



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΕΛΕΤΙΟΣ-ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΣ



**« Προοπτική κλινική μελέτη συσχέτισης παραγόντων αγγειακής φλεγμονής με τη
σύσταση της αθηρωματικής πλάκας»**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΤΟΥ ΙΑΤΡΟΥ
ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ Π. ΔΕΛΙΑΛΗ

ΑΘΗΝΑ
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ 2024

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής: 18.12.2018

Μέλη τριμελούς επιτροπής:

Κίμων Σταματελόπουλος, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ (Επιβλέπων)

Αθανάσιος Πρωτογέρου, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ Καθηγητής

Ευστάθιος Μανιός, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 23.01.2019

Ημερομηνία περάτωσης διατριβής: 18.10.2024

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Καθ. Γ. Σιάσος

Μέλη επταμελούς επιτροπής:

Κίμων Σταματελόπουλος, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ (Επιβλέπων)

Αθανάσιος Πρωτογέρου, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ευστάθιος Μανιός, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Κωνσταντίνος Στέλλος, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Χαϊδελβέργης

Ιγνάτιος Οικονομίδης, Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Αλέξανδρος Μπριασούλης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

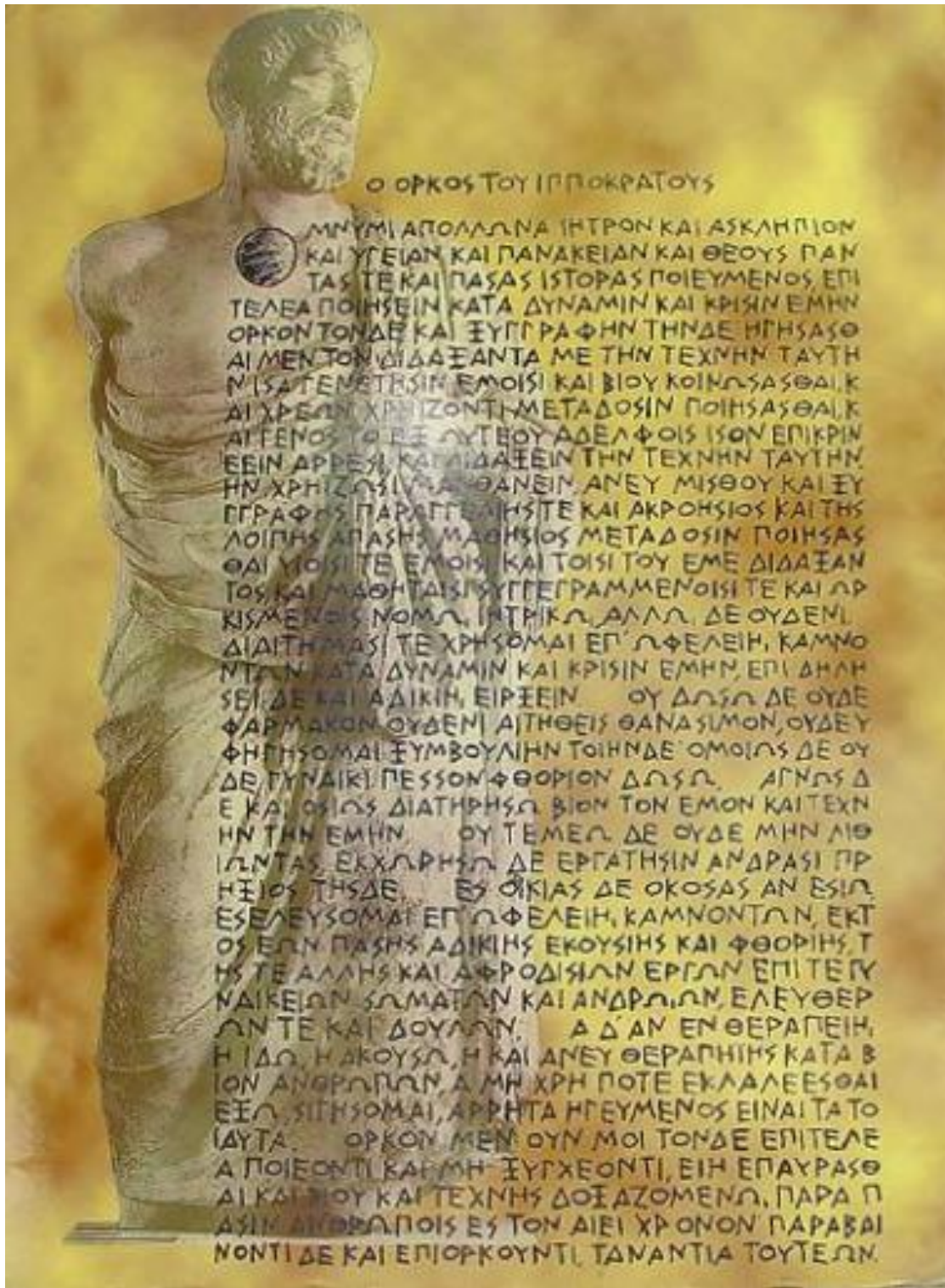
Γεώργιος Γεωργιόπουλος, Επίκουρος Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών

Βαθμός με τον οποίο έγινε αποδεκτή η διατριβή :

«ΑΡΙΣΤΑ»

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα

(Νόμος 5543/1932, άρθρον 202, παράγραφος 2)



Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ
 ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
 ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ ΕΠΙ
 ΤΕΛΕΑ ΠΟΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
 ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΓΗΣΑΣΘ
 ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
 Ν ΙΣΑ ΤΕ ΜΕΤΡΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ Κ
 ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΗΣΑΣΘΑΙ Κ
 ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
 ΕΙΝ ΑΡΡΕΣΤΑ ΚΑΤΑΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ
 ΗΝ ΧΡΗΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
 ΓΓΡΑΦΟΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΗΣΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
 ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΗΣΑΣ
 ΘΑΙ ΜΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑ
 ΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡ
 ΚΙΣΜΕΝΟΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΜΙ
 ΔΙΑΤΗΡΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΓ' ΩΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟ
 ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙ ΔΗΛΗ
 ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ ΕΙΡΞΕΙΝ ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
 ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΜΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ ΟΥΔΕΥ
 ΦΗΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΟΣ ΔΕ ΟΥ
 ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ ΑΓΝΩΣ Δ
 Ε ΚΑΙ ΟΣΙΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
 ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ ΟΥ ΤΕ ΜΕΛ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
 ΙΛΜΤΑΣ ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
 ΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ ΕΞ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ
 ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΓ' ΩΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤ
 ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ Τ
 ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΑΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
 ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡ
 ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ Α Δ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
 Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΗΣ ΚΑΤΑ Β
 ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
 ΕΞΩ ΣΙΤΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
 ΙΑΥΤΑ ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙ ΤΕΛΕ
 Α ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΡΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
 ΑΙ ΚΑΙ ΤΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΪΔΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ Π
 ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
 ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Δελιαλής Δημήτριος

Ημερομηνία γέννησης: 26/09/1994

Κάτοικος Αγίας Παρασκευής, Αττική, Ελλάδα

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: dimitrisdelialis@gmail.com

ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

- Ειδικευόμενος Ιατρός Καρδιολογίας Γ.Ν.Α. "Αλεξάνδρα"

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

Ιούλιος 2018

Πτυχίο Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
Βαθμός πτυχίου: 8,21 (Λίαν Καλώς)

Ιούνιος 2012

Απολυτήριο Γενικού Λυκείου Αγίας Παρασκευής (με
Γ.Μ.Ο απόλυσης 19,01)

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Ιούνιος 2023 έως σήμερα

Ειδικευόμενος Ιατρός Καρδιολογίας Γ.Ν.Α.
"Αλεξάνδρα"

Σεπτέμβριος 2022- Μάρτιος 2023

Οπλίτης Ιατρός Στρατού Ξηράς

Νοέμβριος 2020- Ιούλιος 2022

Ειδικευόμενος Παθολογίας στη
Θεραπευτική Κλινική του Γ.Ν.Α.
"Αλεξάνδρα"

Σεπτέμβριος 2019- Σεπτέμβριος 2020

Ιατρός υπόχρεος υπηρεσίας υπαίθρου στο
ΠΕΔΥ Κ.Υ. Γυθείου – Π.Ι.Λογγάστρας

Ακαδημαϊκό έτος 2018-2019

Επιστημονικός Συνεργάτης, Αγγειολογικό
Εργαστήριο Θεραπευτική Κλινική,
Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου
Αθηνών

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

- Υποτροφία μετά από εξετάσεις από το Κληροδότημα Αντωνίου Παπαδάκη για πτυχιακές σπουδές, 2013 – 2018
- Βραβείο Καλύτερης Αναρτημένης Ανακοίνωσης: «Η υπολειπόμενη χοληστερόλη και η αθηρωσκληρωτική νόσος σε υψηλού και πολύ υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου ασθενείς. Πέραν της LDL και των στατινών» 42ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο της ΕΚΕ (1^{ος} συγγραφέας)
- ΕΠΑΙΝΟΣ Ερευνητικής Εργασίας στο 42ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο της ΕΚΕ: « Η επίδραση της ταφαμίδης στην περιφερική αγγειακή λειτουργία και την καρδιαγγειακή σύζευξη σε ασθενείς με μυοκαρδιοπάθεια από τρανσθυρετίνη» (1^{ος} συγγραφέας)
- Βραβείο Δ. Ίκκου: Καλύτερη κλινική εργασία στην Ενδοκρινολογία στο 49^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας, Μεταβολισμού και Σακχαρώδη Διαβήτη με τίτλο: «Circulating Amyloid Beta 40 is Associated with Increased Rate of Progression of Atherosclerosis in Menopause: A Prospective Cohort Study.» (ισότιμος 1^{ος} συγγραφέας)
- Βραβείο Καλύτερης Ερευνητικής Εργασίας της Ελληνικής Καρδιολογικής Εταιρείας 2022 με τίτλο: «Η ενσωμάτωση της έκτασης της βλάβης του μυοκαρδίου στη βαθμολογία GRACE βελτιώνει τη διαστρωμάτωση κινδύνου σε οξεία στεφανιαία σύνδρομα.» (1^{ος} συγγραφέας)

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Aimo A, Kollia E, Ntritsos G, Barison A, Masci PG, Figliozzi S, Klettas D, Stamatelopoulos K, **Delialis D**, Emdin M and Georgiopoulos G. Echocardiography versus computed tomography and cardiac magnetic resonance for the detection of left heart thrombosis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Res Cardiol.* 2021;110:1697-1703.
2. Armeni A, Armeni E, Augoulea A, **Delialis D**, Angelidakis L, Papaioannou M, Kaparos G, Alexandrou A, Georgopoulos N, Vlahos N, Stamatelopoulos K and Lambrinouadaki I. Sexual function scores are associated with arterial stiffness in postmenopausal women. *J Sex Med.* 2024;21:145-152.
3. Armeni E, **Delialis D**, Georgiopoulos G, Augoulea A, Stergiotis S, Chatzivasileiou P, Rizos D, Kaparos G, Baka S, Paschou SA, Mavraganis G, Patras R, Panoulis K,

Lambrinouadaki I and Stamatelopoulos K. Serum prolactin levels interact with menstrual fluctuations of arterial stiffness. *Hellenic J Cardiol.* 2022;63:89-91.

4. Bampatsias D, Mavroeidis I, Tual-Chalot S, Vlachogiannis NI, Bonini F, Sachse M, Mavraganis G, Mareti A, Kritsioti C, Laina A, **Delialis D**, Ciliberti G, Sopova K, Gatsiou A, Martelli F, Georgiopoulos G, Stellos K and Stamatelopoulos K. Beta-Secretase-1 Antisense RNA Is Associated with Vascular Ageing and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Thromb Haemost.* 2022;122:1932-1942.

5. Bampatsias D, Theodorakakou F, Briasoulis A, Georgiopoulos G, Dimoula A, Papantoniou V, Papantoniou I, Skiadaresi C, Valsamaki P, Repasos E, Petropoulos I, **Delialis D**, Papathoma A, Koutsis G, Tselegkidi ME, Stamatelopoulos K and Kastritis E. Transthyretin amyloidosis cardiomyopathy in Greece: Clinical insights from the National Referral Center. *Hellenic J Cardiol.* 2023.

6. Castiello T, Georgiopoulos G, Finocchiaro G, Claudia M, Gianatti A, **Delialis D**, Aimo A and Prasad S. COVID-19 and myocarditis: a systematic review and overview of current challenges. *Heart Fail Rev.* 2022;27:251-261.

7. **Delialis D**, Dimopoulou MA, Papaioannou M, Kotsira G, Maneta E, Mavraganis G, Loutos C, Georgiopoulos G and Stamatelopoulos K. PCSK9 Inhibition in Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Curr Pharm Des.* 2023;29:1802-1824.

8. **Delialis D**, Euthymiou E, Georgiopoulos G, Athanasopoulos S, Mavraganis G, Angelidakis L, Petropoulos I, Bampatsias D, Maneta E, Patras R, Konstantaki C, Papaioannou M, Kotsira G, Mitrakou A and Stamatelopoulos K. Glycemia is associated with subclinical atherosclerosis through renal function in nondiabetic apparently healthy adults: a mediation analysis. *Hypertens Res.* 2023;46:1516-1524.

9. **Delialis D**, Georgiopoulos G, Aivalioti E, Konstantaki C, Oikonomou E, Bampatsias D, Mavraganis G, Vardavas C, Liberopoulos E, Stellos K and Stamatelopoulos K. Remnant cholesterol in atherosclerotic cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis. *Hellenic J Cardiol.* 2023;74:48-57.

10. **Delialis D**, Georgiopoulos G, Aivalioti E, Mavraganis G, Dimopoulou AM, Sianis A, Aggelidakis L, Patras R, Petropoulos I, Ioannou S, Syrigou R, Chatzidou S, Kanakakis I, Stellos K and Stamatelopoulos K. Remnant cholesterol and atherosclerotic disease in high cardiovascular risk patients. Beyond LDL cholesterol and hypolipidemic treatment. *Hellenic J Cardiol.* 2022;66:26-31.

11. **Delialis D, Georgiopoulos G, Tual-Chalot S, Angelidakis L, Aivalioti E, Mavraganis G, Sopova K, Argyris A, Kostakou P, Konstantaki C, Papaioannou M, Tsilimigras D, Chatoupis K, Zacharoulis AA, Galyfos G, Sigala F, Stellos K and Stamatelopoulos K. Amyloid beta is associated with carotid wall echolucency and atherosclerotic plaque composition. *Sci Rep.* 2024;14:14944.**

12. **Delialis D**, Mavraganis G, Dimoula A, Patras R, Dimopoulou AM, Sianis A, Ajdini E, Maneta E, Kokras N, Stamatelopoulos K and Georgiopoulos G. A systematic review and meta-analysis on the effect of selective serotonin reuptake inhibitors on endothelial function. *J Affect Disord.* 2022;316:71-75.

13. Dimoula A, Fotellis D, Aivalioti E, **Delialis D**, Polissidis A, Patras R, Kokras N and Stamatelopoulos K. Off-Target Effects of Antidepressants on Vascular Function and Structure. *Biomedicines.* 2021;10.

14. Gatsiou A, Georgiopoulos G, Vlachogiannis NI, Pfisterer L, Fischer A, Sachse M, Laina A, Bonini F, **Delialis D**, Tual-Chalot S, Zormpas E, Achangwa R, Jiang L, Kontogiannis C, Patras R, Hermeking H, Zeiher AM, Stamatelopoulos K, Dimmeler S and Stellos K. Additive contribution of microRNA-34a/b/c to human arterial ageing and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2021;327:49-58.
15. Georgiopoulos G, **Delialis D** and Aimo A. Inflammation in heart failure: causal determinant or bystander? *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2022;23:736-737.
16. Georgiopoulos G, **Delialis D**, Aivalioti E, Georgakis V, Mavraganis G, Angelidakis L, Bampatsias D, Armeni E, Maneta E, Patras R, Dimopoulou MA, Oikonomou E, Kanakakis I, Lambrinouadaki I, Lagiou A, Xenos P and Stamatelopoulos K. Implementation of risk enhancers in ASCVD risk estimation and hypolipidemic treatment eligibility: A sex-specific analysis. *Hellenic J Cardiol*. 2023;73:16-23.
17. Georgiopoulos G, Kraler S, Mueller-Hennessen M, **Delialis D**, Mavraganis G, Sopova K, Wenzl FA, Räber L, Biener M, Stähli BE, Maneta E, Spray L, Iglesias JF, Coelho-Lima J, Tual-Chalot S, Muller O, Mach F, Frey N, Duerschmied D, Langer HF, Katus H, Roffi M, Camici GG, Mueller C, Giannitsis E, Spyridopoulos I, Lüscher TF, Stellos K and Stamatelopoulos K. Modification of the GRACE Risk Score for Risk Prediction in Patients With Acute Coronary Syndromes. *JAMA Cardiol*. 2023;8:946-956.
18. Georgiopoulos G, Mavraganis G, **Delialis D**, Georgiou S, Aivalioti E, Patras R, Petropoulos I, Dimopoulou MA, Angelidakis L, Sianis A, Bampatsias D, Dimoula A, Maneta E, Kosmopoulos M, Vardavas C, Stellos K and Stamatelopoulos K. Carotid ultrasonography improves residual risk stratification in guidelines-defined high cardiovascular risk patients. *Eur J Prev Cardiol*. 2022;29:1773-1784.
19. Georgiopoulos G, Oikonomou D, Pateras K, Masi S, Magkas N, **Delialis D**, Ajdini E, Vlachou V, Stamatelopoulos K and Charakida M. A Bayesian meta-analysis on early tobacco exposure and vascular health: From childhood to early adulthood. *Eur J Prev Cardiol*. 2021;28:1315-1322.
20. Georgiopoulos G, Papaioannou TG, Magkas N, Laina A, Mareti A, Georgiou S, Mavroeidis I, Samouilidou E, **Delialis D**, Tousoulis D, Kanakakis J and Stamatelopoulos K. Age-dependent association of pulse wave velocity with coronary artery disease and myocardial aging in high-risk patients. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2019;20:201-209.
21. Georgiou A, Georgiopoulos G, **Delialis D**, Maneta E, Masci PG, Neophytou O, Tsiachris D and Evangelou E. Causal Relationship Between Average Alcohol Consumption and Risk of Atrial Fibrillation: A Mendelian Randomization Study. *Circ Genom Precis Med*. 2023;16:406-408.
22. Karagkouni I, **Delialis D**, Yannakoulia M, Armeni E, Papavangelis C, Augoulea A, Mavraganis G, Bampatsias D, Panoulis K, Aravantinos L, Panoskaltsis T, Stamatelopoulos K and Lambrinouadaki I. Dietary patterns are associated with arterial stiffness and carotid atherosclerosis in postmenopausal women. *Endocrine*. 2022;78:57-67.
23. **Lambrinouadaki I***, **Delialis D***, **Georgiopoulos G**, **Tual-Chalot S**, **Vlachogiannis NI**, **Patras R**, **Aivalioti E**, **Armeni E**, **Augoulea A**, **Tsoltos N**, **Soureti A**, **Stellos K** and **Stamatelopoulos K**. **Circulating Amyloid Beta 40 Is Associated with**

Increased Rate of Progression of Atherosclerosis in Menopause: A Prospective Cohort Study. *Thromb Haemost.* 2021;121:650-658.

24. Mareti A, Kritsioti C, Georgiopoulos G, Vlachogiannis NI, **Delialis D**, Sachse M, Sopova K, Koutsoukis A, Kontogiannis C, Patras R, Tual-Chalot S, Koureas A, Gatsiou A, Stellos K and Stamatelopoulos K. Cathepsin B expression is associated with arterial stiffening and atherosclerotic vascular disease. *Eur J Prev Cardiol.* 2020;27:2288-2291.
25. Mavraganis G, Dimopoulou MA, **Delialis D**, Bampatsias D, Patras R, Sianis A, Maneta E, Stamatelopoulos K and Georgiopoulos G. Clinical implications of vascular dysfunction in acute and convalescent COVID-19: A systematic review. *Eur J Clin Invest.* 2022;52:e13859.
26. Papakonstantinou E, Zacharodimos N, Georgiopoulos G, Athanasaki C, Bothou DL, Tsitsou S, Lympaki F, Vitsou-Anastasiou S, Papadopoulou OS, **Delialis D**, Alexopoulos EC, Petsiou E, Keramida K, Doulgeraki AI, Patsopoulou IM, Nychas GE and Tassou CC. Two-Month Consumption of Orange Juice Enriched with Vitamin D3 and Probiotics Decreases Body Weight, Insulin Resistance, Blood Lipids, and Arterial Blood Pressure in High-Cardiometabolic-Risk Patients on a Westernized Type Diet: Results from a Randomized Clinical Trial. *Nutrients.* 2024;16.
27. Simistiras A, Georgiopoulos G, **Delialis D**, Mavraganis G, Oikonomou E, Maneta E, Loutos C, Evangelou E and Stamatelopoulos K. Association of Lipoprotein(a) with arterial stiffness: A Mendelian randomization study. *Eur J Clin Invest.* 2024;54:e14168.
28. Stamatelopoulos K, **Delialis D**, Georgiopoulos G, Tselegkidi MI, Theodorakakou F, Dialoupi I, Bambatsias D, Petropoulos I, Vergaro G, Ikonomidis I, Tzortzis S, Briasoulis A, Kanakakis J, Trougakos I, Dimopoulos MA and Kastritis E. Determining patterns of vascular function and structure in wild-type transthyretin cardiac amyloidosis. A comparative study. *Int J Cardiol.* 2022;363:102-110.
29. Stamatelopoulos K, Georgiopoulos G, Athanasouli F, Nikolaou PE, Lykka M, Roussou M, Gavriatopoulou M, Laina A, Trakada G, Charakida M, **Delialis D**, Petropoulos I, Pamboukas C, Manios E, Karakitsou M, Papamichael C, Gatsiou A, Lambrinouadaki I, Terpos E, Stellos K, Andreadou I, Dimopoulos MA and Kastritis E. Reactive Vasodilation Predicts Mortality in Primary Systemic Light-Chain Amyloidosis. *Circulation research.* 2019;125:744-758.
30. Stamatelopoulos K, Georgiopoulos G, Baker KF, Tiseo G, **Delialis D**, Lazaridis C, Barbieri G, Masi S, Vlachogiannis NI, Sopova K, Mengozzi A, Ghiadoni L, van der Loeff IS, Hanrath AT, Ajdini B, Vlachopoulos C, Dimopoulos MA, Duncan CJA, Falcone M and Stellos K. Estimated pulse wave velocity improves risk stratification for all-cause mortality in patients with COVID-19. *Sci Rep.* 2021;11:20239.
31. Stamatelopoulos K, Mueller-Hennessen M, Georgiopoulos G, Lopez-Ayala P, Sachse M, Vlachogiannis NI, Sopova K, **Delialis D**, Bonini F, Patras R, Ciliberti G, Vafaie M, Biener M, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Koechlin L, Tual-Chalot S, Kanakakis I, Gatsiou A, Katus H, Spyridopoulos I, Mueller C, Giannitsis E and Stellos K. Cathepsin S Levels and Survival Among Patients With Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2022;80:998-1010.
32. Stamatelopoulos K, Tsoltos N, Armeni E, Paschou SA, Augoulea A, Kaparos G, Rizos D, Karagouni I, **Delialis D**, Ioannou S, Apostolakis M, Makrakis E and

Lambrinouadaki I. Physical activity is associated with lower arterial stiffness in normal-weight postmenopausal women. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2020;22:1682-1690.

33. Terpos E, Stamatelopoulos K, Makris N, Georgiopoulos G, Ntanasis-Stathopoulos I, Gavriatopoulou M, Laina A, Eleutherakis-Papaiakovou E, Fotiou D, Kanellias N, Malandrakis P, **Delialis D**, Andreadou I, Kastritis E and Dimopoulos MA. Daratumumab May Attenuate Cardiac Dysfunction Related to Carfilzomib in Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma: A Prospective Study. *Cancers (Basel)*. 2021;13.

34. Vlachogiannis NI, Sachse M, Georgiopoulos G, Zormpas E, Bampatsias D, **Delialis D**, Bonini F, Galyfos G, Sigala F, Stamatelopoulos K, Gatsiou A and Stellos K. Adenosine-to-inosine Alu RNA editing controls the stability of the pro-inflammatory long noncoding RNA NEAT1 in atherosclerotic cardiovascular disease. *J Mol Cell Cardiol*. 2021;160:111-120.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στα πλαίσια της παρουσίασης της διδακτορικής μου διατριβής με τίτλο «Παράγοντες αγγειακής φλεγμονής που σχετίζονται με τη σύσταση της αθηρωματικής πλάκας της καρωτίδας σε ασθενείς με και χωρίς Στεφανιαία Νόσο», θα ήθελα να εκφράσω από καρδιάς τις θερμές ευχαριστίες μου στους Καθηγητές μου, στους συνεργάτες μου καθώς και στο προσωπικό της Θεραπευτικής Κλινικής του Γ.Ν.Α. "Αλεξάνδρα".

Ειδικότερα:

Στον *Καθηγητή Κίμωνα Σταματελόπουλο*, ο οποίος με τη διαρκή καθοδήγησή του μου παρείχε την απαραίτητη υποστήριξη και ήταν ο μέντοράς μου στην ενασχόλησή μου με την επιστημονική έρευνα. Παράλληλα, με την καθημερινή αφοσίωση και επιστημονική κατάρτιση που τον διακρίνει, με ενθάρρυνε συνεχώς και ήταν ο ακρογωνιαίος λίθος στη συγγραφή και ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής.

Στον *Καθηγητή Αθανάσιο Πρωτογέρου* και τον *Καθηγητή Ευστάθιο Μανιό* για τη γενικότερη υποστήριξη και συνεχή καθοδήγηση κατά την υλοποίηση της διατριβής.

Στον *Καθηγητή Κωνσταντίνο Στέλλο* και την *επιστημονική του ομάδα* για τη συνεργασία τους και την καθοριστική τους συμβολή στο πειραματικό σκέλος της διατριβής και εν γένει στην υλοποίηση του ερευνητικού πρωτοκόλλου.

Σε *όλη την ομάδα του Αγγειολογικού Εργαστηρίου* της Θεραπευτικής Κλινικής για την πολύτιμη συνεργασία τους και ιδιαίτερα στον *Επ. Καθηγητή Γεώργιο Γεωργιόπουλο* για την καθοριστική καθοδήγησή του σε όλα τα στάδια της διατριβής και γενικότερα στην επιστημονική έρευνα και στους υποψήφιους διδάκτορες *Δημήτριο Μπαμπατσιά Ραφαήλ Πάτρα*, *Ευμορφία Αϊβαλιώτη*, *Γεώργιο-Παναγιώτη Μαυραγάνη*, και στους τεχνολόγους *Μαρίνα Καρακίτσου* και *Λασθένη Αγγελιδάκη*, χωρίς τη συνεργασία τους δε θα ήταν εφικτή η περάτωση της διατριβής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη διαρκή υποστήριξή τους στην ακαδημαϊκή μου πορεία.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Υπάρχουσα γνώση-σκοπός: Το κυκλοφορούν αμυλοειδές-β 40 (Αβ40) έχει προφλεγμονώδεις και αθηρωματικές ιδιότητες και θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης στην αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο (KAN). Επιδιώξαμε να αξιολογήσουμε την συσχέτιση των επιπέδων Αβ40 με τα χαρακτηριστικά του τοιχώματος της καρωτίδας στο γενικό πληθυσμό.

Μεθοδολογία: Αναλύσαμε διαδοχικά προσληφθέντα άτομα με κλινικά έκδηλη ΚΑΝ (n=138) και χωρίς κλινικά έκδηλη ΚΑΝ (n=342) από την Καρδιομεταβολική κοόρτη της Αθήνας. Η αθηροσκλήρωση των καρωτίδων αξιολογήθηκε με υπερηχογράφημα υψηλής ανάλυσης και με τη χρήση ειδικού λογισμικού ανάλυσης εικόνων (AMSV3.03). Το gray-scale median (GSM) του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα (IMT) και των αθηρωματικών πλακών (plaque) ήταν τα κύρια τελικά σημεία της μελέτης. Το χαμηλό GSM σχετίζεται με περισσότερο ευάλωτη αθηρωματική πλάκα. Οι αγγειακοί δείκτες στους ασθενείς χωρίς ΚΑΝ αξιολογήθηκαν σε δύο χρονικές στιγμές (διάμεση τιμή 35.5 μηνών από την αρχική τιμή). Σε 56 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, αναλύθηκαν τα ιστολογικά χαρακτηριστικά της πλάκας. Τα επίπεδα του Αβ40 στο πλάσμα μετρήθηκαν κατά την έναρξη της παρακολούθησης. .

Αποτελέσματα: Το Αβ40 συσχετίστηκε με χαμηλότερο IMT-GSM και plaque-GSM (OR=2.54 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.35, 4.79, p=0.004 για IMT GSM και OR=4.78 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.69, 13.52, p=0.025 για plaque GSM) και υψηλότερη συνολική και μέγιστη επιφάνεια πλάκας μετά από προσαρμογή για τους κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (TRFs) (OR= 3.81 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.35, 10.75, P=0.011, OR=4.68 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.68, 14.21, P=0.002 για τη μέγιστη και τη συνολική επιφάνεια της πλάκας, αντίστοιχα). Στους ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο και με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο τα επίπεδα του Αβ40 δεν συσχετίστηκαν με τα χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας και του IMT (p>0.05 για όλες τις συσχετίσεις). Το Αβ40 συσχετίστηκε επίσης με μείωση/σταθερά χαμηλού IMT-GSM και plaque-GSM (OR= 2.78 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.46, 3.68, p=0.002 για το IMT-GSM και OR=4.5 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI:

1.63, 12.44, $p=0.004$, για το plaque GSM.) και με αύξηση/σταθερά αυξημένο εμβαδό της πλάκας μετά από προσαρμογή για τους TRFs (OR=4,49 95% αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 CI: 1.54, 13.09, $p=0.006$ για το δέλτα της μέγιστης επιφάνειας της πλάκας και OR=5.15 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 αύξηση 95% CI: 1.70, 15.58, $p=0.004$ για τη μεταβολή της μέγιστης και της συνολικής επιφάνειας της πλάκας, αντίστοιχα). Οι συσχετίσεις αυτές παρέμειναν σημαντικές μετά από προσαρμογή για την C-αντιδρώσα πρωτεΐνη και το εμβαδό της πλάκας (για το GSM). Στην ιστολογική ανάλυση, τα επίπεδα Αβ40 συσχετίστηκαν με χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης ασβεστοποιημένων πλακών (OR=0.222 95% CI: 0.055-0.895, $p=0.034$) και πλακών χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου (OR=0.177, 95% CI: 0.034, 0.918, $p=0.039$).

