши ниво *MMP-9* је повезан са развојем каротидне стенозе и присуством субклиничке каротидне атеросклерозе (284, 325), као и са тежином стенозе и нестабилношћу плака (299). Каротидни плакови нестабилног фенотипа показали су већи садржај *MMP-9* у неколико студија (313, 326, 327), а и ниво *MMP-9* у циркулацији је у бројним студијама био виши код пацијената са нестабилним у односу на оне са стабилним каротидним плаком (134, 297, 298, 328). У складу са овим, постоје и налази о вишој концентрацији *MMP-9* код пацијената са недавним симптомима СКА него код асимптоматских пацијената (300), као и код пацијената са руптуром плака (329). Коначно, постоје и резултати који сугеришу потенцијалну улогу *MMP-9* као биомаркера за предикцију ризика од možданог удара код пацијената са значајном стенозом каротидне артерије (330).

2. Циљеви научног истраживања

Задатак научног истраживања био је да се утврди потенцијални клинички значај одређивања параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстрацелуларног матрикса као биомаркера исхода који могу да се користе у испитивању ризика од развоја možданог удара и других симптома СКА.

У ту сврху су дефинисани следећи циљеви:

1. Одређивање и анализа концентрације параметара инфламације (*IL-1 β* , *TNF- α* , *IL-6*, *CRP*, *PTX-3*, фибриноген, *SAA*, *LOX-1*, *LpPLA-2*, *MPO*, *suPAR*), ћелијске адхезије (*Sel-E* и *Sel-P*) и деградације екстраћелијског матрикса (*MMP-2*, *MMP-7*, *MMP-9*) у серуму пацијената са СКА, пацијената са другим КВБ и здравих испитаника. У оквиру овога предвиђено је:
 - Испитивање расподеле вредности анализираних параметара код пацијената са СКА,
 - Поређење са вредностима код пацијената са другим КВБ и код здравих испитаника,
 - Испитивање међусобне корелације одређиваних параметара у свим групама испитаника.
2. Испитивање повезаности наведених параметара са демографским карактеристикама пацијената и факторима ризика од значаја укључујући хипертензију, хиперлипидемију, гојазност, дијабетес мелитус, хроничне бубрежне болести, пушење и конзумацију алкохола, као и повезаност са употребом статина, антиагрегационе и антихипертензивне терапије.
3. Анализа повезаности наведених параметара са карактеристикама плака одређеним помоћу техника визуелизације и повезаности са осталим клиничким параметрима од значаја. Ово пре свега подразумева испитивање вредности датих параметара у односу на симптоматски статус пацијената, степен стенозе каротидне артерије, као и морфолошке карактеристике плака које указују на његову стабилност или нестабилност.
4. Испитивање дијагностичке тачности анализираних специфичних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса.
5. Формулација и испитивање клиничког значаја модела за предвиђање вероватноће присуства клиничких показатеља ризика од цереброваскуларних догађаја код пацијената са СКА.
6. Одређивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА (параметри крвне слике, липидног статуса и др.) и испитивање њихове повезаности са специфичним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса одређиваним у студији. Додатно је од интереса и испитивање њихове повезаности са клиничким карактеристикама од значаја, а првенствено симптоматског статуса, степеном стенозе, као и са морфолошким карактеристикама које условљавају стабилност, односно нестабилност плака.

3. Материјал и методе

3.1. Материјал

Истраживање је дизајнирано као опсервациона студија пресека. Испитаници су регрутовани приликом прегледа на Клиници за васкуларну и ендоваскуларну хирургију Универзитетског клиничког центра Србије, у периоду између јануара и маја 2021. године. У студију су укључени кардиоваскуларни пацијенти који су сврстани у групу испитаника са СКА уколико је код њих ултразвучним прегледом била утврђена стеноза каротидне артерије степена $\geq 50\%$, или у контролну групу испитаника са другим КВБ уколико је код њих био утврђен степен стенозе каротидне артерије 0–50% уз присуство коронарне артеријске болести, оклузивне болести периферних артерија и/или анеуризматске болести. Током прикупљања испитаника, у студију је укупно укључено 119 пацијената са СКА и 133 пацијента са другим КВБ. Даље је група пацијената са СКА подељена у две подгрупе према симптоматском статусу, при чему су пацијенти који су у претходних 6 месеци доживели блажи мождани удар, ТИН или РИНД били укључени у групу симптоматских пацијената са СКА, а остали су чинили групу асимптоматских пацијената са СКА.

Додатно, у студију је укључена и контролна група здравих испитаника која је такође регрутована приликом прегледа на Клиници за васкуларну и ендоваскуларну хирургију Универзитетског клиничког центра Србије. Ову групу су чинили испитаници код којих је утврђени степен стенозе каротидне артерије био $< 50\%$, а који поред тога нису имали ни једну другу КВБ. Контролну групу чинило је укупно 46 испитаника.

Приликом приступања студији, сви укључени испитаници су попунили упитник који је обухватао питања о демографским подацима, присутним факторима ризика попут пушачког статуса, конзумације алкохола, присуства дијабетеса мелитуса и хроничних бубрежних болести, као и питања о употреби фармаколошке терапије где су пацијенти пријављивали употребу антиагрегационих лекова, антихипертензива, статина и антикоагулантних лекова. Подаци антропометријских мерења испитаника прикупљени су приликом прегледа на Клиници и коришћени су за рачунање индекса телесне масе према формули ИТМ (kg/m^2) = телесна тежина у kg / (телесна висина у m)², а подаци о крвном притиску су такође добијени мерењем на Клиници, након чега су се пацијенти категоризовали као хипертензивни ако је вредност систолног крвног притиска била виша од 120 mmHg и/или ако је вредност дијастолног крвног притиска била виша од 80 mmHg .

Сви испитаници су пре приступања студији упућени у циљ и протокол истраживања увидом у образац обавештења за испитанике, након чега су потписали информисану сагласност. Све активности у оквиру истраживања спровођене су у складу са смерницама добре клиничке и лабораторијске праксе и студија се придржавала Хелсиншке декларације, као и релевантних институционалних и националних прописа. Истраживање је одобрено 07.07.2022. године одлуком Етичке комисије Медицинског факултета Универзитета у Београду под бројем 1322/VII-19.

Скупљање узорака венске крви спроведено је у оквиру лабораторије на Клиници за васкуларну хирургију по протоколу Клинике, у јутарњим часовима и након 12 сати гладовања. Узорковане су по две вакуум гел серумске епрувете од 5 mL за сваког испитаника. Узорци су потом на одговарајући начин транспортовани до Лабораторије за медицинско-биохемијске анализе Фармацеутског факултета Универзитета у Београду. Након 45 минута

потребних за коагулацију, серум је издвајан центрифугирањем брзином од 1660 g на собној температури. Након тога узорци су на одговарајући начин аликвотирани и чувани до анализе на -20 °C, а најдуже 6 месеци по одвајању серума.

3.2. Методе

3.2.1. Ултразвучно испитивање каротидних артерија

Ултразвучно испитивање степена стенозе каротидних артерија и морфолошке грађе каротидног плака код пацијената са СКА спроведено је на Клиници за васкуларну и ендоваскуларну хирургију Универзитетског клиничког центра Србије од стране субспецијалисте ангиологије.

3.2.2.1. Испитивање степена стенозе каротидних артерија

За одређивање степена стенозе каротидних артерија коришћен је *color flow doppler* ултразвук. Ова метода подразумева да се ултразвучно одређују карактеристике протока кроз крвни суд, а да се након тога помоћу њих индиректно процењује степен стенозе на основу утврђених критеријума.

Color flow doppler одређује смер и брзину протока крви на основу промене фреквенције ултразвучних таласа која се дешава у зависности од кретања крвних ћелија. На овај начин формира се сигнал који може да се динамично визуелизује приказом у коме су карактеристике протока кодиране различитим бојама. Смер кретања крви се посматра у односу на оријентацију снопа ултразвучних таласа емитованих из сонде. У стандардној процедури где се сонда креће од проксималних ка дисталним деловима артерије, проток крви према сонди се означава црвеном бојом док се проток од сонде означава плавом бојом. Доминантно, артеријски проток је усмерен према сонди и означава се црвеном бојом, док је венски проток доминантно од сонде, али у зависности од локалне анатомије и оријентације крвних судова, то може да варира. Дакле, смер кретања крви је на приказу добијеном *Color flow doppler* ултразвуком означен различитим бојама, а брзина протока крви је индикувана различитом сатурацијом боје. Тако зоне са тамнијим и дубљим нијансама указују на ниже брзине протока, док су више брзине протока приказане светлијим нијансама које прелазе до скоро беле боје у зонама најбржег протока (331).

У присуству стенозе артерије локални проток постаје убрзан и турбулентан у мери која зависи од тежине стенозе, и ове особине протока се користе за детекцију стенозе употребом *Color flow doppler* ултразвука. Помоћу њега се стенозне лезије уочавају у зонама које одскачу од очекиваног обрасца протока, при чему се у обзир узима фаза кардијалног циклуса, који део артерије је у питању и какве су његове анатомске особине. У односу на ове факторе, различите боје и њихова сатурација указују на присуство лезије о чему одлучује специјалиста који обавља ултразвучни преглед (331, 332).

Када се уочи лезија, даље се одређује степен стенозе и то тако што се прво мере дијаметри артерије на месту стенозе, као и на локацијама проксимално и дистално од ње. Обојени приказ добијен употребом *Color flow doppler* ултразвука показује где су границе лумена

крвног суда које затим клиничар обележава калиперима, а након тога специјализовани софтвер врши израчунавање унутрашњег дијаметра артерије на датом месту (92).

Из измерених дијаметара се на основу утврђених критеријума прерачунава степен стенозе. Најшире су прихваћени *NASCET* и *ECST* критеријуми установљени у оквиру истоимених студија (91, 92). У овом истраживању, рачунање степена стенозе се вршило на основу *NASCET* критеријума који су усвојени и у националном (1) и у европском водичу за СКА (11). *NASCET* критеријуми подразумевају да се степен стенозе рачуна на основу односа између пречника резидуалог лумена у делу артерије где је присутна стеноза и пречника лумена дисталног дела унутрашње каротиде који није захваћен стенозом и где су зидови крвног суда паралелни. Према овим критеријумима степен стенозе се рачуна по формули $(1 - N/D) \times 100$, где је N пречник резидуалног лумена каротидне артерије на месту стенозе, а D је пречник дисталног дела артерије који није захваћен стенозом. Овако израчунат степен стенозе је изражен у процентима (11).

Приликом прегледа, одређиван је степен стенозе присутан на левој и десној унутрашњој каротидној артерији, као и на заједничким каротидним артерији. Присуство значајне стенозе на било којој од ових артерија је било критеријум за сврставање испитаника у групу пацијената са СКА, а код пацијената који су имали значајан степен стенозе присутан на више од једне артерије, у статистичкој анализи у обзир је узет онај степен који је био већи. Код пацијената код којих је степен стенозе био описан као интервал (нпр. 70–80%), у статистичкој анализи коришћена је средина тог интервала (у овом примеру 75%).

3.2.2.1. Испитивање морфолошке грађе каротидног плака

За испитивање морфолошке грађе каротидног плака био је коришћен *B-mode duplex* ултразвук. Ова ултразвучна техника на основу еха звучног таласа који се одбија о неравнине на границама ткива конструише слику у којој свака тачка потиче од једног еха и има различиту боју на сивој скали која зависи од јачине или амплитуде тог еха. На овај начин се формира дводимензионални црно-бели визуелни приказ попречног пресека ткива или плака (када се користи у трансверзалној равни) и површине ткива или плака (када се користи у лонгитудиналној равни), што омогућава увид у њихову морфолошку структуру и текстуру површине. Ово се заснива на особини ткива мекше текстуре да више апсорбују звучне таласе него што их рефлектују, због чега се добија слабији сигнал еха који се приказује тамнијим бојама, док јачи сигнал који резултује светлом бојом потиче од чвршћих ткива која рефлектују звучне таласе у већој мери. Из аспекта каротидне атеросклерозе, то омогућава разликовање плакова чвршће структуре попут оних који су претежно фиброзни и калцификовани јер имају дебелу фиброзну капу, од плакова мекше текстуре попут оних који су претежно липидни јер имају велико некротско липидно језгро, а ова метода омогућава и уочавање присутних улцерација на површини плака (333).

Из овога је проистекла подела атеросклеротских плакова на основу ехогености, односно њихове способности да производе ултразвучни ехо, при чему се ехогени плакови сматрају стабилним, док се хипоехогени плакови који се називају и ехолуцентним, сматрају нестабилним. Најпознатија класификација овог типа је *Gray-Weale* систем градирања плакова који обухвата пет типова, при чему су плакови типа 1 униформно ехолуцентни, тип 2 је доминантно ехолуцентан са малим ехогеним областима, тип 3 је доминантно ехоген са малим ехолуцентним областима, тип 4 је униформно ехоген, а тип 5 подразумева плакове који се услед тешке калцификације и акустичних сенки не могу класификовати (334). Ехогеност плака на *B-mode* ултразвуку је такође и основа *O'Holleran* класификације која је

произашла из студије праћења, за разлику од *Gray-Weale* студије која је била ретроспективна. Према *O'Holleran* морфолошкој класификацији плакова, они се деле на калцификоване, густе и меке. Калцификовани плакови су они који производе ехо високих амплитуда које изазивају акустичне сенке, густе плакови су претежно фиброзни и они производе ехо средњих амплитуда, док су меки плакови претежно липидни и производе ехо ниских амплитуда. У овој студији је показано да меки плакови носе највећи ризик од развоја симптома, док густе, а посебно калцификовани плакови носе мањи ризик (335).

У овом истраживању, плакови су према морфологији класификовани у седам типова: фиброзни, фибролипидни, фиброкалцификовани, калцификовани, улцерисани, компликовани и мешовити. Ова подела се ослања на *O'Holleran* класификацију, али су у њој додатно издвојени типови плака који према *O'Holleran* класификацији нису били препознати, или су сврстани заједно у исти тип. Тако опис калцификованих плакова по *O'Holleran* класификацији одговара опису калцификованих плакова у овој студији. Густе плакови по *O'Holleran*-у који се карактеришу као претежно фиброзни, у овој студији су додатно раздвојени према томе да ли је присутан и неки степен калцификације у претежно фиброзној грађи, па се тако издвајају фиброзни и фиброкалцификовани плакови. Меки плакови по *O'Holleran*-у који су претежно липидни, у овој студији су прецизније названи фибролипидни из разлога што иако код њих доминира присуство великог липидног језгра, присуство фиброзне капе не изостаје и ултразвучна слика овог плака показује присуство обе компоненте. Додатно, *O'Holleran*-ова студија наводи да су плакови мешовитог типа код којих су биле присутне карактеристике више различитих типова плака били класификовани у једну од група на основу најдоминантнијих карактеристика, а у овој студији, они су издвојени као посебна група, да би се смањила хетерогеност осталих група плакова. Мешовити плакови у овој студији су били претежно ехолуцентни, са присуством карактеристика и осталих типова. Такође су додатно издвојени компликовани и улцерозни плакови, који у *O'Holleran* класификацији нису били препознати као одвојена група, већ су сврставани у меке плакове. Овде су они издвојени као засебне групе како су код њих биле изражене видне неправилности на површини које су индикатор посебно великог ризика од тромбогенезе.

Код појединих пацијената није било могуће проценити морфологију плака услед присуства веома тешке калцификације која условљава формирање акустичних сенки, што одговара опису плакова типа 5 по *Gray-Weale* класификацији, и они су изостављени из анализе података. Код пацијената који су имали више плакова различите морфологије на две различите каротиде у статистичкој анализи у обзир је узет онај плак који је изазивао већи степен стенозе.

Приликом статистичке анализе резултата, појединачно је поређено ових седам типова плака, а додатно су у другим анализама они и груписани. Тако калцификовани и фиброкалцификовани плакови додатно анализирани као једна група, да би се утврдило који је утицај присуства калцификације плака на испитиване параметре, без обзира да ли је калцификација присутна предоминантно или у комбинацији са фиброзом. У овој студији најзначајније је било груписање плакова на стабилне и нестабилне и оно је коришћено у великом броју анализа. При томе су калцификовани, фиброкалцификовани и фиброзни плакови сврстани у групу стабилних, а фибролипидни, мешовити, компликовани и улцерисани плакови су чинили групу нестабилних плакова.

3.2.2. Лабораторијска анализа серумских параметара

Лабораторијске анализе које су укључивале одређивање специфичних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстрацелуларног матрикса изведене су у Лабораторији за медицинско-биохемијске анализе Фармацеутског факултета Универзитета у Београду. Одређивање рутинских лабораторијских параметара изведено је у Одељењу за кардиохирургију Центра за медицинску биохемију Универзитетског клиничког центра Србије.

3.2.2.1. Одређивање специфичних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса

Специфични параметри инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса одређивани су употребом „сендвич“ имунохемијске методе са ензимском детекцијом (енг. *Enzyme-linked immunosorbent assay*, *ELISA*). Коришћени су комерцијално доступни *ELISA* китови. Концентрације *PTX-3*, *SAA*, *TNF- α* , *IL1- β* , *IL-6*, *MPO*, *LpPLA2*, *LOX-1*, *suPAR*, *sel-E*, *sel-P*, *MMP-2*, *MMP-7* и *MMP-9* су одређиване употребом *ELISA* китова произвођача *FineTest®* (*Wuhan Fine Biotech Co., Ltd, Wuhan, China*), док је концентрација *VCAM-1* одређена коришћењем теста *Quantikine®* (*R&D Systems Inc, Minneapolis, MN, USA*).

Квантитативна „сендвич“ *ELISA* метода са биотином и стрептавидином коришћена у наведеним *FineTest®* китовима подразумева да се аналит од интереса у узорку везује за одговарајућа моноклонска антитела која су имобилисана на *ELISA* микротитарској плочи. Испирањем се уклања све осим везаног аналита, а затим се за његов други епитоп везује детекционо моноклонско антитело обележено биотином за које се додатно везује конјугат стрептавидина и ензима што вишеструко повећава осетљивост теста. Вишак невезаног детекционог аналита се уклања и додаје се супстрат који се затим каталитичким дејством везаног ензима преводи у обојени производ чија је апсорбанција пропорционална концентрацији аналита у узорку (336).

Тест на коме се заснива одређивање *VCAM-1* произвођача *Quantikine®* има исти принцип осим што изостаје корак специфичног везивања биотина и стрептавидина, тако да је ензим везан директно за детекционо антитело (337).

Основне аналитичке спецификације укључујући динамички опсег, осетљивост и специфичност *ELISA* теста за различите параметре дефинисане од стране одговарајућих произвођача су приказане у Табели 1. на следећој страни.

Табела 1. Динамички опсег, осетљивост и специфичност коришћених *ELISA* тестова

Параметри	Динамички опсег	Осетљивост	Специфичност
<i>PTX-3, ng/mL</i>	0,313–20	0,188	Специфично везивање за <i>PTX-3</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>SAA, µg/mL</i>	0,001563–0,1	0,000938	Специфично везивање за <i>SAA</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>TNF-α, pg/mL</i>	15,625–1000	9,375	Специфично везивање за <i>TNF-α</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>IL-1β, pg/mL</i>	3,906–250	2,344	Специфично везивање за <i>IL-1β</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>IL-6, pg/mL</i>	0,46–30	0,28	Специфично везивање за <i>IL-6</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>MPO, ng/mL</i>	1,563–100	0,938	Специфично везивање за <i>MPO</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>Lp-PLA2, ng/mL</i>	1,563–100	0,938	Специфично везивање за <i>Lp-PLA2</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>LOX-1, pg/mL</i>	31,25–2000	18,75	Специфично везивање за <i>LOX-1</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>suPAR, ng/mL</i>	0,156–10	0,094	Специфично везивање за <i>suPAR</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>VCAM-1, ng/mL</i>	6,3–200	1,26	Специфично везивање за <i>VCAM-1</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>Sel-E, ng/mL</i>	0,078125–5	0,048875	Специфично везивање за <i>sel-E</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>Sel-P, ng/mL</i>	0,015625–1	0,009375	Специфично везивање за <i>sel-P</i> , није уочена укрштена реакција антитела
<i>MMP-2, ng/mL</i>	0,5–32	0,191	Специфично везивање за <i>PTX-3</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>MMP-7, ng/mL</i>	0,156–10	0,094	Специфично везивање за <i>MMP-7</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима
<i>MMP-9, ng/mL</i>	0,313–20	0,188	Специфично везивање за <i>MMP-9</i> , није уочена укрштена реакција антитела реагенса са другим аналозима

CRP: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопротеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопротеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопротеиназа-9

У свим тестовима коришћени су узорци серума, који су претходно разблажени пуфером у одговарајућем односу. Према упутствима произвођача, неопходно разблажење узорака за *FineTest® ELISA* китове било је 1:2, а за *Quantikine®* кит 1:20. За поједине параметре, било је потребно и веће разблажење које је било одређено на основу односа очекиване концентрације анализата у узорку и горње границе динамичког опсега теста. Очекиване концентрације су процењене на основу података из литературе у популацији пацијената са КВБ. Коришћена разблажења за сваки одређивани параметар приказана су у Табели 2.

Табела 2. Разблажења узорака потребна за извођење тестова

Параметри	Однос разблажења	Добијање разблажења	Запремина за анализу
<i>PTX-3</i>	1:2	100µL узорка + 100µL пуфера	100µL
<i>SAA</i>	1:500	3µL узорка + 72µL пуфера → разблажење 1 7µL разблажења 1 + 63µL пуфера → разблажење 2 60µL разблажења 2 + 60µL пуфера	100µL
<i>TNF-α</i>	1:2	100µL узорка + 100µL пуфера	100µL
<i>IL-1β</i>	1:2	100µL узорка + 100µL пуфера	100µL
<i>IL-6</i>	1:10	15µL узорка + 135µL пуфера	100µL
<i>MPO</i>	1:2	100µL узорка + 100µL пуфера	100µL
<i>Lp-PLA2</i>	1:10	15µL узорка + 135µL пуфера	100µL
<i>LOX-1</i>	1:2	100µL узорка + 100µL пуфера	100µL
<i>suPAR</i>	1:2	100µL узорка + 100µL пуфера	100µL
<i>VCAM-1</i>	1:20	10µL узорка + 190µL пуфера	100µL
<i>Sel-E</i>	1:20	10µL узорка + 190µL пуфера	100µL
<i>Sel-P</i>	1:50	3µL узорка + 72µL пуфера → разблажење 1 60µL разблажења 1 + 60µL пуфера	100µL
<i>MMP-2</i>	1:20	10µL узорка + 190µL пуфера	100µL
<i>MMP-7</i>	1:50	3µL узорка + 72µL пуфера → разблажење 1 60µL разблажења 1 + 60µL пуфера	100µL
<i>MMP-9</i>	1:100	3µL узорка + 72µL пуфера → разблажење 1 30µL разблажења 1 + 90µL пуфера	100µL

PTX-3: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9

Садржај *FineTest® ELISA* китова обухватао је плочу обложену одговарајућим антителима са 96 базенчића, лиофилизоване стандард, реагенс са специфичним антителима обележеним биотином, конјугат пероксидазе рена и стрептавидина, супстрат, пуфере за разблажење узорка и за разблажење оба реагенса са антителима, стоп раствор, пуфер за испирање плоче и филмове за прекривање плоче.

Quantikine® кит је садржао плочу обложену моноклонским антителима са 96 базенчића, лиофилизоване стандард, детекционо антитело обележено пероксидазом рена, супстрат и хромоген као два одвојена реагенса, дилуент за узорак и стандард, стоп раствор, пуфер за испирање и филмове за прекривање микротитарске плоче.

Поузданост тестова испитана је од стране произвођача кроз проверу прецизности рачунањем коефицијента варијације за прецизност у серији и између серија за узорке са високом, средњом и ниском концентрацијом анализата, као и кроз проверу тачности извођењем *recovery* теста. Добијени резултати за све параметре дати су у Табели 3.

Табела 3. Прецизност и *recovery* проценат тестова дати од стране произвођача

Параметри	Прецизност у серији			Прецизност између серија			Просечна <i>recovery</i> вредност
	Узорак 1	Узорак 2	Узорак 3	Узорак 1	Узорак 2	Узорак 3	
<i>PTX-3</i>	6,32	5,86	4,89	5,82	5,68	5,12	98%
<i>SAA</i>	5,16	4,93	5,22	4,89	5,82	4,90	92%
<i>TNF-α</i>	5,56	5,99	5,92	5,53	5,85	5,49	95%
<i>IL-1β</i>	4,98	4,35	4,40	4,43	4,65	4,72	96%
<i>IL-6</i>	4,55	54,5	5,29	5,35	5,19	4,70	93%
<i>MPO</i>	5,31	4,93	5,22	4,89	4,82	4,84	98%
<i>Lp-PLA2</i>	4,68	5,22	5,36	4,83	5,02	5,08	96%
<i>LOX-1</i>	4,16	5,12	5,17	5,20	5,42	5,49	98%
<i>suPAR</i>	5,22	4,96	4,23	5,43	5,02	5,08	95%
<i>VCAM-1</i>	2,3	3,5	3,6	7,8	7,7	5,5	/
<i>Sel-E</i>	5,11	4,90	4,97	4,58	4,79	5,07	96%
<i>Sel-P</i>	5,53	4,79	5,46	5,31	5,13	5,20	93%
<i>MMP-2</i>	5,62	5,46	4,51	5,33	5,14	4,55	95%
<i>MMP-7</i>	4,93	5,02	4,89	4,82	4,68	5,12	95%
<i>MMP-9</i>	5,89	5,34	4,69	5,23	4,88	4,98	96%

PTX-3: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF- α* : фактор некрозе тумора- α , *IL-1 β* : интерлеукин-1 β , *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9

Прецизност у серији и између серија је изражена као проценат коефицијента варијације.

Узорак 1 – узорак ниске концентрације анализата

Узорак 2 – узорак средње концентрације анализата

Узорак 3 – узорак високе концентрације анализата

Прецизност у серији је изведена на основу 20 узастопних одређивања на истој микротитарској плочи за све параметре, а прецизност између серија на основу одређивања на 40 различитих плоча за *VCAM-1* и 20 различитих плоча за остале параметре. Просечна *recovery* вредност добијена је на основу резултата 10 узорака на којима је изведен *recovery* тест.

Спровођење *ELISA* тестова било је у складу са упутствима произвођача. Као слепа проба на микротитарску плочу се наносио пуфер за растварање узорка, а стандард је био наносен у седам двоструких разблажења од односа 1:1 до 1:64 (у дупликату). За испирање *ELISA* плоча у међукорацима, коришћен је аутоматски систем за испирање произвођача *Rayto Life and Analytical Sciences, Shenzhen, China*. Сви тестови су за детекцију користили реакцију коју катализује пероксидаза са водоник-пероксидом као супстратом и тетраметилбензидином као хромогеном. За заустављање реакције коришћена је сумпрона киселина, а апсорбанција добијеног производа је мерена на таласној дужини од 450 nm помоћу аутоматског читача микротитарских плоча *Rayto RT-6100 (Rayto Life and Analytical Sciences, Shenzhen, China)*. На основу измерених апсорбанција стандарда конструисана је калибрациона крива помоћу аутоматизованог софтвера компаније *Rayto Life and Analytical Sciences*, а исти софтвер је вршио и прерачунавање концентрација узорака из њихове апсорбанције. Добијене концентрације су накнадно помножене одговарајућим фактором разблажења за сваки параметар.

3.2.2.2. Одређивање рутинских лабораторијских параметара

Вредности рутинских хематолошких и биохемијских параметара одређивани су на Клиници за васкуларну и ендоваскуларну хирургију Универзитетског клиничког центра Србије за све испитанике. Анализе су извођене рутинским комерцијалним методама помоћу хематолошког анализатора *Advia 2120 (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany)* и биохемијског аутоматског анализатора *Architect c8000 (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA)*. Контрола поузданости добијених резултата редовно је вршена одређивањем одговарајућих комерцијалних контролних узорака и применом правила унутрашње контроле квалитета рада у биохемијској лабораторији.

Рачунским путем из одређених рутинских параметара рачунати су следећи индекси: *NLR* као количник броја неутрофила и лимфоцита, *MLR* као количник броја моноцита и лимфоцита, *PLR* као количник броја тромбоцита и лимфоцита, *MHR* као количник броја моноцита и концентрације *HDL*-холестерола, *RPR* као количник ширине дистрибуције еритроцита и броја тромбоцита, *Non-HDL*-холестерол као разлика укупног холестерола и *HDL*-холестерола, *Non-HDL*-холестерол/*HDL*-холестерол као количник *non-HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *LDL*-холестерол/*HDL*-холестерол као количник *LDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, и *AIP* као декадни логаритам количника триглицерида и *HDL*-холестерола.

3.3. Статистичка анализа података

Расподела података за све параметре је испитана у појединачним групама испитаника, и њена нормалност је утврђена Колмогоров-Смирнов тестом за групе са више од 50 података, а за групе са мањим бројем података коришћен је Шапиро-Вилк тест. Вредности параметара који су показали нормалну расподелу су представљене средњом вредношћу и стандардном

девијацијом, а у даљој анализи су за њихово испитивање коришћени параметарски тестови. Вредности параметара чија је расподела одступала од нормалне приказане су као медијана са интерквартилним распоном.

Поређење вредности испитиваних параметара вршено је између почетно дефинисане три групе испитаника, али и између мањих подгрупа које су формиране у оквиру ове три групе према одређеним клиничким и ултразвучним карактеристикама, а у складу са потребама детаљније статистичке анализе. Поређење вредности параметара у две групе са нормалном расподелом вршено је употребом Студентовог т-теста. У случајевима када расподела у бар једној од поређених група није била нормална, коришћен је Ман-Витни У тест. Приликом поређења више од две групе, ни у једном случају није било услова за примену параметарског теста, како то расподела података није допуштала, због чега је коришћен Крускал-Волис тест. Након овог теста *post-hoc* испитивање је извођено помоћу вишеструких Ман-Витни У тестова. На добијене *p*-вредности у *post-hoc* тестирању примењен је Бонферони метод корекције за вишеструко тестирање да би се смањила вероватноћа од грешке типа I. Према овој методи као статистички значајна разлика сматрана је *p*-вредност мања од нивоа значајности који се добије када се 0,05 подели са бројем поређења, односно бројем *post-hoc* тестова.

Приликом корелационе анализе, испитивана је статистичка значајност коефицијента непараметарске Спирманове корелације, како је већина параметара показивала расподелу која одступа од нормалне.

За поређење категоричких варијабли коришћен је χ -квадрат тест.

Анализа дијагностичке тачности испитиваних параметара је изведена помоћу *receiver operating characteristic (ROC)* графика и рачунања површине испод криве, њене стандардне грешке и интервала поузданости. Ова анализа је коришћена и за одређивање одговарајућих *cut-off* вредности за испитиване параметре које су коришћене у даљој анализи.

Даље је примењена и униваријантна логистичка регресиона анализа у којој је на основу испитиваних параметара као предиктора рачунат однос шанси (енг. *odds ratio, OR*) са 95% интервалом поузданости (енг. *confidence interval, CI*) на основу кога је била одређивана вероватноћа присуства симптома код укупних пацијената са СКА, затим вероватноћа присуства симптома код пацијената са умереном СКА, као и вероватноћа присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА. Испитивани параметри су у ову анализу били укључени у облику категоричких варијабли добијених на основу поделе података у две групе у односу на *cut-off* вредности добијене *ROC* анализом.

Они параметри који су показали статистичку значајност као предиктори у униваријантној анализи за утврђивање вероватноће присуства неког од наведених стања, укључени су у мултиваријантну логистичку регресиону анализу за формирање по три модела: модела који самостално чине лабораторијски параметри, модела који чине клинички и ултразвучни параметри и модела који комбинује лабораторијске, клиничке и ултразвучне параметре. На основу ових модела израчунате су вредности предвиђених вероватноћа за сваког пацијента које су коришћене у даљој анализи.

Ове предвиђене вероватноће су даље укључене у *ROC* анализу за испитивање дијагностичке тачности формулисаних логистичких регресионих модела. По три конструисане *ROC* криве за свако од три предвиђања су међусобно упоређене да би се утврдило да ли постоје разлике у њиховим дијагностичким тачностима. За ово су коришћени вишеструки *De Long* тестови који су непараметарски и пореде површине испод две *ROC* криве које су хомогене, односно потичу из исте групе података.

Рачунање нето унапређења рекласификацијом (*NRI*) вршено је према формули:

$$NRI=(p_{1\uparrow}-p_{1\downarrow}) + (p_{0\uparrow}-p_{0\downarrow})$$

При чему $p_{1\uparrow}$ представља пропорцију случајева који су проширеним моделом класификовани у вишу категорију ризика у односу на основни модел; $p_{1\downarrow}$ представља пропорцију случајева који су проширеним моделом класификовани у нижу категорију ризика у односу на основни модел; $p_{0\uparrow}$ представља пропорцију контрола које су проширеним моделом класификоване у вишу категорију ризика у односу на основни модел; а $p_{0\downarrow}$ представља пропорцију контрола које су проширеним моделом класификоване у нижу категорију ризика у односу на основни модел.

95% интервал поузданости за дату *NRI* вредност рачунат је као $NRI \pm 1,96 \cdot SE$, при чему су вредности стандардне грешке, *SE* рачунате помоћу формуле:

$$SE = \frac{p_{1\uparrow} \cdot (1-p_{1\uparrow}) + p_{1\downarrow} \cdot (1-p_{1\downarrow})}{n_1} + \frac{p_{0\uparrow} \cdot (1-p_{0\uparrow}) + p_{0\downarrow} \cdot (1-p_{0\downarrow})}{n_0}$$

где n_1 и n_0 представљају редом број случајева и број контрола.

Статистичка значајност добијене *NRI* вредности испитивана је помоћу *z* теста, где је $z = \frac{NRI}{SE}$.

Рачунање интегрисаног унапређења дискриминације (*IDI*) вршено је према формули:

$$IDI=(M_{P1}-M_{P0})-(M_{O1}-M_{O0})$$

При чему M_{P1} представља средњу вредност предвиђених вероватноћа код случајева на основу проширеног модела; M_{P0} представља средњу вредност предвиђених вероватноћа код контрола на основу проширеног модела; M_{O1} представља средњу вредност предвиђених вероватноћа код случајева на основу основног модела; а M_{O0} представља средњу вредност предвиђених вероватноћа код контрола на основу основног модела.

95% интервал поузданости за дату *NRI* вредност рачунат је као $IDI \pm 1,96 \cdot SE$, при чему су вредности стандардне грешке, *SE* рачунате помоћу формуле:

$$SE = \sqrt{\frac{S_{D1}^2}{n_1} + \frac{S_{D0}^2}{n_0}}$$

где n_1 и n_0 представљају редом број случајева и број контрола, а S_{D1} и S_{D0} представљају вредности стандардних девијација разлика предвиђених вероватноћа за случајеве и контроле.

Статистичка значајност добијене *IDI* вредности испитивана је помоћу *z* теста, где је $z = \frac{IDI}{SE}$.

Осим у *post-hoc* тестовима где је примењена Бонферони корекција како је објашњено, у свим другим испитивањима коришћен је ниво значајности од 0,05 и *p*-вредности мање од тога су сматране статистички значајним.

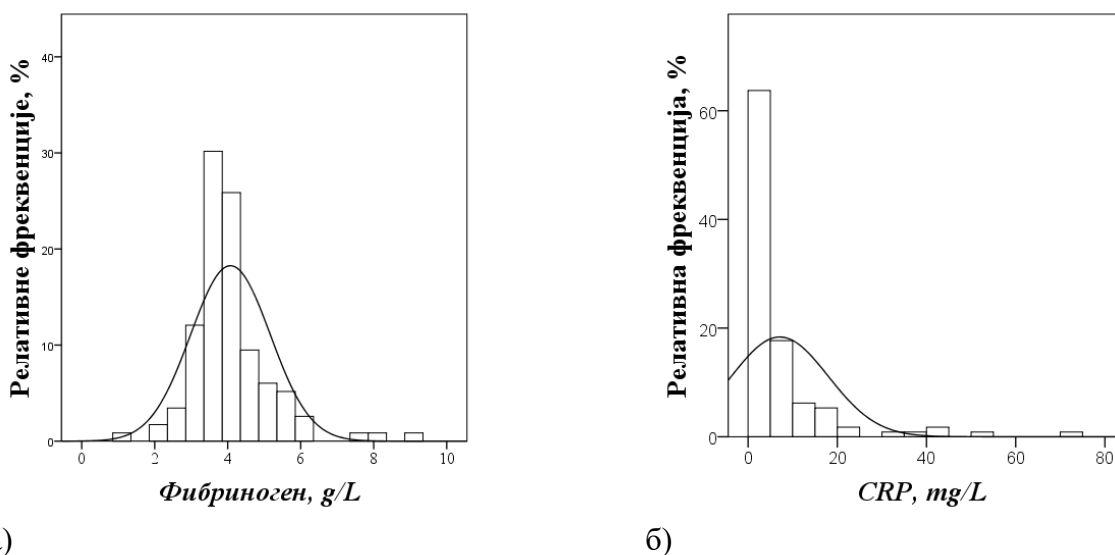
За статистичку анализу су коришћени програми *IBM SPSS Statistics 18.0* (*IBM Corp., Armonk, NY, USA*) и *MedCalc Statistical Software 12.0* (*MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium*).

4. Резултати

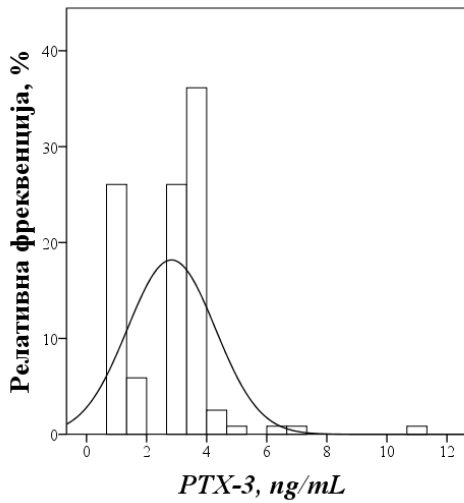
4.1. Анализа концентрације испитиваних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у серуму пацијената са СКА, пацијената са другим КВБ и здравих испитаника

У циљу утврђивања клиничког значаја параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у СКА, као први корак након одређивања, анализирани су њихове концентрације у серуму ових пацијената. Прво је приказана расподела њихових вредности, а затим су оне упоређене са вредностима код пацијената са другим КВБ и код здравих контрола. Додатно су испитане међусобне корелације ових параметара у свим испитиваним групама.

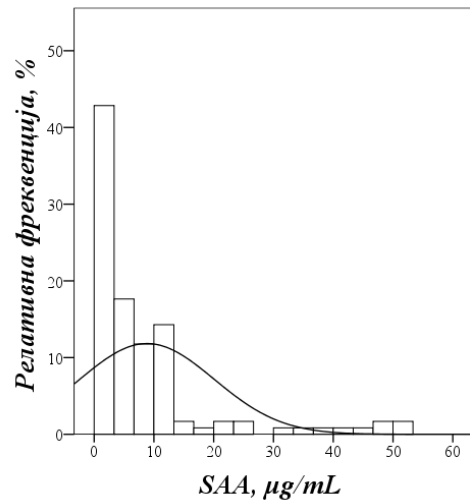
Расподела релативних фреквенци вредности испитиваних параметара код пацијената са СКА приказана је у виду хистограма на Слици 2.



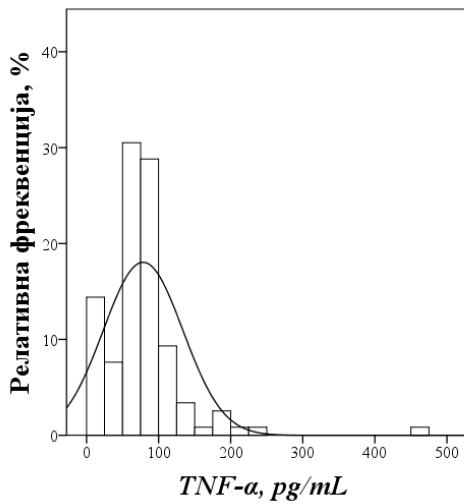
Слика 2. Графички приказ расподеле релативних фреквенција а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) пентраксина-3 (*PTX-3*), г) серум амилоида-А (*SAA*), д) фактора некрозе тумора- α (*TNF- α*), ђ) интерлеукина-1 β (*IL-1 β*), е) интерлеукина-6 (*IL-6*), ж) мијелопероксидазе (*MPO*), з) фосфолипазе А2 у вези са липопротеинима (*Lp-PLA2*), и) лецитину сличног рецептора за оксидовани *LDL-1* (*LOX-1*), ј) солубилног рецептора за активатор плазминогена сличног лецитину (*suPAR*), к) васкуларног ћелијског адхезивног молекула-1 (*VCAM-1*), л) селектина-Е (*sel-E*), љ) селектина-П (*sel-P*), м) матриксне металопротеиназе-2 (*MMP-2*), н) матриксне металопротеиназе-7 (*MMP-7*) и њ) матриксне металопротеиназе-9 (*MMP-9*) у серуму испитиваних пацијената са СКА



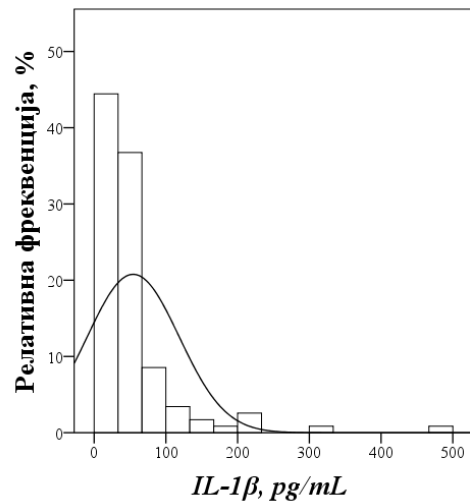
в)



г)

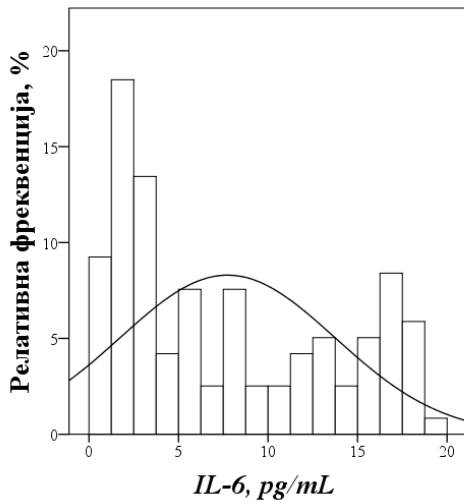


д)

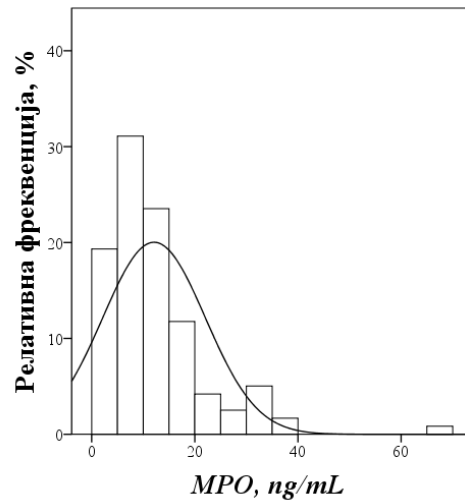


ђ)

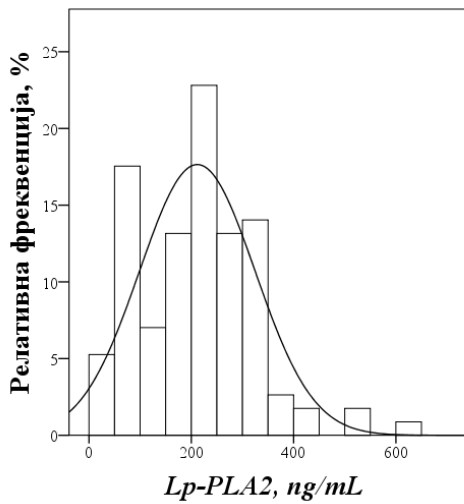
Слика 2. – наставак Графички приказ расподеле релативних фреквенција а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) пентраксина-3 (*PTX-3*), г) серум амилоида-А (*SAA*), д) фактора некрозе тумора- α (*TNF-\alpha*), ђ) интерлеукина-1 β (*IL-1\beta*), е) интерлеукина-6 (*IL-6*), ж) мијелопероксидазе (*MPO*), з) фосфолипазе А2 у вези са липопротеинима (*Lp-PLA2*), и) лецитину сличног рецептора за оксидовани *LDL-1* (*LOX-1*), ј) солубилног рецептора за активатор плазминогена сличног лецитину (*suPAR*), к) васкуларног ћелијског адхезивног молекула-1 (*VCAM-1*), л) селектина-Е (*sel-E*), љ) селектина-П (*sel-P*), м) матриксне металопротеиназе-2 (*MMP-2*), н) матриксне металопротеиназе-7 (*MMP-7*) и њ) матриксне металопротеиназе-9 (*MMP-9*) у серуму испитиваних пацијената са СКА



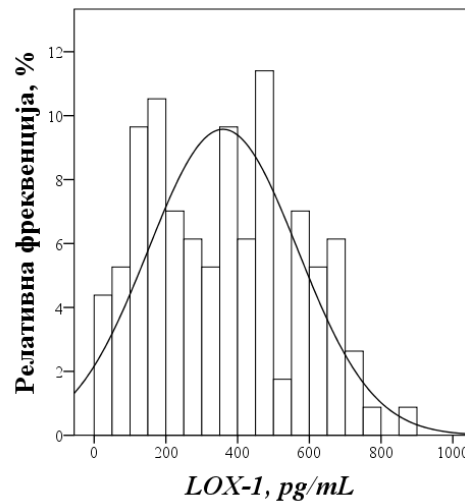
е)



ж)

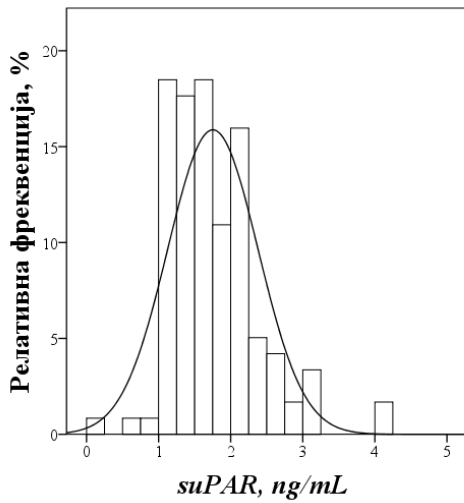


з)

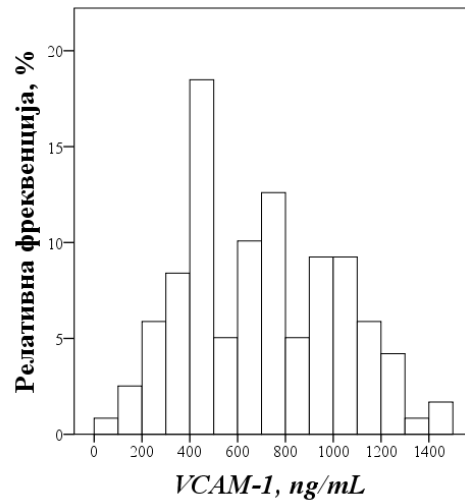


и)

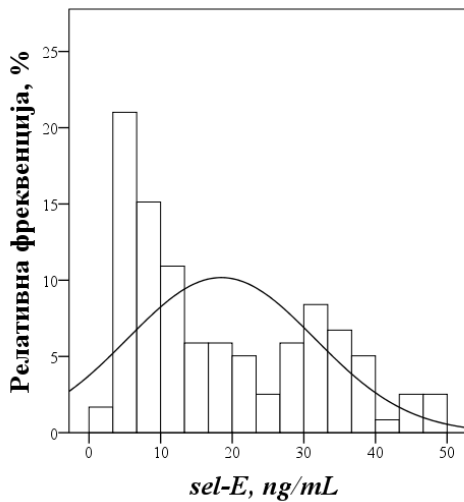
Слика 2. – наставак Графички приказ расподеле релативних фреквенција а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) пентраксина-3 (*PTX-3*), г) серум амилоида-А (*SAA*), д) фактора некрозе тумора- α (*TNF-\alpha*), ђ) интерлеукина-1 β (*IL-1\beta*), е) интерлеукина-6 (*IL-6*), ж) мијелопероксидазе (*MPO*), з) фосфолипазе А2 у вези са липопротеинима (*Lp-PLA2*), и) лецитину сличног рецептора за оксидовани *LDL-1* (*LOX-1*), ј) солубилног рецептора за активатор плазминогена сличног лецитину (*suPAR*), к) васкуларног ћелијског адхезивног молекула-1 (*VCAM-1*), л) селектина-Е (*sel-E*), љ) селектина-П (*sel-P*), м) матриксне металопротеиназе-2 (*MMP-2*), н) матриксне металопротеиназе-7 (*MMP-7*) и њ) матриксне металопротеиназе-9 (*MMP-9*) у серуму испитиваних пацијената са СКА



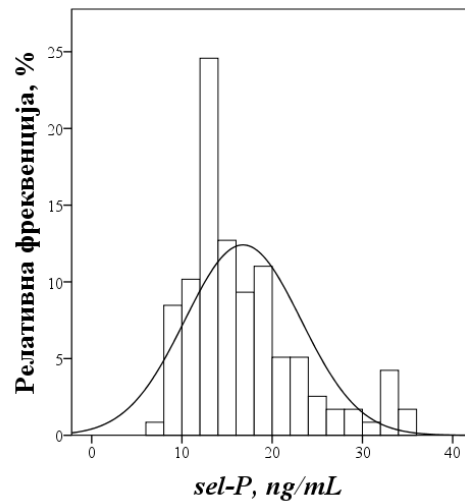
ј)



к)

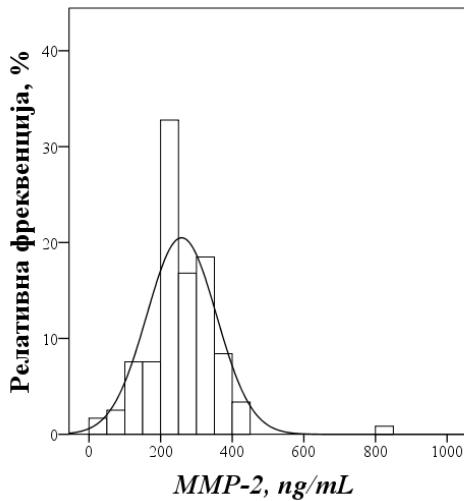


л)

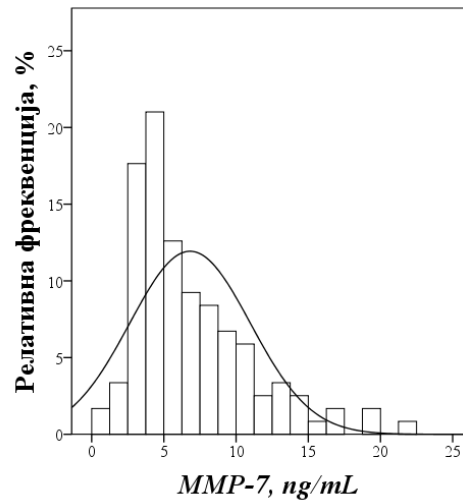


љ)

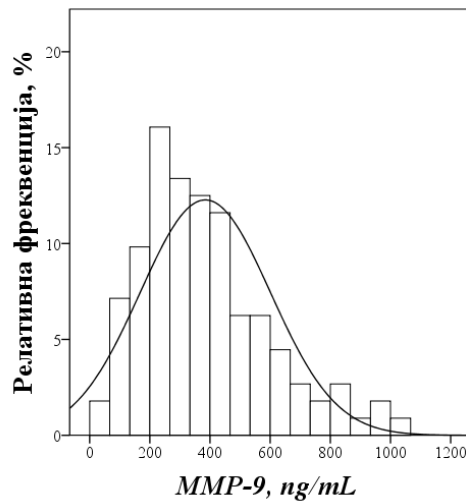
Слика 2. – наставак Графички приказ расподеле релативних фреквенција а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) пентраксина-3 (*PTX-3*), г) серум амилоида-А (*SAA*), д) фактора некрозе тумора- α (*TNF- α*), ђ) интерлеукина-1 β (*IL-1 β*), е) интерлеукина-6 (*IL-6*), ж) мијелопероксидазе (*MPO*), з) фосфолипазе А2 у вези са липопротеинима (*Lp-PLA2*), и) лецитину сличног рецептора за оксидовани *LDL-1* (*LOX-1*), ј) солубилног рецептора за активатор плазминогена сличног лецитину (*suPAR*), к) васкуларног ћелијског адхезивног молекула-1 (*VCAM-1*), л) селектина-Е (*sel-E*), љ) селектина-П (*sel-P*), м) матриксне металопротеиназе-2 (*MMP-2*), н) матриксне металопротеиназе-7 (*MMP-7*) и њ) матриксне металопротеиназе-9 (*MMP-9*) у серуму испитиваних пацијената са СКА



м)



н)



њ)

Слика 2. – наставак Графички приказ расподеле релативних фреквенција а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) пентраксина-3 (*PTX-3*), г) серум амилоида-А (*SAA*), д) фактора некрозе тумора- α (*TNF-\alpha*), ђ) интерлеукина- 1β (*IL-1\beta*), е) интерлеукина-6 (*IL-6*), ж) мијелопероксидазе (*MPO*), з) фосфолипазе А2 у вези са липопротеинима (*Lp-PLA2*), и) лецитину сличног рецептора за оксидовани *LDL-1* (*LOX-1*), ј) солубилног рецептора за активатор плазминогена сличног лецитину (*suPAR*), к) васкуларног ћелијског адхезивног молекула-1 (*VCAM-1*), л) селектина-Е (*sel-E*), љ) селектина-П (*sel-P*), м) матриксне металопротеиназе-2 (*MMP-2*), н) матриксне металопротеиназе-7 (*MMP-7*) и њ) матриксне металопротеиназе-9 (*MMP-9*) у серуму испитиваних пацијената са СКА

Нормалност приказаних расподела је тестирана употребом Колмогоров-Смирнов теста који је показао одступање од нормалне расподеле за све параметре, што је даље испитивање података усмерило ка непараметарској анализи.

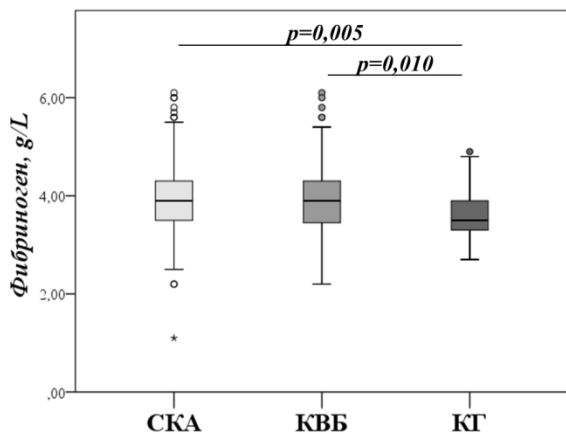
Да би се добијене вредности испитиваних параметара у СКА ставиле у контекст специфичне везе са овом болешћу, испитивана је њихова разлика у односу на вредности у другим КВБ и у здравој популацији. Резултати овог испитивања су приказани у Табели 4.

Табела 4. Концентрација испитиваних параметара у групи пацијената са СКА, са другим КВБ и контролној групи

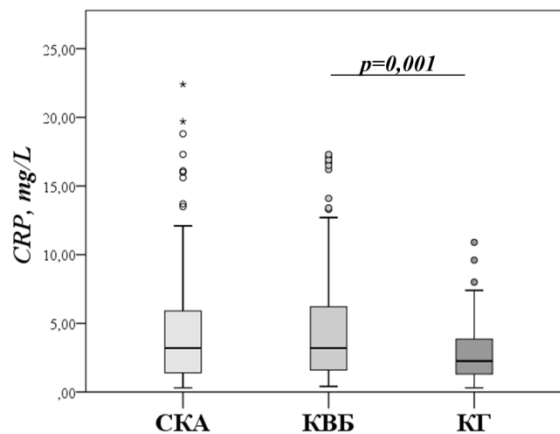
Параметри	СКА (n=119)	КВБ (n=133)	КГ (n=46)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	4,0 (3,5–4,4)	3,9 (3,5–4,4)	3,6 (3,3–3,9)	0,018
CRP, mg/L	3,4 (1,6–8,7)	3,8 (2,0–10,4)	2,4 (1,3–4,1)	0,009
PTX-3, ng/mL	3,2 (1,2–3,6)	3,3 (1,2–3,6)	3,3 (3,1–3,6)	0,224
SAA, µg/mL	4,6 (2,3–10,8)	3,9 (2,6–9,5)	3,8 (2,6–5,8)	0,721
TNF-α, pg/mL	72,3 (56,1–96,3)	74,0 (61,7–85,3)	86,4 (75,6–108,2)	0,001
IL-1β, pg/mL	36,5 (23,5–60,2)	35,1 (18,9–56,6)	49,8 (16,7–108,2)	0,251
IL-6, pg/mL	5,7 (2,3–13,0)	6,3 (2,3–14,8)	3,0 (2,0–4,9)	0,003
MPO, ng/mL	9,9 (5,9–15,6)	9,8 (6,6–15,6)	10,6 (4,5–13,1)	0,598
Lp-PLA2, ng/mL	221 (124–298)	230 (142–300)	241 (168–288)	0,745
LOX-1, pg/mL	372 (178–567)	309,6 (197–494)	321,1 (203–422)	0,657
suPAR, ng/mL	1,6 (1,3–2,1)	1,6 (1,3–2,2)	1,4 (1,2–1,8)	0,023
VCAM-1, ng/mL	706 (427–976)	591,6 (406–870)	635 (360–696)	0,244
Sel-E, ng/mL	14,0 (6,7–30,4)	21,1 (11,0–33,6)	30,5 (23,4–42,9)	<0,001
Sel-P, ng/mL	14,8 (12,3–19,6)	13,9 (11,1–18,4)	9,5 (9,0–9,9)	<0,001
MMP-2, ng/mL	244 (215–315)	269 (214–352)	308 (198–373)	0,132
MMP-7, ng/mL	5,2 (3,8–9,4)	5,7 (3,7–10,1)	3,2 (2,2–4,3)	<0,001
MMP-9, ng/mL	348 (237–553)	356 (232–585)	394 (283–610)	0,719

СКА: Стеноза каротидне артерије, КВБ: Друге кардиоваскуларне болести, КГ: Контролна група, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9. Вредности су приказане као медијана (интерквартилни распон). Значајност разлике је испитивана Краскал-Волис тестом, а значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

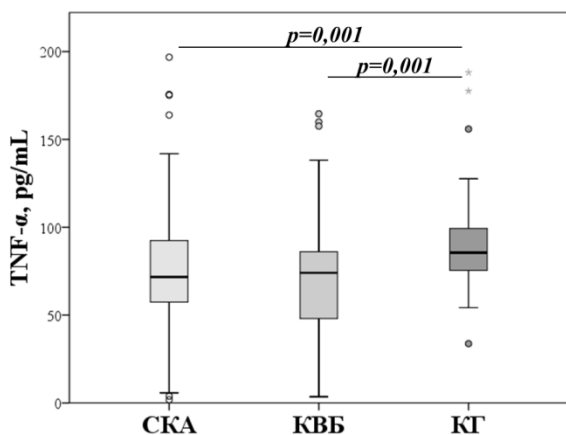
Даље је за параметре који су показали значајну разлику у Краскал-Волис тесту, *post-hoc* анализом помоћу Ман-Витни У теста утврђено међу којим групама појединачно је постојала статистички значајна разлика. Како је приказано на Слици 3, вредности већине параметара су биле сличне код пацијената са СКА и другим КВБ, а значајне разлике су добијене поређењем вредности параметара ове две групе са контролном. Као значајне су сматране све вредности $p < 0,017$; применом Бонферони корекције за вишеструка тестирања.



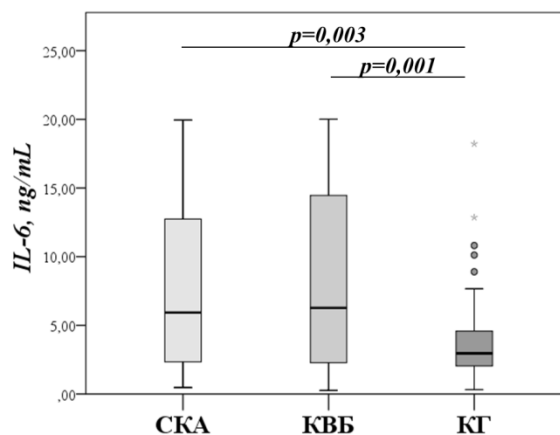
а)



б)



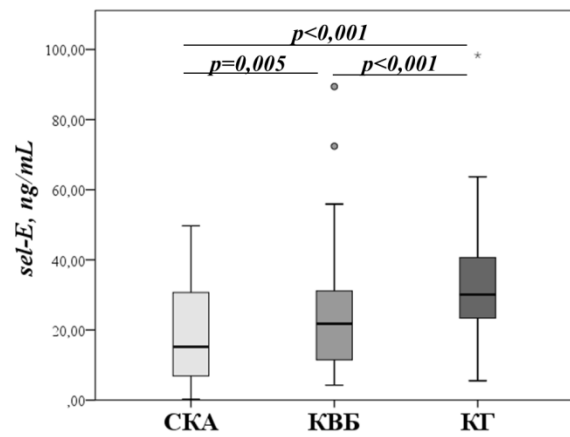
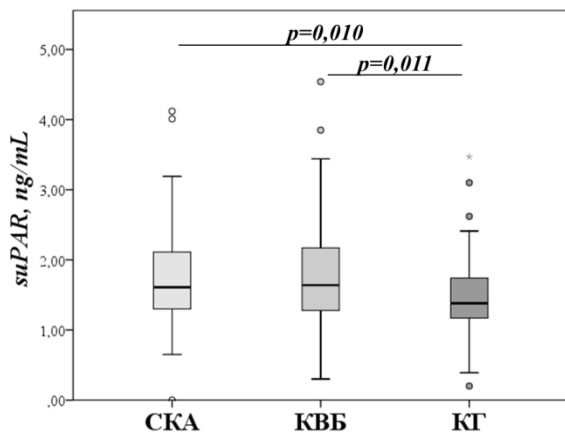
в)



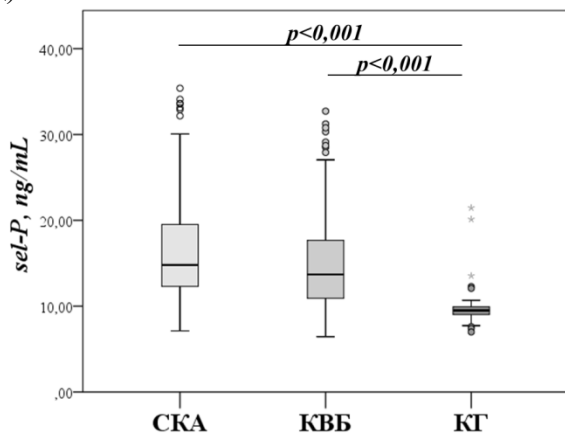
г)

Слика 3. Графички приказ разлике вредности а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) фактора некрозе тумора- α (*TNF- α*), г) интерлеукина-6 (*IL-6*), д) солубилног рецептора за активатор плазминогена сличног лецитину (*suPAR*), њ) селектина-Е (*sel-E*), е) селектина-П (*sel-P*) и ж) матриксне металопроотеиназе-7 (*MMP-7*) између различитих група испитаника: СКА: стеноза каротидне артерије, КВБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група

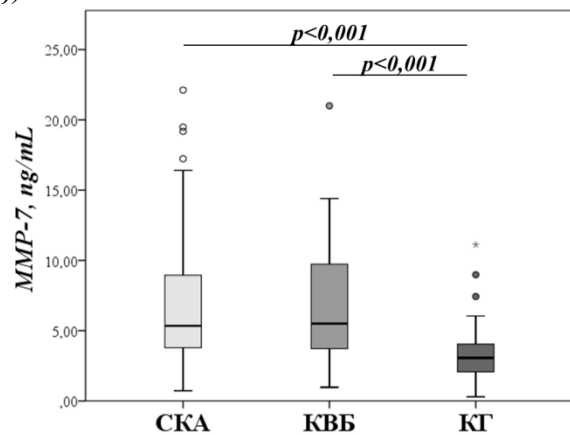
Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је p вредност мања од 0,017.



д)



ђ)



е)

ж)

Слика 3. – наставак Графички приказ разлике вредности а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) фактора некрозе тумора- α (*TNF- α*), г) интерлеукина-6 (*IL-6*), д) солубилног рецептора за активатор плазминогена сличног лецитину (*suPAR*), ђ) селектина-Е (*sel-E*), е) селектина-П (*sel-P*) и ж) матриксне металопроотеиназе-7 (*MMP-7*) између различитих група испитаника: SKA: стеноза каротидне артерије, KBБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је p вредност мања од 0,017.

Како испитивани параметри инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса имају повезане физиолошке улоге и промене у концентрацијама многих од њих се међусобно условљавају, било је од интереса испитати и то како присуство SKA или других KBБ утиче на њихове односе. Зато је даље анализирана корелација свих параметара међусобно, како код појединачних група испитаника, тако и код укупних испитаника, да би се утврдило које корелације постоје само код SKA или код кардиоваскуларних пацијената укупно, као и то које корелације присутне код здравих испитаника престају да важе у присуству SKA или других KBБ. Ови резултати су приказани матриксом корелације на Слици 4, где су приказане вредности коефицијента непараметарске корелације ρ и вероватноће p за све корелације које су биле значајне, док је бојама кодирано у којој групи је наведена значајна корелација била присутна.

	CRP	PTX-3	SAA	TNF- α	IL-1 β	IL-6	MPO	Lp-PLA2	LOX-1	suPAR	VCAM-1	Sel-E	Sel-P	MMP-2	MMP-7	MMP-9
Fb	+0,553 <0,001		+0,227 0,014		+0,202 0,023	+0,184 0,036			+0,348 0,019	+0,183 0,037						
CRP					+0,251 0,005	+0,254 <0,001	+0,301 0,045			-0,328 0,028	+0,262 0,003		+0,194 0,002			+0,461 0,002
PTX-3			-0,309 0,001	+0,591 <0,001		+0,205 0,006	-0,228 0,008	+0,408 <0,001			+0,250 <0,001	+0,334 <0,001	-0,272 <0,001	+0,397 0,006	-0,308 <0,001	+0,166 0,010
SAA					-0,238 <0,001	+0,244 0,005	+0,286 <0,001				+0,175 0,044		+0,235 <0,001		+0,311 0,001	+0,345 0,020
TNF-α						-0,192 0,036	-0,180 0,043	+0,385 <0,001	+0,434 <0,001		+0,205 0,020	+0,263 0,004	-0,396 <0,001	+0,220 0,013	+0,422 0,004	+0,244 <0,001
IL-1β							+0,234 <0,001	+0,305 0,039	+0,251 0,005					+0,225 0,014		
IL-6									+0,581 <0,001		+0,327 0,026	-0,186 0,032			+0,244 0,005	+0,310 0,038
MPO										+0,208 0,023			+0,324 <0,001	+0,181 0,049	+0,332 <0,001	+0,467 0,001
Lp-PLA2									+0,241 0,001	-0,325 0,027	+0,188 0,031	+0,197 0,009				+0,398 <0,001
LOX-1										+0,200 0,029	+0,283 <0,001	-0,333 <0,001	-0,194 0,034	+0,175 0,049		
suPAR													+0,209 0,016		+0,238 0,009	-0,380 0,010
VCAM-1														+0,308 0,001		
Sel-E																
Sel-P																
MMP-2																
MMP-7																
MMP-9																

- СКА
- СКА+КВБ
- КВБ
- КГ
- КГ+КВБ
- У свим
- Ни у једној

Слика 4. Матрикс корелације испитиваних параметара у свим групама испитаника појединачно и укупно

СКА: стеноза каротидне артерије, КВБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група, *Fb*: фибриноген, *CRP*: Ц-реактивни протеин, СКА: *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF- α* : фактор некрозе тумора- α , *IL-1 β* : интерлеукин-1 β , *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9.

Резултати су добијени Спирмановом корелационом анализом. Приказане су вредности коефицијента корелације ρ , а испод њих вредности вероватноће p . Значајном разликом сматрана је p вредност мања од 0,05.

4.2. Испитивање демографских карактеристика и фактора ризика, присуства коморбидитета и заступљености употребе терапије код испитаника, као и повезаности ових фактора са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса

Од значаја је било испитати податке о демографским карактеристикама и факторима ризика, као и присутним коморбидитетима и употреби терапије од значаја. Вредности серумских параметара анализиране су у односу на ове карактеристике испитаника како би се уочила евентуална веза и претпоставио потенцијални утицај неког од ових фактора на ниво испитиваних параметара. У обзир су узети пол, године, присуство гојазности, хиперлипидемије, хипертензије, пушачки статус, конзумација алкохола, присуство дијабетеса мелитуса и хроничних бубрежних болести, као и истовременог присуства више КВБ укључујући каротидну, коронарну, периферну артеријску и анеуризматску болест, и на крају употреба статина, антиагрегационе, антихипертензивне и антикоагулантне терапије.

4.2.1. Испитивање демографских карактеристика и фактора ризика код испитаника, као и њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса

Основне демографске карактеристике различитих група испитаника, као и заступљеност значајних фактора ризика за развој КВБ у овим групама су приказани у Табели 5.

Показано је да су групе испитаника биле уједначене према старости и полу, осим КВБ групе у којој је пропорција мушкараца била значајно виша у односу на остале. Такође, већина фактора ризика је била значајно заступљенија у групама пацијената (СКА и КВБ) у односу на контролну групу. Између испитаника са симптоматском и асимптоматском СКА није било разлике ни у једном испитиваном фактору.

Табела 5. Основне демографске карактеристике и присуство фактора ризика у различитим групама испитаника

Параметри	СКА (n=119)		КВБ (n=133)	КГ (n=46)	p	
	АСКА (n=83)	ССКА (n=36)				
Мушки пол, n (%)	59 (71,1)	25 (69,4)	112 (84,2)	26 (56,5)	0,086 ^a	0,009^b
Женски пол, n (%)	24 (28,9)	11 (30,6)	21 (15,8)	20 (43,5)	<0,001^b	0,857 ^г
Старост, године	69 (64–73)	69 (62–73)	67 (62–71)	66 (62–71)	0,080	
ИТМ, kg/m ²	26,0±3,42	26,6±3,20	26,6±3,66	25,7±2,90	0,391	
Дислипидемија, n (%)	45 (54,2)	17 (47,2)	69 (51,9)	17 (37,0)	0,261	
Хипертензија, n (%)	80 (96,4)	30 (85,7)	119 (89,5)	34 (73,9)	0,001^a	0,295 ^б
					0,010^б	0,035 ^г
Пушење, n (%)	55 (66,3)	27 (75,0)	106 (79,7)	25 (54,3)	0,079 ^a	0,049 ^б
					0,001^б	0,344 ^г
Алкохол, n (%)	17 (20,7)	8 (22,2)	25 (18,8)	1 (2,2)	0,003^a	0,636 ^б
					0,006^б	0,855 ^г
ДМ, n (%)	32 (38,6)	17 (47,2)	32 (24,1)	7 (15,2)	0,002^a	0,004^б
					0,210 ^б	0,377 ^г
ХББ, n (%)	22 (26,5)	12 (33,3)	28 (21,1)	3 (6,5)	0,002^a	0,167 ^б
					0,025 ^б	0,449 ^г

СКА: Стеноза каротидне артерије, АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије, КВБ: Друге кардиоваскуларне болести, КГ: Контролна група, ИТМ: Индекс телесне масе, ДМ: Дијабетес мелитус, ХББ: Хронична бубрежна болест.