Συμπεράσματα: Σε ασθενείς χωρίς κλινικά εμφανή ΚΑΝ, τα υψηλά επίπεδα Αβ40 στην κυκλοφορία συνδέονται με χαμηλή GSM, έναν τεκμηριωμένο υπερηχογραφικό δείκτη ευαλωτότητας της καρωτιδικής πλάκας, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, τη συστηματική φλεγμονή και την έκταση του αθηρωματικού φορτίου. Επιπλέον, τα επίπεδα Αβ40 συσχετίστηκαν με ιστολογικά χαρακτηριστικά χαμηλότερης ασβεστοποίησης της πλάκας και χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης πλακών χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου σε σοβαρά στενωτικές πλάκες από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ενδαρτηρεκτομή Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν προηγούμενα αποτελέσματα από προκλινικές και κλινικές μελέτες που συνδέουν το Αβ40 με την ασταθή αθηρωματική πλάκα και μείζονα δυσμενή καρδιαγγειακά συμβάντα, αντίστοιχα.

Λέξεις-κλειδιά: Ηχογένεια καρωτιδικού τοιχώματος, Υποκλινική αθηρωμάτωση, Καρδιαγγειακή νόσος, β-αμυλοειδές

ABSTRACT

Background and aims: Amyloid-beta (40) (Ab40), a proinflammatory and pro-atherosclerotic peptide, is associated with concurrent subclinical atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD) and with major adverse cardiac events in both primary and secondary prevention settings conferring additive and reclassification value over traditional risk factors and risk scores. This evidence supports the hypothesis that A β 40 could be a biomarker of ASCVD. However, mechanistic data on the association of Ab40 with *in vivo* morphological characteristics of atherosclerosis related with plaque vulnerability are not available. We aimed to examine the association of A β 40 levels with characteristics of the carotid artery wall in the general population.

Methods: We analyzed consecutively recruited individuals with clinically overt ASCVD (n=138) and without ASCVD (n=342) from the Athens Cardiometabolic cohort. Carotid atherosclerosis was assessed by high-resolution ultrasonography and the images were analyzed using a dedicated software (AMS v3.03). Grey scale median (GSM) of intima-media thickness (IMT) and plaques, reflecting plaque composition and vulnerability, was the primary end-point of the study. The total and maximal plaque areas were also assessed. In n=56 patients undergoing carotid endarterectomy, histological plaque features were analysed. Vascular markers in patient without clinically overt ASCVD were assessed at two time-points (median of 35.5 months from baseline). Plasma Ab40 levels were measured at baseline.

Results: Increased A β 40 levels were associated with higher odds for lower IMT GSM and lower plaque GSM in all carotid sites (OR=2.54 increase for highest vs lower A β 40 tertiles 95% CI: 1.35, 4.79, p=0.004 for IMT GSM and OR= 4.78 increase for highest vs lower A β 40 tertiles 95% CI: 1.69, 13.52, p=0.025 for plaque GSM) after adjustment for the core model and sum of carotid wall thickness. Moreover, increased A β 40 levels were associated with increased odds for higher total and maximal plaque area (OR= 3.81 increase for highest vs lower A β 40 tertiles 95% CI: 1.35, 10.75, P=0.011, OR=4.68 increase for highest vs lower A β 40 tertiles 95% CI: 1.68, 14.21, P=0.002 for maximal and total plaque area, respectively). These associations did not change after further adjustment for hs-CRP and lipid-lowering treatment. In patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndrome, A β 40 levels were not associated with markers of carotid plaque and IMT (p>0.05 for all). Importantly, increased A β 40 levels were associated with decreasing or persistently low GSM levels of IMT and plaque (OR= 2.78 increase for

highest vs lower A β 40 tertiles 95% CI: 1.46, 3.68, p=0.002 for IMT GSM and OR=4.5 increase for highest vs lower A β 40 tertiles 95% CI: 1.63, 12.44, p=0.004, for plaque GSM) at follow-up after adjustment for the core model and sum of carotid wall thickness. Moreover, increased A β 40 levels were associated with higher odds for increased or persistently high carotid atherosclerosis burden (OR=4.49 95% increase for highest vs lower A β 40 tertiles CI: 1.54, 13.09, p=0.006 for delta of maximum plaque area and OR=5.15 increase for highest vs lower A β 40 tertiles increase 95% CI: 1.70, 15.58, p=0.004 for delta of total of plaque area) at follow-up after adjustment for the core model. These associations did not materially change after further adjustment for hs-CRP and lipid-lowering treatment. In the histological analysis, Ab40 levels were associated with lower incidence of calcified plaques (OR=0.222 95% CI: 0.055-0.895, p=0.034) and plaques without high-risk features (OR=0.177, 95% CI: 0.034, 0.918, p=0.039).

Conclusions: In patients without clinically overt ASCVD, high circulating A β 40 levels are cross-sectionally and longitudinally associated with markers of carotid plaque vulnerability irrespective of traditional risk factors, systemic inflammation and the extent of atherosclerotic burden. Moreover, A β 40 levels were associated with histological features of lower plaque calcification and lower incidence of plaques without high-risk features in severely stenotic plaques from patients undergoing endarterectomy. These findings support experimental evidence linking A β 40 with plaque vulnerability possibly mediating its established association with major adverse cardiovascular events.

Keywords: Carotid plaque echogenicity, Subclinical atherosclerosis, Cardiovascular disease; Amyloid-beta

Περιεχόμενα

| | |
|--|-----------|
| ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ..... | 3 |
| ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ..... | 7 |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ..... | 9 |
| ABSTRACT..... | 11 |
| ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ..... | 0 |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ..... | 10 |
| ABSTRACT..... | 12 |
| ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 18 |
| 1. Εισαγωγή | 19 |
| 2. Αθηρωματική νόσος | 23 |
| 2.1 Παθοφυσιολογία αθηροσκλήρυνσης - Μηχανισμοί αθηροσκλήρυνσης | 23 |
| 3. Υποκλινική αθηρωμάτωση | 33 |
| 3.1 Μη επεμβατικές τεχνικές αξιολόγησης της υποκλινικής αθηρωμάτωσης των καρωτίδων | 34 |
| 3.2 Η εφαρμογή του καρωτιδικού υπερήχου στην αξιολόγηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου..... | 35 |
| 3.3 Τεχνική σάρωσης με υπερήχους καρωτίδων | 38 |
| 3.4 Το cIMT ως δείκτης υποκλινικής αθηροσκλήρυνσης..... | 42 |
| 3.5 Η σχέση μεταξύ CIMT και υποκλινικής αγγειακής νόσου..... | 48 |
| 3.6 Μέτρηση της καρωτιδικής πλάκας | 49 |
| 3.7 Ποσοτικός και ποιοτικός χαρακτηρισμός αθηρωματικής πλάκας με κλινική σημασία | 51 |
| 3.8 Εφαρμογή της απεικόνισης της καρωτιδικής αρτηριακής πλάκας στην κλινική πράξη.... | 56 |
| 4. β-αμυλοειδές | 59 |
| 4.1 Μεταβολισμός του β-αμυλοειδούς | 59 |
| 4.2 Επιδράσεις του Αβ40 σε αγγεία και αιμοποιητικά κύτταρα..... | 61 |
| 4.3 Αβ40 και ενδοθηλιακά κύτταρα..... | 62 |
| 4.4 Αβ40 και αιμοπετάλια | 64 |
| 4.5 Αβ40 και λιπίδια | 67 |
| 4.6 Ο ρόλος του Αβ40 στη νόσο Alzheimer και στις πρώιμες αθηρωματικές αλλοιώσεις..... | 71 |
| 4.7 Αβ40 και καρδιακή λειτουργία | 72 |
| 4.8 Αβ40 και διαστρωμάτωση κινδύνου | 74 |
| 4.9 Αβ40 και υποκλινική αθηρωμάτωση | 75 |
| 4.10 Αβ40 και σταθερή στεφανιαία νόσος | 77 |

| | |
|---|------------|
| 4.11 Αβ40 και οξύ στεφανιαίο σύνδρομο..... | 78 |
| 4.12 Αβ40 και αγγειακή φλεγμονή | 79 |
| 5. Ερευνητικό πρωτόκολλο | 82 |
| 5.1 Υπόθεση..... | 82 |
| 5.2 Σκοπός του ερευνητικού πρωτοκόλλου | 84 |
| 5.3 Σχεδιασμός και μέθοδοι..... | 85 |
| 5.4 Πληθυσμός | 85 |
| 5.4.1 Υπομελέτη μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών..... | 85 |
| 5.4.2 Υπομελέτη Καρδιομεταβολικής κοορτής Αθηνών | 86 |
| 5.4.3 Κοορτή σοβαρής καρωτιδικής στένωσης με ενδαρτηρεκτομή..... | 90 |
| 5.5 Υπερηχοκαρδιογράφημα καρωτίδων | 91 |
| 5.6 Βιοχημικές μετρήσεις..... | 94 |
| 5.7 Μέτρηση επιπέδων πλάσματος Αβ40..... | 95 |
| 5.8 Στατιστική επεξεργασία | 95 |
| 6. Αποτελέσματα | 98 |
| 6.1 Κοορτή μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών | 98 |
| 6.2 Καρδιομεταβολική κοορτή Αθηνών και Κοορτή σοβαρής καρωτιδικής στένωσης με ενδαρτηρεκτομή..... | 108 |
| 7. Συζήτηση | 125 |

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AA: amyloid

ACE: angiotensin converting enzyme

ACS: acute coronary syndrome

AD: Alzheimer's disease

ADMA: asymmetric dimethylarginine

AGE: advanced glycation endproduct

AICD: amyloid precursor protein intracellular domain

AMPs: antimicrobial peptides

AMS: artery measurement system

apoE: apolipoprotein E

ApoE^{-/-}: έλλειψη της απολιποπρωτεΐνης E

APP: amyloid precursor protein

AS: Antisense

BACE: beta amyloid cleaving enzymes

BACE1: beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1

CAA: cerebral amyloid angiopathy

CAC score: coronary artery calcium score

CAD: coronary artery disease

cIMT: carotid intima-media thickness

COX-2: cyclooxygenase-2

CVD: cardiovascular disease

CVRFs: κλασικοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου

ECM: extracellular matrix

EDCF: endothelium-derived contractile factors

eGFR: εκτιμώμενος ρυθμός σπειραματικής διήθησης

GFR: ρυθμός σπειραματικής διήθησης

eNOS: endothelial nitric oxide synthase

HAECs: human aortic endothelial cells

HDL: high density lipoprotein

hsCRP: υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη

HUVEC: human umbilical vein endothelial cells

IDE: insulin degrading enzyme

IGF-1: insulin-like growth factor-1

IL: interleukin
IMT: intima-medial thickness
IQR: interquartile range
LDL: low density lipoprotein
MACE: μείζον καρδιαγγειακό σύμβαμα
MDRD: Modification of Diet in Renal Disease
NF-κB: nuclear factor kappa-B
NSTE-ACS: non-ST segment elevation acute coronary syndromes
NSTEMI: οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου χωρίς ανάσπαση του ST
NT-proBNP: N-terminal pro-B-type natriuretic peptide
NYHA: New York Heart Association
OR: odds ratio
PBMCs: peripheral blood mononuclear cells
RAGE: receptor for advanced glycation end products
ROCK: RhoA/Rho kinase
ROS: reactive oxygen species
SAA: serum amyloid A
sAPP: soluble amyloid precursor protein
Sir2: silent information regulator 2
SIRT1: Sirtuin 1
SMC: smooth muscle cell
TNF: tumor necrosis factor
VCAM: vascular cell adhesion molecule
VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1
VEGF: vascular endothelial growth factor
VLDLR: very low-density lipoprotein receptor
VSMC: vascular smooth muscle cell
AEE: αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο
ΚΑ νόσος: καρδιαγγειακή νόσο
ΜΚΣ: μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα
OEM: οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου
ΟΣΣ: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο
ΣΝ: στεφανιαία νόσος

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

Την τελευταία δεκαετία, η καρδιαγγειακή νόσος είναι η κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως, έχοντας προκαλέσει 16 εκατομμύρια θανάτους το 2010. Μεταξύ των ετών 1990-2010, οι θάνατοι από καρδιαγγειακή νόσο αυξήθηκαν από 26% σε 29,5% όλων των θανάτων παγκοσμίως, αντανακλώντας την αυξανόμενη επιδημιολογική μεταβολή, ιδιαίτερα σε χώρες με χαμηλό και μεσαίο εισόδημα. Οι κύριες εκδηλώσεις της καρδιαγγειακής νόσου είναι η αθηροσκληρυντική στεφανιαία νόσος και το εγκεφαλικό επεισόδιο. Οι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου περιλαμβάνουν: το κάπνισμα, την υπέρταση, την υπερλιπιδαιμία, τον σακχαρώδη διαβήτη, την παχυσαρκία και την έλλειψη φυσικής δραστηριότητας^{1,2}. Η καρδιαγγειακή νόσος ευθύνεται για το 35,8% των θανάτων στον Δυτικό Κόσμο, με τη στεφανιαία νόσο να προκαλεί τους μισούς από αυτούς. Ωστόσο, οι εξελίξεις των τελευταίων δεκαετιών στην πρόληψη, την τροποποίηση των κλασικών παραγόντων κινδύνου και τη θεραπεία των καρδιαγγειακών επεισοδίων έχουν μειώσει τους θανάτους τόσο σε γυναίκες όσο και σε άντρες.

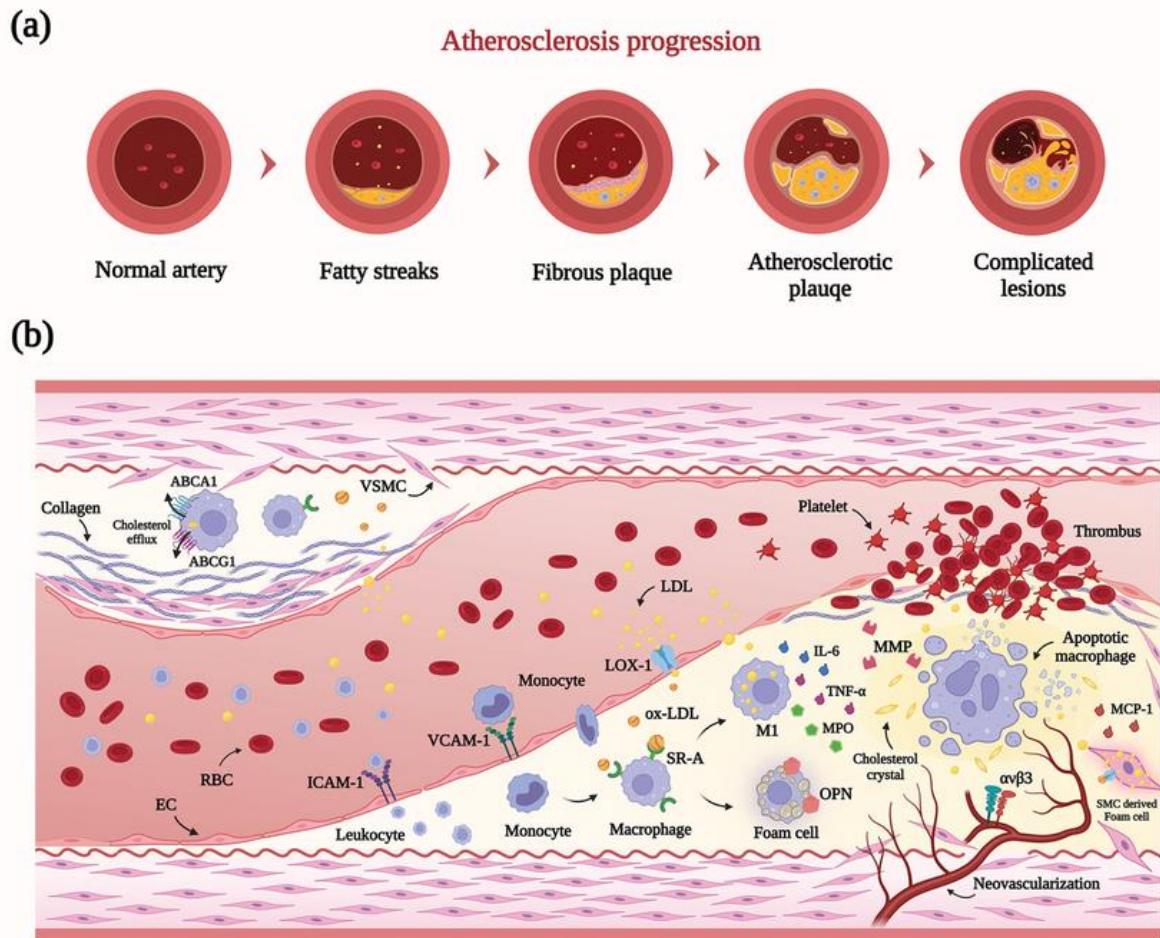
Στα μέσα του 19ου αιώνα, ο Rudolf Virchow ανέπτυξε τη φλεγμονώδη θεωρία του για την αθηρογένεση, η οποία αντιτίθετο στην άποψη του Carl von Rokitansky, σύμφωνα με την οποία το αθήρωμα προερχόταν από την επούλωση και την απορρόφηση των θρόμβων³. Στα μέσα του 20ού αιώνα, η ανακάλυψη των ανθρόπινων μορίων λιποπρωτεΐνης έδειξε την υπερλιπιδαιμία ως αιτία της αθηροσκλήρυνσης⁴. Η αθηροσκλήρυνση αποτελεί την πιο κοινή παθοφυσιολογική αιτία καρδιαγγειακών συμβαμάτων και παρουσιάζει ετερογένεια στον χρόνο, καθώς η νόσος μπορεί να εκδηλωθεί τόσο με χρόνιες όσο και με οξείες μορφές. Αρχίζει υποκλινικά, προκαλώντας βλάβες στις αρτηρίες από τη 2η και 3η δεκαετία της ζωής, παραμένοντας ασυμπτωματική. Ωστόσο, η υποκλινική της μορφή αποτελεί πρώιμο δείκτη αθηρωματικού φορτίου, η έγκαιρη αναγνώριση του οποίου συμβάλλει στην πρόληψη εμφάνισης οξέος καρδιαγγειακού συμβάματος⁵. Παρόλα αυτά, οι επιπλοκές του αθηρώματος, όπως το οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου (OEM), η ασταθής στηθάγχη και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ), συχνά συμβαίνουν ξαφνικά και χωρίς προειδοποίηση.

Η αθηροσκλήρυνση προκαλείται από την υπερλιπιδαιμία και την οξειδωση των λιπιδίων. Είναι μια ασθένεια του αγγειακού συστήματος που επηρεάζει κυρίως τον έσω χιτώνα των μεγάλων και μεσαίων αρτηριών της συστηματικής κυκλοφορίας και χαρακτηρίζεται από τη δημιουργία εσωτερικών πλακών^{6,7}. Ο συγκεκριμένος ιατρικός όρος έχει ελληνική προέλευση και υποδηλώνει τη σκλήρυνση του εσωτερικού

αρτηριακού τοιχώματος σε συνδυασμό με την εναπόθεση λίπους. Η συγκέντρωση των λιπιδίων βρίσκεται στον κεντρικό πυρήνα της πλάκας και καλύπτεται από ένα ινώδες περίβλημα. Η διαδικασία της αθηροσκλήρυνσης αποτελείται από δύο διακριτά στάδια: την αθήρωση και τη σκλήρυνση. Το στάδιο της αθήρωσης περιλαμβάνει τη συγκέντρωση λίπους, με τη συμμετοχή των μακροφάγων κυττάρων. Αντίθετα, το στάδιο της σκλήρυνσης περιλαμβάνει το σχηματισμό ενός ινώδους στρώματος που περιέχει λείες μυϊκές ίνες, λευκοκύτταρα και συνδετικό ιστό^{8,9}.

Η διαδικασία δημιουργίας αθηρωματικών πλακών στο εσωτερικό αρτηριακό τοίχωμα αρχικά περιλαμβάνει την εναπόθεση κρυστάλλων χοληστερόλης, μικρού μεγέθους, στο εσωτερικό των παρακείμενων λείων μυϊκών ινών. Ακολούθως, οι πλάκες αυξάνονται σε μέγεθος μέσω του πολλαπλασιασμού ινώδους και παρακείμενων λείων μυϊκών ινών (Εικόνα 1). Το αποτέλεσμα είναι η διόγκωση των πλακών εντός των αρτηριών και η μειωμένη ροή στην κυκλοφορία. Η παραγωγή συνδετικού ιστού από τους ινοβλάστες και η εναπόθεση ασβεστίου στην εκάστοτε περιοχή της βλάβης επάγουν αρτηριακή σκλήρυνση. Επιπρόσθετα, η ανομοιόμορφη επιφάνεια των αρτηριών λόγω των αθηρωματικών πλακών οδηγεί στη δημιουργία θρόμβων και θρόμβωσης, η οποία

ενοχοποιείται στην αιφνίδια απόφραξη της κυκλοφορίας¹⁰.



Εικόνα 1. Σχηματική εξέλιξη δημιουργίας αθηρωματικής πλάκας

Εικόνα τροποποίηση από: Zhang et al¹¹

Τα ακριβή αίτια εκδήλωσης της αθηροσκλήρυνσης, καθώς επίσης και οι πιθανοί παράγοντες κινδύνου παραμένουν μερικώς κατανοητοί. Εκτιμάται ωστόσο πως ορισμένες συνθήκες, χαρακτηριστικά γνωρίσματα ή συνήθειες δύναται να αυξήσουν τον κίνδυνο εκδήλωσης της νόσου (**Εικόνα 2**). Οι συχνότερα καταγεγραμμένοι παράγοντες κινδύνου στη διεθνή βιβλιογραφία περιλαμβάνουν: τα αυξημένα επίπεδα LDL χοληστερόλης (low density lipoprotein) στο αίμα, τα μειωμένα επίπεδα HDL χοληστερόλης (high density lipoprotein) στο αίμα, την αρτηριακή υπέρταση, το κάπνισμα, το σακχαρώδη διαβήτη, την παχυσαρκία, τον καθιστικό τρόπο ζωής και την προχωρημένη ηλικία. Αξίζει ωστόσο να αναφερθεί πως καθώς οι προαναφερθέντες παράγοντες κινδύνου είναι τροποποιήσιμοι, καθίσταται εφικτή η πρόληψη ή ακόμα και η αναστολή εκδήλωσης της αθηροσκλήρυνσης^{12,13}.

| Category | No. | Risk | Comments |
|------------------------|-----|---|--|
| Major | 1 | Unhealthy blood cholesterol and lipoproteins levels | Broadly, the ideal levels for cholesterol and various lipoproteins are as follows Total cholesterol ≤ 5 mmol/L Cholesterol: HDL ratio ≤ 4 LDL cholesterol ≤ 3 mmol/L HDL cholesterol ≥ 1 mmol/L |
| | 2 | High blood pressure | Blood pressure is considered high if it stays at or above 140/90 mmHg over time. If you have diabetes or chronic kidney disease, high blood pressure is defined as 130/80 mmHg or higher |
| | 3 | Smoking | Smoking doesn't allow enough oxygen to reach the body's tissues. Smoking can also damage and tighten blood vessels, raise cholesterol levels, and raise blood pressure |
| | 4 | Insulin resistance | This condition occurs if the body can't use its insulin properly. Insulin resistance may lead to diabetes |
| | 5 | Diabetes | The body doesn't make enough insulin or doesn't use its insulin properly, hence the blood sugar is high |
| | 6 | Overweight or obesity | The terms "overweight" and "obesity" refer to body weight that's greater than what is considered healthy for a certain height |
| | 7 | Lack of physical activity | A lack of physical activity can worsen other risk factors for atherosclerosis, such as unhealthy blood cholesterol levels, high blood pressure, diabetes and overweight and obesity |
| | 8 | Unhealthy diet | Foods that are high in saturated and trans fats, cholesterol, sodium and sugar can worsen other atherosclerosis risk factors |
| | 9 | Older age | Genetic or lifestyle factors cause plaque to build up in the arteries as with age. In men, the risk increases after age 45 and in women, the risk increases after age 55 |
| | 10 | Family history of early heart disease | Your risk for atherosclerosis increases if your father or a brother was diagnosed with heart disease before 55 years of age, or if your mother or a sister was diagnosed with heart disease before 65 years of age |
| | 11 | Inflammation | Inflammation is the body's response to injury or infection. Damage to the arteries inner walls seems to trigger inflammation and help plaque grow |
| Emerging risk factors* | 12 | High levels of CRP | High levels of CRP are a sign of inflammation in the body and high level of CRP may develop atherosclerosis at a higher rate. Research is under way to find out whether reducing inflammation and lowering CRP levels also can reduce the risk for atherosclerosis |
| | 13 | Triglycerides | High levels of triglycerides in the blood also may raise the risk for atherosclerosis, especially in women |
| | 14 | Sleep apnea | Untreated sleep apnea can raise the risk for high blood pressure and even a heart attack or stroke |
| | 15 | Stress | The most commonly reported "trigger" for a heart attack is an emotionally upsetting event, especially the one involving anger |
| | 16 | Alcohol | Heavy drinking can damage the heart muscle and worsen other risk factors for atherosclerosis |

*Several other possible risk factors have been studied. Scientists continue to study other factors for atherosclerosis. CRP=C-reactive protein, HDL=High density lipoprotein, LDL=Low density lipoprotein

Εικόνα 2. Παράγοντες κινδύνου αθηροσκλήρυνσης

Τροποποίηση Rafieian-Koraei M. et al¹²

Η αύξηση στο μέγεθος των αθηρωματικών πλακών έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της διαμέτρου του αυλού του αγγείου, με συνέπεια την εκδήλωση αιφνίδιων συμβαμάτων, όπως η διαλείπουσα χωλότητα, η ασταθής στηθάγχη, το ΟΕΜ, το ισχαιμικό ΑΕΕ και ο αιφνίδιος θάνατος¹⁴. Η αθηροσκληρυντική νόσος αρχικά παραμένει υποκλινική για μεγάλο χρονικό διάστημα και καθίσταται έκδηλη μόνο σε προχωρημένα στάδια της νόσου, ενίοτε με καταστρεπτικές συνέπειες¹⁵.

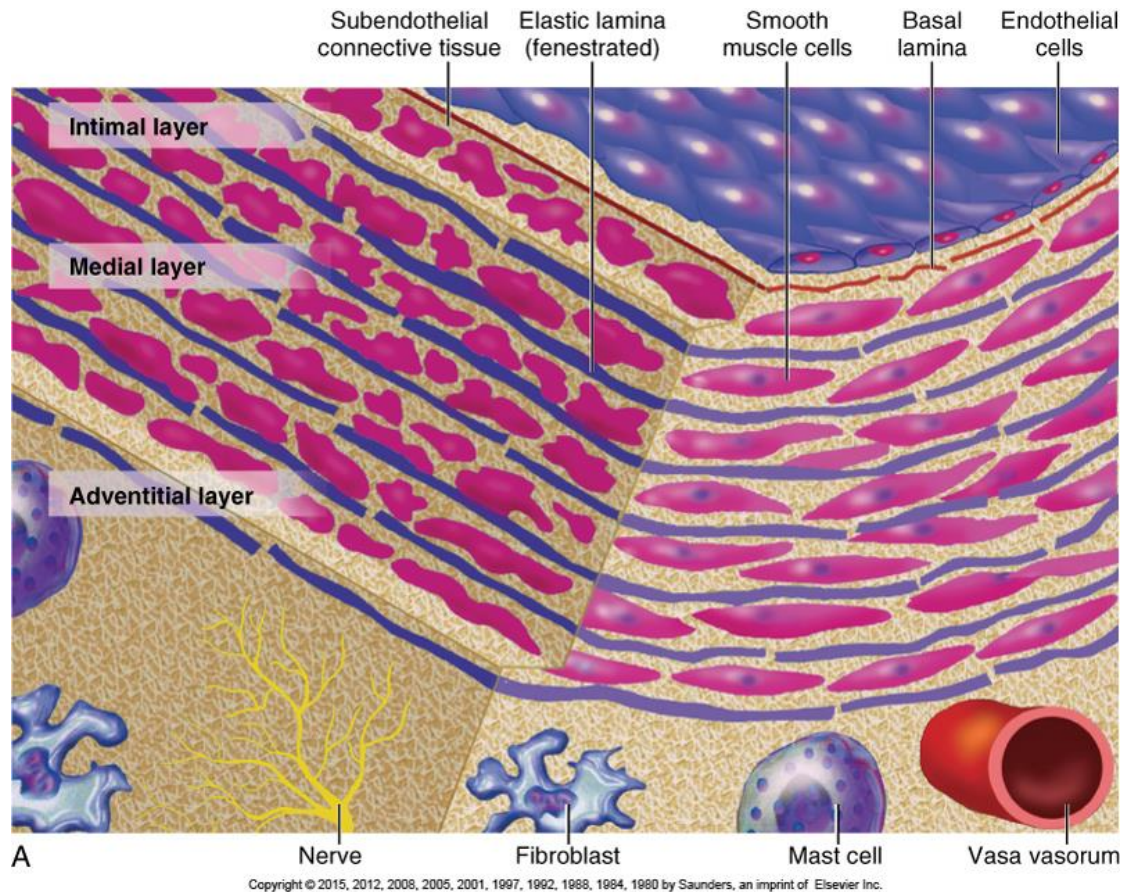
2. Αθηρωματική νόσος

2.1 Παθοφυσιολογία αθηροσκλήρυνσης - Μηχανισμοί αθηροσκλήρυνσης

Το τοίχωμα μιας φυσιολογικής αρτηρίας *απαρτίζεται* από τρεις χιτώνες: τον έσω, τον μέσο και τον έξω (**Εικόνα 3**). Ο έσω χιτώνας καλύπτεται από μια στοιβάδα κυττάρων που ονομάζεται ενδοθήλιο. Ο μέσος χιτώνας αποτελείται κυρίως από λεία μυϊκά κύτταρα, τα οποία συσπώνται και διατηρούν τον τόνο του αρτηριακού τοιχώματος, καθώς και από συνδετικό ιστό, όπως η ελασίνη και το κολλαγόνο. Ο έξω χιτώνας αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό, ο οποίος περιλαμβάνει ινοβλάστες, το δίκτυο των *vasa vasorum* και το εξωκυτταρικό δίκτυο συνδετικού ιστού.¹⁶ Πιο αναλυτικά, το ενδοθήλιο αποτελείται από μια στοιβάδα λεπτών κυττάρων που επενδύουν τον έσω χιτώνα των αρτηριών. Αυτά τα κύτταρα είναι διατεταγμένα σε μια απλή στοιβάδα και συνδέονται μεταξύ τους με συνδέσμους. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το ενδοθήλιο δεν επιτρέπει την παθητική διείσδυση μακρομορίων, όπως η λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) και η λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL). Επιπλέον, το ενδοθήλιο αποτρέπει την είσοδο των έμμορφων στοιχείων του αίματος στο τοίχωμα της αρτηρίας και τη δημιουργία θρόμβων. Παράλληλα, με τις ουσίες που παράγει, επιδρά στα λεία μυϊκά κύτταρα και ρυθμίζει τον τόνο του τοιχώματος των αρτηριών¹⁷. Τα κύτταρα του ενδοθηλίου, μέσω μιας σειράς ουσιών που παράγουν, έχουν ενδοκρινική και παρακρινή δράση. Οι βασικές λειτουργίες του ενδοθηλίου είναι:

1. **Ρύθμιση της αγγειακής τόνωσης και της αρτηριακής πίεσης:** Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν αγγειοδιασταλτικά και αγγειοσυσπαστικά μόρια, όπως το νιτρικό οξείδιο, τα οποία ρυθμίζουν τη διάμετρο των αγγείων.
2. **Πρόληψη της θρόμβωσης:** Το ενδοθήλιο παράγει ουσίες που αποτρέπουν την πήξη του αίματος και την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στα τοιχώματα των αγγείων.
3. **Φίλτρο και εμπόδιο:** Λειτουργεί ως φράγμα που ελέγχει τη μετακίνηση ουσιών και κυττάρων από το αίμα στους ιστούς.
4. **Ρύθμιση της φλεγμονώδους απόκρισης:** Παράγει μόρια που συμμετέχουν στη φλεγμονώδη απόκριση και ελέγχουν τη μετακίνηση των λευκών αιμοσφαιρίων

προς τις περιοχές φλεγμονής.