Вредности континуираних варијабли су приказане као средња вредност ± стандардна девијација за варијабле са нормалном дистрибуцијом података и као медијана (интерквартилни распон) за варијабле са дистрибуцијом која одступа од нормалне. Категоричке варијабле су приказане као број и проценат испитаника у одговарајућој категорији.

Значајност разлике је испитивана χ -квадрат тестом за категоричке варијабле, а АНОВА и Краскал-Волис тестом за нумеричке варијабле, и одговарајуће *p* вредности добијене овим тестовима су приказане за параметре који нису показали значајну разлику, док су за оне који јесу, те разлике представљене *p* вредностима *post-hoc* тестова (Ман-Витни *U*) за сва поређења обележена суперскриптом:

а – поређење СКА и КГ

б – поређење СКА и КВБ

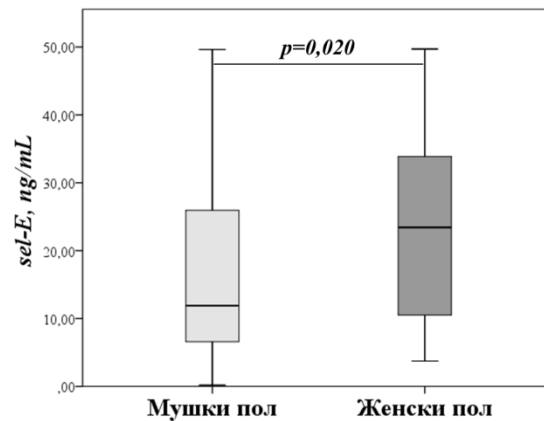
в – поређење КВБ и КГ

г – поређење АСКА и ССКА

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,013 због примене Бонферони корекције за вишеструко тестирање.

Како би се утврдила евентуална повезаност испитиваних демографских карактеристика и фактора ризика са испитиваним серумским параметрима у популацији пацијената са значајном СКА, анализирани су њихове вредности у односу на ове факторе у групи пацијената са СКА.

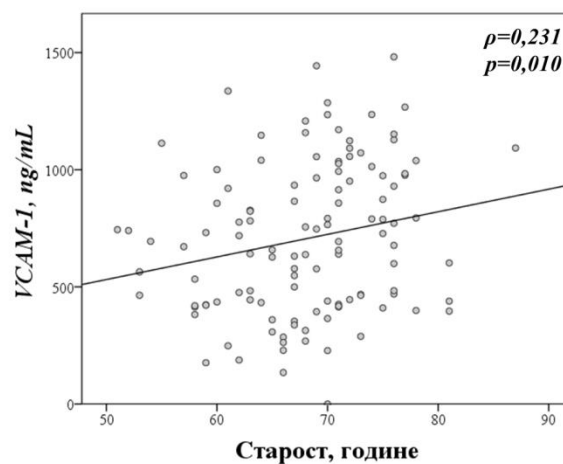
Прво су поређене вредности испитиваних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код мушкараца и жена у СКА групи и значајна разлика је добијена само за *sel-E*, што је приказано на Слици 5.



Слика 5. Графички приказ разлике вредности селектина-Е (*Sel-E*) према полу у групи пацијената са СКА

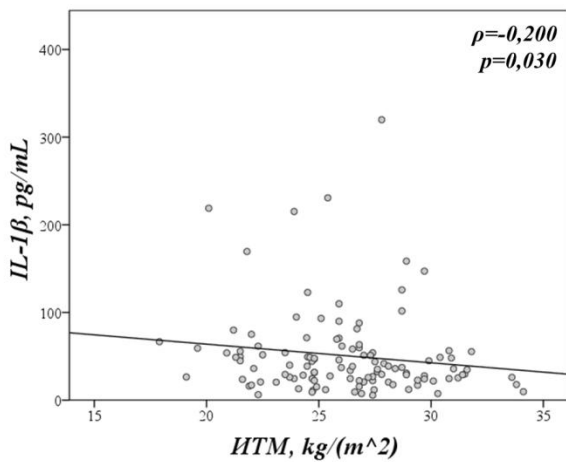
Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Даље је утврђено да значајна корелација са годинама старости од свих испитиваних параметара постоји само за *VCAM-1*. Вредности овог адхезивног молекула су расле са годинама старости, што је приказано на Слици 6.

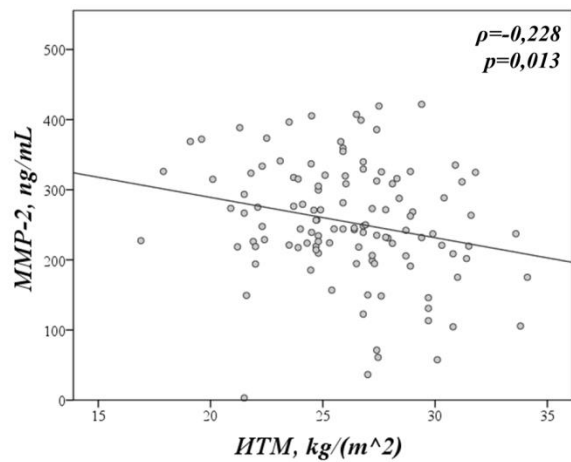


Слика 6. Графички приказ позитивне Спирманове корелације између васкуларног ћелијског адхезивног молекула-1 (*VCAM-1*) и година старости испитаника у СКА групи

Са индексом телесне масе су значајно корелирали само *IL-1 β* и *MMP-2*, од којих су оба показала негативну корелацију, као што је приказано на Слици 7.



а)

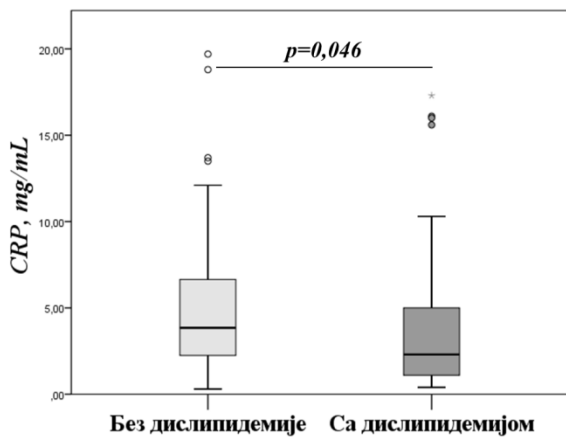


б)

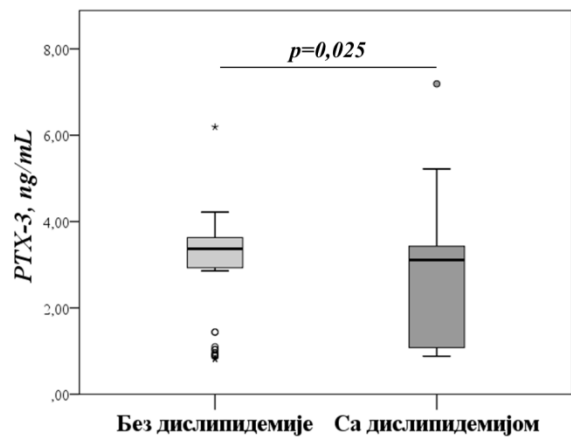
Слика 7. Графички приказ Спирманове корелационе анализе а) интерлеукина-1 β (*IL-1 β*) и б) матриксне металопротеиназе-2 (*MMP-2*) са индексом телесне масе (ИТМ) у СКА групи

Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Поређењем вредности испитиваних параметара код пацијената са СКА који су имали дислипидемију (дефинисану као вредности било ког параметра липидног статуса изван граница препоручених) и код оних који нису, показано је да су одређени протеини акутне фазе били значајно нижи код пацијената са дислипидемијом. Ове разлике су приказане на Слици 8.



а)



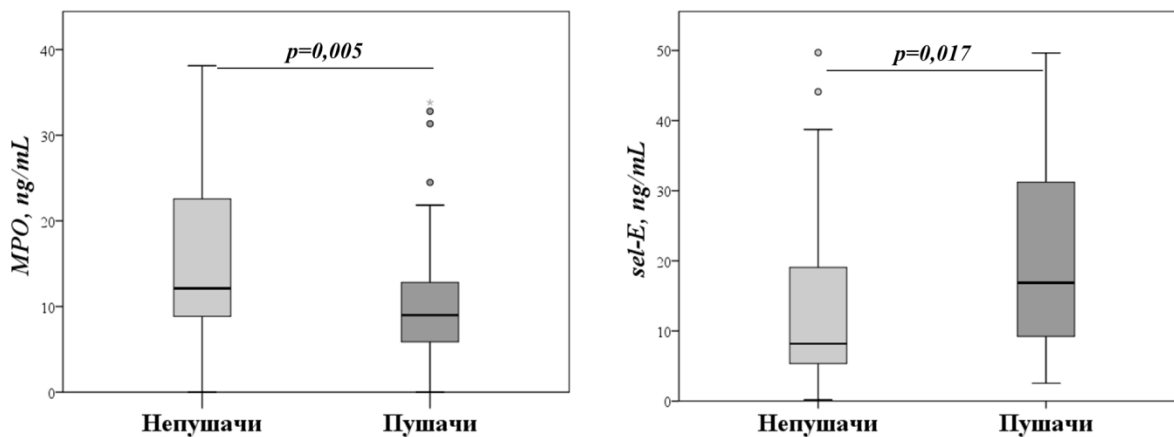
б)

Слика 8. Графички приказ разлике у вредностима а) Ц-реактивног протеина (*CRP*) и б) пентраксина-3 (*PTX-3*) у односу на присуство дислипидемије код пацијената са СКА

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Ни један од испитиваних параметара није показао значајну разлику у односу на присуство хипертензије код пацијената са СКА.

Показано је да је пушачки статус имао значајан утицај на вредности *MPO* које су биле ниже код пушача, и на вредности селектина-Е, које су биле више код пушача. Остали параметри нису показали значајну разлику. Добијени резултати приказани су на Слици 9.



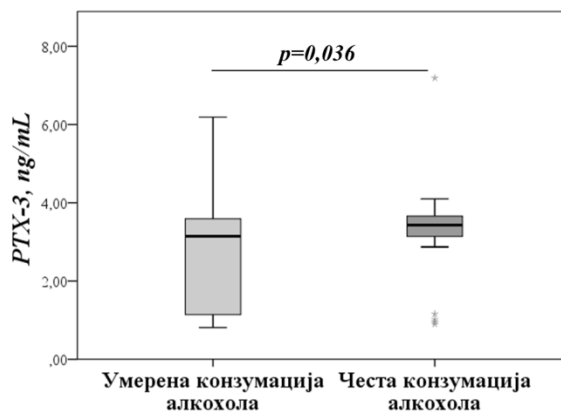
а)

б)

Слика 9. Графички приказ разлике у вредностима а) мијелопероксидазе (*MPO*) и б) селектина-Е (*sel-E*) између пушача и непушача са СКА.

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

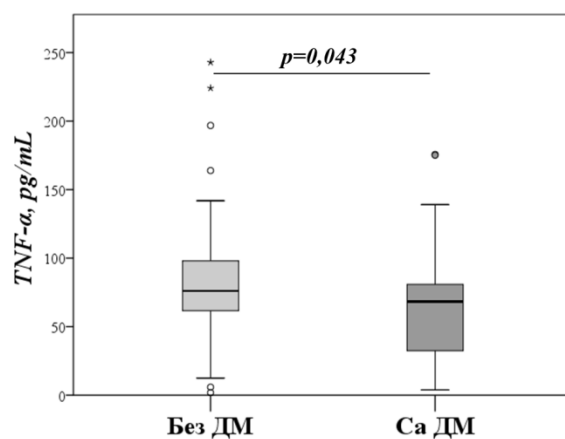
Пацијенти са СКА који су учестало конзумирали алкохол, имали су веће вредности *PTX-3* у односу на оне који нису, што је приказано на Слици 10. Остали испитивани параметри нису показали значајну разлику у односу на степен конзумације алкохола.



Слика 10. Графички приказ разлике у вредности пентраксина-3 (*PTX-3*) између испитаника у оквиру СКА групе који су учестало конзумирали алкохола и оних који нису.

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

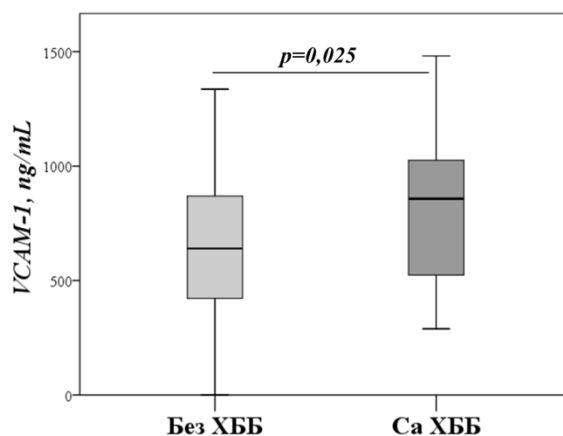
Код пацијената са СКА који су истовремено имали и ДМ, од свих испитиваних параметара значајна разлика је била присутна једино у вредностима *TNF- α* , што је приказано на Слици 11.



Слика 11. Графички приказ разлике у вредностима фактора некрозе тумора- α ($TNF-\alpha$) између СКА пацијената који нису имали дијабетес мелитус (ДМ) и оних који јесу.

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Једини испитивани параметар који је показао разлику у односу на присуство ХББ код пацијената са СКА је био $VCAM-1$, и његове вредности код ових пацијената су биле више, што је приказано на Слици 12.



Слика 12. Графички приказ разлике у вредностима васкуларног ћелијског адхезионог молекула-1 ($VCAM-1$) између СКА пацијената који нису имали хроничну болест бубрега (ХББ) и оних који јесу

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

4.2.2. Испитивање заступљености кардиоваскуларних коморбидитета код пацијената са СКА, као и њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА

У групи пацијената са СКА, око 50% испитаника није имало додатне кардиоваскуларне коморбидитете, док осталих 50% јесте. Најчешћи кардиоваскуларни коморбидитет је била коронарна артеријска болест коју је имало око 29% испитаника у овој групи. Значајно су биле присутне и оклузивна болест периферних артерија коју је имало око 24% испитаника, као и анеуризматска болест, која је била удружена са СКА код око 19% испитаника са овом болешћу.

Око 61% испитаника са коморбидитетима је осим СКА имало још једну од наведених КВБ, док су остали имали чак две (34%) или три (6%) придружене болести.

Заступљеност коморбидитета код асимптоматских и симптоматских пацијената са СКА приказана је у Табели 6.

Табела 6. Заступљеност кардиоваскуларних коморбидитета код симптоматских и асимптоматских пацијената са СКА

Коморбидитет	АСКА (n=83)	ССКА (n=36)	<i>p</i>
Коронарна артеријска болест, n (%)	27 (32,5)	7 (19,4)	0,147
Оклузивна болест периферних артерија, n (%)	21 (25,3)	7 (17,4)	0,489
Анеуризматска болест, n (%)	20 (24,1)	3 (2,5)	0,045

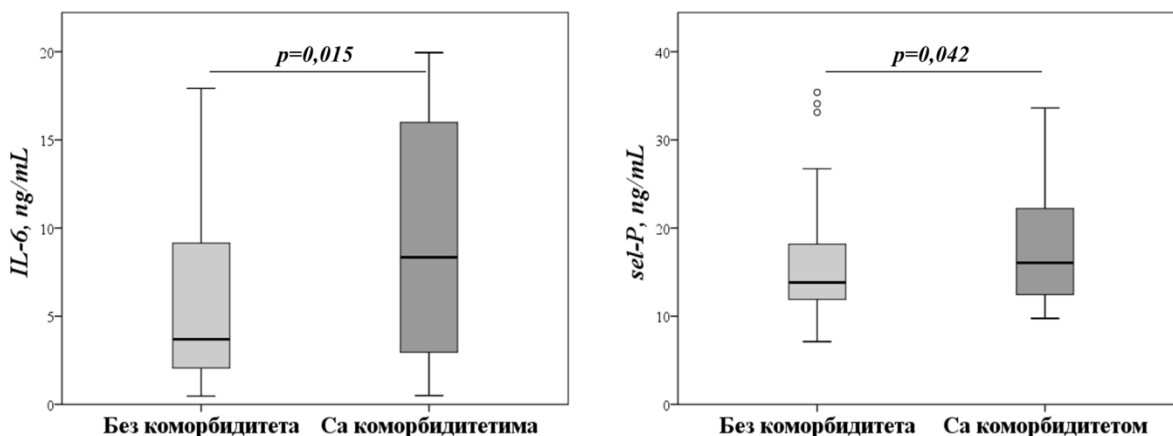
АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије. Вредности су приказане као број и проценат испитаника у одговарајућој категорији.

Коришћен је χ -квадрат тест.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Од асимптоматских пацијената, 46% није имало ни један коморбидитет, а код симптоматских, тај проценат је износио 61%, али разлика у овим пропорцијама није била статистички значајна. Око 30% испитаника у обе ове подгрупе пацијената је имало по један од испитиваних кардиоваскуларних коморбидитета, док је пропорција асимптоматских пацијената са два или више коморбидитета од 25% била значајно виша од пропорције код симптоматских пацијената која је износила 8% ($p=0,045$).

Већина испитиваних серумских параметара није показала значајну разлику у односу на присуство коморбидитета, а вредности оних који јесу су приказане на Слици 13.



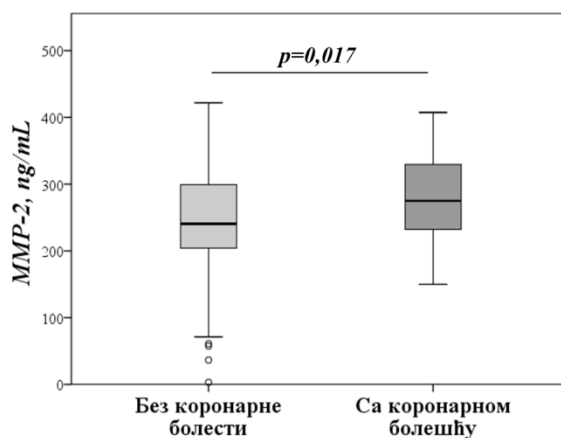
а)

б)

Слика 13. Графички приказ концентрација а) интерлеукина-6 (*IL-6*), б) селектина-П (*Sel-P*) код пацијената са СКА у односу на присуство коморбидитета

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

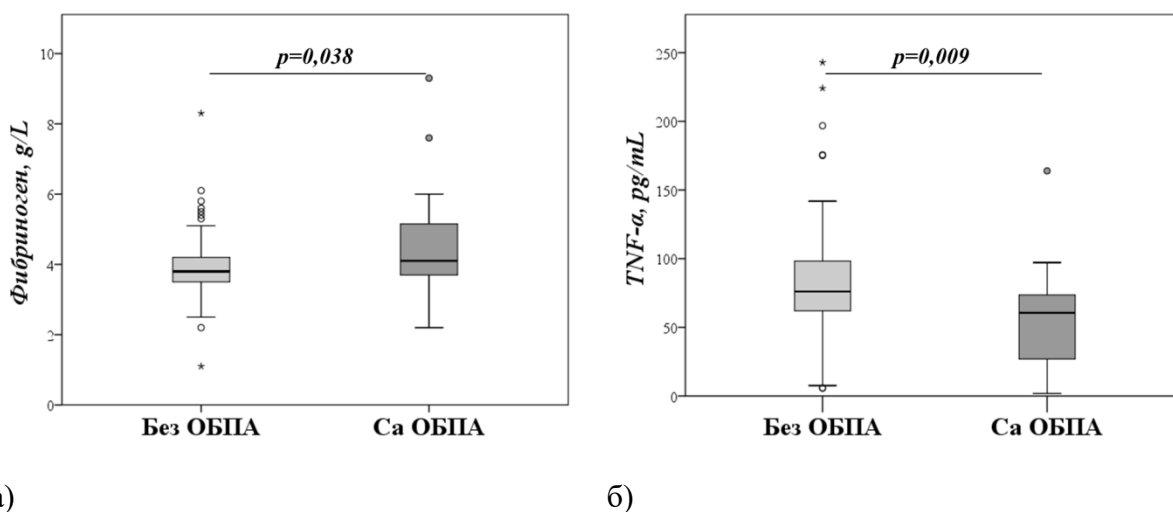
Добијене су и више вредности *MMP-2* код пацијената који су уз СКА имали и коронарну артеријску болест у односу на оне који нису, што је приказано на Слици 14.



Слика 14. Графички приказ концентрације матриксне металопроотеиназе-2 (*MMP-2*) код пацијената са СКА у односу на присуство коронарне артеријске болести

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Вредности фибриногена су биле више, а вредности $TNF-\alpha$ ниже код пацијената који су уз СКА имали и оклузивну болест периферних артерија, што је приказано на Слици 15, док остали параметри нису показали значајну разлику. Такође, ни један од испитиваних параметара није показао разлику у односу на присуство анеуризматске болести.



Слика 15. Графички приказ концентрације а) фибриногена, б) фактора некрозе тумора- α ($TNF-\alpha$) код пацијената са СКА у односу на присуство оклузивне болести периферних артерија (ОБПА)

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Између СКА пацијената који су имали један и оних који су имали више кардиоваскуларних коморбидитета није била присутна разлика у вредности и једног испитиваног параметра.

4.2.3. Испитивање заступљености употребе терапије у различитим групама испитаника, као и њене повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА

На основу анализе анамнестичких података о коришћењу терапије од стране испитаника са СКА, са другим КВБ и здравих испитаника у контролној групи, добијене су преваленце употребе статина, антихипертензивних, антиагрегационих и антикоагулантних лекова. Потом је њиховим поређењем показано да су групе пацијената већином биле хомогене по употреби терапије, док је она у контролној групи била значајно мање заступљена. Ово је приказано у Табели 7.

Табела 7. Преваленца употребе терапије у различитим групама испитаника

Параметри	СКА (n=119)		КВБ (n=133)	КГ (n=46)	p	
	АСКА (n=83)	ССКА (n=36)				
Статини, n (%)	60 (72,3)	21 (58,1)	78 (58,6)	14 (30,4)	<0,001 ^a	0,078 ^б
					0,001 ^б	0,100 ^г
Антихипертензивна терапија, n (%)	79 (95,2)	26 (72,2)	112 (84,2)	26 (56,5)	<0,001 ^a	0,230 ^б
					<0,001 ^б	0,001 ^г
Антиагрегациона терапија, n (%)	77 (92,8)	31 (86,1)	111 (83,5)	24 (52,2)	<0,001 ^a	0,062 ^б
					<0,001 ^б	0,206 ^г
Антикоагулантна терапија, n (%)	9 (10,8)	1 (2,8)	13 (9,8)	3 (6,5)	0,485 ^a	0,439 ^б
					0,371 ^б	0,134 ^г

СКА: Стеноза каротидне артерије, АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије, КВБ: Друге кардиоваскуларне болести, КГ: Контролна група.

Вредности су приказане као број и проценат испитаника у одговарајућој категорији.

Коришћен је χ -квадрат тест.

а – поређење СКА и КГ

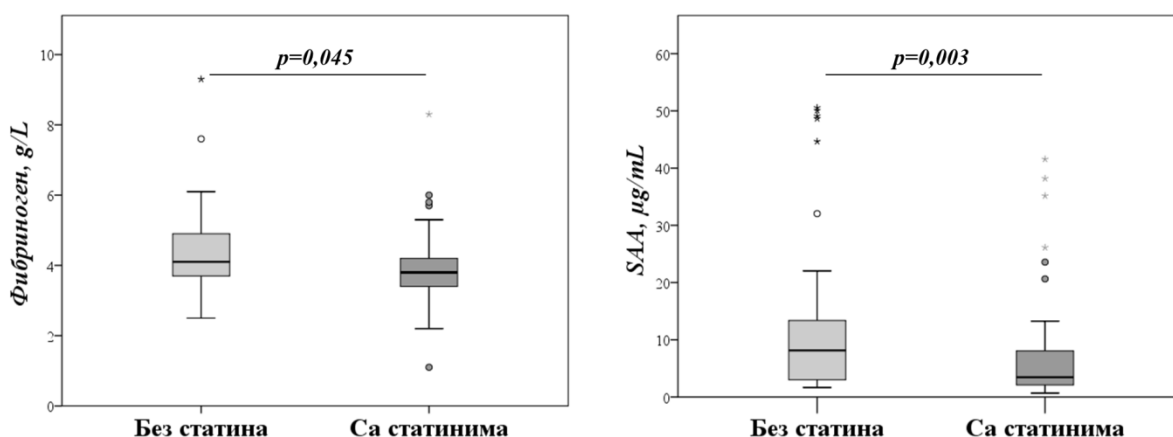
б – поређење СКА и КВБ

в – поређење КВБ и КГ

г – поређење АСКА и ССКА

Значајном разликом сматрана је p вредност мања од 0,05.

Даље је у групи пацијената са СКА вршено поређење вредности испитиваних параметара између оних пацијената који су користили неку од наведених терапија и оних који нису. Уочено је да ни један параметар није показао разлику у односу на употребу антихипертензиве и антикоагулантне терапије и да већина параметара није показивала разлику ни у односу на терапију статинима, и антиагрегационим лековима. Неколико поређења која јесу показала значајну разлику, приказана су на Сликама 16. и 17.

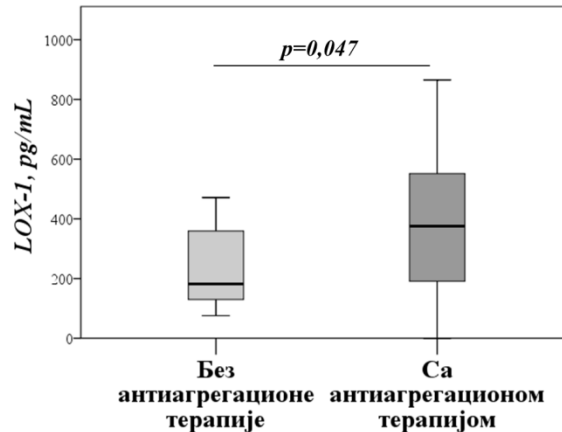


а)

б)

Слика 16. Графички приказ разлике у вредностима а) фибриногена, б) серумског амилоида А (SAA) између СКА пацијената који нису користили терапију статинима и оних који јесу

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.



Слика 17. Графички приказ разлике у вредностима лецитину сличног рецептора за оксидовани *LDL* (*LOX-1*) између СКА пацијената који нису користили антиагрегациону терапију и оних који јесу

Резултати су добијени употребом студентовог т-теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

4.3. Анализа клиничких и ултразвучних параметара пацијената са болешћу каротидне артерије и утврђивање њихове везе са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса

Као најбитније карактеристике каротидне стенозе у овој студији, узети су симптоматски статус, врста присутних симптома, ултразвучно процењени степен стенозе и морфолошке карактеристике од значаја за стабилност плака. Испитиван је међусобни однос ових фактора, као и ниво одређиваних серумских параметара у односу на њих, а све како би се утврдиле евентуалне корелације серумских и клиничких, односно ултразвучних параметара код пацијената са СКА.

4.3.1. Испитивање ултразвучних карактеристика каротидног плака и вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на симптоматски статус пацијената са СКА

Медијана степена стенозе који је изражен као оклудирани проценат лумена каротидне артерије за асимптоматске пацијенте износила је 80% (65–95%), док је за симптоматске пацијенте овај степен био нешто већи са 90% (65–95%). Ман-Витни У тестом је утврђено да ова разлика није била статистички значајна ($p = 0,527$).

Такође, употребом χ -квадрат теста није показано да је тешка стеноза ($\geq 70\%$) била значајно присутнија код симптоматских у односу на асимптоматске пацијенте, што је приказано у Табели 8.

Табела 8. Присуство стенозе високог степена код асимптоматских и симптоматских СКА пацијената

Степен стенозе	АСКА (n=83)	ССКА (n=36)	<i>p</i>
<70%, n (%)	25 (30,1)	9 (25,0)	0,570
≥70%, n (%)	58 (69,9)	27 (75,0)	

АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије.

Вредности су приказане као број и проценат испитаника у одговарајућој категорији.

Коришћен је χ -квадрат тест.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност <0,05.

Даље је испитивано присуство стабилног, односно нестабилног каротидног плака код пацијената са симптоматском и асимптоматском СКА и резултати су приказани у Табели 9.

Иако је проценат пацијената са плаком нестабилне морфологије био већи код симптоматских пацијената, ова разлика није достигла статистичку значајност.

Табела 9. Присуство стабилног/нестабилног каротидног плака код асимптоматских и симптоматских СКА пацијената

Морфолошке карактеристике плака	АСКА (n=81)	ССКА (n=31)	<i>p</i>
Стабилни, n (%)	58 (71,6)	17 (54,8)	0,091
Нестабилни, n (%)	23 (28,4)	14 (45,2)	

АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије.

Вредности су приказане као број и проценат испитаника у одговарајућој категорији.

Коришћен је χ -квадрат тест.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност <0,05.

Приликом анализе концентрације серумских параметара код асимптоматских и симптоматских пацијената са СКА, значајна разлика је уочена само за један параметар који је био виши код симптоматских пацијената, као што је приказано у Табели 10

Табела 10. Концентрације испитиваних параметара код пацијената са асимптоматском и симптоматском СКА

Параметри	АСКА (n=83)	ССКА (n=36)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	2,8 (1,4–7,3)	3,8 (3,6–4,1)	0,455
<i>CRP, mg/L</i>	3,0 (1,5–6,0)	4,0 (2,9–9,5)	0,088
<i>PTX-3, ng/mL</i>	3,3 (1,4–3,6)	3,0 (1,0–3,6)	0,111
<i>SAA, µg/mL</i>	3,5 (2,1–8,1)	8,2 (2,5–13,4)	0,013
<i>TNF-α, pg/mL</i>	76,0 (60,6–97,4)	62,3 (19,4–92,2)	0,052
<i>IL-1β, pg/mL</i>	40,8 (24,6–36,3)	31,8 (21,7–55,7)	0,077
<i>IL-6, pg/mL</i>	5,7 (2,0–13,6)	5,9 (1,9–12,6)	0,644
<i>MPO, ng/mL</i>	10,0 (6,7–15,6)	9,0 (3,4–16,2)	0,628
<i>Lp-PLA2, ng/mL</i>	211 (135–270)	218 (90–299)	0,597
<i>LOX-1, pg/mL</i>	354±207,5	363±216,3	0,984
<i>suPAR, ng/mL</i>	1,8±0,73	1,8±0,55	0,793
<i>VCAM-1, ng/mL</i>	639 (420–942)	744 (554–1048)	0,253
<i>Sel-E, ng/mL</i>	12,6 (6,6–27,0)	24,7 (7,2–35,1)	0,535
<i>Sel-P, ng/mL</i>	13,7 (12,1–18,9)	16,9 (12,7–19,7)	0,461
<i>MMP-2, ng/mL</i>	239 (215–310)	219 (139–269)	0,110
<i>MMP-7, ng/mL</i>	5,0 (3,6–7,5)	4,1 (3,4–9,5)	0,870
<i>MMP-9, ng/mL</i>	334 (217–565)	300 (223–428)	0,670

АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопротеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопротеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопротеиназа-9.

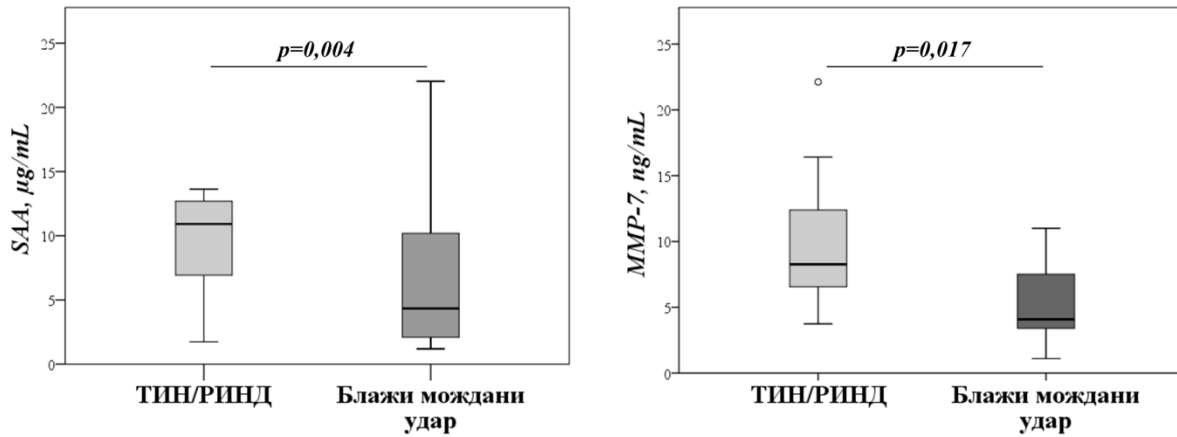
Вредности су приказане као медијана (интерквартилни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Код симптоматских пацијената није утврђена разлика у присутном степену стенозе нити у стабилности плака у односу на врсту недавних симптома. Резултати су показали да је тешку стенозу имало 75% пацијената који су доживели ТИН или РИНД, и око 78% пацијената који су доживели блажи мождани удар (*p*=0,827). Каротидни плак нестабилне морфологије био је присутан код око 44% симптоматских пацијената са ТИН или РИНД-ом, и код око 48% са блажим можданим ударом (*p*=0,873).

Иако су подгрупе испитаника са различитим типом недавних симптома биле хомогене по питању наведених ултразвучних карактеристика стенозе, неколико серумских параметара је показало значајну разлику у концентрацији између симптоматских пацијената који су доживели ТИН/РИНД и оних који су доживели блажи мождани удар. На Слици 18. су приказане вредности и разлике ових параметара у односу на врсту симптома.



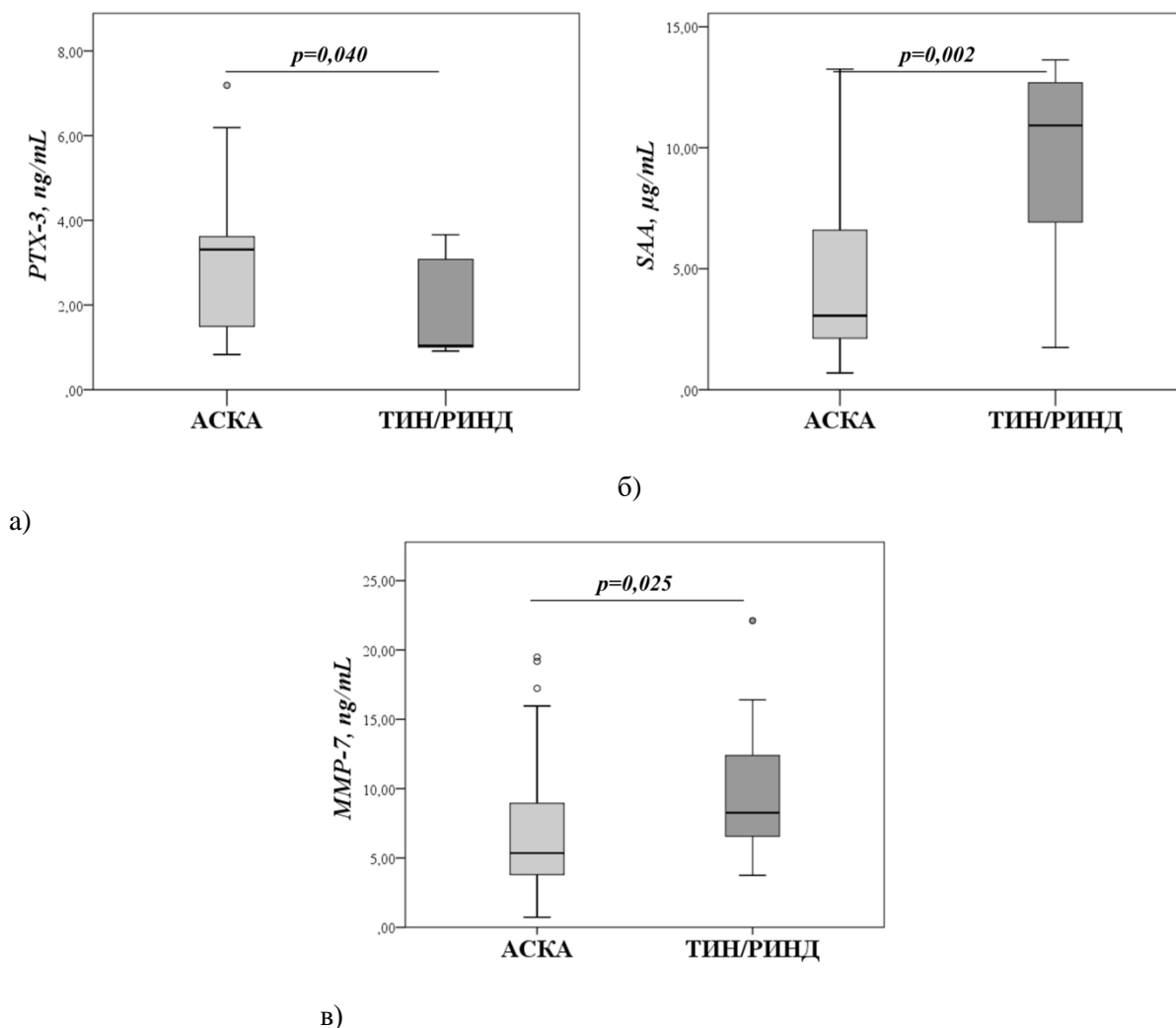
а)

б)

Слика 18. Графички приказ разлике у вредностима а) серумског амилоида А (SAA) б) матриксне металопротеиназе-7 између симптоматских пацијената који су доживели транзиторни исхемијски напад (ТИН) или реверзибилни исхемијски неуролошки дефицит (РИНД) и оних који су доживели блажи мождани удар

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

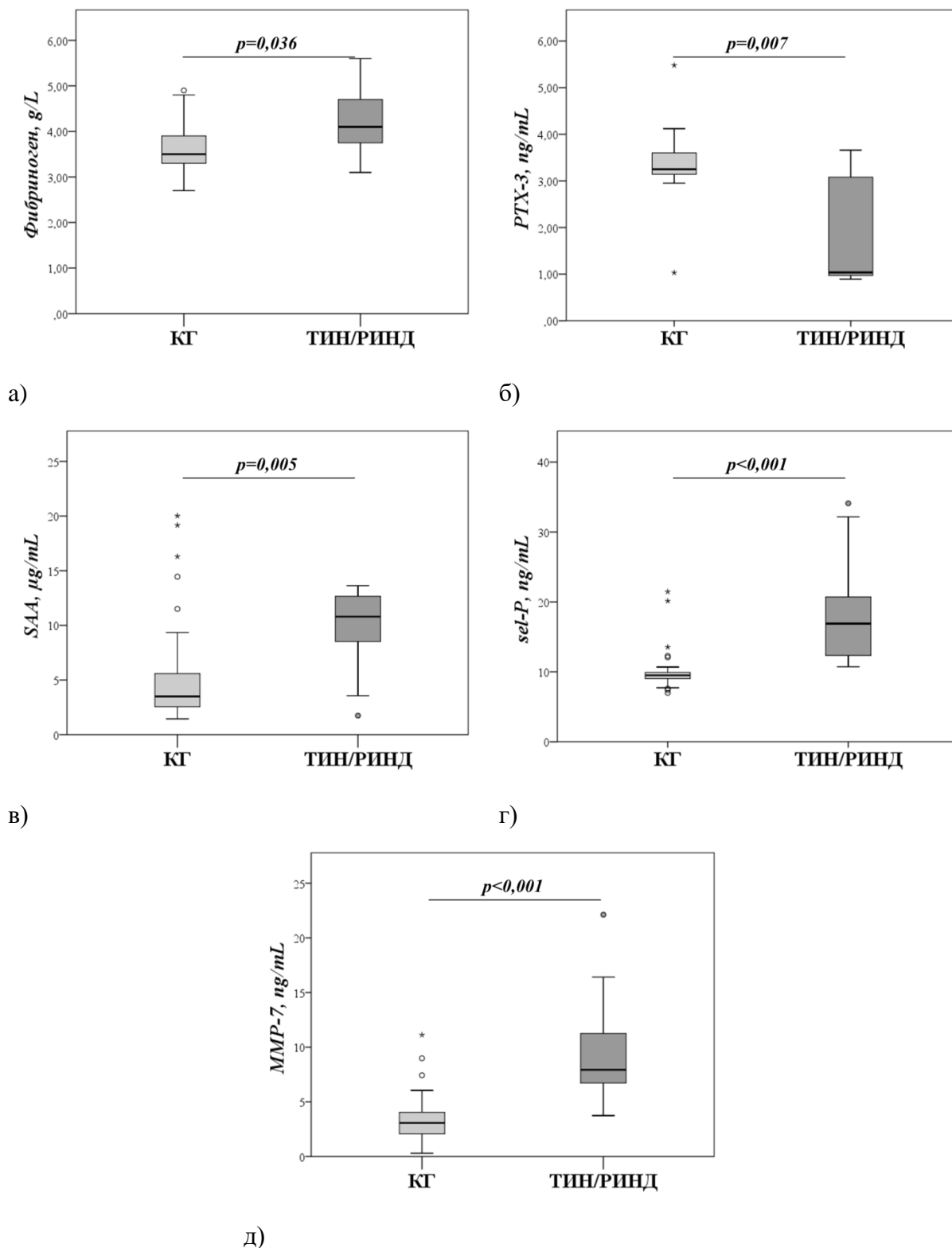
Упоредивањем асимптоматских пацијената одвојено са симптоматским пацијентима који су имали лакше (ТИН, РИНД) и теже (блажи мождани удар) симптоме, добијена је разлика и у појединим параметрима који нису показивали разлику приликом претходног поређења асимптоматских са укупним симптоматским пацијентима. Притом су све нађене разлике биле присутне између асимптоматских и пацијената са лакшим симптомима, док код пацијената са тежим симптомима није било разлике ни у једном параметру у односу на асимптоматске пацијенте. Уочене значајне разлике приказане су на Слици 19.



Слика 19. Графички приказ разлике у вредностима а) пентраксина-3 (*PTX-3*), б) серумског амилоида А (*SAA*) и в) матриксне металопротеиназе-7 између асимптоматских и симптоматских пацијената који су доживели транзиторни исхемијски напад (ТИН) или реверзибилни исхемијски неуролошки дефицит (РИНД).

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

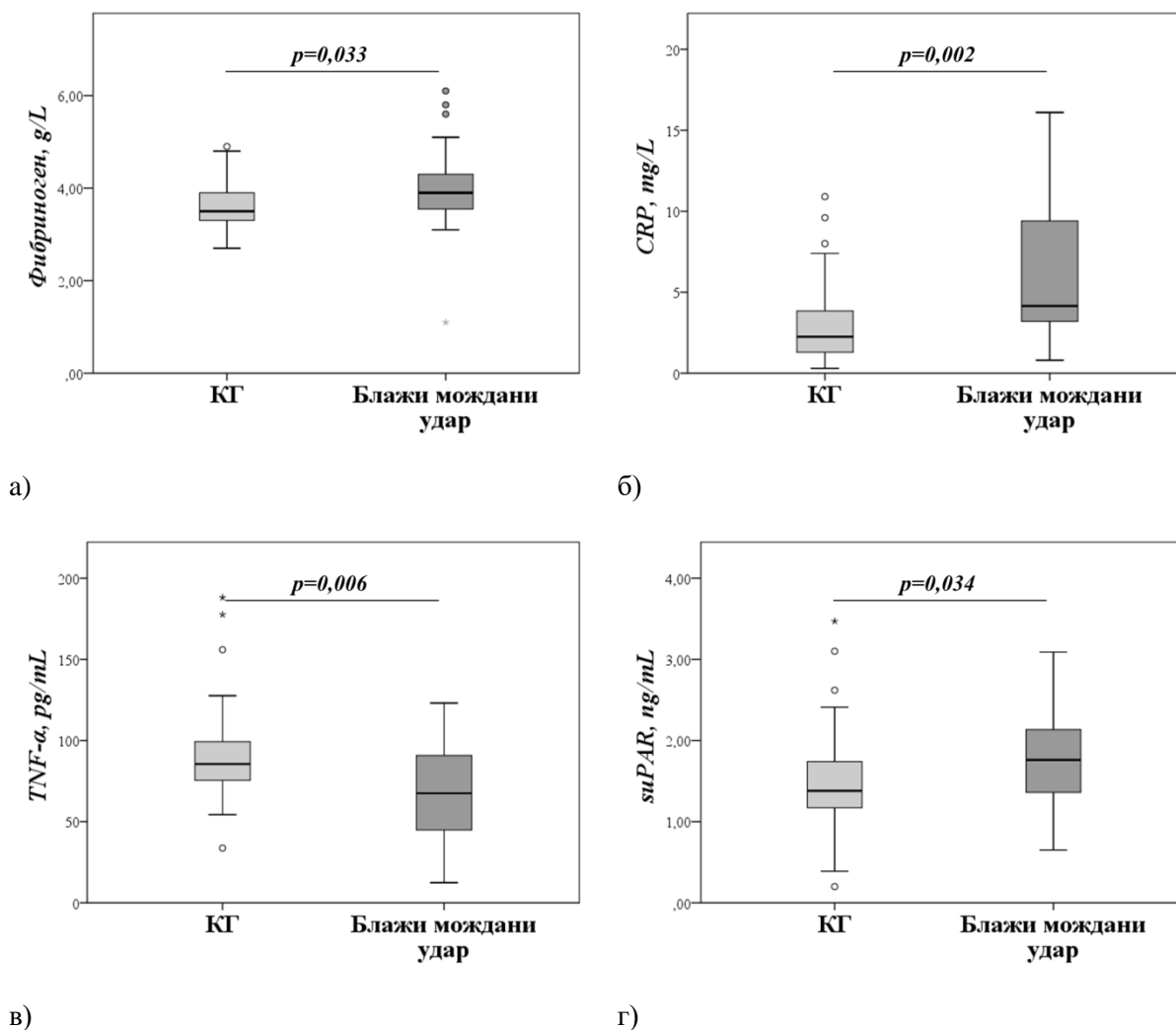
Још већи број параметара показао је разлику у вредностима код пацијената који су доживели ТИН/РИНД у односу на контролну групу испитаника, што је приказано на Слици 20.



Слика 20. Концентрације а) фибриногена, б) пентраксина-3 (PTX-3), в) серумског амилоида А (SAA), г) селектина-П (*sel-P*) и д) матриксне металопроотеиназе-7 (ММП-7) код пацијената који су доживели транзитори исхемијски напад (ТИН) или реверзибилни исхемијски неуролошки дефицит (РИНД) у односу на концентрације у контролној групи

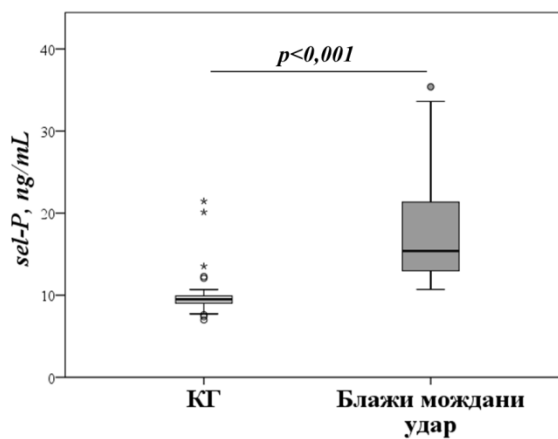
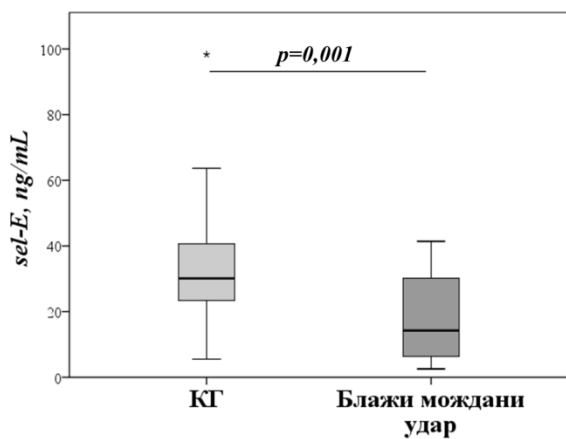
Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p<0,05$.

Додатно, иако ни један параметар није показао разлику код пацијената који су доживели блажи мождани удар у односу на асимптоматске пацијенте са СКА, поједини параметри су показали разлику код ове групе у односу на здраве контроле и ово је приказано на Слици 21.



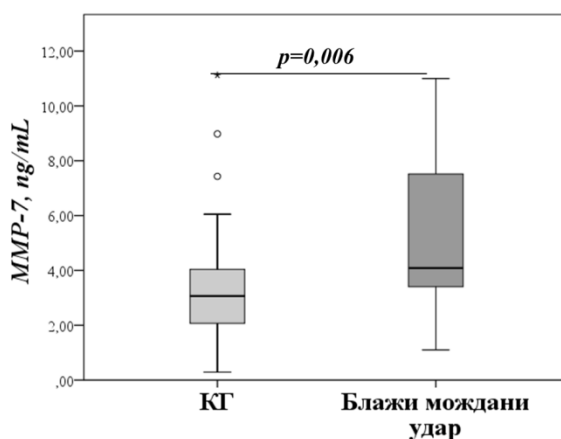
Слика 21. Графички приказ концентрације а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) фактора некрозе тумора- α (*TNF- α*), г) солубилног рецептора за активатор плазминогена типа урокиназе (*suPAR*), д) селектина-Е (*sel-E*), њ) селектина-П (*sel-P*) и е) матриксне металопроteiназе-7 (*MMP-7*) код пацијената који су доживели блажи мождани удар у односу на концентрације у контролној групи (КГ)

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.



д)

ђ)



е)

Слика 21. – наставак Графички приказ концентрације а) фибриногена, б) Ц-реактивног протеина (*CRP*), в) фактора некрозе тумора- α (*TNF- α*), г) солубилног рецептора за активатор плазминогена типа урокиназе (*suPAR*), д) селектина-Е (*sel-E*), ђ) селектина-П (*sel-P*) и е) матриксне металопроteinазе-7 (*MMP-7*) код пацијената који су доживели блажи мождани удар у односу на концентрације у контролној групи (КГ)

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а статистички значајном сматрана је вредност $p < 0.05$.

Даље је укупна група пацијената са СКА стратификована на подгрупе које су биле хомогене према значајним ултразвучним карактеристикама стенозе, ради испитивања евентуалне везе серумских параметара са симптоматским статусом код ових специфичнијих категорија пацијената.

Тако су прво у Табели 11. упоређене вредности испитиваних параметара у односу на присуство претходних симптома одвојено код пацијената са умереном и код пацијената са тешком стенозом

Табела 11. Концентрације испитиваних параметара код пацијената са умереном стенозом и код пацијената са тешком стенозом у односу на симптоматски статус

Параметри	Умерена стеноза			Тешка стеноза		
	АСКА (n=25)	ССКА (n=9)	<i>p</i>	АСКА (n=58)	ССКА (n=27)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	4,0 (3,5–4,3)	4,2 (3,7–5,5)	0,222	3,8 (3,4–4,2)	3,9 (3,5–4,2)	0,814
CRP, mg/L	3,2 (1,3–14,3)	5,3 (3,0–15,1)	0,349	2,9 (1,4–5,8)	4,2 (3,1–8,6)	0,063
PTX-3, ng/mL	3,1 (1,0–3,4)	1,7 (1,0–3,1)	0,045	3,4 (3,1–3,6)	3,1 (1,1–3,6)	0,390
SAA, µg/mL	4,5 (2,7–11,6)	15,2 (4,4–40,7)	0,249	3,0 (2,0–7,3)	7,5 (2,4–12,2)	0,037
TNF-α, pg/mL	68,5±38,90	76,2±67,78	0,755	77,8 (6,70–93,3)	62,4 (23,5–85,9)	0,020
IL-1β, pg/mL	36,7 (21,1–57,9)	27,5 (20,7–60,2)	0,212	41,3 (26,1–68,8)	26,5 (20,8–42,2)	0,010
IL-6, pg/mL	7,6 (2,9–12,3)	3,9 (1,8–14,2)	0,625	3,5 (1,8–13,2)	5,5 (2,0–10,9)	0,644
MPO, ng/mL	9,2 (6,1–13,9)	16,5 (143,0–24,0)	0,013	10,1 (6,1–13,5)	7,4 (1,6–9,9)	0,031
Lp-PLA2, ng/mL	2145 (81–316)	191 (98–389)	0,830	223±103,1	212±119,8	0,672
LOX-1, pg/mL	268±186,7	208,±110,0	0,303	397±205,2	417±219,3	0,698
suPAR, ng/mL	1,6±0,45	1,6±0,30	0,683	1,6 (1,2–2,1)	1,7 (1,3–2,2)	0,634
VCAM-1, ng/mL	656±332,3	740±390,9	0,540	700±327,0	764±277,9	0,386
Sel-E, ng/mL	14,2 (6,8–26,8)	5,6 (5,1–25,6)	0,114	12,3 (6,3–26,0)	21,1 (7,6–34,0)	0,146
Sel-P, ng/mL	15,1 (11,6–22,7)	16,1 (11,9–26,1)	0,711	13,8 (12,2–19,1)	16,9 (13,1–20,2)	0,343
MMP-2, ng/mL	278±84,7	260±90,4	0,583	238 (215–297)	229 (155–278)	0,227
MMP-7, ng/mL	4,8 (3,3–9,3)	6,5 (4,0–10,0)	0,494	5,1 (3,8–8,9)	4,4 (3,5–10,5)	0,562
MMP-9, ng/mL	416 (174–589)	427 (278–441)	0,830	340 (252–533)	305 (219–403)	0,644

АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF-α: фактор некрозе тумора-α, IL-1β: интерлеукин-1β, IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопроотеиназа-2, MMP-7: матриксна металопроотеиназа-7, MMP-9: матриксна металопроотеиназа-9.

Вредности су приказане као медијана (интерквартилни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Даље је концентрација испитиваних параметара упоређена између симптоматских и асимптоматских пацијената, одвојено у подгрупама са различитом стабилношћу плака.

Као што се види из Табеле 12. неки од параметара су показали значајну разлику само код пацијената са стабилним, а неки само код пацијената са нестабилним плаком.

Табела 12. Концентрације испитиваних параметара код пацијената са стабилним каротидним плаком и код пацијената са нестабилним каротидним плаком у односу на симптоматски статус

Параметри	Стабилан плак			Нестабилан плак		
	АСКА (n=58)	ССКА (n=17)	<i>p</i>	АСКА (n=23)	ССКА (n=16)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	3,8 (3,5–4,2)	3,7 (3,6–4,5)	0,431	4,0 (3,5–4,3)	3,8 (3,5–4,2)	0,819
CRP, mg/L	3,3 (1,6–9,1)	4,0 (2,3–8,3)	0,730	2,8 (0,7–6,0)	4,3 (3,1–12,0)	0,071
PTX-3, ng/mL	3,3 (2,9–3,6)	3,1 (1,1–3,5)	0,252	3,4 (3,1–3,6)	3,1 (1,0–3,7)	0,441
SAA, µg/mL	3,2 (2,0–7,8)	4,8 (3,0–13,0)	0,222	2,3 (2,1–5,1)	10,1 (2,1–12,6)	0,030
TNF-α, pg/mL	79,5 (68,1–98,6)	62,3 (27,5–90,0)	0,056	83,2±82,64	65,4±39,63	0,432
IL-1β, pg/mL	49,4 (29,8–68,1)	26,9 (21,9–46,2)	0,099	30,8 (27,5–47,0)	35,7 (17,0–55,7)	0,779
IL-6, pg/mL	3,6 (2,0–14,1)	6,1 (2,2–14,7)	0,544	8,2 (2,3–12,7)	3,7 (1,3–8,1)	0,204
MPO, ng/mL	10,0 (5,9–14,8)	10,0 (7,4–16,5)	0,257	10,0 (7,0–13,0)	6,0 (1,60–11,0)	0,026
Lp-PLA2, ng/mL	217 (154–274)	150 (81–246)	0,054	187±95,4	259±130,6	0,058
LOX-1, pg/mL	373±207,7	397±211,9	0,685	339±197,0	357±201,8	0,782
suPAR, ng/mL	1,7 (1,3–2,1)	2,0 (1,4–2,2)	0,257	1,8±0,67	1,8±0,54	0,729
VCAM-1, ng/mL	703±367,8	726±275,8	0,785	691±257,4	756±292,4	0,472
Sel-E, ng/mL	15,4 (6,9–28,4)	10,6 (5,5–30,0)	0,929	9,0 (6,5–17,4)	24,7 (6,9–35,1)	0,458
Sel-P, ng/mL	15,1 (10,1–19,5)	16,9 (12,5–19,7)	0,508	14,7 (13,1–20,7)	16,9 (12,5–23,9)	0,932
MMP-2, ng/mL	272±77,8	220±89,3	0,022	232 (218–265)	232 (175–320,7)	0,909
MMP-7, ng/mL	4,6 (3,1–8,2)	3,8 (3,2–6,1)	0,411	7,1±3,78	8,1±3,93	0,434
MMP-9, ng/mL	378 (238–585)	264 (195–417)	0,492	296 (200–347)	377 (310–433)	0,127

АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF-α: фактор некрозе тумора-α, IL-1β: интерлеукин-1β, IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопротеиназа-2, MMP-7: матриксна металопротеиназа-7, MMP-9: матриксна металопротеиназа-9.

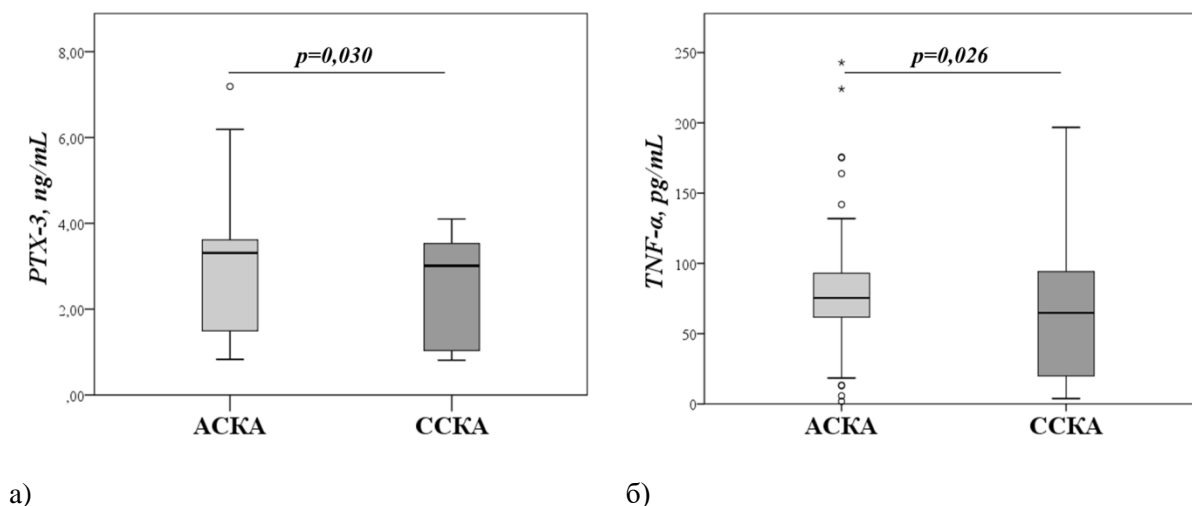
Вредности су приказане као медијана (интерквартилни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Како су се групе асимптоматских и симптоматских пацијената разликовале према употреби антихипертензивне терапије, која је била значајно виша код асимптоматских (као што је приказано у Табели 7.), даље су тестиране разлике између асимптоматских и симптоматских пацијената само код оних који јесу користили антихипертензивну терапију. Разлике код пацијената који нису користили антихипертензивну терапију нису биле испитане због сувише малог броја података (4 асимптоматска и 10 симптоматских пацијената).

Резултати овако стратификоване анализе су показали да *SAA* који је био значајан када су се укупно поредили сви СКА пацијенти према симптоматском статусу више није значајан, док су показане значајне разлике у вредностима *PTX-3* и *TNF- α* , које првобитно нису биле утврђене. Ово је приказано на Слици 22.



Слика 22. Графички приказ разлике у вредностима а) пентраксина-3 (*PTX-3*), б) фактора некрозе тумора- α (*TNF- α*) између пацијената са асимптоматском (АСКА) и симптоматском (ССКА) стенозом каротидне артерије који узимају антихипертензивну терапију

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом, а значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Коначно, логистичка регресија за предвиђање симптоматског статуса на основу појединачних серумских параметара инфламације потврдила је значајну асоцијацију *SAA* са присуством симптома, како је концентрација *SAA* у последњем квинтилу повећавала могућност за присуство симптома 3,2 пута (уз 95% интервал поузданости 1,4–7,4; $p=0,017$).

Резултати логистичке регресије су били у слагању и са налазима о нижој концентрацији неких параметара код симптоматских пацијената у односу на асимптоматске пацијенте који су користили антихипертензивну терапију. Тако је показано да су код ових пацијената вредности *PTX-3* изнад медијане повећавале вероватноћу за асимптоматски облик болести 2,8 пута (95% *CI*: 1,10–7,27; $p=0,031$), а више вредности *IL-1 β* су повећавале ову вероватноћу 2,9 пута (95% *ICI*: 1,10–7,33; $p=0,030$).

4.3.2. Испитивање морфолошких карактеристика плака и вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на тежину стенозе каротидне артерије

У оквиру ове анализе, прво је испитан евентуални утицај демографских карактеристика и фактора ризика на степен стенозе. При томе није показана корелација степена стенозе са годинама старости и са индексом телесне масе, као ни разлика у степену стенозе у односу на пол, присуство дислипидемије, хипертензије, пушачки статус, конзумацију алкохола, дијабетес мелитус или хроничну бубрежну болест.

Даљом анализом испитивано је постојање асоцијације између степена стенозе и морфолошких карактеристика плака које одражавају његову стабилност, али она није утврђена.

Након тога су упоређене концентрације испитиваних серумских параметара код пацијената са умереном (<70%) у односу на оне код пацијената са тешком стенозом ($\geq 70\%$), при чему је показана виша вредност појединих параметара код пацијената са тешком стенозом, као што је приказано у Табели 13. на следећој страни.

Табела 13. Концентрације испитиваних параметара код пацијената са умереном и тешком СКА

Параметри	Умерена стеноза (n=34)	Тешка стеноза (n=85)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	4,0 (3,7–4,5)	3,8 (3,4–4,2)	0,621
CRP, mg/L	3,5 (2,2–15,9)	3,3 (1,7–6,0)	0,862
PTX-3, ng/mL	3,1 (1,0–3,3)	3,3 (2,9–3,6)	0,038
SAA, µg/mL	5,1 (2,6–16,4)	3,5 (2,1–9,3)	0,389
TNF-α, pg/mL	68,5 (52,4–97,5)	74,5 (59,4–92,5)	0,145
IL-1β, pg/mL	49,3 (26,5–62,5)	34,1 (23,8–56,3)	0,566
IL-6, pg/mL	7,4 (2,2–16,1)	4,0 (1,9–12,5)	0,572
MPO, ng/mL	10,0 (7,4–16,5)	8,9 (4,6–12,1)	0,236
Lp-PLA2, ng/mL	202 (74–261)	213 (142–281)	0,274
LOX-1, pg/mL	248±168,1	404±208,7	<0,001
suPAR, ng/mL	1,6 (1,4–2,0)	1,6 (1,2–2,2)	0,387
VCAM-1, ng/mL	704±370,9	721±312,0	0,809
Sel-E, ng/mL	9,4 (5,6–25,2)	15,3 (7,1–29,8)	0,303
Sel-P, ng/mL	14,9 (11,4–22,4)	14,8 (12,4–19,1)	0,999
MMP-2, ng/mL	264 (221–318)	236 (206–288)	0,081
MMP-7, ng/mL	4,7 (3,0–8,0)	5,1 (3,7–9,2)	0,397
MMP-9, ng/mL	378 (183–508)	324 (244–494)	0,560

CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF-α: фактор некрозе тумора-α, IL-1β: интерлеукин-1β, IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопротеиназа-2, MMP-7: матриксна металопротеиназа-7, MMP-9: матриксна металопротеиназа-9.

Вредности су приказане као медијана (интерквartilни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Даље је испитан утицај тежине стенозе на вредности серумских параметара одвојено у групама асимптоматских и симптоматских пацијената, како би се смањио утицај клиничке хетерогености укупне групе пацијената на добијене резултате поређења из Табеле 13. Резултати овог испитивања приказани у Табели 14. потврдили су разлику у вредности *LOX-1*, али не и разлику у *PTX-3* добијену поређењем укупне групе пацијената (Табела 13 на

претходној страни). Такође, неколико других параметара је показало значајну разлику у односу на тежину стенозе само код симптоматских пацијената.

Табела 14. Концентрације испитиваних параметара код асимптоматских и симптоматских пацијената у односу на тежину стенозе

Параметри	АСКА			ССКА		
	Умерена стеноза (n=25)	Тешка стеноза (n=58)	<i>p</i>	Умерена стеноза (n=9)	Тешка стеноза (n=27)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	4,0 (3,6–4,3)	3,8 (3,5–4,2)	0,582	3,9 (3,7–4,8)	3,9 (3,6–4,2)	0,288
CRP, mg/L	3,5 (1,4–17,2)	2,8 (1,4–5,7)	0,971	3,5 (3,2–9,6)	4,2 (3,1–7,7)	0,753
PTX-3, ng/mL	3,3 (2,3–3,5)	3,4 (3,0–3,6)	0,326	1,5 (1,0–3,1)	3,1 (1,1–3,6)	0,071
SAA, µg/mL	4,1 (2,2–10,3)	3,0 (2,0–7,8)	0,937	10,7 (6,4–28,9)	7,5 (2,7–11,9)	0,391
TNF-α, pg/mL	61,7 (34,4–83,5)	78,6 (67,1–100,7)	0,024	76,2±67,78	62,0±33,83	0,562
IL-1β, pg/mL	34,8 (23,7–56,6)	44,8 (27,1–72,3)	0,205	71,1 (41,6–120,2)	26,5 (21,1–40,6)	0,039
IL-6, pg/mL	8,2 (3,3–16,1)	2,9 (1,7–13,1)	0,427	2,5 (1,9–11,5)	5,5 (2,0–10,9)	0,884
MPO, ng/mL	9,2 (7,0–14,9)	10,1 (6,3–12,9)	0,748	16,2 (11,9–22,6)	7,4 (1,6–9,9)	0,006
Lp-PLA2, ng/mL	200±117,5	220±104,0	0,444	209±145,0	213±119,8	0,938
LOX-1, pg/mL	263±184,3	470±343,0	0,006	208±110,0	417±219,3	0,010
suPAR, ng/mL	1,6±0,44	1,8±0,75	0,191	1,6±0,30	1,8±0,61	0,122
VCAM-1, ng/mL	483 (417–825)	658 (422–963)	0,591	740±390,9	764±277,9	0,842
Sel-E, ng/mL	10,6 (6,6–25,2)	12,1 (6,3–25,2)	0,771	5,5 (5,0–30,5)	21,1 (7,6–34,0)	0,043
Sel-P, ng/mL	16,4±6,08	16,0±5,99	0,781	14,0 (11,4–25,8)	16,9 (13,1–20,2)	0,898
MMP-2, ng/mL	272±81,9	260±71,7	0,509	243 (150–321)	229 (155–278)	0,499
MMP-7, ng/mL	4,2 (3,0–6,2)	5,4 (3,9–9,2)	0,079	5,1 (3,7–8,1)	4,4 (3,5–10,5)	0,729
MMP-9, ng/mL	286 (165–541)	334 (246–543)	0,877	422 (234–433)	305 (219–403)	0,152

АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF-α: фактор некрозе тумора-α, IL-1β: интерлеукин-1β, IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопроотеиназа-2, MMP-7: матриксна металопроотеиназа-7, MMP-9: матриксна металопроотеиназа-9.

Вредности су приказане као медијана (интерквartilни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Аналогно претходној табели, у Табели 15. је приказано испитивање утицаја тежине стенозе на серумске параметре одвојено за пацијенте са стабилним и са нестабилним каротидним плаком. Поново је *LOX-1* показао значајну разлику у обе подгрупе, а неколико других параметара је показало разлику између умерене и тешке стенозе само код пацијената са нестабилним плаком.

Табела 15. Концентрације испитиваних параметара у односу на тежину стенозе у групама пацијената подељених према стабилности плака

Параметри	Стабилан плак			Нестабилан плак		
	Умерена стеноза (n=22)	Тешка стеноза (n=53)	<i>p</i>	Умерена стеноза (n=11)	Тешка стеноза (n=28)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	4,1 (3,6–4,5)	3,7 (3,3–4,2)	0,513	3,9 (3,7–4,6)	4,0 (3,4–4,2)	0,754
<i>CRP</i> , mg/L	4,7 (2,2–13,0)	3,6 (1,5–6,8)	0,758	5,1 (0,7–22,9)	3,3 (2,3–6,0)	0,949
<i>PTX-3</i> , ng/mL	3,1 (2,5–3,3)	3,3 (2,9–3,6)	0,209	2,4 (1,0–3,3)	3,4 (3,1–3,7)	0,029
<i>SAA</i> , µg/mL	5,8 (2,4–13,3)	3,8 (2,1–8,1)	0,714	4,6 (2,9–20,6)	2,3 (2,0–10,9)	0,473
<i>TNF-α</i> , pg/mL	75,2 (58,2–116,8)	76,9 (62,3–93,3)	0,293	54,3±29,13	84,4±77,25	0,220
<i>IL-1β</i> , pg/mL	50,3 (22,3–65,3)	37,4 (23,9–64,5)	0,777	41,5 (27,5–55,8)	31,3 (24,3–46,2)	0,334
<i>IL-6</i> , pg/mL	3,3 (2,0–12,6)	5,0 (1,9–14,4)	0,671	10,5 (4,2–17,0)	3,3 (1,8–9,1)	0,122
<i>MPO</i> , ng/mL	9,2 (7,0–14–5)	10,4 (6,6–16,3)	0,334	16,8±10,46	7,3±4,50	0,013
<i>Lp-PLA2</i> , ng/mL	184±111,6	220±110,2	0,222	187±135,3	229±108,4	0,334
<i>LOX-1</i> , pg/mL	272±160,2	427±209,5	0,002	219±181,8	396±181,4	0,009
<i>suPAR</i> , ng/mL	1,5±0,34	1,8±0,68	0,005	1,6 (1,5–2,2)	1,5 (1,3–2,1)	0,229
<i>VCAM-1</i> , ng/mL	699±395,8	712±329,3	0,882	747±333,3	706±247,6	0,679
<i>Sel-E</i> , ng/mL	22,9 (9,0–34,4)	11,4 (6,3–27,9)	0,328	6,6 (5,3–7,6)	20,6 (8,2–31,7)	0,007
<i>Sel-P</i> , ng/mL	12,5 (10,1–18,6)	15,8 (12,0–19,5)	0,170	21,6 (14,8–26,7)	14,0 (12,8–18,5)	0,010
<i>MMP-2</i> , ng/mL	262±92,6	259±79,4	0,873	283 (228–325)	223 (180–249)	0,021
<i>MMP-7</i> , ng/mL	3,8 (2,7–4,8)	5,0 (3,3–9,2)	0,149	7,3 (4,9–9,6)	5,9 (4,1–10,1)	0,720
<i>MMP-9</i> , ng/mL	395 (192–582)	294 (218–547)	0,344	247 (153–447)	340 (290–403)	0,420

АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9.

Вредности су приказане као медијана (интерквартилни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

4.3.3. Испитивање вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на ултразвучну карактеризацију морфологије плака пацијената са стенозом каротидне артерије

У испитиваном узорку пацијената, око две трећине хемодинамски значајних каротидних плакова било је стабилно (75/114), док је око једне трећине плакова било нестабилно (39/114), а код петоро пацијената ултразвучно одређивање морфологије плака није било могуће.