Εικόνα 3. Δομή φυσιολογικής αρτηρίας
Τροποποίηση από: Libby P. Et al¹⁸.

Αλλοιώσεις του ενδοθηλίου

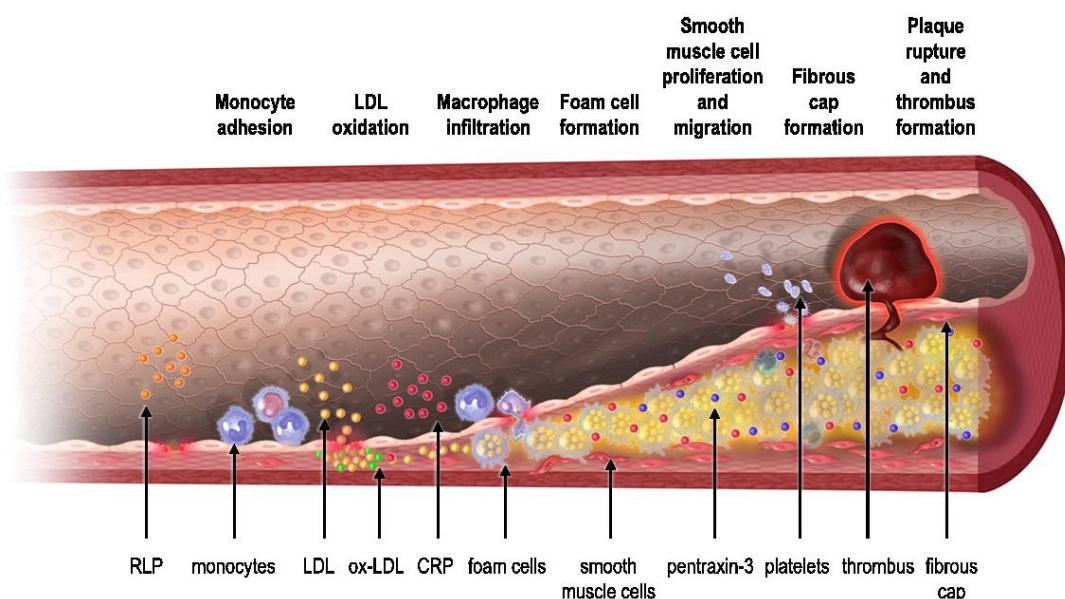
Οι αλλοιώσεις του ενδοθηλίου προκαλούνται από την επίδραση παραγόντων τόσο στον αυλό του αγγείου (τοιχωματική-διατμητική τάση) όσο και στο αρτηριακό τοίχωμα (μακροφάγα). Το ενδοθήλιο των αρτηριών υφίσταται τη χρόνια βλαπτική δράση της ροής του αίματος, κυρίως στα σημεία διχασμού των αρτηριών, με αποτέλεσμα οι θέσεις αυτές να είναι περισσότερο ευαίσθητες στη δημιουργία αθηροσκληρυντικών βλαβών. Η υπέρταση επιτείνει περαιτέρω τις μικρές βλάβες του ενδοθηλίου λόγω της αυξημένης τάσης που ασκείται σ' αυτό (διατμητική-τοιχωματική τάση) και αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες επιτάχυνσης της αθηροσκλήρυνσης. Παράλληλα, και άλλοι πρόσθετοι παράγοντες, όπως το κάπνισμα, η υπερχοληστερολαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης, οι λοιμώξεις και τα ανοσοσυμπλέγματα, επιτείνουν τις βλάβες του ενδοθηλίου¹⁹. Επιπρόσθετα, η έκταση της αθηροσκλήρυνσης σχετίζεται με το βαθμό της διαταραχής της ενδοθήλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής και την αναστολή των συνθασών του μονοξειδίου του αζώτου (NOS). Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μπορεί να

προκληθεί και οξέως, μετά από βραχυπρόθεσμη επίδραση παραγόντων κινδύνου²⁰. Η χορήγηση L-NMMA (αναστολέα σύνθεσης NO) δεν επιδεινώνει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία των στεφανιαίων αρτηριών σε άτομα με παράγοντες κινδύνου ή με εγκατεστημένη αθηροσκλήρυνση. Αντίθετα, σε φυσιολογικά άτομα χωρίς παράγοντες κινδύνου, η χορήγηση L-NMMA προκαλεί διαταραχή της ενδοθηλιακής λειτουργίας των αρτηριών αγωγών και της μικροκυκλοφορίας της καρδιάς. Με βάση αυτά τα ευρήματα, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία θεωρείται ενδιάμεσο στάδιο για την ανάπτυξη της αθηροσκλήρυνσης. Ενισχύεται η υπόθεση ότι, όπως η αθηρογένεση, έτσι και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία προκαλείται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι καταλήγουν σε μία κοινή μεταβολική οδό, κυρίως στη διαταραχή του μεταβολισμού του μονοξειδίου του αζώτου (NO)²¹.

Σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας

Σε περίπτωση βλάβης ή δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου, οι λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL) εισέρχονται και εναποτίθενται στο τοίχωμα της αρτηρίας. Όλα τα κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων, συμπεριλαμβανομένων και των κυττάρων της αθηροσκληρυντικής βλάβης, μπορούν να προκαλέσουν οξείδωση της LDL. Η οξειδωμένη LDL κινητοποιεί την παραγωγή από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και άλλα κύτταρα του τοιχώματος μιας σειράς ουσιών, όπως η χημειοτακτική πρωτεΐνη 1 των μονοκυττάρων και ο παράγοντας ενεργοποίησης των μονοκυττάρων, που προκαλούν την ενεργοποίηση και προσέλκυση των μονοκυττάρων στην περιοχή της βλάβης. Τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και στη συνέχεια εισέρχονται στην υπενδοθηλιακή περιοχή, όπου μετατρέπονται σε μακροφάγα. Τα μακροφάγα προσλαμβάνουν τα μόρια της οξειδωμένης LDL και, με την αυξανόμενη συσσώρευση της χοληστερόλης στο εσωτερικό τους, μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα (foam cells). Τα μακροφάγα-αφρώδη κύτταρα, μετά τον κορεσμό τους με λιποειδή, οδηγούνται στο θάνατο. Όμως, τόσο πριν όσο και μετά το θάνατό τους, τα μακροφάγα απελευθερώνουν διάφορες ουσίες, όπως την οξειδωμένη LDL χοληστερόλη και τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, οι οποίες επιδεινώνουν περαιτέρω την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Παράλληλα, τα μακροφάγα απελευθερώνουν μια σειρά από παράγοντες που προκαλούν την ενεργοποίηση και την είσοδο νέων μονοκυττάρων στην περιοχή της βλάβης. Ταυτόχρονα, με τη βοήθεια άλλων παραγόντων, όπως οι αυξητικοί παράγοντες που εκκρίνονται από τα μακροφάγα και άλλα κύτταρα στην περιοχή της βλάβης, ενεργοποιείται ο πολλαπλασιασμός των λείων μυϊκών κυττάρων του τοιχώματος καθώς

και η παραγωγή εξωκυττάριου συνδετικού ιστού^{21,22}. Οι διεργασίες αυτές οδηγούν στη δημιουργία και σταδιακή αύξηση της αθηροσκληρυντικής βλάβης. Έτσι, στα πρώιμα στάδια, η αθηροσκλήρυνση εμφανίζεται με τη μορφή λιποειδών γραμμώσεων στην επιφάνεια του ενδοθηλίου. Οι γραμμώσεις αυτές δημιουργούνται από λιποπρωτεΐνες που εισέρχονται στο αρτηριακό τοίχωμα σε συνδυασμό με την ανάπτυξη συνδετικού ιστού. Με την εξέλιξη των αθηροσκληρυντικών διεργασιών, σχηματίζεται τελικά η αθηροσκληρυντική βλάβη ή πλάκα.²³ (Εικόνα 4). Η αθηροσκληρυντική βλάβη εδράζεται κυρίως στον έσω χιτώνα και προβάλλει στον αυλό της αρτηρίας. Αποτελείται από έναν κεντρικό λιπώδη πυρήνα, ο οποίος περιβάλλεται από ινώδη κάψα. Στην αρχική φάση του σχηματισμού της αθηροσκληρυντικής πλάκας, η διάμετρος του αυλού της στεφανιαίας αρτηρίας διατηρείται σταθερή ή και αυξάνεται λίγο. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται αρτηριακή αναδιαμόρφωση και αφορά στενώσεις του αυλού έως 40% (κατά την αγγειογραφία), οφειλόμενη κυρίως στην προς τα έξω αύξηση του αρτηριακού τοιχώματος. Όταν η αθηροσκληρυντική βλάβη προβάλλει μέσα στον αυλό του αγγείου προκαλώντας στένωση, τότε στο τοίχωμα του αγγείου υπάρχει υπόστρωμα αθηροσκληρυντικής πλάκας τουλάχιστον διπλάσιου μεγέθους από αυτό που απεικονίζεται στην αγγειογραφία^{24,25}.



Εικόνα 4. Σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας

Τροποποίηση από: Lamon et al²⁶.

Υπόστρωμα της θρόμβωσης

Το περιεχόμενο της αθηροσκληρυντικής πλάκας, όπως οι εστέρες και οι κρύσταλλοι χοληστερόλης, χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια. Κατά τη ρήξη της πλάκας, το περιεχόμενο αυτό έρχεται σε επαφή με τα στοιχεία του αίματος. Οι εστέρες της χοληστερόλης θεωρούνται τα πλέον θρομβογόνα υλικά της αθηροσκληρυντικής πλάκας. Εκτός από τους εστέρες χοληστερόλης, ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο παίζει ο ιστικός παράγοντας, μια χαμηλού μοριακού βάρους γλυκοπρωτεΐνη που πυροδοτεί το εξωγενές σύστημα πήξης. Ο ιστικός παράγοντας ανευρίσκεται κυρίως στις περιοχές που διηθούνται από μακροφάγα ή αφρώδη κύτταρα, και εμπεριέχεται επίσης στον πυρήνα της αθηροσκληρυντικής πλάκας. Θεωρείται ο κυριότερος ρυθμιστής της αιμόστασης και της θρόμβωσης. Ο ιστικός παράγοντας δημιουργεί ένα σύμπλεγμα με τους παράγοντες πήξεως VII/VIIa, το οποίο ενεργοποιεί τους παράγοντες IX και X, οδηγώντας τελικά στην παραγωγή της θρομβίνης^{27,28}.

Η ρήξη της ευάλωτης πλάκας

Παρατηρούνται δύο διαφορετικοί τύποι πλακών, οι σταθερές και οι ασταθείς²⁸. Οι αθηροσκληρυντικές πλάκες μπορεί να διαχωριστούν σε σταθερές και ασταθείς. Οι σταθερές πλάκες μπορεί να είναι στατικές, να αναπτύσσονται αργά ή ακόμα και να μειώνονται σε μέγεθος. Από την άλλη πλευρά, οι ασταθείς πλάκες χαρακτηρίζονται από διάβρωση, ρήξη και εκδηλώνονται κλινικά με στένωση και θρόμβωση. Η πλειοψηφία των κλινικών επεισοδίων οφείλεται σε επιπολικές ασταθών πλακών. Επομένως, η σταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών μπορεί να μειώσει τα συνοδά επίπεδα θνητότητας και θνησιμότητας που σχετίζονται με την αθηροσκλήρυνση.

Οι αθηροσκληρυντικές πλάκες που είναι επιρρεπείς σε ρήξη είναι συνήθως μικρού μεγέθους και μαλακές σε σύσταση. Παρουσιάζουν μεγάλο λιπώδη πυρήνα που περιβάλλεται από λεπτή κάψα. Η ρήξη της πλάκας συμβαίνει στο σημείο όπου η ινώδης κάψα είναι λεπτότερη και λιγότερο ανθεκτική. Τα δύο τρίτα του συνόλου των αθηροσκληρυντικών πλακών ανήκουν στις ευάλωτες πλάκες²⁹. Η ρήξη της αθηροσκληρυντικής πλάκας μπορεί να προκληθεί ενεργητικά με τη δραστηριοποίηση των μακροφάγων. Τα μακροφάγα αποδιοργανώνουν την ινώδη κάψα είτε μέσω φαγοκυττάρωσης είτε με την έκκριση πρωτεολυτικών ενζύμων, όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (κολλαγενάσες, ζελατινάσες, στρομελυσίνες). Αυτές οι ουσίες

αποδιοργανώνουν την ινώδη κάψα και δημιουργούν τις προϋποθέσεις για τη ρήξη της. Επιπρόσθετα, η ενεργοποίηση των μακροφάγων αυξάνει τον προγραμματισμένο θάνατο των λείων μυϊκών κυττάρων (απόπτωση), γεγονός που επίσης προδιαθέτει σε ρήξη της αθηροσκληρυντικής πλάκας.

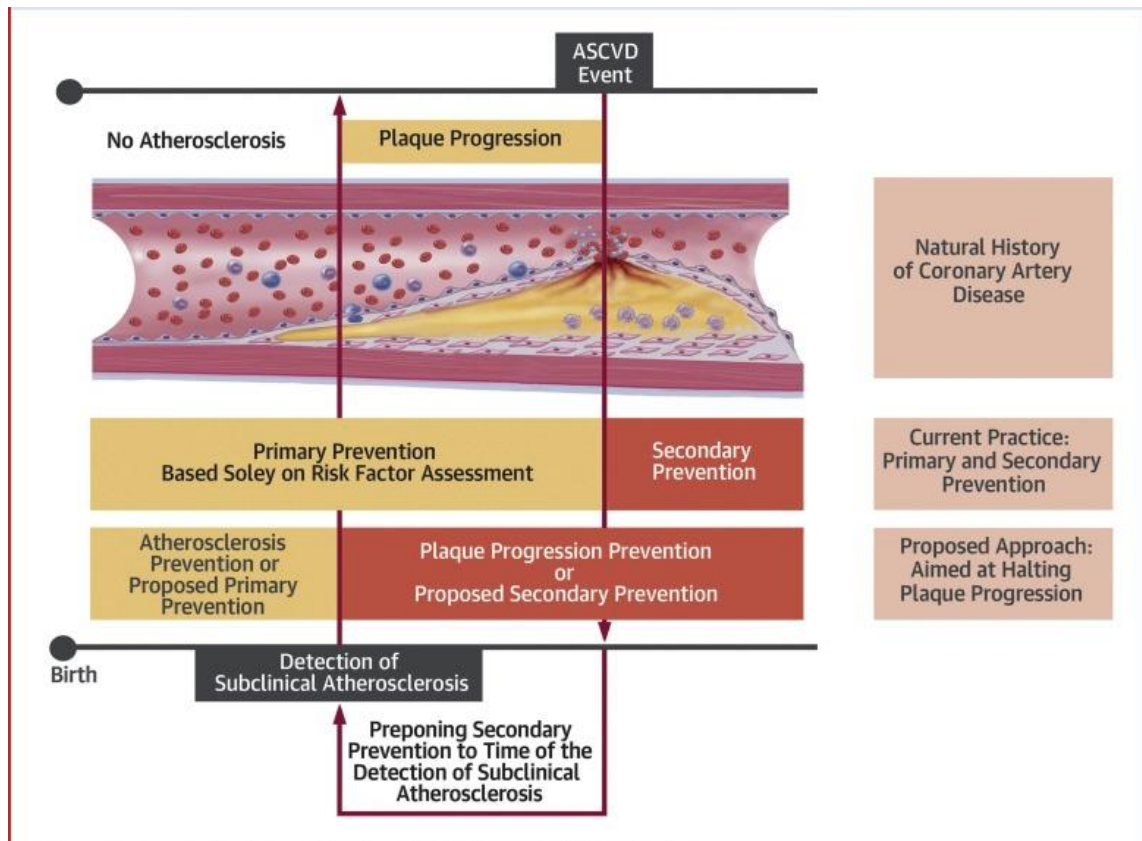
Οι ανωτέρω διεργασίες συνιστούν τον παράγοντα της τοπικής φλεγμονής. Επιπλέον, παράγοντες όπως η κυτοκίνη ιντερφερόνη- γ , που προέρχεται από τα T κύτταρα, αναστέλλουν ισχυρά τη σύνθεση του κολλαγόνου από τα λεία μυϊκά κύτταρα. Αυτή η αναστολή συμβάλλει περαιτέρω στην αδυναμία της ινώδους κάψας και την προδιάθεση σε ρήξη της αθηροσκληρυντικής πλάκας²⁹. Πέραν του βασικού μηχανισμού της ρήξης αθηροσκληρυντικής πλάκας που περιλαμβάνει τη δραστηριοποίηση των μακροφάγων, η πλάκα μπορεί να ραγίσει και μέσω ενός παθητικού μηχανισμού, λόγω της αυξημένης τάσης που ασκείται στο τοίχωμά της (διατμητική τοιχωματική τάση). Αυτό συμβαίνει ιδιαίτερα στις αρτηρίες που προσβάλλονται από αθηροσκλήρυνση, όπου οι προστατευτικοί μηχανισμοί του ενδοθηλίου είναι ανεπαρκείς. Το αποτέλεσμα είναι η αρτηρία να γίνεται ανελαστική και με σκληρό τοίχωμα, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο ρήξης της αθηροσκληρυντικής πλάκας.^{30,31} Όταν η αθηροσκληρυντική πλάκα υποστεί ρήξη, είναι δυνατόν να δημιουργηθεί τοιχωματικός ή ενδοαυλικός θρόμβος, με αποτέλεσμα είτε την αύξηση του μεγέθους της αρχικής βλάβης είτε τη θρόμβωση και απόφραξη της αρτηρίας. Έτσι, οι πλάκες, και ειδικότερα αυτές που απεικονίζονται ως μικρού μεγέθους στη στεφανιογραφία, εξελίσσονται κατά ώσεις είτε με τη δημιουργία ενδοτοιχωματικού θρόμβου, ο οποίος επικαλύπτεται από ενδοθήλιο και συνεπώς οδηγεί στην αύξηση της στένωσης είτε με τη δημιουργία ενδοαυλικού θρόμβου, ο οποίος αποφράσσει τον αυλό.

Επιπλέον, η εναπόθεση ασβεστίου υπό τη μορφή συσσωματωμάτων μικρού μεγέθους μετατρέπεται σε βάθος χρόνου σε οζίδια μεγάλου μεγέθους κατά μήκος του τοιχώματος. Έτσι, η ρήξη της αθηροσκληρυντικής πλάκας οδηγεί σε θρόμβωση, ενώ η αυξημένη μάζα των αθηρωματικών πλακών προκαλεί στένωση και τελικά οδηγεί σε οξεία ισχαιμία²⁹.

Η αθηροσκλήρυνση στη χρόνια φάση της μπορεί να είναι ασυμπτωματική ή να εκδηλώνεται ως στηθάγχη προσπαθείας (σταθερή στηθάγχη). Αντίθετα, η ρήξη της πλάκας εκδηλώνεται με οξύ στεφανιαίο επεισόδιο, όπως ασταθής στηθάγχη, οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου ή ισχαιμικός αιφνίδιος θάνατος. Η ρήξη της πλάκας στα εγκεφαλικά αγγεία εκδηλώνεται με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ), ενώ

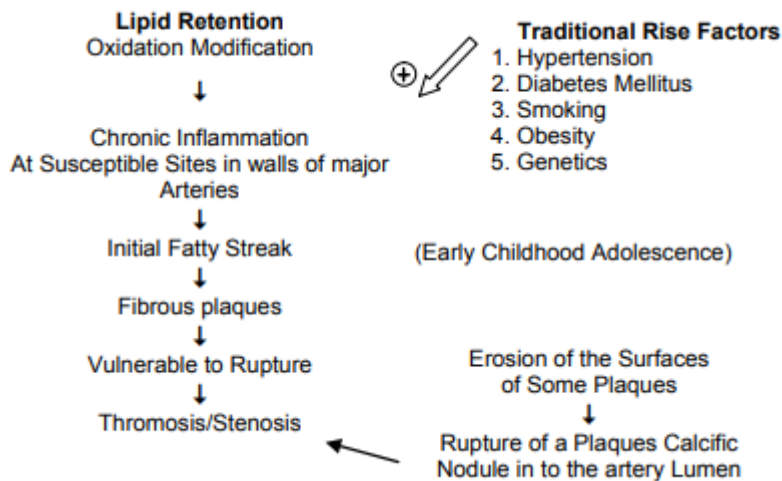
η ρήξη της πλάκας στις αρτηρίες των κάτω άκρων εκδηλώνεται με οξεία ισχαιμία των κάτω άκρων²¹. Ο αιφνίδιος καρδιακός θάνατος αποτελεί την πλέον δραματική έκφραση της αθηροσκλήρυνσης των στεφανιαίων αρτηριών ιδιαίτερα σε ασυμπτωματικούς ασθενείς **(Εικόνα 5)**. Η ρήξη της αθηροσκληρυντικής πλάκας μπορεί να προκαλέσει καταγισμό μικροεμβόλων από τον ενδοαυλικό θρόμβο (λευκού και ερυθρού) στα περιφερικά τμήματα της στεφανιαίας κυκλοφορίας, πριν ολοκληρωθεί η πλήρης απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας. Αυτά τα περιφερικά μικροέμβολα δημιουργούν ασταθή ηλεκτρικά πεδία στο μυοκάρδιο (επανείσοδος-αυτοματισμός), με αποτέλεσμα την εκδήλωση κοιλιακής μαρμαρυγής πριν ολοκληρωθεί η πλήρης απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας και πριν εκδηλωθεί το άλγος από την οξεία ισχαιμία μυοκαρδίου. Έτσι, είναι δυνατόν να εκδηλωθεί ισχαιμικός αιφνίδιος θάνατος σε άτομα χωρίς πρότερα συμπτώματα στεφανιαίας νόσου²⁹. Εκτός από τη ρήξη της αθηροσκληρυντικής πλάκας, σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της αθηροσκληρυντικής νόσου παίζει και η διάβρωση του ενδοθηλίου. Στην περίπτωση αυτή, η ανώμαλη επιφάνεια του ενδοθηλίου ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια του αίματος, τα οποία απελευθερώνουν μια σειρά από αυξητικούς παράγοντες. Παράλληλα, ανάλογοι παράγοντες απελευθερώνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα στην περιοχή της βλάβης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και την αύξηση του εξωκυττάρου συνδετικού ιστού **(Εικόνες 6-7)**.

Οι διεργασίες αυτές συμβάλλουν στην αύξηση του μεγέθους της αθηροσκληρυντικής βλάβης και μπορούν να οδηγήσουν άμεσα στο σχηματισμό ενδοαυλικού θρόμβου και στην εκδήλωση οξέος στεφανιαίου επεισοδίου, χωρίς να προηγηθεί ρήξη της αθηροσκληρυντικής πλάκας. **(Εικόνα 7-8)**^{29,32}.



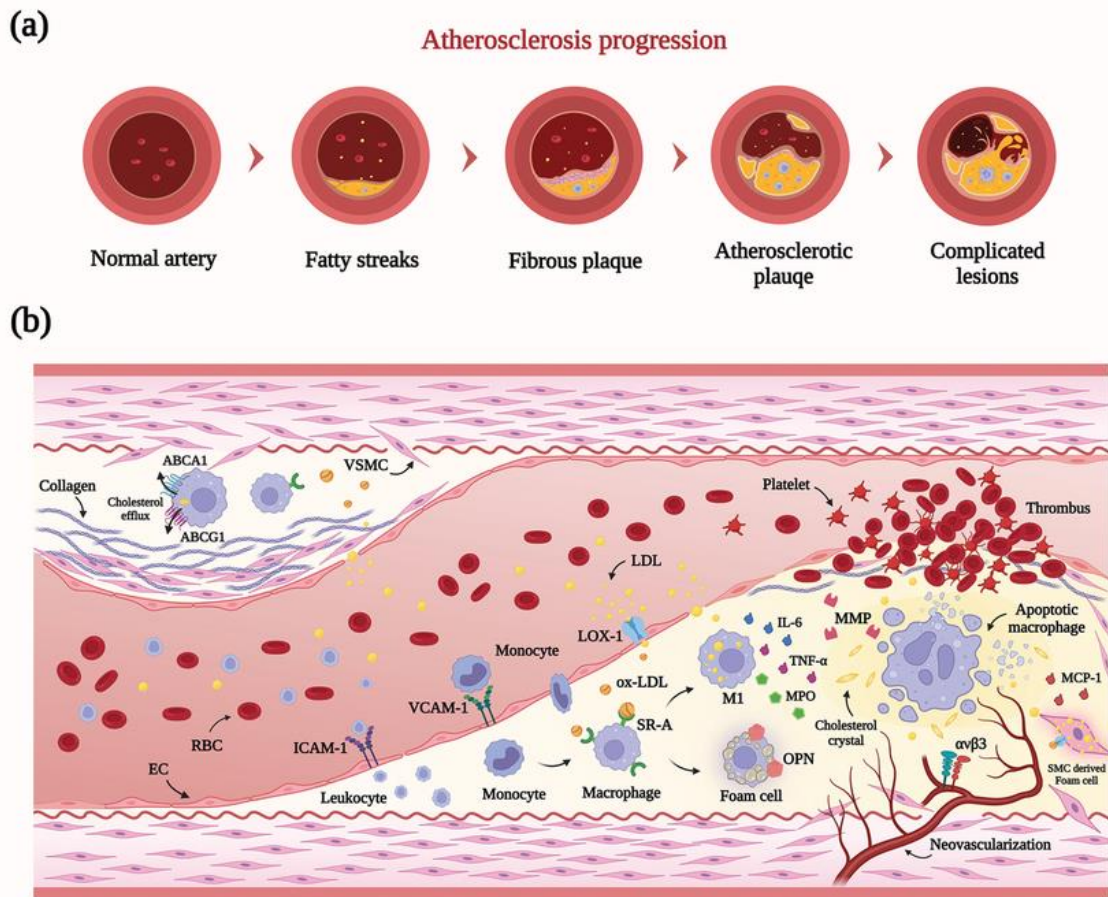
Εικόνα 5. Αλληλουχία γεγονότων στα τελικά στάδια της αθηροσκλήρυνσης

Τροποποίηση από: Ahmadi et. al³³.

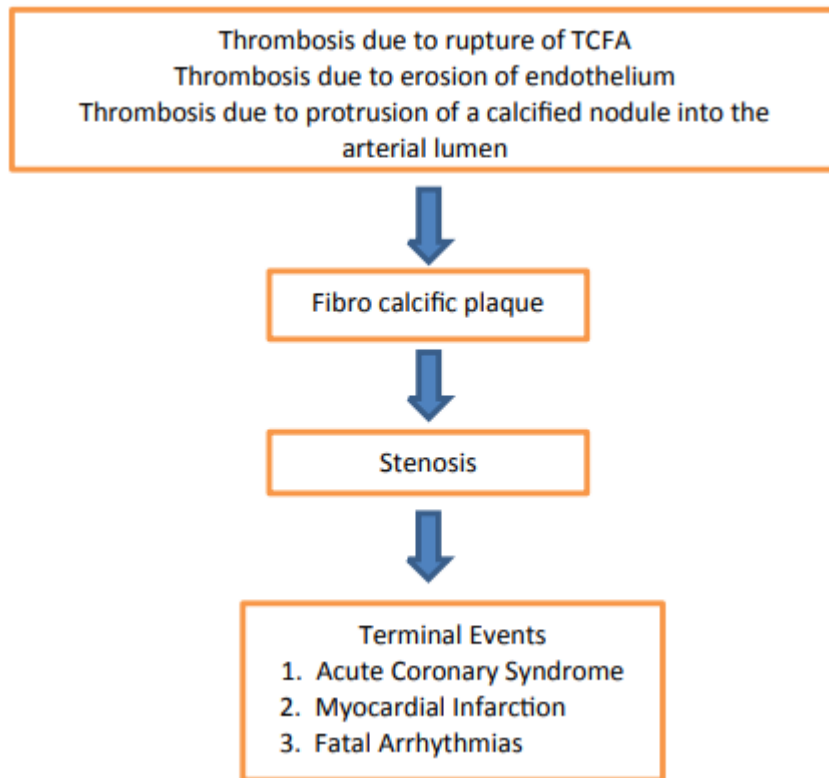


Εικόνα 6. Στάδια της αθηροσκλήρυνσης

Τροποποίηση από: Aziz M²³.



Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση της εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης και των παθολογικών χαρακτηριστικών των διαφόρων τύπων αθηρωματικών πλακών. α) Τα τέσσερα στάδια της παθολογικής εξέλιξης της ΑΣ. β) Η ευάλωτη πλάκα (κάτω δεξιά) έχει υψηλό κίνδυνο ρήξης και θρόμβωσης, αποτελείται από έναν πλούσιο σε λιπίδια νεκρωτικό πυρήνα, φλεγμονώδη κύτταρα και κυτταροκίνες, λεπτό ινώδες κάλυμμα και νεοαγγειογένεση, σε σύγκριση με τη σταθερή πλάκα (πάνω αριστερά). Τροποποίηση από: Zhang et al³⁴.



Εικόνα 8. Κλινικά συμβάματα ως αποτέλεσμα στένωσης των αθηρωματικών πλακών
Τροποποίηση από: Aziz M. et al²³.