Стабилни плакови су били окарактерисани као фиброзни, фиброкалцификовани и калцификовани, у зависности од доминантно присутних морфолошких особина, при чему је највише плакова било фиброкалцификовано (29/75), док је нешто мање плакова било преодминантно фиброзно (21/75) или калцификовано (25/75).

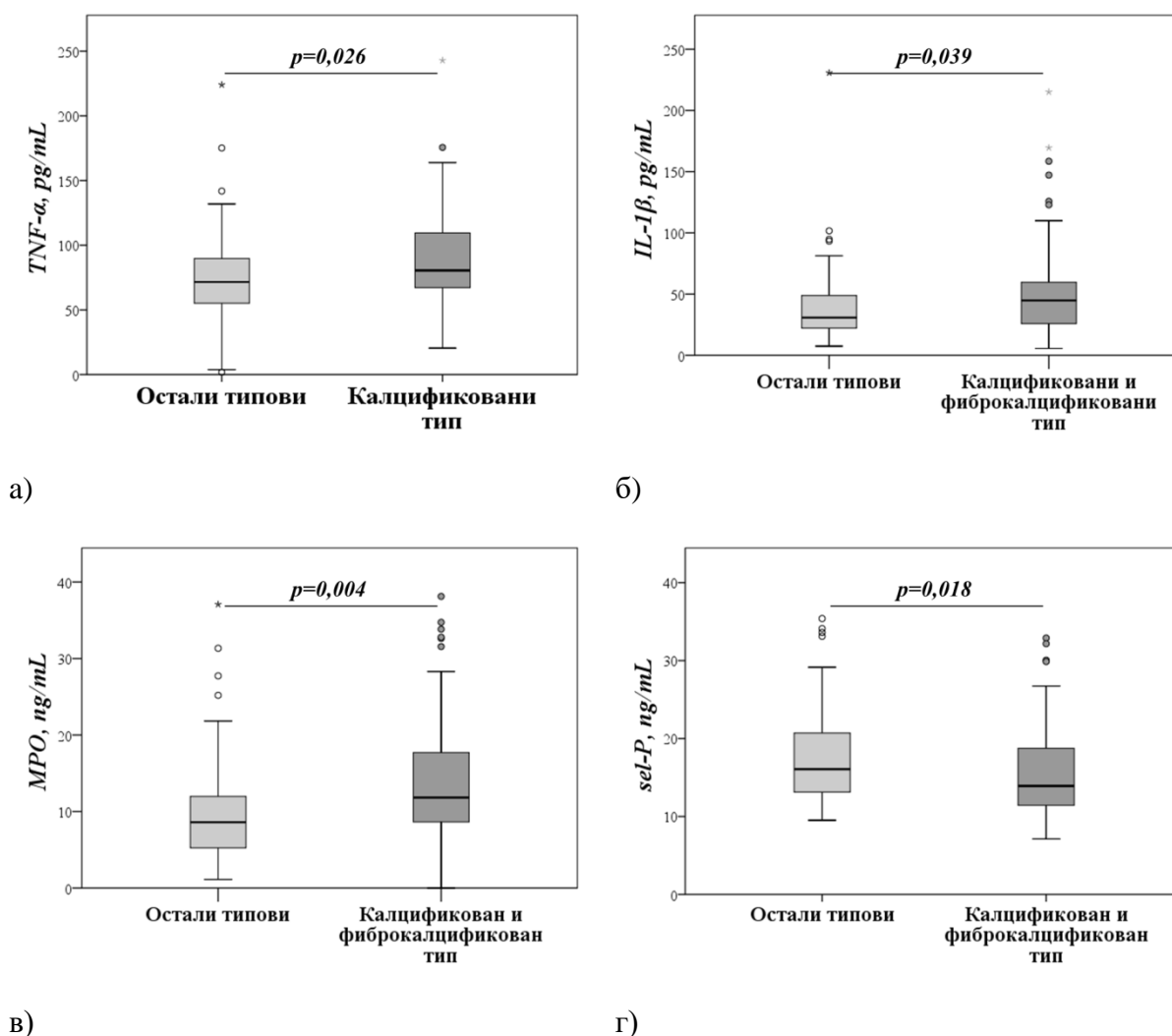
Плакови су били означени као нестабилни ако су окарактерисани као фибролипидни, улцерисани, компликовани или мешовити између више ових типова. Карактеристике нестабилности плака су се најчешће удружено јављале, тако да је највећи број нестабилних плакова било мешовито (27/39), док је тек по 3 плака било искључиво фибролипидно или компликовано, а 6 плакова улцерисано.

Приликом испитивања утицаја демографских карактеристика и фактора ризика на морфолошке карактеристике и стабилност плака, резултати нису били значајни за ИТМ, присуство дислипидемије, хипертензије, учесталост конзумације алкохола и присуство ХББ. За године старости је показана тенденција да буду ниже код пацијената са нестабилним плаком, али ова разлика није достигла статистичку значајност ($p=0,077$), док је статистички значајна разлика у старости показана код пацијената са улцерисаним плаком који су били значајно млађи од осталих ($p=0,032$), али овај резултат је више био само индикативан, с обзиром на мали број испитаника са улцерисаним плаком.

Такође је утврђена већа заступљеност нестабилног плака код мушкараца (39%) него код жена (22%), али на овом броју испитаника није достигнута статистичка значајност за ову разлику ($p=0,083$). Мања преваленца пушача је показана међу пацијентима који су имали фиброкалцификовани плак (55%) у односу на пацијенте са другим типовима плака (75%), и ова разлика је била гранично значајна ($p=0,049$). Примећено је и да су сви испитаници са компликованим и улцерисаним плаком имали и ДМ, али због малог броја пацијената са оваквим плаком, добијену статистичку значајност за овај резултат ($p=0,033$) треба узети само као индикативну вредност.

Даље су анализирани концентрације испитиваних параметара код пацијената са различитим морфолошким типовима плака појединачно тако што је за сваки тип упоређена концентрација датог параметра код пацијената са тим типом, наспрам концентрације код СКА пацијената са осталим типовима плака.

Резултати овог поређења који су били значајни, приказани су на Слици 23.



Слика 23. Графички приказ концентрације а) фактора некрозе тумора-α (*TNF-α*), б) интерлеукина-1β (*IL-1β*), в) мијелопероксидазе (*MPO*), г) селектина-П (*Sel-P*) у односу на морфолошки тип плака

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом, а значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Након груписања различитих морфолошких типова плака према стабилности, анализирани су разлике у вредностима испитиваних параметара између СКА пацијената са каротидним плаком стабилних и оних са каротидним плаком нестабилних морфолошких карактеристика, али ни један параметар није показао значајну разлику између ове две групе. Дато поређење је приказано у Табели 16.

Табела 16. Концентрације испитиваних параметара код пацијената са плаком стабилне и нестабилне морфологије

Параметри	Стабилан плак (<i>n</i> =75)	Нестабилан плак (<i>n</i> =39)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	3,8 (3,5–4,2)	4,0 (3,5–4,2)	0,388
<i>CRP, mg/L</i>	3,7 (1,8–8,9)	3,3 (2,0–8,1)	0,692
<i>PTX-3, ng/mL</i>	3,3 (2,9–3,6)	3,3 (1,6–3,6)	0,477
<i>SAA, µg/mL</i>	4,1 (2,1–9,4)	3,7 (2,1–11,1)	0,423
<i>TNF-α, pg/mL</i>	76,6 (61,3–94,4)	69,4 (53,3–81,4)	0,172
<i>IL-1β, pg/mL</i>	40,3 (23,5–64,2)	33,8 (24,6–49,0)	0,192
<i>IL-6, pg/mL</i>	4,4 (2,0–13,9)	5,8 (2,0–12,6)	0,494
<i>MPO, ng/mL</i>	10,0 (6,7–15,8)	8,3 (4,5–12,0)	0,094
<i>Lp-PLA2, ng/mL</i>	211 (120–267)	213 (93–296)	0,704
<i>LOX-1, pg/mL</i>	379±207,3	346±196,5	0,427
<i>suPAR, ng/mL</i>	1,7 (1,3–2,1)	1,6 (1,3–2,2)	0,752
<i>VCAM-1, ng/mL</i>	708±347,4	718±270,4	0,871
<i>Sel-E, ng/mL</i>	14,0 (6,6–29,5)	10,2 (6,7–30,1)	0,979
<i>Sel-P, ng/mL</i>	15,1 (11,2–19,4)	15,0 (13,0–21,1)	0,124
<i>MMP-2, ng/mL</i>	239 (203–316)	232 (205–267)	0,226
<i>MMP-7, ng/mL</i>	4,5 (3,2–7,9)	6,3 (4,1–9,6)	0,093
<i>MMP-9, ng/mL</i>	310 (210–557)	331 (250–432)	0,861

CRP: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9.

Вредности су приказане као медијана (интерквартилни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Када су испитане разлике у параметрима између асимптоматских пацијената са стабилним и асимптоматских пацијената са нестабилним каротидним плаком, *SAA* је био виши у присуству стабилног плака, а када су ове разлике тестиране у групи симптоматских пацијената, *MPO* је била виша такође код пацијената са стабилним плаком, како је приказано у Табели 17.

Табела 17. Концентрације испитиваних параметара код асимптоматских и симптоматских пацијената у односу на морфологију плака

Параметри	АСКА			ССКА		
	Стабилан плак (n=55)	Нестабилан плак (n=23)	<i>p</i>	Стабилан плак (n=20)	Нестабилан плак (n=16)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	3,8 (3,5–4,2)	4,0 (3,5–4,3)	0,310	3,7 (3,6–4,5)	3,8 (3,5–4,2)	0,940
CRP, mg/L	3,3 (1,6–9,1)	2,8 (0,7–6,0)	0,481	4,0 (2,3–8,3)	4,3 (3,1–12,0)	0,236
PTX-3, ng/mL	3,3 (2,9–3,6)	3,4 (3,1–3,6)	0,561	3,1 (1,1–3,5)	3,1 (1,0–3,7)	0,601
SAA, µg/mL	3,2 (2,0–7,8)	2,3 (2,1–5,1)	0,045	4,8 (3,0–13,0)	10,1 (2,1–12,6)	0,857
TNF-α, pg/mL	79,5 (68,1–98,6)	68,5 (60,6–77,7)	0,063	60,6±39,14	65,4±39,63	0,724
IL-1β, pg/mL	49,4 (24,8–68,1)	30,8 (27,5–47,0)	0,112	26,9 (21,9–46,2)	35,7 (17,0–55,7)	0,943
IL-6, pg/mL	3,6 (2,0–14,1)	8,2 (2,3–12,7)	0,793	6,1 (2,2–14,7)	3,7 (1,3–8,1)	0,121
MPO, ng/mL	10,0 (5,9–14,8)	10,0 (7,0–13,0)	0,937	10,0 (7,4–16,5)	6,0 (1,6–11,0)	0,012
Lp-PLA2, ng/mL	217 (154–274)	194 (87–236)	0,196	158 (81–246)	288 (139–327)	0,090
LOX-1, pg/mL	373±207,7	339±170,0	0,503	397±211,9	357±201,8	0,584
suPAR, ng/mL	1,7 (1,3–2,1)	1,6 (1,3–2,1)	0,561	1,9±0,52	1,8±0,54	0,590
VCAM-1, ng/mL	703±367,8	691±257,4	0,872	726±275,8	756±292,4	0,764
Sel-E, ng/mL	15,3 (6,9–28,4)	9,0 (6,5–17,4)	0,623	10,6 (5,5–30,0)	24,7 (6,9–35,1)	0,746
Sel-P, ng/mL	15,0 (10,1–19,5)	14,7 (13,1–20,7)	0,186	16,9 (12,5–20,0)	16,9 (12,5–23,9)	0,517
MMP-2, ng/mL	272±77,8	243±63,2	0,114	209 (140–265)	232 (175–321)	0,589
MMP-7, ng/mL	4,6 (3,1–8,2)	5,6 (4,8–8,8)	0,435	3,8 (3,2–6,1)	8,1 (4,1–10,9)	0,084
MMP-9, ng/mL	406±234,7	340±187,6	0,250	264 (195–417)	377 (310–433)	0,282

АСКА: асимптоматска стеноза каротидне артерије, ССКА: симптоматска стеноза каротидне артерије, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF-α: фактор некрозе тумора-α, IL-1β: интерлеукин-1β, IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопроотеиназа-2, MMP-7: матриксна металопроотеиназа-7, MMP-9: матриксна металопроотеиназа-9.

Вредности су приказане као медијана (интерквartilни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Разлике између пацијената са стабилним и нестабилним плаком су такође испитиване и у подгрупи пацијената са умереном, а затим и у подгрупи пацијената са тешком стенозом, при чему су значајни резултати добијени за додатне параметре који нису показали разлику у претходним поређењима. Ово је приказано у Табели 18.

Табела 18. Концентрације испитиваних параметара код пацијената са умереном стенозом и код пацијената са тешком стенозом у односу на стабилност плака

Параметри	Умерена стеноза			Тешка стеноза		
	Стабилан плак (n=22)	Нестабилан плак (n=11)	<i>p</i>	Стабилан плак (n=53)	Нестабилан плак (n=28)	<i>p</i>
Фибриноген, g/L	4,1 (3,6–4,5)	3,9 (3,7–4,6)	0,934	3,7 (3,3–4,2)	4,0 (3,4–4,2)	0,377
CRP, mg/L	4,7 (2,2–13,0)	5,1 (0,7–22,9)	0,889	3,6 (1,5–6,8)	3,3 (2,3–6,0)	0,606
PTX-3, ng/mL	3,1 (2,5–3,3)	2,4 (1,0–3,3)	0,620	3,3 (2,9–3,6)	3,4 (3,1–3,7)	0,213
SAA, µg/mL	5,8 (2,4–13,3)	4,6 (2,9–20,6)	0,909	3,8 (2,1–8,1)	2,3 (2,0–10,9)	0,369
TNF-α, pg/mL	70,6±47,53	54,3±29,13	0,307	76,9 (62,3–93,3)	71,6 (60,3–90,7)	0,400
IL-1β, pg/mL	50,3 (22,3–65,3)	41,5 (27,5–55,8)	0,954	37,4 (23,9–64,5)	31,3 (24,3–46,2)	0,124
IL-6, pg/mL	3,3 (2,0–12,6)	10,5 (4,2–17,0)	0,321	5,0 (1,9–14,4)	3,3 (1,7–9,1)	0,167
MPO, ng/mL	10,6±6,80	16,8±10,46	0,108	10,4 (6,6–16,3)	7,4 (3,2–10,1)	0,004
Lp-PLA2, ng/mL	184±111,6	187±135,3	0,947	220±110,2	229±108,4	0,736
LOX-1, pg/mL	272±160,2	219±181,8	0,395	427±209,5	396±181,4	0,513
suPAR, ng/mL	1,5 (1,2–1,7)	1,9 (1,5–2,3)	0,026	1,8 (1,4–2,2)	1,5 (1,3–2,1)	0,424
VCAM-1, ng/mL	699±395,8	747±333,3	0,732	712±329,3	706±247,6	0,936
Sel-E, ng/mL	22,9 (9,0–34,4)	6,6 (5,3–7,6)	0,022	11,4 (6,3–27,9)	20,6 (8,2–31,7)	0,144
Sel-P, ng/mL	14,5±5,03	21,7±7,25	0,003	15,8 (12,0–19,5)	14,0 (12,8–18,5)	0,854
MMP-2, ng/mL	262±92,6	293±66,5	0,330	237, (210–314)	223 (180–249)	0,077
MMP-7, ng/mL	3,8 (2,7–4,8)	7,3 (4,9–9,6)	0,089	5,0 (3,3–9,2)	5,9 (4,1–10,1)	0,410
MMP-9, ng/mL	435±227,9	326±192,7	0,191	294 (219–547)	340 (290–403)	0,442

CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF-α: фактор некрозе тумора-α, IL-1β: интерлеукин-1β, IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопроотеиназа-2, MMP-7: матриксна металопроотеиназа-7, MMP-9: матриксна металопроотеиназа-9.

Вредности су приказане као медијана (интерквartilни распон) за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом.

Значајност разлике је испитивана Ман-Витни У тестом за параметре са расподелом која одступа од нормалне, и студентовим т-тестом за параметре који имају нормалну расподелу.

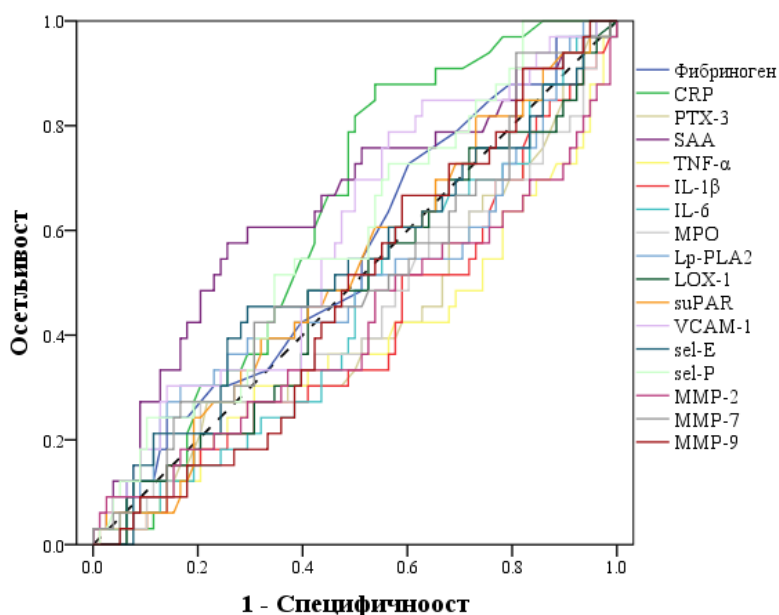
Значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

4.4. Испитивање дијагностичке тачности анализираних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса за детекцију значајних клиничких индикатора ризика код различитих група пацијената са СКА

Како је претходно објашњено, ултразвучне методе које се рутински користе за постављање дијагнозе СКА имају задовољавајуће дијагностичке перформансе и економску исплативост, тако да испитивање серумских параметара на овом пољу нема оправдани значај. Највећу потенцијалну корист би ови параметара могли да имају као додатни показатељи ризика за развој можданог удара код пацијената са СКА, због чега је даље испитивање било усмерено на њихову могућност да детектују претходно симптоматски статус и присуство нестабилног плака, као важне показатеље ризика од будућег цереброваскуларног догађаја.

При овој анализи је додатна пажња била посвећена и категорији СКА пацијената са стенозом умереног степена, како је издвајање пацијената са високим ризиком из ове категорије која се сматра мање ризичном, од посебног значаја.

Као први корак у оквиру ове анализе, помоћу анализе *ROC* криве испитивана је дијагностичка тачност параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса за идентификацију симптоматских пацијената међу укупним пацијентима са СКА. Графички приказ овог испитивања дат је на Слици 24.



Слика 24. *ROC* график за идентификацију симтоматских пацијената са СКА

CRP: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопротеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопротеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопротеиназа-9.

Параметри добијених *ROC* кривих дати су у Табели 19.

Табела 19. Резултати анализе *ROC* криве испитиваних параметара за идентификацију симптоматских пацијената са СКА

Параметри	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	95% <i>CI</i>	Ос.	Сп.	Cut-off
Фибриноген	0,547	0,058	0,424	0,432–0,661	54%	49%	3,9 g/L
<i>CRP</i>	0,617	0,053	0,049	0,513–0,721	79%	51%	2,9 mg/L
<i>PTX-3</i>	0,416	0,059	0,149	0,301–0,532	56%	22%	3,0 ng/mL
<i>SAA</i>	0,636	0,058	0,019	0,522–0,751	53%	76%	8,1 µg/mL
<i>TNF-α</i>	0,369	0,060	0,074	0,278–0,514	56%	26%	62,0 pg/mL
<i>IL-1β</i>	0,399	0,057	0,081	0,287–0,511	53%	27%	26,7 pg/mL
<i>IL-6</i>	0,465	0,057	0,545	0,354–0,576	58%	41%	3,8 pg/mL
<i>MPO</i>	0,460	0,060	0,489	0,343–0,577	56%	39%	8,7 ng/mL
<i>Lp-PLA2</i>	0,481	0,061	0,739	0,360–0,601	53%	41%	206 ng/mL
<i>LOX-1</i>	0,498	0,058	0,979	0,384–0,613	56%	48%	354 pg/mL
<i>suPAR</i>	0,519	0,057	0,734	0,407–0,631	56%	48%	1,6 ng/mL
<i>VCAM-1</i>	0,563	0,056	0,280	0,453–0,672	58%	51%	674 ng/mL
<i>Sel-E</i>	0,530	0,060	0,599	0,413–0,648	53%	51%	15,5 ng/mL
<i>Sel-P</i>	0,552	0,057	0,370	0,441–0,663	53%	46%	14,5 ng/mL
<i>MMP-2</i>	0,420	0,061	0,166	0,300–0,539	53%	40%	237 ng/mL
<i>MMP-7</i>	0,500	0,058	0,998	0,386–0,614	53%	41%	5,0 ng/mL
<i>MMP-9</i>	0,478	0,055	0,700	0,370–0,586	53%	50%	348 ng/mL

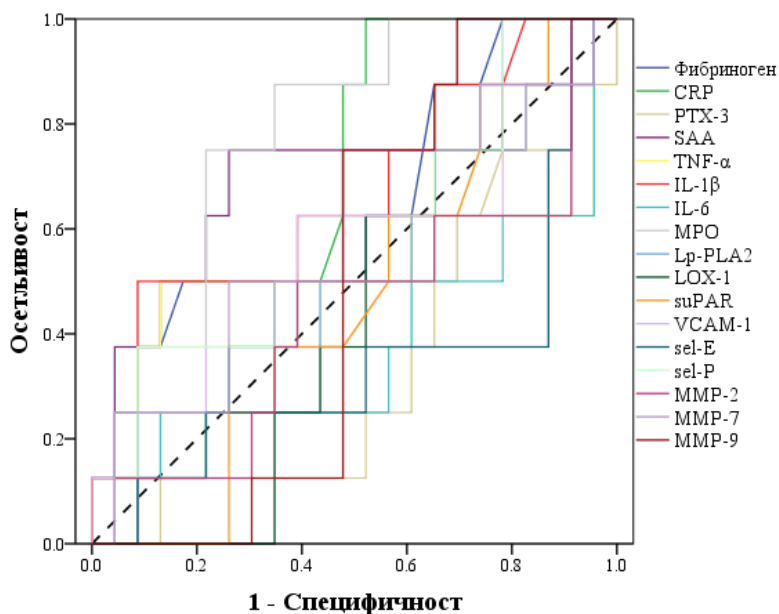
AUC: Површина испод *ROC* криве, *SE*: стандардна грешка, *CI*: интервал поузданости, Ос: Осетљивост, Сп: специфичност, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL*-1, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопротеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопротеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопротеиназа-9.

Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Приликом испитивања дијагностичке тачности истих параметара за детекцију присуства каротидног плака нестабилне морфологије међу укупним СКА пацијентима, ни један од параметара није имао површину испод криве статистички значајно различиту од 0.5.

Даље је иста *ROC* анализа спроведена одвојено у групи пацијената са умереним степеном стенозе, и добијени су значајни резултати за другачије параметре него у претходном испитивању код укупних пацијената.

За идентификацију симптоматских пацијената са умереном стенозом међу укупним пацијентима са умереном стенозом у *ROC* анализи се као најзначајнији параметар истакао *MPO*, а ови резултати су приказани на Слици 25.



Слика 25. *ROC* график за идентификацију симптоматских пацијената међу пацијентима са умереном СКА

CRP: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопротеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопротеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопротеиназа-9.

У табели 20. приказани су параметри добијених *ROC* кривих.

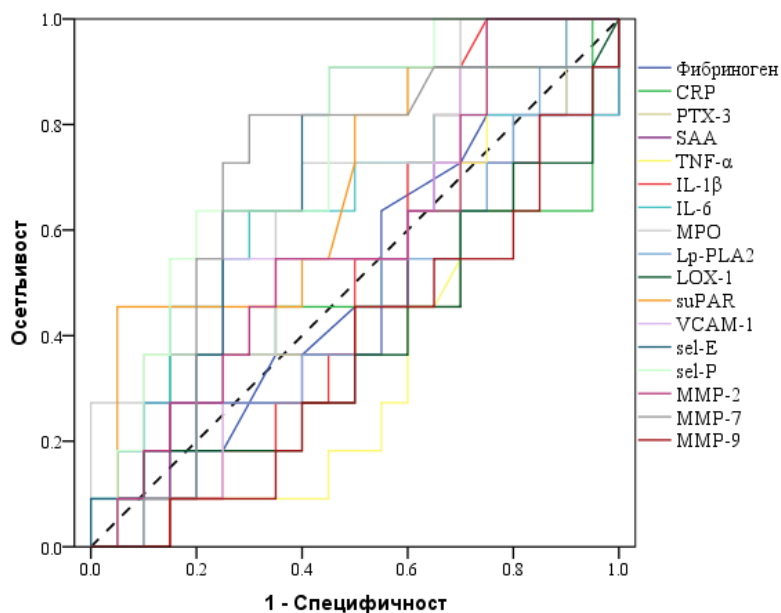
Табела 20. Резултати анализе *ROC* криве испитиваних параметара за идентификацију симптоматских пацијената међу пацијентима са умереном СКА

Параметри	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	95% <i>CI</i>	Ос.	Сп.	Cut-off
Фибриноген	0,647	0,118	0,223	0,415–0,879	63	48	3,9 g/L
<i>CRP</i>	0,618	0,101	0,303	0,419–0,817	78	54	2,9 mg/L
<i>PTX-3</i>	0,301	0,101	0,082	0,103–0,499	56	29	1,2 ng/mL
<i>SAA</i>	0,639	0,129	0,225	0,387–0,891	67	75	8,8 µg/mL
<i>TNF-α</i>	0,472	0,145	0,808	0,189–0,756	56	37	58,0 pg/mL
<i>IL-1β</i>	0,627	0,115	0,266	0,403–0,852	56	62	49,1 pg/mL
<i>IL-6</i>	0,440	0,131	0,599	0,183–0,696	56	42	5,3 pg/mL
<i>MPO</i>	0,773	0,082	0,017	0,613–0,933	89	67	11,3 ng/mL
<i>Lp-PLA2</i>	0,495	0,113	0,968	0,274–0,717	56	37	151 ng/mL
<i>LOX-1</i>	0,431	0,101	0,544	0,233–0,628	67	46	192 pg/mL
<i>suPAR</i>	0,470	0,103	0,793	0,268–0,672	56	46	1,5 ng/mL
<i>VCAM-1</i>	0,542	0,121	0,716	0,304–0,779	67	54	593 ng/mL
<i>Sel-E</i>	0,324	0,114	0,125	0,101–0,547	78	12	5,2 ng/mL
<i>Sel-P</i>	0,537	0,118	0,746	0,305–0,769	56	37	13,8 ng/mL
<i>MMP-2</i>	0,449	0,117	0,657	0,219–0,679	56	50	274 ng/mL
<i>MMP-7</i>	0,602	0,114	0,374	0,379–0,825	67	54	5,1 ng/mL
<i>MMP-9</i>	0,486	0,098	0,903	0,294–0,678	78	50	395 ng/mL

AUC: Површина испод *ROC* криве, *SE*: стандардна грешка, *CI*: интервал поузданости, Ос: Осетљивост, Сп: специфичност, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9.

Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$

Конечно, приликом анализе дијагностичке тачности датих параметара за детекцију присуства нестабилног каротидног плака међу пацијентима са умереном СКА, *sel-E* и *sel-P* су се показали као најзначајнији, док су граничне значајности имали *suPAR* и *MMP-7*, као што се види на Слици 26.



Слика 26. ROC график за идентификацију присуства нестабилног плака међу пацијентима са умереном СКА

Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопротеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопротеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопротеиназа-9.

Параметри добијених *ROC* кривих приказани су у Табели 21.

Табела 21. Резултати анализе *ROC* криве испитиваних параметара за идентификацију присуства нестабилног плака међу пацијентима са умереном СКА (наставка табеле на следећој страни)

Параметри	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	95% <i>CI</i>	Ос.	Сп.	Cut-off
Фибриноген	0,509	0,110	0,934	0,293–0,725	64	45	3,8 g/L
<i>CRP</i>	0,492	0,122	0,933	0,252–0,732	64	45	2,8 mg/L
<i>PTX-3</i>	0,446	0,108	0,620	0,235–0,658	64	32	1,3 ng/mL
<i>SAA</i>	0,488	0,112	0,909	0,268–0,707	55	45	4,1 µg/mL
<i>TNF-α</i>	0,395	0,099	0,330	0,200–0,590	73	32	34,4 pg/mL
<i>IL-1β</i>	0,506	0,100	0,954	0,309–0,703	55	50	36,7 pg/mL
<i>IL-6</i>	0,607	0,115	0,321	0,382–0,833	64	69	8,0 pg/mL
<i>MPO</i>	0,665	0,102	0,127	0,466–0,865	73	59	10,0 ng/mL
<i>Lp-PLA2</i>	0,479	0,110	0,849	0,263–0,695	55	45	201 ng/mL
<i>LOX-1</i>	0,374	0,110	0,244	0,159–0,589	55	28	167 pg/mL
<i>suPAR</i>	0,702	0,097	0,061	0,513–0,892	82	55	1,5 ng/mL
<i>VCAM-1</i>	0,550	0,105	0,647	0,344–0,756	55	73	811 ng/mL
<i>Sel-E</i>	0,748	0,096	0,022	0,559–0,936	91	59	17,6 ng/mL*
<i>Sel-P</i>	0,760	0,086	0,016	0,592–0,928	91	59	14,2 ng/mL
<i>MMP-2</i>	0,570	0,108	0,516	0,359–0,781	55	72	312 ng/mL
<i>MMP-7</i>	0,684	0,104	0,089	0,480–0,887	82	68	5,2 ng/mL
<i>MMP-9</i>	0,339	0,099	0,134	0,145–0,533	55	32	275 ng/mL

AUC: Површина испод *ROC* криве, *SE*: стандардна грешка, *CI*: интервал поузданости, Ос: Осетљивост, Сп: специфичност, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF-α*: фактор некрозе тумора-α, *IL-1β*: интерлеукин-1β, *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9.

Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

*Вредности *Sel-E* ниже од дате *cut-off* вредности индикују присуство нестабилног плака

4.5. Формулација модела за предвиђање вероватноће присуства недавних симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА и испитивање њихове дијагностичке тачности

Како је за унапређење менаџмента СКА од највећег интереса предвиђање ризика од будућег цереброваскуларног догађаја, за шта су важни клинички индикатори претходни симптоматски статус пацијента и присуство плака нестабилне морфологије, даље испитивање је усмерено на формулацију модела за предикцију ових клиничких параметара. Клинички значај формулисаних модела даље је испитиван анализом њихове дијагностичке тачности.

4.5.1. Формулација модела за предвиђање вероватноће присуства симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА

Даље је формулисан модел за предвиђање вероватноће присуства недавних симптома код укупних пацијената са СКА, као и модел за предвиђање вероватноће присуства недавних симптома код пацијената са стенозом умереног степена.

Модел за предвиђање вероватноће присуства нестабилног плака код свих пацијената са СКА није био формулисан, како су добијени резултати указали на то да испитивани серумски параметри немају значаја за детекцију ове карактеристике у укупној групи пацијената. Супротно, модел за детекцију присуства нестабилног плака је било могуће формулисати код пацијената са умереном стенозом, како су претходни резултати индиковали потенцијал појединих параметара у овој подгрупи пацијената.

4.5.1.1. Предвиђање вероватноће присуства симптома код укупних пацијената са СКА

Предиктивна способност испитиваних серумских параметара тестирана је прво униваријантном логистичком бинарном регресионом анализом, на основу *cut-off* вредности ових параметара одабраних за осетљивости и специфичности приказане у Табели 19. Резултати ове анализе за параметре који су показали статистичку значајност приказани су у Табели 22, заједно са резултатима мултиваријантне логистичке бинарне регресије која укључује исте параметре.

Табела 22. Процена предиктивне вредности испитиваних серумских параметара за одређивање вероватноће присуства симптома

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI</i>
<i>Униваријантна бинарна логистичка регресија</i>			
<i>CRP</i>	0,007	3,4	1,40 – 8,37
<i>SAA</i>	0,010	3,0	1,30–6,70
<i>Мултиваријантна бинарна логистичка регресија</i>			
<i>CRP</i>	0,019	3,0	1,20–7,49
<i>SAA</i>	0,030	2,6	1,09–5,93

OR: однос шанси, *95% CI*: 95% интервал поузданости, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *SAA*: серум амилоид-А. Као предиктори узимају се вредности *CRP* и *SAA* изнад претходно дефинисаних *cut-off* вредности (Табела 19). Мултиваријантни модел као предикторе укључује *CRP* и *SAA*. Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Мултиваријантни модел који је укључивао *CRP* и *SAA* (Модел 1А) правилно је класификовао 86% случајева у односу на присуство симптома, при чему је успешно детектовао 44% симптоматских пацијената и показао статистичку значајност ($p=0,002$).

Када је испитивана предиктивна вредност фактора ризика и ултразвучних параметара за идентификацију симптоматских пацијената, ни пол, године, хипертензија, хиперлипидемија, пушење, ИТМ, ДМ, степен стенозе и нестабилност плака нису показали значајност у униваријантној анализи.

Са друге стране, комбиновани утицај стабилности плака и индекса телесне масе у мултиваријантном моделу (Модел 1Б) показао је статистичку значајност ($p=0,028$). Он је исправно класификовао 69% случајева, али од тога само 6% симптоматских пацијената.

Табела 23. Процена предиктивне вредности параметара укључених у модел 1Б за одређивање вероватноће присуства симптома

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI</i>
Стабилност плака	0,039	2,5	1,05–5,75
ИТМ	0,120	1,1	0,98–1,27

OR: однос шанси, *95% CI*: 95% интервал поузданости, ИТМ: индекс телесне масе, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *SAA*: серум амилоид-А. Мултиваријантни модел као предикторе укључује стабилност каротидног плака као категоријску варијаблу и вредности ИТМ. Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Када су у Модел 1Б као додатни предиктори укључени они из модела 1А – *CRP* и *SAA* изнад дефинисаних *cut-off* вредности, формиран је модел 1В који је правилно класификовао 74% случајева, уз исправну идентификацију 27% симптоматских пацијената и статистичку значајност ($p=0,003$). Резултати мултиваријантне анализе модела 1В приказани у Табели 24. показали су да су *SAA* и стабилност плака остали независан предиктори вероватноће присуства симптома.

Табела 24. Процена предиктивне вредности параметара укључених у модел 1В за одређивање вероватноће присуства симптома

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
Стабилност плака	0,043	2,5	1,03–6,16
ИТМ	0,243	1,1	0,95–1,25
<i>CRP</i>	0,091	2,3	0,88–5,94
<i>SAA</i>	0,041	2,6	1,04–6,39

OR: однос шанси, 95% *CI*: 95% интервал поузданости, ИТМ: индекс телесне масе, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *SAA*: серум амилоид-А. Укључени предиктори су присуство нестабилног плака, ИТМ и вредности *CRP* и *SAA* изнад претходно дефинисаних *cut-off* вредности (Табела 19). Статистички значајном сматрана је вредност $p<0,05$.

4.5.1.2. Предвиђање вероватноће присуства симптома код пацијената са умереном СКА

Даље је способност испитиваних серумских параметара да предвиде вероватноћу присуства симптома тестирана одвојено у подгрупи пацијената са умереном стенозом. Концентрације испитиваних параметара изнад *cut-off* вредности приказаних у Табели 20. узете су као предиктори у униваријантној бинарној логистичкој регресионој анализи. Затим су они параметри за које је на овај начин добијена статистичка значајност уврштени као предиктори у мултиваријантну бинарну логистичку регресиону анализу (Модел 2А). Резултати ових анализа дати су у Табели 25.

Табела 25. Процена предиктивне вредности испитиваних серумских параметара за одређивање вероватноће присуства симптома код пацијената са умереном СКА

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
<i>Униваријантна бинарна логистичка регресија</i>			
<i>SAA</i>	0,030	6,3	1,20–33,39
<i>MPO</i>	0,020	14,2	1,52–132,73
<i>Мултиваријантна бинарна логистичка регресија</i>			
<i>SAA</i>	0,154	3,8	0,61–23,24
<i>MPO</i>	0,049	10,0	1,01–99,93

OR: однос шанси, 95% *CI*: 95% интервал поузданости, *SAA*: серум амилоид-А, *MPO*: мијелопероксидаза. Као предиктори узимају се вредности *SAA* и *MPO* изнад претходно дефинисаних *cut-off* вредности (Табела 20). Мултиваријантни модел укључује само *SAA* и *MPO* као предикторе. Статистички значајном сматрана је вредност $p<0,05$.

Модел 2А је у односу на присуство симптома успешно класификовао 82% случајева и детектовао 67% симптоматских пацијената са статистичком значајношћу ($p=0,006$).

Као што је добијено и у укупној групи пацијената, ни за пацијенте са умереном СКА испитивање предиктивних вредности фактора ризика и ултразвучних параметара у униваријантној бинарној логистичкој регресионој анализи није дало значајне резултате ни за један параметар.

У мултиваријантној анализи, једини модел који је показао статистичку значајност комбиновао је степен стенозе као континуирану нумеричку варијаблу и присуство хроничне бубрежне болести (Модел 2Б). Овај модел је исправно класификовао 82% случајева, али је идентификовао само 33% симптоматских пацијената, уз добијену вредност $p=0,041$.

Табела 26. Процена предиктивне вредности параметара укључених у модел 2Б за одређивање вероватноће присуства симптома код пацијената са умереном стенозом

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI</i>
Хронична болест бубрега	0,402	0,9	0,37–12,00
Степен стенозе	0,036	2,1	0,85–1,00

OR: однос шанси, *95% CI*: 95% интервал поузданости. Мултиваријантни модел као предикторе укључује хроничне болести бубрега као категоријску варијаблу и степен стенозе као континуирану варијаблу. Статистички значајном сматрана је вредност $p<0,05$.

Укључивањем серумских параметара из модела 2А у модел 2Б, формулисан је нови мултиваријантни модел 2В, чији су предиктори описани у Табели 27.

Табела 27. Процена предиктивне вредности параметара укључених у модел 2В за одређивање вероватноће присуства симптома код пацијената са умереном стенозом

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI</i>
Хронична болест бубрега	0,226	4,2	0,41–41,85
Степен стенозе	0,139	0,9	0,86–1,02
<i>MPO</i>	0,044	10,9	1,21–144,52
<i>SAA</i>	0,158	4,5	0,56–36,65

OR: однос шанси, *95% CI*: 95% интервал поузданости, *SAA*: серум амилоид-А, *MPO*: мијелопероксидаза. Укључени предиктори су присуство хроничних болести бубрега, степен стенозе каротидне артерије и вредности *MPO* и *SAA* изнад претходно дефинисаних *cut-off* вредности (Табела 20). Статистички значајном сматрана је вредност $p<0,05$.

Према овом моделу, правилно је класификовано 82% од укупних случајева и идентификовано 56% симптоматских пацијената ($p=0,007$), а једини независни предиктор била је концентрација *MPO* изнад дефинисане *cut-off* вредности.

4.5.1.3. Предвиђање вероватноће присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА

Предиктивна вредност анализираних параметара испитивана је и за предвиђање вероватноће присуства нестабилног плака код пацијената са СКА умереног степена. У униваријантној бинарној логистичкој анализи, статистичка значајност је достигнута за вредности *sel-E* испод, а вредности *suPAR*, *sel-P* и *MMP-7* изнад *cut off* вредности добијених за одабране осетљивости и специфичности које су приказане у Табели 21.

Табела 28. Процена предиктивне вредности испитиваних серумских параметара за одређивање вероватноће присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
<i>Униваријантна бинарна логистичка регресија</i>			
<i>suPAR</i>	0,039	5,4	1,1–31,0
<i>Sel-E</i>	0,028	12,0	1,3–110,5
<i>Sel-P</i>	0,028	12,0	1,3–110,5
<i>MMP-7</i>	0,007	12,0	2,0–72,4

OR: однос шанси, 95% *CI*: 95% интервал поузданости, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-7*: матриксна металопротеиназа-7. Као предиктори узимају се вредности *suPAR*, *Sel-P* и *MMP-7* изнад, а вредности *Sel-E* испод претходно дефинисаних *cut-off* вредности (Табела 21). Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

У мултиваријантну анализу нису била укључена сва четири значајна параметра заједно, због ризика од оверфитовања модела, а с обзиром на малу величину узорка. Из тог разлога, испитивани су различити модели са мањим бројем предиктора, односно модели засновани на комбинацијама по два од ова четири параметра. При томе су изостављене комбинације параметара који су међусобно корелирали у овој групи испитаника (*Sel-E* и *Sel-P*, *Sel-P* и *MMP-7*). Добијени модели и њихове карактеристике су приказани у Табели 29.

Табела 29. Приказ модела који укључују различите комбинације испитиваних серумских параметара за одређивање вероватноће присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА

Модел	Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>	<i>p</i>	Правилно класификовани подаци, %	Правилно класификовани нестабилни плакови, %
<i>suPAR+Sel-E</i>	<i>suPAR</i>	0,051	6,8	0,99–47,04	0,003	79	73
	<i>Sel-E</i>	0,024	14,6	1,42–151,07			
<i>suPAR+Sel-P</i>	<i>suPAR</i>	0,025	10,0	1,34–74,95	0,001	82	73
	<i>Sel-P</i>	0,014	20,8	1,86–232,51			
<i>suPAR+MMP-7</i>	<i>suPAR</i>	0,089	5,6	0,77–40,89	0,002	79	64
	<i>MMP-7</i>	0,010	12,3	1,82–83,08			
<i>Sel-E+MMP-7</i>	<i>Sel-E</i>	0,088	7,8	0,74–83,13	0,002	79	73
	<i>MMP-7</i>	0,026	8,6	1,29–57,11			

OR: однос шанси, 95% *CI*: 95% интервал поузданости, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-7*: матриксна металопротеиназа-7. Укључени предиктори су вредности *suPAR*, *Sel-P* и *MMP-7* изнад и вредности *Sel-E* испод претходно дефинисаних *cut-off* вредности (Табела 21). Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

Сви добијени модели су били статистички значајни и показали су релативно висок проценат правилно класификованих случајева. Ипак, модел који је укључивао *suPAR* и *Sel-P* је једини имао два независна предиктора, а показао је и нешто виши степен исправне класификације од осталих модела, и зато је он одабран да се користи у даљој анализи. Назван је Моделом 3А.

Ни један од фактора ризика и ултразвучних параметара није показао статистичку значајност као предиктор вероватноће присуства нестабилног плака у униваријантној бинарној логистичкој регресионој анализи, али је значајност достигнута у мултиваријантној анализи за модел који је укључивао пол и хиперлипидемију (Модел 3Б). Према овом моделу, правилно је класификовано 73% случајева и идентификовано је 55% пацијената са нестабилним плаком ($p=0,047$).

Табела 30. Процена предиктивне вредности параметара укључених у модел 3Б за одређивање нестабилног плака код пацијената са умереном СКА

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
Пол	0,189	3,8	0,52–26,99
Хиперлипидемија	0,033	6,5	1,16–35,91

OR: однос шанси, 95% *CI*: 95% интервал поузданости. Мултиваријантни модел као предикторе укључује пол и хиперлипидемију. Статистички значајном сматрана је вредност $p<0,05$.

Када је модел 3Б проширен серумским параметрима укљученим у модел 3А, добијен је модел 3В чији су предиктори приказани у Табели 31. Овај модел је показао статистичку значајност са вредношћу $p=0,001$ уз успешну класификацију 82% случајева и тачну идентификацију 82% пацијената са нестабилним плаком. У овом моделу су се као независни предиктори задржали *suPAR* и *Sel-P*.

Табела 31. Процена предиктивне вредности параметара укључених у модел 3В за одређивање вероватноће присуства нестабилног плака

Параметар	<i>p</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
Пол	0,96	16,2	0,61–432,06
Хиперлипидемија	0,62	15,6	0,88–276,37
<i>SuPAR</i>	0,41	13,6	1,11–166,74
<i>Sel-P</i>	0,18	58,5	1,99–1720,25

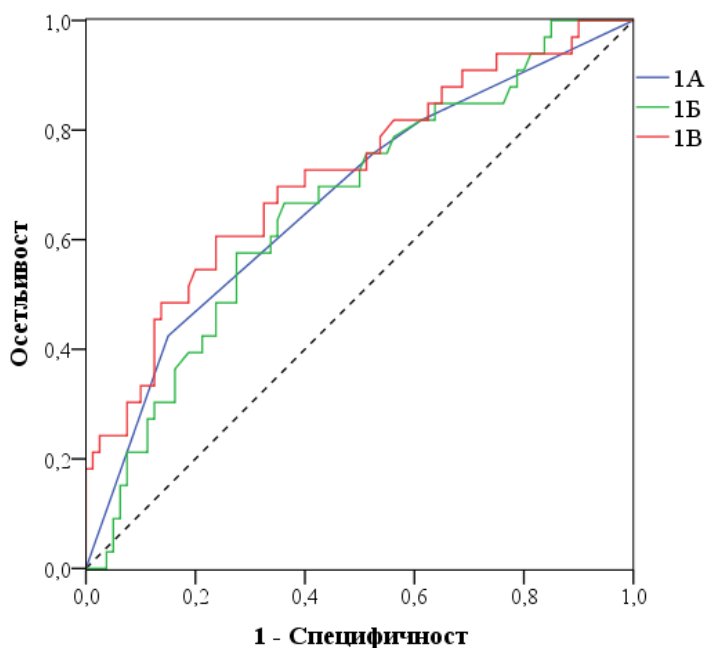
OR: однос шанси, 95% *CI*: 95% интервал поузданости, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *sel-P*: селектин-П. Укључени предиктори су мушки пол, старост, присуство хиперлипидемије, вредности *suPAR* и *Sel-P* изнад претходно дефинисаних *cut-off* вредности (Табела 21). Статистички значајном сматрана је вредност $p<0,05$.

4.5.2. Испитивање дијагностичке тачности модела за предвиђање вероватноће појаве симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА

Предвиђене вероватноће добијене на основу претходно описаних модела 1А, 2А, 3А, 1Б, 2Б, 3Б, 1В, 2В, и 3В коришћене су за *ROC* анализу како би се испитале, а потом упоредиле дијагностичке тачности ових модела.

4.5.2.1. Испитивање дијагностичке тачности модела за предвиђање вероватноће присуства симптома код укупних пацијената са СКА

За предвиђање вероватноће присуства симптома код пацијената са СКА претходно су формулисани: Модел који је укључивао само лабораторијске параметре (Модел 1А), модел који је укључивао ултразвучне параметре и факторе ризика (Модел 1Б), као и модел од комбинованих лабораторијских, ултразвучних параметара и фактора ризика (Модел 1В). На основу ових модела израчунате су предвиђене вероватноће за сваког пацијента из испитиване групе, и на основу њих, дијагностичка тачност датих модела је испитана *ROC* анализом. Добијени *ROC* графици су приказани на Слици 27.



Слика 27. *ROC* график предвиђених вероватноћа присуства симптома код пацијената са СКА добијених на основу модела 1А, 1Б и 1В

Добијене вредности површине испод *ROC* криве су приказане у Табели 32. Њихово поређење помоћу *de Long* теста за криве које потичу из истог узорка, није показало значајне разлике међу њима.

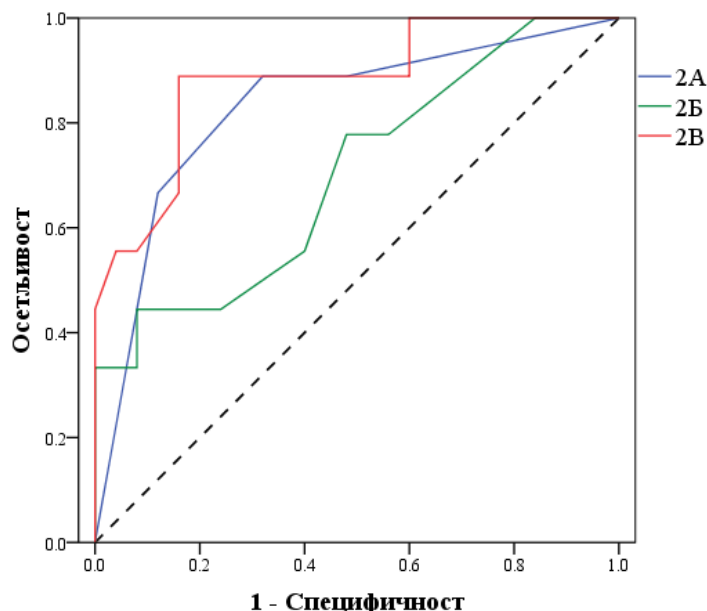
Табела 32. Резултати анализе *ROC* криве предвиђених вероватноћа присуства симптома код пацијената са СКА добијених на основу модела 1А, 1Б и 1В

Модел	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	95% <i>CI</i>
1А	0,675	0,057	0,004	0,563–0,786
1Б	0,664	0,055	0,006	0,556–0,773
1В	0,719	0,054	<0,001	0,612–0,825

AUC: Површина испод *ROC* криве, *SE*: стандардна грешка, *CI*: интервал поузданости. Статистички значајном се сматра вредност $p < 0,05$.

4.5.2.2. Испитивање дијагностичке тачности модела за предвиђање вероватноће присуства симптома код пацијената са умереном СКА

Даље је *ROC* анализом испитана дијагностичка тачност модела за предвиђање вероватноће присуства симптома код пацијената са умереном СКА. Испитани су претходно формулисани модел сачињен од лабораторијских параметара (Модел 2А), ултразвучних параметара и фактора ризика (Модел 2Б), и модел од комбинованих лабораторијских, ултразвучних параметара и фактора ризика (Модел 2В). *ROC* графици предвиђених вероватноћа добијених овим моделима су приказани на Слици 28.



Слика 28. *ROC* график предвиђених вероватноћа присуства симптома код пацијената са умереном СКА добијених на основу модела 2А, 2Б и 2В

У Табели 33. су приказане карактеристике датих *ROC* кривих, а поређење израчунатих површина испод криви предвиђених вероватноћа модела 2А, 2Б и 2В је показало да се модел 2А није разликовао значајно од друга два, док је модел 2В имао значајно већу површину испод *ROC* криве него модел 2Б ($p=0,046$).

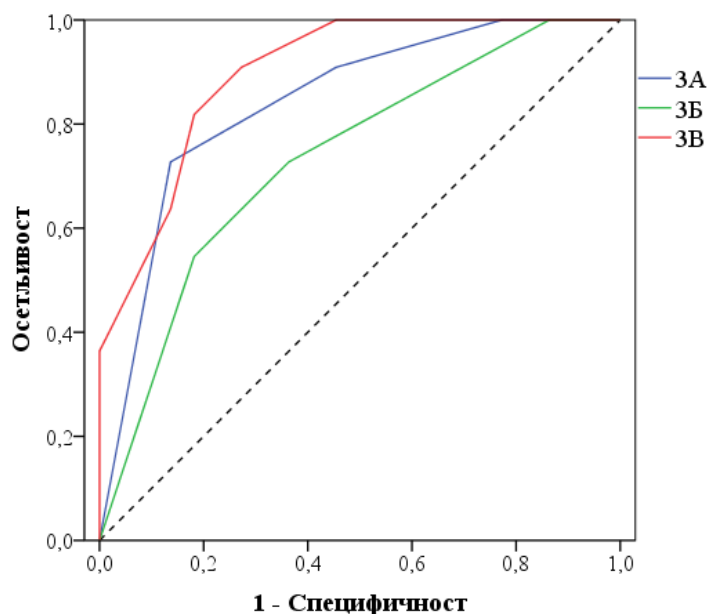
Табела 33. Резултати анализе *ROC* криве предвиђених вероватноћа присуства симптома код пацијената са умереном СКА добијених на основу модела 2А, 2Б и 2В

Модел	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	95% <i>CI</i>
2А	0,829	0,086	0,004	0,661–0,997
2Б	0,702	0,105	0,076	0,496–0,909
2В	0,882	0,069	0,001	0,705–1,000

AUC: Површина испод *ROC* криве, *SE*: стандардна грешка, *CI*: интервал поузданости. Статистички значајном се сматра вредност $p < 0,05$.

4.5.2.3. Испитивање дијагностичке тачности модела за предвиђање вероватноће присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА

На крају је испитана дијагностичка тачност модела за предвиђање вероватноће присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА на основу: лабораторијских параметара (Модел 3А), ултразвучних параметара и фактора ризика (Модел 3Б), као и на основу лабораторијских параметара и фактора ризика (3В). Слика 29. приказује *ROC* криве предвиђених вероватноћа добијених овим моделима.



Слика 29. *ROC* график предвиђених вероватноћа присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА добијених на основу модела 3А, 3Б и 3В

Карактеристике *ROC* кривих за вероватноће предвиђене моделима 3А, 3Б и 3В дате су у Табели 34. Њихово поређење је показало значајну разлику између модела 3Б и 3В ($p=0,041$).

Табела 34. Резултати анализе *ROC* криве предвиђених вероватноћа присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА добијених на основу модела 3А, 3Б и 3В

Модел	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	95% <i>CI</i>
3А	0,841	0,073	0,002	0,698–0,983
3Б	0,733	0,092	0,031	0,552–0,915
3В	0,899	0,053	<0,001	0,793–1,000

AUC: Површина испод *ROC* криве, *SE*: стандардна грешка, *CI*: интервал поузданости. Статистички значајном се сматра вредност $p<0,05$.

4.5.2.4. Испитивање унапређења предиктивне тачности формулисаних модела укључивањем специфичних параметара инфламације, хелијске адхезије и деградације екстрахелијског матрикса као предиктора

Поређење површина испод по три *ROC* криве за свако од описаних предвиђања је показало разлику у дијагностичкој тачности само код комбинованих модела у односу на моделе без лабораторијских параметара и то само у групи пацијената са умереном стенозом. Како ови резултати већ упућују на значајан допринос лабораторијских параметара предиктивној тачности комбинованих модела, даље је ради добијања шире слике о овом доприносу испитиван однос ових комбинованих модела 1В, 2В, и 3В са одговарајућим моделима који нису укључивали лабораторијске параметре, већ само факторе ризика и ултразвучне параметре, односно моделима 1Б, 2Б и 3Б. У те сврхе рачунато је нето унапређење рекласификацијом (енг. *Net reclassification improvement, NRI*) за сва три комбинована модела у односу на моделе без лабораторијских параметара. Такође је за ове моделе рачунато и интегрисано унапређење дискриминације (енг. *Integrated discrimination improvement, IDI*). Помоћу ова два параметра је показано колико комбиновани модели побољшавају правилну класификацију појединачних случајева у односу на моделе без лабораторијских параметара, као и то колико они генерално имају бољу способност разликовања случајева и контрола. Добијени резултати су приказани у Табели 35.

Табела 35. Нето унапређење рекласификацијом (*NRI*) и интегрисано унапређење дискриминације (*IDI*) комбинованих модела (1В, 2В, 3В) у односу на моделе формулисане без лабораторијских параметара (1Б, 2Б, 3Б)

Модел	<i>NRI</i> (%)	95% <i>CI</i>	<i>p</i>	<i>IDI</i> (%)	95% <i>CI</i>	<i>p</i>
1В у односу на 1Б	29,1	5,65–52,54	0,015	7,9	2,71–13,17	0,003
2В у односу на 2Б	27,1	-2,79–56,99	0,075	19,5	4,89–34,11	0,009
3В у односу на 3Б	41,0	3,60–78,40	0,032	31,9	14,66–49,06	<0,001

NRI: Нето унапређење рекласификацијом, *IDI*: интегрисано унапређење дискриминације, *CI*: интервал поузданости. Статистички значајном се сматра вредност $p<0,05$.

Додатно је испитано и какав је допринос не-лабораторијских параметара предиктивној тачности комбинованих модела, и то тако што су рачунати *NRI* и *IDI* комбинованих у односу на моделе формулисане од лабораторијских параметара. Резултати су приказани у Табели 36.

Табела 36. Нето унапређење рекласификацијом (*NRI*) и интегрисано унапређење дискриминације (*IDI*) комбинованих модела (1В, 2В, 3В) у односу на моделе формулисане само од лабораторијских параметара (1А, 2А, 3А)

Модел	<i>NRI</i> (%)	95% <i>CI</i>	<i>p</i>	<i>IDI</i> (%)	95% <i>CI</i>	<i>p</i>
1В у односу на 1А	15,3	-7,51–38,11	0,190	4,1	-0,17–8,36	0,060
2В у односу на 2А	-27,7	-71,25–15,85	0,215	10,1	-5,24–25,36	0,197
3В у односу на 3А	-5,2	-46,45–36,06	0,803	11,51	-2,01–25,03	0,095

NRI: Нето унапређење рекласификацијом, *IDI*: интегрисано унапређење дискриминације, *CI*: интервал поузданости. Статистички значајном се сматра вредност $p < 0,05$.

4.6. Одређивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА и испитивање њихове повезаности са анализираним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса, као и са значајним клиничким и ултразвучним карактеристикама СКА

У оквиру даље анализе учињен је осврт на параметре крвне слике, рутинске метаболичке и параметре липидног статуса из аспекта њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса, али и са СКА, односно њеним клиничким и ултразвучним карактеристикама.

4.6.1. Испитивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА

У првом кораку концентрација испитиваних рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА је упоређена са њиховим концентрацијама код пацијената са другим КВБ и код здравих испитаника из контролне групе. Добијени резултати су приказани у Табели 37.

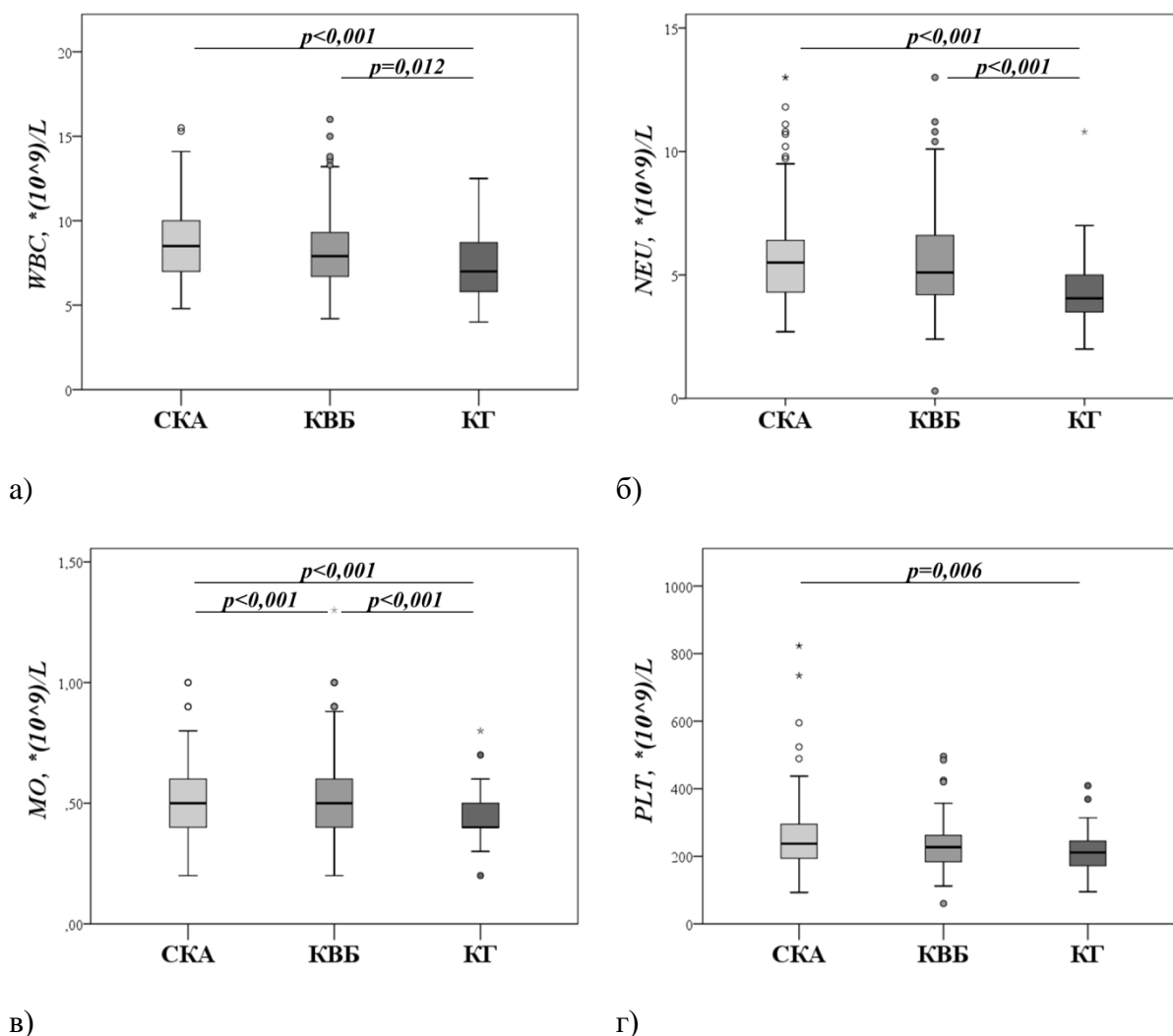
Табела 37. Концентрација испитиваних рутинских лабораторијских параметара у групи пацијената са СКА, са другим КВБ и контролној групи

Параметри	СКА (n=119)	КВБ (n=133)	КГ (n=46)	p
<i>WBC</i> , *10 ⁹ /L	8,5 (7,0–10,0)	7,9 (6,6–9,3)	7,0 (5,8–8,7)	0,002
<i>NEU</i> , *10 ⁹ /L	5,6 (4,4–6,4)	4,9 (4,1–6,5)	4,1 (3,3–5,1)	<0,001
<i>LY</i> , *10 ⁹ /L	1,9 (1,5–2,3)	1,8 (1,4–2,2)	1,9 (1,4–2,4)	0,408
<i>MO</i> , *10 ⁹ /L	0,5 (0,4–0,6)	0,5 (0,4–0,6)	0,4 (0,3–0,5)	<0,001
<i>EO</i> , *10 ⁹ /L	0,2 (0,1–0,3)	0,2 (0,1–0,3)	0,2 (0,1–0,3)	0,669
<i>BA</i> , *10 ⁹ /L	0,0 (0,0–0,1)	0,0 (0,0–0,1)	0,0 (0,0–0,1)	0,458
<i>RBC</i> , *10 ¹² /L	4,69±0,607	4,76±0,525	4,69±0,434	0,504
<i>HGB</i> , g/L	138 (127–150)	144 (133–155)	144 (134–151)	0,086
<i>HCT</i> , L/L	0,417 (0,383–0,453)	0,430 (0,405–0,459)	0,425 (0,400–0,448)	0,172
<i>MCV</i> , fL	89,8 (86,0–92,6)	90,4 (87,3–93,3)	91,0 (88,1–93,5)	0,547
<i>MCH</i> , pg	29,9 (28,3–31,2)	30,1 (29,0–31,3)	30,7 (29,4–31,3)	0,392
<i>MCHC</i> , g/L	333 (327–339)	333 (328–341)	335 (332–341)	0,219
<i>RDW</i> , %	13,6 (12,9–14,1)	13,3 (12,9–13,9)	13,4 (13,0–13,8)	0,779
<i>PLT</i> , *10 ⁹ /L	237 (192–295)	224 (185–264)	215 (167–253)	0,015
<i>MPV</i> , fL	8,5 (7,9–9,3)	8,7 (8,1–9,5)	8,8 (8,1–9,4)	0,068
<i>PCT</i> , %	0,21 (0,17–0,25)	0,20 (0,17–0,23)	0,19 (0,16–0,22)	0,099
<i>PDW</i> , %	57,2 (52,6–62,4)	58,7 (54,2–62,9)	57,8 (54,2–62,9)	0,374
Глукоза, mmol/L	6,1 (5,5–7,7)	5,9 (5,4–6,7)	5,7 (5,3–6,5)	0,103
Уреа, mmol/L	7,5 (5,8–9,3)	6,9 (5,5–8,7)	6,9 (5,2–8,4)	0,288
Креатинин, μmol/L	81 (69–111)	82 (72–107)	82 (68–102)	0,464
Мокраћна к, μmol/L	344 (281–420)	347 (293–419)	331 (292–421)	0,643
<i>УХ</i> , mmol/L	4,46 (3,77–5,40)	4,88 (4,13–5,98)	4,88 (4,31–5,89)	0,035
<i>LDL-x</i> , mmol/L	2,38 (1,84–3,09)	2,88 (2,25–3,79)	2,77 (2,17–3,81)	0,018
<i>HDL-x</i> , mmol/L	1,2 (1,0–1,4)	1,2 (1,0–1,4)	1,3 (1,2–1,7)	0,002
<i>ТГ</i> , mmol/L	1,51 (1,12–1,90)	1,47 (1,12–1,88)	1,60 (1,11–2,01)	0,797
<i>Non-HDL-x</i> , mmol/L	3,15 (2,61–4,03)	3,70 (3,07–4,76)	3,49 (3,01–4,28)	0,002
<i>Non-HDL-x/HDL-x</i>	2,78 (1,99–3,57)	3,17 (2,44–4,27)	2,68 (2,07–3,23)	0,003
<i>LDL-x/ HDL-x</i>	2,00 (1,53–2,72)	2,49 (1,87–3,35)	2,15 (1,71–2,66)	<0,001
<i>AIP</i>	0,11 (-0,5–0,26)	0,10 (-0,76–0,28)	0,07 (-0,16–0,22)	0,514
<i>NLR</i>	2,97 (1,95–4,09)	2,80 (2,19–3,73)	2,12 (1,59–3,03)	0,001
<i>MLR</i>	0,26 (0,21–0,36)	0,29 (0,23–0,37)	0,23 (0,16–0,27)	0,001
<i>PLR</i>	126 (95–171)	127 (97–160)	98 (87–143)	0,061
<i>MHR</i>	0,43 (0,34–0,56)	0,43 (0,32–0,61)	0,31 (0,23–0,41)	<0,001
<i>RPR</i>	0,057 (0,046–0,070)	0,060 (0,051–0,075)	0,062 (0,052–0,080)	0,030

СКА: Стеноза каротидне артерије, КВБ: Друге кардиоваскуларне болести, КГ: Контролна група, *WBC*: Број леукоцита, *NE*: Број неутрофила, *LY*: Број лимфоцита, *MO*: Број моноцита, *EO*: Број еозинофила, *BA*: Број базофила, *RBC*: Број еритроцита, *HGB*: Хемоглобин, *HCT*: Хематокрит, *MCV*: Средњи волумен еритроцита, *MCH*: Просечна количина хемоглобина у еритроциту, *MCHC*: Просечна концентрација хемоглобина на литар еритроцита, *RDW*: Ширина дистрибуције еритроцита, *PLT*: Број тромбоцита, *MPV*: Средњи волумен тромбоцита, *PCT*: Тромбокрит, *PDW*: Ширина дистрибуције тромбоцита, *УХ*: укупни холестерол, *LDL-x*: *LDL*-холестерол, *HDL-x*: *HDL*-холестерол, *ТГ*: Триглицериди, *Non-HDL-x*: не-*HDL*-холестерол, *Non-HDL-x/HDL-x*: однос не-*HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *LDL-x/ HDL-x*: однос *LDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *AIP*: атерогени индекс плазме, *NLR*: Однос неутрофили/лимфоцити, *MLR*: Однос моноцити/лимфоцити, *PLR*: Однос тромбоцити/лимфоцити, *MHR*: однос моноцити/*HDL*-холестерол, *RPR*: Однос *RDW*/тромбоцити.

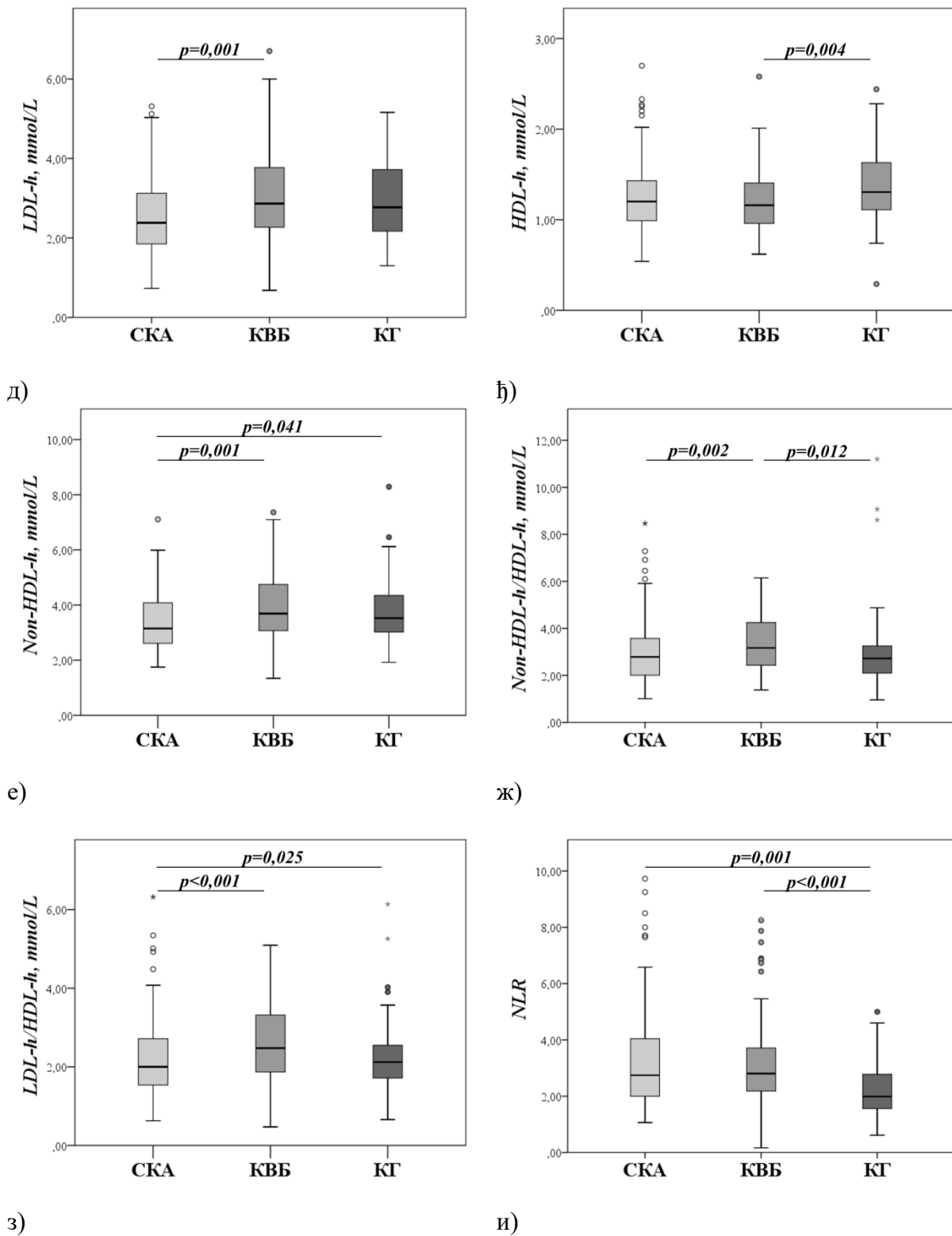
Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом, и као медијана (интерквартилни распон) за параметре чија расподела одступа од нормалне. Значајност разлике је испитивана АНОВА тестом за параметре са нормалном расподелом и Краскал-Волис тестом за параметре који нису имали нормалну расподелу, а значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Post-hoc анализа је показала да је већина добијених разлика била присутна између контролне групе и група пацијената, док се само неколико параметара значајно разликовало у вредностима између две групе пацијената, СКА и КВБ. Резултати ове анализе су приказани на Слици 30.



Слика 30. Графички приказ разлике вредности а) броја леукоцита (*WBC*), б) броја неутрофила (*NEU*), в) броја моноцита (*MO*), г) броја тромбоцита (*PLT*), д) *LDL*-холестерола (*LDL-h*), ђ) *HDL*-холестерола (*HDL-h*), е) не-*HDL*-холестерола (*Non-HDL-x*), ж) односа не-*HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола (*Non-HDL-x/HDL-x*), з) односа *LDL*-холестерола и *HDL*-холестерола (*LDL-x/HDL-x*), и) односа неутрофили/лимфоцити (*NLR*), ј) односа моноцити/лимфоцити (*MLR*), к) односа моноцити/*HDL*-холестерол (*MHR*) и л) односа *RDW*/тромбоцити (*RPR*) између различитих група испитаника

СКА: стеноза каротидне артерије, КВБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група. Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,017$ услед примене Бонферони корекције за вишеструко тестирање.



Слика 30. – наставак Графички приказ разлике вредности а) броја леукоцита (*WBC*), б) броја неутрофила (*NEU*), в) броја моноцита (*MO*), г) броја тромбоцита (*PLT*), д) *LDL*-холестерола (*LDL-h*), њ) *HDL*-холестерола (*HDL-h*), е) не-*HDL*-холестерола (*Non-HDL-x*), ж) односа не-*HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола (*Non-HDL-x/HDL-x*), з) односа *LDL*-холестерола и *HDL*-холестерола (*LDL-x/HDL-x*), и) односа неутрофили/лимфоцити (*NLR*), ј) односа моноцити/лимфоцити (*MLR*), к) односа моноцити/*HDL*-холестерол (*MHR*) и л) односа *RDW*/тромбоцити (*RPR*) између различитих група испитаника

СКА: стеноза каротидне артерије, КВБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група.
 Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p<0,017$ услед примене Бонферони корекције за вишеструко тестирање.

4.6.2. Анализа повезаности рутинских лабораторијских параметара са испитиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА

Односи између вредности испитиваних специфичних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса и вредности рутинских лабораторијских параметара од значаја испитани су кроз анализу њихових међусобних корелација, приказаних на Сликама 31–34. Ове корелације су испитане одвојено у групи пацијената са СКА, у групи пацијената са другим КВБ и у групи здравих испитаника, да би се установило које од њих се везују за присуство СКА, које престају да важе само у присуству СКА, а које су присутне у свим групама испитаника, те нису специфично везане за стање болести.

	Фиб.	CRP	PTX-3	SAA	TNF- α	IL-1 β	IL-6	MPO	Lp-PLA2	LOX-1	suPAR	VCAM-1	sel-E	sel-P	MMP-2	MMP-7	MMP-9
WBC					-0,127 0,047	-0,309 0,037							+0,397 0,006	+0,193 0,010			+0,398 0,007
NEU				+0,212 0,021			+0,190 0,011	+0,306 0,038					+0,378 0,010			+0,164 0,028	+0,569 <0,001
LY	-0,134 0,036	-0,159 0,013	-0,182 0,048	-0,328 0,026		-0,305 0,039	-0,163 0,030	-0,408 0,005					+0,200 0,007	-0,172 0,022			-0,194 0,035
MO												+0,190 0,029	+0,297 0,045	+0,181 0,016			
EO							+0,197 0,032		-0,335 0,023		-0,179 0,004	+0,133 0,006		-0,275 0,001		-0,200 0,021	+0,172 0,008
BA			+0,229 0,008	-0,261 0,002	+0,303 0,001		-0,249 0,004	-0,173 0,047		+0,264 0,003				-0,315 <0,001		-0,212 0,014	
RBC	-0,173 0,006	-0,189 0,045	+0,187 0,031	-0,248 0,004	+0,133 0,038							-0,292 0,049	+0,188 0,012				+0,218 0,004
HGB	-0,216 0,001	-0,274 0,003	-0,247 0,004	-0,211 0,015					+0,336 0,023		-0,300 0,043		+0,268 <0,001				+0,246 0,001
HCT	-0,179 0,005			-0,229 0,008					+0,337 0,022				+0,277 0,002				
MCV			-0,178 0,040				-0,243 0,008	+0,137 0,029		-0,230 0,009				+0,189 0,012			
MCH	-0,203 0,007	-0,204 0,020						+0,155 0,014		-0,294 0,001		-0,182 0,004		+0,323 0,029			
MCHC	-0,230 0,002	-0,213 0,015									-0,223 0,003	-0,173 0,047	+0,173 0,046			-0,297 0,045	
RDW	+0,256 0,006						0,271 0,003	-0,272 0,002	+0,155 0,039			+0,206 0,001					+0,292 0,049
PLT		+0,234 0,012									+0,195 0,025						+0,391 0,007
MPV						-0,134 0,037									-0,196 0,033		
PCT		+0,228 0,015									+0,196 0,024	-0,327 0,026					
PDW						-0,183 0,048			+0,222 0,016				-0,310 0,036				

■ СКА ■ СКА+КВБ ■ КВБ ■ КГ ■ КГ+КВБ ■ У свим ■ Ни у једној

Слика 31. Приказ корелације испитиваних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса са параметрима крвне слике у свим групама испитаника појединачно и укупно

СКА: стеноза каротидне артерије, КВБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група, WBC: Број леукоцита, NE: Број неутрофила, LY: Број лимфоцита, MO: Број моноцита, EO: Број еозинофила, BA: Број базофила, RBC: Број еритроцита, HGB: Хемоглобин, HCT: Хематокрит, MCV: Средњи волумен еритроцита, MCH: Просечна количина хемоглобина у еритроциту, MCHC: Просечна концентрација хемоглобина на литар еритроцита, RDW: Ширина дистрибуције еритроцита, PLT: Број тромбоцита, MPV: Средњи волумен тромбоцита, PCT: Тромбоцит, PDW: Ширина дистрибуције тромбоцита, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF- α : фактор некрозе тумора- α , IL-1 β : интерлеукин-1 β , IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопротеиназа-2, MMP-7: матриксна металопротеиназа-7, MMP-9: матриксна металопротеиназа-9.

Резултати су добијени Спирмановом корелационом анализом. Приказане су вредности коефицијента корелације ρ , а испод њих вредности вероватноће p . Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

	Фиб.	CRP	PTX-3	SAA	TNF- α	IL-1 β	IL-6	MPO	Lp-PLA2	LOX-1	suPAR	VCAM-1	sel-E	sel-P	MMP-2	MMP-7	MMP-9
Глук.			-0,225 0,014						-0,197 0,033	-0,207 0,025							
Уреа									+0,203 0,019			+0,233 0,007			+0,153 0,041		
Креат.	+0,155 0,039						+0,332 <0,001		+0,236 0,006			+0,171 0,049	-0,189 0,029	+0,151 0,045	+0,156 0,031		+0,212 0,017
М.к.		+0,133 0,041		+0,182 0,038								+0,189 0,031	-0,260 0,003				
													+0,300 0,045				

СКА
 СКА+КВБ
 КВБ
 КГ
 КГ+КВБ
 У свим
 Ни у једној

Слика 32. Приказ корелације испитиваних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса са рутинским метаболичким параметрима у свим групама испитаника појединачно и укупно

СКА: стеноза каротидне артерије, КВБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF- α : фактор некрозе тумора- α , IL-1 β : интерлеукин-1 β , IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопроотеиназа-2, MMP-7: матриксна металопроотеиназа-7, MMP-9: матриксна металопроотеиназа-9.

Резултати су добијени Спирмановом корелационом анализом. Приказане су вредности коефицијента корелације ρ , а испод њих вредности вероватноће p . Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$.

	Фиб.	CRP	PTX-3	SAA	TNF- α	IL-1 β	IL-6	MPO	Lp-PLA2	LOX-1	suPAR	VCAM-1	sel-E	sel-P	MMP-2	MMP-7	MMP-9
УХ					+0,305 0,044		-0,434 0,003					-0,286 0,002	+0,300 0,045				
LDL-x					+0,412 0,006	+0,151 0,048						-0,227 0,016		+0,213 0,015			
HDL-x	-0,212 0,005	-0,282 <0,001			+0,242 0,010												-0,168 0,026
ТГ					+0,235 0,008	-0,429 0,003											
non-HDL-h					+0,356 0,018	+0,209 0,018	-0,356 0,015					-0,237 0,011		+0,194 0,026			
non-HDL-h/HDL-h		+0,428 0,003															+0,209 0,016
LDL-h/HDL-h						+0,217 0,015								+0,185 0,035			+0,203 0,020
AIP						-0,329 0,026				+0,310 0,038			+0,313 0,034				

■ СКА
 ■ СКА+КВБ
 ■ КВБ
 ■ КГ
 ■ КГ+КВБ
 ■ У свим
 ■ Ни у једној

Слика 33. Приказ корелације испитиваних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса са липидним параметрима у свим групама испитаника појединачно и укупно

СКА: стеноза каротидне артерије, КВБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група, УХ: укупни холестерол, LDL-x: LDL-холестерол, HDL-x: HDL-холестерол, ТГ: Триглицериди, Non-HDL-x: не-HDL-холестерол, Non-HDL-x/HDL-x: однос не-HDL-холестерола и HDL-холестерола, LDL-x/ HDL-x: однос LDL-холестерола и HDL-холестерола, AIP: атерогени индекс плазме, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF- α : фактор некрозе тумора- α , IL-1 β : интерлеукин-1 β , IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопроотеиназа-2, MMP-7: матриксна металопроотеиназа-7, MMP-9: матриксна металопроотеиназа-9.

Резултати су добијени Спирмановом корелационом анализом. Приказане су вредности коефицијента корелације ρ , а испод њих вредности вероватноће p . Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$

	Фиб.	CRP	PTX-3	SAA	TNF- α	IL-1 β	IL-6	MPO	Lp-PLA2	LOX-1	suPAR	VCAM-1	sel-E	sel-P	MMP-2	MMP-7	MMP-9
NLR			+0,294 0,048		-0,189 0,013		+0,291 <0,001	+0,548 <0,001				+0,222 0,010	+0,361 0,014	+0,355 <0,001		+0,171 0,022	
MLR			+0,317 0,032	+0,337 0,022				+0,457 0,001				+0,274 <0,001	-0,190 0,011	+0,273 <0,001			
PLR				-0,187 0,043	+0,168 0,028		-0,180 0,038	-0,184 0,014					+0,229 0,008			-0,268 <0,001	-0,244 0,008
MHR									-0,252 0,007			+0,319 <0,001		+0,192 0,011		+0,175 0,020	
RPR							+0,191 0,039				-0,172 0,047	+0,253 0,001				+0,424 0,004	

■ СКА
■ СКА+КВБ
■ КВБ
■ КГ
■ КГ+КВБ
■ У свим
■ Ни у jednoј

Слика 34. Приказ корелације испитиваних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса са леукоцитним индексима у свим групама испитаника појединачно и укупно

СКА: стеноза каротидне артерије, КВБ: друге кардиоваскуларне болести, КГ: контролна група, *NLR*: Однос неутрофили/лимфоцити, *MLR*: Однос моноцити/лимфоцити, *PLR*: Однос тромбоцити/лимфоцити, *MHR*: однос моноцити/*HDL*-холестерол, *RPR*: Однос *RDW*/тромбоцити, *CRP*: Ц-реактивни протеин, *PTX-3*: пентраксин-3, *SAA*: серум амилоид-А, *TNF- α* : фактор некрозе тумора- α , *IL-1 β* : интерлеукин-1 β , *IL-6*: интерлеукин-6, *MPO*: мијелопероксидаза, *Lp-PLA2*: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, *LOX-1*: лецитину сличан рецептор за оксидовани *LDL-1*, *suPAR*: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, *VCAM-1*: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, *sel-E*: селектин-Е, *sel-P*: селектин-П, *MMP-2*: матриксна металопроотеиназа-2, *MMP-7*: матриксна металопроотеиназа-7, *MMP-9*: матриксна металопроотеиназа-9.

Резултати су добијени Спирмановом корелационом анализом. Приказане су вредности коефицијента корелације ρ , а испод њих вредности вероватноће p . Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$

Примећена значајна корелација нивоа глукозе са *PTX-3*, *Lp-PLA2* и *LOX-1* на Слици 31. испитана је и одвојено код СКА пацијената са и без дијабетеса, зато што је претходно испитивањем заступљености фактора ризика показано да је дијабетес био значајно заступљенији у СКА групи него у осталим (Табела 5.), а наведене корелације су биле значајне само код пацијената са СКА. На овај начин је проверавано да ли су ове корелације заправо у вези са дијабетесом, а не са каротидном стенозом. Резултати су показали да у групи СКА пацијената без дијабетеса, дате корелације више нису биле статистички значајне ($r = -0,183$ и $p = 0,142$ за *Lp-PLA2*; $r = -0,182$ и $p = 0,141$ за *LOX-1*), док је код СКА пацијената са дијабетесом корелација глукозе и *Lp-PLA2* била значајна ($r = -0,293$, $p = 0,046$), а корелација глукозе и *LOX-1* није ($r = -0,239$, $p = 0,109$).

Када је код СКА пацијената са и без дијабетеса одвојено испитивана корелација глукозе и *PTX-3*, показано је да она није била значајна код пацијената са дијабетесом ($r = -0,155$, $p = 0,292$), док код пацијената без дијабетеса јесте ($r = -0,214$, $p = 0,046$).

Такође, због потенцијалног утицаја статина на повезаност параметара липидног статуса са испитиваним инфламаторним параметрима, њихове корелације су додатно испитане одвојено у групи СКА пацијената који користе терапију статинима (приказано матриksom корелација на слици 35.), као и у групи пацијената који не користе статине (приказано матриksom корелација на слици 36).

	Фиб.	CRP	PTX-3	SAA	TNF- α	IL-1 β	IL-6	MPO	Lp-PLA2	LOX-1	suPAR	VCAM-1	sel-E	sel-P	MMP-2	MMP-7	MMP-9
УХ												-0,224 0,044					
LDL-x																	
HDL-x					+0,263 0,021												
ТГ																	
non-HDL-h																	
non-HDL-h/HDL-h					-0,242 0,034												
LDL-h/HDL-h																	
AIP					-0,255 0,025												

Значајна корелација
 Корелација није значајна

Слика 35. Приказ корелације липидних и инфламаторних параметара у групи СКА пацијената на статинској терапији

УХ: укупни холестерол, LDL-x: LDL-холестерол, HDL-x: HDL-холестерол, ТГ: Триглицериди, Non-HDL-x: не-HDL-холестерол, Non-HDL-x/HDL-x: однос не-HDL-холестерола и HDL-холестерола, LDL-x/ HDL-x: однос LDL-холестерола и HDL-холестерола, AIP: атерогени индекс плазме, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF- α : фактор некрозе тумора- α , IL-1 β : интерлеукин-1 β , IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопроотеиназа-2, MMP-7: матриксна металопроотеиназа-7, MMP-9: матриксна металопроотеиназа-9.

Резултати су добијени Спирмановом корелационом анализом. Приказане су вредности коефицијента корелације ρ , а испод њих вредности вероватноће p . Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$

	Фиб.	CRP	PTX-3	SAA	TNF- α	IL-1 β	IL-6	MPO	Lp-PLA2	LOX-1	suPAR	VCAM-1	sel-E	sel-P	MMP-2	MMP-7	MMP-9
УХ												-0,424 0,008					
LDL-x												-0,349 0,040					
HDL-x									+0,351 0,042					-0,338 0,047			
ТГ								+0,390 0,015									
non-HDL-h												-0,369 0,029					
non-HDL-h/HDL-h																	
LDL-h/HDL-h																	
AIP									-0,345 0,045								

Значајна корелација
 Корелација није значајна

Слика 36. Приказ корелације липидних и инфламаторних параметара у групи СКА пацијената који не користе статинску терапију

УХ: укупни холестерол, LDL-x: LDL-холестерол, HDL-x: HDL-холестерол, ТГ: Триглицериди, Non-HDL-x: не-HDL-холестерол, Non-HDL-x/HDL-x: однос не-HDL-холестерола и HDL-холестерола, LDL-x/ HDL-x: однос LDL-холестерола и HDL-холестерола, AIP: атерогени индекс плазме, CRP: Ц-реактивни протеин, PTX-3: пентраксин-3, SAA: серум амилоид-А, TNF- α : фактор некрозе тумора- α , IL-1 β : интерлеукин-1 β , IL-6: интерлеукин-6, MPO: мијелопероксидаза, Lp-PLA2: фосфолипаза А2 у вези са липопротеинима, LOX-1: лецитину сличан рецептор за оксидовани LDL-1, suPAR: солубилни рецептор за активатор плазминогена сличан лецитину, VCAM-1: васкуларни ћелијски адхезивни молекул-1, sel-E: селектин-Е, sel-P: селектин-П, MMP-2: матриксна металопротеиназа-2, MMP-7: матриксна металопротеиназа-7, MMP-9: матриксна металопротеиназа-9.

Резултати су добијени Спирмановом корелационом анализом. Приказане су вредности коефицијента корелације ρ , а испод њих вредности вероватноће p . Статистички значајном сматрана је вредност $p < 0,05$

4.6.3. Анализа повезаности рутинских лабораторијских параметара са значајним клиничким и ултразвучним карактеристикама СКА

Даље су вредности испитиваних рутинских параметара анализиране у контексту значајних карактеристика СКА, односно симптоматског статуса, тежине стенозе и ултразвучно одређене морфологије плака.

4.6.3.1. Испитивање повезаности рутинских лабораторијских параметара са симптоматским статусом пацијената са СКА

Вредности испитиваних рутинских лабораторијских параметара су прво упоређене између асимптоматских и симптоматских пацијената са СКА, што је приказано у Табели 38.. Једине разлике су биле присутне у вредностима укупног и HDL-холестерола, који су обоје били виши код претходно асимптоматских пацијената.

Табела 38. Концентрација испитиваних рутинских лабораторијских параметара у односу на симптоматски статус пацијената са СКА

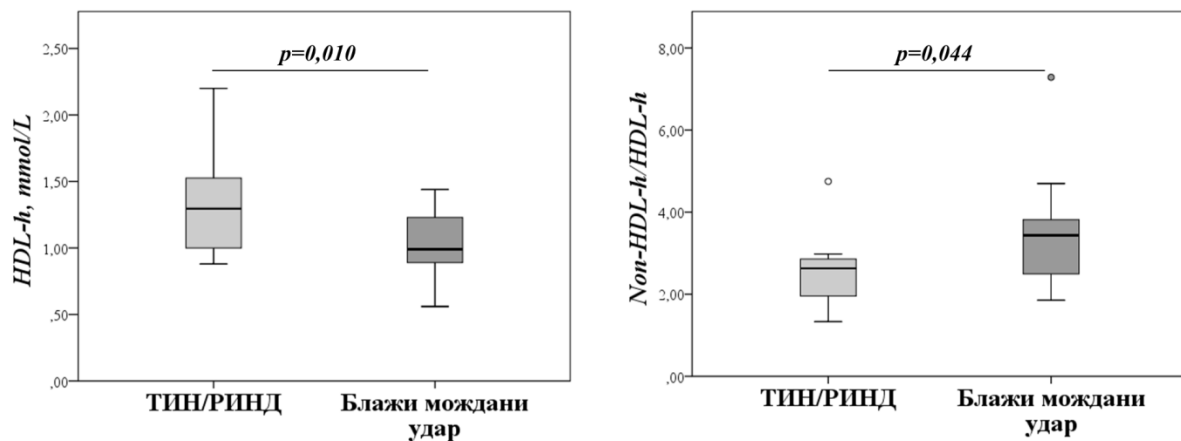
Параметри	АСКА (n=83)	ССКА (n=36)	p
<i>WBC</i> , *10 ⁹ /L	8,1 (6,9–9,3)	8,6 (7,4–11,1)	0,109
<i>NEU</i> , *10 ⁹ /L	5,4 (4,3–6,2)	5,7 (4,4–6,8)	0,276
<i>LY</i> , *10 ⁹ /L	1,8 (1,5–2,3)	1,9 (1,4–2,3)	0,723
<i>MO</i> , *10 ⁹ /L	0,5 (0,4–0,6)	0,5 (0,4–0,6)	0,620
<i>EO</i> , *10 ⁹ /L	0,2 (0,1–0,3)	0,2 (0,1–0,3)	0,810
<i>BA</i> , *10 ⁹ /L	0,0 (0,0–0,1)	0,0 (0,0–0,1)	0,565
<i>RBC</i> , *10 ¹² /L	4,68±0,567	4,71±0,626	0,799
<i>HGB</i> , g/L	140 (127–150)	137 (130–152)	0,887
<i>HCT</i> , L/L	0,42 (0,38–0,46)	0,42 (0,39–0,45)	0,557
<i>MCV</i> , fL	90,4 (86,2–92,8)	89,4 (86,0–92,0)	0,314
<i>MCH</i> , pg	30,0 (28,5–31,2)	29,5 (27,8–31,5)	0,587
<i>MCHC</i> , g/L	333 (328–339)	336 (326–339)	0,714
<i>RDW</i> , %	13,6 (12,9–14,2)	13,5 (13,1–14,1)	0,995
<i>PLT</i> , *10 ⁹ /L	230 (191–237)	261 (192–317)	0,257
<i>MPV</i> , fL	8,5 (7,9–9,6)	8,5 (8,0–9,2)	0,883
<i>PCT</i> , %	0,20 (0,17–0,23)	0,23 (0,17–0,26)	0,291
<i>PDW</i> , %	57,3 (52,1–63,4)	57,1 (53,5–61,4)	0,569
Глукоза, mmol/L	6,2 (5,4–8,3)	6,1 (5,5–7,1)	0,451
Уреа, mmol/L	7,4 (5,6–9,1)	7,9 (6,3–9,7)	0,621
Креатинин, μmol/L	77 (68–108)	89 (75–131)	0,085
Мокраћна к, μmol/L	341 (261–417)	360 (305–432)	0,401
<i>УХ</i> , mmol/L	4,86±1,207	4,34±0,934	0,024
<i>LDL-x</i> , mmol/L	2,41 (1,96–3,41)	2,23 (1,74–2,96)	0,260
<i>HDL-x</i> , mmol/L	1,22 (1,05–1,50)	1,09 (0,91–1,34)	0,037
<i>TГ</i> , mmol/L	1,51 (1,13–1,90)	1,45 (1,12–1,87)	0,944
<i>Non-HDL-x</i> , mmol/L	3,15 (2,61–4,13)	3,14 (2,59–3,82)	0,535
<i>Non-HDL-x/HDL-x</i>	2,76 (1,92–3,43)	2,79 (2,24–3,75)	0,284
<i>LDL-x/ HDL-x</i>	1,92 (1,45–2,74)	2,01 (1,66–2,62)	0,468
<i>AIP</i>	0,11 (-0,71–0,24)	0,13 (-0,14–0,31)	0,390
<i>NLR</i>	2,97 (2,10–4,08)	3,00 (1,94–4,37)	0,788
<i>MLR</i>	0,27 (0,23–0,36)	0,25 (0,21–0,35)	0,727
<i>PLR</i>	125 (92–179)	132 (95–169)	0,520
<i>MHR</i>	0,42 (0,31–0,53)	0,46 (0,35–0,61)	0,198
<i>RPR</i>	0,058 (0,047–0,071)	0,055 (0,042–0,070)	0,348

АСКА: Асимптоматска стеноза каротидне артерије, СССКА: Симптоматска стеноза каротидне артерије, *WBC*: Број леукоцита, *NE*: Број неутрофила, *LY*: Број лимфоцита, *MO*: Број моноцита, *EO*: Број еозинофила, *BA*: Број базофила, *RBC*: Број еритроцита, *HGB*: Хемоглобин, *HCT*: Хематокрит, *MCV*: Средњи волумен еритроцита, *MCH*: Просечна количина хемоглобина у еритроциту, *MCHC*: Просечна концентрација хемоглобина на литар еритроцита, *RDW*: Ширина дистрибуције еритроцита, *PLT*: Број тромбоцита, *MPV*: Средњи волумен тромбоцита, *PCT*: Тромбоцит, *PDW*: Ширина дистрибуције тромбоцита, *УХ*: укупни холестерол, *LDL-x*: *LDL*-холестерол, *HDL-x*: *HDL*-холестерол, *TГ*: Триглицериди, *Non-HDL-x*: не-*HDL*-холестерол, *Non-HDL-x/HDL-x*: однос не-*HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *LDL-x/HDL-x*: однос *LDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *AIP*: атерогени индекс плазме, *NLR*: Однос неутрофили/лимфоцити, *MLR*: Однос моноцити/лимфоцити, *PLR*: Однос тромбоцити/лимфоцити, *MHR*: однос моноцити/*HDL*-холестерол, *RPR*: Однос *RDW*/тромбоцити.

Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом, и као медијана (интерквартилни распон) за параметре чија расподела одступа од нормалне. Значајност разлике је испитивана студентовим т-тестом за параметре са нормалном расподелом и Ман-Витни У тестом за параметре који нису имали нормалну расподелу, а значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

У униваријантној логистичкој регресионој анализи, *HDL*-холестерол јесте био независан предиктор симптоматског статуса, при чему су ниже вредности овог параметра указивале на присуство недавних симптома ($OR=0,27$; $CI=0,08-0,92$; $p=0,036$). Међутим, укључивање *HDL*-холестерола у мултиваријантни модел 1В сачињен од специфичних инфламаторних параметара и клиничких карактеристика приказан у Табели 24., није унапредило предиктивне особине овог модела, а такође, како је наведени модел укључивао нестабилност плака као један од предиктора, а *HDL*-холестерол је био у асоцијацији са овом карактеристиком, његово укључивање у овај модел би кршило претпоставку о непостојању мултиколинеарности. Из наведених разлога, упркос индикуваној повезаности *HDL*-холестерола и симптоматског статуса, овај параметар није укључен у модел за предвиђање присуства недавних симптома.

Када су вредности датих параметара испитане код симптоматских пацијената у односу на озбиљност симптома, односно када су упоређене између пацијената који су доживели ТИН/РИНД и оних који су доживели блажи мождани удар, разлика је била присутна само у вредности *HDL*-холестерола, и у односу не-*HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, као што је приказано на Слици 37.



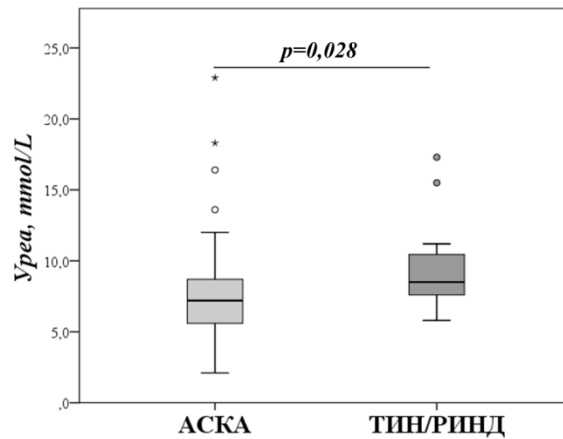
а)

б)

Слика 37. Графички приказ разлике у вредностима а) *HDL*-холестерола, б) односа не- *HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, између симптоматских пацијената који су доживели транзиторни исхемијски напад (ТИН) или реверзибилни исхемијски неуролошки дефицит (РИНД) и оних који су доживели блажи мождани удар.

Резултати су добијени употребом а) т-теста, б) Ман-Витни У теста а значајном разликом сматрана је вредност $p<0,05$.

Вредности урее које се нису значајно разликовале између асимптоматских и укупних симптоматских пацијената, показале су се као значајно више код пацијената који су доживели ТИН/РИНД у односу на асимптоматске пацијенте. Ова разлика је приказана на Слици 38.

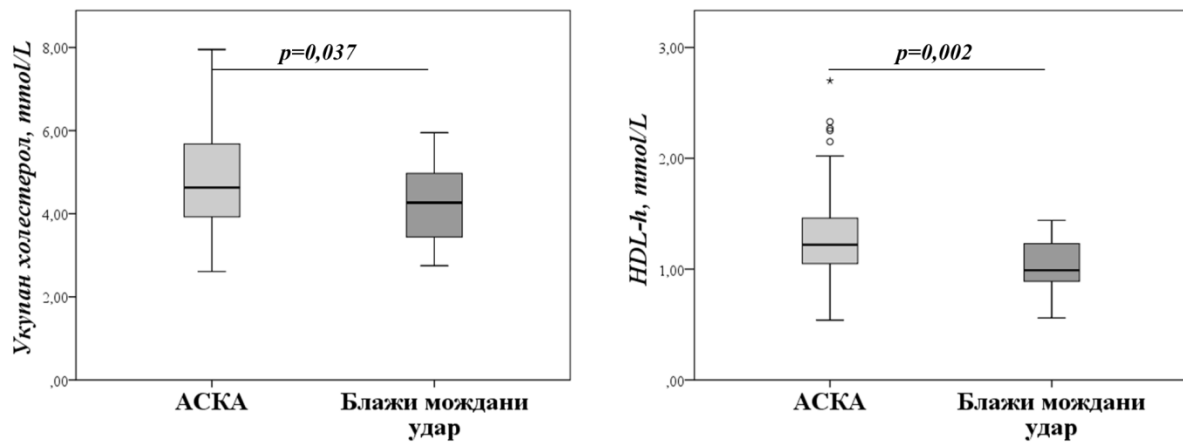


Слика 38. Графички приказ концентрације урее код пацијената који су доживели транзиторни исхемијски напад (ТИН) или реверзibilни исхемијски неуролошки дефицит (РИНД) у односу на концентрације код асимптоматских пацијената (АСКА)

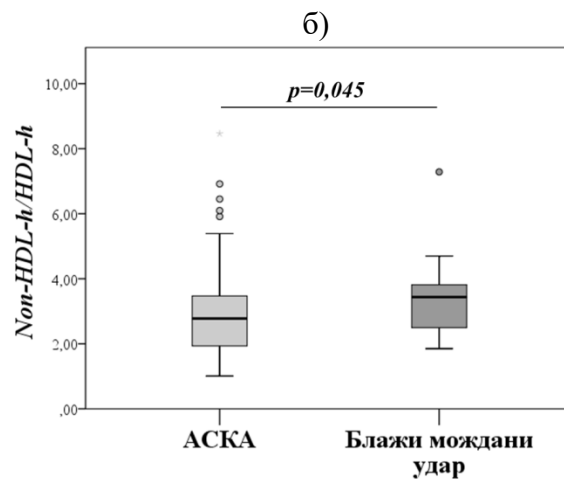
Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

Укупни и *HDL*-холестерол који су били повишени, односно снижени, код укупних симптоматских у односу на асимптоматске пацијенте, нису показали ову разлику приликом упоређивања симптоматских пацијената који су доживели ТИН/РИНД са асимптоматским пацијентима.

Када су асимптоматски пацијенти упоређени са онима који су доживели блажи мождани удар, добијене су статистички значајне разлике приказане на Слици 39. чији је наставак приказан на следећој страни.



а)



б)

в)

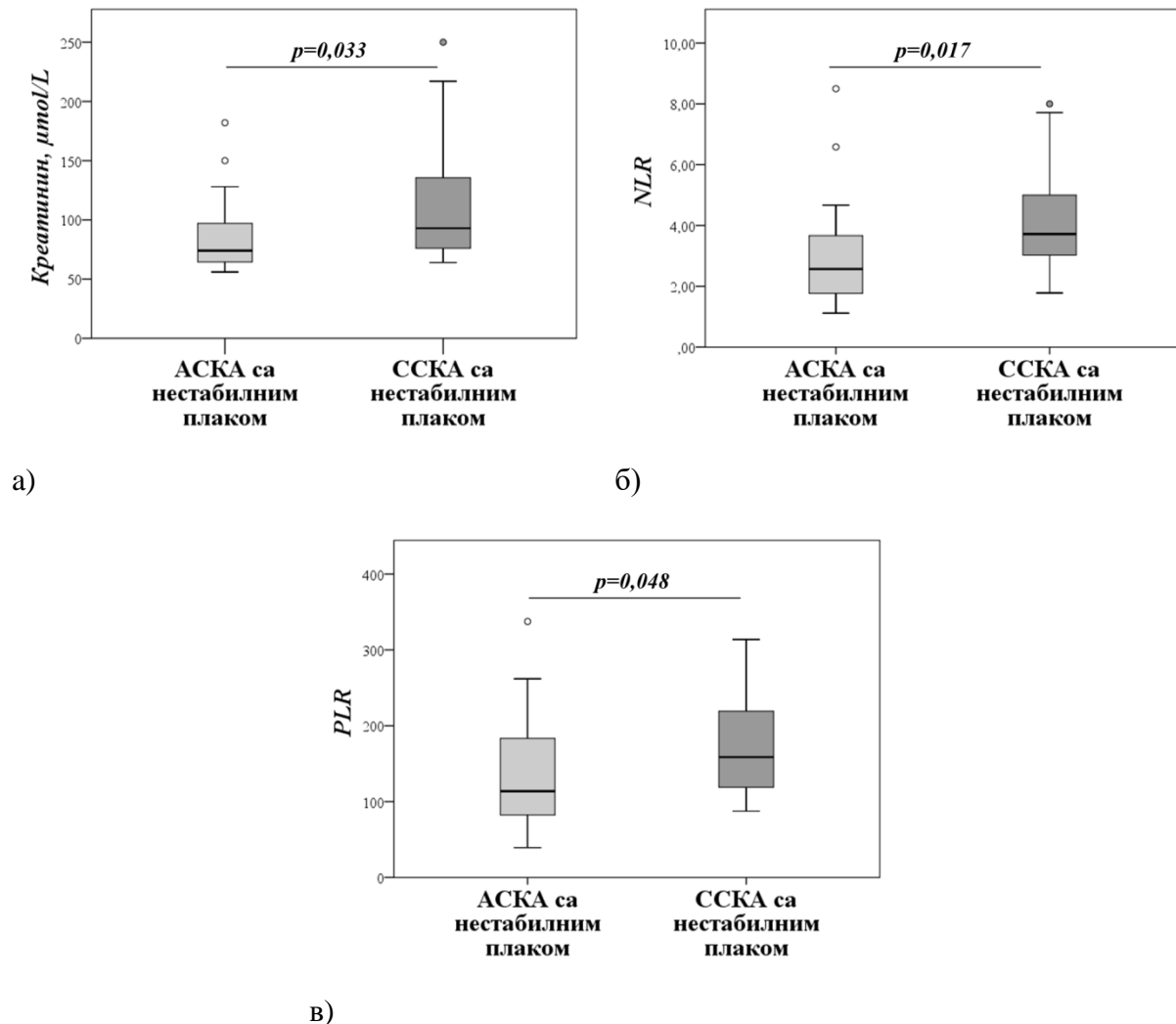
Слика 39. Графички приказ концентрације а) укупног холестерола, б) HDL-холестерола, в) односа не-HDL-холестерола и HDL-холестерола, код пацијената који су доживели блажи мождани удар у односу на концентрације код асимптоматских пацијената (АСКА)

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

Када су пацијенти стратификовани према степену стенозе у групе са умереном и тешком стенозом каротидне артерије, па вредности испитиваних рутинских лабораторијских параметара упоређиване између симптоматских и асимптоматских пацијената одвојено у ове две групе, није уочена статистички значајна разлика ни за један параметар, ни у групи са умереном, ни у групи са тешком стенозом.

Даље, када су пацијенти подељени у групу са стабилним и групу са нестабилним плаком, и разлике између симптоматских и асимптоматских пацијената испитане у ове две групе одвојено, уочене су значајне разлике у неколико параметара који нису били значајни приликом поређења укупних симптоматских и асимптоматских пацијената.

Све ове разлике су биле показане само у групи пацијената са нестабилним плаком, што је приказано на Слици 40. на следећој страни, док група са стабилним плаком није показала значајну разлику у односу на симптоматски статус ни за један параметар.



Слика 40. Графички приказ концентрације а) креатинина, б) односа неутрофила и лимфоцита (*NLR*), в) односа тромбоцита и лимфоцита (*PLR*) код пацијената са нестабилном морфологијом плака у односу на симптоматски статус

АСКА: асимптоматска стеноза каротидних артерија, ССКА: симптоматска стеноза каротидних артерија. Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

4.6.3.2. Испитивање повезаности рутинских лабораторијских параметара са тежином стенозе пацијената са СКА

Испитивани рутински лабораторијски параметри су даље анализирани у односу на тежину стенозе. Прво су упоређене њихове вредности код пацијената са умереном и тешком стенозом, и добијени резултати су представљени у Табели 39. на наредној страни, а затим су испитане и корелације ових параметара са самим степеном стенозе.

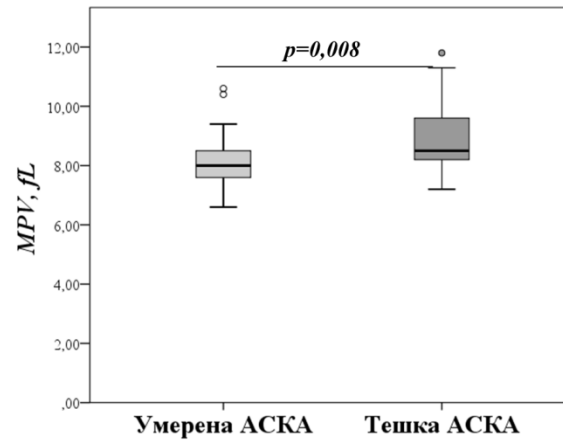
Табела 39. Концентрација испитиваних рутинских лабораторијских параметара у односу на тежину каротидне стенозе

Параметри	Умерена стеноза (n=34)	Тешка стеноза (n=85)	<i>p</i>
<i>WBC</i> , *10 ⁹ /L	8,5 (7,1–9,1)	8,4 (6,9–10,2)	0,705
<i>NEU</i> , *10 ⁹ /L	5,3 (4,5–6,0)	5,6 (4,3–6,6)	0,880
<i>LY</i> , *10 ⁹ /L	1,9 (1,5–2,3)	1,9 (1,4–2,3)	0,234
<i>MO</i> , *10 ⁹ /L	0,5 (0,4–0,6)	0,5 (0,4–0,6)	0,714
<i>EO</i> , *10 ⁹ /L	0,2 (0,1–0,3)	0,2 (0,1–0,3)	0,547
<i>BA</i> , *10 ⁹ /L	0,0 (0,0–0,1)	0,0 (0,0–0,1)	0,518
<i>RBC</i> , *10 ¹² /L	4,71±0,646	4,68±0,560	0,794
<i>HGB</i> , g/L	138 (129–153)	139 (123–151)	0,696
<i>HCT</i> , L/L	0,42 (0,39–0,46)	0,42 (0,38–0,45)	0,234
<i>MCV</i> , fL	90,4 (86,0–92,8)	89,8 (86,0–92,5)	0,661
<i>MCH</i> , pg	30,1 (28,4–31,0)	29,9 (28,1–31,3)	0,656
<i>MCHC</i> , g/L	334 (326–341)	333 (328–338)	0,797
<i>RDW</i> , %	13,6 (13,1–13,9)	13,5 (12,9–14,2)	0,544
<i>PLT</i> , *10 ⁹ /L	231 (200–298)	238 (187–296)	0,551
<i>MPV</i> , fL	8,1 (7,8–9,2)	8,6 (8,1–9,4)	0,038
<i>PCT</i> , %	0,20 (0,17–0,25)	0,21 (0,17–0,25)	0,901
<i>PDW</i> , %	58,3 (51,2–61,9)	56,9 (53,2–62,6)	0,342
Глукоза, mmol/L	6,1 (5,5–7,2)	6,1 (5,5–7,9)	0,961
Уреа, mmol/L	7,3 (5,6–8,3)	7,8 (6,1–9,7)	0,123
Креатинин, μmol/L	76 (68–105)	84 (70–114)	0,383
Мокраћна к, μmol/L	305 (245–411)	358 (287–424)	0,070
<i>УХ</i> , mmol/L	4,46 (3,89–5,54)	4,45 (3,67–5,38)	0,717
<i>LDL-x</i> , mmol/L	2,56 (1,97–3,04)	2,36 (1,81–3,19)	0,823
<i>HDL-x</i> , mmol/L	1,23 (1,04–1,62)	1,18 (0,97–1,43)	0,604
<i>TГ</i> , mmol/L	1,45 (1,02–1,81)	1,54 (1,20–1,91)	0,693
<i>Non-HDL-x</i> , mmol/L	2,97 (2,59–3,63)	3,17 (2,61–4,16)	0,699
<i>Non-HDL-x/HDL-x</i>	2,77 (1,85–3,27)	2,77 (2,05–3,61)	0,368
<i>LDL-x/ HDL-x</i>	1,89 (1,48–2,58)	2,02 (1,54–2,76)	0,548
<i>AIP</i>	0,05 (-0,12–0,24)	0,12 (0,00–0,29)	0,231
<i>NLR</i>	2,64 (2,13–3,33)	3,06 (1,94–4,30)	0,346
<i>MLR</i>	0,28 (0,19–0,33)	0,26 (0,23–0,38)	0,579
<i>PLR</i>	125 (99–161)	127 (91–179)	0,940
<i>MHR</i>	0,41 (0,33–0,50)	0,45 (0,34–0,58)	0,552
<i>RPR</i>	0,059 (0,044–0,068)	0,056 (0,047–0,071)	0,725

WBC: Број леукоцита, *NE*: Број неутрофила, *LY*: Број лимфоцита, *MO*: Број моноцита, *EO*: Број еозинофила, *BA*: Број базофила, *RBC*: Број еритроцита, *HGB*: Хемоглобин, *HCT*: Хематокрит, *MCV*: Средњи волумен еритроцита, *MCH*: Просечна количина хемоглобина у еритроциту, *MCHC*: Просечна концентрација хемоглобина на литар еритроцита, *RDW*: Ширина дистрибуције еритроцита, *PLT*: Број тромбоцита, *MPV*: Средњи волумен тромбоцита, *PCT*: Тромбоцит, *PDW*: Ширина дистрибуције тромбоцита, *УХ*: укупни холестерол, *LDL-x*: *LDL*-холестерол, *HDL-x*: *HDL*-холестерол, *TГ*: Триглицериди, *Non-HDL-x*: не-*HDL*-холестерол, *Non-HDL-x/HDL-x*: однос не-*HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *LDL-x/ HDL-x*: однос *LDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *AIP*: атерогени индекс плазме, *NLR*: Однос неутрофили/лимфоцити, *MLR*: Однос моноцити/лимфоцити, *PLR*: Однос тромбоцити/лимфоцити, *MHR*: однос моноцити/*HDL*-холестерол, *RPR*: Однос *RDW*/тромбоцити.

Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом, и као медијана (интерквартилни распон) за параметре чија расподела одступа од нормалне. Значајност разлике је испитивана студентовим т-тестом за параметре са нормалном расподелом и Ман-Витни У тестом за параметре који нису имали нормалну расподелу, а значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

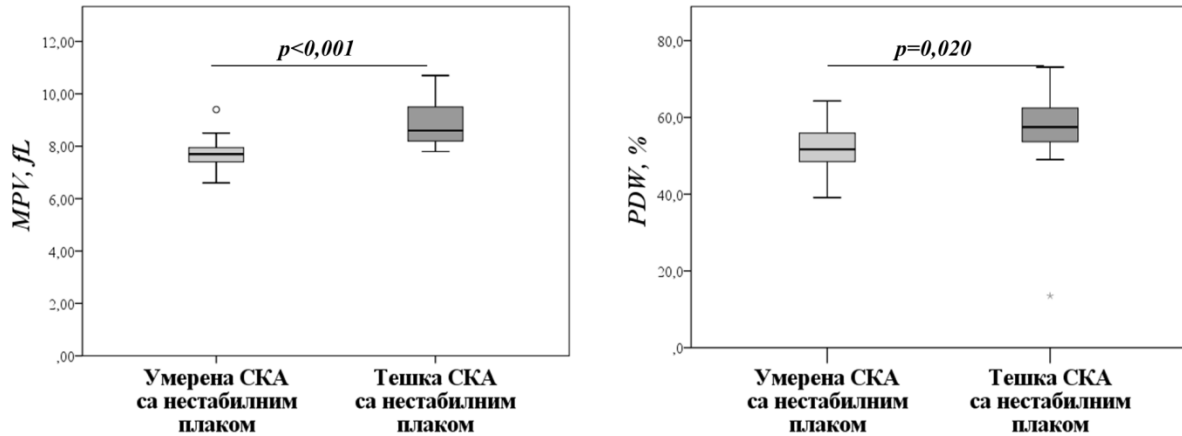
У групи асимптоматских пацијената, једина разлика између пацијената са умереном и тешком стенозом је била у средњем волумену тромбоцита, што је приказано на Слици 41, док у групи симптоматских пацијената ни један параметар није показао разлику у вредности код тешке у односу на умерену стенозу.



Слика 41. Графички приказ вредности средњег волумена тромбоцита (*MPV*) код пацијената са асимптоматском стенозом каротидне артерије (АСКА) у односу на тежину стенозе

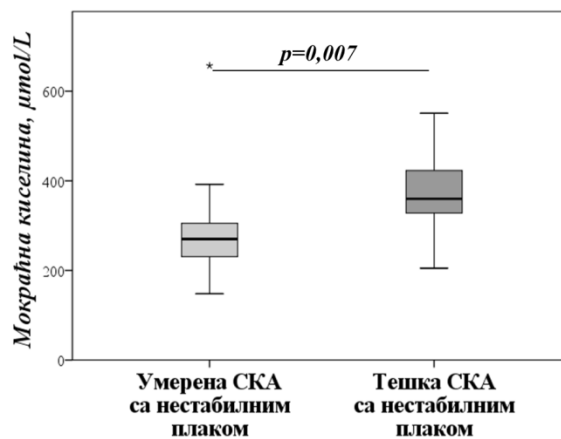
Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

Када је утицај тежине стенозе на вредности рутинских лабораторијских параметара испитан одвојено код пацијената са стабилним плаком, нису уочене значајне разлике ни за један параметар, док су неки тромбоцитни параметри и мокраћна киселина показали значајно више вредности код пацијената са нестабилним плаком и тешком стенозом у односу на пацијенте са нестабилним плаком и умереном стенозом. Ове разлике су приказане на Слици 42.



а)

б)



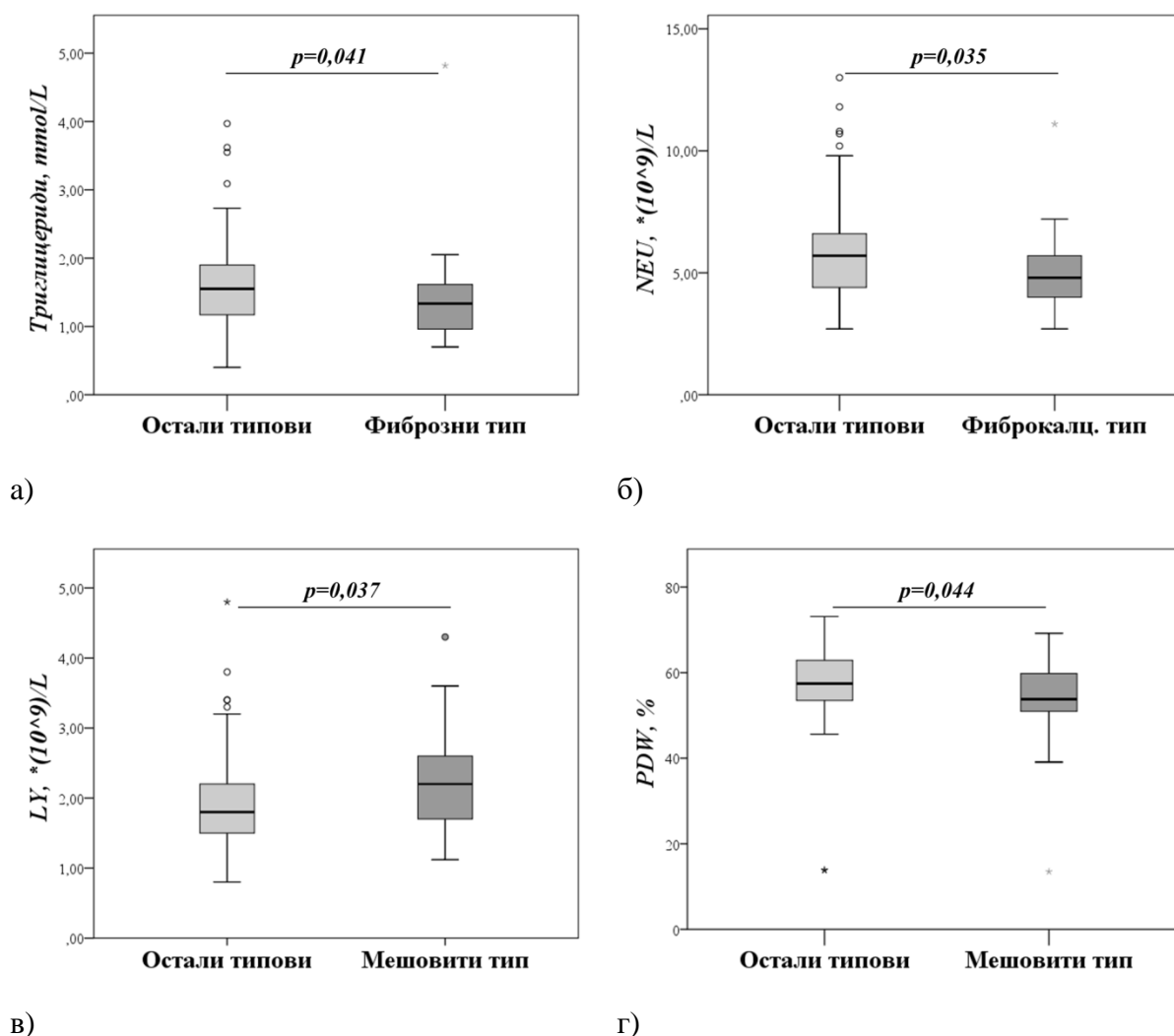
в)

Слика 42. Графички приказ вредности а) средњег волумена тромбоцита (MPV), б) ширине дистрибуције тромбоцита (PDW) и в) мокраћне киселине код пацијената са нестабилним каротидним плаком у односу на тежину стенозе каротидне артерије (СКА)

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

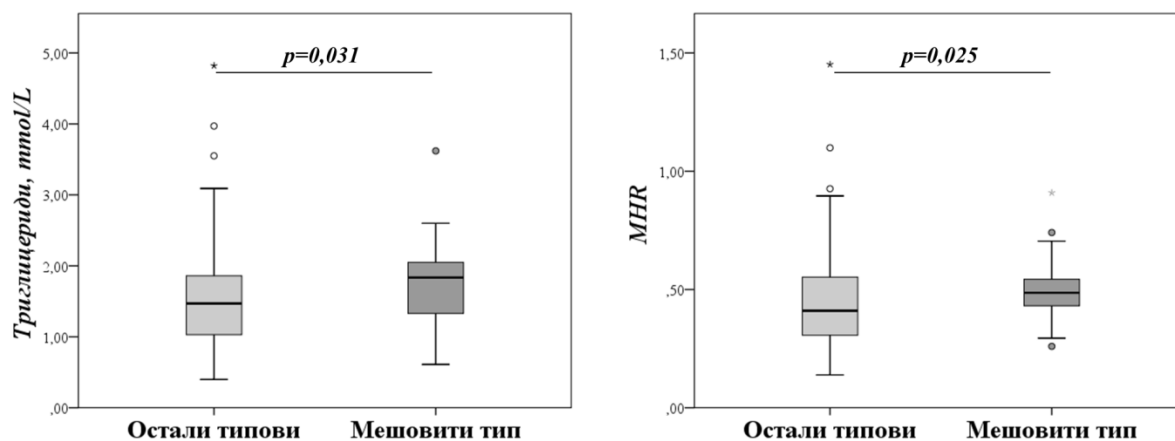
4.6.3.3. Испитивање повезаности рутинских лабораторијских параметара са стабилношћу каротидног плака код пацијената са СКА

На крају су вредности рутинских лабораторијских параметара анализирани и у односу на морфолошке карактеристике плака које одражавају његову стабилност. У оквиру ове анализе прво су упоређене вредности датих параметара код пацијената са одређеним типом плака у односу на пацијенте са свим осталим типовима каротидног плака, и тако за сваки тип посебно. Уочено је да су се другачији морфолошки типови плака разликовали углавном према вредностима различитих класа леукоцита, или леукоцитним индексима. Ови резултати су приказани на Слици 43.

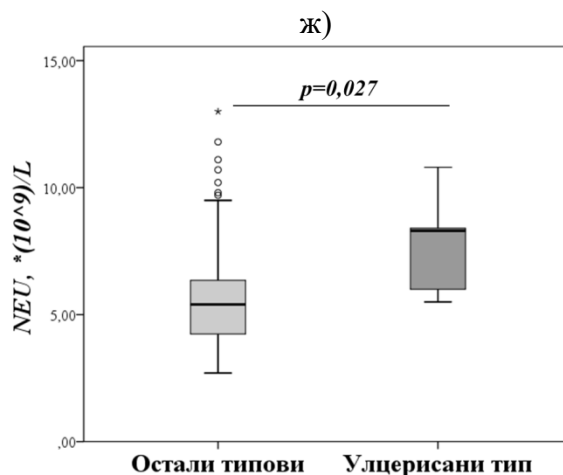


Слика 43. Графички приказ вредности а) триглицерида, б) неутрофила (*NEU*), в) лимфоцита (*LY*), г) ширине дистрибуције тромбоцита (*PDW*), д) триглицерида, ђ) односа моноцита и *HDL*-холестерола (*MHR*), е) неутрофила (*NEU*) у односу на морфолошки тип плака

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.



д)



ж)

е)

Слика 43. – наставак Графички приказ вредности а) триглицерида, б) неутрофила (*NEU*), в) лимфоцита (*LY*), г) ширине дистрибуције тромбоцита (*PDW*), д) триглицерида, ђ) односа моноцита и *HDL*-холестерола (*MHR*), е) неутрофила (*NEU*) у односу на морфолошки тип плака

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

Када су појединачни морфолошки типови плака сврстани у групе стабилних и нестабилних плакова, па су вредности испитиваних рутинских параметара поређене између ове две групе, добијене су значајне разлике за укупне леукоците, неутрофиле, *HDL*-холестерол и однос моноцита и *HDL*-холестерола, што је приказано у Табели 40.

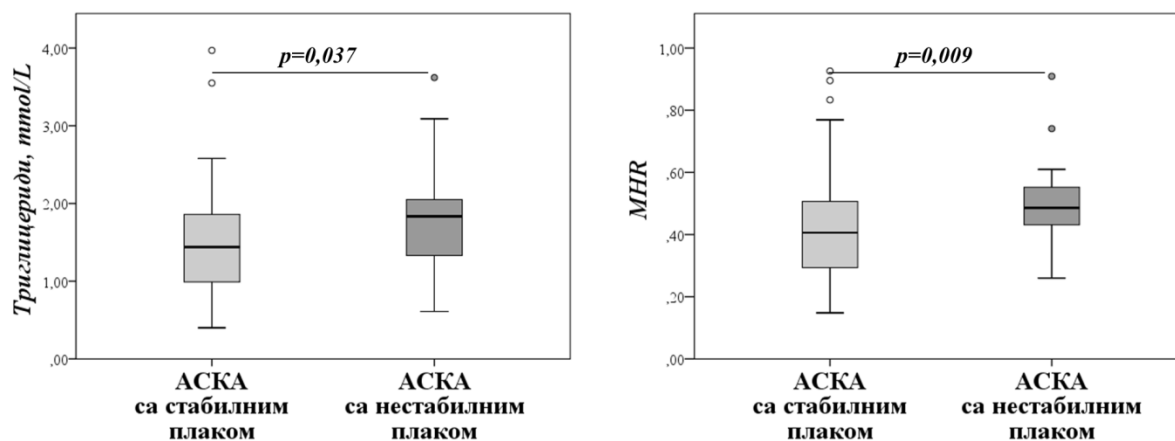
Табела 40. Вредности рутинских лабораторијских параметара у односу на стабилност плака

Параметри	Стабилан плак (n=75)	Нестабилни плак (n=39)	<i>p</i>
<i>WBC</i> , *10 ⁹ /L	7,8 (6,8–9,1)	9,0 (7,5–10,6)	0,025
<i>NEU</i> , *10 ⁹ /L	5,2 (4,1–6,0)	5,9 (4,7–6,9)	0,048
<i>LY</i> , *10 ⁹ /L	1,9 (1,5–2,2)	1,8 (1,3–2,4)	0,472
<i>MO</i> , *10 ⁹ /L	0,5 (0,4–0,6)	0,5 (0,4–0,6)	0,185
<i>EO</i> , *10 ⁹ /L	0,2 (0,1–0,3)	0,2 (0,1–0,3)	0,445
<i>BA</i> , *10 ⁹ /L	0,0 (0,0–0,1)	0,0 (0,0–0,1)	0,257
<i>RBC</i> , *10 ¹² /L	4,71 (4,35–5,14)	4,74 (4,12–5,15)	0,848
<i>HGB</i> , g/L	139 (129–149)	140 (125–154)	0,710
<i>HCT</i> , L/L	0,42 (0,39–0,45)	0,42 (0,38–0,46)	0,836
<i>MCV</i> , fL	90,3 (85,9–92,5)	89,8 (86,2–93,3)	0,576
<i>MCH</i> , pg	30,0 (28,1–31,3)	29,9 (28,8–31,0)	0,843
<i>MCHC</i> , g/L	334 (328–340)	333 (326–337)	0,409
<i>RDW</i> , %	13,4 (12,9–14,2)	13,6 (13,1–14,1)	0,845
<i>PLT</i> , *10 ⁹ /L	227 (185–274)	244 (199–305)	0,319
<i>MPV</i> , fL	8,4 (7,9–9,2)	8,6 (8,0–9,5)	0,821
<i>PCT</i> , %	0,20 (0,17–0,24)	0,21 (0,17–0,23)	0,489
<i>PDW</i> , %	57,2 (52,3–62,7)	57,3 (52,4–62,4)	0,347
Глукоза, mmol/L	6,1 (5,4–7,7)	6,2 (5,6–8,0)	0,614
Уреа, mmol/L	7,4 (6,2–9,3)	6,8 (5,6–9,3)	0,355
Креатинин, μmol/L	80 (69–110)	82 (70–104)	0,964
Мокраћна к, μmol/L	340 (274–416)	347 (305–422)	0,570
<i>УХ</i> , mmol/L	4,84±1,198	4,43±0,970	0,068
<i>LDL-x</i> , mmol/L	2,40 (1,87–3,42)	2,29 (1,92–3,08)	0,183
<i>HDL-x</i> , mmol/L	1,23 (1,05–1,58)	1,15 (0,96–1,32)	0,038
<i>TГ</i> , mmol/L	1,42 (1,00–1,86)	1,59 (1,25–2,12)	0,057
<i>Non-HDL-x</i> , mmol/L	3,13 (2,65–4,30)	2,97 (2,54–4,03)	0,575
<i>Non-HDL-x/HDL-x</i>	2,78 (1,95–3,39)	2,76 (2,22–3,57)	0,379
<i>LDL-x/ HDL-x</i>	2,01 (1,53–2,71)	1,96 (1,56–2,75)	0,950
<i>AIP</i>	0,06 (-0,08–0,23)	0,19 (0,04–0,29)	0,030
<i>NLR</i>	2,71 (1,94–3,68)	3,11 (2,42–4,67)	0,409
<i>MLR</i>	0,25 (0,21–0,33)	0,31 (0,23–0,39)	0,482
<i>PLR</i>	125 (95–167)	130 (92–206)	0,576
<i>MHR</i>	0,41 (0,30–0,51)	0,49 (0,39–0,58)	0,014
<i>RPR</i>	0,059 (0,048–0,072)	0,056 (0,043–0,068)	0,405

WBC: Број леукоцита, *NE*: Број неутрофила, *LY*: Број лимфоцита, *MO*: Број моноцита, *EO*: Број еозинофила, *BA*: Број базофила, *RBC*: Број еритроцита, *HGB*: Хемоглобин, *HCT*: Хематокрит, *MCV*: Средњи волумен еритроцита, *MCH*: Просечна количина хемоглобина у еритроциту, *MCHC*: Просечна концентрација хемоглобина на литар еритроцита, *RDW*: Ширина дистрибуције еритроцита, *PLT*: Број тромбоцита, *MPV*: Средњи волумен тромбоцита, *PCT*: Тромбокрит, *PDW*: Ширина дистрибуције тромбоцита, *УХ*: укупни холестерол, *LDL-x*: *LDL*-холестерол, *HDL-x*: *HDL*-холестерол, *TГ*: Триглицериди, *Non-HDL-x*: не-*HDL*-холестерол, *Non-HDL-x/HDL-x*: однос не-*HDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *LDL-x/ HDL-x*: однос *LDL*-холестерола и *HDL*-холестерола, *AIP*: атерогени индекс плазме, *NLR*: Однос неутрофили/лимфоцити, *MLR*: Однос моноцити/лимфоцити, *PLR*: Однос тромбоцити/лимфоцити, *MHR*: однос моноцити/*HDL*-холестерол, *RPR*: Однос *RDW*/тромбоцити.

Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација за параметре са нормалном расподелом, и као медијана (интерквартилни распон) за параметре чија расподела одступа од нормалне. Значајност разлике је испитивана студентовим т-тестом за параметре са нормалном расподелом и Ман-Витни У тестом за параметре који нису имали нормалну расподелу, а значајном разликом сматрана је *p* вредност мања од 0,05.

Додатно, када је одвојено посматрана група асимптоматских пацијената, статистичку значајност је достигла разлика у вредности триглицерида која није била значајна при поређењу укупних пацијената са стабилним и нестабилним плаковима, а значајност је задржала вредност индекса моноцита и *HDL*-холестерола, као што се види на Слици 44. Разлике у вредности укупних леукоцита и неутрофила које су биле значајне у поређењу укупне групе пацијената, нису задржале ту значајност и приликом испитивања унутар групе асимптоматских пацијената.



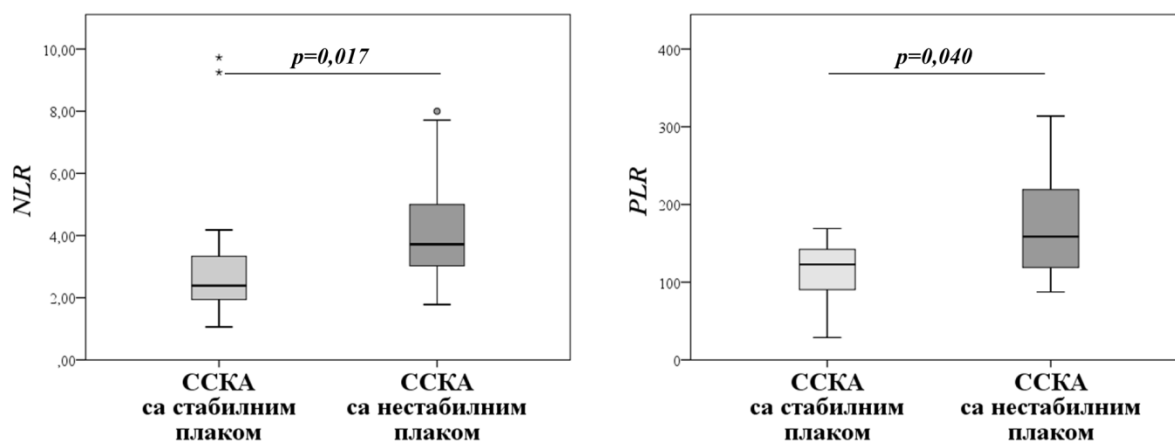
а)

б)

Слика 44. Графички приказ вредности а) триглицерида, б) односа моноцита и *HDL*-холестерола (*MHR*) код асимптоматских пацијената у односу на стабилност плака код пацијената са асимптоматском стенозом каротидне артерије (АСКА)

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

Приликом истог испитивања у групи симптоматских СКА пацијената, добијене су значајне разлике у појединим леукоцитним индексима, које претходно у групи укупних пацијената нису уочене. Оне су приказане на Слици 45.



а)

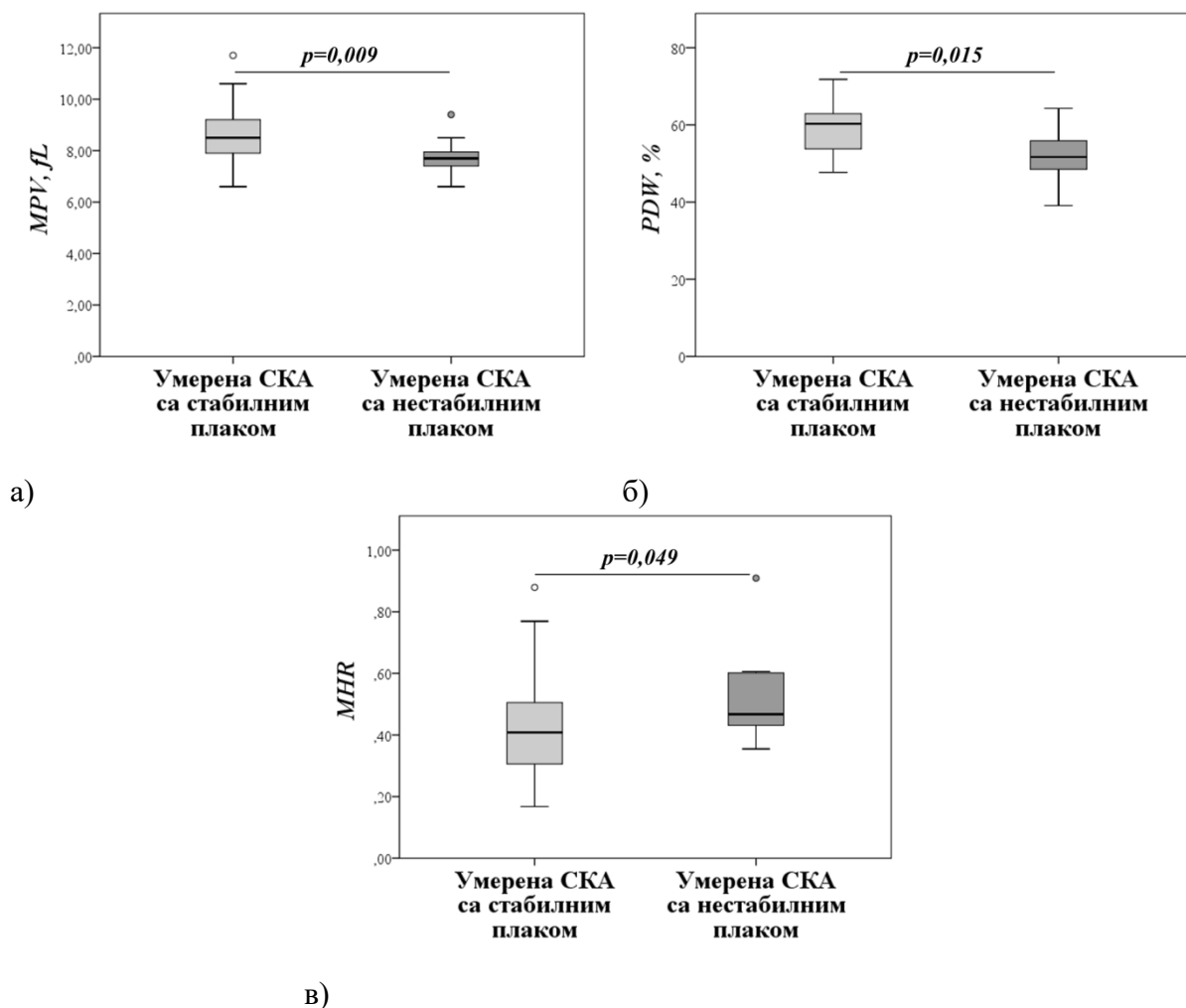
б)

Слика 45. Графички приказ вредности а) односа неутрофила и лимфоцита (*NLR*), б) односа тромбоцита и лимфоцита (*PLR*) у односу на стабилност плака код пацијената са симптоматском стенозом каротидних артерија (ССКА)

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

Даље су пацијенти стратификовани у две групе према тежини стенозе, па су разлике у рутинским лабораторијским параметрима између пацијената са стабилним и нестабилним плаком добијене у обе групе одвојено.

У групи пацијената са умереном стенозом, остала је значајна разлика у вредности индекса моноцита и *HDL*-холестерола која је била значајна и када су се поредили укупни пацијенти са стабилним и нестабилним плаком, а додатно су статистичку значајност показали и одеђени тромбоцитни параметри који дотле нису били значајни. Ови резултати су приказани на Слици 46.



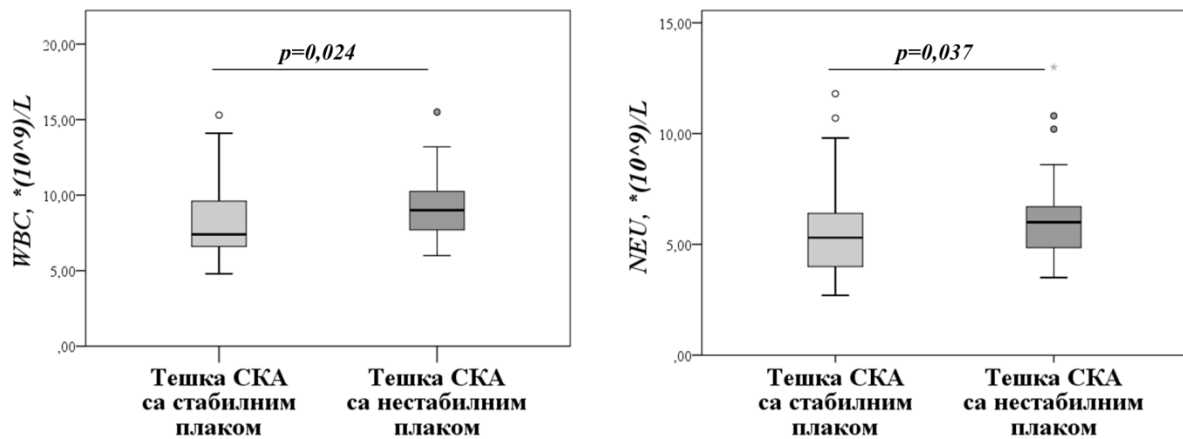
Слика 46. Графички приказ вредности а) средњег волумена тромбоцита (*MPV*), б) ширине дистрибуције тромбоцита (*PDW*), в) односа моноцита и *HDL*-холестерола (*MHR*) код пацијената са умереном стенозом каротидне артерије (*СКА*) у односу на стабилност плака

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

У униваријантној логистичкој регресионој анализи за предвиђање нестабилности плака код пацијената са умереном стенозом, *MPV* и *PDW* су били значајни предиктори чије су више вредности биле у вези са присуством стабилног, а ниже са присуством нестабилног плака (за *MPV* – *OR*: 0,29; 95%*CI*: 0,09–0,91; *p*=0,035; за *PDW* – *OR*: 0,85; 95%*CI*: 0,74–0,97; *p*=0,017). Вредности *MHR* индекса нису биле значајне.

Када су у мултиваријантни логистички модел за предвиђање присуства нестабилног плака код умерене стенозе, модел 3В описан у Табели 31., укључени *MPV* или *PDW*, карактеристике овог модела нису биле унапређене, а модел је показао знаке „*overfitting*-а“ због великог броја укључених варијабли, због чега ови параметри нису укључени у коначни облик тог модела.

Коначно, када је испитана вредност рутинских лабораторијских параметара у односу на стабилност каротидног плака одвојено у групи са тешком стенозом, добијена је статистички значајна разлика у вредностима укупних леукоцита и неутрофила, која је била пристуна и приликом поређења укупних пацијената са стабилним и нестабилним плаком. Приказ ових разлика дат је на Слици 47.