3. Υποκλινική αθηρωμάτωση

Πολλές ρήξεις της πλάκας είναι κλινικά σιωπηλές, αλλά μπορούν να εντοπιστούν κατά τη μεταθανάτια αξιολόγηση ως ρήξεις στο ινώδες κάλυμμα που συνδέονται με ενδείξεις επούλωσης³⁵. Σε μια ομάδα 142 ανδρών που πέθαναν από αιφνίδιο στεφανιαίο θάνατο, 86 καρδιές (61%) είχαν ενδείξεις επουλωμένων σιωπηλών ρήξεων³⁵. Αξίζει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι η οξεία ρήξη της πλάκας εμφανιζόταν συνήθως σε αρτηρίες με ενδείξεις προηγουμένως επουλωμένων σιωπηλών ρήξεων που παρουσίαζαν μεγαλύτερη αυλική στένωση από ό,τι σε αρτηρίες χωρίς αυτές τις επουλωμένες ρήξεις. Επιπλέον, η αρτηριακή αυλική στένωση αυξήθηκε με τον αριθμό των επουλωμένων θέσεων προηγούμενης ρήξης πλάκας. Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση αποκάλυψε ότι ο πολλαπλασιασμός των λείων μυών ήταν αυξημένος στις επουλωμένες θέσεις ρήξης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η εμφάνιση και η επούλωση των σιωπηλών ρήξεων της πλάκας συμβάλλει στην περαιτέρω επέκταση της αθηρωματικής πλάκας³⁵.

Ο επιπολασμός και η έκταση της αθηροσκλήρωσης αυξάνονται με την ηλικία. Στην κλίμακα κινδύνου Framingham, η ηλικία χρησιμοποιείται ως υποκατάστατο για το βάρος της στεφανιαίας πλάκας, αλλά το βάρος της πλάκας είναι ο πραγματικός παράγοντας κινδύνου για τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα που σχετίζεται με την ΚΑ³⁶. Επειδή το φορτίο της πλάκας μπορεί να ποικίλλει μεταξύ των ατόμων σε οποιαδήποτε ηλικία, η ακριβής μέτρηση της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης μπορεί να παρέχει μια καλύτερη μέθοδο πρόβλεψης του κινδύνου για οξεία καρδιαγγειακά επεισόδια.

Αν και ο ακριβής επιπολασμός της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης δεν έχει προσδιοριστεί, είναι αξιοσημείωτο ότι το 50% των ανδρών και το 64% των γυναικών στις ΗΠΑ που πεθαίνουν ξαφνικά από στεφανιαία νόσο δεν έχουν προηγούμενη εκδήλωση νόσου και η πλειονότητα αυτών των ατόμων δεν θεωρούνταν υψηλού κινδύνου σύμφωνα με τη διαστρωμάτωση κινδύνου Framingham. Σε μια αξιολόγηση περισσότερων από 5.000 ενηλίκων ηλικίας ≥ 65 ετών που συμμετείχαν στη μελέτη Cardiovascular Health Study, ο επιπολασμός της υποκλινικής αθηρωματικής νόσου ήταν 36% στις γυναίκες και 38,7% στους άνδρες και αυξανόταν με την ηλικία³⁷. Σε μια μεταγενέστερη μελέτη, 318 ασυμπτωματικά άτομα επιλέχθηκαν τυχαία από τη συνομοταξία της Framingham Offspring Study με βάση στρώματα φύλου, ηλικίας και Framingham Risk Score. Η καρδιαγγειακή μαγνητική τομογραφία αποκάλυψε ότι το 38% των γυναικών και το 41% των ανδρών είχαν ενδείξεις αορτικής αθηροσκλήρωσης και, και πάλι, το βάρος της πλάκας αυξανόταν με την ηλικιακή ομάδα³⁸.

Πληθώρα μελετών έχουν διαπιστώσει αυξημένο επιπολασμό της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης, όπως μετράται με αξονική τομογραφία ή/και υπερηχογράφημα καρωτίδων σε διακριτές ομάδες πληθυσμού χωρίς ενδείξεις στεφανιαίας νόσου, συμπεριλαμβανομένων, μεταξύ άλλων, των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών³⁹, των γυναικών με οικογενειακό ιστορικό πρόωρης στεφανιαίας νόσου⁴⁰ και των Ευρωπαίων Αμερικανών σε σύγκριση με τους Αφροαμερικανούς⁴¹. Είναι προφανές ότι οι μεταβολικές διαταραχές συμβάλλουν στην υποκλινική αθηροσκλήρωση, η οποία έχει εντοπιστεί σε άτομα με διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας⁴², σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο⁴³ και σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη⁴⁴.

Για τη μέτρηση της αθηροσκλήρωσης και της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης διατίθενται διάφορες επεμβατικές και μη επεμβατικές τεχνικές (**Εικόνα 9**). Οι τεχνικές αυτές μπορούν να εξακριβώσουν παραμέτρους όπως η διάμετρος ή η στένωση του αυλού, το πάχος του τοιχώματος του αγγείου, ο όγκος της πλάκας και η συγκεκριμένη κατανομή και εντόπιση της αθηρωματικής νόσου. Κατά συνέπεια, αν και η αθηροσκλήρωση μπορεί να είναι ασυμπτωματική, μπορεί να εντοπιστεί και να ποσοτικοποιηθεί εντός συγκεκριμένων κατανομών του αγγειακού συστήματος.

Εικόνα 9. Σύγκριση τεχνικών αξιολόγησης υποκλινικής αθηρωμάτωσης.

| Characteristic | Coronary angiography | Intravascular ultrasound | B-mode ultrasound | Magnetic resonance imaging | Electron-beam computed tomography |
|----------------------|----------------------|-------------------------------|--------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| Invasive | Yes | Yes | No | No | No |
| Primary measure | Stenosis | Plaque volume and composition | Intimal-medial thickness | Plaque volume and composition | Coronary artery calcification |
| Plaque composition | No | Yes | No | Yes | No |
| Plaque burden | No | Yes | No | Yes | Yes |
| Plaque vulnerability | No | Yes | No | Yes | No |

Προσαρμογή από: P. Toth et al.⁴⁵

3.1 Μη επεμβατικές τεχνικές αξιολόγησης της υποκλινικής αθηρωμάτωσης των καρωτίδων

Η υπερηχογραφία B-mode μπορεί να προσδιορίσει το συνδυασμένο πάχος της αρτηριακής ενδοτικότητας και της μέσης στιβάδας, το οποίο συνήθως μετράται στην

κοινή καρωτίδα⁴⁶ καθώς και την παρουσία αθηρωματικών πλακών στις καρωτίδες. Το πάχος του καρωτιδικού έσω-μέσου χιτώνα (IMT) αντανακλά τη διάχυτη πάχυνση του έσω χιτώνα που παρατηρείται στην αθηροσκλήρωση και έχει επικυρωθεί ως μέτρο του κινδύνου για καρδιαγγειακά επεισόδια⁴⁷ και του φορτίου της αθηρωματικής νόσου⁴⁸. Σε σύγκριση με άλλα απεικονιστικές μεθόδους, οι υπέρηχοι παρέχουν μια ασφαλή, φορητή, και χαμηλού κόστους λύση που είναι πιο κατάλληλη για μαζική υιοθέτηση στο πλαίσιο της πρωτοβάθμιας περίθαλψης και πρωτογενούς πρόληψης⁴⁹. Η μέτρηση του CIMT εντοπίζει περιοχές με αυξημένο πάχος τοιχώματος καρωτίδων, οι οποίες παρέχουν έναν εύκολα προσβάσιμο απεικονιστικό βιοδείκτη για την ταξινόμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Ωστόσο, τα ερωτήματα σχετικά με την ακρίβεια των μετρήσεων CIMT παραμένουν, ενώ αναγνωρίζεται πλέον ότι η αξιολόγηση της καρωτιδικής αρτηριακής πλάκας προσφέρει ακόμη μεγαλύτερο όφελος για τη διαστρωμάτωση του κινδύνου από ό,τι η CIMT. Αυτό έχει οδηγήσει σε αλλαγή παραδείγματος στις παραμέτρους του υπερηχογραφήματος των καρωτίδων που χρησιμοποιούνται στην πρόβλεψη κινδύνου, και συγκεκριμένα στο μεγαλύτερο όφελος που παρατηρείται με την αξιολόγηση της πλάκας σε σύγκριση με το CIMT για την πρόβλεψη κινδύνου⁵⁰.

Έχει πλέον αναγνωριστεί ότι η CIMT μπορεί να αντιπροσωπεύει περισσότερες από μία διακριτές μορφολογικές διεργασίες, ενώ η πλάκα αντανακλά κυρίως την αθηροσκλήρωση. Το CIMT μπορεί να αντανακλά κατά κύριο λόγο την παρουσία παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (όπως η υπέρταση), ενώ η καρωτιδική πλάκα, μπορεί να αντανακλά περισσότερο την αθηροσκλήρωση, καθώς συσχετίζεται με το συνολικό αθηρωματικό φορτίο στα στεφανιαία αγγειακή. Ο υψηλός επιπολασμός της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης σε άτομα με χαμηλό κατά τα άλλα Framingham Score Risk έχει πιθανές συνέπειες για τον έλεγχο της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης⁵¹. Έτσι, η ποσοτικοποίηση της καρωτιδικής αρτηριακής πλάκας έχει αναδειχθεί ως σημαντικό εργαλείο για τη διαστρωμάτωση του κινδύνου ΚΑΝ πέρα από αυτό που προσφέρει η CIMT. Παρακάτω θα παρουσιαστούν οι συσχετίσεις του CIMT και των αθηρωματικών πλακών με την καρδιαγγειακή νόσο καθώς και η τεχνική μέτρησής τους.

3.2 Η εφαρμογή του καρωτιδικού υπέρηχου στην αξιολόγηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου

Η παραδοσιακή προσέγγιση για την εκτίμηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου περιλαμβάνει τον εντοπισμό και την ποσοτικοποίηση της παρουσίας ή της απουσίας παραγόντων κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου. Η ESC συνιστά την εκτίμηση του 10ετούς κινδύνου για θάνατο από CHD ή έμφραγμα του μυοκαρδίου χρησιμοποιώντας την κλίμακα κινδύνου SCORE⁵². Οι ασθενείς με ενδιάμεσο κίνδυνο μπορεί να ωφεληθούν περισσότερο από τη μέτρηση της υποκλινικής αγγειακής νόσου για την περαιτέρω βελτίωση των εκτιμήσεων του κινδύνου ΚΑΝ, καθώς η λήψη αποφάσεων σχετικά με τις προληπτικές θεραπείες σε αυτή την ομάδα μπορεί να είναι αβέβαιη⁵²⁻⁵⁶. Παρόλο που το SCORE διακρίνει με ακρίβεια τον βραχυπρόθεσμο κίνδυνο ΚΑΝ, έχει ορισμένους πιθανούς περιορισμούς. Επειδή το SCORE προβλέπει μόνο τον 10ετή κίνδυνο και όχι τον συνολικό κίνδυνο ζωής⁵⁷ και οι γυναίκες τείνουν να αναπτύξουν ΚΑΝ σε μεγαλύτερες ηλικίες, οι γυναίκες με σημαντική υποκλινική αγγειακή νόσο μπορεί να ταξινομηθούν λανθασμένα ως άτομα χαμηλότερου κινδύνου με βάση μόνο το 10ετές SCORE και, επομένως, μπορεί να μην λάβουν τα κατάλληλα προληπτικά μέτρα^{40,58}. Επιπλέον, οι ασθενείς με εξαιρετικά υψηλά επίπεδα ενός μόνο παράγοντα κινδύνου, όπως οι γενετικές μορφές δυσλιπιδαιμίας, μπορεί να μην ταξινομηθούν επαρκώς με βάση μόνο το FRS τους.^{53,59} Επιπλέον, το FRS δεν λαμβάνει υπόψη το οικογενειακό ιστορικό πρόωρης καρδιαγγειακής νόσου και ορισμένοι παράγοντες κινδύνου, όπως το κάπνισμα και ο σακχαρώδης διαβήτης, θεωρούνται μόνο ως παρόντες ή ανύπαρκτοι, αν και επιδημιολογικά δεδομένα υποστηρίζουν μια συνεχή σχέση μεταξύ του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου και της έκθεσης στον καπνό και των επιπέδων γλυκόζης, αντίστοιχα.⁶⁴ Τέλος, η χρονολογική ηλικία είναι ο κυρίαρχος καθοριστικός παράγοντας του FRS, αγνοώντας τη μεγάλη δια-ατομική διακύμανση της αθηρωματικής επιβάρυνσης στις μεγαλύτερες ηλικίες³⁶.

Η κλινική χρησιμότητα της μέτρησης του CIMT και της ανίχνευσης της πλάκας σχετίζεται με τον προ της εξέτασης κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου του ασθενούς, ο οποίος μεταβάλλεται από τον σχετικό κίνδυνο με βάση τα αποτελέσματα της εξέτασης. Η μέτρηση του CIMT και ο εντοπισμός της καρωτιδικής πλάκας με υπερηχογράφημα είναι πιο χρήσιμα για τη βελτίωση της εκτίμησης του κινδύνου ΚΑΝ σε ασθενείς με ενδιάμεσο κίνδυνο ΚΑΝ (SCORE 1%-5% χωρίς εγκατεστημένη CHD, περιφερική αρτηριακή νόσο, αγγειακή εγκεφαλική νόσο, σακχαρώδη διαβήτη ή ανεύρυσμα κοιλιακής αορτής). Στους ασθενείς ενδιάμεσου καρδιαγγειακού κινδύνου, η ανίχνευση τουλάχιστον μιας αθηρωματικής πλάκας στις καρωτίδες ισοδυναμεί με υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο και συνεπακόλουθη εντατικοποίηση της καρδιαγγειακής

πρόληψης⁶⁰. Σύμφωνα με προηγούμενες κατευθυντήριες οδηγίες, ασθενείς με τις ακόλουθες κλινικές περιστάσεις θα μπορούσαν επίσης να εξεταστούν για μέτρηση του CIMT και ανίχνευση καρωτιδικής πλάκας: (1) οικογενειακό ιστορικό πρόωρης καρδιαγγειακής νόσου σε συγγενή πρώτου βαθμού (άνδρες < 55 ετών, γυναίκες < 65 ετών), (2) άτομα ηλικίας κάτω των 60 ετών με σοβαρές ανωμαλίες σε έναν μόνο παράγοντα κινδύνου (π.χ. γενετική δυσλιπιδαιμία) που διαφορετικά δεν θα ήταν υποψήφιοι για φαρμακοθεραπεία, ή (3) γυναίκες ηλικίας κάτω των 60 ετών με τουλάχιστον δύο παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου⁵⁶. Η εξέταση αυτή μπορεί να εξεταστεί εάν το επίπεδο επιθετικότητας των προληπτικών θεραπειών είναι αβέβαιο και απαιτούνται πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με την επιβάρυνση της υποκλινικής αγγειακής νόσου ή τον μελλοντικό κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου. Σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες, η απεικόνιση δεν προσφέρει επαναταξινομήση ως προς την κατηγορία κινδύνου σε ασθενείς με εγκατεστημένη αθηρωματική αγγειακή νόσο. Ωστόσο, σε πρόσφατες δημοσιεύσεις μεταξύ των οποίων και από την ομάδα μας, ο συνυπολογισμός του πάχους της καρωτιδικής πλάκας σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (με ή χωρίς κλινικά εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο), σχετίζεται με μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα και αξία επαναταξινομήσης του κινδύνου συγκριτικά με το SCORE^{61,62}. Οι διαδοχικές μελέτες του cIMT για την αντιμετώπιση της εξέλιξης ή της παλινδρόμησης δεν συνιστώνται για χρήση στην κλινική πρακτική. Η ταχεία υπολογιστική τομογραφία για τη μέτρηση του ασβεστίου των στεφανιαίων αρτηριών αξιολογεί επίσης την υποκλινική αγγειακή νόσο⁶³ ωστόσο, το υπερηχογράφημα των καρωτίδων έχει ορισμένα δυνητικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με την εξέταση αυτή. Το υπερηχογράφημα των καρωτίδων δεν συνεπάγεται έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία, ένα σημαντικό στοιχείο κατά την απεικόνιση υγιών ενηλίκων νεαρής και μέσης ηλικίας⁶⁴. Επιπλέον, το CIMT έχει το πλεονέκτημα ότι είναι ένα συνεχές μέτρο που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη διαστρωμάτωση του κινδύνου σε γυναίκες και νεότερους άνδρες, καθώς και σε άτομα Αφροαμερικανών, όπου η βαθμολόγηση του ασβεστίου των στεφανιαίων αρτηριών μπορεί να έχει περιορισμένη διακριτική ικανότητα λόγω του υψηλού επιπολασμού της μηδενικής βαθμολογίας ασβεστίου.⁶⁵

3.3 Τεχνική σάρωσης με υπερήχους καρωτίδων

Προετοιμασία ασθενούς και υπερηχογράφου (Πίνακας 1)

Τόσο ο υπερηχογράφος όσο και ο ασθενής θα πρέπει να τοποθετούνται σωστά για να διευκολυνθούν εικόνες υψηλής ποιότητας και αναπαραγωγής. Αφήστε αρκετό χρόνο για τη σάρωση, ώστε να διευκολύνεται η τοποθέτηση και να αποφεύγεται η βιασύνη⁶⁶.

Πίνακας 1. Προετοιμασία εξέτασης

| Sonographer | Patient |
|--|--|
| Position at head of patient, with enough space to rest elbow on bed | Position supine on scan bed with head resting comfortably |
| Adjust height and location of ultrasound system keyboard and monitor, examination bed, and chair to avoid ergonomic injuries | Slightly hyperextend and rotate neck in direction opposite to probe Use 45-degree angle wedge pillow to help standardize lateral rotation During scan, sonographer may adjust neck position to optimize images, especially in anterior scanning planes Use rolled towels under neck and pillows under legs for comfort Use external landmarks such as the Meijer arc (Figure 1) ⁹¹ or similar devices can help standardize transducer angle |

Πηγή: Stein et al⁶⁷.

Τεχνική περιγραφή ορθής λήψης εικόνων

Οι καρωτίδες αρτηρίες θα πρέπει να εξετάζονται με ένα σύγχρονο σύστημα υπερήχων με μετατροπέα γραμμικής συστοιχίας που λειτουργεί σε θεμελιώδη συχνότητα τουλάχιστον 7 MHz. Η χρήση μη θεμελιωδών συχνοτήτων μπορεί να αυξήσει το πάχος των τοιχωμάτων. Η χρήση σκιαγραφικού υπερήχων είναι μια ερευνητική τεχνική που δεν

συνιστάται προς το παρόν για την κλινική αξιολόγηση του CIMT. Οι περισσότεροι ασθενείς μπορούν να σαρωθούν σε τυπικό βάθος 4 cm, ωστόσο, μπορεί να είναι απαραίτητο αυξημένο βάθος σε ορισμένους ασθενείς με μεγαλύτερους λαιμούς ή βαθύτερα αγγεία. Η ανάλυση μειώνεται με την αύξηση του βάθους απεικόνισης. Το τυπικό μέγεθος εικονοστοιχείου κατά την απεικόνιση σε βάθος 4 cm είναι περίπου 0,11 mm. Επειδή οι μετρήσεις CIMT είναι εξαιρετικά μικρές, διαφορές 1 ψηφιακού εικονοστοιχείου μπορούν να κατατάξουν τους ασθενείς σε διαφορετικές κατηγορίες κινδύνου, επομένως η στενή προσοχή στα όργανα και τα τυποποιημένα πρωτόκολλα απεικόνισης και ανάγνωσης είναι ζωτικής σημασίας. Η χρήση της λειτουργίας ζουμ αποθαρρύνεται επειδή οι περισσότερες μελέτες που συσχετίζουν το CIMT με τα συμβάντα καρδιαγγειακής νόσου δεν χρησιμοποίησαν εικόνες με ζουμ. Η λειτουργία μεγέθυνσης σε ορισμένα εμπορικά συστήματα υπερήχων αυξάνει το μέγεθος των εικονοστοιχείων, αντί να αυξάνει την ανάλυση. Κατά την προβολή εικόνων με μεγέθυνση, μπορεί να χαθεί η θέση των εξωτερικών ορόσημων για την τυποποιημένη λήψη εικόνας και είναι ευκολότερο για τον ηχοβολέα να απομακρυνθεί από τη βέλτιστη εικόνα και θέση. Εάν χρησιμοποιούνται, οι λειτουργίες μεγέθυνσης θα πρέπει να περιορίζονται σε πολύ τυποποιημένα πρωτόκολλα, όπου τα εσωτερικά και εξωτερικά ορόσημα διατηρούνται σταθερά. Αυτές οι εκτιμήσεις απαιτούν έναν πολύ έμπειρο χειριστή ο οποίος μπορεί να αποφύγει τις λεπτές μετακινήσεις. Οι αποκλίσεις πρωτοκόλλων από τα δημοσιευμένα απαιτούν επικύρωση, συμπεριλαμβανομένης της αξιολόγησης της επαναληψιμότητας της μεθόδου.

Η απεικόνιση B-mode προτιμάται έναντι της απεικόνισης M-mode. Παρόλο που το M-mode έχει ανώτερη χρονική ανάλυση, παρέχει μέτρηση μόνο ενός σημείου πάχους και όχι τμηματική τιμή. Η πάχυνση του καρωτιδικού τοιχώματος δεν είναι ομοιόμορφη, επομένως μια μεμονωμένη τιμή χωρίς να λαμβάνεται υπόψη μια ευρύτερη περιοχή είναι δύσκολο να αναπαραχθεί και μπορεί να μην αντιπροσωπεύει με ακρίβεια τις αρτηριακές αλλαγές. Η κάθετη απεικόνιση αποτελεί επίσης πρόκληση με τη χρήση του M-mode. Επειδή οι μετρήσεις M-τρόπου ή οι μετρήσεις από σημείο σε σημείο των εικόνων B-τρόπου είναι περιορισμένα πολλαπλάσια του μεγέθους του εικονοστοιχείου, η ακρίβεια των μετρήσεων μειώνεται, εκτός εάν μετρηθούν πολλά (αρκετές εκατοντάδες) σημεία. Οι πολλαπλές μετρήσεις πολλών εκτεταμένων τμημάτων επιτρέπουν την έκφραση των τιμών CIMT με μεγαλύτερη ακρίβεια (σε επίπεδο subpixelar) αντί για απλά πολλαπλάσια του μεγέθους του εικονοστοιχείου. Όλες οι αναφερθείσες μελέτες παρατήρησης που

συσχετίζουν τις τιμές CIMT με τα καρδιαγγειακά συμβάντα χρησιμοποίησαν μετρήσεις B-mode, συνήθως με μέσο όρο τουλάχιστον ενός τμήματος μήκους 1 cm.

Θα πρέπει να χρησιμοποιείται ένα φάντασμα υπερήχων μικρών τμημάτων για να διαπιστωθεί εάν το σύστημα υπερήχων έχει βαθμονομηθεί με ακρίβεια και για να βοηθηθεί ο προσδιορισμός της αξονικής και πλευρικής ανάλυσης του μορφοτροπέα. Τα φαντάσματα παρέχουν επίσης πληροφορίες σχετικά με τα εύρη κλίμακας του γκρι (grey scale ranges), βοηθούν τον υπερηχογράφο να επιλέξει χάρτες μετεπεξεργασίας και παρέχουν ένα αντικειμενικό εργαλείο για τη σύγκριση διαφορετικών συστημάτων και μορφοτροπέων. Η προληπτική συντήρηση του συστήματος υπερήχων ρουτίνας θα πρέπει να πραγματοποιείται τουλάχιστον ανά διετία.

Οι πρώιμες εικόνες υπερήχων καρωτίδων καταγράφονταν σε ταινίες βιντεοκασέτας για την επακόλουθη λήψη και ψηφιοποίηση εικόνων εκτός σύνδεσης. Παρόλο που αυτή η προσέγγιση απέδωσε επαναλήψιμες μετρήσεις σε εξαιρετικά εξειδικευμένα εργαστήρια, η υποβάθμιση της εικόνας ήταν αναπόφευκτη. Η τρέχουσα τεχνολογία υπερήχων επιτρέπει την άμεση αποθήκευση ψηφιακών εικόνων σε ψηφιακά μέσα. Οι ψηφιακές εικόνες θα πρέπει να αποθηκεύονται απευθείας από το σύστημα υπερήχων και όχι από ψηφιοποιημένες λήψεις βίντεο. Τα περισσότερα σημερινά συστήματα υπερήχων αποθηκεύουν τις εικόνες σε μορφή ψηφιακής απεικόνισης και επικοινωνίας στην ιατρική (DICOM) ή σε μορφή που διατηρεί την οργάνωση της μελέτης και την εσωτερική βαθμονόμηση της εικόνας, εξαλείφοντας έτσι τα σφάλματα που προκαλούνται από τη χειροκίνητη βαθμονόμηση (**Πίνακας 2**).

Πίνακας 2. Τεχνικές προδιαγραφές για την ορθή απεικόνιση

State-of-the-art ultrasound system

Digital image acquisition and storage, preferably DICOM
Phantom scans every 6 months and after any system changes
Semiannual routine preventive maintenance

Transducer

Linear array
Minimal compression (<10:1)
Fundamental frequency ≥ 7 MHz
Footprint ≥ 3 cm

Display

Depth 4 cm
Single focal zone
Frame rate ≥ 25 Hz
High dynamic range
Clear 3-lead electrocardiographic signal
Annotate images to describe segments, angles, and other findings
Carefully adhere to predefined scanning protocol

DICOM, Digital Imaging and Communications in Medicine.

Τροποποίηση από: Stein et al⁶⁷.

Πρωτόκολλο απεικόνισης

Η απεικόνιση με υπερηχογράφημα καρωτίδων θα πρέπει να ακολουθεί πρωτόκολλο σάρωσης από μεγάλη επιδημιολογική μελέτη που ανέφερε τιμές CIMT σε εκατοστημόρια ανά ηλικία, φύλο και φυλή/εθνικότητα (π.χ. μελέτη ARIC ή άλλες που αναφέρονται στο **Πίνακα 3**). Οι μελέτες αυτές επιλέχθηκαν επειδή είναι μεγάλες, συγχρονικές, υψηλής ποιότητας μελέτες που ανέφεραν τιμές CIMT της κοινής καρωτιδικής αρτηρίας (CCA) ανά ηλικία, φύλο και φυλή/εθνικότητα και διεξήχθησαν στη Βόρεια Αμερική. Οι μέσες τιμές CIMT του 50ου εκατοστημορίου του άπω τοιχώματος της CCA για λευκούς και μαύρους άνδρες και γυναίκες μεταξύ 45 και 64 ετών στις μελέτες ARIC και Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) είναι αξιοσημείωτα παρόμοιες, δεδομένων των διαφορών μεταξύ των μελετών⁶⁸. Στο πλαίσιο των πρωτοκόλλων και των νομογραμμάτων από μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες, η ομάδα εργασίας συνιστά να λαμβάνονται υπερηχογραφικές εικόνες του απομακρυσμένου 1 εκατοστού του απώτερου τοιχώματος κάθε CCA και να συγκρίνονται με τιμές από ένα

σύνολο κανονιστικών δεδομένων. Λόγω του μεγέθους του, της επιφανειακής του θέσης, της εύκολης προσβασιμότητας και της περιορισμένης κίνησής του, το μακρινό τοίχωμα του CCA παρέχει ένα βολικό παράθυρο για τη μελέτη της αρτηριακής δομής με τη χρήση υπερήχων B-mode. Η απομακρυσμένη CCA είναι εύκολο να απεικονιστεί, καθώς είναι ευθεία και σχετικά επιφανειακή. Με την τρέχουσα τεχνολογία υπερήχων, είναι δύσκολο να διακρίνουμε αξιόπιστα τη διεπιφάνεια εσω-μέσου του εγγύς τοιχώματος της CCA, ωστόσο, οι μετρήσεις CIMT του απομακρυσμένου τοιχώματος της CCA προβλέπουν μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάντα (**Πίνακας 3**). Αν και οι μετρήσεις του κοντινού τοιχώματος και εκείνες από άλλα τμήματα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί σε ορισμένες μελέτες, είναι πιο δύσκολες τεχνικά, λιγότερο αναπαραγωγίμες και δεν βελτιώνουν αισθητά την πρόβλεψη κινδύνου. Επιπλέον, η CIMT του κοντινού τοιχώματος είναι λιγότερο ακριβής επειδή η δέσμη υπερήχων ταξιδεύει από τα πιο ηχογενή προς τα λιγότερο ηχογενή στρώματα στις διεπιφάνειες adventitia-μέσου και intima-lumen του εγγύς τοιχώματος. Σε μία μελέτη, η υπερηχογραφική μέτρηση του cIMT του εγγύς τοιχώματος ήταν κατά 20% χαμηλότερη από την αντίστοιχη ιστολογική μέτρηση.⁶⁹ Αν και η αθηροσκλήρωση και η cIMT εξελίσσονται ταχύτερα στο βολβό και στα τμήματα της έσω καρωτίδας, ο περιορισμός των μετρήσεων cIMT στο απώτερο τοίχωμα της CCA είναι η προτιμώμενη στρατηγική για κλινικές εξετάσεις- ωστόσο, θα πρέπει να συμπληρώνεται από μια ενδεδειγμένη σάρωση των εξωκρανιακών καρωτίδων για την παρουσία καρωτιδικών πλακών, ώστε να αυξηθεί η ευαισθησία για τον εντοπισμό υποκλινικής αγγειακής νόσου. Μια περιφερική σάρωση και των δύο καρωτίδων αρτηριών για τον εντοπισμό των πλακών μπορεί να αντισταθμίσει τη μειωμένη ευαισθησία που μπορεί να προκύψει από τη μέτρηση μόνο της CCA cIMT⁵⁵.

3.4 Το cIMT ως δείκτης υποκλινικής αθηροσκλήρωσης

Ως εξέταση διαλογής, η απεικόνιση της υποκλινικής αθηρωμάτωσης πρέπει να είναι ασφαλής, ευαίσθητη, προσιτή και να οδηγεί σε παρεμβάσεις που μπορούν να μεταβάλουν ευνοϊκά τη φυσική ιστορία της καρδιαγγειακής νόσου. Η μέτρηση του πάχους του καρωτιδικού έσω-μέσου (cIMT) με υπερηχογράφημα B-mode είναι μια μη επεμβατική, ευαίσθητη και επαναλήψιμη τεχνική για τον εντοπισμό και την ποσοτικοποίηση του αθηρωματικού φορτίου και του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου. Πρόκειται για ένα καλά επικυρωμένο ερευνητικό εργαλείο που έχει εφαρμογή όλο και περισσότερο και στην κλινική πρακτική⁷⁰⁻⁷². Τα Κέντρα Medicare και Medicaid των

Ηνωμένων Πολιτειών έχουν καθιερώσει έναν κωδικό τρέχουσας διαδικαστικής ορολογίας (0126T) για την "κοινή μελέτη CIMT για την αξιολόγηση του αθηρωματικού φορτίου ή την αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου στεφανιαίας νόσου".