а)

б)

Слика 47. Графички приказ вредности а) укупног броја леукоцита (*WBC*), б) неутрофила (*NEU*) код пацијената са тешком стенозом каротидне артерије (СКА) у односу на стабилност плака

Резултати су добијени употребом Ман-Витни У теста, а значајном разликом сматрана је вредност $p < 0,05$.

5. Дискусија

Задатак овог истраживања био је да се прелиминарно утврди колики је потенцијал одабраних серумских биомаркера у СКА, да ли они показују повезаност са карактеристикама пацијената које су у вези са ризиком од можданог удара, као и то да ли је могуће издвојити групе пацијената код којих неки од ових биомаркера могу да имају јачу везу са ризиком од можданог удара. Зато је у овој студији примарно испитивана асоцијација датих серумских параметара са присуством недавних симптома код пацијената, као и са ултразвучним особинама плака које могу једноставно рутински да се одређују, а показују везу са ризиком – попут тежине стенозе и морфолошке грађе каротидног плака.

Тренутни менаџмент СКА, осим у самој превенцији болести, најзначајније унапређење захтева у аспекту правилног избора терапијског приступа који се заснива на предвиђању ризика за појединачне пацијенте (338).

Са савременим напретком фармаколошке терапије СКА остварен је значајан помак у превенцији можданог удара, а такође су и ефикасност и безбедност хируршких видова превенције на задовољавајућем нивоу захваљујући континуираном унапређивању током последњих деценија. Ипак, успешност ових терапијских приступа је висока само за одабране групе пацијената. Код пацијената са СКА који имају висок ризик од можданог удара, фармаколошка терапија најчешће није довољна када се примењује самостално, а са друге стране, није могуће ни неселективно упућивати све пацијенте на хируршке интервенције због безбедносног ризика и изостанка бенефита који оне имају за одређене групе. Из овога следи да је кључни корак у смањењу укупне стопе можданог удара узрокованог СКА управо правилна процена висине ризика на основу које би се доносио избор терапије за датог пацијента (116).

Остварење адекватног приступа који би се заснивао на индивидуално предвиђеном ризику је веома сложен проблем зато што због саме природе тока атеросклеротског процеса не постоје прецизно дефинисане, лако препознатљиве и сигурне назнаке да ли ће и када каротидни плак довести до можданог удара (17,89).

Досадашња знања указују на то да је ризик од развоја можданог удара и других симптома СКА виши са прогресијом степена локалне стенозе и са присуством карактеристика које указују на нестабилност плака, зато што та два фактора говоре о већој могућности од његове руптуре. Иако ово несумњиво важи у основи, реална ситуација подразумева утицај много већег броја фактора и далеко је комплекснија (17, 110). Значајно прогредирани плак који изазива тежак степен стенозе може да буде већински фиброзан и калцификован и тиме стабилизован, а такође и плак нестабилне морфологије на ултразвучном испитивању може временом да се калцификује и стабилизује (105). Даље, и када је присутни каротидни плак стабилан, мождани удар може да се јави услед дисталне емболизације другог плака, на пример коронарног. Коначно, и наизглед стабилан плак који нема очигледне предиспозиције за скору руптуру, без обзира на то да ли изазива само умерену или тешку стенозу може да подлегне ерозији која је довољна за формирање тромба и настанак симптома (2,89).

У свим наведеним ситуацијама, један од пресудних фактора који утичу на степен калцификације и наглу дестабилизацију плака руптуром или ерозијом у каротидном или било ком другом васкуларном региону јесте системска инфламација (17).

Упркос постојању свих ових знања која су резултат и даље актуелних истраживања, она нису интегрисана у тренутну клиничку праксу која је веома застарела. Не узимајући у обзир ни новији напредак ултразвучних техника, тренутна пракса се у разматрању хируршке терапије за појединачне пацијенте ослања превасходно на тежину стенозе, присуство скорашњих симптома и основне анатомске факторе (11).

Насупрот овоме, пажња савремених истраживања окренута је ка концепту вулнерабилног плака и идентификовању ултразвучних параметара који могу да га окарактеришу, указујући на то да грађа плака има већи значај за предвиђање симптома од тежине стенозе (339). Тако су и у најновијем водичу Европског удружења за васкуларну хирургију дефинисане ултразвучне карактеристике које индикују висок ризик од можданог удара за пацијенте који примењују само фармаколошку терапију. Оне укључују тихи инфаркт видљив приликом СТ или МРА испитивања, интензивну прогресију степена стенозе, велику површину захваћености плаком, ехолуценцију плака, хеморагију унутар плака, смањену цереброваскуларну резерву и спонтану микроемболизацију приликом транскранијалног доплер испитивања у трајању од сат времена. Ипак, у рутинској пракси се ретко доносе одлуке засноване на овим параметрима из разлога што нису утврђени конкретни протоколи за њихово укључивање на начин који је довољно практично примењив (11).

Исти водич такође и у последњем издању из 2023. године потврђује потенцијални значај серумских биомаркера за процену ризика од можданог удара, али изнова оставља отвореним питање из претходног издања о томе који би серумски параметри и на који начин могли да се укључе у стратификацију ризика за пацијенте (11).

Иако не постоји велики број опсежних проспективних студија дизајнираних посебно са циљем добијања јаких доказа о корисности од употребе појединих серумских биомаркера у стратификацији ризика код пацијената са СКА, њихова потенцијална улога у овој болести је веома јасно имплицирана. Описани концепт вулнерабилног плака се новијим истраживањима проширује у концепт „вулнерабилног пацијента“ који осим локалних фактора везаних за сам каротидни плак, узима у обзир и системске факторе који утичу на нестабилност плака и ризик од његове руптуре или ерозије. Као један од најзначајнијих оваквих фактора препозната је управо системска инфламација која доприноси дестабилизацији плакова широм васкулатуре, али која такође као производ атеросклеротске активности представља њен одраз на системском нивоу. Из тог угла, серумски биомаркери који рефлектују ниво системске инфламације, иако јесу неспецифични, у комбинацији са ултразвучним налазима плака који рефлектују локални аспект СКА, могу заједно да дају свеобухватнији увид у постојећи ризик за појединачног пацијента (340).

Захваљујући сложености процеса инфламације и атеросклерозе, број потенцијалних биомаркера је веома велики. Зато је пре кретања на пут њиховог укључивања у клиничку праксу који захтева веома опсежна, дуготрајна и скупа проспективна истраживања, неопходно спровести прелиминарне студије које могу да помогну у почетном усмеравању.

У ту сврху били су постављени и циљеви овог истраживања. У складу са њима је било потребно прво утврдити генерално кретање вредности испитиваних параметара код пацијената са СКА у односу на оне у другим КВБ и код здравих особа, а посебно у зависности од индивидуалних фактора који могу на њих да утичу, попут демографских и фактора ризика. Затим је било потребно утврдити у каквом су односу ови параметри

са симптоматским статусом, тежином стенозе и морфологијом плака, и то узимајући у обзир и интеракцију ова три важна клиничка аспекта. То је даље омогућило да се примете подгрупе пацијената у којима неки од испитиваних параметара могу бити посебно корисни. Након тога је било потребно анализирати какав предиктивни потенцијал испитивани параметри могу да имају у датим подгрупама пацијената, а то је било индиректно процењивано испитивањем њихове дијагностичке тачности за детекцију присуства датих стања и њихове способности да у комбинацији са другим доступним параметрима предвиде присуство датих стања од значаја.

5.1. Анализа концентрације испитиваних параметара инфламације, хелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса и њихових корелација у различитим групама испитаника

Посматрањем вредности испитиваних параметара код пацијената са СКА могло се уочити да ни један параметар није пратио нормалну расподелу, и да је већина њих показивала асиметрију на десну страну, са мањим бројем података који су имали веома високе вредности (Слика 2.). С обзиром на клиничку хетерогеност кардиоваскуларних пацијената и ограничену величину узорка, ово је било очекивано, а такође је и претходно показано да параметри укључени у каскадне и амплификационе процесе попут инфламације показују расподеле овог облика (341).

Вредности параметара код пацијената са СКА посматране су у односу на ширу групу сродних кардиоваскуларних пацијената као и у односу на здраве испитанике како би се уочиле њихове евентуално присутне специфичности у овој болести. При томе око половина параметара није показала значајне разлике међу овим групама, док су разлике које јесу биле примећене, већински уочаване између пацијената са СКА и здравих испитаника, а не између две сродне групе пацијената. Додатно је било приметно значајно веће расипање вредности параметара у обе групе пацијената у односу на контролну групу, што је одраз утицаја болести и терапије који доводи до тога да је код пацијената присутан већи број веома високих и веома ниских вредности параметара, али уједно овакво расипање података и отежава добијање значајних разлика при поређењу ових популација.

Концентрација фибриногена била је значајно виша у обе групе пацијената у односу на контролну групу, мада су вредности у све три групе већински биле унутар референтног опсега за овај параметар што одговара чињеници да је присутна инфламација у кардиоваскуларним болестима ниског степена (342). Очекивано, фибриноген је показао позитивну корелацију са другим инфламаторним параметрима: *CRP*, *SAA*, *IL-1 β* , *IL-6* и *suPAR*, али само у групама пацијената, а не и у контролној групи. С обзиром на различите физиолошке улоге које ови молекули имају у одсуству инфламације, разумљиво је да се веза између њихових нивоа успоставља тек у стањима инфламаторног одговора. Изузетак је била корелација фибриногена и *LOX-1* која је показана само у контролној групи. Иако нема студија које директно повезују ова два параметра у здравој популацији, постоје докази да фибриноген индукује синтезу *IL-8* (343), а његова активност повећава ослобађање солубилне форме *LOX-1* (216). Добијена корелација указује на то да овај механизам може да функционише и у

одсуству инфламаторних патолошких стања, а измешани утицај других параметара који расту у инфламацији могуће доводи до губитка ове корелације.

Испитивани протеини акутне фазе нису били статистички значајно различити код пацијената са СКА у односу на друге групе испитаника, мада њихове вредности јесу биле нешто више код пацијената него код контрола. Овакви резултати су у складу са једним бројем истраживања (158,165) и у супротности са другим (154, 344–346).

Иако би се могло очекивати да ће ови сродни молекули међусобно позитивно корелирати, заправо је само *SAA* показао корелацију са оба остала испитивана протеина акутне фазе, и то позитивну са *CRP*-ом у свим групама испитаника, а негативну корелацију са *PTX-3* код пацијената са СКА. Изостанак корелације *PTX-3* са *CRP*-ом и фибриногеном, као и његова негативна корелација са *SAA* код пацијената са СКА могу да буду објашњени тиме што од ова четири параметра једино *PTX-3* није директно индукован од стране *IL-6*, већ има другачији механизам регулације (162).

PTX-3 је очекивано корелирао са *TNF- α* , цитокином који има способност да индукује његову синтезу, али је интересантно то што је корелирао и са *IL-6* у свим групама испитаника, осим код пацијената са СКА. Овај налаз упућује да *PTX-3* у овој болести има карактеристични образац понашања који се разликује од уобичајеног, а вероватно је последица присуства додатних фактора који утичу на његову регулацију. На ово указује и то што се само код пацијената са СКА губила и корелација *PTX-3* са *Lp-PLA2*.

У групама пацијената, *PTX-3* је показао корелацију са свим испитиваним адхезивним молекулима, али је само у случају *sel-P* она била негативна. Како су резултати ове студије показали да је *sel-E* био виши код блажег степена стенозе, а *sel-P* код тешке стенозе (Табела 15.), ово се слаже са претходним налазима који су претпоставили могућност да *PTX-3* има различите улоге у раној и напредовалој фази атеросклерозе (162),

У складу са чињеницом да *PTX-3* стимулише синтезу матриксних металопроотеиназа (164), показана је његова позитивна корелација са *MMP-2* и *MMP-9*, али је изненађујуће била присутна и негативна корелација са *MMP-7*. Даљом анализом података је било показано да је само *MMP-7* од ове три матриксне металопроотеиназе имао виши ниво у присуству болести (Табела 4.), што наговештава могућност протективног дејства *PTX-3* у атеросклерози, као што је више пута претпостављено у претходним истраживањима (163, 166, 344).

За разлику од *PTX-3*, *SAA* је показао позитивну корелацију са фибриногеном, *CRP*-ом и *IL-6*, што је очекивано у складу са његовом улогом као протеина акутне фазе, и потврђено је у претходним истраживањима (346). Такође је код СКА пацијената *SAA* корелирао позитивно са *sel-P* и *MMP-7*, а ово је у слагању са налазима да он доприноси повећању експресије адхезивних молекула и матриксних металопроотеиназа (171).

Показано је и одсуство корелације *SAA* са *MPO* само код пацијената са СКА што је у супротности са резултатима једне претходне студије у којој су ови параметри показали слабу корелацију (348). У тој студији испитаници су били пацијенти са СКА било ког степена између 1% и 99%, док су у овом истраживању испитаници са степеном стенозе <50% били разврстани у контролну или КВБ групу, у зависности од присуства коморбидитета, а у овим групама и јесте била присутна корелација *SAA* и *MPO*. Када се ово узме у обзир, могуће је претпоставити да добијена слаба корелација у наведеној

студији потиче од испитаника са најмањом тежином стенозе, па да резултати ове две студије заправо јесу у сагласности.

Даље, познато је да *SAA* може да повећа експресију *LOX-1* (349), због чега је очекивано да њихове вредности расту у истом смеру. Међутим, у овој студији је добијена негативна корелација ових параметара. Могуће је да она не потиче од међусобног односа ова два параметра, већ од њихове супротне асоцијације са прогресијом стенозе. У овој студији ниво *LOX-1* је код пацијената са СКА растао са степеном стенозе, док је *SAA* већи значај показао у умереној стенози, и мада та разлика није достигла статистичку значајност, био је конзистентно нижи код пацијената са тешком стенозом при свакој подели на хомогеније подгрупе (Табеле 13–15.).

За *CRP* није била примећена ни једна корелација која се јављала специфично у СКА групи, или се само у овој групи губила, што је у складу са остатком резултата који не указују на посебну везу *CRP*-а са различитим аспектима ове болести.

Од испитиваних цитокина, само *IL-1 β* није показао разлику између пацијената и здравих контрола, док је *IL-6* био значајно виши, а *TNF- α* значајно нижи у обе групе пацијената у односу на контроле. Ово је могуће објаснити различитом регулацијом ових молекула у хроничној инфламацији и њиховом различитом осетљивошћу на терапију статинима и антихипертензивима.

IL-6 има улогу у преласку из акутне у хроничну инфламацију, када остаје умерено повишен, док је пораст *IL-1 β* и *TNF- α* у хроничној инфламацији мање изражен, или може да изостаје ако није присутна значајна деструкција ткива (350). Разлог за ово је што се *IL-1 β* и *TNF- α* индукују деловањем локалних стимулуса на месту инфекције или инфламације и имају краће трајање активности, док њихов ниво брже постиже хомеостазу (351). Са друге стране, *IL-6* се продукује централно као део системске инфламације и индукује се дејством широког спектра сигнала, а не само *IL-1 β* и *TNF- α* , па је његов ниво стабилније повишен у дуготрајној нискостепеној инфламацији, тако да је и претходно потврђиван његов значај у болестима у којима се она јавља (350).

Додатно, статини као лекови који имају плеиотропно антиинфламаторно дејство, а који су широко заступљени међу СКА пацијентима, доприносе снижавању нивоа *TNF- α* у значајној мери, док не утичу на *IL-6*, како је показано и у мета-анализи (352). Статини директно инхибирају експресију *TNF- α* у ендотелу и макрофагама, а антихипертензиви који инхибирају ангиотензин II на овај начин индиректно смањују и индукцију *TNF- α* од стране овог хормона (353, 354). Добијене резултате подржава и мета-анализа у којој су у старијој популацији поређени они са уобичајеним коморбидитетима старости и здрави. У овој студији је такође добијен виши ниво *IL-6* код пацијената, а виши ниво *TNF- α* код здравих (355).

Када су у питању међусобне корелације испитиваних цитокина, добијени су очекивани резултати. Позитивна корелација између *TNF- α* и *IL-1 β* била је присутна у свим групама испитаника, што је у складу са чињеницом да ови молекули имају већину заједничких сигнала који их индукују (356), као и могућност узајамне индукције (351, 357). Иако оба ова молекула у акутној инфламацији индукују експресију *IL-6* (152), корелација између *IL-6* и *IL-1 β* је изостала, док је корелација *IL-6* са *TNF- α* била негативна и присутна само код СКА пацијената. Овакви резултати могу да буду последица регулаторних ефеката *IL-6* којима се ограничава даља инфламација преко негативне повратне спреге инхибицијом *TNF- α* и *IL-1 β* (351, 152).

У инфламаторној каскади, наведени цитокини се налазе као узводни сигнал за експресију већине осталих испитиваних параметара укључујући протеине акутне фазе, адхезивне молекуле, матриксне металопротеиназе и др. (173). У слагању са тиме, добијене су позитивне корелације цитокина са већином осталих параметара, и оне нису биле карактеристичне посебно за пацијенте са СКА. Једини изузетак од овога је био *TNF- α* који је показао негативну корелацију са више параметара укључујући *SAA*, *MPO*, *sel-P* и *MMP-7*. Наведене корелације су биле присутне у групама пацијената, што указује на то да је њихов потенцијални разлог могао да буде осетљивост нивоа *TNF- α* на лекове који су заступљени код кардиоваскуларних пацијената (352). Овоме у прилог говори и супротни смер корелације *TNF- α* и *MMP-7* код пацијената и контрола. У контролној групи где је заступљеност терапије ниска, ови параметри су корелирали позитивно, у складу са тиме што *TNF- α* може да индукује експресију матриксних металопротеиназа (142), док је у групи пацијената са високом заступљеношћу терапије она била негативна.

Добијени резултати вредности *MPO* нису указали на карактеристичну везу овог параметра са присуством СКА. У слагању са претходним истраживањима, није било разлике између група пацијената и контрола у вредностима овог параметра (211, 358). У складу са налазима из литературе, и у овој студији су добијене очекивано позитивне корелације са већином осталих параметара (203).

Ниво *Lp-PLA2* је био нешто нижи код пацијената у односу на здраве испитанике, али ова разлика није достигла статистичку значајност. Слични резултати добијени су и у претходним студијама (158, 359), мада је било и оних које су показале да је ниво овог ензима виши код пацијената са каротидним плаком у односу на контроле (360).

Иако је *Lp-PLA2* у складу са својом улогом у инфламацији показао позитивну корелацију са осталим инфламаторним параметрима, адхезивним молекулима и матриксним металопротеиназама, како је и очекивано (202), значајно је било приметити да већина ових корелација није важила у СКА групи. Код ових пацијената *Lp-PLA2* је корелирао једино са *MMP-2* и *MMP-9*, што је у складу са чињеницом да производи активности овог ензима доводе до усходне регулације матриксних металопротеиназа (193).

Изостанак многих очекиваних корелација *Lp-PLA2*, без значајне разлике међу групама испитаника у овом параметру, може да укаже на то да у СКА постоје измене на нивоу активности *Lp-PLA2*, без промена у њеној концентрацији, што је делимично објашњиво оваквим утицајем терапије за снижавање холестерола, али је вероватно узроковано и деловањем додатних фактора присутних у датој болести (192, 361).

Разлика између група испитаника није била присутна ни у вредностима *LOX-1*. До сада не постоји велики број истраживања овог параметра која укључују и асимптоматске и симптоматске пацијенте са СКА, и само је једна мања студија је показала његов виши ниво код СКА у односу на здраве контроле (226).

Даље, добијене су позитивне корелације између *LOX-1* и већине осталих параметара, што је у складу са тиме да је његова експресија индукована од стране испитиваних цитокина, као и да *LOX-1* учествује у инфламацији, док такође повећава и експресију адхезивних молекула и матриксних металопротеиназа (217). Једини изузетак су били *sel-E* и *sel-P* који су показали негативну корелацију са *LOX-1* у групама пацијената. Ово је необичан налаз, с обзиром да је до сада утврђено како експресије ових молекула расту под утицајем истих сигнала, укључујући оксидовани *LDL* и инфламаторне

цитокине (362). Са друге стране, у овом истраживању су одређивани солубилни облици датих молекула, а тачни механизми њиховог ослобађања су недовољно познати, тако да се може претпоставити да до ове негативне корелације долази услед некакве интеракције на том нивоу, присутне у кардиоваскуларним болестима.

Додатно, само код пацијената са СКА је показана позитивна корелација између *LOX-1* и *suPAR* која није претходно описана у литератури, али може да буде објашњена чињеницом да оксидовани *LDL* и реактивне врсте кисеоника усходно регулишу оба ова молекула (362, 363).

Ниво *suPAR* јесте био виши у обе групе пацијената у односу на контроле, и његова расподела је показала да су се вредности овог параметра у свим групама пацијената кретале у уском опсегу при чему је јако мали број податка прелазило вредност од 3 *ng/mL* која је претходно предложена као *cut-off* вредност у кардиолошким студијама (242). Ово је у складу са схватањем *suPAR* као параметра хроничне нискостепене инфламације ендотела чије вредности не показују изразит, већ стабилан пораст, а слични резултати су показани и раније (237).

Овај параметар је корелирао са само неколико осталих испитиваних параметара, при чему је значајно приметити како су све корелације у групама пацијената биле позитивне, док су у контролној групи све биле негативне. Разлог изостанка многих корелација, као и разлог негативности појединих корелација може бити у томе што једино *suPAR* не показује пораст у присуству акутне инфламације и оштећења ткива и није подложен утицају многих фактора који доводе до варијација у вредности осталих инфламаторних параметара (141, 239, 242). У складу са тим, код пацијената је *suPAR* корелирао само са три параметра, и то управо са оним који су каснијом анализом показали везу са стабилношћу плака и тежином стенозе – *MPO*, *LOX-1* и *MMP-7*. Ово допушта претпоставку да корелација између датих параметара не потиче из њихове механистичке повезаности, већ из њихове сличне везе са важним аспектима СКА и већ на основу овога наговештен је потенцијални значај *suPAR* у овој болести.

За адхезивне молекуле су добијени различити резултати поређења група испитаника и корелација са осталим параметрима. Код СКА пацијената су *VCAM-1* и *sel-P* били виши у односу на контроле, али ова разлика није достигла статистичку значајност за *VCAM-1*, што је у слагању са претходним студијама (260, 261). Са друге стране, док је *sel-P* био значајно виши, *sel-E* је код пацијената био значајно нижи него код здравих испитаника. Ова два параметра су такође међусобно негативно корелирали, док ни један од њих није показао корелацију са *VCAM-1*.

Овакво различито кретање вредности два селектина објашњава се њиховом другачијом регулацијом, како је познато да *TNF- α* индукује синтезу *sel-E* док смањује експресију *sel-P* (255), што је подржано и налазима позитивне корелације између *TNF- α* и *sel-E* уз негативну корелацију *TNF- α* и *sel-P* у овој студији. Више вредности *sel-P* код пацијената са СКА су и претходно забележене, а додатни разлог за то је и чињеница да се за разлику од *sel-E*, он не ослобађа у циркулацију само из ендотелних ћелија и леукоцита, већ су његов значајан извор и активирани тромбоцити који се накупљају на стенозним лезијама и доприносе расту плака (364).

VCAM-1 је показао очекиване позитивне корелације са око половином инфламаторних параметара, али већина њих није важила у СКА групи, што заједно са непостојањем разлике измеђ ових пацијената и контрола, указује на то да не постоји посебна повезаност вредности овог параметра са СКА.

Испитивањем вредности матриксних металопротеиназа код различитих група испитаника, показано је да је само *MMP-7* био виши код пацијената у односу контроле, док за *MMP-2* и *MMP-9* није добијена разлика. *MMP-7* није показао корелацију са остале две матриксне металопротеиназе које јесу позитивно корелирале међусобно, и то у групама пацијената. Ова корелација између две желатиназе које имају сличну регулацију и супстратну специфичност јесте очекивана, као и изостанак корелације са *MMP-7* који припада матрилизинима и има другачију регулацију (365). Изненађење је да је разлика између група показана само за ону матриксну металопротеиназу која је најмање истраживана у СКА и за коју не постоје овакви резултати, мада јесте било претходних налаза који су показивали да нема разлике у вредностима *MMP-2* и *MMP-9* између пацијената и здравих испитаника (287, 366).

Посматрањем корелација са осталим параметрима, било је уочљиво да су *MMP-2* и *MMP-9* који су у значајној мери индуковани од стране *TNF- α* и који су у складу са тим позитивно корелирали са овим параметром, показали уједно и позитивну корелацију са другим параметрима који зависе од *MMP-2* и *MMP-9* као што су *PTX-3* и *sel-E*, али и са параметрима са којима је и *TNF- α* корелирао. Добијене корелације *MMP-7* са осталим параметрима су објашњене на претходних пет страница углавном кроз могућност међусобне индукције или кроз заједнички утицај клиничких фактора на њихове нивое.

5.2. Испитивање демографских карактеристика и фактора ризика, присуства коморбидитета и заступљености употребе терапије код испитаника, као и повезаности ових фактора са одређиваним параметрима инфламације, хелијске адхезије и деградације екстрахелијског матрикса

Групе испитаника су већински биле уједначене према полу и старости и ови фактори углавном нису показали везу са вредностима већине испитиваних серумских параметара. Од испитиваних фактора ризика који су укључивали гојазност, дислипидемију, хипертензију, пушење, конзумацију алкохола, дијабетес мелитус и хроничне болести бубрега, код пацијената са СКА у односу на контроле били су заступљенији једино хипертензија, конзумација алкохола, дијабетес мелитус и хроничне болести бубрега. У односу на пацијенте са осталим кардиоваскуларним обољењима, једино је дијабетес мелитус био заступљенији код пацијената са СКА, док су по осталим факторима ризика ове групе биле уједначене. Интересантно је приметити и да није било разлике у заступљености фактора ризика између асимптоматских и симптоматских пацијената са СКА. Осим неколико изузетака, већина параметара није показала везу са присуством фактора ризика код пацијената са СКА.

Када су у питању кардиоваскуларни коморбидитети, уочена је њихова велика заступљеност код пацијената са СКА, али није показано да је њихово присуство било у вези са значајним разликама у вредности испитиваних параметара. Ова анализа коморбидитета је најзначајније служила томе да покаже у колико великој мери је хетерогена испитивана популација пацијената, што је било важно узети у обзир у даљем тумачењу резултата студије.

Употреба фармаколошке терапије је била велика међу пацијентима и значајно мања међу здравим испитаницима, као што је очекивано. Ипак, разлике у вредности испитиваних параметара у односу на заступљеност појединих група лекова су биле малобројне, тако да се може претпоставити да у овој студији употреба терапије вероватно није значајно утицала на резултате.

5.2.1. Испитивање демографских карактеристика и фактора ризика код испитаника, као и њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса

Старост испитаника у свим групама је имала вредности медијане 66–69 година, са већим процентом мушкараца који се кретао од 57% у контролној групи до 84% у групи пацијената са другим КВБ. Статистичком анализом је показано да су групе биле уједначене према годинама, док је према полу група пацијената са СКА била уједначена са контролном, а група пацијената са другим КВБ је имала значајно више мушкараца у односу на остале две групе (Табела 5.).

Насупрот налазима бројних претходних студија о утицају пола на нивое многих параметара испитиваних у овој студији (164, 170, 192, 203, 239, 308, 367), за већину њих резултати статистичке анализе нису показали значајну разлику у вредности између мушкараца и жена у оквиру пацијената са СКА. На основу овога може се претпоставити да неуједначеност појединих група према полу не би требало да је значајно утицала на резултате њиховог поређења. Једини изузетак од овога био је *sel-E* који је имао благо више вредности код жена него код мушкараца (Слика 5.). До сада је у здравој популацији показано да се вредности *sel-E* не разликују према полу (368, 369), али постоји једна студија која је закључила да код мушкараца *TNF- α* значајно више утиче на индукцију *sel-E*, док је код жена ова зависност од *TNF- α* значајно мања (370). С обзиром да је код пацијената са СКА у овој студији *TNF- α* био снижен у односу на контроле, могуће је претпоставити да је то могло делимично да утиче и на снижавање *sel-E* код мушкараца у нешто већој мери него код жена, што би објаснило зашто су у СКА групи жене имале нешто више вредности овог параметра.

Иако је за многе испитиване параметре претходно показана корелација са годинама старости (164, 203, 228, 308, 367, 371), у овој студији она је била значајна само за *VCAM-1* (Слика 6.). Овај резултат је у сагласности са претходним налазима о повећању ендотелне експресије *VCAM-1* са старењем независно од других кардиоваскуларних фактора ризика, што је уједно и један од механизма којима старост повећава ризик за развој атеросклерозе (372).

Гојазност се у овој студији није показала као значајан фактор утицаја на резултате, мада је била широко заступљена међу испитаницима. Просечна вредност индекса телесне масе је у свакој групи прелазила границу прекомерне телесне масе (25 kg/m^2), али није било значајне разлике између група у овом параметру (Табела 5.).

Иако се гојазност одликује присуством нискостепене инфламације због чега је она у литератури повезивана са многим инфламаторним параметрима из ове студије (145, 149, 162, 170, 182), добијени резултати су указали да је на датом узорку пацијената са СКА утицај гојазности вероватно био преплетен са утицајем других метаболичких

фактора и терапије, како није постојала ни једна позитивна корелација серумских параметара са ИТМ, већ су штавише показане једино његове слабе негативне корелације са *IL-1 β* и *MMP-2* (Слика 7.).

Као један од значајних фактора ризика испитивана је и дислипидемија која је била дефинисана као одступање било ког параметра основног липидног статуса (укупни холестерол, *HDL*-холестерол, *LDL*-холестерол, триглицериди) од препоручених вредности. Она је била присутна код око половине пацијената и око 40% здравих контрола, али није било статистички значајне разлике у њеној заступљености међу групама. Пацијенти са дислипидемијом су већински имали укључену терапију статинима, што је вероватно било одражено у концентрацији протеина акутне фазе, како је показано да су пацијенти са СКА који су имали и дислипидемију имали ниже вредности *CRP*-а и *PTX-3* од оних који нису имали дислипидемију (Слика 8.). Ово је у слагању са претходним истраживањима која су показала снижење ових параметара под утицајем антиинфламаторног дејства статина (373).

Хипертензија је била веома високо заступљена у свим групама, што је очекивано с обзиром на старост испитаника. Показано је да је проценат хипертензивних пацијената ипак био значајно већи међу пацијентима у односу на здраве контроле (Табела 5.), што је још једном потврдило значај овог фактора ризика у развоју атеросклерозе, како је детаљније објашњено у Уводу. Разлика у вредности испитиваних параметара у односу на присуство хипертензије ипак није показана, могуће услед чињенице да је већина пацијената користила и антихипертензивну терапију (Табела 7.).

Више од половине свих испитаника били су пушачи, и притом није показана разлика у проценту пушача у СКА групи у односу на друге две групе (Табела 5.). Важно је напоменути да су у овој студији пушачима сматрани само они тренутно активни, тако да се међу испитаницима који су сврстани у непушаче могуће налазио и одређени број бивших пушача, што је све могло да умањи разлике у параметрима између ове две групе. Такође, нису у обзир узети количина конзумираних цигарета као ни дужина пушачког стажа, што све може да утиче на добијене резултате. Могуће је да је ово разлог зашто у овој студији није добијена разлика између пушача и непушача за многе параметре за које су претходна истраживања показала да су индуковани од стране различитих агенаса присутних у дуванском диму (149, 216, 236, 314, 367). Само за *sel-E* вредности код пушача су биле више (Слика 9.), што је у складу са налазима да преко активације сигналног пута *NF- κ B* агенси из дуванског дима индукују експресију овог адхезивног молекула (374). Такође, добијене су и ниже вредности *MPO* код пушача (Слика 9.), што може да се објасни имуносупресијом индукованом пушењем која утиче и на смањену активност неутрофила који су главни извор *MPO* (375).

Учестала конзумација алкохола је била присутна код око петине пацијената, док је у контролној групи била занемарљиво ниско заступљена, тако да је разлика између пацијената и контрола према конзумацији алкохола била значајна (Табела 5.). Од свих испитиваних серумских параметара, само је *PTX-3* био виши код СКА пацијената који су често конзумирали алкохол (Слика 10.). Претходно је показано да је *PTX-3* као део неспецифичног имуног одговора укључен у дисфункционалну репарацију метаболичког оштећења ткива изазваног етанолом, што је у вези са повећањем његове локалне експресије у јетри, али и његовог нивоа у плазми (376).

Око 40% пацијената са СКА је имало и дијабетес мелитус, што је било значајно више него код пацијената са осталим КВБ и код контрола, чиме се дијабетес у овој студији

издвојио као један од значајнијих фактора ризика у вези са СКА (Табела 5.). Иако је претходно показан виши ниво многих инфламаторних параметара код пацијената са дијабетесом (203, 317, 367, 377, 378), добијени резултати показали су да је унутар групе са СКА разлика била значајна само за *TNF- α* . Он је био нижи код пацијената са дијабетесом (Слика 11.), што је вероватно последица употребе статинске терапије, како је претходно показан њен јак утицај на ниво овог параметра (352).

Нешто више од четвртине пацијената са СКА је имало и ХББ, што је била значајно већа заступљеност од оне у контролној групи (Табела 5.). Иако овај налаз потврђује ХББ као значајан фактор ризика за СКА, у овој студији није показано да су код пацијената са СКА вредности серумских инфламаторних параметара биле значајно измењене у присуству ХББ. Једино је *VCAM-1* био виши код СКА пацијената са ХББ у односу на оне без (Слика 12.), што је у слагању са претходним налазима повећане гломеруларне експресије *VCAM-1* у болести бубрега и повећаних вредности *VCAM-1* у серуму у вези са смањеном брзином гломеруларне филтрације (264).

5.2.2. Испитивање заступљености кардиоваскуларних коморбидитета као и њихове повезаности са одређиваним параметрима инфламације, хелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА

Како је СКА атеросклеротска болест која представља једну од локалних манифестација системског процеса, јасно је да је она у великом броју случајева присутна заједно са другим кардиоваскуларним болестима. То је показано и на узорку ове студије где је половина испитаника из СКА групе имала један или више кардиоваскуларних коморбидитета (Табела 6.). Осим атеросклеротских болести попут коронарне и периферне артеријске, код великог дела испитаника је била присутна и анеуризматска болест која дели заједничке факторе ризика са атеросклерозом, као и неке заједничке механизме укључујући хроничну инфламацију и ремоделовање екстрацелуларног матрикса (379).

Приликом поређења асимптоматских и симптоматских пацијената конзистентно је показивана већа заступљеност и већи број удружених коморбидитета код асимптоматских пацијената, али за многа поређења та разлика није била статистички значајна, док за друга јесте. Овај тренд вероватно потиче од чињенице да се велики део асимптоматских пацијената са СКА првобитно открива приликом прегледа који се обавља због постојања неке друге васкуларне патологије, док код симптоматских пацијената то није случај, већ се они најчешће откривају након појаве симптома, што не мора да буде у вези са постојањем додатних коморбидитета (117).

Од свих испитиваних параметара, само неколико је показало више вредности код пацијената са коморбидитетима. Тако су *IL-6* и *sel-P* били значајно виши код пацијената који су поред СКА имали бар још једну кардиоваскуларну болест (Слика 13.), *ММР-2* је био виши код пацијената који су поред каротидне имали и коронарну болест (Слика 14.), а фибриноген код СКА пацијената који су имали и придружену периферну артеријску болест (Слика 15.). Како су ови параметри уско повезани са инфламацијом, те на тај начин осликавају генералну активност атеросклерозе, разумљиво је да је њихов ниво виши када је атеросклерозом захваћено више

васкуларних корита, јер је и то такође један од показатеља веће активности овог процеса, што потврђују и досадашња истраживања (380).

Са друге стране, за *TNF- α* , параметар чији је ниво под јаким утицајем фармаколошке терапије (355), показане су ниже вредности у присуству периферне артеријске болести (Слика 15.), што се онда јасно објашњава и већом изложеношћу ових пацијената терапији.

У испитивању коморбидитета код пацијената са СКА, од највећег значаја је било показати колико је заправо велика клиничка хетерогеност ове групе испитаника, а посебно имајући у виду да се група испитаника са другим КВБ садржала од пацијената који су имали наведене коморбидитете као примарне патологије, али уз то и каротидну стенозу степена мањег од 50%. Ипак, колико год показана хетерогеност отежава истраживање, неизбежна је зато што представља реалну слику популације пацијената са СКА, а самим тим додаје и на поузданости резултата, како дозвољава само највећим разликама да дођу до изражаја приликом статистичке анализе.

5.2.3. Испитивање заступљености употребе терапије у различитим групама испитаника, као и њене повезаности са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА

У овој студији испитивана је заступљеност статина, антихипертензива, антиагрегационих и антикоагулантних лекова, који сви осим антикоагулантних представљају основу фармаколошке терапије СКА, али и других кардиоваскуларних болести, како је претходно објашњено у Уводу. У складу са тиме, употреба терапије је била подједнако заступљена код обе групе пацијената, док је код здравих испитаника била значајно нижа (Табела 7.).

Међу пацијентима са СКА, најзаступљенија је била употреба антихипертензива и антиагрегационих лекова које је користило 88–90% свих испитаника, док су статини били заступљени у мањој мери, код око 68% испитаника. Антикоагулантна терапија, с обзиром да она није део стандардног терапијског протокола за СКА, била је веома слабо заступљена (1, 11). Приметно нижа стопа употребе статина, упркос томе што су и они део најбоље медикаментозне терапије СКА је разумљива имајући у виду да за ову групу лекова постоји већи степен интолеранције, као и значајан проблем у комплијанси (381), тако да се она у пракси често изоставља, или се користе алтернативе предложене у водичима, на првом месту *PCSK9* инхибитори и езетимиб (11). Свеукупно, ови резултати указују на то да је већина пацијената укључених у студију била адекватно и униформно фармаколошки лечена, са мањим одступањем у случају статина, што је било уобичајено и у досадашњим истраживањима (381).

Разлике у употреби терапије између асимптоматских и симптоматских пацијената углавном није било (Табела 7.), што поново показује усаглашеност са препорукама из водича које укључују исте групе лекова за обе ове категорије пацијената (1, 11). Једино је заступљеност антихипертензива била нешто виша код асимптоматских, што може да потиче од чињенице да се симптоматским пацијентима препоручује постепеније или чак одложено снижавање крвног притиска у присуству тешке билатералне стенозе или

критичне унилатералне стенозе (117). Ипак, битно је приметити да наведени подаци не пружају потпуну слику о изложености терапији, како у овој студији недостају подаци о дужини употребе лекова. У рутинској пракси, симптоматски пацијенти су често дијагностиковани тек по настанку симптома и од тог тренутка им се преписује фармаколошка терапија, а у овој студији, то је било пре највише шест месеци. Са друге стране, асимптоматски пацијенти се најчешће откривају случајно, примећивањем каротидног шума, или приликом ултразвучног прегледа из других разлога, када им се преписује фармаколошка терапија, тако да су често они изложени лековима значајно дуже него симптоматски пацијенти (117). Овај фактор може да има утицај и на ниво испитиваних параметара у овим групама пацијената, али зато што тај утицај не може да се оцени, ово представља једно од ограничења студије.

Испитивањем разлика у параметрима у односу на употребу одређених група лекова, примећено их је веома мало. Иако је у претходним истраживањима показивано како статини у оквиру свог важног плеиотропног антиинфламаторног дејства снижавају ниво многих испитиваних параметара (149, 192, 203, 229, 263, 278, 344, 364, 374, 377), у овој студији су само фибриноген и SAA били нижи код пацијената који су користили статине (Слика 16.). Осим овога, била је присутна још само једна значајна разлика, и то у нивоу *LOX-1* који је био нижи код пацијената који су користили антиагрегациону терапију у односу на оне који нису (Слика 17.). Тај налаз је у складу са *in vivo* студијом која је показала да се под дејством аспирина смањује ендотелна експресија *LOX-1* индукована од стране оксидованог *LDL*-а (382).

Изостанак многих других очекиваних разлика у параметрима у односу на употребу терапије веома могуће потиче из чињенице да је у студију био укључен веома мали број пацијената који нису користили статине, антихипертензивне и антиагрегационе лекове, односно који јесу користили антикоагулантну терапију, те ова студија свакако није имала довољну снагу да даје јасне закључке на ову тему. Ипак, датим резултатима је показано да се у коришћеном узорку утицај терапије вероватно није у великој мери одражавао на ниво испитиваних параметара.

5.3. Анализа клиничких и ултразвучних параметара пацијената са болешћу каротидне артерије и утврђивање њихове везе са одређиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса

У фокусу ове анализе налазили су се они клинички и ултразвучни параметри на које се досадашња клиничка пракса ослањала при селекцији пацијената за хируршку терапију – присуство скорашњих симптома и тежина каротидне стенозе (1, 11), као и морфологија плака која се последњих деценија истиче као кључни аспект ризика од руптуре плака и последичних догађаја (108). Ова три параметра описују кључне, али различите аспекте каротидног плака који су у вези са ризиком од будућег развоја симптома, због чега између њих нема директне повезаности.

Тако, упркос томе што су резултати бројних истраживања јасно потврдили да тежина стенозе и стабилност плака имају важан утицај на развој симптома, на узорку пацијената из ове студије је показано да пацијенти који су имали недавне симптоме

нису имали нити већи степен стенозе нити већу заступљеност нестабилних плакова од асимптоматских пацијената (Табеле 8. и 9.). Такође, није примећена ни веза између тежине стенозе и стабилности плака, како није било значајне разлике у степену стенозе између пацијената са стабилним и нестабилним плаком, што је све у складу са претходним истраживањима (383).

Све ово може да се објасни комплексном интеракцијом тежине стенозе, грађе плака и развоја симптома, као и тиме што су они под утицајем бројних додатних фактора, али ипак указује и на то да очигледно настанак симптома не може јасно да се предвиди само на основу ултразвучних параметара везаних за плак, те да је оправдано тврдити како постоји потреба за додатним информацијама које дају увид и у додатне аспекте СКА.

Такође, изостанак међусобне зависности симптоматског статуса, тежине стенозе и стабилности плака у овом узорку пацијената омогућило је да се независно анализира асоцијација серумских параметара са сваким од њих.

Анализом вредности серумских инфламаторних параметара у односу на симптоматски статус, тежину стенозе и морфологију плака, уочено је како различити параметри имају значај у односу на сваки од ових аспеката. Још интересантније је било приметити да су добијене поново другачије разлике у параметрима када су СКА пацијенти подељени у подгрупе које су биле хомогене не према једном, него према два клиничка/ултразвучна фактора. Наравно, ово произилази из комплексности каротидне атеросклерозе као мултифакторске болести са бројним аспектима ризика, али такође и указује на важну идеју да би у будућим истраживањима можда било корисно приступати потенцијалним предикторима ризика одвојено у више мањих али хомогенијих група пацијената код којих би они могли да имају различит значај. У том случају, ради клиничке употребљивости нових метода процене ризика, било би пожељно пацијенте прво категорисати према параметрима који се већ одређују при рутинском прегледу и постављању дијагнозе, какви су симптоматски статус и степен стенозе, а онда примењивати анализу различитих специфичнијих параметара у свакој од ових категорија пацијената.

5.3.1. Испитивање вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на симптоматски статус пацијената са стенозом каротидне артерије

Многе студије су засноване на поређењу недавно симптоматских и асимптоматских пацијената према различитим карактеристикама са циљем индиректне процене повезаности са ризиком од будућих симптома. Међутим, овај приступ има бројне недостатке, посебно када се користи за испитивање потенцијалних серумских биомаркера. Иако је добро утврђено да су пацијенти који су недавно доживели блажи мождани удар, ТИН или неки други пролазни неуролошки симптом каротидне стенозе под повећаним ризиком од новог можданог удара, повезаност недавних симптома са нивоом биомаркера не мора да такође буде у вези са тим ризиком. Промена у нивоу серумских биомаркера након недавних симптома, осим што може да буде одраз будућег ризика, исто тако може да буде и последица доживљеног симптома или репарационог процеса који је уследио (384).

Такође, уобичајени начин поделе пацијената на симптоматске и асимптоматске који је примењен и у овој студији, подразумева да се пацијенти који су имали симптом у претходних шест месеци рачунају као симптоматски док се они који су имали симптом пре више од шест месеци рачунају као асимптоматски. Иако је оваква подела оправдана из аспекта ризика, она може да умањи стварну разлику у серумским параметрима између група. У вези са тим, треба имати на уму и да неки симптоми СКА могу да прођу непрепознати, као и да симптоми попут блажег можданог удара, ТИА и РИНД могу да имају и друге узроке осим СКА, због чега није савршено поуздана било каква подела на симптоматске и асимптоматске пацијенте из аспекта СКА (384).

Узимајући у обзир све наведено, није изненађујуће што је у овој студији простим поређењем симптоматских и асимптоматских пацијената добијена значајна разлика само у једном параметру. Можда је више изненађујуће то што је у питању био *SAA* (Табела 10.), с обзиром да за овај параметар такви резултати нису досада показани у релевантним студијама, мада једним делом то може да се објасни и чињеницом да је *SAA* веома ретко истраживан у популацији искључиво пацијената са СКА.

Добијена разлика између две групе је такође потврђена и логистичком регресијом, у којој је *SAA* био значајан предиктор присуства симптома код пацијената са СКА.

Када је ова разлика детаљније испитана у хомогенијим подгрупама СКА пацијената, уочено је да је *SAA* био виши у присуству симптома код пацијената са највишим степеном стенозе и код пацијената са каротидним плаком нестабилне морфологије, док код пацијената са умереном стенозом и стабилним плаком није био у вези са присуством симптома (Табеле 11. и 12.). Такође је у односу на врсту симптома уочено да је *SAA* заправо био виши код пацијената са ТИН него код пацијената са блажим можданим ударом (Слика 17.). Он је био виши код ТИН и у односу на асимптоматске пацијенте и контролну групу (Слике 19. и 20.), што све указује на специфични значај *SAA* у односу на врсту симптома. Иако није мерила *SAA*, једна претходна студија која је испитивала експресију различитих молекула на каротидним плаковима СКА показала је да плакови пацијената који су доживели ТИН имају већи садржај макрофага и већу експресију инфламаторних маркера него плакови пацијената који су доживели блажи мождани удар (361). Ово је у сагласности са ранијим налазима о томе да се плак након блажег можданог удара често постепено ремоделује у стабилнији облик, док плакови након ТИН дуже остају под инфламацијом и ређе се стабилизују, што може бити у вези и са вишим вредностима *SAA* код пацијената са ТИН у овој студији (385).

Даље, како је показано да у овој студији постоји разлика између симптоматских и асимптоматских пацијената према употреби антихипертензива, додатно су из СКА групе издвојени само пацијенти који користе антихипертензиве, па су у оквиру њих упоређени симптоматски и асимптоматски пацијенти. Поређење између пацијената који не користе антихипертензивну терапију није било могуће због веома малог броја испитаника (4 асимптоматска и 10 симптоматских). Након овога, разлика у вредности *SAA* између две групе више није била значајна, што указује да је можда један од разлога изражености вишег нивоа *SAA* код симптоматских пацијената, био и мања заступљеност оптималне терапије међу њима у односу на асимптоматске пацијенте.

Свеукупно гледано, слагање резултата поређења *SAA* у различитим поделама на подгрупе, као и показана разлика у зависности од врсте симптома, указују на повезаност овог параметра са симптоматским статусом СКА.

У односу на симптоматски статус СКА, интересантни резултати су добијени и за *MPO*.

Овај параметар није показао разлику између укупних симптоматских и асимптоматских пацијената, као ни разлику према врсти симптома, али су приликом поређења различитих подгрупа пацијената добијене значајне разлике које су имале супротан смер у „ризичнијим“ и „мање ризичним“ подгрупама. Тако је *MPO* унутар групе пацијената са умереном стенозом био виши код оних који су имали недавне симптоме него код оних који нису, а унутар група пацијената са тешком стенозом и са нестабилним плаком *MPO* је био нижи код оних који су имали недавне симптоме у односу на оне који нису (Табела 11.).

Претходна истраживања су показала да је садржај *MPO* унутар атеросклеротских лезија занемарљиво низак у раним фазама, а да је највиши у веома прогредираним и морфолошки нестабилним плаковима (203). У складу са тим, могуће је претпоставити да код пацијената са стенозом умереног степена, *MPO* у серуму одражава ниво системске нискостепене инфламације, и као такав је повишен код недавно симптоматских пацијената код којих је она битан фактор дестабилизације плака у вези са настанком симптома. Са друге стране, код пацијената код којих је присутна тешка стеноза или нестабилан плак, имуне ћелије из циркулације се у значајној мери акумулирају унутар плака као и унутар других унапредовалих лезија широм васкулатуре, где учествују у инфламаторном оштећењу и даљој дестабилизацији која је у вези са настанком симптома. Због ове сегрегације ћелија које су главни извор *MPO*, ниво овог параметра у циркулацији може бити нижи код недавно симптоматских пацијената. Снижење садржаја *MPO* из моноцита у серуму проузроковано преласком у унутрашњост лезија је раније примећено и код пацијената са периферном артеријском болешћу (386, 387).

Такође, треба узети у обзир да је у овој студији одређивана концентрација ензима *MPO*, за коју је и раније показано да није у директној вези са недавним симптомима СКА (388), док су поједине студије које су мериле активност *MPO*, показале да она јесте виша код симптоматских пацијената (389).

У овој студији *PTX-3* јесте показао везу са симптоматским статусом, али резултати су више подржавали претпоставку његове протективне улоге која се заснива на смањењу уласка неутрофила на место инфламације посредством *sel-P* и на смањењу тромбогеног деловања фибриногена и колагена (162, 163).

Приликом поређења укупних симптоматских и асимптоматских пацијената није уочена разлика у вредностима *PTX-3*, што је у слагању и са ранијим налазима (165). Међутим, када су ове групе поново упоређене након што су из њих изузети испитаници који нису користили антихипертензивну терапију, показано је да су вредности *PTX-3* биле ниже код симптоматских у односу на асимптоматске пацијенте (Слика 22.), а ови налази су потврђени и логистичком регресијом. Ефекат антихипертензива на смањење нивоа *PTX-3* је претходно доказан (390), што додатно потврђује да је то и у овој студији могло да утиче на ублажавање разлике између симптоматских и асимптоматских пацијената који су се разликовали према употреби ове терапије. Када су према присуству недавних симптома поређени само пацијенти са умереном стенозом, *PTX-3* је такође био нижи код симптоматских, док међу пацијентима са тешком стенозом није било разлике у његовом нивоу (Табела 11.). Познато је да у различитим фазама напредовања атеросклерозе *PTX-3* преобладајуће потиче из различитих ћелија, па тако ови резултати могуће указују на то да серумска концентрација *PTX-3* који се у ранијим фазама ослобађа из неутрофила има већи протективни значај него *PTX-3* који секретују макрофаге унутар плака у крајњим фазама прогресије стенозе (162).

Такође, иако се вредности *PTX-3* нису разликовале у односу на врсту симптома, само код пацијената који су доживели ТИН или РИНД, а не и код оних који су доживели блажи мождани удар, *PTX-3* је био нижи него код асимптоматских пацијената и контрола (Слике 19. и 20.). Ово је у складу са претпоставком из литературе да након блажег можданог удара брже делују репарациони механизми који стабилизују плак и у којима учествује и *PTX-3*, док је након ТИН-а оштећујућа инфламаторна активност у плаку и даље веома висока, што је могуће и у вези са нижим нивоом *PTX-3* (163, 385).

Конзистентно са осталим резултатима који су показали да у овој студији нивои *TNF- α* и *IL-1 β* због утицаја терапије не показују очекивану асоцијацију са СКА, и у анализи симптоматског статуса углавном није било разлике у овим параметрима, или су они чак били снижени код симптоматских пацијената. То је у слагању и са већином студија које нису нашле разлике у овим параметрима у односу на симптоматски статус (156, 178, 391).

Када су поређени само пацијенти на терапији статинима, *TNF- α* је био виши код асимптоматских (Слика 22.), а у логистичкој регресији је *IL-1 β* био значајан предиктор асимптоматског облика болести. И међу пацијентима са тешком стенозом, показано је да су виши ниво *TNF- α* и *IL-1 β* били присутни код асимптоматских (Табела 11.), што све потврђује да у овој популацији они не могу бити значајни биомаркери ризика упркос доказаној патофизиолошкој улози у атеросклерози (142, 190).

Као и у већини претходних истраживања, ни у овом није добијена разлика у вредности *MMP-2* у односу на присуство недавних симптома (326). Ипак, након поређења хомогенијих подгрупа СКА пацијената, показано је да су симптоматски пацијенти са стабилним плаком имали ниже вредности од асимптоматских пацијената са стабилним плаком (Табела 12.). Стабилна морфологија плака код пацијената који су имали недавне симптоме може да значи да се плак накнадно стабилизовао након симптома, што би могло да буде праћено и снижавањем активности *MMP-2*. Са друге стране, нижи ниво *MMP-2* код ових пацијената у односу на оне који нису имали симптоме, а такође су имали стабилан плак, може и да говори у прилог протективном дејству ове матриксне металопроотеиназе у регулацији инфламације која је претходно претпостављена у неколико студија (281).

Поред *SAA*, разлику у односу на врсту симптома показао је још и *MMP-7* који је такође био виши код ТИН-а у односу на блажи мождани удар (Слика 17.). У складу са тим, вредности *MMP-7* су код свих симптоматских пацијената биле више у односу на здраве контроле (Слике 20. и 21.), али је само код пацијената са ТИН *MMP-7* био виши и у односу на пацијенте са асимптоматском СКА (Слика 19.).

Претходни резултати су показали везу између нивоа *MMP-7* и недавних симптома СКА (161, 307). Ова студија то потврђује, али додатно упућује и на разлику у врсти симптома, како је показано да је након недавног блажег можданог удара ниво *MMP-7* био сличан као и код пацијената који су имали симптом пре више од 6 месеци или га нису ни имали, док је након недавног ТИН-а, ниво *MMP-7* био значајно виши. Ова разлика могуће поново потиче од чињенице да је накнадна стабилизације плака значајно чешћа након блажег можданог удара него након ТИН-а (385).

Иако су разлике између асимптоматских и симптоматских пацијената биле приступне само за малобројне параметре, велики број параметара је показао значајну разлику између здравих контрола и симптоматских пацијената, а посебно оних са блажим можданим ударом. Ово указује на то да њихове вредности јесу повезане са ризиком од

можданог удара у генералној популацији, али не нужно и у популацији са већ постојећом СКА. Претходно су спровођене бројне студије које су поредиле управо пацијенте са можданим ударом и здраве испитанике, и њихови резултати су махом били у слагању са добијеним у овој студији. Тако су, осим поменутог *MMP-7*, пацијенти са недавним блажим можданим ударом имали повишен и фибриноген, *CRP*, *TNF- α* и *sel-P* у односу на здраве испитанике (Слика 21.), а од њих су фибриноген и *sel-P* били повишени и код пацијената са недавним ТИН-ом (Слика 20.). Раније су показане више вредности фибриногена код пацијената након можданог удара у односу на пацијенте који упркос присуству фактора ризика нису имали мождани удар (392), за *CRP* је у мета-анализи утврђена повезаност са исхемијским можданим ударом (393), а више студија је уочило и виши ниво *TNF- α* након можданог удара (184), као и вишу експресију *sel-P* код пацијената који су доживели мождани удар (394).

Насупрот овоме, *sel-E* је код пацијената који су доживели блажи мождани удар био нижи него код здравих испитаника (Слика 21.). Слични резултати добијени су и претходно, али није разјашњено да ли је разлог овоме био утицај терапије или оштећење ендотелних ћелија и комплексни фактори везани за локалну и системску регулацију експресије *sel-E* (395). Ниже вредности код пацијената након блажег можданог удара у односу на здраве испитанике примећене су и за *suPAR*, што је у супротности од претходних резултата који повезују његово повећање са симптомима СКА (228).

У контексту симптома СКА, значајних резултата није било за *IL-6*, *Lp-PLA2*, *LOX-1*, *VCAM-1* и *MMP-9*, што је у сагласности са једним бројем студија (226, 344, 391, 396, 397, 398), а у супротности са другим које су показале више нивое ових параметара код пацијената који су имали недавне симптоме (144, 178, 193, 330, 399, 400).

5.3.2. Испитивање вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на тежину стенозе каротидне артерије

Досадашња истраживања потенцијалних серумских биомаркера за СКА су проналазила најслабију асоцијацију са степеном стенозе у односу на друге ултразвучне карактеристике плака и присуство симптома. Многе студије су поредиле пацијенте са умереном и тешком стенозом, али њихови резултати често нису били значајни, а гранични степен стенозе између ове две категорије се такође веома разликовао између студија због чега је било тешко доносити генералне закључке о повезаности специфичних параметара и тежине стенозе (68).

Иако тежина каротидне стенозе јесте једна од најважнијих окосница рутинске праксе у доношењу одлуке о терапији, последњих деценија истраживања све више указују на још већи значај других фактора, како је познато да до можданог удара долази и код пацијената који имају само умерену стенозу (1, 11).

Важну улогу у процесу напредовања стенозе од умерене ка тешкој, уз процесе ремоделовања који доприносе расту лезије, свакако има и инфламација (401). Због тога је оправдано очекивати да серумски ниво укључених инфламаторних параметара одражава и активност овог процеса, а преко тога индиректно и степен стенозе.

Међутим, степен стенозе који тренутно постоји у захваћеној каротидној артерији може да остане висок и након што се сам инфламаторни процес унутар плака успори или чак стабилизује, што објашњава зашто он као релативно статични параметар не корелира увек са развојем симптома, као ни са инфламаторним параметрима у серуму (100). Из овог разлога, нови водичи клиничке праксе указују на то да је сама брзина прогресије стенозе још значајнији показатељ ризика од можданог удара у односу на саму тежину стенозе (11), па је у складу са овим показано и да неки серумски параметри такође корелирају са прогресијом каротидне стенозе (348).

Укратко, иако висок степен каротидне стенозе јесте локални индикатор ризика који је у највећем броју случајева у корелацији са системском активношћу атеросклерозе и са ризиком од можданог удара, у одређеној мери долази и до одступања од ових корелација, зато што и многи стабилни и инертни плакови који нису предиспонирани за ерозију или руптуру могу да изазивају висок степен стенозе (98). Из истих разлога изостају и многе очекиване корелације са серумским параметрима инфламације. Упркос томе, може се ипак очекивати да они параметри који су најнепосредније укључени у процес раста атеросклеротског плака, у сваком случају задржавају вишу експресију код више стенозе, па се под претпоставком да се ова експресија одражава и на њихову серумску концентрацију, њихов ниво може сматрати одразом тежине стенозе и показатељем ризика од можданог удара у оној мери у којој он потиче од тежине стенозе.

Повезаност инфламаторних параметара са степеном стенозе у овој студији је испитивана поређењем пацијената са умереном и тешком стенозом међу укупним испитаницима са СКА, а потом и њиховим поређењем унутар подгрупа које су биле хомогене према симптоматском статусу или према стабилности плака. Корелација степена каротидне стенозе и вредности инфламаторних параметара није анализирана с обзиром да степен стенозе у овој студији због заокруживања вредности није био права континуирана варијабла.

Приликом поређења укупних пацијената са умереном и тешком стенозом, уочено је да су вредности *PTX-3* и *LOX-1* биле значајно више код пацијената са тешком стенозом, док остали параметри нису показали разлику (Табела 13.).

Несумњиво најјачу везу са тежином стенозе, независно од присуства симптома и стабилности плака је показао *LOX-1* који је конзистентно био виши код тешке стенозе у односу на умерену у свим поређеним подгрупама пацијената – код асимптоматских и симптоматских, као и код пацијената са стабилним и нестабилним плаком (Табелае 14. и 15.). Ови налази су лако објашњиви с обзиром да је улога овог рецептора искључиво патолошка, везана за преузимање оксидованих *LDL* честица у атеросклеротску лезију, што јесте један од најважнијих механизма раста плака. На овај начин су активност и експресија *LOX-1* директно повезани са прогресијом стенозе, а *LOX-1* остварује и додатни индиректни утицај кроз допринос регрутацији леукоцита у плак преко повећања експресије хемоатрактантних и адхезионих молекула (217).

Дакле, у овим резултатима све указује на то да ниво *LOX-1* у значајној мери одражава атеросклеротску активност везану за прогресију лезија, што је потврђено и у другим студијама коронарне (216, 402) и каротидне болести (226). Међутим, његова повезаност са самим ризиком од будућих симптома остаје ограничена тиме колико је сам степен стенозе у вези са овим ризиком. На то указују и претходно објашњени резултати ове студије где *LOX-1* није показао било какву разлику у односу на симптоматски статус,

док такође није било никакве везе између степена стенозе и симптоматског статуса у испитиваном узорку пацијената. Ово потврђује претпоставку да овај параметар може бити показатељ тежине стенозе, али не мора бити и показатељ укупног ризика.

Попут *LOX-1*, и *PTX-3* је био виши код укупних пацијената са тешком стенозом, али након поделе у подгрупе према додатном критеријуму, показано је да је ова разлика остала значајна само у оквиру пацијената са нестабилним плаком (Табела 15.). Дакле, у овој студији пацијенти са нестабилним плаком који изазива тешку стенозу имали су виши *PTX-3* од пацијената са нестабилним плаком који изазива умерену стенозу, док код пацијената са стабилним плаковима, овај параметар није био повезан са тежином стенозе. Ово је интересантно јер омогућава претпоставку да је *PTX-3* укључен у прогресију само нестабилних плакова који су под интензивнијом инфламацијом и имају велико липидно језгро, док нема такву улогу код стабилизваних плакова који су више фиброзни и калцификовани. Са тим у виду, могуће је да *PTX-3* као биомаркер одражава активност прогресије нестабилног плака, који се враћа на базални ниво када се плак стабилизује, што га чини потенцијално бољим показатељем ризика од *LOX-1*, али ова претпоставка захтева додатно потврђивање. До сада не постоје студије које подржавају везу *PTX-3* са прогресијом каротидне стенозе, само је једна студија на коронарним пацијентима показала да је његов циркулишући ниво у корелацији са степеном стенозе (402). Такође, при доношењу закључака о *PTX-3* као потенцијалном биомаркеру прогресије атеросклерозе, треба узети у обзир комплексност његових функција, како оне могу бити и проинфламаторне и репаративне (163). У том контексту, раст концентрације *PTX-3* може да буде и последица његовог учешћа у прогресији плака, али може да буде и последица репарационих механизма, а како су у оба случаја леукоцити главни извор *PTX-3* у циркулацији (162), добијени резултати не искључују ни једну од ових могућности.

При поређењу серумских параметара код умерене и тешке стенозе у различитим подгрупама пацијената, највише значајних разлика је било у оквиру пацијената са нестабилним плаком. Осим што су, како је претходно објашњено, пацијенти са нестабилним плаком и тешком стенозом имали виши *LOX-1* и *PTX-3* него пацијенти са нестабилним плаком и умереном стенозом, код њих су и вредности *sel-P MMP-2* биле значајно ниже (Табела 15.).

У раној фази активације ендотела *sel-P* је најизраженији адхезивни молекул који је тада укључен у регрутацију леукоцита и повећање експресије осталих адхезивних молекула, а концентрација његове солубилне форме је такође висока (245). Након тога он поново добија на значају непосредно пре и током руптуре плака, када расте и његова циркулишућа концентрација која се враћа на базални ниво неколико месеци након цереброваскуларног догађаја (394), што је у складу и са резултатима који су показали да је ниво *sel-P* био виши код пацијената са недавним симптомима у односу на контроле. У контексту резултата ове студије, то што је *sel-P* био виши код пацијената са нижим степеном стенозе може додатно да се објасни тиме што његову експресију инхибира *PTX-3* (166) који је код ових пацијената био нижи него код оних са вишим степеном стенозе. Постоји и студија која је показала управо супротно, да је пораст *sel-P* у вези са тромбозом која доприноси расту плака, због чега је он изражен тек у напредним фазама стенозе (364). Ипак, резултати наведене студије су добијени на укупним СКА пацијентима, без одвојеног испитивања оних са стабилним и нестабилним плаком, што може значајно да утиче на разлику у резултатима наспрам ове студије.

За *MMP-2* је претходно у претпостављено да у одређеним фазама прогресије атеросклерозе долази до гашења његове експресије, како је једна студија показала да је у вулнерабилним регионима плакова он био експримиран ниже него и у здравом ендотелу (281). У складу са тим, интересантан је и налаз код пацијената са анеуризматском болешћу, где се секреција *MMP-2* из макрофага разликовала у односу на величину анеуризме, при чему је била значајно виша код малих него код великих анеуризми (378), слично као што је у овој студији била виша у умереној него у тешкој стенози. Ово указује на специфичну регулацију *MMP-2* у односу на фазу развоја лезије и охрабрује даље истраживање, али додатно отежава тумачење његовог потенцијала као биомаркера.

Такође код пацијената са нестабилним плаком, значајне разлике су уочене и за *MPO* и *sel-E*. Важно је приметити да су ови параметри показали сличне разлике и између симптоматских пацијената, где је такође *MPO* био нижи, а *sel-E* виши код тешке у односу на умерену стенозу. Дакле, све у свему, у обе ризичније групе – и код симптоматских и код пацијената са нестабилним плаком, ови параметри су показали везу са тежином стенозе, док код асимптоматских и пацијената са стабилним плаком, односно мање ризичних пацијената, није било овакве везе (Табела 14. и 15.). Поново, као за *PTX-3*, ово може да значи да *MPO* и *sel-E* немају значај код стабилних плакова јер се њихова активност смирује са стабилизацијом лезије, док са друге стране код нестабилних плакова где је инфламација активнија, они имају улогу у даљој прогресији, због чега је њихов ниво у вези са степеном стенозе код оваквих плакова. Додатно, то што код асимптоматских пацијената *MPO* и *sel-E* нису повезани са степеном стенозе, а код симптоматских јесу, указује на то да њихов ниво у некој мери зависи од баш оног аспекта тежине стенозе који утиче и на ризик од симптома.

Ово пре свега важи за *sel-E* који је био виши код тешке стенозе, што је у складу са чињеницом да он учествује у регрутацији леукоцита која је веома важан механизам раста плака, а такође је и у складу са налазима претходних студија да је он највише експримиран у узнапредовалој фази атеросклерозе (261).

Претходно је једна студија испитивала ниво солубилног *sel-E* у односу на степен стенозе периферних артерија, али није дала значајне резултате за овај параметар (403), исто као што у овој студији разлика није добијена поређењем укупних пацијената. Ово додатно указује на значај одвојеног испитивања хомогенијих подгрупа пацијената.

Супротно од *sel-E*, *MPO* је код умерене стенозе био виши у односу на тешку стенозу у оквиру пацијената са нестабилним плаком (Табела 15.). Ово је у складу са претходно објашњеним резултатима који су показали да је такође код пацијената са нестабилним плаком његов ниво био виши код асимптоматских него код симптоматских, као и да је у оквиру пацијената са умереном стенозом био повезан са недавним симптомима, док у оквиру пацијената са тешком стенозом није (Табеле 11. и 12.). Заједно ови налази упућују на претпоставку да је *MPO* у вези са ризиком од симптома само код пацијената са умереном стенозом где могуће учествује у дестабилизацији плака. Да је *MPO* комплексно повезан са каротидном стенозом упућују и претходна истраживања. У студији која је између осталог испитивала и корелацију степена стенозе са циркулишућим *MPO* код пацијената са СКА уопштено, без раздвајања пацијената према додатном критеријуму, није показана значајна повезаност (388). Са друге стране, студије које су у обзир узимале још неки додатни фактор, давале су различите резултате вредности *MPO* у односу на њега. Тако је у једној студији показано да ниво *MPO* предвиђа прогресију каротидне стенозе само код пацијената који имају нижи

HDL-холестерол, док код пацијената са вишим *HDL*-холестеролом ова веза изостаје (348). У другој студији, био је у вези са волуменом коронарног плака само код пацијената са ДМ, а не и код пацијената без ДМ (404). Постоји и студија која је показала да је код плакова у средњој фази развоја, *MPO* био експримиран у вулнерабилним раменим регионима одговорним за руптуру плака, а код плакова који изазивају тешку стенозу се претежно налазио у унутрашњости као део некротског језгра (208).

Постојеће знаке које упућују на потенцијал *MPO* као биомаркера ризика који потиче баш од умерене каротидне стенозе су изузетно значајне, зато што управо за пацијенте са умереном стенозом и без недавних симптома тренутно постоји најмање поузданих предиктора будућег ризика (11).

Код симптоматских пацијената, осим што је ниво *MPO* био виши код умерене у односу на тешку стенозу, исто је показано и за *IL-1 β* . Ови резултати захтевају даље испитивање, како се налазе у супротности са претходним студијама које су показале да *IL-1 β* корелира са тежином коронарне стенозе (405), као и да је виши код тешке каротидне стенозе у односу на ниски до умерени степен (406).

У оквиру мање ризичних група пацијената – асимптоматских и оних са стабилним плаком, веома мало параметара је показало разлику у односу на тежину стенозе. Осим *LOX-1* који је конзистентно био значајан у свим подгрупама, *TNF- α* је био виши код асимптоматских пацијената са тешком стенозом у односу на асимптоматске пацијенте са умереном стенозом (Табела 14.), а *suPAR* је био виши код пацијената са стабилним плаком и тешком стенозом у односу на пацијенте са стабилним плаком и умереном стенозом (Табела 15.). Досадашње студије су углавном показивале да ниво *TNF- α* није у вези са степеном стенозе (391, 407), али оне нису одвојено испитивале симптоматске и асимптоматске пацијенте. Како *TNF- α* у плаку стимулише пролиферацију васкуларних глатких мишићних ћелија и експресију адхезивних молекула што доприноси његовом расту, веза *TNF- α* са степеном стенозе ипак може да се очекује (142). То што је у овој студији она примећена само за асимптоматске пацијенте може да буде због тога што код пацијената са недавним симптомима степен стенозе зависи од додатних фактора повезаних са недавном руптуром или ерозијом, тако да деловање *TNF- α* не долази до изражаја у значајној мери. Корелација степена каротидне стенозе и циркулишућег нивоа *suPAR* није претходно испитивана, а налази ове студије у којој је он био виши код тешке стенозе само код пацијената са стабилним плаком могу да указују на то да је *suPAR* укључен у прогресију стенозе у овим условима, али јаснији закључци захтевају даље истраживање.

Коначно, са степеном каротидне стенозе никакву везу нису показали фибриноген, *CRP*, *SAA*, *IL-6*, *Lp-PLA2*, *VCAM-1*, *MMP-7* и *MMP-9*. Слично је показано и у претходним студијама (328, 391, 407, 408, 409), мада је било и другачијих резултата за неке од параметара (406).

5.3.3. Испитивање вредности серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса у односу на ултразвучну карактеристизацију морфологије плака пацијената са стенозом каротидне артерије

Морфолошке карактеристике структуре плака које условљавају његову стабилност у значајној мери одређују ризик од његове руптуре, и на овоме се, како је раније објашњено заснива асоцијација између грађе плака и симптома СКА. Међутим, ова веза није увек директна, како симптоми могу да настану и услед ерозије која често захвата и морфолошки стабилне плакове. Такође, морфологија плака је подложна промени, од стабилне ка нестабилној али и обрнуто, све у зависности од генералног окружења, при чему је системска инфламација један од главних фактора (2, 105). Ипак, делом и управо због самог утицаја системских фактора на стабилност каротидног плака, она је у претходним истраживањима установљена као маркер генералне стабилности атеросклеротских лезија широм васкулатуре. На томе се заснива и претпоставка да је грађа каротидног плака показатељ генералног ризика од кардиоваскуларних догађаја, укључујући оне који настају услед руптуре, али и услед ерозије плака (114). Мера у којој стабилност каротидног плака зависи од системске инфламације условљава и њену корелацију са серумским параметрима инфламације, али пошто на каротидни плак утичу и локални фактори, ова два аспекта се донекле и разилазе, због чега се претпоставља да је за процену ризика најбоље узимати обадва у обзир (101).

Стабилност плака се најпоузданије утврђује хистопатолошким анализом након оперативног уклањања, међутим, како то није примењиво у предвиђању ризика на основу кога треба донети одлуку о хируршкој терапији, рутински се за ово користи ултразвучни преглед каротида. Како је претходно објашњено, јака веза између ултразвучног и хистопатолошког налаза грађе плака је чврсто установљена, међутим у неким случајевима, као приликом јаке калцификације, постоји делимична несигурност ове методе, која у мањој мери може да утиче и на умањење корелације између инфламаторних параметара и ултразвучно процењене стабилности плака (106).

У овој студији није било корелације између ултразвучно процењене морфологије плака и симптоматског статуса (Табела 9.). У том светлу значајно је приметити да се овде симптоми посматрају ретроспективно, па зато грађа плака у тренутку ултразвучног прегледа не мора да се поклапа са грађом плака каква је била пре настанка симптома, с обзиром да је он могао бити накнадно ремоделован. Ипак, без обзира на то што у овој студији грађа плака није била у вези са симптомима, може се сматрати да веза грађе плака и серумских инфламаторних параметара говори о значају тих параметара за ризик од будућих симптома. Ово је из разлога што је грађа каротидног плака сама по себи индикатор системске активности атеросклерозе (114), тако да без обзира на то да ли је неки параметар механистички укључен у дестабилизацију или не, њихова потенцијална асоцијација може да указује на значај датог параметра у процени будућег ризика.

Каротидни плакови су у овој студији категоризовани у седам група према доминантним морфолошким карактеристикама, али је и тако показано да ипак већина плакова дели различите особине, како су нестабилни плакови већином били мешовити, а стабилни фиброкалцификовани. Већ тиме је указано да овако уска подела није могућа, како она није довољно јасна и добро диференцирана да би се очекивао велики број

значајних разлика при поређењу ових међусобно сличних група. Тако је и показано у резултатима, када се поредио појединачни тип плака у односу на све остале типове, по вредностима параметара издвајали су се једино калцификовани и фиброкалцификовани плакови. Пацијенти са оваквим плаковима су имали виши *TNF- α* , *IL-1 β* и *MPO*, а нижи *sel-P* (Слика 23.). Пошто се плакови са израженом калцификацијом сматрају стабилним, на први поглед је неочекивано да су они у вези са махом вишим вредностима инфламаторних параметара. Међутим, калцификација је веома сложен процес из аспекта атеросклерозе, како се она одвија током различитих фаза развоја плака при чему остварује другачије утицаје. Такозвана микрокалцификација је изузетно дестабилишућа за плак и сматра се значајним показатељем ризика од руптуре, посебно код коронарних пацијената, док макрокалцификација која се јавља у узапредовалом плаку углавном штити од руптуре, а то је облик калцификације који ултразвучни преглед може да детектује (410). Многи инфламаторни молекули учествују у настанку калцификације, а зна се и да је она системски генерализован процес, тако да присуство калцификованог каротидног плака често говори о распрострањеној васкуларној калцификацији која онда има чврсту везу и са нивоом тих циркулишућих молекула. Зато је разумљиво да је највећи број параметара показао везу баш са калцификацијом, а не са другим карактеристикама које нису тако системски распрострањене (411). И заиста, претходно је показано да је *TNF- α* директно укључен у калцификацију васкуларних глатких мишићних ћелија (412), као и да активност *IL-1 β* преко више механизма промовише васкуларну калцификацију (411). Улога *MPO* у калцификацији није толико јасно утврђена као за остала два параметра, мада се претпоставља да преко генерисања оксидативног стреса може да допринесе овом процесу (413, 414), и поједине студије су показале да ниво *MPO* корелира са коронарном калцификацијом (415). Ова студија је један од првих налаза везе између каротидне калцификације и нивоа *MPO*, али треба узети у обзир и то да је на овај резултат могао да утиче и пушачки статус испитаника, како је *MPO* био виши код непушача, а њих је било значајно више међу пацијентима са фиброкалцификованим плаком у односу на остале. И поред тога, ово представља значајан налаз који би требало даље истражити.

Све у свему, иако је објашњиво зашто су многи инфламаторни параметри повишени у присуству калцификованог каротидног плака, из аспекта биомаркера, ово може бити отежавајући фактор. То је зато што су због везе са калцификацијом они у некој мери повишени код пацијената са стабилним плаковима, док су истовремено због својих инфламаторних улога и у вези са повишеним ризиком од будуће дестабилизације, тако да се ова два утицаја међусобно умањују.

Дакле, због показане међусобне сличности многих од седам типова плакова у овој студији, у даљој анализи су они сврстани у две групе – стабилне и нестабилне. Ове две групе плакова су биле довољно хомогене, а међусобно значајно морфолошки различите тако да њихово поређење буде релевантно. Заправо и највећи број претходних истраживања биомаркера је користио управо овакву категоризацију на стабилне и нестабилне, односно ехogene и ехолуцентне плакове. Оно што је било изненађујуће приликом поређења ове две групе је да између њих није била показана разлика ни у једном параметру (Табела 16.). Зато, претпостављајући поново да је велика клиничка хетерогеност пацијената са СКА узрок овоме, одвојено су испитани симптоматски и асимптоматски пацијенти, а затим су одвојено испитани и пацијенти са умереном и тешком стенозом. На овај начин су, као и у претходним случајевима, уочене разлике у параметрима које нису примећене поређењем укупних пацијената, а највећи број њих је био управо у групи пацијената са умереном стенозом. Ово је у складу са претпоставком да су серумски параметри инфламације можда још значајнији чиниоци ризика код

умерне стенозе, него код тешке стенозе где на ризик од симптома значајно утичу и додатни фактори попут великог волумена плака, узапредовале неоваскуларизације и повећане коагулабилности услед успореног протока крви (99, 416).

У складу са тим, само у умереној стенози су резултати показали да је *suPAR* био виши код пацијената са нестабилним у поређењу са стабилним плаком (Табела 18.). Управо *suPAR* је маркер хроничне нискостепене инфламације који има највећи степен независности од других фактора који мењају ниво инфламаторних параметара (141, 239), па тако његова веза са нестабилношћу плака специфично у умереној стенози значајно подржава наведену претпоставку о пресудном утицају инфламације на дестабилизацију плакова у ранијим фазама прогресије. Да је повезаност овог параметра са нестабилношћу плака вероватно комплексна и да се разликује у односу на додатне карактеристике пацијената говоре и претходна истраживања. Док је у неким утврђен виши ниво *suPAR* код нестабилног плака (228), као и његова виша експресија у деловима плака захваћеним руптуром (417), друга истраживања нису пронашла овакву повезаност (228, 236). Ове студије су имале различит дизајн и избор испитаника, што може бити разлог неслагања њихових резултата, посебно како је у једној студији на великом броју испитаника показано да је *suPAR* био значајан предиктор кардиоваскуларног ризика само за жене и пацијенте старије од 60 година (232).

Иста разлика као за *suPAR* показана је и за *sel-P*, док је насупрот томе, *sel-E* био нижи код нестабилног у односу на стабилан плак (Табела 18.). Овај налаз није необичан ако се узме у обзир да за разлику од *sel-E*, *sel-P* у циркулацији највећим делом потиче из активираних тромбоцита (244). Ако се нестабилни каротидни плак узима као показатељ системски присутних нестабилних атеросклеротских плакова склоних пукотинама и тихим руптурама, па тиме и појачаном активацијом тромбоцита, разумљиво је зашто је њихово присуство повезано са вишим вредностима *sel-P* (114, 364). Овоме у прилог говори и то што је у овој студији такође показано и да је *sel-P* био нижи код пацијената са калцификованим и фиброкалцификованим плаковима. Управо овакви плакови су најмање склони тихим руптурама и формирању тромбова, што објашњава и зашто је ниво *sel-P* у њиховом присуству нижи (418).

Ниже серумске вредности *sel-E* код пацијената са нестабилним плаком у овој студији вероватно нису одраз смањене ендотелне експресије овог адхезивног молекула, већ су последица различитих фактора који утичу на његово ослобађање у циркулацију и регулацију његовог нивоа. На то указују претходна истраживања која су недвосмислено закључила да је регрутација леукоцита у плак посредством *sel-E* повезана са дестабилизацијом плака у свим фазама атеросклерозе (419, 420). Међутим, у овој студији је било назнака о значајном утицају различитих фактора на ниво *sel-E* који су могли да допринесу неочекиваним резултатима. На првом месту, резултати ове студије су показали позитивну корелацију између *sel-E* и *TNF-α* (Слика 4.), и ови параметри су даље показивали и сличну асоцијацију са недавним симптомима и степеном стенозе, што је објашњиво тиме што *TNF-α* може да индукује експресију *sel-E* (142). Међутим у овој студији је вероватно под дејством терапије статинима на коју је *TNF-α* осетљив, његов ниво био снижен код пацијената (Табела 4.), што је могло да допринесе и неочекиваним променама у нивоу *sel-E* (353, 354). Додатно је био показан и утицај пола и пушачког статуса на вредности *sel-E* (Слике 5. и 9.). Такође, тачан механизам ослобађања циркулишуће форме *sel-E* и услови у којима се оно одвија су и даље непознаница, тако да је могуће да се на том нивоу остварује утицај наведених фактора (253).

У оквиру СКА пацијената са тешком стенозом, једина разлика је показана за *МРО* који је био виши у присуству стабилног него у присуству нестабилног плака (Табела 18.). Ово је у супротности са претходним студијама у којима или није било разлике у вредностима *МРО* у односу на стабилност плака (421), или је његова вредност била виша код нестабилних плакова (207, 208). Ипак, овај резултат је у сагласности са другим налазом ове студије који је показао више вредности *МРО* у серуму пацијената са калцификованим и фиброкалцификованим плаковима (Слика 23.). Како они чине и највећи део групе пацијената са стабилним плаком, јасно је да је вредност *МРО* била виша у овој групи. То што је ово примећено само за пацијенте са тешком, а не и за оне са умереном стенозом, додатно усмерава на претпоставку да је виша вредност *МРО* у вези са калцификацијом, како је она више уобичајена за висок степен стенозе, него за умерен (418).

Поређење инфламаторних параметара у односу на стабилност плака одвојено код асимптоматских и симптоматских пацијената показало је по једну интересантну разлику у обе групе.

Када се пореде пацијенти са стабилним и нестабилним плаком у асимптоматској групи, где пацијенти нису имали симптом каротидне стенозе у претходних шест месеци, сматра се да грађа плака није под утицајем ранијих симптома, већ одражава природни ток болести (384). Зато стабилност, односно нестабилност асимптоматских плакова може да указује на ризик од будућих симптома, и за параметре који су повишени у присуству нестабилних плакова се може претпоставити да су такође у вези са будућим ризиком од развоја симптома.

У овој студији, једина разлика је била у вредностима *SAA*, међутим, он је код нестабилних плакова имао ниже вредности него код стабилних (Табела 17.).

Овај параметар није довољно истраживан у СКА, али неколико студија које се јесу бавиле његовим вредностима у другим кардиоваскуларним болестима су углавном повезивала *SAA* са акутном инфламацијом која веома значајно повећава ризик од настанка акутне дестабилизације плака (422), или са хроничном инфламацијом која такође доприноси повећаном ризику (140, 346). Међутим, показано је и да *SAA* има различит значај за кардиоваскуларне болести у односу на неке друге факторе ризика, пре свега гојазност и липидни статус (169, 423), а постоје и докази о његовом антиинфламаторном дејству у одређеним условима (424, 425). Тако је показано да његов ефекат делом зависи од тога да ли је *SAA* везан за липопротеинске честице, у којој мери и за које (168). Из овога се види да је његова улога сложена, и у том светлу је могуће тумачити и резултате ове студије. Овде је *SAA* био виши код симптоматских него код асимптоматских пацијената, како је објашњено раније у Дискусији, али је у оквиру асимптоматских пацијената био виши код стабилних него код нестабилних плакова. Ово упућује на то да потенцијално *SAA* генерално јесте у вези са ризиком од симптома, али је могуће да његов ниво расте тек непосредно пре њиховог настанка, или након тога, док он не учествује у спорој дестабилизацији плакова која остаје асимптоматска дуже времена. Према овим резултатима чак је могуће и да *SAA* у природном току болести испољава антиинфламаторна или нека друга протективна дејства, мада је за чврсте закључке потребно још више далеко детаљнијег истраживања.

При поређењу стабилности плака међу недавно симптоматским пацијентима, заправо се пореде пацијенти чији је каротидни плак неколико месеци након симптома задржао нестабилну морфологију, и они чији је плак неколико месеци након симптома стабилан.

Стабилан плак у овом случају може да буде последица накнадног ремоделовања и стабилизације након симптома, а може да значи и да је код ових пацијената дошло до симптома без руптуре плака, на пример ерозијом. У том светлу, поређење серумских параметара између ове две групе може да укаже на оне који су у вези са процесима стабилизације плака након руптуре, или су потенцијално у вези са ерозијом плака (138). У овом истраживању, *MPO* је био виши код симптоматских пацијената са стабилним у односу на оне са нестабилним плаком (Табела 17.). Ово може да додатно подржи претпоставку о његовој улози у калцификацији, како је у овој студији било показано да он јесте био виши код пацијената са високо калцификованим плаковима, као и то да је био виши код стабилних плакова и у оквиру пацијената са тешком стенозом. Такође, резултати из Табела 11. и 12. који су показали да је *MPO* био у вези са симптомима код умерене стенозе, а не и код тешке стенозе и нестабилних плакова, такође могу да се тумаче као подршка претпоставци о његовој улози у ерозији плака која је и у претходним истраживањима наговештена (426). Дакле, овај резултат је у слагању са осталим налазима ове студије и сви заједно они су веома значајни јер упућују на потенцијалну улогу *MPO* у калцификацији и ерозији каротидног плака.

Највећи број параметара у овој студији укључујући фибриноген, *CRP*, *PTX-3*, *IL-6*, *Lp-PLA2*, *LOX-1*, *VCAM-1*, *MMP-2*, *MMP-7* и *MMP-9* нису показали разлику у односу на стабилност плака. Ово је у супротности са великим бројем студија које су повезивале ове параметре са вулнерабилним плаковима (143, 144, 167, 217, 307, 360, 407, 427, 428, 429). Ипак, многе од ових студија су испитивале коронарне плакове и имале су другачији дизајн, а било је и студија које такође нису показале разлику у овим параметрима (160, 299, 300, 326).

5.4. Испитивање дијагностичке тачности анализираних параметара инфламације, хелијске адхезије и деградације екстрахелијског матрикса за детекцију значајних клиничких индикатора ризика код различитих група пацијената са СКА

Досадашња анализа резултата у овој студији се највише ослањала на поређење група да би се утврдило који параметри су у асоцијацији са клиничким и ултразвучним чиниоцима будућег ризика од можданог удара, те да би се тако они индиректно довели у везу и са самим ризиком. На овај начин је испитана значајност разлика ових параметара у односу на испитиване карактеристике, али за клиничку примену, много значајнија особина је дијагностичка тачност. Она говори о способности параметра да својом вредношћу правилно класификује случај, односно пацијента, у неку од категорија, односно да му припише неку клиничку особину (430). У овој студији, најважније клиничке особине пацијената су биле присуство недавних симптома и стабилност плака, а како су резултати поређења група указали на посебан значај ових карактеристика код пацијената са умереном стенозом, тако су и овде они одвојено испитани.

Када се групе пацијената пореде одговарајућим статистичким тестовима, пореде се вредности њихових медијана узимајући у обзир преклапање њихових расподела, на основу чега се одређује значајност разлике (431). Међутим, *ROC* анализа додатно квантификује ово преклапање расподела, па може да оцени колико тачно неки

параметар класификује пацијента у одређену групу, и ова анализа одређује значајност на основу тога колико је дата класификација адекватна у сваком индивидуалном случају, уместо грубог поређења два узорка. Због тога је она строжија од тестова поређења група и прикладнија за клиничку примену у којој је од значаја управо индивидуални приступ (430).

У складу са овим, од параметара који су били значајни приликом поређења група, *ROC* анализа је издвојила оне који имају потенцијалан клинички значај, док је за остале показала да упркос значајној асоцијацији са симптоматским статусом или стабилношћу плака, они немају довољну клиничку применљивост. Приликом ове анализе је, такође као и приликом поређења група, више параметара показало значај у умереној стенози него код укупних пацијената са СКА, што даље потврђује претпоставку о посебном значају инфламаторних параметара у овој групи пацијената.

За предвиђање присуства недавних симптома код укупних пацијената, у *ROC* анализи били су значајни *CRP* и *SAA*. За оба ова параметра површина испод криве имала је вредности 0,6–0,7 (Табела 19.), што не представља задовољавајући ниво дијагностичке тачности ових тестова да би се самостално користили (432), али с обзиром на мултифакторску природу ризика од симптома која намеће препознату потребу за мултидисциплинарним приступом (11), ове вредности за појединачне параметре су веома охрабрујуће за њихово укључивање у модел са више предиктора. *SAA* је претходно показао и значајну разлику између асимптоматских и симптоматских пацијената у више поређења (Табеле 10–12), тако да значајност овог параметра у *ROC* анализи за предвиђање симптома није изненађујућа. *CRP* је претходно био конзистентно виши код симптоматских пацијената у свим поређењима, и ове разлике су биле близу границе значајности у групама укупних пацијената, оних са тешком стенозом и оних са нестабилним плаком, али је нису достигле (Табеле 10–12.).

За одабране *cut-off* вредности, *CRP* је имао знатно већу осетљивост, а *SAA* већу специфичност. У складу са нискостепеном природом инфламације у кардиоваскуларним болестима, одабране *cut-off* вредности за оба параметра (2,9 mg/L за *CRP* и 8,1 µg/L за *SAA*) нису прелазиле границу њихових вредности у акутној инфламацији (433).

У *ROC* анализи за предвиђање присуства нестабилног плака ни један параметар није показао значајност, што се слаже са резултатима поређења ових група пацијената из Табеле 16., који такође нису показали значајну разлику.

Када је испитана дијагностичка тачност параметара за предвиђање присуства недавних симптома код пацијената са умереном СКА, по значајности се издвојио *MPO* (Табела 20.). Приликом простог поређења ове две групе, он је такође показао значајност, као и *PTX-3* који је био виши код асимптоматских пацијената (Табела 11.), али у *ROC* анализи није био значајан.

Површина испод криве за *MPO* је имала вредност 0,77 што је веома охрабрујућ резултат за појединачни параметар у СКА. Одабрана *cut-off* вредност од 11,3 ng/mL је била нижа од концентрација *MPO* које су у досадашњим студијама повезиване са високим кардиоваскуларним ризиком код различитих пацијената (414), и за њу је осетљивост била 89%, а специфичност 67%, што све указује на добар потенцијал овог параметра за коришћење у мултипараметарском моделу.

Испитивање дијагностичке тачности за предвиђање присуства нестабилног плака код пацијената са умереном стенозом, дало је значајне резултате за *sel-E* и *sel-P* (Табела 21.). Ови параметри су показали значајну разлику и приликом поређења пацијената са стабилним и нестабилним плаковима у оквиру групе са умереном СКА (Табела 11). Уз њих је у истом поређењу био значајан и *suPAR*, али је у *ROC* анализи он био нешто испод границе значајности (Табела 21.).

За оба селектина је површина испод криве имала вредности 0,7–0,8 са важном разликом у томе што су за присуство нестабилног плака у овој анализи биле везане вредности *sel-P* изнад, а вредности *sel-E* испод одабраног *cut-off*-а. Оба параметра су имала осетљивост од 91% и специфичност од 59% за дате *cut-off* вредности (17,6 ng/mL за *sel-E*; 14,2 ng/mL за *sel-P*), које су поново биле ниже од концентрација које су у досадашњим студијама довођене у везу са повећаним кардиоваскуларним ризиком (167, 434).

У закључку, анализа дијагностичке тачности испитиваних параметара је издвојила по један или два параметра који су били значајни за успешно предвиђање присуства нестабилног плака или недавних симптома код пацијената са умереном стенозом, док је код укупних пацијената значајних резултата било само за предвиђање симптоматског статуса.

Добијени резултати су указали на умерен дијагностички значај појединачних параметара, али су помогли у усмеравању даље анализе.

Важно је приметити да су добијене *cut-off* вредности за сваки параметар биле уочљиво ниже од оних које су у литератури повезиване са значајним кардиоваскуларним ризиком у студијама на пацијентима са коронарном болешћу, можданим ударом, или у општој популацији пацијената са каротидном стенозом степена 50–99%. Такође, дате *cut-off* вредности углавном су се налазиле на средини или у левој половини расподеле код укупних СКА пацијената у овој студији. Заједно ово потврђује да се код пацијената са умереном стенозом ниво инфламаторних параметара мења унутар уског опсега, задржавајући ниже вредности, без драстичног повећања какво постоји у акутним стањима и код теже стенозе. У том светлу, то што је показано да ове суптилне промене нивоа јесу значајне у односу на показатеље ризика попут недавних симптома и нестабилног плака, додатно упућује на то да оне заиста јесу у специфичној вези са ризиком код умерене стенозе.

5.5. Формулација модела за предвиђање вероватноће присуства симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА и испитивање и поређење њихове дијагностичке тачности

Испитивање дијагностичке тачности анализом *ROC* криве потврдило је познату чињеницу да је уместо коришћења појединачних параметара неопходно комбиновати их ради боље процене ризика (135). Из тог разлога даље су формиран различити бинарни логистички регресиони модели са циљем што боље дискриминације између пацијената код којих је присутан неки показатељ ризика попут симптоматског статуса и нестабилног каротидног плака, и оних код којих он није присутан.

Пошто је фокус ове студије на серумским инфламаторним параметрима, испитивани су модели сачињени само од ових параметара, па су они поређени са моделима који не садрже серумске параметре, као и са моделима који комбинују серумске и остале параметре.

Дијагностичка тачност испитиваних параметара је процењивана *ROC* анализом формулисаних модела који су након тога и међусобно упоређени, такође преко поређења одговарајућих површина испод *ROC* кривих. Додатно су перформансе добијених модела упоређење рачунањем *NRI* и *IDI* вредности.

Важно је имати у виду да број испитаника у овој студији није био довољно велики да стабилност и поузданост резултата логистичке регресионе, као ни *ROC* анализе, буде задовољавајућа, посебно унутар групе пацијената са умереном стенозом којих је било тек 34 (435, 436). Због овога се добијени резултати могу сматрати чисто експлораторним, што и јесте у складу са тиме да је ово мала прелиминарна студија. Ипак, и оваква анализа је сасвим довољна за уочавање генералних закључака везаних за то колики је значај инфламаторних лабораторијских параметара у односу на друге, рутински доступне показатеље будућег ризика, какви су ултразвучни параметри и фактори ризика.

5.5.1. Формулација модела за предвиђање вероватноће присуства симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА

За сва три испитивана предвиђања – присуства недавних симптома код укупних пацијената, недавних симптома код пацијената са умереном стенозом и присуства нестабилног плака код пацијената са умереном стенозом, формиран су модели од инфламаторних параметара који су претходно показали значајност у униваријантној логистичкој регресионој анализи. Параметри који су се истицали у овим моделима су најчешће били управо они који су показали асоцијацију са симптоматским статусом и морфологијом плака и у претходним анализама дијагностичке тачности или поређења група.

У ове мултиваријантне моделе укључиван је мали број од укупних параметара, зато што највећи број параметара није био значајан ни у униваријантној анализи, а то је свакако и било неопходно због малог броја података и опасности од оверфитовања оваквих модела. С обзиром на то, било је додатно интересантно приметити како су чак и модели који комбинују предиктивну моћ само два лабораторијска параметра показали значајне резултате на овако малом броју података, тако да је могуће претпоставити да би модели са већим бројем података који би могли да укључе и више предиктора, могли да покажу и већи значај од овде добијеног.

Даље је испробано формулисање модела за иста предвиђања, али без употребе лабораторијских параметара. У овој студији, то је дакле остављало демографске карактеристике и факторе ризика, а од ултразвучних параметара плака – степен стенозе и морфолошку стабилност као једине доступне. Добијање значајних модела заснованих на овим параметрима је било веома тешко. У њима није било независних предиктора, а чак и када је добијена некаква статистичка значајност, она је била далеко слабија него у осталим моделима. Осим тога, с обзиром на саму природу параметара који су

укључивани у ове моделе (ИТМ и нестабилност плака – 1Б, хроничне бубрежне болести и степен стенозе – 2Б, пол и присуство хиперлипидемије – 1В), било је јасно да они сами по себи не би могли да буду довољно клинички значајни. Наравно, тренутно постоје далеко напреднији ултразвучни параметри за које је показана јака предиктивна вредност, као и веза са ризиком (11), и да су они били укључени у ову студију, сигурно би било интересантно испитати како би се понашали модели засновани само на њима, као и то да ли би они били унапређени када се прошире лабораторијским параметрима инфламације. Ипак, ови ултразвучни параметри углавном и нису још увек инкорпорирани у рутинску праксу, тако да доступни подаци у овој студији заправо јесу репрезентативни за стање у основној рутинској пракси, и на њима може да се покаже колико додатних информација о ризику могу да пруже испитивани лабораторијски параметри. Дакле, оно што је показано формулацијом ових модела (1Б, 2Б, 3Б) је заправо била само потврда већ познате чињенице да основни и лако доступни демографски подаци и фактори ризика уз класичне ултразвучне параметре немају сами по себи довољно јаку везу са другим показатељима ризика. Зато се може посматрати као да су и овој студији предиктивне карактеристике датих модела представљале некакву базну линију граничне значајности наспрам које је било могуће измерити значајност лабораторијских параметара.

Интересантно је приметити и да су ови модели имали сличну стопу правилне класификације пацијената, али су детектовали значајно мањи део симптоматских, односно пацијената са нестабилним плаком, у односу на моделе од инфламаторних параметара. Ово указује на то да су они већински само класификовали пацијенте као да немају стање од интереса (недавне симптоме или нестабилан плак), што уз све друго наведено потврђује да овакви модели иако могу да имају статистички значај, не показују стварну везу са испитиваним аспектима ризика.

Овако лоше перформансе модела без инфламаторних параметара, осим што јасно индикују значај употребе инфламаторних параметара у процени ризика, такође се слажу и са наводима из најновијих водича о потреби укључивања детаљнијих ултразвучних параметара у процену ризика (11). Треба ипак имати на уму и да је могуће да одсуство везе између фактора ризика и недавних симптома и нестабилности плака делимично потиче од фармаколошке терапије за контролу ових фактора ризика, коју је користила већина испитаника. Иако ова чињеница отежава доношење закључка у датој анализи, и она такође осликава реално стање у рутинској пракси када је потребно проценити ризик код пацијената који свакако већински користе фармаколошку терапију.

Комбинација два претходно формулисана модела – са и без инфламаторних параметара, у сва три случаја је резултовала нешто јачим моделом од претходна два, што може бити и просто због већег броја предиктора на истом броју података. Иако број од четири предиктора на моделе са по 30-ак података није статистички потпуно коректан (437), у овој студији је то било оправдано, с обзиром на то да њен циљ и није био формулација коначног модела за даљу клиничку валидацију, већ се у њој моделовање користило само као статистички алат за генералну оцену значаја инфламаторних параметара наспрам осталих рутински доступних параметара.

У овим комбинованим моделима су само поједини инфламаторни параметри задржавали своју независност у односу на укључене факторе ризика/ултразвучне параметре, што је додатно помогло да се уоче најзначајнији од њих. Овиме је додатно потврђена претпоставка о великом потенцијалу серумских инфламаторних параметара

за предвиђање ризика код пацијената са СКА.

Осим лабораторијских параметара, једини независан предиктор у комбинованим моделима је била нестабилност плака у моделу за предикцију симптоматског статуса код укупних СКА пацијената (модел 1В), што само потврђује познате наводе да је сама морфологија плака пресуднија за развој симптома од степена стенозе који тај плак проузрокује (105, 109, 110).

5.5.1.1. Предвиђање вероватноће присуства симптома код укупних пацијената са СКА

Параметри који су били значајни приликом анализе дијагностичке тачности за симптоматске пацијенте у укупној СКА групи, *CRP* и *SAA*, показали су значајност и у униваријантој бинарној логистичкој регресији. Оба су је задржали и у мултиваријантној анализи која их је комбиновала у заједнички модел, уз незнатно ниже вредности односа шанси (Табела 22.). Овај модел је правилно класификовао више од три четвртине пацијената, при чему је успешно детектовао нешто мање од половине симптоматских пацијената, уз високу статистичку значајност.

Покушај формулације модела без укључивања лабораторијских параметара показао се као далеко тежи. Ни један од бројних демографских, фактора ризика и ултразвучних параметара испитиваних у студији није био значајан у униваријантној анализи, а ни њихово различито комбиновање у мултиваријантној анализи у великој већини случајева није давало статистички значајан модел. Једина комбинација ових параметара која се показала као значајна био је модел који је укључивао стабилност плака и индекс телесне масе (Табела 23.). Међутим, он је успешно класификовао тек 6% симптоматских пацијената и имао је далеко мању статистичку значајност од модела сачињеног од лабораторијских параметара.

Модел 1В настао комбиновањем модела 1А и 1Б је показао сличне или незнатно лошије резултате у односу на модел формиран од лабораторијских параметара (1А). Иако је релативно висок проценат укупних пацијената исправно класификован, само мање од трећине симптоматских пацијената је детектовано, док је статистичка значајност била слична ($p=0,003$). У овом моделу независни предиктори су били *SAA* и стабилност плака (Табела 24.).

Иако је очекивано да је присуство нестабилног каротидног плака у вези са недавним симптомима, овај налаз је интересантан зато што потврђује да је ниво *SAA* у асоцијацији са симптомима независно од морфологије самог каротидног плака. Ово упућује на могућност да *SAA* одражава ниво системске инфламације који сам по себи доприноси дестабилизацији плакова широм васкулатуре и повезан је са симптомима каротидне болести неvezано за локалне факторе који утичу на грађу самог каротидног плака (110, 134). У том случају он има потенцијал да пружи додатну информацију о будућем ризику коју ултразвучни параметри који оцењују локалне факторе везане за саму каротидну артерију не могу да дају, тако да би њихова комбинација у неком свеобухватнијем моделу потенцијално могла да буде корисна, и свакако би је вредело испитати. Овоме у прилог говоре и резултати поређења група у овој студији који су показали да су се укупни имптоматски и асимптоматски пацијенти разликовали једино према вредностима *SAA* (Табела 10.).

Важно је приметити да су сва три модела за предвиђање присуства недавних симптома код СКА пацијената имала релативно висок проценат правилно класификованих података, али како су симптоматски пацијенти били мањина у укупној групи испитаника, очекивано је и да би модел који све податке класификује као контроле, односно све пацијенте као асимптоматске, могао да има висок проценат правилно класификованих података. Из тог разлога је додатно обрађена пажња и на то који проценат случајева, односно симптоматских пацијената је правилно класификован као случај. Ако се посматра тај аспект описаних модела, може се приметити да је овај проценат правилно класификованих симптоматских пацијената био највиши код модела заснованог само на лабораторијским параметрима, а најнижи код модела који у себи није садржао лабораторијске параметре. Из тога се може закључити да су лабораторијски параметри успешније детектовали случајеве, док су остали параметри већински класификовали податке само као контроле, односно асимптоматске пацијенте.

5.5.1.2. Предвиђање вероватноће присуства симптома код пацијената са умереном СКА

За исправну класификацију симптоматских пацијената са умереном стенозом, у униваријантној логистичкој регресији као значајни лабораторијски параметри издвојили су се *SAA* и *MPO* (Табела 25.). Када су они комбиновани у заједничком моделу, то је резултовало у правилној класификацији 82% случајева, са идентификованих близу 70% симптоматских пацијената и значајношћу $p=0,006$. У овом моделу, независан предиктор је остао једино *MPO*, што је у складу и са резултатима *ROC* анализе, где је он показао значајност, док *SAA* није, мада јесте имао површину испод криве већу од 0,5 (Табела 20.).

Исто као и при испитивању укупних пацијената, демографски фактори, фактори ризика и ултразвучни параметри нису били значајни у појединачној логистичкој регресионој анализи. Од њихових различитих комбинација, само једна је показала статистичку значајност, и то је био модел који је укључивао степен стенозе и присуство хроничне бубрежне болести као предикторе (Табела 26.). Ипак, ни у овом моделу није било независних предиктора, тек око трећина симптоматских пацијената је правилно идентификована, а и статистичка значајност је била мања него у претходном моделу ($p=0,041$).

Када су претходна два модела комбинована заједно, једини значајан независни предиктор био је *MPO* при чему је показано да његове вредности изнад *cut-off*-а добијеног *ROC* анализом (11,3 *ng/mL*) 11 пута повећавају шансу да је пацијент са умереном стенозом имао недавне симптоме (Табела 27.). Овај комбиновани модел је правилно класификовао највећи број испитаника, али је проценат исправно идентификованих симптоматских пацијената био мањи него када су предиктори били само лабораторијски параметри што је слично као у моделу за предвиђање симптома код укупних пацијената, показало да су лабораторијски параметри они који најбоље детектују симптоматске пацијенте и у групи са умереном стенозом.

5.5.1.3. Предвиђање вероватноће присуства нестабилног плака код пацијената са умереном СКА

За класификацију пацијената са умереном стенозом према стабилности плака, карактеристике модела су биле нешто другачије него за класификацију према недавним симптомима. Као прво, што се тиче лабораторијских параметара, у униваријантној логистичкој регресионој анализи значајни су били и параметри који су показали добар дијагностички потенцијал у анализи *ROC* криве, *sel-E* и *sel-P*, али су били значајни и додатни параметри који су у *ROC* анализи били нешто испод границе значајности, *suPAR* и *MMP-7* (Табеле 21. и 28.). Због малог броја података и случајева у овој групи испитаника, нису сва четири параметра укључена у мултиваријантни модел, и уместо тога су испитани сви могући модели настали комбинацијама по два од ова четири параметра. Интересантно је приметити да су сви ови модели били значајни и да су имали сличан проценат правилно класификованих и укупних података и случајева, односно пацијената са нестабилним плаком. Међутим, у свим моделима осим у једном, само је један од два параметра био независан предиктор, тако да је за даљу анализу коришћен управо модел са оба независна предиктора, а то је био модел који је укључивао *suPAR* и *sel-P*. Он је показао јаку статистичку значајност, исправно је класификовао 82% испитаника и правилно идентификовао чак 73% нестабилних каротидних плакова (Табела 29.).

Поново, као и у претходној анализи, осим наведених лабораторијских параметара није било других значајних предиктора у униваријантној регресији. Коришћењем мултиваријантне логистичке регресије, пронађен је само један модел који показује статистичку значајност без укључивања лабораторијских параметара, и он је садржао мушки пол и присуство хиперлипидемије као предикторе присуства нестабилног плака код умерене стенозе (Табела 30.). Иако сви ови фактори и јесу раније повезани са нестабилношћу плака (35, 52), овај модел је имао тек граничну статистичку значајност ($p=0,047$).

Комбиновани модел наведених лабораторијских параметара и фактора ризика је показао већу значајност од претходна два ($p=0,001$), и исправно је класификовао 82% пацијената, уз детекцију 82% пацијената са нестабилним плаковима. У овом моделу независни предиктори су били оба лабораторијска параметра, и *suPAR* и *sel-P* (Табела 31.).

Дакле, у овој студији су једино за предвиђање присуства нестабилног плака код умерене СКА некакав значај имали и не-лабораторијски параметри, али они поново нису били независни предиктори, и само повећање процента исправно идентификованих нестабилних плакова након њиховог укључивања није било знатно.

5.5.2. Испитивање дијагностичке тачности модела за предвиђање вероватноће појаве симптома и присуства нестабилног плака код пацијената са СКА и њихово поређење

Генерално посматрано, сви логистички регресиони модели су показали бољу дијагностичку тачност за препознавање недавних симптома и присуства нестабилног

плака у односу на појединачне лабораторијске параметре, као што је било и очекивано. У сваком од три предвиђања, модели без инфламаторних параметара (1Б, 2Б, 3Б) су показали најслабије резултате и имали су најмање површине испод криве у *ROC* анализи. Модели сачињени само од инфламаторних параметара (1А, 2А, 3А) и комбиновани модели који су укључивали инфламаторне и остале параметре (1В, 2В, 3В) имали су међусобно сличне вредности површине испод криве и статистичке значајности у *ROC* анализи, с тим да су комбиновани модели углавном били незнатно бољи (Табеле 19–21).

Дакле, за предвиђање присуства недавних симптома код укупних СКА пацијената, сва три модела су била статистички значајна, а приликом поређења њима одговарајућих *ROC* кривих *de Long*-овим тестом показано је да се површине испод њих не разликују значајно. Вредности површина испод кривих су се кретале од 0,66 за модел без инфламаторних параметара (1Б) до 0,72 за комбиновани модел (1В) (Табела 32.). Сва ова три модела су генерално имала најмање вредности испод *ROC* кривих у односу на моделе формулисаних у групи пацијената са умереном стенозом. То поново сугерише чињеницу да су за што тачнију процену ризика погодније подгрупе веће клиничке хомогености у односу на генералну популацију СКА пацијената, као и да је можда ризик код пацијената са умереном стенозом под већим утицајем системске инфламације и других системских фактора ризика.

За предвиђање присуства недавних симптома међу пацијентима са умереном стенозом, различити модели су имали вредности површине испод криве од 0,70 за модел без инфламаторних параметара (2Б) до 0,88 за комбиновани модел (2В), с тим да модел без инфламаторних параметара није био статистички значајан у овој анализи, док остала два модела јесу (Табела 33.).

Поређење површина испод *ROC* кривих је ригидан тест који не узима у обзир да ли су те површине уопште статистички значајно различите од 0,5 (438, 439) али у овом случају је чак и такав тест указао на разлику између модела 2Б и 2В, доказујући да комбиновани модел има бољу дијагностичку тачност од модела у који нису били укључени инфламаторни параметри.

Модели за предвиђање присуства нестабилног плака у умереној стенози су имали највише вредности површина испод кривих. Оне су износиле од 0,73 за модел без инфламаторних параметара (3Б) до 0,90 за комбиновани модел (3В). Модел сачињен само од инфламаторних параметара је имао површину испод криве од 0,84 (Табела 34.). Ово је лако објашњиво када се има на уму да је системска инфламација у директнијој вези са нестабилношћу каротидног плака, него са самим настанком симптома на који осим нестабилности плака утиче и велики број других фактора од којих нису сви у вези и са инфламацијом (440). Сва три модела су била статистички значајна у *ROC* анализи, мада је модел без инфламаторних параметара био тек нешто изнад границе статистичке значајности. Поново, тест поређења површина испод кривих ова три модела је показао значајну већу површину испод *ROC* графика комбинованог модела у односу на површину испод криве за модел без инфламаторних параметара.

Дакле, најважнији налази ове анализе дијагностичке тачности формулисаних модела, били су показана предност испитивања хомогенијих подгрупа у односу на укупне СКА пацијенте и јасно показана корист од укључивања инфламаторних параметара у предикцију ризика.

Важно је приметити да је приликом испитивања пацијената са умереном стенозом

величина узорка (34 испитаника) била знатно мања него код испитивања укупних пацијената (119 испитаника). Заиста, у складу са тиме су добијени шири интервали значајности у групи са умереном стенозом, као што је приказано у Табелама 32–34, али упркос томе и на тако малом узорку добијена је статистичка значајност уз још веће вредности површина испод кривих него у укупној групи пацијената. Ово је било у сагласности и са резултатима поређења пацијената према симптоматском статусу/стабилности плака, када је такође показано да је више значајних разлика било присутно код умерене стенозе него код укупних пацијената. Све заједно ово поново недвосмислено упућује на то да је асоцијација системске инфламације са нестабилношћу плака и недавним симптомима заиста јача код умерене стенозе, него код тешке у којој су присутни и додатни фактори ризика (99, 416).

За поређење *ROC* кривих добијених на основу предвиђених вероватноћа различитих модела добијених на истој групи испитаника, коришћен је *de Long* тест за хомогене *ROC* криве. Овај тест је доста строжији од теста за поређење хетерогених *ROC* кривих због чега теже уочава значајне разлике. Поред тога, математички се овај тест заснива на рангирању података због чега није осетљив на разлике у самим вредностима предвиђене вероватноће (438, 439). Из тог разлога, да би се перформансе ових модела сагледале у широј слици тако да се јасније види колики је допринос лабораторијских, а колики допринос осталих предиктора комбинованом моделу коришћене су додатне анализе, рачунање *NRI* и *IDI* вредности.

Нето унапређење рекласификацијом је статистички параметар модела који показује колико је класификација појединачних случајева на основу датог модела успешна, и овај параметар је осетљивији за промене у самим вредностима предвиђене вероватноће од *de Long* теста. Међутим, он успешност класификације помоћу датог модела процењује на основу сврставања података у одговарајуће категорије ризика, тако да сама *NRI* вредност зависи од тога колико су добро постављене границе категорија ризика (441). С обзиром да за СКА не постоји устаљена класификација ризика заснована на предвиђеној вероватноћи која би се могла усвојити и у овој студији, овде су границе категорија ризика одређене према перцентилима вредности предвиђене вероватноће. Када се и ова чињеница узме у обзир, може се закључити да је рачунање *NRI* за моделе у овој студији било важно пре свега јер овај статистички параметар више одговара самим вредностима предвиђених вероватноћа које *de Long*-ов тест не узима у рачуницу и стога може да прикаже разлику у испитиваним моделима из другачијег угла. Дакле, овде вредности *NRI* не говоре о правом унапређењу класификације појединих случајева, с обзиром да одабране вредности категорија ризика нису клинички засноване, већ су ту само ради оријентационог поређења модела.

Интегрисано унапређење дискриминације се сматра још осетљивијим параметром за процену корисности одређених предиктора у моделу. То је зато што његова вредност не зависи од арбитрарне категоризације ризика, већ искључиво од сирових вредности предвиђених вероватноћа. Овај параметар показује колико су добро помоћу датих модела диференцирани случајеви и контроле, и то не појединачно, већ интегрисано. Иако и овај начин испитивања предиктивног потенцијала биомаркера има својих недостатака, при чему се оспорава поузданост усвојеног начина рачунања вредности вероватноће *p*, у овој студији ни то не представља значајан проблем, пошто је главни разлог коришћења ове анализе био то да се на неки начин упореде лабораторијски параметри као предиктивни биомаркери са осталим рутински доступним ултразвучним и другим параметрима, те се никакви кључни закључци нису доносили на основу самих *p* вредности (442).

Дакле, у овој студији и за предвиђање симптоматског статуса код укупних и пацијената са умереном стенозом, као и за предвиђање присуства нестабилног плака код пацијената са умереном стенозом, најбоље резултате су показивали комбиновани модели 1В, 2В и 3В. У том контексту главна идеја анализе модела помоћу *NRI* и *IDI* вредности била је да се процени колики је допринос тим комбинованим моделима од стране лабораторијских, а колики од стране других доступних параметара.

Када су испитиване перформансе комбинованих модела (1В, 2В, 3В) наспрам одговарајућих модела који су укључивали само не-лабораторијске предикторе (1Б, 2Б, 3Б), заправо је процењиван допринос лабораторијских предиктора комбинованим моделима. Овде је очигледно било показано побољшање модела у значајној мери, како су у сва три случаја вредности *IDI* биле позитивне и статистички значајне, а вредности *NRI* такође позитивне и статистички значајне у два од три случаја (Табела 35.). То је указало да лабораторијски параметри не само да доприносе статистичкој снази модела, већ се на њихов рачун унапређује тачност класификације на основу модела као и генерална дискриминаторна моћ модела.

У случају модела за предвиђање присуства симптома код умерене стенозе где добијени *NRI* није био статистички значајан, док *IDI* јесте, то упућује да можда одабране категорије ризика према квантилима нису биле одговарајуће да детектују постојећу значајну квантитативну разлику предвиђених вероватноћа ових модела која је показана кроз *IDI* вредност.

Са друге стране, када су испитиване перформансе комбинованих модела (1В, 2В, 3В) наспрам одговарајућих модела који су укључивали само лабораторијске предикторе (1А, 2А, 3А) чиме је процењиван допринос не-лабораторијских параметара комбинованим моделима, резултати су били знатно лошији. Ни у једном од три случаја, ни *NRI* ни *IDI* нису били статистички значајни, саме њихове вредности су биле видно ниже него у претходном случају, а добијене вредности *NRI* су код оба модела за умерену стенозу чак биле и негативне, што је указало да су не-лабораторијски параметри у овим моделима чак уназадили успешност класификације појединачних случајева (Табела 36.).

Из наведеног се јасно могло закључити да је снага комбинованих модела у овој студији већински почивала на предиктивној моћи лабораторијских параметара, што је додатно показано и при самој формулацији модела, где су независни параметри у мултиваријантној анализи углавном били управо лабораторијски параметри.

5.6. Одређивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА и испитивање њихове повезаности са анализираним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса, као и са значајним клиничким и ултразвучним карактеристикама СКА

Након испитивања повезаности специфичних параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса са значајним аспектима стенозе каротидне артерије, слична анализа је поновљена и за рутинске лабораторијске

параметре од значаја. Циљ ове анализе је био да се потврди да ли је потреба за специфичнијим инфламаторним параметрима поред лако доступних рутинских параметара заиста оправдана, као и да се евентуално идентификују и поједини рутински параметри који би могли да буду додатно корисни за проширење формулисаних модела.

5.6.1. Испитивање концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА

У све три групе испитаника – код пацијената са СКА, са другим КВБ и код здравих испитаника, вредности рутинских лабораторијских параметара су се већински налазиле у опсегу референтних интервала/препоручених вредности. Ипак, и у том оквиру неколико параметара је показало значајну разлику међу групама. Највише разлика је било између група пацијената и здравих испитаника, као што је и очекивано, а само два параметра су се разликовала између пацијената са СКА и са другим КВБ. У складу са природом кардиоваскуларних болести, параметри који су показали значајну разлику су махом били различити леукоцити, тромбоцити, липидни параметри и различити индекси који се из њих изводе (Табела 37.).

Пацијенти су имали више вредности укупних леукоцита, неутрофила и моноцита него здрави испитаници, што је одраз хронично одржаване инфламације у свим фазама атеросклерозе, и у складу је са неспецифичном природом имуног одговора у овој болести где примарну улогу имају ћелије урођене имуности (443). Додатно, концентрација моноцита се разликовала између две групе пацијената и била је нижа код СКА него код осталих кардиоваскуларних болести. Претходна истраживања су показала да моноцити играју важну улогу у развоју атеросклеротских болести и њихових симптома, али да је њихова улога веома комплексна јер зависи од фазе инфламације и разликује се између различитих подтипова моноцита, те да активност и концентрација сваког од ових подтипова пружају далеко значајније информације од самог броја укупних моноцита (444). Из тог разлога овај резултат сам по себи није довољан за доношење претпоставки о специфичности њиховог значаја код каротидне у односу на остале атеросклеротске болести.

И тромбоцити су били повишени код пацијената са СКА у односу на здраве испитанике. Ово је такође очекивано с обзиром да се атеросклеротске болести одликују хроничним прокоагулантним окружењем које је у вези и са хроничном активносту инфламаторних цитокина који стимулишу тромбозу (445).

Зато што је неповољан липидни статус један од главних фактора ризика СКА и других кардиоваскуларних болести, његова терапијска контрола је уобичајена међу пацијентима (43), и њен степен се одразио и на добијене резултате у овој студији. Вредности *HDL*-холестерола су биле више код здравих испитаника у односу на пацијенте са другим кардиоваскуларним болестима, али не и у односу на пацијенте са СКА. Такође, вредности *LDL*-холестерола су биле ниже код пацијената са СКА у односу на остале пацијенте, што све указује на бољу терапијску контролу липидног статуса код СКА пацијената у нашој студији.

5.6.2. Анализа повезаности рутинских лабораторијских параметара са испитиваним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА

Корелације рутинских лабораторијских параметара са специфичним параметрима инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса испитиване су у групама пацијената и код здравих испитаника ради добијања додатних информација које би могле да укажу на измењену регулацију или активност ових молекула у СКА.

У складу са тиме да сви испитивани специфични параметри или имају улогу у инфламацији, или су њоме регулисани, највише значајних и интересантних корелација са њима су показали леукоцити. Еритроцитни и тромбоцитни параметри углавном нису имали значајну повезаност са специфичним параметрима и испитивање њихових корелација је само потврдило неколико већ добро утврђених асоцијација.

Неколико рутинских метаболичких параметара је показало интересанте корелације са испитиваним специфичним параметрима, док су корелације са липидним параметрима биле значајно измењене услед статинске терапије, због чега су многе очекиване корелације изостале. У складу са овим, када су додатно испитивани само СКА пацијенти који нису користили статине, добијено је и неколико додатних значајних корелација.

5.6.2.1. Леукоцити

Како је приказано на Слици 31., број укупних леукоцита је у овој студији очекивано позитивно корелирао са фибриногеном и *CRP*-ом, али је показао и негативну корелацију са *TNF- α* и *IL-1 β* – цитокинима чија се продукција индукује локално, а не на централном нивоу у јетри, као што је случај са протеинима акутне фазе (146, 182, 188). Даље, иако је очекивано да је концентрација солубилних адхезивних молекула у вези са леукоцитима, ове корелације су изостале код пацијената са СКА, и биле су присутне или само код здравих испитаника (*sel-E*) или у свим групама осим у СКА (*sel-P*). Све ово указује на комплексну регулацију адхезивних молекула у атеросклерози која је под утицајем већег броја фактора како на локалном, тако на системском нивоу, због чега одступа од обрасца понашања који се примећује у одсуству болести.

Појединачне врсте леукоцита су показале другачије обрасце корелација. Моноцити, еозинофили и базофили углавном нису корелирали са другим испитиваним параметрима специфично у СКА групи, док су неутрофили и лимфоцити показали највећи број значајних корелација за ову групу, али су оне често биле супротног смера (Слика 31.). Ово је интересантан налаз, зато што су ранија истраживања показала да неутрофили који учествују у неспецифичном имуном одговору често у атеросклерози значајно доприносе инфламаторном оштећењу ендотела у раним фазама, док је активност лимфоцита строжије контролисана и често има репараторну улогу у каснијим фазама. Из овог разлога и индекс неутрофила и леукоцита (*NLR*) је истраживан као потенцијални биомаркер ризика од кардиоваскуларног морталитета (446, 447). Дакле, могуће је да се супротно деловање неутрофила и лимфоцита у различитим фазама атеросклерозе одразило и на њихове корелације са специфичним

инфламаторним параметрима испитиваним у овој студији.

Тако је показано да су лимфоцити негативно корелирали са протеинима акутне фазе са којима су неутрофили корелирали позитивно. За пацијенте са СКА карактеристична је била позитивна корелација неутрофила са *SAA*, као и негативна корелација лимфоцита са *PTX-3*. Познато је да *SAA* делује хемоатрактантно на неутрофиле (169), као и да активност неутрофила повећава везивање *SAA* за *LDL* честице, што појачава његову атерогеност (168, 170). Ово указује на синергистичку везу између неутрофила и *SAA* у условима атеросклерозе и у том светлу је и њихова корелација у овој студији разумљива. Са друге стране, *PTX-3* је укључен у одговор урођеног имунитета и у многим студијама је показивана корелација његовог нивоа у плаку или циркулацији са неутрофилима, моноцитима и макрофагама, због чега је његова корелација са лимфоцитима у овој студији неуобичајен налаз. Ипак, она је била присутна само код пацијената са СКА, а познато је да и *PTX-3* и лимфоцити у атеросклерози имају улоге које се прилагођавају сложеном окружењу и регулишу подешавање инфламације уз ограничење њеног оштећујућег дејства, па се може претпоставити да у том контексту постоје и механизми који индиректно условљавају ову корелацију (448).

Неутрофили и лимфоцити су корелирали са различитим цитокинима код здравих испитаника и пацијената са осталим кардиоваскуларним болестима, али код пацијената са СКА, једина корелација је постојала између неутрофила и *TNF- α* . Она је била присутна и у свим осталим групама испитаника, што и јесте у складу са кључном улогом коју *TNF- α* има у контроли апоптозе неутрофила и њихове трансмиграције у ендотел (449, 450).

Изостанак многих других очекиваних корелација леукоцита са цитокинима је у слагању са поменутом претпоставком да код СКА долази до утицаја додатних патолошких фактора на ниво инфламаторних параметара због чега њихове вредности одступају од уобичајених образаца.

Код пацијената са СКА, корелације неутрофила и лимфоцита са адхезивним молекулима показале су очекиване резултате, како су неутрофили корелирали са *sel-P*, а лимфоцити са *VCAM-1*, што је у складу са њиховим улогама у везивању различитих класа леукоцита (241, 451).

Неутрофили нису били у вези са нивоима матриксних металопроотеиназа код пацијената са СКА, док су лимфоцити у овој групи корелирали само са *MMP-9*. Та корелација је била посебно интересантна с обзиром да је код СКА била негативна, док је код пацијената са осталим КВБ била позитивна. У досадашњим истраживањима, више пута је доказана веза између атеросклеротских болести и *MMP-9*, тако да је овај параметар сматран најзначајнијим потенцијалним маркером кардиоваскуларног ризика од свих матриксних металопроотеиназа (452). Међутим, резултати ове студије нису потврдили значај *MMP-9* за СКА, и у том светлу, добијене супротне корелације са лимфоцитима у две групе пацијената могу да наговесте потенцијално објашњење. Оне указују на другачији образац понашања овог параметра у СКА у односу на друге КВБ. Заиста, познато је да су лимфоцити један од главних извора *MMP-9* код пацијената са коронарном болешћу након инфаркта миокарда и да је овај ензим повећано експримиран у нестабилним коронарним плаковима (453). Ипак, другачији резултати се добијају испитивањем појединачних субпопулација лимфоцита код атеросклерозе друге локализације или степена, па је тако показано и да код пацијената са СКА постоји негативна корелација између *MMP-9* и Т-регулаторних лимфоцита (299). То указује да

је могуће објашњење негативне корелације укупних лимфоцита и *MMP-9* у овој студији вероватно то да је она последица специфичне промене у заступљености различитих субпопулација лимфоцита у овој болести.

Све корелације које су испитивни специфични инфламаторни параметри показали са *NLR* били су у складу са корелацијама неутрофила и лимфоцита из којих је *NLR* рачунат, тако да овај параметар није показао никакав додатни значај.

Број моноцита код пацијената са СКА корелирао је једино са фибриногеном и *CRP*-ом, али ове корелације су биле присутне и у свим другим групама и нису биле карактеристичне за ову болест. Са друге стране, интересантно је било да је корелација моноцита са *sel-P* изостала само код пацијената са СКА. Овај селектин је важан адхезивни молекул за моноците који експримирају његов лиганд, па је њихова корелација свакако очекивана (454), али добијени налази указују да је могуће да код пацијената са СКА и многи други фактори везани за болест значајно утичу на експримирање или ослобађање солубилног облика *sel-P*. Ово се слаже и са другим резултатима ове студије који јесу показали везу између концентрације *sel-P* и ултразвучних карактеристика каротидног плака.

Вредности *MLR* индекса показале су очекиване корелације с обзиром на резултате добијене за моноците и лимфоците.

У овој студији број еозинофила је у групама пацијената корелирао са *suPAR*, са адхезивним молекулима и матриксним металопроотеиназама, а код пацијената са СКА карактеристична је била корелација еозинофила са *IL-6*. Она је у СКА била позитивна, док је код пацијената са другим КВБ, исто као и код здравих испитаника, била негативна. Иако еозинофили нису класа леукоцита од примарног значаја за КВБ, у многим студијама су забележене промене њиховог броја код пацијената са атеросклерозом у односу на здраве испитанике. Међутим, различити резултати су доводили и повишен и снижен број еозинофила у везу са ризиком, због чега се претпоставља да је њихова улога сложена (455). Ипак, негативна корелација између еозинофила и *IL-6* је више очекивана, с обзиром да су еозинофили део *Th-2*, а *IL-6* је део *Th-1* имуног одговора, при чему ови одговори у атеросклерози углавном делују антагонистички (456). Налаз позитивне корелације еозинофила са *IL-6* код пацијената са СКА упућује на специфични образац имуности где је могуће присутан мешовити *Th-1/Th-2* имуни одговор, или може да буде у вези и са директном секрецијом *IL-6* од стране еозинофила (457).

За разлику од еозинофила, базофили нису показали ни једну значајну корелацију у групи пацијената са СКА.

5.6.2.2. Еритроцитни параметри

Веза између инфламације и еритроцитних параметара у хроничним болестима попут атеросклерозе генерално почива на супресији хематопоезе и скраћењу животног века еритроцита (458). У атеросклерози, еритроцити могу да учествују у патологији на локалном нивоу када доспевају у плак услед хеморагије, где доприносе оксидативном стресу и расту некротског језгра, али овај процес се најчешће не одражава на еритроцитне параметре у циркулацији (459).

Као што је приказано на Слици 31., у овој студији, код СКА пацијената еритроцити и њихови параметри углавном нису били у корелацији са испитиваним специфичним параметрима инфламације. Реактанти акутне фазе, фибриноген и *CRP* јесу негативно корелирали са бројем еритроцита и хемоглобином, што је очекивано на основу претходних истраживања (460, 461), али осим ова два параметра, од преосталих петнаест, само су четири показала некакву корелацију. Више вредности *IL-6* су биле у вези са мањом просечном запремином еритроцита, а *VCAM-1* са нижим садржајем хемоглобина у еритроцитима и вишим индексом анизоцитозе, што јесте у складу са поменутиим утицајем инфламаторних цитокина на супресију еритропоезе (458). Са друге стране, *TNF- α* је позитивно корелирао са бројем еритроцита, а *MPO* са *MCV* и *MCH*, али су ове корелације биле изузетно слабе ($r < 0,160$) и вероватно немају клинички значај.

5.6.2.3. Тромбоцитни параметри

Тромбоцити експримирају поједине рецепторе који одговарају на инфламаторне стимулансе, док и сами могу да секретују одређен број инфламаторних цитокина, на чему се заснива њихова тесна веза са процесом инфламације (462). Ове ћелије су важан фактор у атеросклерози како због улоге у тромбози, тако и због своје улоге у инфламацији, али интеракције између инфламаторних сигнала и тромбоцита се углавном остварују на локалном нивоу и често се не одражавају значајно на укупан ниво тромбоцита и њихових параметара у циркулацији (463). У складу са тиме, ни у овој студији тромбоцити и њихови параметри нису показали велики број значајних корелација са испитиваним инфламаторним маркерима (Слика 31.). Број тромбоцита позитивно је корелирао са фибриногеном у свим групама испитаника, што је у складу са физиолошком повезаношћу њихових улога у хематопоези и представља очекиван резултат (464). Такође је позитивно корелирао и са *VCAM-1* у свим групама, и ово је у слагању са претходним налазима да активирани тромбоцити индукују експресију овог адхезивног молекула (465). Такође, тромбоцити су корелирали са *CRP*-ом само код пацијената са СКА. И ово је у складу са претходним истраживањима која показују да број тромбоцита расте у одговору на инфламацију, па тако код патолошких стања са инфламаторном позадином, они корелирају са бројним класичним инфламаторним параметрима, укључујући и *CRP* (466).

Средњи волумен тромбоцита је одраз неколико фактора од којих су многи у вези са њиховом активношћу и захваљујући томе многе студије су претпоставиле да је овај параметар у вези са ризиком од тромбозе код атеросклеротских болести (467–469). У овом истраживању, *MPV* је слабо негативно корелирао са *IL-1 β* и *MMP-2* код пацијената, а са *VCAM-1* је у свим групама испитаника корелирао позитивно. Корелација са *VCAM-1* је поново у складу са чињеницом да активирани тромбоцити могу да индукују овај адхезивни молекул (465), а негативне корелације са *IL-1 β* и *MMP-2* су неочекиване, с обзиром да су ови параметри у вези са активираним тромбоцитима који обично имају и већи волумен (470, 471). Упркос статистичкој значајности, ове корелације су биле веома слабе, тако да је њихов реални значај упитан, али би могуће могли да указују на утицај додатних фактора присутних у болести који мењају однос везе између ових параметара.

Само код пацијената са СКА, концентрација *Lp-PLA2* је била у корелацији са ширином

дистрибуције величине тромбоцита. Овај ензим разграђује фактор активације тромбоцита, па на тај начин може да буде у вези са мањим волуменом тромбоцита, али са друге стране, овом разградњом настају проинфламаторни молекули који даље могу да допринесу и активацији тромбоцита, која је опет у вези са њиховим већим волуменом (472). С обзиром на ово, није изненађујућ налаз да је код пацијената са вишим концентрацијама *Lp-PLA2* и униформност величине тромбоцита мања.

Однос тромбоцита и лимфоцита (*PLR*) корелирао је позитивно са *TNF- α* , док ни тромбоцити ни лимфоцити појединачно нису корелирали са овим цитокином. Ова корелација је одраз специфичне регулације инфламаторног одговора од стране *TNF- α* и у сагласности је са претходним студијама које су показале да инхибиција *TNF- α* доводи до снижавања *PLR* индекса (473).

5.6.2.4. Рутински метаболички параметри

Утврђено је да су код пацијената сви испитивани параметри из ове групе – глукоза, уреа, креатинин и мокраћна киселина – значајно корелирали са *Lp-PLA2* и *LOX-1*, молекулима који се налазе у вези како са оксидативним оштећењем и последичном инфламацијом, тако и са метаболизмом липопротеина (193, 217). Глукоза је корелирала негативно са ова два параметра, и то само код пацијената са СКА, док су уреа, креатинин и мокраћна киселина корелирали позитивно са њима, и то не само код СКА пацијената, него и код осталих група (Слика 32.).

Негативна корелација глукозе са *Lp-PLA2* и *LOX-1* само код СКА пацијената је могуће била везана за то што је у овој групи било значајно више пацијената са дијабетесом него у осталим групама испитаника, како је и показано да код СКА пацијената без дијабетеса ове корелације нису више биле значајне. Код пацијената са дијабетесом, ниво глукозе зависи од ефикасности терапије, тако да његова корелација са наведеним инфламаторним параметрима вероватно нема клинички значај.

Позитивна корелација урее и креатинина са *Lp-PLA2* и *LOX-1* указује на слабију функцију бубрега код пацијената са вишим степеном инфламације и измењеним метаболизмом липопротеина. Ова повезаност је очекивана, а то што је била присутна код свих група испитаника додатно потврђује да дате корелације нису специфично значајне за СКА.

Додатно су само код пацијената са СКА уочене и корелације са одређеним инфламаторним параметрима, и то поново негативна корелација између глукозе и *PTX-3*, као и позитивна корелација између креатинина и *IL-6* (Слика 32.).

У овој студији *PTX-3* је био нижи код недавно симптоматских пацијената, што је у слагању са претходним студијама које су претпоставиле његово протективно имунорегулаторно дејство (162, 163). У том светлу није изненађујуће што је овај параметар негативно корелирао са глукозом, како је хипергликемија важан метаболички фактор ризика за кардиоваскуларне болести (58). Више вредности *PTX-3* у овој студији нису биле у асоцијацији са нижим вредностима глукозе код пацијената који су поред СКА имали и дијабетес, већ само код пацијената без дијабетеса, што упућује да ова корелација вероватно није била заснована на утицају патолошких или терапијских фактора присутних у дијабетесу. У ранијим истраживањима је уочена

позитивна корелација између *PTX-3* и експресије *GLUT-4* транспортера на мишићима, као и инверзна асоцијација *PTX-3* са гојазношћу и инсулинском резистенцијом (474), што додатно подржава налазе ове студије.

Корелација између креатинина и *IL-6* код СКА пацијената у овој студији је очекивана, и у слагању је са истраживањима која су потврдила да је овај параметар у вези са слабијом бубрежном функцијом, као један од учесника инфламаторног оштећења (475).

5.6.2.5. Параметри липидног статуса

Параметри липидног статуса, као и индекси рачунати из њих, показали су малу повезаност са испитиваним инфламаторним параметрима код пацијената са СКА, док је код пацијената са осталим КВБ било више значајних корелација. Иако ово може да указује на утицај специфичних фактора присутних у СКА, веома је могуће и да је на изостанак већег броја корелација утицала терапија статинима, која јесте била заступљена у већем проценту код пацијената са СКА у односу на пацијенте са осталим КВБ (Табела 7.). Осим што статини утичу на смањену синтезу холестерола, ови лекови имају и антиинфламаторно дејство које се одражава и на концентрацију различитих инфламаторних параметара, због чега ови лекови могу у веома значајној мери да утичу на испитивање корелација између липидних и инфламаторних параметара (476). Зато су ове корелације даље одвојено испитане код СКА пацијената који су користили статине и код оних који их нису користили, а на овај начин је показано неколико додатних корелација којих није било када су сви СКА пацијенти посматрани укупно.

Код укупних пацијената са СКА, пре раздвајања на две групе у односу на употребу статина, параметри липидног статуса су показали корелације са *TNF- α* и *VCAM-1* (Слика 33.). Корелације са иста ова два параметра задржале су се и након поделе према статинској терапији, али се утицај статина могао приметити на нивоу њихових асоцијација са *LDL*-холестеролом. Док је *VCAM-1* свуда корелирао са укупним холестеролом, његове корелације са *LDL*- и *non-HDL*-холестеролом су се изгубиле код пацијената на статинима и биле су присутне само код оних који нису користили статине (Слике 35. и 36.). Са друге стране, *TNF- α* је код укупних пацијената корелирао са *HDL*-холестеролом позитивно, а код пацијената на статинима је додатно и негативно корелирао са *LDL*- и *nonHDL*-холестеролом. Код пацијената који нису користили статине, *TNF- α* није имао значајних корелација са параметрима липидног статуса (Слике 35. и 36.).

Претходна истраживања указују на комплексну повезаност *TNF- α* и метаболизма липида, како је у различитим студијама показано да терапијско блокирање овог цитокина на липидни профил остварује и повољна и неповољна дејства (477–479). Резултати добијени у овој студији указују на асоцијацију *TNF- α* са повољнијим липидним профилом, али само код пацијената који користе статине, што је у складу са претходним налазима о утицају статина на инхибицију *TNF- α* (480).

Када је у питању *VCAM-1*, неколико студија је утврдило позитивну корелацију његове експресије са нивоом холестерола, што је објашњено утицајем неповољног липидног статуса на активацију ендотела (481, 482). Такође, истраживања су показала и утицај статина на снижавање експресије овог адхезивног молекула (483). Међутим, ниво солубилног *VCAM-1* је знатно мање испитиван у овом контексту, па се може

претпоставити да су добијени неочекивани резултати негативне корелације овог молекула са укупним и *LDL*-холестеролом последица утицаја различитих фактора на ослобађање ове солубилне форме (484). Како је негативна корелација са *LDL*-холестеролом изостала код употребе статина, може се претпоставити и да су неки од ових фактора такође под утицајем статинске терапије.

Само код пацијената који нису користили статине додатно су показане позитивна корелација између *MPO* и триглицерида, позитивна корелација између *LpPLA-2* и *HDL*-холестерола, негативна корелација између *LpPLA-2* и атерогеног индекса плазме, као и негативна корелација *sel-P* са *HDL*-холестеролом (Слика 36.).

Кроз свој допринос оксидативном стресу, *MPO* неповољно утиче и на метаболизам липида, што је потврђено и кроз налазе различитих студија о корелацији овог ензима са липидним параметрима (485, 486). И добијени резултат позитивне корелације између *MPO* и триглицерида у овој студији је у складу са овим.

Добијени налази корелација *LpPLA-2* су у супротности са претходним истраживањима у којима је овај ензим корелирао позитивно са *LDL*-холестеролом, а негативно са *HDL*-холестеролом (487). У циркулацији је *LpPLA-2* највећим делом везан за *LDL* честице, а само око једне трећине укупног ензима циркулише у оквиру *HDL*-а и претпоставља се да доприноси дисфункционалности тих честица (193). У том светлу, позитивна корелација *LpPLA-2* са *HDL*-холестеролом у овој студији може да указује на то да код СКА пацијената *LpPLA-2* доприноси ризику преко свог утицаја на дисфункционалност *HDL* честица. Како ове корелације није било код пацијената који су користили статине, могуће је претпоставити и да ова терапија има утицај на асоцијацију *LpPLA-2* са *HDL*-ом (488).

Негативна корелација *LpPLA-2* са атерогеним индексом плазме је вероватно потицала из позитивне корелације са *HDL*-холестеролом, како се он користи за рачунање овог индекса.

Добијена негативна корелација *HDL*-холестерола са *sel-P* представља очекивани налаз с обзиром на антиинфламаторно дејство које ове липопротеинске честице остварују на ендотел, и ови резултати су потврђени у бројним претходним студијама (489, 490).

5.6.3. Анализа повезаности рутинских лабораторијских параметара са значајним клиничким и ултразвучним карактеристикама СКА

Испитивање рутинских лабораторијских параметара у контексту симптоматског статуса, тежине стенозе и ултразвучно одређене морфологије плака, као најзначајније је издвојило поједине леукоцитне, тромбоцитне, липидне параметре и њихове индексе. Леукоцитни параметри су били у вези са морфологијом, односно стабилношћу плака, а од њих су најзначајнији били неутрофили и различити индекси који укључују вредности неутрофила, лимфоцита и моноцита, *NLR*, *PLR* и *MHR*. Додатно су *NLR* и *PLR* били повезани и са симптоматским статусом. Од тромбоцитних параметара најзначајнији су били они везани за њихову величину, *MPV* и *PDW*, који су били у асоцијацији и са тежином стенозе и са стабилношћу плака. Од липидних параметара најзначајнији је био *HDL*-холестерол који је показао повезаност са симптоматским статусом и са стабилношћу плака, док су и укупни холестерол и триглицериди такође

били повезани са стабилношћу плака.

Овакви резултати су потпуно очекивани с обзиром на патофизиологију атеросклерозе и већински су били у складу и са претходним налазима. Ипак, показане асоцијације рутинских лабораторијских параметара са аспектима ризика од можданог удара су биле малобројне и умерено значајне, тако да је ова анализа још једном указала на потребу за увођењем нових, специфичнијих маркера чија би комбинација могла да поузданије упућује на будући ризик.

5.6.3.1. Испитивање повезаности рутинских лабораторијских параметара са симптоматским статусом пацијената са СКА

Међу одређиваним рутинским параметрима највећу повезаност са присуством недавних симптома показали су укупни и *HDL*-холестерол. Вредности оба ова параметра су биле значајно више код претходно асимптоматских него код симптоматских пацијената (Табела 38.), а разлика је примећена и у односу на врсту симптома. Пацијенти који су недавно доживели ТИН/РИНД имали су сличне вредности као асимптоматски пацијенти, док је значајна разлика била присутна између асимптоматских и пацијената који су недавно доживели блажи мождани удар (Слика 39.). У складу са тим, показано је и да су пацијенти са блажим можданим ударом имали ниже вредности *HDL*-холестерола од оних који су имали лакше симптоме, ТИН и РИНД (Слика 47.).

Ови резултати су донекле очекивани, како је познато да је дислипидемија важан фактор ризика у кардиоваскуларним болестима, укључујући и СКА (51). То што су симптоматски пацијенти имали ниже вредности укупног холестерола је веома вероватно последица терапијског деловања статинске терапије која је често интензивирана након доживљеног симптома. Иако није било значајне разлике у заступљености употребе статина између симптоматских и асимптоматских пацијената у овој студији (Табела 7.), нису узети у обзир многи други фактори који су могли да утичу на крајњу меру терапијског ефекта, попут почетних вредности параметара липидног профила, интензитета и дужине употребе терапије, тачног лека који се користи, као и комплијансе пацијената, што је све могло да утиче на дати резултат (491).