Το 2000, το συνέδριο V της Αμερικανικής Καρδιολογικής Εταιρείας για την πρόληψη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η CIMT "μπορεί πλέον να ληφθεί υπόψη για περαιτέρω διευκρίνιση της εκτίμησης του κινδύνου στεφανιαίας νόσου (CHD) κατόπιν αιτήματος του ιατρού", υπό την προϋπόθεση ότι εκτελείται από ένα έμπειρο εργαστήριο. Το 2001, η Εθνική Ομάδα Θεραπείας Ενηλίκων του Εθνικού Προγράμματος Εκπαίδευσης για τη Χοληστερόλη (NCEP) δήλωσε ότι η CIMT "θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως συμπληρωματικό στοιχείο στην εκτίμηση του κινδύνου CHD ... η ανεύρεση αυξημένης CIMT (π.χ. ≥ 75 η εκατοστιαία θέση για την ηλικία και το φύλο) θα μπορούσε να αναγάγει ένα άτομο με πολλαπλούς παράγοντες κινδύνου σε υψηλότερη κατηγορία κινδύνου", σημειώνοντας παράλληλα ότι "το κόστος, η έλλειψη διαθεσιμότητας και οι δυσκολίες τυποποίησης αποκλείουν μια τρέχουσα σύσταση για τη χρήση της στην αξιολόγηση κινδύνου ρουτίνας."⁵³ Η εν λόγω ομάδα εμπειρογνομόνων κατέληξε στο συμπέρασμα ότι "εάν διεξαχθεί υπό κατάλληλες συνθήκες, η CIMT θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό ατόμων με υψηλότερο κίνδυνο από αυτόν που αποκαλύπτεται μόνο από τους κύριους παράγοντες κινδύνου".⁵³ Η κλινική εφαρμογή της μεθοδολογίας CIMT εξετάστηκε πρόσφατα σε έκθεση της Αμερικανικής Εταιρείας Ηχοκαρδιογραφίας (ASE) και της Εταιρείας Αγγειακής Ιατρικής και Βιολογίας.⁵⁵

Οι συνήθεις κλινικές υπερηχογραφικές μελέτες duplex καρωτίδων ενδείκνυνται κυρίως για τον εντοπισμό αποφρακτικών καρωτιδικών πλακών (δηλαδή στένωση καρωτιδικής αρτηρίας), μια εκδήλωση προχωρημένης αθηροσκλήρωσης. Για την εκτίμηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου, εξετάζεται το τοίχωμα της καρωτίδας, και όχι ο βαθμός της αυλικής στένωσης, για τον εντοπισμό περιοχών αυξημένου πάχους και μη αποφρακτικής αθηρωματικής πλάκας, οι οποίες αντιπροσωπεύουν πρώιμα στάδια αρτηριακής βλάβης και αθηροσκλήρωσης. Η υπερηχογραφική απεικόνιση του απώτερου τοιχώματος της καρωτίδας παράγει δύο ηχογενείς γραμμές. *In situ* ανατομικές και *in vitro* ιστολογικές μελέτες έχουν επικυρώσει αυτές τις γραμμές ως τη διεπιφάνεια αυλού-έσω χιτώνα και τη διεπιφάνεια μέσου-έξω χιτώνα^{73,74}. Το συνδυασμένο πάχος της έσω και της μέσης στιβάδας του αρτηριακού τοιχώματος αποτελεί το CIMT. Η τρέχουσα τεχνολογία υπερήχων δεν είναι επαρκώς ευαίσθητη για τη μέτρηση του πάχους του έσω χιτώνα και μόνο.

Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 14 μελετών αξιολογήθηκε η συσχέτιση του combined IMT και με τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου και παρουσίασαν αναλογίες πιθανοτήτων ή σχετικούς κινδύνους προσαρμοσμένους για τους παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου (**Πίνακας 1**)⁷⁵. Και οι 14 μελέτες έδειξαν ότι το CIMT σχετιζόταν σημαντικά με τον κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο, θάνατο από καρδιαγγειακή νόσο ή συνδυασμό αυτών. Σε αρκετές μελέτες, οι προσαρμοσμένοι σχετικοί κίνδυνοι που σχετίζονται με τους μεγαλύτερους βαθμούς πάχους τοιχώματος (βλ. σημεία αποκοπής στον Πίνακα 3) ήταν αρκετά υψηλοί (>2.0), ώστε να αναμένεται να βελτιώσουν την πρόβλεψη του κλινικού κινδύνου σε κατάλληλα επιλεγμένους ασθενείς. Η μελέτη συμπεραίνει ότι το Συνδυασμένο IMT, που περιλαμβάνει μετρήσεις από πολλαπλά τμήματα εντός της καρωτιδικής αρτηρίας, παρουσίασε ανώτερο απόδοση σε σύγκριση με ένα μόνο τμήμα στην πρόβλεψη της καρδιαγγειακής νόσου. Επιπλέον, Το μέγιστο IMT της κοινής καρωτιδικής αρτηρίας έδειξε ισχυρότερη συσχέτιση με το έμφραγμα του μυοκαρδίου σε σύγκριση με τη μέση τιμή της κοινής καρωτιδικής αρτηρίας IMT. Σε μια άλλη προοπτική μελέτη βρέθηκε ότι οι τιμές CIMT προσθέτουν πρόσθετες πληροφορίες πέραν των παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου για την ταξινόμηση των ασθενών όσον αφορά την πιθανότητα παρουσίας σημαντικής αγγειογραφικής στεφανιαίας νόσου⁷⁶. Επιπλέον, μια αμερικανική μελέτη με 13,145 άτομα αξιολόγησε τον κίνδυνο ΚΑΝ χρησιμοποιώντας διάφορα μοντέλα. Αυτά περιλάμβαναν μόνο TRF (παραδοσιακοί παράγοντες κινδύνου), TRF συν CIMT και TRF συν CIMT και παρουσία πλάκας. Η χαρακτηριστική καμπύλη δέκτη-λειτουργίας έδειξε μια μικρή αλλά στατιστικά σημαντική αυξημένη περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) χρησιμοποιώντας το μοντέλο TRF συν CIMT (0.755) σε σύγκριση με το μοντέλο μόνο TRF, 0.742, γεγονός που υποδηλώνει ότι το CIMT βελτίωσε την ακρίβεια του κινδύνου ΚΑΝ ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου⁷⁷. Οι Nambi et. al. διερεύνησαν τη σχέση μεταξύ του IMT στις καρωτίδες και της έκτασης της CAD στη μελέτη ARIC. Σε μια άλλη μελέτη με ασθενείς με αυξανόμενη CAD που αφορούσε 1, 2 ή 3 αγγεία, το IMT παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με την πιο εκτεταμένη στεφανιαία νόσο. Ασθενείς με IMT μεγαλύτερο από 1.15 mm είχαν 94% πιθανότητα CAD, με ευαισθησία 65% και ειδικότητα 80% σε CAD υψηλού κινδύνου⁷⁸. Τέλος, μια ευρωπαϊκή μελέτη με 3,703 άτομα με τουλάχιστον τρεις αγγειακούς παράγοντες κινδύνου χωρίς προηγούμενα κλινικά περιστατικά ΚΑΝ παρακολούθηθηκαν για διάμεση διάρκεια 36.2 μηνών. Ανέφεραν ότι το CIMT ήταν ένας παράγοντας κινδύνου για ΚΑΝ ανεξάρτητος από τους αγγειακούς παράγοντες κινδύνου. Επιπλέον, η ανάλυση επαναταξινόμησης

έδειξε ότι η χρήση της CIMT μαζί με τη διάμετρο της κοινής καρωτίδας επέτρεπε βελτιωμένη διαστρωμάτωση του κινδύνου⁷⁹. Ωστόσο, το cIMT παρουσιάζει μερικούς περιορισμούς. Ωστόσο, ο ρόλος του CIMT ως θεραπευτικός στόχος αλλά και ανεξάρτητος παράγοντας επαναταξινόμησης του καρδιαγγειακού κινδύνου έχει αμφισβητηθεί σε νεότερες δημοσιεύσεις^{80,81}.

Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθηκαν στην μετα-ανάλυση σχετικά με το πάχος του καρωτιδικού IMT και του κινδύνου για εκδήλωση καρδιαγγειακής νόσου. Τροποποίηση από: Ling et al⁷⁵.

| Study | Year | First author | Country | Population | Sample size | Mean age, y | Female sex, % | Segments | cIMT definition | End points | Follow-up, y | cIMT modeled as | Adjusted variables |
|-------------------------|------|--------------|---------------|---|-------------|-------------|---------------|--------------------|--|---------------|--------------|-----------------------|--|
| ARIC ¹⁰ | 1997 | Chambless | United States | Aged 45–64 y without previous CHD | 12 841 | 54 | 57 | CCA, bif, ICA | Mean of left and right sides of far wall IMT | MI, CHD death | 5.2 | Continuous, tertiles | Age, race, diabetes, LDL, HDL, hypertension, smoking |
| CHS ²⁰ | 1999 | O'Leary | United States | Aged 65 y or older without previous stroke or CHD | 4476 | 72.5±5.5 | 61 | CCA, ICA, combined | Maximum or mean of left and right sides of far & near wall IMT | MI, stroke | 6.2 | Continuous, quintiles | Age, sex, SBP, DBP, AF, smoking, diabetes |
| ARIC ²⁷ | 2000 | Chambless | United States | Aged 45–64 y without previous stroke | 14 214 | 54.2 | 55 | CCA, bif, ICA | Mean of left and right sides of far wall IMT | Stroke | 7.2 | Continuous, tertiles | Age, race, LDL, HDL, smoking, hypertension, BMI, waist:hip ratio, diabetes, fibrinogen level, left ventricular hypertrophy, white blood cell count |
| Rotterdam ²⁸ | 2003 | Hollander | Netherlands | Aged 55 y and over without previous stroke | 5479 | 69.5±9.2 | 60.3 | CCA | Mean of left and right sides of far and near wall IMT | Stroke | 6.1 | Continuous, tertiles | Age, sex, diabetes, smoking, DBP, SBP, TC, HDL-C, history of CVD |
| Rotterdam ²⁹ | 2005 | Bots | Netherlands | Aged 55 y and over | 4721 | 70±8.9 | 62 | CCA | Mean of left or right side of far and near wall IMT | MI | 8.2 | Continuous, tertiles | Age, sex |
| MDCS ³⁰ | 2005 | Rosvall | Sweden | Aged 46–68 y without known CVD | 5163 | 57.5±5.9 | 60 | CCA | Mean of right side of far wall IMT | Stroke | 7 | Continuous, tertiles | Age, sex, physical activity, smoking, SBP, treatment for hypertension, diabetes, LDL-C, HDL-C, TG, WC |
| MDCS ³¹ | 2005 | Rosvall | Sweden | Aged 46–68 y without prior MI or stroke | 5163 | 57.5±5.9 | 60 | CCA | Mean of right side of far wall IMT | MI, CHD death | 7 | Continuous, tertiles | Age, sex, physical activity, smoking, hypertension, diabetes, LDL-C, HDL-C, WC |

| Study | Year | First author | Country | Population | Sample size | Mean age, y | Female sex, % | Segments | cIMT definition | End points | Follow-up, y | cIMT modeled as | Adjusted variables |
|------------------------|------|--------------|---------|---|-------------|--------------|---------------|-----------------|---|-------------------|--------------|---------------------------------|---|
| CAPS ³³ | 2006 | Lorenz | Germany | Aged 19–90y, 1.9% history of stroke, 2.1% history of MI | 5056 | 50.1±13.1 | 51 | CCA, bif, ICA | Mean of left and right sides of far wall IMT | MI, stroke, death | 4.2 | Continuous, quartiles | Age, sex, BMI, SBP, DBP, medication, LDL-C, nicotine consumption, diabetes |
| CCCC ³⁴ | 2008 | Chien | China | Aged 35y old and above without CVD | 2190 | 54.1 | 55 | CCA, ICA | Maximum of left and right sides of far wall IMT | CHD, stroke | 10.5 | Continuous, quartiles | Age, sex, BMI, alcohol intake, exercise, marital status, occupation, family history of CHD, hypertension, education level, diabetes, HDL-C, LDL-C, MetS |
| Tromso ³⁵ | 2011 | Mathiesen | Norway | Aged 25–84y without previous stroke | 6584 | 60.2 | 51 | Right CCA, bulb | Mean of right side of far and near wall IMT | (Non)fatal stroke | 9.6 | Continuous, quartiles | Age, sex, TC, HDL, SBP, hypertension medication, smoking, diabetes, CHD |
| CVDFACTS ³⁶ | 2011 | Chuang | China | Aged 30y or older without a history of stroke | 3175 | 55.4 | 55 | CCA | Maximum of left and right sides of far wall IMT | Stroke | 9.85 | Continuous, tertiles | Age, sex, WC, BMI, TG, HDL-C, TC, SBP, fasting glucose, smoking, stroke |
| PRC-USA ²¹ | 2011 | Xie | China | Aged 43 to 79y without a history of CHD or stroke | 1734 | Not reported | 64 | Combined | Mean of left and right sides of far wall IMT | CVD | 4 | Continuous, quartiles | Age, sex, diabetes, hypertension, BMI, smoking, TC, HDL-C |
| HNR ³⁷ | 2014 | Gronewold | Germany | Aged 45 to 75y without a history of stroke, CHD or MI | 3289 | 59.4±7.7 | 51 | CCA | Mean of left and right sides of far wall IMT | Stroke | 9 | Continuous | Age, sex, hypertension, dyslipidemia, diabetes, smoking, BMI, AF, In(coronary artery calcification + 1) |
| HNR ³⁸ | 2017 | Geisel | Germany | Without prevalent CVD | 3108 | 59.2±7.7 | 53 | CCA | Mean of left and right sides of far wall IMT | CVD | 10.3 | Continuous, fixed cutoff points | Age, sex, HDL-C, LDL-C, diabetes, SBP, smoking |

3.5 Η σχέση μεταξύ CIMT και υποκλινικής αγγειακής νόσου

Το CIMT σχετίζεται με τους παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου, την επικρατούσα καρδιαγγειακή νόσο, το περιστατικό καρδιαγγειακής νόσου και το βαθμό αθηροσκλήρωσης σε διάφορα αρτηριακά στρώματα^{54,55,82}. Η εξέλιξη του CIMT μπορεί να αμβλυνθεί ή να αντιστραφεί με παρεμβάσεις στους παράγοντες κινδύνου, σε συνδυασμό με μειωμένο κίνδυνο μελλοντικών καρδιαγγειακών επεισοδίων⁸³. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν την ιδέα ότι οι μετρήσεις του CIMT μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατος δείκτης αθηροσκλήρωσης. Η αυξημένη CIMT μπορεί να σχετίζεται με την υπερτροφία του έσω ή του μέσου χιτώνα ή και με τα δύο και μπορεί να αποτελεί προσαρμοστική απόκριση σε αλλαγές στη ροή, την τάση του τοιχώματος ή τη διάμετρο του αυλού⁸⁴. Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι η CIMT αυξάνεται με την πρόοδο της ηλικίας, ακόμη και χωρίς εμφανή ή κρυφή αθηροσκλήρωση, ως αποτέλεσμα της πάχυνσης τόσο της έσω όσο και της μέσης στιβάδας. Στον άνθρωπο, το CIMT αυξάνεται σχεδόν κατά 3 φορές μεταξύ των ηλικιών 20 και 90 ετών⁸⁵. Μελέτες σε νεκροτομικό υλικό δείχνουν ότι οι σχετιζόμενες με την ηλικία αυξήσεις στην πάχυνση του καρωτιδικού τοιχώματος οφείλονται κυρίως σε αύξηση της πάχυνσης του έσω χιτώνα⁸⁶. Σε μοντέλα γήρανσης τρωκτικών και πρωτεύοντων πλην του ανθρώπου, παρατηρούνται σχετιζόμενες με την ηλικία αρτηριακές μεταβολές με την πρόοδο της ηλικίας, παρόλο που τα ζώα αυτά τείνουν να μην αναπτύσσουν αθηροσκλήρωση.⁸⁷ Οι μεταβολές αυτές περιλαμβάνουν πολλούς παράγοντες που έχουν ενοχοποιηθεί για την παθογένεια και την εξέλιξη των αθηρωματικών πλακών, όπως η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η αυξημένη προσκολλητικότητα και διαπερατότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων, η αύξηση των προπηκτικών, αγγειοσυσπαστικών και φλεγμονωδών μορίων, η αύξηση των κυτταροκινών και των χημειοκινών, το αυξημένο οξειδωτικό στρες και ο πολλαπλασιασμός και η μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων.⁸⁷ Έτσι, η πάχυνση του έσω-μέσου χιτώνα είναι ένα χαρακτηριστικό της γήρανσης του αρτηριακού τοιχώματος που δεν είναι συνώνυμο της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης, αλλά σχετίζεται με αυτήν, επειδή οι κυτταρικές και μοριακές μεταβολές που διέπουν την πάχυνση του έσω-μέσου χιτώνα έχουν ενοχοποιηθεί για την ανάπτυξη, την εξέλιξη ή και τα δύο της αθηροσκλήρωσης. Κατά συνέπεια, η πάχυνση του καρωτιδικού τοιχώματος δεν είναι συνώνυμη της αθηροσκλήρωσης, ιδίως όταν δεν υπάρχει πλάκα. Αντιπροσωπεύει την υποκλινική αγγειακή νόσο, το παθοφυσιολογικό υπόστρωμα που εξηγεί γιατί το CIMT αποτελεί παράγοντα κινδύνου και δείκτη κινδύνου KAN⁸⁸. Τέλος, σε μια πρόσφατη μετα-

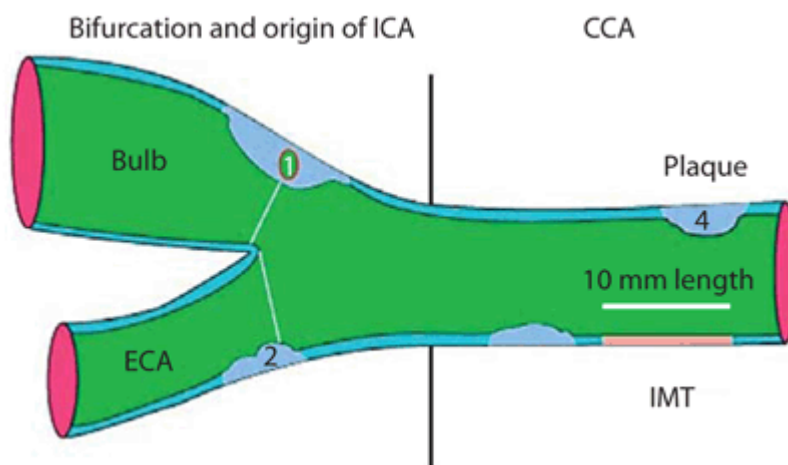
ανάλυση αξιολογήθηκε η συσχέτιση μεταξύ των παρεμβάσεων που μειώνουν την εξέλιξη του cIMT και του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου. Η πρωταρχική έκβαση ήταν ένα συνδυασμένο τελικό σημείο MACE, δηλαδή έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο, επεμβάσεις επαναγγείωσης ή θανατηφόρο καρδιαγγειακό συμβάμα. Οι συγγραφείς εκτίμησαν τη συσχέτιση μεταξύ της μείωσης της εξέλιξης του cIMT με οποιονδήποτε τύπο παρέμβασης και του περιστατικού καρδιαγγειακής νόσου για κάθε δοκιμή, και στη συνέχεια συνδύασαν χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση μετα-παλινδρόμησης κατά Bayes. Η ανάλυση αυτή υποδηλώνει ότι σε ένα εύρος διαφορετικών παρεμβάσεων (π.χ. αντιυπερτασικά, μείωση των λιπιδίων, δίαιτα), υπάρχει μια συνεπής δοσολογική απόκριση στη συνολική μείωση του κινδύνου εκδήλωσης καρδιαγγειακού επεισοδίου με βάση το βαθμό μείωσης της εξέλιξης του cIMT. Παρόλο που η μελέτη αυτή δεν αποδεικνύει το ρόλο της συνήθους μέτρησης του cIMT στην καθημερινή κλινική πρακτική, συμβάλλει στη δικαιολόγηση της χρήσης του cIMT ως σημαντικού μέτρου έκβασης για μελλοντικές μελέτες KAN⁸⁹. Ωστόσο, το cIMT παρουσιάζει μερικούς περιορισμούς. Η ακρίβεια της μέτρησης του CIMT εξαρτάται από τη θέση της αξιολόγησης. Για παράδειγμα, η μέτρηση CIMT που πραγματοποιείται στην κοινή καρωτίδα (CCA) αποδίδει καλύτερη αναπαραγωγιμότητα από ό,τι όταν πραγματοποιείται στην εσωτερική καρωτίδα (ICA) ή στον καρωτιδικό διχασμό. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η CCA είναι πιο προσιτή, ευθυγραμμισμένη παράλληλα και πιο κοντά στην επιφάνεια του δέρματος⁶⁷. Επιπλέον, μπορεί να υπάρχει μεταβλητότητα στην αξιολόγηση του κοντινού και του μακρού τοιχώματος της καρωτίδας. Χρειάζεται περισσότερη μελέτη για τη δημιουργία μιας συνεπούς, καθολικής προσέγγισης για την εξέταση του CIMT προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η μεταβλητότητα, η οποία επί του παρόντος περιορίζει τη γενίκευση των ερευνητικών ευρημάτων. Δεδομένων των περιορισμών του CIMT ως προς την επαναληψιμότητα της μεθόδου αλλά και της αξίας επαναταξινόμησης ως προς τον καρδιαγγειακό κίνδυνο και τη χρησιμότητα ως θεραπευτικού στόχου, σε νεότερες μελέτες αξιολογήθηκε εκτενώς η αξία της αθηρωματικής πλάκας και των χαρακτηριστικών της, όπως θα αναλυθεί στη συνέχεια.

3.6 Μέτρηση της καρωτιδικής πλάκας

Μια συνήθως αναφερόμενη τιμή διάκρισης για τον ορισμό της διάχυτης πλάκας είναι η τιμή cIMT μεγαλύτερη από 1.5 mm ή μια εστιακή πάχυνση του έσω χιτώνα μεγαλύτερη από το 50% της περιβάλλουσας περιοχής (**Εικόνα 10**).^{90,91}

Σύμφωνα με προηγούμενες κατευθυντήριες οδηγίες η τιμή κατωφλίου CIMT που υποδηλώνει πλάκα, είναι $\geq 1,5$ mm. Αυτή η σύσταση για την ταξινόμηση της πλάκας, που περιγράφεται λεπτομερώς παρακάτω, επιτρέπει πλέον τον εντοπισμό και τον χαρακτηρισμό των προεξέχοντων βλαβών της πλάκας που είναι μικρότερες από την τιμή κατωφλίου CIMT για τον εντοπισμό διάχυτης πλάκας. Με άλλα λόγια, αναγνωρίζουμε ότι οι βλάβες πλάκας μικρότερες από 1,5 mm μπορούν να διαχωριστούν σε μεγάλο βαθμό με τη σημερινή τεχνολογία. Οι εξελίξεις στους υπερήχους επιτρέπουν πλέον τον εντοπισμό τέτοιων μικρών βλαβών με εξαιρετική λεπτομέρεια, επιτρέποντας τόσο την ποσοτικοποίηση όσο και τη δυναμική ανάλυση της σύνθεσης. Έτσι, αυτό το σύγχρονο σύστημα ταξινόμησης θέτει ένα πλαίσιο για συνεχή έρευνα με βάση τα αποτελέσματα σε όλο το φάσμα των σχημάτων, μεγεθών και τύπων βλαβών της πλάκας⁹².

Εικόνα 10. Σχεδιασμένη αναπαράσταση του καρωτιδικού δέντρου, με μέτρηση της πλάκας και του IMT σύμφωνα με τη συναίνεση του Mannheim: (1) πάχος $>1,5$ mm, (2) παρέμβαση του αυλού $>0,5$ mm, (3, 4) $>50\%$ της περιβάλλουσας τιμής του IMT.



Τροποποίηση από: Touboul et al⁹¹.

Το ενδιαφέρον για την ποσοτικοποίηση της πλάκας αυξήθηκε σημαντικά όταν ανακαλύφθηκε ότι η παρουσία ή η απουσία πλάκας παρέχει πρόσθετο πλεονέκτημα στη διαστρωμάτωση του κινδύνου πέρα από αυτό που παρέχει μόνο η CIMT (μελέτη ARIC).⁷⁷ Αναγνωρίστηκε ότι εάν απλώς η παρουσία ή η απουσία πλάκας προσέφερε αξία

επαναταξινόμησης τους ασθενείς πέρα από τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου, τότε η εξέταση της ποσότητας της πλάκας μπορεί να εξατομικεύσει περαιτέρω την αξιολόγηση του κινδύνου ενός ασθενούς.

Μια πρώιμη, εξαιρετικά μεταβλητή προσέγγιση, ήταν η ποσοτικοποίηση της πλάκας με τη χρήση ενός οπτικού σκορ πλάκας, το οποίο αξιολογούσε και ανέφερε τον συνολικό αριθμό των πλακών ή των προσβεβλημένων τμημάτων που εμφανίζονταν οπουδήποτε στην κοινή καρωτιδική αρτηρία (CCA), στον καρωτιδικό βολβό ή στην έσω καρωτιδική αρτηρία (ICA) σε οποιοδήποτε τοίχωμα (κοντινό, μακρινό, πλευρικό). Οι πιο ακριβείς μέθοδοι περιλαμβάνουν τεχνικές ποσοτικοποίησης 2 διαστάσεων (2D), όπως το μέγιστο ύψος ή πάχος της πλάκας. Μια άλλη συνήθης προσέγγιση 2D ήταν ο υπολογισμός της επιφάνειας της πλάκας, όπου μετράται η επιφάνεια μιας ή περισσότερων πλακών και αναφέρεται η συνολική τιμή. Τα πλεονεκτήματα, τα μειονεκτήματα και τα δεδομένα σε σχέση με τα αποτελέσματα για αυτές τις 2D ποσοτικές μετρήσεις συνοψίζονται εν συντομία και ακολουθούνται από συστάσεις για την εκτέλεση.

3.7 Ποσοτικός και ποιοτικός χαρακτηρισμός αθηρωματικής πλάκας με κλινική σημασία

Βαθμολογία πλάκας (plaque score)

Η βαθμολογία πλάκας είναι μια ημιποσοτική προσέγγιση όπου ο συνολικός αριθμός των θέσεων που περιέχουν πλάκα κατά μήκος της CCA, του καρωτιδικού βολβού και της ICA απεικονίζεται και αθροίζεται (**Εικόνα 11**). Αυτή η προσέγγιση ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των μελετών - ορισμένοι ερευνητές καταμετρούν τις βλάβες πλάκας σε οποιοδήποτε οπτικοποιημένο τμήμα, ενώ άλλοι καταμετρούν μόνο τις βλάβες που παρατηρούνται σε εύκολα αναγνωρίσιμα τμήματα, όπως το απομακρυσμένο πρώτο εκατοστό (cm) της CCA, του βολβού και της εγγύς ICA. Δύο σημαντικές αναλύσεις από τη Μελέτη του Ρότερνταμ, μια προοπτική, πληθυσμιακή κόρτη που αποσκοπούσε στον προσδιορισμό της εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου (μεταξύ άλλων ασθενειών) σε ηλικιωμένους, υπολόγισαν το σκορ της πλάκας χρησιμοποιώντας μια μοναδική διαδικασία. Και οι δύο μελέτες (n1=4217 και n2=6389) μέτρησαν την παρουσία καρωτιδικών πλακών σε 6 σημεία των καρωτιδικών αρτηριών (δύο πλευρές από κάθε μία της CCA, του διχασμού και της ICA). Η συνολική βαθμολογία της πλάκας κυμαινόταν από 0 έως 6 και υπολογίστηκε προσθέτοντας τον αριθμό των θέσεων στις οποίες ανιχνεύθηκε πλάκα, διαιρώντας τον με τον συνολικό αριθμό των θέσεων για τις οποίες ήταν διαθέσιμη υπερηχογραφική εικόνα και πολλαπλασιάζοντας επί 6 (μέγιστος αριθμός

θέσεων). Στη δεύτερη μελέτη (n=6389), οι ασθενείς με βαθμολογία πλάκας 0, 1, 2 και ≥ 3 μονάδες θεωρήθηκαν ότι δεν είχαν καμία, ήπια, μέτρια ή σοβαρή καρωτιδική αθηροσκλήρωση, αντίστοιχα^{93,94}.

Για τους σκοπούς της πρόβλεψης του κινδύνου και προκειμένου να επιχειρηθεί η τυποποίηση, συστήνεται, εάν υπολογίζεται μια βαθμολογία πλάκας, να περιλαμβάνονται στην καταμέτρηση βλάβες που περιορίζονται στο απομακρυσμένο 1 cm της CCA, στο βολβό και στο εγγύς 1 cm της ICA⁹⁴. Αναγνωρίζεται η ανάγκη για περαιτέρω προσπάθεια τυποποίησης της βαθμολογίας πλάκας από τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες⁹².