Са друге стране, како је ефекат статина на повећање *HDL*-холестерола далеко слабији, овај параметар показује директнију везу са ризиком од будућих симптома која је у складу са његовим познатим протективним дејством (492). Управо из овог разлога може се тврдити да је у овој студији најзначајнију асоцијацију са ризиком од будућих симптома СКА међу основним параметрима липидног статуса показао *HDL*-холестерол. То је у сагласности и са бројним претходним студијама у којима је показано да је нижи ниво *HDL*-холестерола значајан фактор ризика за развој можданог удара (493, 494). Додатно је интересантан налаз да је он био значајно нижи само код пацијената који су претходно имали блажи мождани удар, а не и код пацијената са лакшим симптомима попут ТИН и РИНД. Главна разлика између ових симптома је у томе што ТИН и РИНД не остављају трајно исхемијско оштећење попут онога након можданог удара (76), па се на основу ових резултата може претпоставити да је и *HDL*-холестерол један од протективних фактора који утичу на последице мождане исхемије. Ова претпоставка је

предложена и у ранијим истраживањима (495, 496).

Након раздвајања СКА пацијената према тежини стенозе, није показана ни једна разлика у односу на симптоматски статус, како код пацијената са умереном, тако ни код пацијената са тешком стенозом. Раздвајање пацијената према тежини стенозе и одвојено испитивање тих група се показало као веома значајно за специфичне параметре инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса одређиване у овој студији, како је указало да другачији параметри имају асоцијацију са појавом симптома у овим групама. То што је овакав резултат изостао за рутинске параметре додатно потврђује посебан потенцијал специфичних параметара инфламације у вези са СКА.

Код СКА пацијената са стабилним плаком такође није било разлике у рутинским параметрима између симптоматских и асимптоматских пацијената, међутим симптоматски пацијенти са нестабилним плаком су имали значајно више вредности креатинина, *NLR* и *PLR* индекса у односу на асимптоматске пацијенте са нестабилним плаком (Слика 40.).

Овај резултат указује на повезаност наведених параметара са појавом симптома у вези са нестабилним каротидним плаком и у слагању је са претходним наводима из литературе. Хроничне болести бубрега су препознате као један од фактора који доприносе дестабилизацији каротидне стенозе и последичном развоју симптома, што је вероватно објашњење и за примећену разлику у вредности креатинина у овој студији (65). Неутрофили имају важну улогу у каротидној атеросклерози, како ове ћелије секретују протеолитичке ензиме, деривате арахидонске киселине, супероксидне радикале, као и цитокине који доприносе дестабилизацији плака, и у складу са овим показано је да *NLR* индекс одражава хроничну нискостепену инфламацију у вези са нестабилном атеросклерозом, при чему су његове више вредности у вези са повећаним ризиком. Тромбоцити су у вези са ризиком од каротидних симптома како због централне улоге коју имају у тромбози, тако и због своје улоге у регулацији инфламације преко продукције цитокина и активације комплемента, и овај аспект ризика се одражава у вредности *PLR* индекса која је виша код пацијената са вишим ризиком. Оба индекса, и *NLR* и *PLR* су претходно показала значајну разлику између симптоматских и асимптоматских пацијената са каротидном стенозом, а *NLR* је био и у вези са нестабилном морфологијом каротидног плака (497).

5.6.3.2. Испитивање повезаности рутинских лабораторијских параметара са тежином стенозе пацијената са СКА

Иако у досадашњим истраживањима углавном није уочен потенцијал рутинских лабораторијских параметара за предвиђање степена каротидне стенозе, у овој студији је показана асоцијација мокраћне киселине и *MPV*-а са тежином СКА.

Мокраћна киселина доприноси стимулацији инфламаторног одговора, повећању активности тромбоцита и може да утиче на пролиферацију васкуларних глатких мишићних ћелија и на ендотелну дисфункцију (498, 499). Захваљујући овим познатим механизмима и уоченој асоцијацији са различитим аспектима атеросклерозе, висок ниво мокраћне киселине се сматра једним од неklasичних фактора ризика у КВБ. Ипак, поставља се и питање о томе да ли асоцијација између кардиоваскуларних болести и

мокраћне киселине почива само на њеној повезаности са другим факторима ризика попут дислипидемије, дијабетеса и хипертензије, а такође и многе студије нису успеле да потврде било какву значајну везу између мокраћне киселине и КВБ (500).

Што се СКА тиче, мокраћна киселина је најчешће истраживана из аспекта преклиничке атеросклерозе, и више оваквих студија је утврдило њену везу са дебљином *cIMT*, што је потврђено и у мета-анализи (501). Не постоји велики број резултата који повезују ниво мокраћне киселине и степен каротидне стенозе код пацијената са значајном стенозом, али у овој студији је показано и да су пацијенти са тешком стенозом и нестабилним плаком имали значајно више вредности мокраћне киселине од пацијената са умереном стенозом и нестабилним плаком (Слика 42.). Ово указује да мокраћна киселина јесте у асоцијацији са тежином стенозе код пацијената са СКА, а да је ова веза посебно изражена код нестабилног плака. У складу са овим, претходне студије су уочиле и везу мокраћне киселине са дестабилизацијом плака (502), а укупну слику повезаности овог параметра са различитим аспектима ризика од симптома СКА допуњују и други налази. Тако је чак показано и да симптоматски каротидни плакови имају виши степен експресије ксантин-оксидазе у односу на асимптоматске, што је такође у вези са вишим вредностима мокраћне киселине код ових пацијената (503), а утврђено је и да је ниво мокраћне киселине у вези са ризиком од кардиоваскуларног морталитета код пацијената са асимптоматском СКА (504).

У бројним истраживањима кардиоваскуларних болести *MPV* се издвојио као тромбоцитни параметар који показује предиктивни потенцијал у вези са током и исходом болести (505). Овај параметар добро одражава функцију и активност тромбоцита, како је показано да су велики тромбоцити реактивнији, брже агрегирају са колагеном, продукују више тромбоксана А2 и отпорнији су на инхибицију од стране простациклина од тромбоцита мање величине. Израженији одговор тромбоцита на оштећење ендотела значајно доприноси настанку и прогресији атеросклеротске лезије, а кроз тромбогену активацију и интеракцију са леукоцитима доприноси и дестабилизацији плака и развоју симптома (467). У складу са оваквом механистичком везом, резултати ове студије су показали да је *MPV* већи код пацијената са тешком него код оних са умереном каротидном стенозом (Табела 39. на страни 135), насупрот различитим студијама које су утврдиле да степен стенозе није у корелацији са величином тромбоцита (467, 468).

Осим што је значајна разлика у вредностима *MPV*-а била уочена између укупних пацијената са умереном и тешком стенозом, она је постојала и у подгрупама асимптоматских пацијената и пацијената са нестабилним плаком, где је такође вредност овог параметра била виша код пацијената са вишим степеном стенозе (Слике 41. и 42.). Како је веза *MPV*-а са тежином стенозе постојала само код пацијената без скорашњих симптома, а не и код асимптоматских, може се претпоставити да овај параметар више прати хроничну прогресију стенозе и да је измењен у периоду након симптома, вероватно под утицајем процеса зацелења и ремоделовања плака у којем и тромбоцити такође учествују (506).

Асоцијација *MPV*-а, али и *PDW*-а са тежином стенозе је такође утврђена и код пацијената који су имали нестабилан плак, док код стабилног плака ови параметри нису одражавали тежину стенозе (Слика 42.). Овај налаз је у складу са чињеницом да реактивност тромбоцита има далеко већу улогу у прогресији плакова који су захваћени активним инфламаторним и тромботским процесима него у фиброзним и калцификованим плаковима код којих ови процеси нису изражени (506).

Повезаност *MPV*-а са ризиком од развоја симптома СКА и исходом ове болести било је предмет одређеног броја истраживања која су показала супротне резултате, тако да је ово питање и даље остало без коначног закључка (467, 468). Тако и у овој студији, мада је јасно уочена веза овог параметра са тежином стенозе као једног од фактора ризика за развој симптома, *MPV* није био повезан са претходно симптоматским статусом или морфологијом плака, због чега је тешко извести јединствен закључак о његовом значају за СКА без даљег истраживања.

5.6.3.3. Испитивање повезаности рутинских лабораторијских параметара са стабилношћу каротидног плака код пацијената са СКА

Међу пресудним факторима за стабилност плака налазе се величина липидног језгра, локална инфламаторна активност и протромботско окружење (66). У складу са тиме, од рутинских лабораторијских параметара испитиваних у овој студији, повезаност са морфолошким карактеристикама стабилности плака су показали поједини липидни, леукоцитни и тромбоцитни параметри.

Пацијенти са нестабилним каротидним плаком имали су ниже вредности *HDL*-холестерола и, у складу са тим, више вредности атерогеног индекса плазме од пацијената са стабилним плаком (Табела 40.). Када се узму у обзир претходно објашњени резултати који су показали асоцијацију између *HDL*-холестерола и симптоматског статуса, може се тврдити да је и у овој студији *HDL*-холестерол истакнут као значајан фактор ризика код пацијената са СКА. Директно антиатерогено дејство које *HDL* остварује реверзним транспортом холестерола доводи *HDL*-холестерол у јаку инверзну везу са кардиоваскуларним ризиком, што је потврђено у многим студијама коронарне артеријске болести (507, 508). Осим тога, показано је да је овај параметар у вези са ризиком од развоја каротидног плака, и са ризиком од цереброваскуларних симптома (509). Постоји и студија која је испитујући разлике између пацијената са значајном СКА који имају ехоген и ехолуцентан плак утврдила да су вредности *HDL*-холестерола ниже код оних са ехолуцентним плаковима (510), што директно подржава и резултате ове студије.

Разлику у односу на стабилност плака показали су и триглицериди који су били значајно виши код асимптоматских пацијената у присуству нестабилног плака (Слика 44.). И када су посматрани сви СКА пацијенти укупно, више триглицериде су имали они са мешовитим нестабилним плаком, док су ниже триглицериде имали пацијенти са стабилним фиброзним плаком (Слика 43.). Ови резултати су у складу са претходним истраживањем коронарних плакова које је утврдило да су вредности триглицерида биле више код пацијената са нестабилним карактеристикама плака (511). Сматра се да се ефекат високих триглицерида на развој атеросклерозе и дестабилизацију плака остварује директно кроз допринос активацији ендотела и одржавању инфламације, а у складу са тим, показана је и независна асоцијација између овог параметра и кардиоваскуларних догађаја, чак и код пацијената са оптималним нивоом *LDL*-холестерола (512).

Укупни леукоцити су били значајно виши код пацијената са нестабилним у односу на оне са стабилним плаком, како у целокупној испитиваној групи (Табела 40.), тако и у подгрупи пацијената са тешком стенозом (Слика 47), док у подгрупи пацијената са

умереном стенозом ове разлике није било. И раније студије су утврдиле везу између броја леукоцита и вулнерабилних карактеристика каротидног плака (513, 514), али умерена и тешка стеноза су ретко испитиване одвојено, тако да овај налаз захтева додатно разматрање. Супротно овим резултатима, анализа нерутинских инфламаторних параметара у оквиру ове студије указала је да инфламација потенцијално има већу улогу у дестабилизацији плакова код пацијената са умереном стенозом него код оних са тешком. Ово сугерише да укупан број леукоцита као један од општих параметара инфламације могуће показује само генерални тренд вишег степена инфламације у вези са присуством нестабилних плакова, док други специфичнији инфламаторни параметри одражавају поједине вулнерабилне карактеристике које могу бити од већег значаја код умерене стенозе (515, 516).

Од појединачних класа леукоцита, као и у досадашњим резултатима, поново су најзначајнији били неутрофили и леукоцити.

Неутрофили су попут укупних леукоцита, били виши у присуству нестабилног плака у целокупној групи пацијената са СКА (Табела 40.), као и у подгрупи са тешком стенозом (Слика 47.). Додатно је показано да су неутрофили били виши код пацијената са улцерисаним плаковима, а нижи код пацијената са стабилним, фиброкалцификованим плаковима (Слика 43.). На сличан начин, и у другим студијама у којима је утврђена разлика у броју укупних леукоцита у односу на стабилност плака, она је била праћена и разликом у броју неутрофила, а не и других класа леукоцита (513, 514). Ово је у слагању са резултатима претходних студија који имплицирају најдиректнију везу између неутрофила и вулнерабилности плака, у односу на друге класе леукоцита. Тако је познато да неутрофили учествују у нерегулисаном инфламаторном одговору који делује оштећујуће на ендотел и дестабилизује настале лезије кроз секрецију еластазе, мијелопероксидазе и матриксних металопроотеиназа. Насупрот томе, друге класе или немају велики значај, попут базофила и еозинофила, или су попут лимфоцита, део прилагођеног имуног одговора са сложеним и променљивим ефектом (517).

Значај улоге неутрофила у дестабилизацији каротидног плака и настанку последичних симптома потврдиле су бројне студије на овим пацијентима. Тако је присуство неутрофила у каротидним плаковима доведено у везу са хистолошким карактеристикама плака склоног руптури (518). Број неутрофила у крви је био независно повезан са дугорочним кардиоваскуларним морталитетом код пацијената са асимптоматском СКА (519), а код пацијената са недавним симптомима је овај параметар био у асоцијацији са микроемболизацијама, за које се сматра да су показатељи ризика од ране рекуренције симптома, односно поновљеног можданог удара (520). Наведени резултати нису показани ни за једну другу класу леукоцита у датим студијама.

Разлика према стабилности плака је добијена и за лимфоците, као и за однос неутрофила и лимфоцита, *NLR*.

Лимфоцити могу да препознају антигене изложене на атеросклеротском плаку и као сопствене, и као стране, а у зависности од тога покреће се другачији имуни одговор посредован различитим подкласама лимфоцита који може да води или толеранцији или уклањању ових антигена. Ако дође до њиховог уклањања, то може да делује протективно на даљи развој атеросклерозе и да допринесе стабилизацији плака. Са друге стране, ако до овога не дође већ они буду толерисани, лимфоцити се даље

укључују у одржавање инфламације и доприносе развоју и дестабилизацији плака. Из овог разлога, и ниске и високе вредности лимфоцита су у различитим студијама биле повезане са кардиоваскуларним ризиком (521).

Оваква сложена имунорегулаторна улога лимфоцита одразила се и на резултате ове студије. Тако је број лимфоцита био виши код пацијената са нестабилним мешовитим плаком у односу на остале типове плака (Слика 43.), што је у складу са њиховом улогом у системској инфламацији која доприноси дестабилизацији плакова (522). Међутим, *NLR* је био значајно виши код пацијената који су након недавних симптома имали нестабилан плак у односу на оне који су имали стабилан (Слика 45.), што је исто показано и у недавној студији која је испитивала стабилност плака након скорашњег можданог удара (523). То потенцијално указује на другачије дејство лимфоцита након симптома, односно након руптуре или ерозије плака. На то упућује чињеница да је нижи *NLR* одраз виших лимфоцита, а он је био присутан код пацијената код којих је у првим месецима након симптома каротидни плак био стабилан. Овај налаз је, дакле, у складу са препознатом улогом лимфоцита у ремоделовању и опоравку ткива након оштећења (524), али и са студијама које су указале на њихову улогу у регресији атеросклерозе (525), као и повезаност ниских лимфоцита са лошијим исходом кардиоваскуларних болести (526).

Поред наведених липидних и леукоцитних параметара, у овој студији је асоцијацију са грађом каротидног плака показала и вредност *MHR* индекса. Овај индекс изражава однос броја моноцита и концентрације *HDL*-холестерола, два параметра која су на супротан начин повезана са атеросклерозом и кардиоваскуларним ризиком. Моноцити представљају кључне имуне ћелије у свим фазама атеросклеротског процеса, и као прекурсори макрофага које трансформацијом у пенасте ћелије чине основу липидног језгра плака, али и као извор кључних проинфламаторних цитокина који одржавају локалну инфламацију. Са друге стране, *HDL* честице као носиоци реверзног транспорта холестерола могу да допринесу смањењу липидног језгра плака, а остварују и антиинфламаторно дејство (527). Такође постоје докази и да *HDL* честице директним и индиректним механизмима могу да допринесу смањењу активације моноцита, њихове инфилтрације у ендотел, као и трансформације у макрофаге (527, 528). У вези са овим, више вредности *MHR* индекса се повезују са кардиоваскуларним ризиком. *MHR* је у овој студији био виши код укупних пацијената са нестабилним плаком у односу на оне са стабилним (Табела 40.), а додатно је код мешовитог нестабилног плака овај индекс био виши него код осталих типова (Слика 43.). Посебно је значајно што је ова асоцијација *MHR*-а са нестабилношћу плака била присутна и одвојено код асимптоматских и пацијената са умереном стенозом (Слике 44. и 46.). То је зато што су управо ово подгрупе које захтевају највећи опрез у процени ризика од будућих симптома при одабиру терапије (528), а такође су и претходни налази ове студије указали да можда баш код пацијената са умереном стенозом инфламаторни параметри имају већу повезаност са ризиком. У складу са овим, и једна студија која је испитивала грађу каротидног плака управо код асимптоматских пацијената са умереном стенозом указала је на виши *MHR* код оних са нестабилним плаком (528). То је такође била и једна од малобројних студија које су испитивале значај овог индекса специфично код СКА, док је највећи број осталих укључивао хетерогене групе кардиоваскуларних пацијената, или пацијенте са коронарном болешћу. Друге студије су показале повезаност *MHR*-а са ризиком од формирања каротидног плака (529), тежином коронарне стенозе (530) ризиком код инфаркта миокарда (531), прогнозом можданог удара (527) и др.

И поједини тромбоцитни параметри су показали асоцијацију са стабилношћу плака у овој студији, и то су били исти они који су показали значај и при поређењу пацијената према тежини стенозе, *MPV* и *PDW*. Међутим, иако је *MPV* био виши код пацијената са тежом стенозом (Табела 39.), био је нижи код пацијената са нестабилним плаком у односу на оне са стабилним. Овај налаз је био присутан само у групи пацијената са умереном стенозом, где је био праћен и вредностима *PDW*-а које су такође биле ниже код нестабилног плака (Слика 46.).

Дакле, у умереној стенози је просечна величина тромбоцита која одражава њихову реактивност била мања него у тешкој, али је у оквиру тих нижих вредности постојала додатна разлика у односу на стабилност плака, где су код нестабилног плака тромбоцити били униформнији по величини и мањи него код стабилног.

То потенцијално упућује на могућност да повишена реактивност тромбоцита није од толиког значаја за дестабилизацију мањих плакова, већ да је код њих присуство нестабилних карактеристика у асоцијацији са мањом величином тромбоцита, док додатно и вредности *PDW*-а указују на то да је ова популација мањих тромбоцита доминантнија него код стабилног плака где су тромбоцити хетерогенији по величини. Ова асоцијација мање величине тромбоцита и нестабилности плака код умерене стенозе вероватно није директна већ може да буде последица утицаја одређених инфламаторних или неких других фактора који су хронично присутни у атеросклерози. Овоме у прилог говори једна студија на пацијентима са стабилном коронарном болешћу која је показала негативну корелацију *MPV*-а и неких инфламаторних параметара, као и то да је повећани ризик од будућих кардиоваскуларних догађаја био виши код пацијената са мањим *MPV*-ом. Ова студија такође примећује да су њени резултати у супротности са резултатима везаним за нестабилне облике коронарне болести и слично као ова студија, указује на то да су могуће другачији механизми присутни у односу на стабилност атеросклерозе и тежину стенозе (532). Додатно у прилог овој хипотези говори и чињеница да је и у овој студији *MPV* био у негативној корелацији са *IL-1β*. У сваком случају, вредности *MPV*-а код ових пацијената су већински биле и даље у оквиру референтног интервала, што говори о томе да се потенцијални утицај наведених фактора испољава тек у умереној мери.

Наведена асоцијација вероватно нема шири клинички значај, како већина претходних истраживања упућује на то да су више вредности *MPV*-а као одраз повећане реактивности тромбоцита значајан предиктор кардиоваскуларних догађаја (467, 533).

Значајна улога тромбоцита у вези са дестабилизацијом плака и последичним симптомима СКА потврђена је и кроз вредности *PLR* индекса које су код симптоматских пацијената биле повезане са нестабилношћу плака (Слика 45.), слично као што су код пацијената са нестабилним плаком биле повезане са недавним симптомима (Слика 40.), како је раније објашњено. Ово је у сагласности и са претходном студијом која је утврдила да је *PLR* независни предиктор можданог удара код пацијената са СКА (534).

5.7. Снага и ограничења истраживања

Основна снага датог истраживања је у следећем:

1. Ово истраживање се бави клинички релевантним питањем ризика од цереброваскуларних догађаја у вези са каротидном стенозом. Прилази му из аспекта серумских биомаркера који је актуелан, али и даље недовољно истражен. При томе се бави специфичним нерутинским параметрима који се налазе у механистичкој повезаности са самим клиничким питањем.
2. Као сурогат маркери ризика од možданог удара користе се клинички валидирани показатељи ризика – недавни симптоми, тежина каротидне стенозе и морфолошка грађа каротидног плака.
3. Узорак СКА пацијената је добро дефинисан и диференциран је са две контролне групе – пацијентима са различитим другим КВБ и здравим испитаницима.
4. Испитивани серумски параметри су изабрани на основу добро установљене патофизиолошке повезаности са испитиваном болешћу, и међу њима се налазе параметри из различитих група молекула које одражавају различите аспекте атеросклеротског процеса.
5. Коришћени аналитички приступ обради резултата био је поступан и инкременталан, тако да су напредније статистичке анализе биле подржане и засноване на претходним фундаменталнијим анализама. Ово је допринело слојевитости и поузданости добијених закључака.
6. Статистичка анализа је била стратификована и допринела је идентификацији подгрупа пацијената код којих испитивани параметри могу да имају посебан значај. Оваква анализа подржава концепт персонализованог и стратификованог приступа процени ризика.
7. Добијени резултати представљају чврсту основу за будуће лонгитудиналне студије већег обима које би могле да валидирају предиктивну вредност испитаних параметара код специфичних подгрупа пацијената са СКА.

Упркос наведеним снагама, резултати ове студије захтевају интерпретацију која узима у обзир и постојећа ограничења:

1. Пресечни дизајн истраживања онемогућава директну процену клиничких исхода. Коришћење сурогат маркера исхода омогућава испитивање само асоцијације испитиваних параметара са ризиком, а не и испитивање узрочно-последичне зависности или стварне предиктивне вредности испитиваних параметара.
2. Иако је укупан број испитаника био адекватан и релативно велики, стратификована анализа је довела до недовољне величине узорка за поједина испитивања у одређеним подгрупама што је смањило статистичку снагу анализа и омогућило доношење само генерализованих закључака. Ипак, ово је пружило значајне смернице за избор испитиване популације у будућим студијама.
3. Комплексност инфламаторних параметара, а пре свега њихов мањак специфичности за испитивану патологију и подложност утицају бројних фактора ограничавају могућност прецизне и искључиве интерпретације добијених резултата.

6. Закључци

Претходно описано испитивање серумских параметара инфламације, ћелијске адхезије и деградације екстраћелијског матрикса код пацијената са СКА у овој студији омогућило је доношење следећих сумарних закључака:

1. Одређивање и анализа концентрације параметара инфламације (*IL-1 β* , *TNF- α* , *IL-6*, *CRP*, *PTX-3*, фибриноген, *SAA*, *LOX-1*, *LpPLA-2*, *MPO*, *suPAR*), ћелијске адхезије (*Sel-E* и *Sel-P*) и деградације екстраћелијског матрикса (*MMP-2*, *MMP-7*, *MMP-9*) у серуму пацијената са СКА, пацијената са другим КВБ и здравих испитаника показало је следеће:
 - Вредности испитиваних параметара у СКА показале су асиметричну расподелу на десну страну, карактеристичну за ограничени узорак клинички хетерогених испитаника са нискостепеном инфламацијом.
 - Вредности испитиваних параметара су се код пацијената са СКА налазиле у сличном опсегу као код пацијената са другим КВБ. Поједини параметри су били виши код пацијената у односу на здраве испитанике (*IL-6*, *suPAR*, *sel-P*, *MMP-7*), док су други били нижи (*TNF- α* , *sel-E*), али значајно веће расипање података код пацијената је указало на утицај бројних патолошких фактора на већину параметара.
 - Међусобне корелације испитиваних параметара су већински биле у складу са њиховим познатим физиолошким и патолошким улогама, али код пацијената са СКА је долазило до одступања од очекиваних образаца. Ова одступања указују на комплексну међусобну повезаност испитиваних параметара, која је додатно под утицајем патолошких фактора и захтева даље расветљавање.
2. Испитивање повезаности наведених параметара са демографским карактеристикама пацијената, факторима ризика од значаја, другим кардиоваскуларним коморбидитетима и употребом терапије, показало је:
 - Утицај демографских фактора на вредности испитиваних параметара је у већини случаја изостао.
 - Разлике испитиваних параметара у односу на присуство фактора ризика нису биле бројне. Неколико примећених разлика указивало је на утицај самих патолошких фактора, али и на утицај терапије везане за одговарајуће факторе ризика и углавном је било у складу са налазима из литературе.
 - Неколико параметара (*IL-6*, *sel-P*, *MMP-2*) је показало више вредности у присуству кардиоваскуларних коморбидитета код пацијената са СКА, подржавајући идеју да њихове концентрације одражавају системску активност атеросклерозе широм васкулатуре.
 - Углавном нису биле показане разлике у вредностима испитиваних параметара код пацијената који су користили и оних који нису користили одређену терапију.

3. Анализа вредности датих параметара у односу на симптоматски статус пацијената, степен стенозе каротидне артерије и морфолошке карактеристике плака у вези са стабилношћу, показала је:
 - Испитивани параметри су били у јачој асоцијацији са ризиком од будућих симптома у здравој популацији, него у популацији пацијената који већ имају СКА. Код СКА пацијената најјачу асоцијацију са недавним симптомима су показали *SAA* и *MPO*, при чему је *SAA* једини био значајан код укупних пацијената, а такође и у оквиру група са тешком стенозом и нестабилним плаком.
 - Као најзначајнија подгрупа у којој су серумски инфламаторни параметри били у вези са степеном стенозе издвојили су се пацијенти са нестабилним плаком. То је указало да ови параметри потенцијално рефлектују промене у степену стенозе изазване нестабилним плаковима код којих су инфламаторни процеси активнији. За ово су најзначајнији били *LOX-1* и *PTX-3*. За *LOX-1* је такође показано да он одражава степен стенозе независно од стабилности плака и недавних симптома. Додатно је указано и да *MPO* има комплексну и потенцијално веома значајну повезаност са ризиком код умерене стенозе.
 - Најјачу везу са морфолошким карактеристикама нестабилности плака, испитивани параметри су показали код пацијената са умереном стенозом. Као најзначајнији, издвојили се *suPAR*, *sel-P* и *sel-E*. Додатно је имплицирана и потенцијална веза *MPO* са процесима васкуларне калцификације и ерозије плака.
4. Испитивање дијагностичке тачности анализираних параметара показало је само умерен дијагностичку значај појединачних параметара за препознавање недавно симптоматских и пацијената са нестабилним плаком. Док су добијене *cut-off* вредности за наведене параметре биле релативно ниске у односу на оне које се у литератури повезују са кардиоваскуларним ризиком. За недавне симптоме код укупних пацијената су били значајни *SAA* и *CRP*, а код умерене стенозе *MPO*. За препознавање нестабилног плака ни један параметар није био значајан за укупне пацијенте, а код умерене стенозе су *sel-P*, *sel-E*, *suPAR* и *MMP-7* били значајни.
5. Формулацијом и испитивањем клиничког значаја модела за предвиђање присуства недавних симптома и нестабилног плака, као клиничких показатеља ризика од будућих симптома код пацијената са СКА, показано је:
 - Лабораторијски параметри су имали далеко највећи значај за формулацију модела у односу на демографске, факторе ризика и доступне ултразвучне и клиничке параметре.
 - Најбољу дијагностичку тачност су имали комбиновани модели формулисани уз помоћ лабораторијских и не-лабораторијских параметара. Они су сви имали значајну дијагностичку тачност за одговарајућа предвиђања, а анализа *NRI* и *IDI* вредности је показала да је тачност класификације и дискриминаторна моћ ових модела потицала пре свега од лабораторијских параметара.

- За детекцију присуства недавних симптома код укупних пацијената са СКА, значајни предиктори су били *SAA* и *CRP*, од којих је *SAA* био независан предиктор и у комбинованом моделу.
 - За детекцију присуства недавних симптома код пацијената са умереном стенозом, значајни предиктори су били *SAA* и *MPO*, од којих је *MPO* био независан предиктор и у комбинованом моделу.
 - За детекцију присуства нестабилног плака код пацијената са умереном стенозом, значајни предиктори су били *suPAR* и *sel-P*, који су оба два били и независни предиктори у комбинованом моделу.
6. Одређивање и анализа концентрације рутинских лабораторијских параметара код пацијената са СКА показало је:
- Вредности рутинских лабораторијских параметара су код пацијената са СКА већински били у опсегу референтних/препоручених вредности, у складу са добром терапијском контролом фактора ризика код ових пацијената.
 - У складу са атеросклеротском природом болести, пацијенти са СКА су имали више вредности укупних леукоцита, неутрофила, моноцита и тромбоцита, а ниже вредности укупног и *HDL*-холестерола од здравих испитаника.
 - Са испитиваним специфичним серумским параметрима у овој студији, од рутинских параметара највише су корелирали различити леукоцити и њихови индекси. Већина испитаних корелација са рутинским параметрима је само потврдила добро познате асоцијације у складу са њиховим улогама.
 - Показане асоцијације рутинских параметара са недавним симптомима, тежином каротидне стенозе и морфологијом плака су углавном биле у складу са познатим налазима из литературе. Њихов значај је био само умерен, а додавање ових параметара у одговарајуће претходно испитане моделе није пружио додатни допринос.
 - Леукоцитни параметри су били у најјачој асоцијацији са морфологијом плака, а међу њима су се истицали неутрофили и различити индекси – на првом месту *MHR*, а затим и *NLR* и *PLR* који су такође показали асоцијацију и са недавним симптомима.
 - Параметри који описују величину тромбоцита, *MPV* и *PDW*, су показали најјачу асоцијацију са тежином стенозе од свих рутинских параметара. Такође су били у вези и са морфологијом плака.
 - Најзначајнији липидни параметар је био *HDL*-холестерол који је био у асоцијацији са недавним симптомима и стабилношћу плака. Додатно су и укупни холестерол и триглицериди показали асоцијацију са морфологијом плака.

7. Литература

1. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje bolesti karotidnih arterija. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013.
2. Alsheikh-Ali AA, Kitsios GD, Balk EM, Lau J, Ip S. The vulnerable atherosclerotic plaque: scope of the literature. *Ann Intern Med.* 2010;153:387–95.
3. Cramer GD. The cervical region. In: Cramer GD, Darby SA, editors. *Clinical anatomy of the spine, spinal cord, and ans.* 3rd edition. St. Louis: Mosby; 2014. p. 135–209.
4. Frangos SG, Gahtan V, Sumpio B. Localization of atherosclerosis: role of hemodynamics. *Arch Surg.* 1999;134:1142–9.
5. Dalager S, Paaske WP, Kristensen IB, Laurberg JM, Falk E. Artery-related differences in atherosclerosis expression: implications for atherogenesis and dynamics in intima-media thickness. *Stroke.* 2007;38:2698–705.
6. Kronick MD, Chopra A, Swamy S, Brar V, Jung E, Abraham CZ, et al. Peak systolic velocity and color aliasing are important in the development of duplex ultrasound criteria for external carotid artery stenosis. *J Vasc Surg.* 2020;72:951–7.
7. Teramoto M, Kokubo Y, Arafa A, Kashima R, Nakao YM, Sheerah HA, et al. Common carotid artery stenosis degree as a predictor of cardiovascular disease in a general population: the suita study. *J Am Heart Assoc.* 2024;13:e030828.
8. Shmelev A, Ganti A, Hosseini M, Wilkerson D, Darwazeh G, Zatina M. Duplex criteria for grading of external carotid stenosis. *Ann Vasc Surg.* 2020;63:319–24.
9. Sertedaki E, Veroutis D, Zagouri F, Galyfos G, Filis K, Papalambros A, et al. Carotid disease and ageing: a literature review on the pathogenesis of vascular senescence in older subjects. *Curr Gerontol Geriatr Res.* 2020;2020:8601762.
10. Grant EG, Benson CB, Moneta GL, Alexandrov AV, Baker JD, Bluth EI, et al. Carotid artery stenosis: gray-scale and doppler us diagnosis-society of radiologists in ultrasound consensus conference. *Radiology.* 2003;229:340–6
11. Naylor R, Rantner B, Ancetti S, de Borst GJ, De Carlo M, Halliday A, et al. Editor's choice – european society for vascular surgery (ESVS) 2023 clinical practice guidelines on the management of atherosclerotic carotid and vertebral artery disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2023;65:7–111.
12. Flaherty ML, Kissela B, Khoury JC, Alwell K, Moomaw CJ, Woo D, et al. Carotid artery stenosis as a cause of stroke. *Neuroepidemiology.* 2013;40:36–41.
13. Barrett KM, Brott TG. Stroke caused by extracranial disease. *Circ Res.* 2017;120:496–501.
14. Song P, Fang Z, Wang H, Cai Y, Rahimi K, Zhu Y, et al. Global and regional prevalence, burden, and risk factors for carotid atherosclerosis: a systematic review, meta-analysis, and modelling study. *Lancet Glob Health.* 2020;8:e721–9.
15. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 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. *Eur Heart J.* 2016;37:2315–81.
16. Naqvi TZ, Lee MS. Carotid intima-media thickness and plaque in cardiovascular risk assessment. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2014;7:1025–38.
17. Jashari F, Ibrahim P, Nicoll R, Bajraktari G, Wester P, Henein MY. Coronary and carotid atherosclerosis: similarities and differences. *Atherosclerosis.* 2013;227:193–200.

18. Kajitani N, Uchida HA, Suminoe I, Kakio Y, Kitagawa M, Sato H, et al. Chronic kidney disease is associated with carotid atherosclerosis and symptomatic ischaemic stroke. *J Int Med Res.* 2018;46:3873–83.
19. Mast H, Thompson JL, Lin IF, Hofmeister C, Hartmann A, Marx P, et al. Cigarette smoking as a determinant of high-grade carotid artery stenosis in Hispanic, black, and white patients with stroke or transient ischemic attack. *Stroke.* 1998;29:908–12.
20. Lechner K, von Schacky C, McKenzie AL, Worm N, Nixdorff U, Lechner B, et al. Lifestyle factors and high-risk atherosclerosis: pathways and mechanisms beyond traditional risk factors. *Eur J Prev Cardiol.* 2020;27:394–406.
21. Adhikary D, Barman S, Ranjan R, Stone H. A systematic review of major cardiovascular risk factors: a growing global health concern. *Cureus.* 2022;14:e30119.
22. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, et al. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet.* 2010;376:112–23.
23. Jeon SJ, Kwak HS, Chung GH. Widening and rotation of carotid artery with age: geometric approach. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2018;27:865–70.
24. Kotsis V, Stabouli S, Karafillis I, Nilsson P. Early vascular aging and the role of central blood pressure. *J Hypertens* 2011;29:1847–53.
25. Spiers JP, Kelso EJ, Siah WF, Edge G, Song G, McDermott BJ, et al. Alterations in vascular matrix metalloproteinase due to ageing and chronic hypertension: effects of endothelin receptor blockade. *J Hypertens.* 2005;23:1717–24.
26. Wen W, Luo R, Tang X, Tang L, Huang HX, Wen X, et al. Age-related progression of arterial stiffness and its elevated positive association with blood pressure in healthy people. *Atherosclerosis.* 2015;238:147–52.
27. Schulz UG, Rothwell PM. Sex differences in carotid bifurcation anatomy and the distribution of atherosclerotic plaque. *Stroke.* 2001;32:1525–31.
28. Gasbarrino K, Di Iorio D, Daskalopoulou SS. Importance of sex and gender in ischaemic stroke and carotid atherosclerotic disease. *Eur Heart J.* 2022;43:460–473.
29. Villa A, Rizzi N, Vegeto E, Ciana P, Maggi A. Estrogen accelerates the resolution of inflammation in macrophagic cells. *Sci Rep.* 2015;5:15224.
30. Cortés YI, Barinas-Mitchell E, Suder Egnot N, Bhasin S, Jasuja R, Santoro N, et al. Associations of endogenous sex hormones with carotid plaque burden and characteristics in midlife women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105:1126–36.
31. Chistiakov DA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Grechko AV, Orekhov AN. Role of androgens in cardiovascular pathology. *Vasc Health Risk Manag* 2018;14:283–290.
32. Kloner RA, Carson C 3rd, Dobs A, Kopecky S, Mohler ER. 3rd. Testosterone and Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:545–57.
33. Janssen I, Powell LH, Kazlauskaitė R, Dugan SA. Testosterone and visceral fat in midlife women: the study of women's health across the nation (SWAN) fat patterning study. *Obesity.* 2010;18:604–10.
34. Basaria S, Coviello AD, Travison TG, Storer TW, Farwell WR, Jette AM, et al. Adverse events associated with testosterone administration. *N Engl J Med.* 2010;363:109–22.
35. Li J, Zhang P, Yi X, Luo H, Yu M, Chen H, et al. Sex-specific association between inflammation and endothelial function relevant gene and vulnerable carotid plaque. *Front Physiol.* 2022;13:977578.
36. Johnsen SH, Mathiesen EB, Joakimsen O, Stensland E, Wilsgaard T, Løchen ML, et al. Carotid atherosclerosis is a stronger predictor of myocardial infarction in women than in men: a 6-year follow-up study of 6226 persons: the Tromsø Study. *Stroke.* 2007;38:2873–80.

37. Cheng Q, Zhou D, Wang J, Nie Z, Feng X, Huang Y, et al. Sex-specific risk factors of carotid atherosclerosis progression in a high-risk population of cardiovascular disease. *Clin Cardiol.* 2023;46:22–31.
38. Poznyak AV, Sadykhov NK, Kartuesov AG, Borisov EE, Melnichenko AA, Grechko AV, et al. Hypertension as a risk factor for atherosclerosis: cardiovascular risk assessment. *Front Cardiovasc Med.* 2022;9:959285.
39. Alexander RW. Theodore Cooper Memorial Lecture. Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective. *Hypertension.* 1995;25:155–61.
40. Mensah GA, Roth GA, Fuster V. The global burden of cardiovascular diseases and risk factors: 2020 and beyond. *J Am College Cardiol.* 2019;74:2529–32.
41. Liu J, Ma X, Ren XL, Xiao H, Yan L, Li Z, et al. The role of blood pressure in carotid plaque incidence: interactions with body mass index, age, and sex-based on a 7-years cohort study. *Front Physiol.* 2021;12:690094.
42. Garvey L, Makaroun MS, Muluk VS, Webster MW, Muluk SC. Etiologic factors in progression of carotid stenosis: a 10-year study in 905 patients. *J Vasc Surg.* 2000;3:31–8.
43. Wu Z, Li X, Wen Q, Tao B, Qiu B, Zhang Q, et al. Serum LDL-C/HDL-C ratio and the risk of carotid plaques: a longitudinal study. *BMC Cardiovasc Disord.* 2022 Nov;22:501.
44. Unger T, Borghi C, Charchar F, Khan NA, Poulter NR, Prabhakaran D, et al. 2020 International society of hypertension global hypertension practice guidelines. *J Hypertens.* 2020;38:982–1004.
45. Schunkert H. Management der arteriellen Hypertonie: ESC/ESH-Leitlinien 2018 [Management of arterial hypertension : ESC/ESH guidelines 2018]. *Herz.* 2018;43:695–700.
46. Gordon P, Flanagan P. Smoking: A risk factor for vascular disease. *J Vasc Nurs.* 2016;34:79–86.
47. Mitchell C, Piper ME, Smith SS, Korcarz CE, Fiore MC, Baker TB, et al. Changes in carotid artery structure with smoking cessation. *Vasc Med.* 2019;24:493–500.
48. Gallucci G, Tartarone A, Lerosé R, Lalinga AV, Capobianco AM. Cardiovascular risk of smoking and benefits of smoking cessation. *J Thoracic Dis.* 2020;12:3866–76.
49. Zingg S, Collet TH, Locatelli I, Nanchen D, Depairon M, Bovet P, et al. Associations between cardiovascular risk factors, inflammation, and progression of carotid atherosclerosis among smokers. *Nicotine Tob Res.* 2016;18:1533–8.
50. Babiker MS. The effects of smoking on carotid artery hemodynamics. *J Diagn Med Sonogr.* 2016;32:149–152.
51. Yang C, Sun Z, Li Y, Ai J, Sun Q, Tian Y. The correlation between serum lipid profile with carotid intima-media thickness and plaque. *BMC Cardiovasc Disord.* 2014;14:181.
52. Liu Y, Zhu Y, Jia W, Sun D, Zhao L, Zhang C, et al. Association between lipid profiles and presence of carotid plaque. *Sci Rep.* 2019;9:18011.
53. Fanlo-Maresma M, Esteve-Luque V, Pintó X, Padró-Miquel A, Corbella E, Candás-Estébanez B. Study of common hypertriglyceridaemia genetic variants and subclinical atherosclerosis in a group of women with SLE and a control group. *Lupus Sci Med.* 2022;9:e000774.
54. Paraskevas KI, Veith FJ, Eckstein HH, Ricco JB, Mikhailidis DP. Cholesterol, carotid artery disease and stroke: what the vascular specialist needs to know. *Ann Transl Med.* 2020;8:1265.

55. Rerkasem K, Gallagher PJ, Grimble RF, Calder PC, Shearman CP. Managing hypercholesterolemia and its correlation with carotid plaque morphology in patients undergoing carotid endarterectomy. *Vasc Health Risk Manag.* 2008;4:1259–64.
56. Wu TW, Chou CL, Cheng CF, Lu SX, Wang LY. Prevalences of diabetes mellitus and carotid atherosclerosis and their relationships in middle-aged adults and elders: a community-based study. *J Formos Med Assoc.* 2022;121:1133–40.
57. Katsiki N, Mikhailidis DP. Diabetes and carotid artery disease: a narrative review. *Ann Transl Med.* 2020;8:1280.
58. Chen J, Li W, Cao J, Lu Y, Wang C, Lu J. Risk factors for carotid plaque formation in type 2 diabetes mellitus. *J Transl Med.* 2024;22:18.
59. Yuan C, Lai CW, Chan LW, Chow M, Law HK, Ying M. Cumulative effects of hypertension, dyslipidemia, and chronic kidney disease on carotid atherosclerosis in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Res.* 2014;2014:179686.
60. Giannopoulou EZ, Doundoulakis I, Antza C, Christoforidis A, Haidich AB, Kotsis V, et al. Subclinical arterial damage in children and adolescents with type 1 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Pediatr Diabetes.* 2019;20:668–77.
61. Dalrymple LS, Katz R, Kestenbaum B, Shlipak MG, Sarnak MJ, Stehman-Breen C, et al. Chronic kidney disease and the risk of end-stage renal disease versus death. *J Gen Intern Med.* 2011;26:379–85.
62. Zanolli L, Mikhailidis DP. Narrative review of carotid disease and the kidney. *Ann Transl Med.* 2021;9:1210.
63. Ohara T, Kokubo Y, Toyoda K, Watanabe M, Koga M, Nakamura S, et al. Impact of chronic kidney disease on carotid atherosclerosis according to blood pressure category: the Suita study. *Stroke.* 2013;44:3537–9.
64. Naylor AR, Rothwell PM, Bell PR. Overview of the principal results and secondary analyses from the European and North American randomised trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003;26:115–29.
65. Pelisek J, Hahntow IN, Eckstein HH, Ockert S, Reeps C, Heider P, et al. Impact of chronic kidney disease on carotid plaque vulnerability. *J Vasc Surg.* 2011;54:1643–9.
66. Pelisek J, Eckstein HH, Zerneck A. Pathophysiological mechanisms of carotid plaque vulnerability: impact on ischemic stroke. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2012;60:431–42.
67. De Reuck JL. Pathophysiology of carotid artery disease and related clinical syndromes. *Acta Chir Belg.* 2004;104:30–4.
68. Heck D, Jost A. Carotid stenosis, stroke, and carotid artery revascularization. *Prog Cardiovasc Dis.* 2021;65:49–54.
69. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje ishemijskog moždanog udara. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2011.
70. GBD 2016 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019;18:439–58.
71. Wiebers DO, Whisnant JP, O'Fallon WM. Reversible ischemic neurologic deficit (RIND) in a community: Rochester, Minnesota, 1955–1974. *Neurology.* 1982;32:459–65.
72. Caplan LR. Basic pathology, anatomy, and pathophysiology of stroke. In: Caplan LR, editor. *Stroke: A clinical approach.* 4th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009. p. 22.
73. Chung JW, Park SH, Kim N, Kim WJ, Park JH, Ko Y, et al. Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) classification and vascular territory of ischemic

- stroke lesions diagnosed by diffusion-weighted imaging. *J Am Heart Assoc.* 2014;11;3:e001119.
74. Liberman AL, Zandieh A, Loomis C, Raser-Schramm JM, Wilson CA, Torres J, et al. Symptomatic carotid occlusion is frequently associated with microembolization. *Stroke.* 2017;48:394–9.
 75. Baradaran H, Gialdini G, Mtui E, Askin G, Kamel H, Gupta A. Silent brain infarction in patients with asymptomatic carotid artery atherosclerotic disease. *Stroke.* 2016;47:1368–70.
 76. Hurford R, Li L, Lovett N, Kubiak M, Kuker W, Rothwell PM. Oxford Vascular Study: Prognostic value of "tissue-based" definitions of TIA and minor stroke: Population-based study. *Neurology.* 2019;92:e2455–61.
 77. Lawrence PF, Oderich GS. Ophthalmologic findings as predictors of carotid artery disease. *Vasc Endovascular Surg.* 2002;36:415–24.
 78. Cohen R, Padilla J, Light D, Diller R. Carotid artery occlusive disease and ocular manifestations: Importance of identifying patients at risk. *Optometry.* 2010;81:359–63.
 79. Zavoreo I, Bašić Kes V, Lisak M, Maršić N, Ciliga D, Trošt Bobić T. Cognitive decline and cerebral vasoreactivity in asymptomatic patients with severe internal carotid artery stenosis. *Acta Neurol Belg.* 2013;113:453–8.
 80. Johnston SC, O'Meara ES, Manolio TA, Lefkowitz D, O'Leary DH, Goldstein S, et al. Cognitive impairment and decline are associated with carotid artery disease in patients without clinically evident cerebrovascular disease. *Ann Intern Med.* 2004;140:237–47.
 81. Mworozzi K, Ameda F, Byanyima RK, Nakasujja N. Carotid artery plaque detected on ultrasound is associated with impaired cognitive state in the elderly: A population-based study in Wakiso district, Uganda. *J Clin Neurosci.* 2019;68:194–200.
 82. Zheng S, Zhang M, Wang X, Ma Q, Shu H, Lu J, et al. Functional MRI study of working memory impairment in patients with symptomatic carotid artery disease. *Biomed Res Int.* 2014;2014:327270.
 83. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Kittner SJ, Bond MG, Wolfson SK Jr, et al. Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. The CHS Collaborative Research Group. *Stroke.* 1992;23:1752–60.
 84. Halliday A, Mansfield A, Marro J, Peto C, Peto R, Potter J, et al. MRC Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST) Collaborative Group. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. *Lancet.* 2004;363:1491–502.
 85. Arasu R, Arasu A, Muller J. Carotid artery stenosis: An approach to its diagnosis and management. *Aust J Gen Pract.* 2021;50:821–5.
 86. Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Fox AJ, Taylor DW, Mayberg MR et al. Carotid Endarterectomy Trialists' Collaboration. Analysis of pooled data from the randomised controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. *Lancet* 2003;361:107e116.
 87. Dodick DW, Meissner I, Meyer FB, Cloft HJ. Evaluation and management of asymptomatic carotid artery stenosis. *Mayo Clin Proc* 2004;79:937–44.
 88. Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJ, Carotid Endarterectomy Trialists Collaboration. Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups and timing of surgery. *Lancet* 2004;363:915–24.
 89. Golledge J, Siew DA. Identifying the carotid 'high risk' plaque: is it still a riddle wrapped up in an enigma? *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2008;35:2–8.

90. Safian RD. Asymptomatic carotid artery stenosis: revascularization. *Prog Cardiovasc Dis.* 2017;59:591–600.
91. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70–99%) or with mild (0–29%) carotid stenosis. *Lancet.* 1991;337:1235–43.
92. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators; Barnett HJM, Taylor DW, Haynes RB, Sackett DL, Peerless SJ, Ferguson GG, et al. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med.* 1991;325:445–53.
93. Polak JF, Alexandrov AV. Accuracy of the society of radiologists in ultrasound (SRU) carotid doppler velocity criteria for grading north american symptomatic carotid endarterectomy trial (NASCET) stenosis: a meta-analysis. *J Ultrasound Med.* 2023;42:1423–35.
94. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators; Barnett HJ, Taylor DW, Eliasziw M, Fox AJ, Ferguson GG, Haynes RB, et al. Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. *Engl J Med.* 1998;339:1415–25.
95. Howard DPJ, Gaziano L, Rothwell PM. on behalf of the oxford vascular study. Risk of stroke in relation to degree of asymptomatic carotid stenosis: a population-based cohort study, systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2021;20:193e–202.
96. Rijbroek A, Wisselink W, Vriens EM, Barkhof F, Lammertsma AA, Rauwerda JA. Asymptomatic carotid artery stenosis: past, present and future. How to improve patient selection? *Eur Neurol.* 2006;56:139–54.
97. Janko M, Moore R, Kim AH, Shevitz AJ, Morrow KL, Johnson DJ, et al. Carotid occlusion is associated with more frequent neurovascular events than moderately severe carotid stenosis. *J Vasc Surg.* 2017;66:1445–9.
98. Zhao X, Underhill HR, Zhao Q, Cai J, Li F, Oikawa M, et al. Discriminating carotid atherosclerotic lesion severity by luminal stenosis and plaque burden: a comparison utilizing high-resolution magnetic resonance imaging at 3.0 Tesla. *Stroke.* 2011;42:347–53.
99. Wasserman BA, Wityk RJ, Trout HH 3rd, Virmani R. Low-grade carotid stenosis: looking beyond the lumen with MRI. *Stroke.* 2005;36:2504–13.
100. Antonopoulos CN, Sfyroeras GS, Moulakakis KG, Giannakopoulos TG, Vassilopoulos I, Papapetrou A, et al. Association between carotid artery occlusion and ultrasonographic plaque type. *Ann Vasc Surg.* 2014;28:1197–203.
101. Carballo-Perich L, Puigoriol-Illamola D, Bashir S, Terceño M, Silva Y, Gubern-Mérida C, et al. Clinical parameters and epigenetic biomarkers of plaque vulnerability in patients with carotid stenosis. *Int J Mol Sci.* 2022;23:5149.
102. Alonso A, Artemis D, Hennerici MG. Molecular imaging of carotid plaque vulnerability. *Cerebrovasc Dis.* 2015;39:5–12.
103. Mughal MM, Khan MK, DeMarco JK, Majid A, Shamoun F, Abela GS. Symptomatic and asymptomatic carotid artery plaque. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2011;9:1315–30.
104. Milosevic D, Pasternak J, Popovic V, Nikolic D, Milosevic P, Manojlovic V. The annalysis of the connection between plaque morphology of asymptomatic carotid stenosis and ischemic brain lesions. *Vojnosanit Pregl.* 2013;70:993–8.
105. Wahlgren CM, Zheng W, Shaalan W, Tang J, Bassiouny HS. Human carotid plaque calcification and vulnerability. Relationship between degree of plaque calcification, fibrous cap inflammatory gene expression and symptomatology. *Cerebrovasc Dis.* 2009;27:193–200.

106. Liem MI, Kennedy F, Bonati LH, van der Lugt A, Coolen BF, Nederveen AJ, et al. Investigations of carotid stenosis to identify vulnerable atherosclerotic plaque and determine individual stroke risk. *Circ J*. 2017;81:1246–53.
107. Seabra JC, Pedro LM, e Fernandes JF, Sanches JM. A 3-D ultrasound-based framework to characterize the echo morphology of carotid plaques. *IEEE Trans Biomed Eng* 2009;56:1442–53.
108. Gupta A, Kesavabhotla K, Baradaran H, Kamel H, Pandya A, Giambrone AE, et al. Plaque echolucency and stroke risk in asymptomatic carotid stenosis: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2015;46:91–7.
109. Kashiwazaki D, Akioka N, Kuwayama N, Noguchi K, Tanaka K, Kuroda S. Pathophysiology of acute cerebrovascular syndrome in patients with carotid artery stenosis: a magnetic resonance imaging/single-photon emission computed tomography study. *Neurosurgery* 2015;76:427–33.
110. Petretta M, Cuocolo A. In search of a marker of vulnerable carotid plaque: is the key in the heart? *Atherosclerosis*. 2012;223:95–7.
111. Paraskevas KI, Nicolaidis AN, Kakkos SK. Asymptomatic carotid stenosis and risk of stroke (ACSRS) study: what have we learned from it? *Ann Transl Med*. 2020;8:1271.
112. Cheng SF, van Velzen TJ, Gregson J, Richards T, Jäger HR, Simister R, et al. The 2nd European Carotid Surgery Trial (ECST-2): rationale and protocol for a randomised clinical trial comparing immediate revascularisation versus optimised medical therapy alone in patients with symptomatic and asymptomatic carotid stenosis at low to intermediate risk of stroke. *Trials*. 2022;23:606.
113. Kamtchum-Tatuene J, Noubiap JJ, Wilman AH, Saqqur M, Shuaib A, Jickling GC. Prevalence of high-risk plaques and risk of stroke in patients with asymptomatic carotid stenosis: a meta-analysis. *JAMA Neurol*. 2020;77:1524–35.
114. Tomaniak M, Katagiri Y, Modolo R, de Silva R, Khamis RY, Bourantas CV, et al. Vulnerable plaques and patients: state-of-the-art. *Eur Heart J*. 2020;41:2997–3004.
115. Cassola N, Baptista-Silva JC, Nakano LC, Flumignan CD, Sesso R, Vasconcelos V, et al. Duplex ultrasound for diagnosing symptomatic carotid stenosis in the extracranial segments. *Cochrane Database Syst Rev*. 2022;7:CD013172.
116. Ismail A, Ravipati S, Gonzalez-Hernandez D, Mahmood H, Imran A, Munoz EJ, et al. Carotid artery stenosis: a look into the diagnostic and management strategies, and related complications. *Cureus*. 2023;15:e38794.
117. Lanzino G, Rabinstein AA, Brown RD Jr. Treatment of carotid artery stenosis: medical therapy, surgery, or stenting? *Mayo Clin Proc*. 2009;84:362–87.
118. Paraskevas KI, Veith FJ, Ricco JB. Best medical treatment alone may not be adequate for all patients with asymptomatic carotid artery stenosis. *J Vasc Surg*. 2018;68:572–75.
119. Constantinou J, Jayia P, Hamilton G. Best evidence for medical therapy for carotid artery stenosis. *J Vasc Surg*. 2013;58:1129–39.
120. Davies KJ, Thapar A, Kasivisvanathan V, Shalhoub J, Davies AH. Review of transatlantic cardiovascular best medical therapy guidelines – recommendations for asymptomatic carotid atherosclerosis. *Curr Vasc Pharmacol*. 2013;11:514–23.
121. Ferguson GG, Eliasziw M, Barr HW, Clagett GP, Barnes RW, Wallace MC, et al. The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial : surgical results in 1415 patients. *Stroke*. 1999;30:1751–8.
122. O'Brien M, Chandra A. Carotid revascularization: risks and benefits. *Vasc Health Risk Manag*. 2014;10:403–16.

123. Abbott AL. Medical (nonsurgical) intervention alone is now best for prevention of stroke associated with asymptomatic severe carotid stenosis: result of a systematic review and analysis. *Stroke*. 2009;40:e573–83.
124. DE Waard DD, Morris D, DE Borst GJ, Bulbulia R, Halliday A. Asymptomatic carotid artery stenosis: who should be screened, who should be treated and how should we treat them? *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2017;58:3–12.
125. Neal B, MacMahon S, Chapman N. Blood pressure lowering treatment trialists' collaboration. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. *Lancet*. 2000;356:1955–64.
126. Boncoraglio GB, Del Giovane C, Tramacere I. Antihypertensive drugs for secondary prevention after ischemic stroke or transient ischemic attack: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2021;52:1974–82.
127. Durham CA, Ehlert BA, Agle SC, Mays AC, Parker FM, Bogey WM, et al. Role of statin therapy and angiotensin blockade in patients with asymptomatic moderate carotid artery stenosis. *Ann Vasc Surg*. 2012;26:344–52.
128. Park YJ, Kim DI, Kim GM, Kim DK, Kim YW. Natural history of asymptomatic moderate carotid artery stenosis in the era of medical therapy. *World Neurosurg*. 2016;91:247–53.
129. 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.
130. Arous EJ, Simons JP, Flahive JM, Beck AW, Stone DH, Hoel AW, et al. Vascular Quality Initiative. National variation in preoperative imaging, carotid duplex ultrasound criteria, and threshold for surgery for asymptomatic carotid artery stenosis. *J Vasc Surg*. 2015;62:937–44.
131. Pini R, Faggioli G, Vacirca A, Cacioppa LM, Gallitto E, Gargiulo M, et al. The fate of asymptomatic severe carotid stenosis in the era of best medical therapy. *Brain Inj*. 2017;31:1711–7.
132. McClelland S 3rd. Multimodality management of carotid artery stenosis: reviewing the class-I evidence. *J Natl Med Assoc*. 2007;99:1235–42.
133. Vavra AK, Eskandari MK. Treatment options for symptomatic carotid stenosis: timing and approach. *Surgeon*. 2015;13:44–51.
134. Han Y, Mao X, Wang L, Liu J, Wang D, Cheng H, et al. Increased levels of soluble cluster of differentiation 40 ligand, matrix metalloproteinase 9, and matrix metalloproteinase 2 are associated with carotid plaque vulnerability in patients with ischemic cerebrovascular disease. *World Neurosurg*. 2017;105:709–13.
135. Jiao Y, Qin Y, Zhang Z, Zhang H, Liu H, Li C. Early identification of carotid vulnerable plaque in asymptomatic patients. *BMC Cardiovasc Disord*. 2020;20:429.
136. Moreno-Ajona D, Irimia P, Rodríguez JA, García-Velloso MJ, López-Fidalgo J, Fernández-Alonso L, et al. Elevated circulating metalloproteinase 7 predicts recurrent cardiovascular events in patients with carotid stenosis: a prospective cohort study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2020;20:93.
137. Sigala F, Oikonomou E, Antonopoulos AS, Galyfos G, Tousoulis D. Coronary versus carotid artery plaques. Similarities and differences regarding biomarkers morphology and prognosis. *Curr Opin Pharmacol*. 2018;39:9–18.
138. Quillard T, Franck G, Mawson T, Folco E, Libby P. Mechanisms of erosion of atherosclerotic plaques. *Curr Opin Lipidol*. 2017;28:434–41.
139. Poredos P, Gregoric ID, Jezovnik MK. Inflammation of carotid plaques and risk of cerebrovascular events. *Ann Transl Med*. 2020;8:1281.

140. Hermus L, Lefrandt JD, Tio RA, Breek JC, Zeebregts CJ. Carotid plaque formation and serum biomarkers. *Atherosclerosis*. 2010;213:21–9.
141. Thent ZC, Chakraborty C, Mahakkanukrauh P, Nik Ritza Kosai Nik Mahmood N, Rajan R, Das S. The molecular concept of atheromatous plaques. *Curr Drug Targets*. 2017;18:1250–8.
142. Urschel K, Cicha I. TNF- α in the cardiovascular system: from physiology to therapy. *Int J Interferon Cytokine Mediator Res*. 2015;7:9–25.
143. Puig N, Jiménez-Xarrié E, Camps-Renom P, Benitez S. Search for reliable circulating biomarkers to predict carotid plaque vulnerability. *Int J Mol Sci*. 2020;21:8236.
144. Ammirati E, Moroni F, Norata GD, Magnoni M, Camici PG. Markers of inflammation associated with plaque progression and instability in patients with carotid atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:718329.
145. Sánchez-León ME, Loaeza-Reyes KJ, Matias-Cervantes CA, Mayoral-Andrade G, Pérez-Campos EL, Pérez-Campos-Mayoral L, et al. LOX-1 in cardiovascular disease: a comprehensive molecular and clinical review. *Int J Mol Sci*. 2024;25:5276.
146. Ahmed MS, Jadhav AB, Hassan A, Meng QH. Acute phase reactants as novel predictors of cardiovascular disease. *ISRN Inflamm*. 2012;2012:953461.
147. Matter MA, Paneni F, Libby P, Frantz S, Stähli BE, Templin C, et al. Inflammation in acute myocardial infarction: the good, the bad and the ugly. *Eur Heart J*. 2024;45: 89–103.
148. Liu C, Li C. C-reactive protein and cardiovascular diseases: a synthesis of studies based on different designs. *Eur J Prev Cardiol*. 2023;30:1593–6.
149. Avan A, Tavakoly Sany SB, Ghayour-Mobarhan M, Rahimi HR, Tajfard M, Ferns G. Serum C-reactive protein in the prediction of cardiovascular diseases: overview of the latest clinical studies and public health practice. *J Cell Physiol*. 2018;233:8508–25.
150. Wilson AM, Swan JD, Ding H, Zhang Y, Whitbourn RJ, Gurry J, et al. Widespread vascular production of C-reactive protein (CRP) and a relationship between serum CRP, plaque CRP and intimal hypertrophy. *Atherosclerosis*. 2007;191:175–81.
151. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive protein. *J Biol Chem*. 2004;279:48487–90.
152. Del Giudice M, Gangestad SW. Rethinking IL-6 and CRP: why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters. *Brain Behav Immun*. 2018;70:61–75.
153. Bisioendial RJ, Boekholdt SM, Vergeer M, Stroes ES, Kastelein JJ. C-reactive protein is a mediator of cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2010;31:2087–91.
154. Güven H, Sarıtaş N, Conkbayır I, Çomoğlu SS. The value of C-reactive protein in symptomatic versus asymptomatic carotid artery stenosis. *Int J Neurosci*. 2013;123:311–7.
155. Koenig W, Khuseyinova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:15–26.
156. Avgerinos ED, Kadoglou NP, Moulakakis KG, Giannakopoulos TG, Liapis CD. Current role of biomarkers in carotid disease: a systematic review. *Int J Stroke*. 2011;6:337–45.
157. Schlager O, Exner M, Mlekusch W, Sabeti S, Amighi J, Dick P, et al. C-reactive protein predicts future cardiovascular events in patients with carotid stenosis. *Stroke*. 2007;38:1263–8.
158. Liu H, Yao Y, Wang Y, Ji L, Zhu K, Hu H, et al. Association between high-sensitivity C-reactive protein, lipoprotein-associated phospholipase A2 and carotid atherosclerosis: A cross-sectional study. *J Cell Mol Med*. 2018;22:5145–50.

159. Luque A, Turu M, Juan-Babot O, Cardona P, Font A, Carvajal A, et al. Overexpression of hypoxia/inflammatory markers in atherosclerotic carotid plaques. *Front Biosci.* 2008;13:6483–90.
160. Bonaventura A, Mach F, Roth A, Lenglet S, Burger F, Brandt KJ, et al. Intraplaque expression of C-reactive protein predicts cardiovascular events in patients with severe atherosclerotic carotid artery stenosis. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:9153673.
161. Martinez E, Martorell J, Riambau V. Review of serum biomarkers in carotid atherosclerosis. *J Vasc Surg.* 2020;71:329–41.
162. Casula M, Montecucco F, Bonaventura A, Liberale L, Vecchié A, Dallegri F, et al. Update on the role of pentraxin 3 in atherosclerosis and cardiovascular diseases. *Vascul Pharmacol.* 2017;99:1–12.
163. Ristagno G, Fumagalli F, Bottazzi B, Mantovani A, Olivari D, Novelli D, et al. Pentraxin 3 in cardiovascular disease. *Front Immunol.* 2019;10:823.
164. Zlibut A, Bocsan IC, Agoston-Coldea L. Pentraxin-3 and endothelial dysfunction. *Adv Clin Chem.* 2019;91:163–79.
165. Hermus L, Schuitemaker JH, Tio RA, Breek JC, Slart RH, de Boef E, et al. Novel serum biomarkers in carotid artery stenosis: useful to identify the vulnerable plaque? *Clin Biochem.* 2011;44:1292–8.
166. Baragetti A, Knoflach M, Cuccovillo I, Grigore L, Casula M, Garlaschelli K, et al. Pentraxin 3 (PTX3) plasma levels and carotid intima media thickness progression in the general population. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24:518–23.
167. 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:e100045.
168. Webb NR. High-density lipoproteins and serum amyloid A (SAA). *Curr Atheroscler Rep.* 2021;23:7.
169. Getz GS, Krishack PA, Reardon CA. Serum amyloid A and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2016;27:531–5.
170. Jylhävä J, Haarala A, Eklund C, Pertovaara M, Kähönen M, Hutri-Kähönen N, et al. Serum amyloid A is independently associated with metabolic risk factors but not with early atherosclerosis: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *J Intern Med.* 2009;266:286–95.
171. Shridas P, Tannock LR. Role of serum amyloid A in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2019;30:320–5.
172. Sack GH Jr. Serum amyloid A (SAA) proteins. In: Hoeger U, Harris JR, editors. *Vertebrate and invertebrate respiratory proteins, lipoproteins and other body fluid proteins.* Cham: Springer;2020. p.421–35.
173. Ramji DP, Davies TS. Cytokines in atherosclerosis: key players in all stages of disease and promising therapeutic targets. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015;26:673–85.
174. Kang S, Narazaki M, Metwally H, Kishimoto T. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. *J Exp Med.* 2020;217:e20190347.
175. Villar-Fincheira P, Sanhueza-Olivares F, Norambuena-Soto I, Cancino-Arenas N, Hernandez-Vargas F, Troncoso R, et al. Role of interleukin-6 in vascular health and disease. *Front Mol Biosci.* 2021;8:641734.
176. Ridker PM, Rane M. Interleukin-6 signaling and anti-interleukin-6 therapeutics in cardiovascular disease. *Circ Res.* 2021;128:1728–46.
177. Abe Y, Sakaguchi M, Furukado S, Fujinaka T, Sakoda S, Yoshimine T, et al. Interleukin-6 release after carotid artery stenting and periprocedural new ischemic lesions. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010;30:857–63.

178. Koutouzis M, Rallidis LS, Peros G, Nomikos A, Tzavara V, Barbatis C, et al. Serum interleukin-6 is elevated in symptomatic carotid bifurcation disease. *Acta Neurol Scand.* 2009;119:119–25.
179. Hassan M. CANTOS: A breakthrough that proves the inflammatory hypothesis of atherosclerosis. *Glob Cardiol Sci Pract.* 2018;2018:2.
180. Ridker PM. From RESCUE to ZEUS: will interleukin-6 inhibition with ziltivekimab prove effective for cardiovascular event reduction? *Cardiovasc Res.* 2021;117:e138–40.
181. Eltoft A, Arntzen KA, Wilsgaard T, Mathiesen EB, Johnsen SH. Interleukin-6 is an independent predictor of progressive atherosclerosis in the carotid artery: The Tromsø Study. *Atherosclerosis.* 2018;271:1–8.
182. Holbrook J, Lara-Reyna S, Jarosz-Griffiths H, McDermott M. Tumour necrosis factor signalling in health and disease. *F1000Res.* 2019 Jan;8:F1000 Faculty Rev-111.
183. Elkind MS, Cheng J, Boden-Albala B, Rundek T, Thomas J, Chen H, et al. Tumor necrosis factor receptor levels are associated with carotid atherosclerosis. *Stroke.* 2002;33:31–7.
184. Xue Y, Zeng X, Tu WJ, Zhao J. Tumor necrosis factor- α : the next marker of stroke. *Dis Markers.* 2022;2022:2395269.
185. Nair S, Singh Kahlon S, Sikandar R, Peddemul A, Tejovath S, Hassan D, et al. Tumor necrosis factor-alpha inhibitors and cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: a systematic review. *Cureus.* 2022;14:e26430.
186. Lin C, Tang X, Shi Z, Zhang L, Yan D, Niu C, et al. Serum tumor necrosis factor α levels are associated with new ischemic brain lesions after carotid artery stenting. *J Vasc Surg.* 2018;68:771–8.
187. Libby P. Interleukin-1 beta as a target for atherosclerosis therapy: biological basis of CANTOS and beyond. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70:2278–89.
188. Wenjing F, Tingting T, Qian Z, Hengquan W, Simin Z, Agyare OK, et al. The role of IL-1 β in aortic aneurysm. *Clin Chim Acta.* 2020;504:7–14.
189. Lima TS. Beyond an inflammatory mediator: interleukin-1 in neurophysiology. *Exp Physiol.* 2023;108:917–24.
190. Van Hout GPJ, Bosch L. The inflammasomes in cardiovascular disease. In: Cordero MD, Alcocer-Gomez E, editors. *Inflammasomes: Clinical and therapeutic implications.* Cham: Springer;2018. p.9–40.
191. Khan SA, Iliés MA. The phospholipase A2 superfamily: structure, isozymes, catalysis, physiologic and pathologic roles. *Int J Mol Sci.* 2023;24:1353.
192. Maiolino G, Bisogni V, Rossitto G, Rossi GP. Lipoprotein-associated phospholipase A2 prognostic role in atherosclerotic complications. *World J Cardiol.* 2015;7:609–20.
193. Herrmann J, Mannheim D, Wohlert C, Versari D, Meyer FB, McConnell JP, et al. Expression of lipoprotein-associated phospholipase A(2) in carotid artery plaques predicts long-term cardiac outcome. *Eur Heart J.* 2009;30:2930–8.
194. The West of Scotland Coronary Prevention Study Group. A coronary primary prevention study of Scottish men aged 45–64 years: trial design. *J Clin Epidemiol.* 1992;45:849–60.
195. Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, Koudstaal PJ, Stijnen T, Breteler MM, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation.* 2005;111:570–5.
196. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation.* 2004;109:837–42.

197. Ridker PM, MacFadyen JG, Wolfert RL, Koenig W. Relationship of lipoprotein-associated phospholipase A mass and activity with incident vascular events among primary prevention patients allocated to placebo or to statin therapy: an analysis from the JUPITER trial. *Clin Chem*. 2012;58:877–86.
198. Tsimikas S, Willeit J, Knoflach M, Mayr M, Egger G, Notdurfter M, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, ferritin levels, metabolic syndrome, and 10-year cardiovascular and non-cardiovascular mortality: results from the Bruneck study. *Eur Heart J*. 2009;30:107–15.
199. Robins SJ, Collins D, Nelson JJ, Bloomfield HE, Asztalos BF. Cardiovascular events with increased lipoprotein-associated phospholipase A(2) and low high-density lipoprotein-cholesterol: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1172–8.
200. White HD, Simes J, Stewart RA, Blankenberg S, Barnes EH, Marschner IC, et al. Changes in lipoprotein-Associated phospholipase A2 activity predict coronary events and partly account for the treatment effect of pravastatin: results from the Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease study. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e000360.
201. Thompson A, Gao P, Orfei L, Watson S, Di Angelantonio E, Kaptoge S, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *Lancet*. 2010;375:1536–44.
202. De Stefano A, Mannucci L, Tamburi F, Cardillo C, Schinzari F, Rovella V, et al. Lp-PLA2, a new biomarker of vascular disorders in metabolic diseases. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2019;33:2058738419827154.
203. Ndrepepa G. Myeloperoxidase – a bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clin Chim Acta*. 2019;493:36–51.
204. Maiocchi SL, Ku J, Thai T, Chan E, Rees MD, Thomas SR. Myeloperoxidase: a versatile mediator of endothelial dysfunction and therapeutic target during cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*. 2021;221:107711.
205. Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA*. 2001;286:2136–42.
206. Rebeiz AG, Tamim HM, Sleiman RM, Abchee AG, Ibrahim Z, Khoury MY, et al. Plasma myeloperoxidase concentration predicts the presence and severity of coronary disease in patients with chest pain and negative troponin-T. *Coron Artery Dis*. 2011;22:553–8.
207. Naruko T, Ueda M, Haze K, van der Wal AC, van der Loos CM, Itoh A, et al. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation*. 2002;106:289.
208. Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, Heinecke JW. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest*. 1994;94:437–44.
209. Meuwese MS, Stroes ES, Hazen SL, van Miert JN, Kuivenhoven JA, Schaub RJ, et al. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:159–65.
210. Mocatta TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, Senthilmohan R, Frampton CM, Richards AM, et al. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1993–2000.