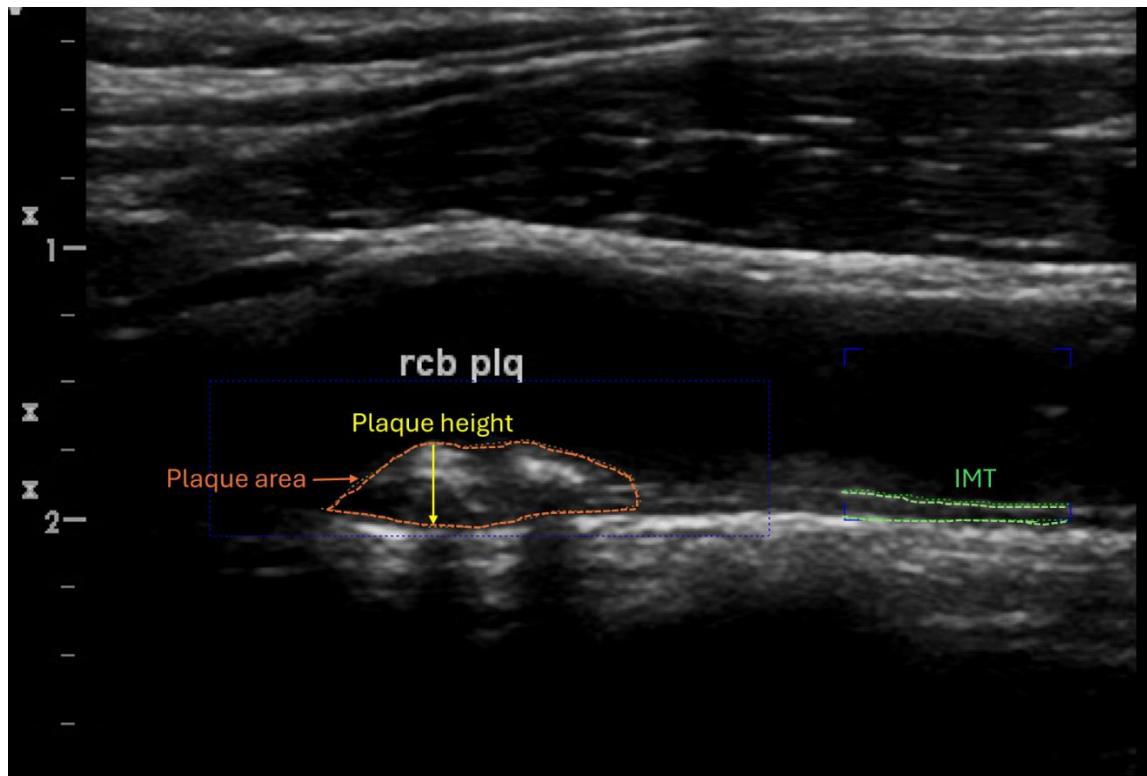
Ύψος/πάχος πλάκας

Το πάχος ή το ύψος της καρωτιδικής πλάκας μπορεί να θεωρηθεί παραλλαγή της μέγιστης μέτρησης CIMT, αλλά διαφέρει στο ότι αντιπροσωπεύει το βαθμό στον οποίο η πλάκα προεξέχει ακτινωτά από την προέλευσή της, κατά μήκος του τοιχώματος του αγγείου, στον αυλό. Για τη διενέργεια αυτής της μέτρησης, ορισμένοι ερευνητές προτείνουν την απεικόνιση με ταυτόχρονη ηλεκτροκαρδιογραφική καταγραφή, ώστε η μέτρηση να γίνεται στην ίδια φάση του καρδιακού κύκλου. Συνήθως, πραγματοποιούνται εγκάρσιες σαρώσεις για την αξιολόγηση της παρουσίας πλάκας και, στη συνέχεια, μόλις εντοπιστεί μια βλάβη πλάκας, τοποθετούνται ηλεκτρονικά παχύμετρα (διαθέσιμα με τα περισσότερα λογισμικά) που ξεκινούν κατά μήκος της προέλευσης της πλάκας στο τοίχωμα του αγγείου, μέσα στον αυλό (σε ορθή γωνία προς το τοίχωμα) κατά μήκος της πιο προεξέχουσας πτυχής της συγκεκριμένης πλάκας. Στη συνέχεια αναφέρεται το μέγιστο ύψος ή πάχος της πλάκας μεταξύ όλων των εντοπισμένων βλαβών της πλάκας, που απεικονίζονται τόσο στη δεξιά όσο και στην αριστερή καρωτίδα (**Εικόνα 11**). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι μελέτες που χρησιμοποιούν αυτή τη μέθοδο δεν αθροίζουν τα μετρούμενα ύψη της πλάκας, αλλά αναφέρουν το μοναδικό μεγαλύτερο ύψος της πλάκας που μετρήθηκε από οποιαδήποτε πλάκα που εντοπίστηκε στον ασθενή. Το ύψος της πλάκας που μετράται με αυτόν τον τρόπο είναι εξαιρετικά επαναλήψιμο. Ο συντελεστής συσχέτισης εντός της κατηγορίας για την αξιοπιστία μεταξύ των παρατηρητών και εντός των παρατηρητών ήταν 0,77 και 0,94, αντίστοιχα, στη μελέτη Northern Manhattan Study (NOMAS)⁹⁵. Το ύψος της πλάκας έχει συσχετιστεί σε προηγούμενες μελέτες παρατήρησης με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά συμβάματα^{50,96}. Σε μια πρόσφατη μελέτη της ομάδας μας εντοπίσαμε ότι το μέγιστο πάχος του καρωτιδικού τοιχώματος που αποδίδουν την υψηλότερη απόδοση για την πρόβλεψη δυσμενών συμβαμάτων καρδιαγγειακής νόσου σε ασθενείς υψηλού κινδύνου ΚΑΝ.

Περαιτέρω, αντλήσαμε και επικυρώσαμε τις βέλτιστες προγνωστικές τιμές που θα μπορούσαν να εφαρμοστούν στην κλινική πράξη και να διατηρήσουν μακρά και ακόμη και πολύ μακρά προγνωστική αξία. Είναι σημαντικό ότι διαπιστώσαμε επίσης ότι ένα χαμηλό μέγιστο πάχος καρωτιδικού τοιχώματος παρείχε υψηλή αρνητική προγνωστική αξία για το πρωτεύον τελικό σημείο⁶¹.

Επιφάνεια πλάκας

Η επιφάνεια της καρωτιδικής πλάκας είναι η πιο προηγμένη από τις μεθόδους ποσοτικοποίησης 2D. Αυτή η μέθοδος ξεκινά με μια χειροκίνητη σάρωση της καρωτίδας, συνήθως σαρώνοντας την αρτηρία σε εγκάρσια τομή, για τον αρχικό εντοπισμό των βλαβών της πλάκας. Αφού εντοπιστεί, η βλάβη απεικονίζεται με τρόπο που να παρέχει τη μεγαλύτερη περιοχή της, συνήθως στη διαμήκη όψη (μακρύς άξονας) της καρωτίδας. Στη συνέχεια, η βλάβη εντοπίζεται χειροκίνητα με τη χρήση βασικού λογισμικού που υπάρχει στα περισσότερα πακέτα ανάλυσης (**Εικόνα 11**). Μια πιο προηγμένη ανάλυση μπορεί να γίνει εάν υπάρχει ημιαυτόματο ή αυτοματοποιημένο λογισμικό. Για παράδειγμα, στο πρωτόκολλο της μελέτης High Risk Plaque, το όριο μέσου-έξω και το όριο αυλού-έσω τμήματος επισημαίνονται χειροκίνητα και στη συνέχεια η περιοχή της πλάκας ανιχνεύεται με αυτοματοποιημένο τρόπο. Εάν υπάρχουν πολλαπλές πλάκες (στην ίδια αρτηρία ή αμφίπλευρα), αυτές αθροίζονται για τον καθορισμό της συνολικής έκτασης της πλάκας. Η ημι-αυτόματη μέθοδος έχει επικυρωθεί με τα αποτελέσματα της καρδιαγγειακής νόσου⁹⁷.



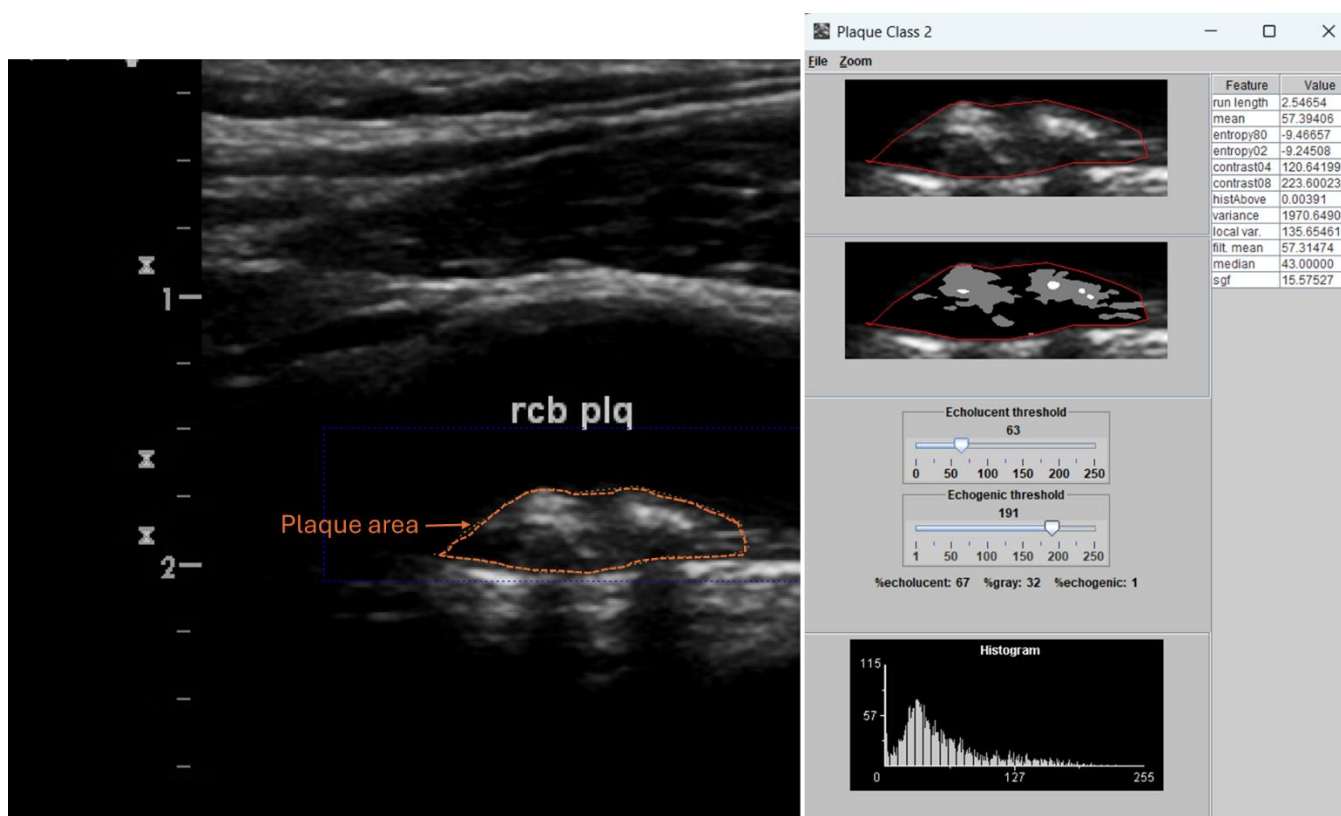
Εικόνα 11. 2D μέθοδοι αξιολόγησης της πλάκας. Δισδιάστατες μέθοδοι ποσοτικοποίησης της αρτηριακής πλάκας, συμπεριλαμβανομένης της επιφάνειας της πλάκας και του ύψους της πλάκας. Παρουσιάζεται επίσης για επίδειξη η πάχυνση του έσω-μέσου χιτώνα, αλλά προτείνεται να μετράται απουσία πλάκας. Όπως καταδεικνύεται σε αυτό το σχήμα, το πάχος της πλάκας μετράται ξεκινώντας από το προσαγωγό επίπεδο (ίδιο επίπεδο με εκείνο στο οποίο ξεκινά η CIMT). Πηγή: Εικόνες Αγγειολογικού Εργαστηρίου, Θεραπευτικής Κλινικής, ΓΝΑ «Αλεξάνδρα», Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Ανάλυση Gray Scale Median

Διαφορετικοί τύποι ιστών έχουν διαφορετικά επίπεδα ηχογένειας και παράγουν ένα εύρος τιμών κλίμακας του γκρι σε μια εικόνα υπερήχων. Ο χαρακτηρισμός αυτών των τιμών κλίμακας του γκρι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παροχή πληροφοριών σχετικά με τη σύνθεση του ιστού σε μια περιοχή ενδιαφέροντος, όπως μια βλάβη αρτηριακής πλάκας⁹⁸. Ενώ τα χαρακτηριστικά της πλάκας εκτιμήθηκαν αρχικά ποιοτικά με βάση την εμφάνιση και διαβαθμίστηκαν σύμφωνα με την ηχογένεια και την ετερογένεια^{99,100}, αναπτύχθηκε η ποσοτική μέθοδος της ανάλυσης της διάμεσης τιμής της κλίμακας του γκρι (GSM) για την εξαγωγή και τον ποσοτικό προσδιορισμό της διάμεσης τιμής της κλίμακας του γκρι της πλάκας από μια εικόνα υπερήχων. Η διάμεσος της

κλίμακας του γκρι (Gray Scale Median) είναι η διάμεση τιμή του γκρι των εικονοστοιχείων στην υπερηχογραφική εικόνα της πλάκας (Εικόνα 12)¹⁰¹.

Εικόνα 12. Ανάλυση της σύνθεσης της πλάκας με GSM και ανάλυση κατανομής εικονοστοιχείων (PDA). (Α): Πραγματοποιείται ανάλυση της διάμεσης κλίμακας του γκρι (GSM) της καρωτιδικής πλάκας με τη δημιουργία μιας περιοχής ενδιαφέροντος που περιγράφει την πλάκα, την κανονικοποίηση της πλάκας έτσι ώστε ο αυλός να είναι 0 και η adventitia να είναι 190 και τη λήψη του GSM από το ιστόγραμμα της κατανομής των τιμών του γκρι στην κανονικοποιημένη πλάκα.



Πηγή: Εικόνες Αγγειολογικού Εργαστηρίου, Θεραπευτικής Κλινικής, ΓΝΑ «Αλεξάνδρα», Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών..

Οι τρέχουσες προσεγγίσεις GSM ποσοτικοποιούν την ηχογένεια για τον προσδιορισμό μιας τιμής κατωφλίου για την πρόβλεψη πλάκας υψηλού κινδύνου. Η μελέτη ICAROS (Imaging in Carotid Angioplasty and Risk of Stroke) ήταν μια μεγάλης

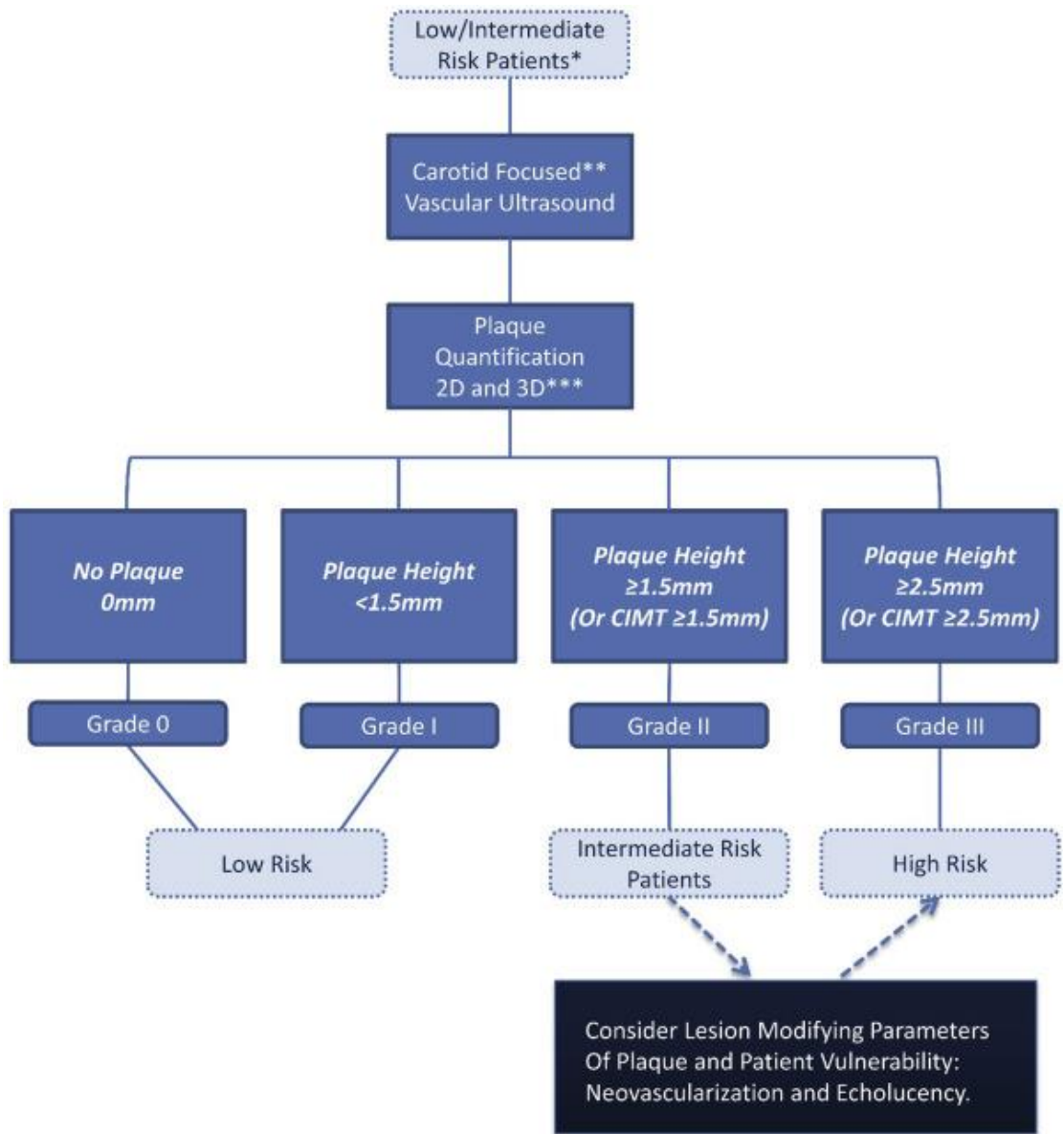
κλίμακας διερεύνηση της σχέσης μεταξύ της ηχογένειας της καρωτιδικής πλάκας, όπως μετράται με το συνολικό GSM, και του κινδύνου εγκεφαλικού επεισοδίου κατά τη διάρκεια της τοποθέτησης stent στην καρωτιδική αρτηρία¹⁰². Η μελέτη ICAROS έδειξε ότι το ποσοστό εγκεφαλικού επεισοδίου και παροδικού ισχαιμικού επεισοδίου ήταν μεγαλύτερο σε ασθενείς με τιμές GSM ≤ 25 σε σύγκριση με ασθενείς με πλάκα με GSM > 25 . Η πλάκα χαμηλής ηχογένειας ήταν πιο πιθανό να οδηγήσει σε εμβολή σε σχέση με την αγγειοπλαστική και το stenting, κατά τη διάρκεια ή μετά τη διαδικασία¹⁰². Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι τα άτομα με υποηχογενείς αθηρωματικές πλάκες διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο ισχαιμικών αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων^{103,104}. Μια προηγούμενη μελέτη ανέφερε ότι πλάκα με διάμεσο GSM 25.5 σχετιζόταν με ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο και ανέφερε ως διακριτική τιμή για την εκτίμηση του κινδύνου GSM=35¹⁰⁵. Ενώ δεν έχει υπάρξει συναίνεση σχετικά με μια ακριβή τιμή κατωφλίου για την ταξινόμηση της πλάκας ως ευάλωτης, η συμπτωματική πλάκα συχνά συσχετίζεται με τιμές GSM 30-40¹⁰⁶.

3.8 Εφαρμογή της απεικόνισης της καρωτιδικής αρτηριακής πλάκας στην κλινική πράξη

Φαίνεται λογικό να συνδυάζονται οι καθιερωμένες βαθμολογίες κινδύνου με την απεικόνιση της πλάκας. Οι κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας για την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων του 2016 συμπεριέλαβαν την ανίχνευση της πλάκας ως τροποποιητή στην εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου (κατηγορία IIb, επίπεδο B) αφού η αρχική εκτίμηση έχει πραγματοποιηθεί με τη χρήση καθιερωμένων βαθμολογιών κινδύνου⁵⁶ (**Εικόνα 13**). Ένας τροποποιητής κινδύνου είναι πιθανό να έχει δυνατότητα ανακατάταξης. Προηγούμενες εργασίες έδειξαν ότι η υπερηχογραφική εξέταση επέτρεπε τη βελτίωση του εντοπισμού ατόμων που θα μπορούσαν να αποτελέσουν στόχο για προληπτική ιατρική παρέμβαση (φαρμακευτική ή μη)⁴⁹. Επιπλέον, οι νεότερες κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας για την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων συστήνουν ότι η αξιολόγηση του αθηρωματικού φορτίου (plaque burden) των καρωτίδων αποτελεί παράγοντα επαναταξινόμησης σε ομάδα υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου και επιλέξιμο για εντατικότερη καρδιαγγειακή πρόληψη. Τέλος, οι τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Υπέρτασης αναγνωρίζουν την παρουσία αυξημένου cIMT και αθηρωματικών πλακών στις καρωτίδες ως βλάβη οργάνου στόχου οφειλόμενο στην υπέρταση με αποτέλεσμα η ανεύρεση τους να αποτελεί ένδειξη έναρξης αντιυπερτασικής

αγωγής¹⁰⁷. Συνεπώς, η αξιολόγηση του αθηρωματικού φορτίου των καρωτίδων που περιλαμβάνει τόσο το cIMT όσο και την αθηρωματική πλάκα και τα χαρακτηριστικά της (μέγεθος, ύψος, σύσταση και αριθμός) αποτελούν κλινικά χρήσιμη πληροφορία για τον ακριβή προσδιορισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου. Χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για την απόκτηση περισσότερων στοιχείων για τη χρήση της αξιολόγησης της πλάκας ως τροποποιητή του κινδύνου και για τον καθορισμό των ομάδων που επωφελούνται από μια συνδυασμένη αξιολόγηση καθώς και την χρησιμότητα αυτών των δεικτών ως βιοδείκτες ανταπόκρισης στην φαρμακευτική αγωγή⁹².

Εικόνα 13. Διάγραμμα ροής για την διαστρωμάτωση καρδιαγγειακού κινδύνου με τη χρήση της ταξινόμησης της πλάκας με υπερηχογράφημα 2D όπως προτείνεται από τις τελευταίες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Ηχοκαρδιογραφίας. Βαθμολογία κινδύνου (ασυμπτωματικός πληθυσμός υψηλού κινδύνου): Χαμηλός κίνδυνος: <6% Framingham Risk Score (FRS), Ενδιάμεσος κίνδυνος: Γκρίζα περιοχή (6-10% έως ≤20% FRS), Υψηλός κίνδυνος: ≥20% FRS. ***European Guidelines on CVD Prevention in Clinical Practice (Class IIb, Level B).

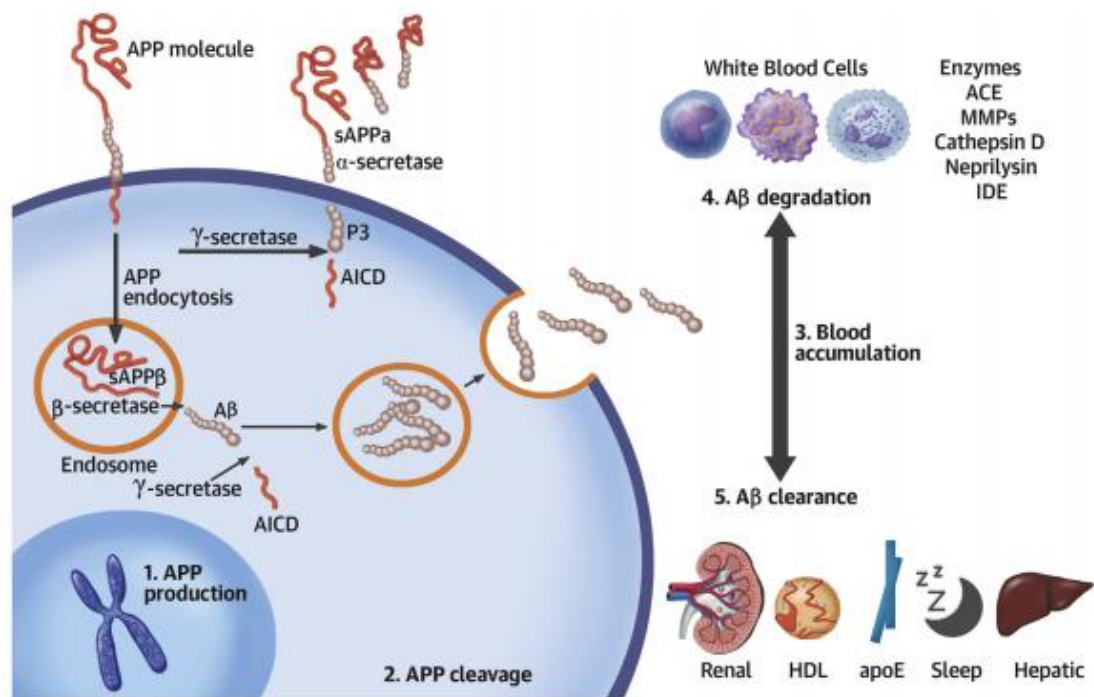


Τροποποίηση από: Johri et al⁹².

4. β-αμυλοειδές

4.1 Μεταβολισμός του β-αμυλοειδούς

Τα πεπτίδια Αβ είναι πρωτεολυτικά παράγωγα της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP), η οποία αποτελεί μέρος των ακέραιων μεμβρανικών πρωτεϊνών^{108,109}. Το γονίδιο APP παράγει τρεις κύριες μορφές μέσω ματίσματος, που είναι γνωστές ως APP695, APP751 και APP770. Αυτές οι παραλλαγές βρίσκονται στους νευρώνες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια αντίστοιχα¹¹⁰. Η ακριβής φυσιολογική λειτουργία του συντηρημένου μονοπατιού APP/Αβ παραμένει ασαφής, αν και θεωρείται ότι συνδέεται με έναν φυσικό αντιμικροβιακό αμυντικό μηχανισμό¹⁰⁹ και με μια σειρά πρωτεολυτικών γεγονότων που σχετίζονται με την πήξη¹¹¹. Το τελευταίο αυτό σενάριο πιθανότατα επάγεται από τη δράση μιας συγκεκριμένης περιοχής του αναστολέα πρωτεάσης σερίνης, που βρίσκεται στα μόρια APP751 και APP770. Η APP διασπάται από μια οικογένεια ενζύμων που ονομάζονται σεκρετάσες και περιλαμβάνουν τις υποομάδες α, β και γ. Οι α-σεκρετάσες παράγουν μη αμυλοειδογενή προϊόντα, ανάλογα με τη θέση της APP στην πλασματική μεμβράνη, το σημείο επεξεργασίας (μεμβράνη ή ενδοσώματα) και το περιβαλλοντικό pH¹¹². Από την άλλη πλευρά, οι β-σεκρετάσες, επίσης γνωστές ως ένζυμα διάσπασης του β-αμυλοειδούς (beta amyloid cleaving enzymes, BACE), διατηρούν την ακεραιότητα των τμημάτων Αβ εντός του υπολειπόμενου από τη διάσπαση C99 πεπτιδίου (**Εικόνα 14**). Η περαιτέρω διάσπαση του C99 πεπτιδίου από τις γ-σεκρετάσες απελευθερώνει πρόσθετα Αβ πεπτίδια¹¹¹. Το σημείο διάσπασης εξαρτάται από το σημείο επεξεργασίας (ενδοσώματα ή δίκτυο Golgi), με τα παραχθέντα πεπτίδια να έχουν μήκος περίπου 40 και 42 αμινοξέων αντίστοιχα. Συγκεκριμένα, το Αβ40 πεπτίδιο εντοπίζεται κυρίως σε αγγειακές βλάβες, ενώ το Αβ1-42 πεπτίδιο εντοπίζεται κυρίως σε εγκεφαλικές βλάβες που σχετίζονται με τη νόσο Alzheimer. Εκτός από τα Αβ40 και Αβ1-42 πεπτίδια, η διάσπαση του C99 πεπτιδίου παράγει επίσης την ενδοκυτταρική περιοχή της APP (**Εικόνα 14**).



Εικόνα 14. Διαδικασία λειτουργίας της APP και μεταβολισμού του Αβ

1. **Γονιδιακή μεταγραφή της APP:** Το γονίδιο της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP) μεταγράφεται για να παράγει το mRNA της APP.
2. **Διάσπαση της APP:** Η APP διασπάται από τις α- και γ- σεκρετάσες (μη-αμυλοειδογενής οδός) ή από τις β- και γ- σεκρετάσες (αμυλοειδογενής οδός), με αποτέλεσμα την παραγωγή Αβ πεπτιδίων.
3. **Συσσώρευση Αβ πεπτιδίων:** Τα Αβ πεπτίδια συσσωρεύονται στο αίμα.
4. **Ατελής αποδόμηση Αβ πεπτιδίων:** Τα Αβ πεπτίδια δεν αποδομούνται πλήρως.
5. **Απέκκριση Αβ πεπτιδίων:** Τα Αβ πεπτίδια αποβάλλονται από τον οργανισμό.

Συντομογραφίες: ACE: Angiotensin converting enzyme, AICD: Amyloid precursor protein intracellular domain, apoE: Apolipoprotein E, HDL: High density lipoprotein, IDE: Insulin degrading enzyme, sAPP: Soluble amyloid precursor protein

Τροποποίηση από από: Stakos et al¹¹¹.

Αρκετοί παράγοντες, όπως η γήρανση, η φλεγμονή, η νεφρική δυσλειτουργία, η ισχαιμία, οι πολυμορφισμοί, καθώς και τα φαρμακευτικά σκευάσματα, αυξάνουν τα επίπεδα κυκλοφορίας και εναπόθεσης των Αβ πεπτιδίων. Όπως φαίνεται στην **Εικόνα 8**, αυτός ο μηχανισμός περιλαμβάνει είτε αύξηση του ρυθμού παραγωγής και επεξεργασίας της APP είτε μείωση του ρυθμού διάσπασης και αποδόμησης του Αβ. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, υπάρχει ισορροπία μεταξύ της παραγωγής και της απομάκρυνσης του Αβ μέσω διαφορετικών διαμερισμάτων εντός ή εκτός του κεντρικού νευρικού συστήματος¹¹³. Η απορρύθμιση αυτής της ισορροπίας μπορεί να οδηγήσει στη συσσώρευση των Αβ40

πεπτιδίων στο αίμα, στο αγγειακό τοίχωμα και στους ιστούς της καρδιάς, γεγονός που σχετίζεται με την εκδήλωση χρόνιας καρδιοπάθειας.

4.2 Επιδράσεις του Αβ40 σε αγγεία και αιμοποιητικά κύτταρα

Παρότι η επεξεργασία της APP σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους συνδέεται κυρίως με την παραγωγή των πεπτιδίων Αβ40 και Αβ1-42, δεν είναι ακόμα γνωστό γιατί επιλέγονται τα συγκεκριμένα πεπτιδία στο πλαίσιο του αμυλοειδογενούς μονοπατιού επεξεργασίας της APP¹¹⁴. Στη βιβλιογραφία καταγράφονται περιστατικά με εγκεφαλική αγγειοπάθεια του αμυλοειδούς (cerebral amyloid angiopathy, CAA), όπου το νευρωνικό Αβ αποτυγχάνει να απομακρυνθεί από τα λεπτομηνιγγικά αγγεία, τα τριχοειδή και το εγκεφαλικό παρέγχυμα¹¹¹. Αυτή η ανεπαρκής εξάλειψη των επιπέδων του Αβ οδηγεί σε συσσώρευσή του στα αρτηριόλια του εγκεφάλου. Συγκεκριμένα, παρατηρείται αυξημένη συγκέντρωση Αβ στον μέσο χιτώνα, στο εσωτερικό των λείων μυϊκών κυττάρων και στην εξωτερική στιβάδα του τοιχώματος των αιμοφόρων αγγείων. Αντίθετα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα παρατηρείται χαμηλότερη συγκέντρωση, ακόμα και σε περιπτώσεις με αυξημένη CAA¹¹⁵. Η ανεπάρκεια των λεμφικών τριχοειδών στα περιφερικά αγγεία επιδεινώνει την αθηροσκλήρωση, επομένως απαιτείται πρόσθετη εξέταση για την εξάλειψη των επιπέδων του Αβ σε περιπτώσεις με καρδιαγγειακή νόσο. Σε περιφερικές αθηροσκληρυντικές βλάβες, η κύρια ισομορφή του Αβ αφορά σχεδόν αποκλειστικά το πεπτιδίο Αβ40¹¹⁶. Μελέτες που χρησιμοποίησαν σπεκτρομετρία μάζας έδειξαν πως το πεπτιδίο Αβ40 εμφανίζεται έως και 100 φορές συχνότερα από το Αβ1-42 σε αθηρωματικές πλάκες της αορτής. Αντίθετα, το Αβ1-42, όντας περισσότερο υδρόφοβο και ινωδογενές, αποτελεί το κύριο είδος αμυλοειδούς πεπτιδίου που ανευρίσκεται σε παρεγχυματικές βλάβες ασθενών με νόσο Alzheimer¹¹⁷. Ωστόσο, η αγγειακή συμμετοχή του συγκεκριμένου πεπτιδίου καταγράφεται περιορισμένη σε τριχοειδή, στον συνδετικό ιστό του νευρικού συστήματος, σε παρεγχυματικά αγγεία του εγκεφάλου, καθώς και σε λεπτομηνιγγικά αγγεία.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η υπερέκφραση του πεπτιδίου Αβ1-42 επάγει την αγγειακή εναπόθεση του πεπτιδίου Αβ40 στον εγκέφαλο¹¹⁰. Επιπλέον, παράγοντες που μεταβάλλουν τον λόγο Αβ40/Αβ1-42, όπως η ανθρώπινη απολιποπρωτεΐνη Ε4¹¹⁸, ευνοούν την εναπόθεση αμυλοειδούς σε περιπτώσεις όπως η CAA έναντι των παρεγχυματικών πλακών. Η προτίμηση διαφορετικών ιστών για συγκεκριμένα Αβ πεπτιδία μπορεί να ερμηνευθεί από τις ακόλουθες παρατηρήσεις:

- **Ευρήματα μελετών** με χρήση τρισδιάστατων μοντέλων απεικόνισης αγγείων του εγκεφάλου καταδεικνύουν ότι η HDL και η ApoE συνεργάζονται για την προώθηση της αγγειακής αποδόμησης του πεπτιδίου Αβ1-42¹¹⁹.
- Το πεπτίδιο Αβ40 **παράγεται σε σημαντικές ποσότητες** από αιμοπετάλια, μακροφάγα εντός αθηρωματικών πλακών¹²⁰, ενδοθηλιακά κύτταρα^{121,122}, καθώς και από αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα¹²¹.
- **Διαφορετικές ισομορφές ApoE**, οι οποίες είναι πρωτεΐνες που επηρεάζουν το σύστημα μεταφοράς χοληστερόλης, ρυθμίζουν με διαφορετικό τρόπο την παραγωγή, συσσώρευση και αποδόμηση του Αβ¹²³. Συγκεκριμένα, η ApoE4 μπορεί να αναστείλει την αποδόμηση του Αβ μέσω συναγωνιστικής πρόσδεσης στην πρωτεΐνη 1 του υποδοχέα της LDL, οδηγώντας σε συσσώρευση του Αβ στον εγκέφαλο και αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης νόσου Alzheimer. Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι η ApoE επηρεάζει την κινητική του Αβ και στο αίμα¹²⁴.

4.3 Αβ40 και ενδοθηλιακά κύτταρα

Το πεπτίδιο Αβ διαθέτει τόσο προοξειδωτικές όσο και αντιοξειδωτικές ιδιότητες¹¹¹. Η παρουσία του σε κατώτατες φυσιολογικές συγκεντρώσεις (περίπου 0.1 nM) συνδέεται με αναστολή των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων, είτε μέσω κατάργησης της δράσης αυτό-οξειδωσης λιποπρωτεϊνών στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, είτε μέσω κατάργησης της δράσης της LDL στο πλάσμα¹²⁵. Το Αβ40 διαθέτει την πιο αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με τις άλλες ισομορφές του Αβ.

Βάσει αποτελεσμάτων *in vitro* μελετών, έχουν περιγράψει νευροπροστατευτικές ιδιότητες του Αβ υπό συνθήκες εξαιρετικά χαμηλών συγκεντρώσεων¹²⁶. Η παρατεταμένη έκθεση σε αυξημένες συγκεντρώσεις Αβ επάγει περίσσεια ιόντων ασβεστίου στα ενδοθηλιακά κύτταρα, οδηγώντας σε βλάβες και πιθανότητα απόπτωσης¹²⁷. Επιπρόσθετα, η μακροχρόνια χορήγηση Αβ μπορεί να αυξήσει την παραγωγή αντιδρώντων μορίων οξυγόνου, με αποτέλεσμα την οξειδωτική τροποποίηση πρωτεϊνών και λιπιδικών μεμβρανών και τη μείωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Τα Αβ πεπτίδια μπορούν επίσης να επάγουν την έκφραση φλεγμονωδών γονιδίων και πρωτεϊνών^{128,129}, που αυξάνουν την παραγωγή θρομβίνης σε εγκεφαλικά ενδοθηλιακά κύτταρα¹³⁰.

Ωστόσο, η βραχεία χορήγηση χαμηλών συγκεντρώσεων του Αβ40 οδήγησε σε παραγωγή κινινών και cGMP σε ενδοθηλιακά κύτταρα¹³¹. Επιπλέον, το Αβ αλληλοεπιδρά με τον υποδοχέα RAGE (receptor for advanced glycation end products), ο οποίος ρυθμίζει τη μεταφορά του Αβ στα εγκεφαλικά ενδοθηλιακά κύτταρα, επάγοντας τη διαδικασία της

ενδοκυττάριας σηματοδότησης^{132,133}. Ειδικότερα, χαμηλές συγκεντρώσεις του Αβ αυξάνουν την ενδοκυττάρια παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου¹³², το οποίο ενεργοποιεί τη διαλυτή μορφή του ενζύμου της γουανιλικής κυκλάσης και την παραγωγή cGMP στα ενδοθηλιακά κύτταρα^{134,135}.

Ο ρόλος των μιτοχονδρίων στα εγκεφαλικά ενδοθηλιακά κύτταρα είναι πολύ σημαντικός διότι αποτελούν σημαντικούς αισθητήρες οξειδωτικού στρες καθώς και το πρωτογενές σημείο δημιουργίας αντιδρώντων μορίων οξυγόνου¹³⁶. Ευρήματα *in vitro* μελετών έχουν δείξει πως η διέγερση εγκεφαλικών ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω του Αβ οδηγεί σε αζωτοποίηση της υπεροξειδικής δισμουτάσης και σε μιτοχονδριακή δυσλειτουργία¹³⁷. Με αυτόν τον τρόπο παρατηρείται απώλεια της αντιοξειδωτικής ικανότητας των μιτοχονδρίων¹³⁸. Λεπτομερέστερα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα που έχουν ενεργοποιηθεί μέσω της IL-1β επάγουν την αυξημένη μεμβρανική έκφραση της APP, η οποία συμπεριφέρεται ως προφλεγμονώδης υποδοχέας. Μελέτες σε ανθρώπους και σε επίμυες με έλλειψη της απολιποπρωτεΐνης E (ApoE^{-/-}) με αορτικές βλάβες έδειξαν την κυρίαρχη παρουσία της APP και της φωσφορυλιωμένης APP. Ο πολυμερισμός της APP σε αρχέγονα αορτικά ενδοθηλιακά κύτταρα επίμυων και σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας οδήγησε σε διαμεσολαβούμενη από την τυροσινική κινάση ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, έκκριση κυκλοξυγενάσης-2 (COX-2), VCAM-1, IL-1β και Αβ40 καθώς και σε αυξημένη προσκόλληση μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο¹³⁹. Η COX-2 δρα ως πηγή ελεύθερων ριζών, ενώ η εκκριθείσα IL-1β και το Αβ40 διεγείρουν τα γειτονικά κύτταρα μέσω σηματοδότησης του μεταγραφικού παράγοντα JNK-AP-1 (JNK-activator protein-1) ώστε να εκκρίνουν περαιτέρω φλεγμονώδεις διαβιβαστές, όπως η MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1), η IL-6, και το GRO-α (Growth related oncogene-alpha)¹³², σ' έναν φλεγμονώδη φαύλο κύκλο¹⁴⁰. Επιπρόσθετα, το διαμεσολαβούμενο από COX-2 οξειδωτικό στρες ελαττώνει την ενδοθηλιακή βιοδιαθεσιμότητα του NO¹⁴¹ και αυξάνει τους COX-εξαρτώμενους EDCF (endothelium-derived contractile factors) και την ενδοθηλίνη-1¹⁴², οδηγώντας σε εξελισσόμενη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, που σχετίζεται με καρδιαγγειακή παθολογία και γήρανση¹⁴³. Το Αβ40 επίσης επάγει την εναπόθεση ασβεστίου στα μιτοχόνδρια και στο κυτταρόπλασμα, οδηγώντας σε ενδοθηλιακή απόπτωση¹⁴⁴. Τέλος, το Αβ40 μειώνει την παραγωγή NO στα ενδοθηλιακά κύτταρα¹⁴³ και αναστέλλει τη σηματοδότηση του NO μέσω πρόσδεσης στα CD36 και CD47¹⁴⁵. Αξίζει να τονίσουμε ότι η χαμηλή συγκέντρωση NO προκαλεί αυξημένη τοξικότητα του Αβ¹⁴⁶, καθώς δρα συνεργιστικά με το Αβ40 υπό

συνθήκες μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας του NO, όπως στην αγγειακή εκφύλιση και στη γήρανση¹⁴⁷.

4.4 Αβ40 και αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια είναι μικρά, πυρηνικά κύτταρα που προέρχονται από τα πρόδρομα μεγακαρυοκύτταρα. Αν και τα μεγακαρυοκύτταρα προέρχονται από τον μυελό των οστών, τουλάχιστον το 50% των αιμοπεταλίων παράγεται από πρόδρομα κύτταρα τύπου μεγακαρυοκυττάρου στο τριχοειδές πνευμονικό δίκτυο, όπου η τάση οξυγόνου είναι υψηλή¹⁴⁸. Η παραγωγή αιμοπεταλίων από τα μεγακαρυοκύτταρα ρυθμίζεται αυστηρά από διάφορους χυμικούς παράγοντες¹⁴⁹. Τα αιμοπετάλια περιέχουν διάφορα είδη κοκκίων, συμπεριλαμβανομένων των α-κοκκίων, πυκνών κοκκίων και λυσοσωμάτων¹⁵⁰. Εκτός από παράγοντες πήξης, τα α-κοκκία των αιμοπεταλίων περιέχουν APP που εκφράζεται μέσω δύο διαφορετικών ισομορφών (751 και 770 αμινοξέων αντίστοιχα) και η οποία εκκρίνεται σε περιπτώσεις αποκοκκίωσης των αιμοπεταλίων¹⁵¹. Τα α-κοκκία επίσης διαθέτουν έναν Kunitz-type αναστολέα πρωτεάσης, που συνδέεται με την APP και δύναται να αναστείλει με τρόπο αποτελεσματικό τη δράση της χυμοθρυψίνης, της θρυψίνης και λοιπών πρωτεολυτικών ενζύμων¹⁵². Με αυτό τον τρόπο επάγει την ενεργοποίηση του παράγοντα πήξεως XII, επηρεάζοντας την αιμόσταση και τη σταθερότητα των θρόμβων¹⁵³.

Τα αιμοπετάλια είναι ικανά να παράγουν Αβ πεπτίδια και αποτελούν την κύρια πηγή (~90%) αυτών των πεπτιδίων στο ανθρώπινο αίμα¹⁵⁴. Ο μεταβολισμός της APP στα αιμοπετάλια υπό φυσιολογικές συνθήκες ακολουθεί κυρίως τη μη-αμυλοειδογενή οδό. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για την ανίχνευση βιοδεικτών της νόσου Alzheimer χρησιμοποίησαν τα αιμοπετάλια για να διερευνήσουν τα επιμέρους τμήματα τόσο του μη-αμυλοειδογενούς όσο και του αμυλοειδογενούς καταρράκτη. Τα ευρήματα έδειξαν ότι τα αιμοπετάλια αποτελούν ιδανικό μοντέλο μελέτης της νόσου, καθώς αναδείχθηκε μια αύξηση της παραγωγής Αβ πεπτιδίων κατά την εξέλιξη της νόσου¹⁵⁵. Επιπλέον, έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η παραγωγή διαλυτής μορφής της APP ή των Αβ πεπτιδίων από τα αιμοπετάλια καθορίζεται από ένα εξειδικευμένο μονοπάτι, διαφορετικής φύσεως από τα αντίστοιχα που έχουν εντοπισθεί στους νευρώνες^{153,155,156}. Σε αμφότερες τις περιπτώσεις, η APP ή τα προϊόντα διάσπασής της απελευθερώνονται κυρίως μέσω εξωκυττάρων κυστιδίων, αν και φαίνεται ότι συμμετέχει διαφορετικός τύπος γ-σεκρετάσης κατά τη διαδικασία αποδόμησης.

Μόνο το 10% της APP των αιμοπεταλίων εκφράζεται στην πλασματική μεμβράνη, λειτουργώντας ως υποδοχέας του Αβ40, ενώ το υπόλοιπο αποδομείται σε oligομερή Αβ40, τα οποία απελευθερώνονται στην κυκλοφορία¹¹¹. Υπό αυτές τις συνθήκες, η πλειονότητα της APP των αιμοπεταλίων μετατρέπεται μέσω των α-σεκρετασών σε sAPPα, το οποίο αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (95), και σε μικρότερο βαθμό σε Αβ40¹⁵⁴. Αυτό αντιπροσωπεύει την κύρια πηγή του Αβ40, που ανευρίσκεται στο περιφερικό αγγειακό δίκτυο των ασθενών με αθηροσκλήρωση^{133,137}. Η sAPPα και το Αβ40 αποθηκεύονται στα α-κοκκία και μπορούν να απελευθερωθούν κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα Αβ40 πεπτίδια είναι ικανά να διεγείρουν όλες τις πτυχές της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων¹⁵³ μέσω πρόσδεσης με τον υποδοχέα-εκκαθαριστή CD36 και την ιντεγκρίνη GPIIb¹⁵⁷, ένας μηχανισμός που συνοδεύεται επίσης από την ενεργοποίηση του μονοπατιού της φωσφολιπάσης Cγ2/ πρωτεϊνικής κινάσης C και την κινητοποίηση του ασβεστίου (103,104). Τα ανωτέρω οδηγούν σε συσσώρευση αιμοπεταλίων, παραγωγή θρομβοξάνης Α2 και σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS)¹⁵⁷. Επιπλέον, μελέτες έχουν αναδείξει την αύξηση της προσκόλλησης των αιμοπεταλίων και τη συνεπακόλουθη καλλιέργειά τους σε τρυβλία επικαλυμμένα με Αβ40, ενώ η επώασή τους με τη διαλυτή μορφή του Αβ40 ενισχύει την ενεργοποίηση και τη συσσώρευσή τους *in vitro* και βελτιώνει την προσκόλλησή τους στην πάσχουσα καρωτίδα επίμυων *in vivo*¹¹¹. Ακόμη, οι διαγονιδιακοί επίμυες που υπερεκφράζουν την APP και το Αβ40 (APP23 επίμυες) επιδεικνύουν αυξημένη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, έκκριση και θρομβογόνο δράση *in vitro* και *in vivo*¹⁵⁸. Το Αβ μπορεί επίσης να προκαλέσει θρόμβωση των μεσεντερικών φλεβιδίων σε επίμυες^{154,155}, ενώ τα αιμοπετάλια από επίμυες που είναι επιρρεπείς σε εναπόθεση Αβ πεπτιδίων στο παρέγχυμα και τα εγκεφαλικά αγγεία (APP23 επίμυες) επιδεικνύουν αυξημένη ενεργοποίηση της ιντεγκρίνης και αποκοκκίωση *in vitro* και επιτάχυνση της θρομβογένεσης υπό ροή *ex vivo*¹⁵⁹. Ασθενείς με νόσο Alzheimer παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση ιντεγκρίνης αIIbβ3 και P-σελεκτίνης σε ανενεργά αιμοπετάλια σε σύγκριση με τα ενεργοποιημένα¹⁵³, ενώ οι δείκτες ενεργοποίησης αιμοπεταλίων συνδέονται με την εμφάνιση νοητικού ελλείμματος μετά από παρακολούθηση ενός έτους.

Παράλληλα, σε διαγονιδιακούς επίμυες που υπερεκφράζουν την APP, η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και η θρομβογένεση υποστηρίζονται επιπλέον από ενεργοποίηση του ενδοθηλίου και έκφραση της θρομβίνης στην επιφάνεια του ενδοθηλιακού κυττάρου¹⁵⁶. Τα oligομερή Αβ40 μπορούν επίσης να προωθήσουν την

εξαρτώμενη από τον παράγοντα XII ενεργοποίηση του παράγοντα XI και την παραγωγή θρομβίνης στο πλάσμα, ενώ οι ασθενείς με νόσο Alzheimer παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα ινώδους στο πλάσμα¹⁶⁰. Επιπρόσθετα, το πεπτίδιο Αβ1-42 και, σε μικρότερο βαθμό, το Αβ40 αλληλεπιδρούν με τον παράγοντα πήξης XII και το ινωδογόνο¹⁶⁰, το οποίο συνδέεται με την αθηροθρόμβωση¹⁶¹, με αποτέλεσμα την τροποποίηση της δομής του ινωδογόνου και τελικά τον ολιγομερισμό του¹⁶⁰. Το Αβ και το ινωδογόνο ανευρίσκονται σε γειτνίαση στα αγγεία επίμυων και ασθενών με νόσο Alzheimer, ενώ οι θρόμβοι που παράγονται παρουσία του Αβ παρουσιάζουν αντοχή στην αποδόμησή τους¹⁶². Με βάση τα ανωτέρω, η απελευθέρωση του Αβ από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορεί να οδηγήσει σε έναν φαύλο κύκλο ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων και επιπρόσθετης έκκρισης Αβ. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα συνολικά επίπεδα της sAPP 770 (sAPPα και sAPPβ APP770) που μετρήθηκαν με τη μέθοδο ELISA στο πλάσμα επίμυων με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΟΕΜ) και σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ΟΣΣ) ήταν αυξημένα¹²³. Αντίθετα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια που εκφράζουν τα πολυπεπτίδια 751 και 770 APP¹⁶⁰, αποτελούνται από μία επιπρόσθετη μακρά αλυσίδα 56 αμινοξέων, η οποία δομικά και λειτουργικά εμφανίζει ομολογία με τους αναστολείς σερινοπρωτεασών τύπου Kunitz (Kunitz-type serine proteinase inhibitors - KPI)¹⁶³. Ειδικότερα, ανάλογη λειτουργία παρουσιάζει ο αναστολέας πρωτεάσης γνωστός ως PN2 (protease nexin-2)^{164,165}, ο οποίος, καθώς εκκρίνεται από τα κύτταρα, δρα ως ισχυρός αναστολέας των πρωτεασών, των παραγόντων πήξης IXa, Xa, XIa καθώς και του συμπλόκου TF/VIIa¹⁶⁶. Πράγματι, το σύμπλοκο PN2/APP περιορίζει την πιθανότητα εμφάνισης εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης σε επίμυες μέσω πολλαπλών μηχανισμών, οι οποίοι περιλαμβάνουν την εγγενή οδό πήξης και την πρόληψη σχηματισμού εξωκυττάρων παγιδεύσεων από τα ουδετερόφιλα¹⁶⁷. Ακόμη, η υπερέκφραση του συμπλόκου PN2/APP στα αιμοπετάλια διαγονιδιακών επίμυων μείωσε σημαντικά το σχηματισμό θρομβώσεων στον εγκέφαλο. Αντίθετα, οι γενετικά τροποποιημένοι επίμυες που δεν φέρουν το γονίδιο PN2/APP παρουσίασαν σημαντικά μειωμένο χρόνο εμφάνισης θρόμβωσης στην καρωτίδα και μεγαλύτερα εμφράγματα σε περίπτωση εγκεφαλικού επεισοδίου (ΑΕΕ)¹⁶⁸. Εν κατακλείδι, τα αιμοπετάλια αποτελούν την κύρια πηγή του κυκλοφορούντος συμπλόκου PN2/APP και δύνανται να το μεταφέρουν σε σημεία αγγειακής βλάβης μετά από την ενεργοποίησή τους¹⁶⁹. Ομοίως, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, που διεγείρονται από τη θρομβίνη ή την IL-1^{143,155}, εκφράζουν υψηλά επίπεδα του συνδεδεμένου στην επιφάνεια τους συμπλόκου PN2/APP. Αν και οι φυσιολογικές

λειτουργίες του ανωτέρω συμπλόκου δεν έχουν ακόμη καθοριστεί, η έκφρασή του στα αγγεία μπορεί να ρυθμίσει ποικίλες διαδικασίες, όπως η πήξη του αίματος, η δημιουργία θρόμβων ινώδους, η επανενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η κυτταρική μετανάστευση και άλλες πρωτεολυτικές διεργασίες, που εμπλέκονται στις φλεγμονώδεις αποκρίσεις της αγγειακής επούλωσης¹⁷⁰. Για παράδειγμα, σε μια μελέτη βιοπτικού υλικού από πνευμονική ενδαρτηρεκτομή ανθρώπου, η έκφραση του PN2/APP στα ενδοθηλιακά κύτταρα, που είναι υπεύθυνα για το σχηματισμό θρόμβων σε νεοαγγεία, είχε ως αποτέλεσμα τη διατήρηση της βατότητας των αγγείων κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, της οργάνωσης και της επανασηραγγοποίησης του θρόμβου¹⁷¹.

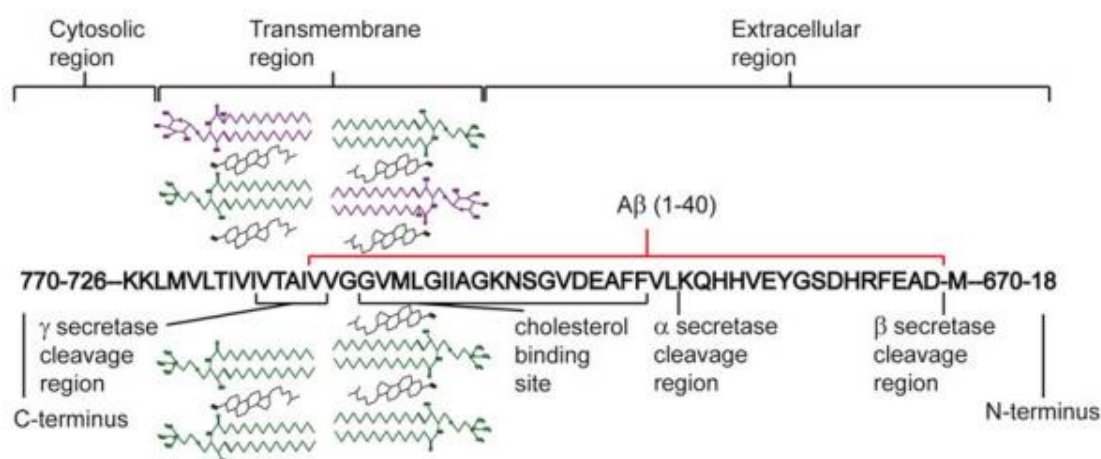
4.5 Αβ40 και λιπίδια

Η παραγωγή του Αβ πεπτιδίου πραγματοποιείται στην πλασματική μεμβράνη, μετά από διάσπαση της APP από τις β- και γ-σεκρετάσες. Δεδομένου ότι η APP και τα ένζυμα επεξεργασίας της είναι ενσωματωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες, η παραγωγή των Αβ πεπτιδίων απαιτεί την παρουσία ενός λιπιδικού περιβάλλοντος. Πολλές μελέτες αναφέρουν ότι η APP και οι σεκρετάσες διάσπασής της εντοπίζονται σε περιοχές της μεμβράνης πλούσιες σε χοληστερόλη και σφιγγολιπίδια, όπως τα γαγγλιοσίδια, γνωστές ως «λιπιδικές σχεδίες» (lipid rafts)^{172,173}. Αυτές οι περιοχές εμπλέκονται στις διαδικασίες μεταγωγής κυτταρικής σήμανσης, διακίνησης πρωτεϊνών και πρωτεολυτικής επεξεργασίας. Οι λιπιδικές σχεδίες παρέχουν ένα εξειδικευμένο περιβάλλον που διευκολύνει την αλληλεπίδραση της APP με τις β- και γ-σεκρετάσες, επιτρέποντας την αποτελεσματική διάσπαση της APP και την παραγωγή των Αβ πεπτιδίων. Πιο συγκεκριμένα, εκτιμάται ότι οι λιπιδικές σχεδίες λειτουργούν ως πλατφόρμα για την αμυλοειδογενή επεξεργασία της APP. Στις περιοχές αυτές, η APP διασπάται από τις β- και γ-σεκρετάσες, οδηγώντας στην παραγωγή των Αβ πεπτιδίων. Αντίθετα, η επεξεργασία της APP εκτός αυτών των περιοχών ακολουθεί το μη-αμυλοειδογενές μονοπάτι της α-σεκρετάσης. Αυτό το μονοπάτι, το οποίο διεγείρεται από εστέρες χοληστερόλης, δεν παράγει τα Αβ πεπτίδια και θεωρείται προστατευτικό έναντι της αμυλοειδούς συσσώρευσης¹⁷⁴. Από την άλλη πλευρά, *in vitro* και *in vivo* μελέτες έχουν δείξει ότι η κυτταρική χοληστερόλη ρυθμίζει την αμυλοειδική οδό μέσω της γ-σεκρετάσης για την παραγωγή των Αβ πεπτιδίων¹⁷⁵. Αυτά τα ευρήματα υποστηρίζουν τον ρόλο της χοληστερόλης στην παραγωγή των Αβ πεπτιδίων.

Από την ανασκόπηση δομικών μελετών, έχουν προκύψει δεδομένα που αναδεικνύουν τη διάταξη της C-τελικής περιοχής C99 της APP, υπογραμμίζοντας την αλληλεπίδραση της APP με τη χοληστερόλη^{174,176}. Επιπλέον, έχει αναφερθεί η επίδραση της χοληστερόλης

στην παραγωγή Αβ πεπτιδίων¹⁷⁶. Συγκεκριμένα, αποκαλύφθηκε ένα μοναδικό σημείο πρόσδεσης της χοληστερόλης στην APP, το οποίο θεωρείται ότι ρυθμίζει την αμυλοειδογενή επεξεργασία της. Αυτό το σημείο πρόσδεσης εντοπίζεται στην περιοχή Αβ, μεταξύ των σημείων διάσπασης από τις α- και γ-σεκρετάσες, αποτελώντας σαφή ένδειξη της αλληλεπίδρασης της χοληστερόλης στη διαδικασία επεξεργασίας της APP. (Εικόνα 15).

Επιπρόσθετα, η απευθείας πρόσδεση της χοληστερόλης μπορεί να ενισχύσει τη διαμερισματοποίηση της APP μέσα στις λιπιδικές σχεδίες, επιτρέποντας τον ταυτόχρονο εντοπισμό της APP και των β- και γ-σεκρετασών, γεγονός που αναμένεται να επάγει την παραγωγή των Αβ πεπτιδίων¹⁵³.



Εικόνα 15. Σχηματική απεικόνιση της APP και της διαδικασίας διάσπασής της από τις α-, β- και γ-σεκρετάσες (Συντομογραφίες: APP/amyloid precursor protein) Τροποποίηση από: Morgado I. et al¹⁷⁷.

Το γεγονός ότι η διάσπαση της APP από τις β- και γ-σεκρετάσες λαμβάνει χώρα υπό φυσιολογικές συνθήκες υπονοεί ότι τα Αβ πεπτίδια διατηρούν επίσης φυσιολογική λειτουργικότητα¹⁷⁸. Ωστόσο, τόσο οι φυσιολογικές λειτουργίες των Αβ πεπτιδίων όσο και οι υποκείμενοι μηχανισμοί τους δεν έχουν καταστεί πλήρως κατανοητοί. Παρότι κάποιες πρώτες μελέτες υπαινίσσονται ότι η εναπόθεση Αβ πεπτιδίων στον εγκέφαλο σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις θα μπορούσε να είναι νευροπροστατευτική και να δρα ως ασπίδα έναντι πιθανής αιμορραγίας¹⁷⁹, άλλες μελέτες υποστηρίζουν τις ευεργετικές ιδιότητες του Αβ στη διαλυτή του μορφή. Γενικότερα, τα ευρήματα αρκετών *in vitro* μελετών έχουν αναδείξει την αντιοξειδωτική δράση του Αβ χάρη στην ικανότητα πρόσδεσής του σε οξειδοαναγωγικά μέταλλα¹⁸⁰, την αντιμικροβιακή του δράση¹¹¹, καθώς

και τη δράση του ως μεταγραφικού παράγοντα. Επιπρόσθετα, μελέτες *in vitro* και κυτταρικών καλλιέργειών έχουν συσχετίσει το Αβ με τη μεταφορά της χοληστερόλης και την ομοιοστάση της¹⁸¹, η οποία είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη λειτουργία των συνάψεων.

Σύμφωνα με την «υπόθεση του καταρράκτη του αμυλοειδούς», η συσσώρευση του Αβ στον εγκέφαλο και η εκδήλωση παθολογίας στη νόσο Alzheimer αποδίδονται στην ανισορροπία μεταξύ της παραγωγής του Αβ και του ρυθμού αποδόμησής του¹⁸². Αν και οι σπάνιες γενετικές μορφές της νόσου Alzheimer περιλαμβάνουν την αυξημένη παραγωγή Αβ λόγω μεταλλάξεων της APP ή των πρωτεϊνών πρεσενιλίνης, η συχνότερη σποραδική μορφή της νόσου έχει συνδεθεί κυρίως με ελαττωματική αποδόμηση του Αβ¹⁸². Σημαντικά ευρήματα *in vivo* μελετών σε επίμυες με τη μέθοδο της μικροδιάλυσης έδειξαν πως η εναπόθεση Αβ και η δημιουργία πλακών επάγονται από έναν μηχανισμό μειωμένης αποδόμησης του Αβ στον εγκέφαλο με την πάροδο της ηλικίας και επακόλουθης αύξησης των επιπέδων Αβ στο μεσοκυττάριο υγρό¹⁸³. Επιπρόσθετα, τα ευρήματα των Bateman et al.¹⁸³ αναφέρουν πως ακόμα και μία μικρή μεταβολή στην ομοιοστάση του Αβ αρκεί για να αυξηθεί ο ρυθμός παραγωγής πλακών. Τα προαναφερθέντα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η ελαττωματική αποδόμηση του Αβ πυροδοτεί την όψιμης έναρξης νόσο Alzheimer¹⁸².