211. Scharnagl H, Kleber ME, Genser B, Kickmaier S, Renner W, Weihrauch G, et al. Association of myeloperoxidase with total and cardiovascular mortality in individuals undergoing coronary angiography—the LURIC study. *Int J Cardiol.* 2014;174:96–105.
212. Palm F, Pussinen PJ, Safer A, Tervahartiala T, Sorsa T, Urbanek C, et al. Serum matrix metalloproteinase-8, tissue inhibitor of metalloproteinase and myeloperoxidase in ischemic stroke. *Atherosclerosis.* 2018;271:9–14.
213. Wang YC, Lu YB, Huang XL, Lao YF, Zhang L, Yang J, et al. Myeloperoxidase: a new target for the treatment of stroke? *Neural Regen Res.* 2022;17:1711–6.
214. Manso H, Krug T, Sobral J, Albergaria I, Gaspar G, Ferro JM, et al. Variants in the inflammatory IL6 and MPO genes modulate stroke susceptibility through main effects and gene-gene interactions. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011;31:1751–9.
215. Ganz P, Amarenco P, Goldstein LB, Sillesen H, Bao W, Preston GM, et al. Association of osteopontin, neopterin, and myeloperoxidase with stroke risk in patients with prior stroke or transient ischemic attacks: results of an analysis of 13 biomarkers from the stroke prevention by aggressive reduction in cholesterol levels trial. *Stroke.* 2017;48:3223–31.
216. Jin P, Cong S. LOX-1 and atherosclerotic-related diseases. *Clin Chim Acta.* 2019;491:24–9.
217. Markstad H, Edsfeldt A, Yao Mattison I, Bengtsson E, Singh P, Cavalera M, et al. High levels of soluble lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor-1 are associated with carotid plaque inflammation and increased risk of ischemic stroke. *J Am Heart Assoc.* 2019;8:e009874.
218. Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, Minami M, Moriwaki H, Murase T, et al. Expression of lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in human atherosclerotic lesions. *Circulation.* 1999;99:3111–7.
219. Chen M, Kakutani M, Minami M, Kataoka H, Kume N, Narumiya S, et al. Increased expression of lectinlike oxidized low density lipoprotein receptor-1 in initial atherosclerotic lesions of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arter Thromb Vasc Biol.* 2000;20:1107–15.
220. Xu S, Ogura S, Chen J, Little PJ, Moss J, Liu P. LOX-1 in atherosclerosis: biological functions and pharmacological modifiers. *Cell Mol Life Sci.* 2013;70:2859–72.
221. Huang W, Li Q, Chen X, Lin Y, Xue J, Cai Z, et al. Soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 as a novel biomarker for large-artery atherosclerotic stroke. *Int J Neurosci.* 2017;127:881–6.
222. Yokota C, Sawamura T, Watanabe M, Kokubo Y, Fujita Y, Kakino A, et al. High levels of soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in acute stroke: an age- and sex-matched cross-sectional study. *J Atheroscler Thromb.* 2016;23:1222–6.
223. Hayashida K, Kume N, Murase T, Minami M, Nakagawa D, Inada T, et al. Serum soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 levels are elevated in acute coronary syndrome: a novel marker for early diagnosis. *Circulation.* 2005;112:812–8.
224. Higuma T, Abe N, Tateyama S, Endo T, Shibusaki S, Yokoyama H, et al. Plasma soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 as a novel prognostic biomarker in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Circ J.* 2015;79:641–8.
225. Kume N, Mitsuoka H, Hayashida K, Tanaka M, Kita T. Soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 predicts prognosis after acute coronary syndrome—a pilot study. *Circ J.* 2010;74:1399–404.

226. Skarpengland T, Skjelland M, Kong XY, Skagen K, Holm S, Otterdal K, et al. Increased levels of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in ischemic stroke and transient ischemic attack. *J Am Heart Assoc.* 2018;7:e006479.
227. Velissaris D, Zareifopoulos N, Koniari I, Karamouzou V, Bousis D, Gerakaris A, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a diagnostic and prognostic biomarker in cardiac disease. *J Clin Med Res.* 2021;13:133–42.
228. Edsfeldt A, Nitulescu M, Grufman H, Grönberg C, Persson A, Nilsson M, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor is associated with inflammation in the vulnerable human atherosclerotic plaque. *Stroke.* 2012;43:3305–12.
229. Rasmussen LJH, Petersen JEV, Eugen-Olsen J. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) as a biomarker of systemic chronic inflammation. *Front Immunol.* 2021;12:780641.
230. Pruc M, Jannasz I, Swieczkowski D, Procyk G, Gasecka A, Rafique Z, et al. Diagnostic value of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in patients with acute coronary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Cardiol J.* 2024;31:564–72.
231. Hodges GW, Bang CN, Wachtell K, Eugen-Olsen J, Jeppesen JL. suPAR: a new biomarker for cardiovascular disease? *Can J Cardiol.* 2015;31:1293–302.
232. Diederichsen MZ, Diederichsen SZ, Mickley H, Steffensen FH, Lambrechtsen J, Sand NPR, et al. Prognostic value of suPAR and hs-CRP on cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 218;271:245–51.
233. Shuai T, Yan P, Xiong H, Huang Q, Zhu L, Yang K, et al. Association between soluble urokinase-type plasminogen activator receptor levels and chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2019;2019:6927456.
234. Samman Tahhan A, Hayek SS, Sandesara P, Hajjari J, Hammadah M, O'Neal WT, et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor levels and peripheral arterial disease outcomes. *Atherosclerosis.* 2017;264:108–14.
235. Lyngbæk S, Marott JL, Møller DV, Christiansen M, Iversen KK, Clemmensen PM, et al. Usefulness of soluble urokinase plasminogen activator receptor to predict repeat myocardial infarction and mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous intervention. *Am J Cardiol.* 2012;110:1756–63.
236. Olson FJ, Thurison T, Ryndel M, Høyer-Hansen G, Fagerberg B. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor forms in plasma as markers of atherosclerotic plaque vulnerability. *Clin Biochem.* 2010;43:124–30.
237. Persson M, Östling G, Smith G, Hamrefors V, Melander O, Hedblad B, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor: a risk factor for carotid plaque, stroke, and coronary artery disease. *Stroke.* 2014;45:18–23.
238. Glowinska B, Urban M, Peczynska J, Florys B. Soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and selectins (sE selectin, sP selectin, sL selectin) levels in children and adolescents with obesity, hypertension, and diabetes. *Metabolism.* 2005;54:1020–6.
239. Pircher J, Engelmann B, Massberg S, Schulz C. Platelet-neutrophil crosstalk in atherothrombosis. *Thromb Haemost.* 2019;119:1274–82.
240. McEver RP. Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall. *Cardiovasc Res.* 2015;107:331–9.
241. Thomas MR, Storey RF. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost.* 2015;114:449–58.
242. Renga B, Scavizzi F. Platelets and cardiovascular risk. *Acta Cardiol.* 2017;72:2–8.
243. Gross PL. Soluble P-selectin is the smoke, not the fire. *Blood.* 2017;130:101–2.

244. Panzer S, Rosales S, Gisslinger H, Jungbauer L, Kaider A, Knöbl P, et al. Plasma levels of P-selectin are determined by platelet turn-over and the P-selectin Thr715Pro polymorphism. *Thromb Res.* 2008;121:573–9.
245. Perkins LA, Anderson CJ, Novelli EM. Targeting P-selectin adhesion molecule in molecular imaging: P-selectin expression as a valuable imaging biomarker of inflammation in cardiovascular disease. *J Nucl Med.* 2019;60:1691–7.
246. Blann AD, Nadar SK, Lip GY. The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2003;24:2166–79.
247. Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation* 2001;103:491–5.
248. Varughese GI, Patel JV, Tomson J, Blann AD, Hughes EA, Lip GY. Prognostic value of plasma soluble P-selectin and von Willebrand factor as indices of platelet activation and endothelial damage/dysfunction in high-risk patients with hypertension: a sub-study of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial *J Intern Med.* 2007;261:384–91.
249. Snoep JD, Roest M, Barendrecht AD, De Groot PG, Rosendaal FR, Van Der Bom JD. High platelet reactivity is associated with myocardial infarction in premenopausal women: a population-based case-control study. *J Thromb Homeost.* 2010;8:906–13.
250. Cha JK, Jeong MH, Kim EK, Lim YJ, Ha BR, Kim SH, et al. Surface expression of P-selectin on platelets is related with clinical worsening in acute ischemic stroke. *J Korean Med Sci.* 2002;17:811–6.
251. Frijns CJ, Kappelle LJ, van Gijn J, Nieuwenhuis HK, Sixma JJ, Fijnheer R. Soluble adhesion molecules reflect endothelial cell activation in ischemic stroke and in carotid atherosclerosis. *Stroke.* 1997;28:2214–8.
252. Ritter MA, Jurk K, Schriek C, Nabavi DG, Droste DW, Kehrel BE, et al. Microembolic signals on transcranial Doppler ultrasound are correlated with platelet activation markers, but not with platelet-leukocyte associates: a study in patients with acute stroke and in patients with asymptomatic carotid stenosis. *Neurol Res.* 2009;31:11–6.
253. Zhang J, Huang S, Zhu Z, Gatt A, Liu J. E-selectin in vascular pathophysiology. *Front Immunol.* 2024;15:1401399.
254. Tvaroška I, Selvaraj C, Koča J. Selectins-the two Dr. Jekyll and Mr. Hyde faces of adhesion molecules-a review. *Molecules.* 2020;25:2835.
255. Peterson JM, Smith TA, Rock EP, Magnani JL. Selectins in biology and human disease: opportunity in E-selectin antagonism. *Cureus.* 2024;16:e61996.
256. Myers D Jr., Farris D, Hawley A, Wroblewski S, Chapman A, Stoolman L, et al. Selectins influence thrombosis in a mouse model of experimental deep venous thrombosis. *J Surg Res.* 2002;108:212–21.
257. Purdy M, Obi A, Myers D, Wakefield T. P- and E- selectin in venous thrombosis and non-venous pathologies. *J Thromb Haemost.* 2022;20:1056–66.
258. Malatino LS, Stancanelli B, Cataliotti A, Bellanuova I, Fatuzzo P, Rapisarda F, et al. Circulating E-selectin as a risk marker in patients with end-stage renal disease. *J Intern Med.* 2007;262:479–87.
259. Krishnamoorthy S, Khoo CW, Lim HS, Lane DA, Pignatelli P, Basili S, et al. Prognostic role of plasma von Willebrand factor and soluble E-selectin levels for future cardiovascular events in a ‘real-world’ community cohort of patients with atrial fibrillation. *Eur J Clin Investig.* 2013;43:1032–8.
260. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid

- atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 1997;96:4219–25.
261. Okulla T, Gass S, Böhme K, Tiemann K, Harbrecht U, Klockgether T, et al. Circulating adhesion molecules in patients with internal carotid artery stenosis. *Cerebrovasc Dis.* 2002;14:9–14.
262. Biscetti F, Straface G, Bertolotti G, Vincenzoni C, Snider F, Arena V, et al. Identification of a potential proinflammatory genetic profile influencing carotid plaque vulnerability. *J Vasc Surg.* 2015;61:374–81.
263. Pickett JR, Wu Y, Zacchi LF, Ta HT. Targeting endothelial vascular cell adhesion molecule-1 in atherosclerosis: drug discovery and development of vascular cell adhesion molecule-1-directed novel therapeutics. *Cardiovasc Res.* 2023;119:2278–93.
264. Troncoso MF, Ortiz-Quintero J, Garrido-Moreno V, Sanhueza-Olivares F, Guerrero-Moncayo A, Chiong M, et al. VCAM-1 as a predictor biomarker in cardiovascular disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2021;1867:166170.
265. Thayse K, Kindt N, Laurent S, Carlier S. VCAM-1 target in non-invasive imaging for the detection of atherosclerotic plaques. *Biology (Basel).* 2020;9:368.
266. Nuotio K, Lindsberg PJ, Carpén O, Soinne L, Lehtonen-Smeds EM, Saimanen E, et al. Adhesion molecule expression in symptomatic and asymptomatic carotid stenosis. *Neurology.* 2003;60:1890–9.
267. Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M, et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Investig.* 2001;107:1255–62.
268. Rizzoni D, Muiesan ML, Porteri E, Castellano M, Salvetti M, Monteduro C, et al. Circulating adhesion molecules and carotid artery structural changes in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Hum Hypertens.* 2003;17:463–70.
269. Blann AD, Seigneur M, Steiner M, Miller JP, McCollum CN. Circulating ICAM-1 and VCAM-1 in peripheral artery disease and hypercholesterolaemia: Relationship to the location of atherosclerotic disease, smoking, and in the prediction of adverse events. *Thromb Haemost.* 1998;79:1080–5.
270. Semaan HB, Gurbel PA, Anderson JL, Muhlestein JB, Carlquist JF, Horne BD, et al. Soluble VCAM-1 and E-selectin, but not ICAM-1 discriminate endothelial injury in patients with documented coronary artery disease. *Cardiology.* 2000;93:7–10.
271. Mulvihill NT, Foley J, Murphy R, Crean P, Walsh M. Evidence of prolonged inflammation in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:1210–6.
272. Wilhelmi MH, Leyh RG, Wilhelmi M, Haverich A. Upregulation of endothelial adhesion molecules in hearts with congestive and ischemic cardiomyopathy: immunohistochemical evaluation of inflammatory endothelial cell activation. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2005;27:122–7.
273. Willeit K, Pechlaner R, Willeit P, Skrobilin P, Paulweber B, Schernthaner C, et al. Association between vascular cell adhesion molecule 1 and atrial fibrillation. *JAMA Cardiol.* 2017;2:516–23.
274. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, et al. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2001;104:1336–42.
275. Rohde LE, Lee RT, Rivero J, Jamacochian M, Arroyo LH, Briggs W, et al. Circulating cell adhesion molecules are correlated with ultrasound-based assessment of carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1765–77.

276. Richard S, Lagerstedt L, Burkhard PR, Debouverie M, Turck M, Sanchez JC. E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 as biomarkers of 3-month outcome in cerebrovascular diseases. *J Inflamm.* 2015;12:61.
277. Zhang X, Wang L, Han Z, Dong J, Pang D, Fu Y, et al. KLF4 alleviates cerebral vascular injury by ameliorating vascular endothelial inflammation and regulating tight junction protein expression following ischemic stroke. *J Neuroinflammation.* 2020;17:107.
278. Olejarz W, Łacheta D, Kubiak-Tomaszewska G. Matrix metalloproteinases as biomarkers of atherosclerotic plaque instability. *Int J Mol Sci.* 2020;21:3946.
279. Hannocks MJ, Zhang X, Gerwien H, Chashchina A, Burmeister M, Korpos E, et al. The gelatinases, MMP-2 and MMP-9, as fine tuners of neuroinflammatory processes. *Matrix Biol.* 2019;75–6:102–13.
280. Wolosowicz M, Prokopiuk S, Kaminski TW. The complex role of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in health and disease. *Int J Mol Sci.* 2024;25:13691.
281. Hardy E, Hardy-Sosa A, Fernandez-Patron C. MMP-2: is too low as bad as too high in the cardiovascular system? *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2018;315:H1332–40.
282. Samah N, Ugusman A, Hamid AA, Sulaiman N, Aminuddin A. Role of matrix metalloproteinase-2 in the development of atherosclerosis among patients with coronary artery disease. *Mediators Inflamm.* 2023;2023:9715114.
283. Bassiouni W, Ali MAM, Schulz R. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease. *FEBS J.* 2021;288:7162–82.
284. Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Urokinase-type plasminogen activator and metalloproteinase-2 are independently related to the carotid atherosclerosis in haemodialysis patients. *Thromb Res.* 2008;121:543–8
285. Nagano M, Fukami K, Yamagishi S, Ueda S, Kaida Y, Matsumoto T. Circulating matrix metalloproteinase-2 is an independent correlate of proteinuria in patients with chronic kidney disease. *Am J Nephrol.* 2009;29:109–15.
286. Pawlak K, Tankiewicz J, Mysliwiec M, Pawlak D. Systemic levels of MMP2/TIMP2 and cardiovascular risk in CAPD patients. *Nephron Clin Pract.* 2010;115:251–8.
287. Owolabi US, Amraotkar AR, Coulter AR, Singam NSV, Aladili BN, Singh A, et al. Change in matrix metalloproteinase 2, 3, and 9 levels at the time of and after acute atherothrombotic myocardial infarction. *J Thromb Thrombolysis.* 2020;49:235–44.
288. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, Kai M, Seki Y, Kuwahara F, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 1998;32:368–72.
289. Li Z, Li L, Zielke R, Cheng L, Xiao R, Crow M, et al. Increased expression of 72-kD type IV collagenase (MMP2) in human aortic atherosclerotic lesions. *Am J Pathol.* 1996;148:121–8.
290. Shah PK, Galis ZS. Matrix metalloproteinase hypothesis of plaque rupture. *Circulation.* 2001;104:1878–80.
291. Zeng B, Prasan A, Fung KC. Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 and -2 in patients with symptomatic coronary artery disease. *Int Med J.* 2005;35:331–5.
292. Sawicki G, Salas E, Murat J, Miszta-Lane H, Radomski MW. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. *Nature.* 1997;386:616–9.
293. Gao W, Fang F, Xia TJ, Zhang Y, Sun J, Wu Q, et al. Doxycycline can reduce glycocalyx shedding by inhibiting matrix metalloproteinases in patients undergoing cardiopulmonary bypass: A randomized controlled trial. *Microvasc Res.* 2022;142:104381.

294. Dhillon OS, Khan SQ, Narayan HK, Ng KH, Mohammed N, Quinn PA, et al. Matrix metalloproteinase-2 predicts mortality in patients with acute coronary syndrome. *Clin Sci*. 2010;118:249–57.
295. Peeters SA, Engelen L, Buijs J, Jorsal A, Parving HH, Tarnow L, et al. Plasma matrix metalloproteinases are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in patients with type 1 diabetes: A 12-year follow-up study. *Cardiovasc Diabetol*. 2017;16:55.
296. Lenti M, Falcinelli E, Pompili M, de Rango P, Conti V, Guglielmini G, et al. Matrix metalloproteinase-2 of human carotid atherosclerotic plaques promotes platelet activation. Correlation with ischaemic events. *Thromb Haemost*. 2014;111:1089–101.
297. Sapienza P, di Marzo L, Borrelli V, Sterpetti AV, Mingoli A, Piagnerelli R, et al. Basic fibroblast growth factor mediates carotid plaque instability through metalloproteinase-2 and -9 expression. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2004;28:89–97.
298. Sapienza P, di Marzo L, Borrelli V, Sterpetti AV, Mingoli A, Cresti S, et al. Metalloproteinases and their inhibitors are markers of plaque instability. *Surgery*. 2005;137:355–63.
299. Lekic A, Brekalo Z, Kvesic A, Kovacevic M, Baricev-Novakovic Z, Sutic I, et al. Crosstalk between enzyme matrix metalloproteinases 2 and 9 and regulatory T cell immunity in the global burden of atherosclerosis. *Scand J Immunol*. 2017;86:65–71.
300. Alvarez B, Ruiz C, Chacón P, Alvarez-Sabin J, Matas M. Serum values of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 as related to unstable plaque and inflammatory cells in patients with greater than 70% carotid artery stenosis. *J Vasc Surg*. 2004;40:469–75.
301. Lindsey ML, Escobar GP, Mukherjee R, Goshorn DK, Sheats NJ, Bruce JA, et al. Matrix metalloproteinase-7 affects connexin-43 levels, electrical conduction, and survival after myocardial infarction. *Circulation*. 2006;113:2919–28.
302. Szklarczyk A, Oyler G, McKay R, Gerfen C, Conant K. Cleavage of neuronal synaptosomal-associated protein of 25 kDa by exogenous matrix metalloproteinase-7. *J Neurochem*. 2007;102:1256–63.
303. Serraino GF, Jiritano F, Costa D, Ielapi N, Battaglia D, Bracale UM, et al. Metalloproteinases in cardiac surgery: a systematic review. *Biomolecules*. 2023;13:113.
304. Halpert I, Sires UI, Roby JD, Potter-Perigo S, Wight TN, Shapiro SD, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:9748–53.
305. Park JY, Park JH, Jang W, Hwang IK, Kim IJ, Kim HJ, et al. Apolipoprotein A-IV is a novel substrate for matrix metalloproteinases. *J Biochem*. 2012;151:291–8.
306. Li Q, Park PW, Wilson CL, Parks WC. Matrilysin shedding of syndecan-1 regulates chemokine mobilization and transepithelial efflux of neutrophils in acute lung injury. *Cell*. 2002;111:635–46.
307. Abbas A, Aukrust P, Russell D, Krohg-Sørensen K, Almås T, Bundgaard D, et al. Matrix metalloproteinase 7 is associated with symptomatic lesions and adverse events in patients with carotid atherosclerosis. *PLoS One*. 2014;9:e84935.
308. Gaubatz JW, Ballantyne CM, Wasserman BA, He M, Chambless LE, Boerwinkle E, et al. Association of circulating matrix metalloproteinases with carotid artery characteristics: the Atherosclerosis Risk in Communities Carotid MRI Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:1034–42.

309. Ban CR, Twigg SM, Franjic B, Brooks BA, Celermajer D, Yue DK, et al. Serum MMP-7 is increased in diabetic renal disease and diabetic diastolic dysfunction. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87:335–41.
310. Lu Y, Liu S, Zhang S, Cai G, Jiang H, Su H, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 promotes NIH3T3 fibroblast proliferation by activating p-Akt and cell cycle progression. *Mol Cells.* 2011;31:225–30.
311. Goncalves I, Bengtsson E, Colhoun HM, Shore AC, Palombo C, Natali A, et al. Elevated plasma levels of MMP-12 are associated with atherosclerotic burden and symptomatic cardiovascular disease in subjects with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35:1723–31.
312. Volkov AM, Murashov IS, Polonskaya YV, Savchenko SV, Kazanskaya GM, Kliver EE, et al. Changes of content of matrix metalloproteinases and their tissue expression in various types of atherosclerotic plaques. *Kardiologija* 2018;10:12–8.
313. Razuvaev A, Ekstrand J, Folkersen L, Agardh H, Markus D, Swedenborg J, et al. Correlations between clinical variables and gene-expression profiles in carotid plaque instability. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2011;42:722–30.
314. Li T, Li X, Feng Y, Dong G, Wang Y, Yang J. The role of matrix metalloproteinase-9 in atherosclerotic plaque instability. *Mediators Inflamm.* 2020;2020:3872367.
315. Sluijter JP, Pulskens WP, Schoneveld AH, Velema E, Strijder CF, Moll F, et al. Matrix metalloproteinase 2 is associated with stable and matrix metalloproteinases 8 and 9 with vulnerable carotid atherosclerotic lesions: a study in human endarterectomy specimen pointing to a role for different extracellular matrix metalloproteinase inducer glycosylation forms. *Stroke.* 2006;37:235–9.
316. Ezhov M, Safarova M, Afanasieva O, Mitroshkin M, Matchin Y, Pokrovsky S. Matrix metalloproteinase 9 as a predictor of coronary atherosclerotic plaque instability in stable coronary heart disease patients with elevated lipoprotein(a) levels. *Biomolecules.* 2019;9:129.
317. Abdelnaseer M, Elfayomi N, Esmail EH, Kamal MM, Hamdy A, Samie RMA, et al. Relationship between matrix metalloproteinase-9 and common carotid artery intima media thickness. *Neurol Sci.* 2016;37:117–22.
318. Chen F, Eriksson P, Hansson GK, Herzfeld I, Klein M, Hansson LO, et al. Expression of matrix metalloproteinase 9 and its regulators in the unstable coronary atherosclerotic plaque. *Int J Mol Med.* 2005;15:57–65.
319. Gu C, Wang F, Zhao Z, Wang H, Cong X, Chen X. Lysophosphatidic acid is associated with atherosclerotic plaque instability by regulating nf-kb dependent matrix metalloproteinase-9 expression via lpa(2) in macrophages. *Front Physiol.* 2017;8:266.
320. Agarwal I, Glazer NL, Barasch E, Biggs ML, Djousse L, Fitzpatrick AL, et al. Fibrosis-related biomarkers and risk of total and cause-specific mortality: The Cardiovascular Health Study. *Am J Epidemiol.* 2014;179:1331–9.
321. Lahdentausta L, Leskela J, Winkelmann A, Tervahartiala T, Sorsa T, Pesonen E, et al. Serum MMP-9diagnostics, prognostics, and activation in acute coronary syndrome and its recurrence. *J Cardiovasc Transl Res.* 2018;11:210–20.
322. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation.* 2003;107:1579–85.
323. Hansson J, Vasani RS, Arnlov J, Ingelsson E, Lind L, Larsson A, et al. Biomarkers of extracellular matrix metabolism (MMP-9 andTIMP-1)andriskofstroke, myocardialinfarction, and cause-specific mortality: Cohort study. *PLoS ONE.* 2011;6:e16185.

324. Choi ET, Collins ET, Marine LA, Uberti MG, Uchida H, Leidenfrost JE, et al. Matrix metalloproteinase-9 modulation by resident arterial cells is responsible for injury-induced accelerated atherosclerotic plaque development in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1020–5.
325. Romero JR, Vasani RS, Beiser AS, Polak JF, Benjamin EJ, Wolf PA, et al. Association of carotid artery atherosclerosis with circulating biomarkers of extracellular matrix remodeling: The framingham o spring study. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2008;17:412–7.
326. Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, Crowther M, Jones L, Bell PR, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques. A potential role in acute plaque disruption. *Stroke.* 2000;31:40–7.
327. Suzue A, Uno M, Kitazato KT, Nishi K, Yagi K, Liu H, et al. Comparison between early and late carotid endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to oxidized low-density lipoprotein and plaque vulnerability. *J Vasc Surg.* 2007;46:870–5.
328. Silvello D, Narvaes LB, Albuquerque LC, Forgiarini LF, Meurer L, Martinelli NC, et al. Serum levels and polymorphisms of matrix metalloproteinases (MMPs) in carotid artery atherosclerosis: higher MMP-9 levels are associated with plaque vulnerability. *Biomarkers.* 2014;19:49–55.
329. Fukuda D, Shimada K, Tanaka A, Kusuyama T, Yamashita H, Ehara S, et al. Comparison of levels of serum matrix metalloproteinase-9 in patients with acute myocardial infarction versus unstable angina pectoris versus stable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 2006;97:175–80.
330. Eldrup N, Grønholdt ML, Sillesen H, Nordestgaard BG. Elevated matrix metalloproteinase-9 associated with stroke or cardiovascular death in patients with carotid stenosis. *Circulation.* 2006;114:1847–54.
331. Sumner DS. Use of color-flow imaging technique in carotid artery disease. *Surg Clin North Am.* 1990;70:201–11.
332. Lee W. General principles of carotid Doppler ultrasonography. *Ultrasonography.* 2014;33:11–7.
333. Martin K. Introduction to B-mode imaging. In: Hoskins P, Martin K, Thrush A, editors. *Diagnostic ultrasound: Physics and equipment.* 2nd edition. Cambridge: Cambridge University Press; 2010. p. 1–10.
334. Gray-Weale AC, Graham JC, Burnett JR, Byrne K, Lusby RJ. Carotid artery atheroma: comparison of preoperative B-mode ultrasound appearance with carotid endarterectomy specimen pathology. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 1988;29:676–81.
335. O'Holleran LW, Kennelly MM, McClurken M, Johnson JM. Natural history of asymptomatic carotid plaque. Five year follow-up study. *Am J Surg.* 1987;154:659–62.
336. Human serum amyloid A ELISA kit: Instruction manual. Wuhan, China: Finetest; 2021. Available from: <https://www.fn-test.com/content/uploads/product/manuals/elisa/EH0336.pdf>
337. Human VCAM-1/CD106 quantikine ELISA kit: Instruction manual. Minneapolis, MN, USA: 2021. Available from: https://www.rndsystems.com/products/human-vcam-1-cd106-quantikine-elisa-kit_dvc00#product-datasheets
338. Krawisz AK, Carroll BJ, Secemsky EA. Risk stratification and management of extracranial carotid artery disease. *Cardiol Clin.* 2021;39:539–49.
339. Fernández-Alvarez V, Linares-Sánchez M, Suárez C, López F, Guntinas-Lichius O, Mäkitie AA, et al. Novel imaging-based biomarkers for identifying carotid plaque vulnerability. *Biomolecules.* 2023;13:1236.

340. Sage AP, Antoniades C. From the vulnerable plaque to the vulnerable patient: Current concepts in atherosclerosis. *Br J Pharmacol.* 2021;178:2165–7.
341. Fest J, Ruiter R, Ikram MA, Voortman T, van Eijck CHJ, Stricker BH. Reference values for white blood-cell-based inflammatory markers in the Rotterdam Study: a population-based prospective cohort study. *Sci Rep.* 2018;8:10566.
342. Alur Ī. Low-grade inflammation: a familiar factor in cardiovascular diseases. *JACC Basic Transl Sci.* 2023;8:1475.
343. Kuhns DB, Nelson EL, Alvord WG, Gallin JI. Fibrinogen induces IL-8 synthesis in human neutrophils stimulated with formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine or leukotriene B(4). *J Immunol.* 2001;167:2869–78.
344. Ziegler L, Lundqvist J, Dreij K, Wallén H, de Faire U, Paulsson-Berne G, et al. Expression of interleukin 6 signaling receptors in carotid atherosclerosis. *Vasc Med.* 2021;26:3–10.
345. Jenny NS, Arnold AM, Kuller LH, Tracy RP, Psaty BM. Associations of pentraxin 3 with cardiovascular disease and all-cause death: the Cardiovascular Health Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29:594–9.
346. Tao L, ShiChuan W, DeTai Z, Lihua H. Evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A2, serum amyloid A, and fibrinogen as diagnostic biomarkers for patients with acute cerebral infarction. *J Clin Lab Anal.* 2020;34:e23084.
347. Zhou J, Lu Y, Wang S, Chen K. Association between serum amyloid A levels and coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of 26 studies. *Inflamm Res.* 2020;69:331–45.
348. Exner M, Minar E, Mlekusch W, Sabeti S, Amighi J, Lalouschek W, et al. Myeloperoxidase predicts progression of carotid stenosis in states of low high-density lipoprotein cholesterol. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47:2212–8.
349. Lee HY, Kim SD, Baek SH, Choi JH, Cho KH, Zabel BA, et al. Serum amyloid A stimulates macrophage foam cell formation via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 upregulation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;433:18-23.
350. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther.* 2006;8 Suppl 2(Suppl 2):S3.
351. Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci.* 1997;2:d12–26.
352. Razi B, Aslani S, Imani D, Salehiyeh S, Fasihi M, Reiner Ž, et al. Effect of statins on serum levels of TNF-alpha and interleukin-6 in patients with kidney disease: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Curr Pharm Des.* 2024;30:1564–77.
353. Tikiz C, Utuk O, Pirildar T, Bayturan O, Bayindir P, Taneli F, et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition and statin treatment on inflammatory markers and endothelial functions in patients with longterm rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2005;32:2095–101.
354. Wu K, Tian S, Zhou H, Wu Y. Statins protect human endothelial cells from TNF-induced inflammation via ERK5 activation. *Biochem Pharmacol.* 2013;85:1753–60.
355. Tylutka A, Walas Ł, Zembron-Lacny A. Level of IL-6, TNF, and IL-1β and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol.* 2024;15:1330386.
356. Oppenheim JJ, Matsushima K, Yoshimura T, Leonard EJ, Neta R. Relationship between interleukin 1 (IL1), tumor necrosis factor (TNF) and a neutrophil attracting peptide (NAP-1). *Agents Actions.* 1989;26:134–40.
357. Dinarello C. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996;87:2095e114.

358. Oyenuga AO, Couper D, Matsushita K, Boerwinkle E, Folsom AR. Association of monocyte myeloperoxidase with incident cardiovascular disease: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *PLoS One*. 2018;13:e0205310.
359. Ueshima H, Kadowaki T, Hisamatsu T, Fujiyoshi A, Miura K, Ohkubo T, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is related to risk of subclinical atherosclerosis but is not supported by Mendelian randomization analysis in a general Japanese population. *Atherosclerosis*. 2016;246:141–7.
360. Yang Y, Xue T, Zhu J, Xu J, Hu X, Wang P, et al. Serum lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts the formation of carotid artery plaque and its vulnerability in anterior circulation cerebral infarction. *Clin Neurol Neurosurg*. 2017;160:40–5.
361. Mannheim D, Herrmann J, Versari D, Gössl M, Meyer FB, McConnell JP, et al. Enhanced expression of Lp-PLA2 and lysophosphatidylcholine in symptomatic carotid atherosclerotic plaques. *Stroke*. 2008;39:1448–55.
362. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. LOX-1, OxLDL, and atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:152786.
363. Hoenigl M, Moser CB, Funderburg N, Bosch R, Kantor A, Zhang Y, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor is predictive of non-AIDS events during antiretroviral therapy-mediated viral suppression. *Clin Infect Dis*. 2019;69:676–86.
364. Hashimoto H, Kitagawa K, Kuwabara K, Hougaku H, Ohtsuki T, Matsumoto M, et al. Circulating adhesion molecules are correlated with ultrasonic assessment of carotid plaques. *Clin Sci (Lond)*. 2003;104:521–7.
365. Chakraborti S, Mandal M, Das S, Mandal A, Chakraborti T. Regulation of matrix metalloproteinases: an overview. *Mol Cell Biochem*. 2003;253:269–85.
366. Olson FJ, Schmidt C, Gummesson A, Sigurdardottir V, Hulthe J, Wiklund O, et al. Circulating matrix metalloproteinase 9 levels in relation to sampling methods, femoral and carotid atherosclerosis. *J Intern Med*. 2008;263:626–35.
367. Bielinski SJ, Berardi C, Decker PA, Kirsch PS, Larson NB, Pankow JS, et al. P-selectin and subclinical and clinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*. 2015;240:3–9.
368. Ponthieux A, Herbeth B, Drosch S, Haddy N, Lambert D, Visvikis S. Biological determinants of serum ICAM-1, E-selectin, P-selectin and L-selectin levels in healthy subjects: the Stanislas study. *Atherosclerosis*. 2004;172:299–308.
369. Kim YS, Byun DW, Seo KI, Yoo MH, Kim GB, Koong SS. Soluble P-selectin, E-selectin, and VCAM-1 as markers of vascular endothelial damage in diabetic patients with microangiopathy. *Diabetes Metab J*. 1998;22:35–46.
370. Hunter LW, Jayachandran M, Miller VM. Sex differences in the expression of cell adhesion molecules on microvesicles derived from cultured human brain microvascular endothelial cells treated with inflammatory and thrombotic stimuli. *Biol Sex Differ*. 2019;10:26.
371. Gong HP, Du YM, Zhong LN, Dong ZQ, Wang X, Mao YJ, et al. Plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 in patients with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis. *Lipids Health Dis*. 2011;10:13.
372. Richter V, Rassoul F, Purschwitz K, Hentschel B, Reuter W, Kuntze T. Circulating vascular cell adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in dependence on aging. *Gerontology*. 2003;49:293–300.
373. Premnath SM, Nanda SK, Ray L, Arokiaraj MC. Effect of statins on the inflammatory markers in patients with coronary artery disease. *J Lab Physicians*. 2023;15:498–502.
374. Zinellu A, Mangoni AA. Systematic review and meta-analysis of the effect of statins on circulating E-selectin, L-selectin, and P-selectin. *Biomedicines*. 2021;9:1707.

375. Jiang C, Chen Q, Xie M. Smoking increases the risk of infectious diseases: A narrative review. *Tob Induc Dis.* 2020;18:60.
376. Perea L, Coll M, Sanjurjo L, Blaya D, Taghdouini AE, Rodrigo-Torres D, et al. Pentraxin-3 modulates lipopolysaccharide-induced inflammatory response and attenuates liver injury. *Hepatology.* 2017;66:953–68.
377. Sawamura T, Wakabayashi I, Okamura T. LOX-1 in atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta.* 2015;440:157–63.
378. Provenzano M, Andreucci M, Garofalo C, Faga T, Michael A, Ielapi N, et al. The association of matrix metalloproteinases with chronic kidney disease and peripheral vascular disease: A light at the end of the tunnel? *Biomolecules.* 2020;10:154.
379. Peshkova IO, Schaefer G, Koltsova EK. Atherosclerosis and aortic aneurysm – is inflammation a common denominator? *FEBS J.* 2016;283:1636–52.
380. Bay B, Blaum C, Kellner C, Bei der Kellen R, Ojeda F, Waibel J, et al. Inflammatory burden, lifestyle and atherosclerotic cardiovascular disease: insights from a population based cohort study. *Sci Rep.* 2023;13:21761.
381. De Vera MA, Bhole V, Burns LC, Lacaille D. Impact of statin adherence on cardiovascular disease and mortality outcomes: a systematic review. *Br J Clin Pharmacol.* 2014;78:684–98.
382. Mehta JL, Chen J, Yu F, Li DY. Aspirin inhibits ox-LDL-mediated LOX-1 expression and metalloproteinase-1 in human coronary endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2004;64:243–9.
383. Mann JM, Davies MJ. Vulnerable plaque. Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation.* 1996;94:928–31.
384. Chatzikonstantinou A, Wolf ME, Schaefer A, Hennerici MG. Asymptomatic and symptomatic carotid stenosis: an obsolete classification? *Stroke Res Treat.* 2012;2012:340798.
385. Redgrave JN, Lovett JK, Gallagher PJ, Rothwell PM. Histological assessment of 526 symptomatic carotid plaques in relation to the nature and timing of ischemic symptoms: the oxford plaque study. *Circulation.* 2006;113:2320–8.
386. Matijevic N, Wu KK, Nidkarni N, Heiss G, Folsom AR. The ARIC carotid MRI study of blood cellular markers: an inverse association of monocyte myeloperoxidase content with peripheral arterial disease. *Angiology.* 2011;62:237–44.
387. Wildgruber M, Aschenbrenner T, Wendorff H, Czubba M, Glinzer A, Haller B, et al. The "Intermediate" CD14(+)CD16(+) monocyte subset increases in severe peripheral artery disease in humans. *Sci. Rep.* 2016;6:39483.
388. Orion D, von Landenberg P, Itsekson-Hayosh Z, Schwammenthal Y, Tsabari R, Merzeliak O, et al. Plasma myeloperoxidase levels in acute brain ischaemia and high grade carotid stenosis. *Eur J Neurol.* 2020;27:1604–11.
389. Gach O, Magne J, Franck T, Derochette S, Deby G, Serteyn D, et al. Clinical significance of active myeloperoxidase in carotid atherosclerotic plaques. *Int J Cardiol.* 2011;152:149–51.
390. Yilmaz MI, Axelsson J, Sonmez A, Carrero JJ, Saglam M, Eyileten T, et al. Effect of renin angiotensin system blockade on pentraxin 3 levels in type-2 diabetic patients with proteinuria. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009;4:535–41.
391. Puz P, Lasek-Bal A. Repeated measurements of serum concentrations of TNF-alpha, interleukin-6 and interleukin-10 in the evaluation of internal carotid artery stenosis progression. *Atherosclerosis.* 2017;263:97–103.
392. Peycheva M, Deneva T, Zahariev Z. The role of fibrinogen in acute ischaemic stroke. *Neurol Neurochir Pol.* 2021;55:74–80.

393. Zhou Y, Han W, Gong D, Man C, Fan Y. Hs-CRP in stroke: A meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2016;453:21–7.
394. Bai M, Sun R, Cao B, Feng J, Wang J. Monocyte-related cytokines/chemokines in cerebral ischemic stroke. *CNS Neurosci Ther*. 2023;29:3693–712.
395. De Bleecker J, Coulier I, Fleurinck C, De Reuck J. Circulating intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in acute ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 1998;7:192–5.
396. Schumacher H, Kaiser E, Schnabel PA, Sykora J, Eckstein HH, Allenberg JR. Immunophenotypic characterisation of carotid plaque: increased amount of inflammatory cells as an independent predictor for ischaemic symptoms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2001;21:494–501.
397. Musialek P, Tracz W, Tekieli L, Pieniazek P, Kablak Ziembicka A, Przewlocki T, et al. Multimarker approach in discriminating patients with symptomatic and asymptomatic atherosclerotic carotid artery stenosis. *J Clin Neurol*. 2013;9:165–75.
398. Kunte H, Kunte G, Busch MA, Weichert W, Rückert RI, Harms L. Differences in carotid plaque content of macrophages, T cells and MMP-9 between patients with embolic and hemodynamic cerebral ischemia due to symptomatic carotid stenosis. *Atherosclerosis*. 2010;211:456–60.
399. Epps KC, Wilensky RL. Lp-PLA₂- a novel risk factor for high-risk coronary and carotid artery disease. *J Intern Med*. 2011;269:94–106.
400. Weinkauff CC, Concha-Moore K, Lindner JR, Marinelli ER, Hadinger KP, Bhattacharjee S, et al. Endothelial vascular cell adhesion molecule 1 is a marker for high-risk carotid plaques and target for ultrasound molecular imaging. *J Vasc Surg*. 2018;68:105S–13.
401. Wijeratne T, Menon R, Sales C, Karimi L, Crewther S. Carotid artery stenosis and inflammatory biomarkers: the role of inflammation-induced immunological responses affecting the vascular systems. *Ann Transl Med*. 2020;8:1276.
402. Zhao B, Li G, Ren L, Lei L, Ye H, Wang Z, et al. The relationship and clinical significance of Hepc-20, LpPLA₂, PTX3, and acute myocardial infarction in patients with varying degrees of coronary artery disease. *Altern Ther Health Med*. 2023;29:316–21.
403. Blann AD, Farrell A, Picton A, McCollum CN. Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease. *Thromb Res*. 2000;97:209–16.
404. Kataoka Y, Shao M, Wolski K, Uno K, Puri R, Murat Tuzcu E, et al. Myeloperoxidase levels predict accelerated progression of coronary atherosclerosis in diabetic patients: insights from intravascular ultrasound. *Atherosclerosis*. 2014;232:377–83.
405. Bando S, Fukuda D, Soeki T, Nishimoto S, Uematsu E, Matsuura T, et al. Expression of NLRP3 in subcutaneous adipose tissue is associated with coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2015;242:407–14.
406. Profumo E, Buttari B, Tosti ME, Siracusano A, Ortona E, Margutti P, et al. Association of intracellular pro- and anti-inflammatory cytokines in peripheral blood with the clinical or ultrasound indications for carotid endarterectomy in patients with carotid atherosclerosis. *Clin Exp Immunol*. 2008;152:120–6.
407. Puz P, Lasek-Bal A, Ziaja D, Kazibutowska Z, Ziaja K. Inflammatory markers in patients with internal carotid artery stenosis. *Arch Med Sci*. 2013;9:254–60.
408. Eltoft A, Arntzen KA, Hansen J-B, Wilsgaard T, Mathiesen EB, Johnsen SH. C-reactive protein in atherosclerosis: a risk marker but not a causal factor? A 13 year

- population-based longitudinal study: the Tromsø study. *Atherosclerosis* 2017;263:293–300.
409. Wang C, Fang X, Hua Y, Liu Y, Zhang Z, Gu X, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of carotid atherosclerosis and cardiovascular events in community-based older adults in china. *Angiology*. 2018;69:49–58.
 410. Shioi A, Ikari Y. Plaque calcification during atherosclerosis progression and regression. *J Atheroscler Thromb*. 2018;25:294–303.
 411. Shen J, Zhao M, Zhang C, Sun X. IL-1 β in atherosclerotic vascular calcification: From bench to bedside. *Int J Biol Sci*. 2021;17:4353–64.
 412. Aghagolzadeh P, Bachtler M, Bijarnia R, Jackson C, Smith ER, Odermatt A, et al. Calcification of vascular smooth muscle cells is induced by secondary calciprotein particles and enhanced by tumor necrosis factor- α . *Atherosclerosis*. 2016;251:404–14.
 413. Hu CT, Shao YD, Liu YZ, Xiao X, Cheng ZB, Qu SL, et al. Oxidative stress in vascular calcification. *Clin Chim Acta*. 2021;519:101–10.
 414. Wong ND, Gransar H, Narula J, Shaw L, Moon JH, Miranda-Peats R, et al. Myeloperoxidase, subclinical atherosclerosis, and cardiovascular disease events, *JACC Cardiovasc Imaging*. 2009;2:1093–9.
 415. Duzguncinar O, Yavuz B, Hazirolan T, Deniz A, Tokgozoglu SL, Akata D, et al. Plasma myeloperoxidase is related to the severity of coronary artery disease, *Acta Cardiol*. 2008;63:147–52.
 416. Larson AS, Brinjikji W, Savastano L, Rabinstein AA, Saba L, Huston J, Benson JC. Carotid intraplaque hemorrhage and stenosis: at what stage of plaque progression does intraplaque hemorrhage occur, and when is it most likely to be associated with symptoms? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2021;42:1285–90.
 417. Svensson PA, Olson FJ, Hägg DA, Ryndel M, Wiklund O, Karlström L, et al. Urokinase-type plasminogen activator receptor is associated with macrophages and plaque rupture in symptomatic carotid atherosclerosis. *Int J Mol Med*. 2008;22:459–64.
 418. Shi X, Gao J, Lv Q, Cai H, Wang F, Ye R, et al. Calcification in atherosclerotic plaque vulnerability: friend or foe? *Front Physiol*. 2020;11:56.
 419. Dutta P, Hoyer FF, Sun Y, Iwamoto Y, Tricot B, Weissleder R, et al. E-selectin inhibition mitigates splenic HSC activation and myelopoiesis in hypercholesterolemic mice with myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36:1802–8.
 420. Dong ZM, Chapman SM, Brown AA, Frenette PS, Hynes RO, Wagner DD. The combined role of P- and E-selectins in atherosclerosis. *J Clin Invest*. 1998;102:145–52.
 421. Schindhelm RK, van der Zwan LP, Teerlink T, Scheffer PG. Myeloperoxidase: a useful biomarker for cardiovascular disease risk stratification? *Clin Chem*. 2009;55:1462–70.
 422. Thompson JC, Jayne C, Thompson J, Wilson PG, Yoder MH, Webb N, et al. A brief elevation of serum amyloid A is sufficient to increase atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2015;56:286–93.
 423. Jahangiri A, Wilson PG, Hou T, Brown A, King VL, Tannock LR. Serum amyloid A is found on ApoB-containing lipoproteins in obese humans with diabetes. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21:993–6.
 424. Jayaraman S, Haupt C, Gursky O. Paradoxical effects of SAA on lipoprotein oxidation suggest a new antioxidant function for SAA. *J Lipid Res*. 2016;57:2138–49.
 425. Sato M, Ohkawa R, Yoshimoto A, Yano K, Ichimura N, Nishimori M, et al. Effects of serum amyloid A on the structure and antioxidant ability of high-density lipoprotein. *Biosci Rep*. 2016;36:e00369.

426. Ferrante G, Nakano M, Prati F, Niccoli G, Mallus MT, Ramazzotti V, et al. High levels of systemic myeloperoxidase are associated with coronary plaque erosion in patients with acute coronary syndromes: a clinicopathological study. *Circulation*. 2010;122:2505–13.
427. Sarlon-Bartoli G, Boudes A, Buffat C, Bartoli MA, Piercecchi-Marti MD, Sarlon E, et al. Circulating lipoprotein-associated phospholipase A2 in high-grade carotid stenosis: a new biomarker for predicting unstable plaque. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2012;43:154–9.
428. Saito A, Fujimura M, Inoue T, Shimizu H, Tominaga T. Relationship between lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 expression and preoperative echogenic findings of vulnerable carotid plaque. *Acta Neurochir (Wien)*. 2010;152:589–95.
429. Zhou Z, Li X, Yang B, Jiang D. Relationship between lysophosphatidic acid and matrix metalloproteinase-9 plasma concentrations and carotid atheromatous plaque stability in patients with cerebral infarction. *J Int Med Res*. 2014;42:669–76.
430. Özsin KK, Sanrı US, Toktaş F, Şeker IB, Yavuz Ş. Effect of lipid parameters on carotid artery disease progression in patients undergoing carotid endarterectomy and unoperated patients with non-severe carotid artery stenosis. *EuRJ*. 2019;5:159–65.
431. Hart A. Mann-Whitney test is not just a test of medians: differences in spread can be important. *BMJ*. 2001;323:391–3.
432. Nahm FS. Receiver operating characteristic curve: overview and practical use for clinicians. *Korean J Anesthesiol*. 2022;75:25–36.
433. Cicarelli DD, Vieira JE, Benseñor FE. Comparison of C-reactive protein and serum amyloid a protein in septic shock patients. *Mediators Inflamm*. 2008;2008:631414.
434. Blann AD, Faragher EB, McCollum CN. Increased soluble P-selectin following myocardial infarction: a new marker for the progression of atherosclerosis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1997;8:383–90.
435. Motrenko A, Strijov V, Weber GW. Sample size determination for logistic regression. *J Comput App Math*. 2014;255:743–52.
436. Hajian-Tilaki K. Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics. *J Biomed Inform*. 2014;48:193–204.
437. Ogundimu EO, Altman DG, Collins GS. Adequate sample size for developing prediction models is not simply related to events per variable. *J Clin Epidemiol*. 2016;76:175–82.
438. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated ROC curves. *Biometrics*. 1988;44:837–45.
439. Zou KH, Liu A, Bandos AI, Ohno-Machado L, Rockette HE. Statistical evaluation of diagnostic performance: topics in ROC analysis. 1st ed. Boca Raton (FL): Chapman & Hall/CRC; 2012.
440. Song B, Bie Y, Feng H, Xie B, Liu M, Zhao F. Inflammatory factors driving atherosclerotic plaque progression new insights. *J Transl Int Med*. 2022;10:36–47.
441. Leening MJ, Vedder MM, Wittman JC, Pencina MJ, Steyerberg EW. Net reclassification improvement: computation, interpretation, and controversies: a literature review and clinician's guide. *Ann Intern Med*. 2014 ;160:122–31.
442. Kerr KF, McClelland RL, Brown ER, Lumley T. Evaluating the incremental value of new biomarkers with integrated discrimination improvement. *Am J Epidemiol*. 2011;174:364–74.
443. Aronova A, Tosato F, Naser N, Asare Y. Innate immune pathways in atherosclerosis-from signaling to long-term epigenetic reprogramming. *Cells*. 2023;12:2359.

444. Grosse GM, Schulz-Schaeffer WJ, Teebken OE, Schuppner R, Dirks M, Worthmann H, et al. Monocyte subsets and related chemokines in carotid artery stenosis and ischemic stroke. *Int J Mol Sci.* 2016;17:433.
445. Oikonomou E, Leopoulou M, Theofilis P, Antonopoulos AS, Siasos G, Latsios G, et al. A link between inflammation and thrombosis in atherosclerotic cardiovascular diseases: Clinical and therapeutic implications. *Atherosclerosis.* 2020;309:16–26.
446. Kim BJ, Cho SH, Cho KI, Kim HS, Heo JH, Cha TJ. The combined impact of neutrophil-to-lymphocyte ratio and type 2 diabetic mellitus on significant coronary artery disease and carotid artery atherosclerosis. *J Cardiovasc Ultrasound.* 2016;24:115–22.
447. Fani L, van Dam-Nolen DHK, Vernooij M, Kavousi M, van der Lugt A, Bos D. Circulatory markers of immunity and carotid atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis.* 2021;325:69–74.
448. Norata GD, Marchesi P, Pulakazhi Venu VK, Pasqualini F, Anselmo A, Moalli F, et al. Deficiency of the long pentraxin PTX3 promotes vascular inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2009;120:699–708.
449. Cross A, Moots RJ, Edwards SW. The dual effects of TNF α on neutrophil apoptosis are mediated via differential effects on expression of Mcl-1 and Bfl-1. *Blood.* 2008;111:878–84.
450. Vieira SM, Lemos HP, Grespan R, Napimoga MH, Dal-Secco D, Freitas A, et al. A crucial role for TNF- α in mediating neutrophil influx induced by endogenously generated or exogenous chemokines, KC/CXCL1 and LIX/CXCL5. *Br J Pharmacol.* 2009;158:779–89.
451. Cook-Mills JM. VCAM-1 signals during lymphocyte migration: role of reactive oxygen species. *Mol Immunol.* 2002;39:499–508.
452. Zielinska-Turek J, Dorobek M, Turek G, Barcikowska-Kotowicz M. MMP-9 and/or TIMP as predictors of ischaemic stroke in patients with symptomatic and asymptomatic atherosclerotic stenosis of carotid artery treated by stenting or endarterectomy – A review. *Neurol Neurochir Pol.* 2018;52:555–61.
453. Halade GV, Jin YF, Lindsey ML. Matrix metalloproteinase (MMP)-9: a proximal biomarker for cardiac remodeling and a distal biomarker for inflammation. *Pharmacol Ther.* 2013;139:32–40.
454. Komala AS, Rachman A. Association of peripheral monocyte count with soluble P-selectin and advanced stages in nasopharyngeal carcinoma. *Adv Hematol.* 2018;2018:3864398.
455. Xu J, Guo J, Liu T, Yang C, Meng Z, Libby P, et al. Differential roles of eosinophils in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2025;22:165–82.
456. He C, Kim HI, Park J, Guo J, Huang W. The role of immune cells in different stages of atherosclerosis. *Int J Med Sci.* 2024;21:1129–43.
457. Davoine F, Lacy P. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Front Immunol.* 2014;5:570.
458. Lanser L, Fuchs D, Scharnagl H, Grammer T, Kleber ME, März W, et al. Anemia of chronic disease in patients with cardiovascular disease. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:666638.
459. Turpin C, Catan A, Meilhac O, Bourdon E, Canonne-Hergaux F, Rondeau P. Erythrocytes: central actors in multiple scenes of atherosclerosis. *Int J Mol Sci.* 2021;22:5843.
460. Heidari B, Fazli MR, Misaeid MA, Heidari P, Hakimi N, Zeraati AA. A linear relationship between serum high-sensitive C-reactive protein and hemoglobin in hemodialysis patients. *Clin Exp Nephrol.* 2015;19:725–31.

461. Santos-Silva MA, Sousa N, Sousa JC. Correlation analysis between hemoglobin and C-reactive protein in patients admitted to an emergency unit. *J Clin Med*. 2021;10:5411.
462. Chen Y, Zhong H, Zhao Y, Luo X, Gao W. Role of platelet biomarkers in inflammatory response. *Biomark Res*. 2020;8:28.
463. Von Hundelshausen P, Schmitt MM. Platelets and their chemokines in atherosclerosis-clinical applications. *Front Physiol*. 2014;5:294.
464. Song B, Shu Y, Xu YN, Fu P. Plasma fibrinogen level and risk of coronary heart disease among Chinese population: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8:13195–202.
465. Giannini S, Falcinelli E, Bury L, Guglielmini G, Rossi R, Momi S, et al. Interaction with damaged vessel wall in vivo in humans induces platelets to express CD40L resulting in endothelial activation with no effect of aspirin intake. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300:H2072–9.
466. Milovanovic M, Nilsson E, Järemo P. Relationships between platelets and inflammatory markers in rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta*. 2004;343:237–40.
467. Mayer FJ, Hoke M, Schillinger M, Minar E, Arbesú I, Koppensteiner R, et al. Mean platelet volume predicts outcome in patients with asymptomatic carotid artery disease. *Eur J Clin Invest*. 2014;44:22–8.
468. Oz II, Yucel M, Bilici M, Şerifoğlu İ, Sayın R, Ilikhan SU, et al. Is mean platelet volume a reliable marker to predict ischemic stroke in the follow-up of patients with carotid stenosis? *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2016;25:404–9.
469. Kim ES, Mo EY, Moon SD, Han JH. Mean platelet volume is closely associated with serum glucose level but not with arterial stiffness and carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100:3502–8.
470. Tunjungputri RN, Li Y, de Groot PG, Dinarello CA, Smeekens SP, Jaeger M, et al. The inter-relationship of platelets with interleukin-1 β -mediated inflammation in humans. *Thromb Haemost*. 2018;118:2112–25.
471. Sebastiano M, Momi S, Falcinelli E, Bury L, Hoylaerts MF, Gresele P. A novel mechanism regulating human platelet activation by MMP-2-mediated PAR1 biased signaling. *Blood*. 2017;129:883–95.
472. Detopoulou P, Nomikos T, Fragopoulou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) activity, platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) in leukocytes and body composition in healthy adults. *Lipids Health Dis*. 2009;8:19.
473. Najar Nobari N, Shahidi Dadras M, Nasiri S, Abdollahimajd F, Gheisari M. Neutrophil/platelet to lymphocyte ratio in monitoring of response to TNF- α inhibitors in psoriatic patients. *Dermatol Ther*. 2020;33:e13457.
474. Slusher AL, Huang CJ. Association of pentraxin 3 with insulin resistance and glucose response following maximal aerobic exercise in obese and normal-mass individuals. *Can J Physiol Pharmacol*. 2016;94:734–8.
475. Su H, Lei CT, Zhang C. Interleukin-6 Signaling Pathway and Its Role in Kidney Disease: An Update. *Front Immunol*. 2017;8:405.
476. Zivkovic S, Maric G, Cvetinovic N, Lepojevic-Stefanovic D, Bozic Cvijan B. Anti-inflammatory effects of lipid-lowering drugs and supplements—a narrative review. *Nutrients*. 2023;15:1517.
477. Hassan S, Milman U, Feld J, Eder L, Lavi I, Cohen S, et al. Effects of anti-TNF- α treatment on lipid profile in rheumatic diseases: an analytical cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2016 Nov 10;18(1):261. doi: 10.1186/s13075-016-1148-1. PMID: 27832797; PMCID: PMC5103435.

478. Calvo Alén J, Lavin-Gomez BA, Aurrecochea E, Guerra Ruiz AR, Martínez Taboada V, Gómez Gerique J. TNF inhibitors exert a "hidden" beneficial effect in the cardiovascular lipoprotein profile of RA patients. *Biologics*. 2022;16:187–97.
479. Popa C, Netea MG, van Riel PL, van der Meer JW, Stalenhoef AF. The role of TNF-alpha in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J Lipid Res*. 2007;48:751–62.
480. Sabeel S, Motaung B, Nguyen KA, Ozturk M, Mukasa SL, Wolmarans K, et al. Impact of statins as immune-modulatory agents on inflammatory markers in adults with chronic diseases: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2025;20:e0323749.
481. Neubauer-Geryk J, Myśliwiec M, Zorena K, Bieniaszewski L. The relationship between cholesterol level, cytokine profile, and arterial stiffness in young patients with uncomplicated type 1 diabetes. *Int. J. Mol. Sci*. 2025;26:5513.
482. Zhu Y, Liao HL, Lin JH, Verna L, Stemerman MB. Low-density lipoprotein augments interleukin-1-induced vascular adhesion molecule expression in human endothelial cells. *Atherosclerosis*. 1999;144:357–65.
483. Yang JC, Huang F, Wu CJ, Chen YC, Lu TH, Hsieh CH. Simvastatin reduces VCAM-1 expression in human umbilical vein endothelial cells exposed to lipopolysaccharide. *Inflamm Res*. 2012;61:485–91.
484. Singh RJ, Mason JC, Lidington EA, Edwards DR, Nuttall RK, Khokha R, et al. Cytokine stimulated vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) ectodomain release is regulated by TIMP-3. *Cardiovasc Res*. 2005;67:39–49.
485. Fauzia ZN, Tahira N, Riffat Y. A study of myeloperoxidase and lipid profile in obese individuals. *PJMHS*. 2014;8:726–9.
486. Sujatha R, Gayathri B. Correlation between lipid profile and myeloperoxidase levels in type-2 diabetes mellitus. *IJMRR*. 2016;4:1538–42.
487. Wang KY, Chen YC, Chen JY, Loke SS, Yeh WC, Li WC. Correlation between lipoprotein-related phospholipase A2 and metabolic syndrome. *Int J Gen Med*. 2023;16:6041–9.
488. Colley KJ, Wolfert RL, Cobble ME. Lipoprotein associated phospholipase A(2): role in atherosclerosis and utility as a biomarker for cardiovascular risk. *EPMA J*. 2011;2:27–38.
489. Steffen BT, Bielinski SJ, Decker PA, Berardi C, Larson NB, Pankow JS, et al. Low high-density lipoprotein cholesterol and particle concentrations are associated with greater levels of endothelial activation markers in Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis participants. *J Clin Lipidol*. 2017;11:955–63.
490. Gu H, Yang F, Xie H, Li M, Wang Z, Sheng L. Serum VEGF, P-Selectin, HDL-C, platelet index, and coagulation function index in deep vein thrombosis after traumatic fracture. *Clin Lab*. 2024;70(2).
491. Kleindorfer DO, Towfighi A, Chaturvedi S, Cockroft KM, Gutierrez J, Lombardi-Hill D, et al. 2021 Guideline for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2021;52:e364–7.
492. Chapman MJ. Are the effects of statins on HDL-cholesterol clinically relevant? *Eur Heart J Supplements*. 2004;6:C58–63.
493. Wannamethee SG, Shaper AG, Ebrahim S. HDL-Cholesterol, total cholesterol, and the risk of stroke in middle-aged British men. *Stroke*. 2000;31:1882–8.
494. Sacco RL, Benson RT, Kargman DE, Boden-Albala B, Tuck C, Lin IF, et al. High-density lipoprotein cholesterol and ischemic stroke in the elderly: The Northern Manhattan Stroke Study. *JAMA*. 2001;285:2729–35.

495. Gomaschi M, Calabresi L, Franceschini G. Protective effects of HDL against ischemia/reperfusion injury. *Front Pharmacol*. 2016;7:2.
496. Yeh PS, Yang CM, Lin SH, Wang WM, Chen PS, Chao TH, et al. Low levels of high-density lipoprotein cholesterol in patients with atherosclerotic stroke: a prospective cohort study. *Atherosclerosis*. 2013;228:472–7.
497. Pereira-Neves A, Fragão-Marques M, Rocha-Neves J, Gamas L, Oliveira-Pinto J, Cerqueira A, et al. The impact of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in carotid artery disease. *Port J Card Thorac Vasc Surg*. 2021;28:45–51.
498. Kimura Y, Tsukui D, Kono H. Uric acid in inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2021;22:12394.
499. Yang X, Lv H, Hidru TH, Wu J, Liu H, Wang Y, et al. Relation of serum uric acid to asymptomatic proximal extracranial artery stenosis in a middle-aged Chinese population: a community-based cross-sectional study. *BMJ Open*. 2018;8:e020681.
500. Neogi T, Ellison RC, Hunt S, Terkeltaub R, Felson DT, Zhang Y. Serum uric acid is associated with carotid plaques: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *J Rheumatol*. 2009;36:378–84.
501. Ma M, Wang L, Huang W, Zhong X, Li L, Wang H, et al. Meta-analysis of the correlation between serum uric acid level and carotid intima-media thickness. *PLoS One*. 2021;16:e0246416.
502. Liu W, Yu W, Xie D, Wang Q, Zhao H, Lv J, et al. High uric acid promotes atherosclerotic plaque instability by apoptosis targeted autophagy. *J Atheroscler Thromb*. 2023;30:1176–86.
503. Ganji M, Nardi V, Prasad M, Jordan KL, Bois MC, Franchi F, et al. Carotid Plaques From Symptomatic Patients Are Characterized by Local Increase in Xanthine Oxidase Expression. *Stroke*. 2021;52:2792–801.
504. Mayer FJ, Mannhalter C, Minar E, Schillinger M, Chavakis T, Siebert G, et al. The impact of uric acid on long-term mortality in patients with asymptomatic carotid atherosclerotic disease. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2015;24:354–61.
505. Chu SG, Becker RC, Berger PB, Bhatt DL, Eikelboom JW, Konkle B, et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost*. 2010;8:148–56.
506. Coenen DM, Heinzmann ACA, Karel MFA, Cosemans JMEM, Koenen RR. The multifaceted contribution of platelets in the emergence and aftermath of acute cardiovascular events. *Atherosclerosis*. 2021;319:132–41.
507. Miller NE, Thelle DS, Førde OH, Mjøs OD. The Tromsø Heart-Study: high-density lipoprotein and coronary heart disease: a prospective case-control study. *Lancet*. 1977;1:965–8.
508. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: the Framingham Study. *Am J Med*. 1977;62:707–14.
509. Amarenco P, Labreuche J, Touboul PJ. High-density lipoprotein-cholesterol and risk of stroke and carotid atherosclerosis: a systematic review. *Atherosclerosis*. 2008;196:489–96.
510. Mathiesen EB, Bønaa KH, Joakimsen O. Low levels of high-density lipoprotein cholesterol are associated with echolucent carotid artery plaques: the tromsø study. *Stroke*. 2001;32:1960–5.

511. Asakura K, Minami Y, Kinoshita D, Katamine M, Kato A, Katsura A, et al. Impact of triglyceride levels on plaque characteristics in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol.* 2022;348:134–9.
512. Toth P. Triglycerides and atherosclerosis: bringing the association into sharper focus. *JACC.* 2021;77:3042–5.
513. Li Z, Bai Y, Li W, Gao F, Kuang Y, Du L, et al. Carotid vulnerable plaques are associated with circulating leukocytes in acute ischemic stroke patients: an clinical study based on contrast-enhanced ultrasound. *Sci Rep.* 2018;8:8849.
514. Liu Y, Zhu Y, Jia W, Sun D, Zhao L, Zhang C, et al. Association of the total white blood cell, neutrophils, and monocytes count with the presence, severity, and types of carotid atherosclerotic plaque. *Front Med (Lausanne).* 2020;7:313.
515. Tousoulis D, Antoniades C, Stefanadis C. Assessing inflammatory status in cardiovascular disease. *Heart.* 2007;93:1001–7.
516. Đerić M, Kojić-Damjanov S, Čabarkapa V, Eremić N. Biochemical markers of atherosclerosis. *J Med Biochem.* 2008;27:148–53.
517. Luo J, Thomassen JQ, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Frikke-Schmidt R. Neutrophil counts and cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2023;44:4953–64.
518. Ionita MG, van den Borne P, Catanzariti LM, Moll FL, de Vries JP, Pasterkamp G, et al. High neutrophil numbers in human carotid atherosclerotic plaques are associated with characteristics of rupture-prone lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:1842–8.
519. Mayer FJ, Gruenberger D, Schillinger M, Mannhalter C, Minar E, Koppensteiner R, et al. Prognostic value of neutrophils in patients with asymptomatic carotid artery disease. *Atherosclerosis.* 2013;231:274–80.
520. Nasr N, Ruidavets JB, Arnal JF, Sie P, Larrue V. Association of neutrophil count with microembolization in patients with symptomatic carotid artery stenosis. *Atherosclerosis.* 2009;207:519–23.
521. Wigren M, Nilsson J, Kolbus D. Lymphocytes in atherosclerosis. *Clin Chim Acta.* 2012;413:1562–8.
522. Sirignano P, Del Porto F, Cifani N, Martocchia A, Sesti G, Proietta M, et al. Regulatory T lymphocyte subpopulations in early carotid atherosclerosis. *J Vasc Surg.* 2023;77:e341–2.
523. Ruan W, Wang M, Sun C, Yao J, Ma Y, Ma H, et al. Correlation between neutrophil-to-lymphocyte ratio and stability of carotid plaques. *Clin Neurol Neurosurg.* 2022 ;212:107055.
524. D'Alessio FR, Kurzhagen JT, Rabb H. Reparative T lymphocytes in organ injury. *J Clin Invest.* 2019;129:2608–18.
525. Ouyang X, Liu Z. Regulatory T cells and macrophages in atherosclerosis: from mechanisms to clinical significance. *Front Immunol.* 2024;15:1435021.
526. Núñez J, Miñana G, Bodí V, Núñez E, Sanchis J, Husser O, et al. Low lymphocyte count and cardiovascular diseases. *Curr Med Chem.* 2011;18:3226–33.
527. Li Y, Chen D, Sun L, Chen Z, Quan W. Monocyte/high-density lipoprotein ratio predicts the prognosis of large artery atherosclerosis ischemic stroke. *Front Neurol.* 2021;12:769217.
528. Karaçöp E, Enhoş A. Predictive role of monocyte to high-density lipoprotein ratio for plaque morphology in asymptomatic intermediate carotid stenosis. *Bagcilar Med Bull.* 2020;5:75–81.

529. Xi J, Men S, Nan J, Yang Q, Dong J. The blood monocyte to high density lipoprotein cholesterol ratio (MHR) is a possible marker of carotid artery plaque. *Lipids Health Dis.* 2022;21:130.
530. Liu S, Miao X, Hu M, Song Z, Xie X, Sun Y, et al. Monocyte to high-density lipoprotein ratio is associated with carotid plaque: a retrospective cohort study. *J Am Heart Assoc.* 2025;14:e037210.
531. Sercelik A, Besnili AF. Increased monocyte to high-density lipoprotein cholesterol ratio is associated with TIMI risk score in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Rev Port Cardiol.* 2018;37:217–23.
532. Wada H, Dohi T, Miyauchi K, Shitara J, Endo H, Doi S, et al. Mean platelet volume and long-term cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2018;277:108–12.
533. Greisenegger S, Endler G, Hsieh K, Tentschert S, Mannhalter C, Lalouschek W. Is elevated mean platelet volume associated with a worse outcome in patients with acute ischemic cerebrovascular events? *Stroke.* 2004;35:1688–91.
534. İdil Soylu A, Arıkan Cortcu S, Uzunkaya F, Atalay YO, Bekçi T, Güngör L, et al. The correlation of the platelet-to-lymphocyte ratio with the severity of stenosis and stroke in patients with carotid arterial disease. *Vascular.* 2017;25:299–306.

БИОГРАФИЈА

Ана Ружановић је рођена 1. новембра 1997. у Београду. Завршила је Шабачку гимназију 2016. године, и исте године је уписала Фармацеутски факултет Универзитета у Београду, смер магистар фармације – медицински биохемичар. Дипломирала је 2021. године са просечном оценом 8,44. Докторске академске студије на модулу Фармацеутске науке уписала је 2021. године на матичном факултету. Децембра 2021. изабрана је у звање истраживач-приправник. Приправнички стаж у трајању од шест месеци обавила је 2022. у лабораторији за медицинско-биохемијске анализе „Лабораторија Београд“ и исте године положила стручни испит. У фебруару 2023. ангажована је на Фармацеутском факултету као сарадник у настави, а у децембру исте године изабрана је у звање асистента. На Катедри за медицинску биохемију учествује у извођењу практичне наставе на предметима: Општа биохемија, Медицинска биохемија, Статистика у фармацији, Биостатистика, Примена информатичких метода у медицинској биохемији. Члан је комисије за одбрану 14 завршних радова и коментор два студентска научно-истраживачка рада. Објавила је четири научна рада и више кратких саопштења презентованих на домаћим и међународним скуповима.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора _____

Број индекса _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора _____

Број индекса _____

Студијски програм _____

Наслов рада _____

Ментор _____

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве.)

Потпис аутора

У Београду, _____

1. **Ауторство.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваће умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.