Η αποδόμηση του Αβ πραγματοποιείται είτε μέσω ενζυμικής διάσπασης στα εγκεφαλικά κύτταρα, είτε μέσω εκροής κατά μήκος του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Οι διεργασίες αυτές ρυθμίζονται από δύο υποδοχείς λιποπρωτεϊνών, τους LRP1 (lipoprotein receptor-related protein 1) και VLDLR (very low-density lipoprotein receptor) και κυρίως από την apoE, που προσδέεται και στους δύο υποδοχείς. Η σημασία της apoE στη νόσο Alzheimer ανεδείχθη μέσω της δράσης του ε4 αλληλίου του apoE γονιδίου, το οποίο φαίνεται ότι αποτελεί βασικό γενετικό παράγοντα κινδύνου τόσο στην πρόιμης όσο και στην όψιμης έναρξης της νόσου στον άνθρωπο¹⁸⁴. Το εύρημα αυτό ενισχύεται από την παρατήρηση ότι οι πάσχοντες από νόσο Alzheimer που φέρουν το γονίδιο apoE4 παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα Αβ και αυξημένη πυκνότητα αμυλοειδών πλακών στον εγκέφαλο¹⁸⁵. Μετέπειτα, περιγράφηκε ότι η apoE επιδρά στην ομοιοστάση του Αβ κατά σύνθετο τρόπο. Αυτές οι επιδράσεις γίνονται με άμεσο ή έμμεσο τρόπο και εξαρτώνται από τη λιπιδιακή σύσταση της apoE και τα επίπεδα του Αβ¹⁸⁶. Έχει επίσης προταθεί ως εναλλακτικός *in vivo* μηχανισμός ο συναγωνισμός ανάμεσα σε apoE και Αβ για την

πρόσδεση στον υποδοχέα LRP1, ο οποίος ρυθμίζει την αποδόμηση του Αβ από το κεντρικό νευρικό σύστημα¹²². Εν κατακλείδι, ο πρωτογενής ρόλος της apoE στην εκδήλωση παθολογίας της νόσου Alzheimer διαμεσολαβείται μέσω της ρύθμισης της αποδόμησης του Αβ από τον εγκέφαλο¹²⁵.

Παράλληλα, η ισομορφή της apoE, απολιποπρωτεΐνη E4 (apoE4), κατέχει εξέχοντα ρόλο στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών και έχει συνδεθεί με την καρδιαγγειακή νόσο¹⁸⁷. Η apoE4 αυξάνει τον κίνδυνο αθηροσκλήρωσης¹⁸⁷, ρυθμίζοντας την έκφραση και τη λειτουργία των LDL υποδοχέων καθώς και τα επίπεδα των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών.¹⁸⁸ Ειδικότερα, έχει βρεθεί ότι αυτό το προ-αθηρογόνο μόριο ενισχύει την παραγωγή του Αβ40 στα B103 κύτταρα νευροβλαστώματος επίμυων *in vitro*, διακόπτει την αποδόμηση του Αβ σε επίμυες¹⁸⁹ και σχετίζεται με αυξημένη εναπόθεση Αβ στον εγκεφαλικό φλοιό ασθενών με νόσο Alzheimer. Πρόσφατα, με τη χρήση τρισδιάστατων μοντέλων εγκεφαλικών αγγείων, που προέρχονταν από αρχέγονα ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα και αστροκύτταρα, έχειδειχθεί ότι η apoE στον εγκέφαλο συνεργάζεται με την κυκλοφορούσα HDL προς αποδόμηση του Αβ στο αγγειακό τοίχωμα. Ειδικότερα, η HDL και η apoE προάγουν την αγγειακή αποδόμηση του Αβ1-42 περισσότερο από αυτή του Αβ40. Τα ανωτέρω ευρήματα αναφορικά με τους μηχανισμούς της αγγειακής κατακράτησης του Αβ40 τονίζουν τον βιολογικό ρόλο αυτού του πεπτιδίου στην παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης¹¹¹.

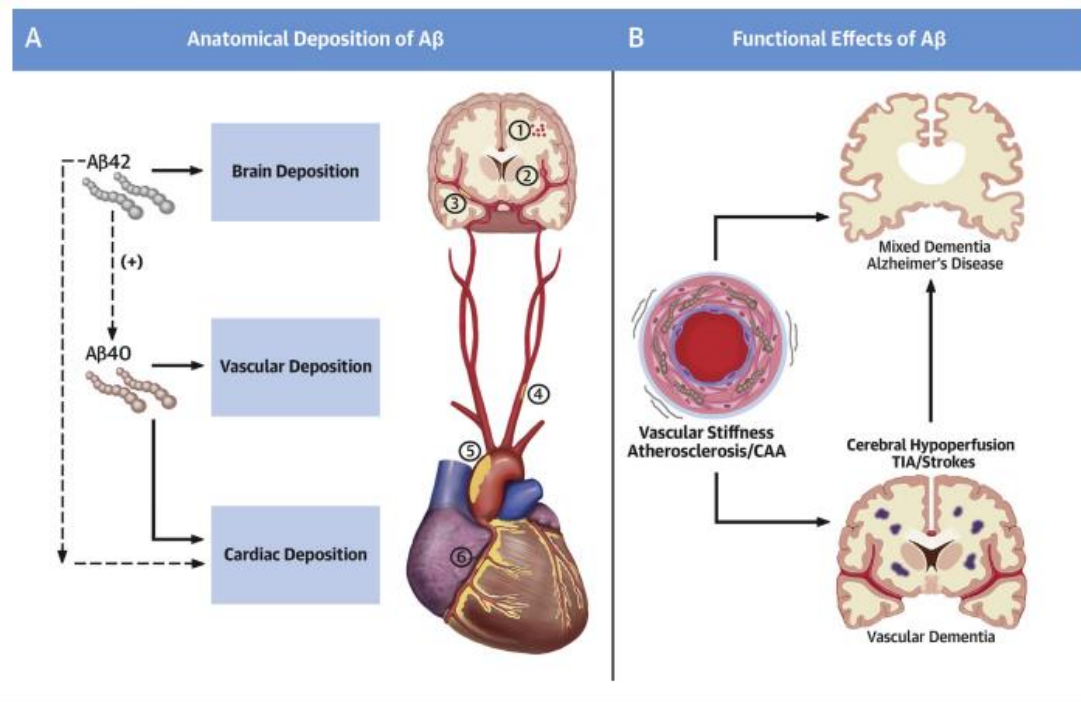
Ωστόσο, τα αιμοπετάλια ασθενών με υπερλιπιδαιμία απελευθερώνουν σημαντικές ποσότητες Αβ40¹⁹⁰. Αν και υπό φυσιολογικές συνθήκες χαμηλές φυσιολογικές συγκεντρώσεις του Αβ40 (~0.1 nM) εμποδίζουν την αυτό-οξειδωση της LDL στο πλάσμα¹¹¹, υψηλότερες συγκεντρώσεις του Αβ40 οξειδώνουν *in vivo* τη χοληστερόλη που βρίσκεται σε σύζευξη με το χαλκό, παράγοντας την 4-χοληστεν-3-όνη^{169,191}, μία διαδικασία που παίζει σημαντικό ρόλο στην αθηρογένεση¹⁹². Τα Αβ40 πεπτίδια, δρώντας ως οψονίνες για τις λιποπρωτεΐνες, ενισχύουν τη συσσώρευση μακροφάγων στην πλάκα, επιταχύνοντας έτσι τον σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Πράγματι, οι ινώδεις ισομορφές του αμυλοειδούς στις ανθρώπινες αθηροσκληρυντικές πλάκες δύνανται να ενεργοποιήσουν μακροφάγα μέσω σηματοδότησης CD36 για παραγωγή ROS και TNF-α¹⁹³. Ομοίως, η φαγοκυττάρωση των αιμοπεταλίων από τα μακροφάγα προωθεί τον σχηματισμό αφρωδών κυττάρων¹⁹⁴. Ειδικότερα, οι De Meyer et al. υποστήριξαν ότι η φαγοκυττάρωση των αιμοπεταλίων από τα μακροφάγα διεγείρει την αποδόμηση της

προερχόμενης από τα αιμοπετάλια APP από σεκρετάσες των μακροφάγων και την απελευθέρωση σημαντικής ποσότητας Αβ40, οδηγώντας στην ενεργοποίηση των μακροφάγων και στον σχηματισμό αφρωδών κυττάρων στις περιοχές αθηροσκληρυντικών πλακών¹²¹.

4.6 Ο ρόλος του Αβ40 στη νόσο Alzheimer και στις πρώιμες αθηρωματικές αλλοιώσεις

Η παραγωγή και συσσώρευση των Αβ πεπτιδίων στον εγκέφαλο αποτελεί τον θεμέλιο λίθο στην υπόθεση του αμυλοειδούς αναφορικά με την παθοφυσιολογία της νόσου Alzheimer¹⁹⁵. Η ιδιοπαθής αγγειοεγκεφαλική νόσος που σχετίζεται με εναποθέσεις του Αβ40 είναι η εγκεφαλική αγγειοπάθεια του αμυλοειδούς (CAA), η οποία περιγράφει μια σειρά από διαταραχές του εγκεφάλου που σχετίζονται με τη γήρανση και χαρακτηρίζονται από παθολογικές εναποθέσεις αμυλοειδούς κυρίως στο αγγειακό τοίχωμα¹⁹⁶. Κλινικά και απεικονιστικά ευρήματα της CAA ποικίλλουν από ασυμπτωματική μικροαιμορραγία έως και μείζονα αιμορραγία, νευρολογικά ελλείμματα, νοητική υστέρηση, άνοια και θάνατο.

Η ελλιπής περιαγγειακή απορροή του νευρωνικά προερχόμενου Αβ αποτελεί πιθανότατα τον βασικό μηχανισμό εναπόθεσης του εν λόγω πεπτιδίου. Μεταξύ των Αβ πεπτιδίων, το Αβ40 αποτελεί το κύριο πεπτίδιο που ενοχοποιείται στην παθογένεια της CAA, ενώ το Αβ1-42 κυρίως εμπλέκεται στην εκδήλωση της νόσου Alzheimer. Η αγγειακή προτίμηση προς το Αβ40 πεπτίδιο έχει οδηγήσει στην υπόθεση ότι το συγκεκριμένο μόριο διαθέτει προφλεγμονώδεις ιδιότητες, τόσο σε επίπεδο εγκεφαλικού όσο και περιφερικού αγγειακού δικτύου, επάγοντας την εκδήλωση αρτηριακής νόσου (**Εικόνα 16**).



Εικόνα 16. Αλληλουχία καρδιαγγειακών και νευροτοξικών επιδράσεων των Αβ πεπτιδίων. Η εικόνα αναδεικνύει τον ρόλο των Αβ πεπτιδίων στην παθογένεια τόσο της εγκεφαλικής αγγειοπάθειας του αμυλοειδούς όσο και της νόσου Alzheimer, τονίζοντας τις πολυδιάστατες επιδράσεις τους στο καρδιαγγειακό και νευρικό σύστημα.

Τροποποίηση από: Stakos DA et al¹¹¹.

Ο εν λόγω μηχανισμός υποδηλώνει την ύπαρξη μιας συνεχούς ροής εναπόθεσης Αβ40 στο κυκλοφορικό σύστημα, που εκτείνεται από το λεπτομηνιγγικό και φλοιϊκό μικροαγγειακό σύστημα του εγκεφάλου, έως το ενδοπαρεγχυματικό αγγειακό σύστημα, την καρωτίδα, την αορτή, το τοίχωμα των στεφανιαίων αγγείων και την καρδιά αντίστοιχα. Εν αντιθέσει με μελέτες που έχουν αναδείξει τον συσχετισμό των επιπέδων Αβ40 στο πλάσμα με την καρδιαγγειακή νόσο, δεν παρατηρούνται ανάλογα ευρήματα σχετικά με την πιθανή συσχέτιση των επιπέδων πλάσματος Αβ40 με τη νοητική λειτουργία¹⁵⁹. Το Αβ40 φαίνεται ότι προκαλεί διαταραχή των διαδικασιών μνήμης και γνωστικής λειτουργίας μέσω μικροαγγειοπάθειας και όχι νευροτοξικότητας, γεγονός που μπορεί να εξηγήσει τη συγκεκριμένη ασυμφωνία ευρημάτων.

4.7 Αβ40 και καρδιακή λειτουργία

Μελέτη σε νεκροτομικό υλικό καρδιακού ιστού ασθενών με ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια και απουσία ανοϊκής συνδρομής ανέδειξε απορρύθμιση του άξονα ΒΑCΕ1 (beta amyloid precursor protein cleaving enzyme 1)/Αβ40¹⁹⁷. Περαιτέρω ιστολογική ανάλυση επιβεβαίωσε την παρουσία συσσωματωμάτων Αβ40 και Αβ1-42 στα

εξετασθέντα δείγματα ασθενών με νόσο Alzheimer¹⁹⁸, υποδηλώνοντας μια νέα μορφή καρδιακής αμυλοείδωσης που σχετίζεται με τη γήρανση και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Από μηχανιστικής άποψης, τα δύο προαναφερθέντα πεπτιδία ασκούν τοξικές επιδράσεις στα καρδιομυοκύτταρα, με αποτέλεσμα να μειώνεται η κυτταρική βιωσιμότητα και να επάγεται η διαδικασία της απόπτωσης^{199,200}. Η χορήγηση Αβ40 πεπτιδίων σε έμβρυα zebrafish επάγει τη διαταραχή της αγγειακής ανάπτυξης και της αγγειογένεσης, πιθανώς παρεμβαίνοντας στο βιολογικό μονοπάτι της VEGF (vascular endothelial growth factor)^{201,202}.

Καθώς η ισχαιμία ενισχύει την αυξημένη έκφραση και αποδόμηση της APP²⁰³ και παράλληλα το Αβ40 πεπτίδιο προκαλεί αγγειοσύσπαση και μειωμένη -εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο- αγγειοδιαστολή²⁰⁴, καθίσταται σαφές πως οι παθογόνες συνέπειες της καρδιακής ανεπάρκειας ισχαιμικής αιτιολογίας μέσω συμμετοχής της καρδιακής αμυλοειδογένεσης χρήζουν διερεύνησης.

Αρκετά κλινικά ευρήματα υποστηρίζουν την ύπαρξη Αβ-σχετιζόμενης καρδιακής αμυλοείδωσης. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα πλάσματος του Αβ40 έχουν συσχετιστεί με δείκτες καρδιακής δυσλειτουργίας σε αρκετές κλινικές καταστάσεις που ενέχουν ποικίλου βαθμού μυοκαρδιακή δυσλειτουργία. Με βάση τα ευρήματα της Dallas Heart Study, όπου 3,266 συμμετέχοντες χωρίς κλινικά έκδηλη καρδιαγγειακή νόσο (KAN) υποβλήθηκαν σε απεικονιστικό έλεγχο με μαγνητική τομογραφία καρδιάς, τα επίπεδα πλάσματος του Αβ40 συσχετίστηκαν με αυξημένες τιμές κυκλοφορούντος NT-proBNP (N-terminal pro-B-type natriuretic peptide) και υψηλής ευαισθησίας καρδιακής τροπονίνης T. Τα εν λόγω ευρήματα υποδηλώνουν τη συμμετοχή του συγκεκριμένου πεπτιδίου στην πρόωμη υποκλινική μυοκαρδιακή τάση και βλάβη²⁰⁵. Στο πλαίσιο της ίδιας μελέτης, καταγράφηκε επίσης συσχέτιση ανάμεσα στο Αβ40 και το κλάσμα εξώθησης του αριστερού κόλπου, έπειτα από προσαρμογή παραγόντων κινδύνου για ΚΑΝ. Από την άλλη πλευρά, αν και ο δείκτης όγκου παλμού ήταν αντιστρόφως ανάλογος των επιπέδων του Αβ40 βάσει μονοπαραγοντικής ανάλυσης, δεν καταγράφηκε εξαρτημένη συσχέτιση με άλλες καρδιακές διαταραχές, όπως η συστολική δυσλειτουργία ή η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας. Ειδικότερα, σε ασθενείς με εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο (coronary artery disease, CAD) και μειωμένο κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα πλάσματος Αβ40²⁰⁶.

Δεδομένου ότι το Αβ40 σχετίζεται με μειωμένη καρδιοαναπνευστική επάρκεια (VO₂ max) και με δυσλειτουργία αριστερού κόλπου ανεξαρτήτως φυσικής δραστηριότητας,

απαιτούνται πρόσθετες μελέτες προκειμένου να αξιολογηθεί κατά πόσο η μειωμένη τιμή της παραμέτρου VO₂ max είναι καρδιακής αιτιολογίας, η οποία πιθανόν σχετίζεται με διαμεσολαβούμενη από το Αβ40 υποκλινική βλάβη του μυοκαρδίου. Επίσης, η παρουσία του Αβ40 πεπτιδίου στην καρδιά σχετίζεται με υπερηχοκαρδιογραφικά ευρήματα πρώιμης διαστολικής δυσλειτουργίας^{200,207}. Σε προοπτική μελέτη όπου συμμετείχαν 939 ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια, με μειωμένο ή διατηρημένο κλάσμα εξώθησης, παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα πλάσματος Αβ40 συσχετίζονται με συμπτωματολογία καρδιακής ανεπάρκειας, με βάση την ταξινόμηση κατά NYHA (New York Heart Association)²⁰⁰. Καθώς η διαστολική δυσλειτουργία και η καρδιακή ανεπάρκεια με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης θεωρούνται εγκατεστημένες εκδηλώσεις γήρανσης του μυοκαρδίου²⁰⁷, τα επίπεδα πλάσματος του Αβ40 δύνανται να αντικατοπτρίζουν την έκταση αγγειακής και μυοκαρδιακής εμπλοκής του σε ασθενείς με ΚΑΝ. Πρόσφατα ευρήματα υποστηρίζουν ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα του Αβ40 μπορούν να αποτελέσουν προγνωστικό παράγοντα δυσμενών κλινικών συμβάντων (συμπεριλαμβανομένης και της θνησιμότητας), βελτιώνοντας ταυτόχρονα την αξιολόγηση του κινδύνου σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια²⁰⁰. Τέλος, υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα σχετικά με τη σχέση του Αβ στο πλάσμα με την καρδιακή λειτουργία και τον κίνδυνο εμφάνισης HF στο γενικό πληθυσμό. Σε μια πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε ότι, μετά τη συνεκτίμηση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, τα υψηλότερα επίπεδα Αβ40 στο πλάσμα σχετίζονται με χειρότερη καρδιακή λειτουργία και υψηλότερο κίνδυνο νεοεμφανιζόμενης HF στο γενικό πληθυσμό, ιδίως μεταξύ των ανδρών. Η σχέση μεταξύ του Αβ πλάσματος και της HF καθοδηγούνταν κυρίως από το Αβ40 και όχι από το Αβ42²⁰⁸.

4.8 Αβ40 και διαστρωμάτωση κινδύνου

Στο γενικό πληθυσμό, αυξημένες συγκεντρώσεις πλάσματος του Αβ40 συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας, όπως παρατηρήθηκε από μελέτη 1.254 ηλικιωμένων ατόμων, μετά από προσαρμογή για παράγοντες κινδύνου εκδήλωσης ΚΑΝ και γενικότερης αδυναμίας²⁰⁹. Η παραπάνω συσχέτιση δεν κατέστη στατιστικά σημαντική μετά από προσαρμογή για την κυστατίνη C, λόγω διαφορών στη νεφρική λειτουργία ή/και στη φλεγμονώδη απόκριση. Η προγνωστική αξία του κυκλοφορούντος Αβ40 σε νεότερα άτομα του γενικού πληθυσμού παραμένει άγνωστη.

Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε δύο ανεξάρτητους πληθυσμούς ασθενών με σταθερή στεφανιαία νόσο ανέδειξε ότι τα υψηλότερα επίπεδα πλάσματος του Αβ40

συσχετίστηκαν με τριπλάσια πιθανότητα εκδήλωσης καρδιαγγειακού θανάτου²⁰⁶. Η προσθήκη του Αβ40 βελτίωσε το μοντέλο διαστρωμάτωσης κινδύνου κατά 22%, βελτιώνοντας την κατηγοριοποίηση ασθενών με στεφανιαία νόσο (ΣΝ). Η ενδονοσοκομειακή και μεσοπρόθεσμη θνησιμότητα σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (acute coronary syndrome, ACS) κυμαίνεται από <1% έως και >8%^{210,211}. Ωστόσο, δεν είναι προς το παρόν εφικτή η προσαρμογή δεικτών αγγειακής φλεγμονής στον προσδιορισμό της εκτίμησης κινδύνου, κατά ανάλογο τρόπο με την κλίμακα κινδύνου GRACE²¹².

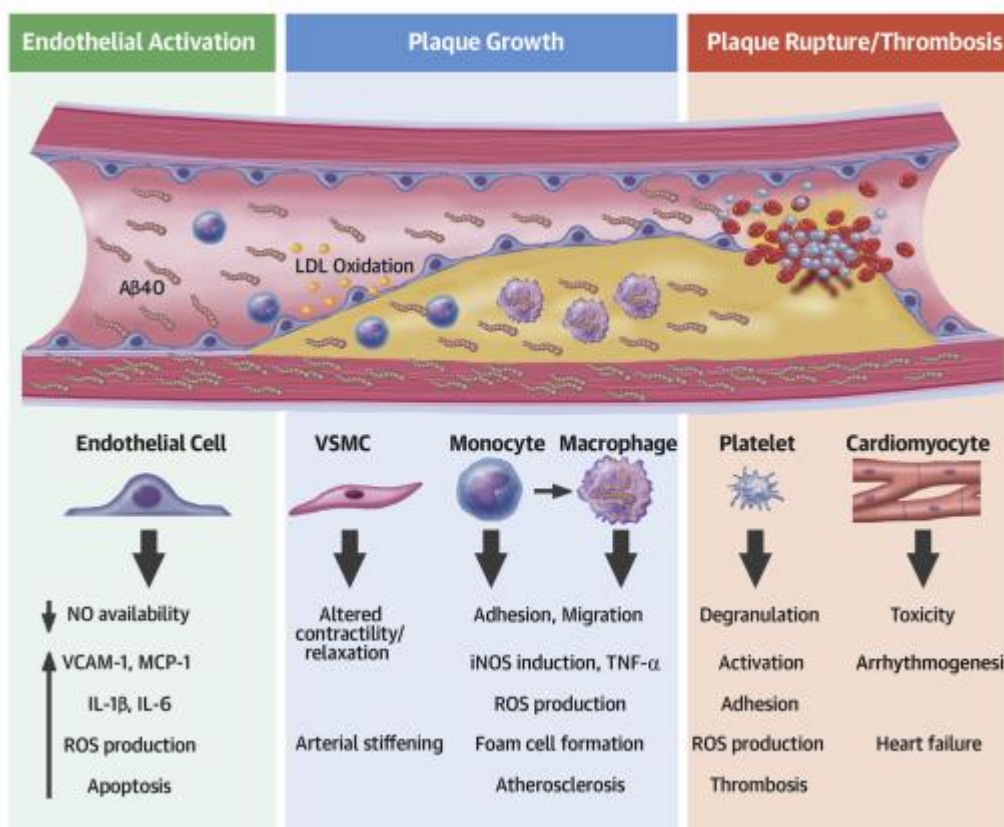
Υπό αυτή την έννοια, αποκτά αυξημένη βαρύτητα το γεγονός πως η μέτρηση των επιπέδων του Αβ40 σε ασθενείς με οξεία στεφανιαία σύνδρομα χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST (NSTE-ACS) βελτιώνει την προγνωστική αξία και αναβαθμίζει περαιτέρω την αξία της ταξινόμησης κατά GRACE²¹². Προκαλεί ενδιαφέρον το γεγονός πως τα κυκλοφορούντα επίπεδα του Αβ40 συσχετίστηκαν ως ανεξάρτητη μεταβλητή με τη θνησιμότητα και στις δύο ομάδες ασθενών που χρησιμοποιήθηκε²¹². Με αυτόν τον τρόπο, το Αβ40 βελτίωσε σημαντικά τη διαστρωμάτωση κινδύνου σε ασθενείς με NSTE-ACS, κατηγοριοποιώντας τους σε ορθότερες ομάδες κινδύνου κατά την κλίμακα GRACE (εύρος επαναταξινόμησης μεταξύ 33.4-47.1%). Εν κατακλείδι, τα προαναφερθέντα ευρήματα υποδηλώνουν ότι το Αβ40 δύναται να αποτελέσει έναν κλινικά αξιόπιστο βιοδείκτη διαστρωμάτωσης κινδύνου ασθενών με σταθερή στεφανιαία νόσο και ιδιαίτερα εκείνων με NSTE-ACS. Ωστόσο, η κλινική εφαρμογή του εν λόγω πεπτιδίου ως βιοδείκτη χρήζει περαιτέρω έρευνας, προκειμένου να καθοριστούν σχετικές τιμές αναφοράς μέσω των οποίων θα καθίσταται εφικτή η δημιουργία προγνωστικών αλγορίθμων στη στεφανιαία νόσο.

4.9 Αβ40 και υποκλινική αθηρωμάτωση

Η συμμετοχή του Αβ40 πεπτιδίου στη διαδικασία της αγγειακής γήρανσης θεωρείται μείζονος σημασίας. Η SIRT1 (Sirtuin 1) αποτελεί μια ιστόνη διακετυλάσης τάξεως III, που διαδραματίζει προστατευτικό ρόλο στη διαδικασία της αγγειακής γήρανσης²¹³. Ο ρόλος της επικεντρώνεται στην υπερέκφραση της α-σεκρετάσης, με αποτέλεσμα τη μετατόπιση του μεταβολισμού του Αβ προς τη μη-αμυλοειδογενή οδό (**Εικόνα 14**).

Από την άλλη πλευρά, η ενεργοποίηση του αμυλοειδογενούς μονοπατιού οδηγεί σε δυσλειτουργία των αγγειοδιασταλτικών ιδιοτήτων των μικρών αρτηριολίων μέσω ενεργοποίησης της έκφρασης της ενδοθηλίνης-1²¹⁴, μείωση της δραστηριότητας της eNOS

(endothelial nitric oxide synthase), ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, ενίσχυση του οξειδωτικού στρες²¹⁵ και αυξημένο βαθμό ανταπόκρισης σε αγγειοσυσπαστικούς παράγοντες (Εικόνα 17)²¹⁶. Μια επιπρόσθετη δράση των Αβ ολιγομερών περιλαμβάνει την αναστολή της δραστηριότητας της τελομεράσης, οδηγώντας σε βράχυνση των τελομερών, η οποία ακολούθως συμβάλλει στην ενεργή προώθηση της αγγειακής γήρανσης²¹⁷.



Εικόνα 17. Επιβλαβείς κυτταρικές και μοριακές επιδράσεις του Αβ40 στο καρδιαγγειακό σύστημα. Οι παραπάνω επιδράσεις καταδεικνύουν τον επιβλαβή ρόλο του Αβ40 στο καρδιαγγειακό σύστημα, επηρεάζοντας την αγγειακή υγεία και συμβάλλοντας στην ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων. Τροποποίηση από: Stakos DA et al¹¹¹.

Τα προαναφερθέντα ερευνητικά ευρήματα συνηγορούν στη διαμόρφωση της υπόθεσης, σύμφωνα με την οποία τα αυξημένα επίπεδα συγκέντρωσης των Αβ ολιγομερών δύναται να σχετίζονται με εξελισσόμενη αρτηριακή γήρανση και επιδεινούμενη αγγειακή λειτουργία στον άνθρωπο. Η ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος (pulse wave velocity, PWV) μέσα στο αρτηριακό δίκτυο αποτελεί έναν αξιόπιστο, μη επεμβατικό δείκτη της σκληρίας του δικτύου αυτού και της αγγειακής γήρανσης²¹⁸. Προκαλεί ενδιαφέρον πως τα επίπεδα εναπόθεσης β-αμυλοειδούς στον

εγκέφαλο μετρούμενα μέσω τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων (positron emission tomography scan, PET scan) καθώς και η μεταβολή τους σε βάθος διετούς παρακολούθησής τους σε ηλικιωμένους άνευ άνοιας, συσχετίστηκε με υψηλότερη ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος σ' αυτούς²¹⁹. Προκειμένου να αξιολογηθεί κατά πόσο το Αβ40 συμμετέχει σε πρώιμες διαδικασίες αρτηριακής νόσου και γήρανσης, διερευνήθηκαν μεταβολές στην ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος και στα επίπεδα πλάσματος του Αβ40 πεπτιδίου σε 107 συμμετέχοντες (μέσης ηλικίας 46,2 ετών), με παρακολούθηση πέντε ετών²⁰⁶. Τα αποτελέσματα της εν λόγω μελέτης έδειξαν ότι η πενταετής μεταβολή των επιπέδων πλάσματος του Αβ40 αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα της πενταετούς μεταβολής της σκληρίας της αορτής. Επιπρόσθετα και καθώς οι εναποθέσεις του Αβ40 εντοπίζονται σε αθηρωματικές πλάκες στις καρωτίδες²²⁰ και στην αορτή²²¹, διερευνήθηκε κατά πόσο τα εν λόγω επίπεδα συσχετίζονται με υποκλινική αθηροσκλήρυνση σε πληθυσμό 394 ατόμων με μεγάλο εύρος καρδιαγγειακού κινδύνου. Έπειτα από προσαρμογή για την ηλικία, τους κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και τη νεφρική λειτουργία, διαπιστώθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα του Αβ40 συσχετίστηκαν με ανεξάρτητο τρόπο με αυξημένο πάχος του έσω-μέσου (IMT) χιτώνα των καρωτίδων και με μειωμένο σφυροβραχιόνιο δείκτη²²². Επιπρόσθετα, με βάση τα ευρήματα της Dallas Heart Study, τα επίπεδα πλάσματος του Αβ40 συσχετίστηκαν με αυξημένο φορτίο ασβεστίου στις στεφανιαίες αρτηρίες (CAC score) σε 3,266 συμμετέχοντες χωρίς κλινικά έκδηλη ΚΑΝ²⁰⁵.

4.10 Αβ40 και σταθερή στεφανιαία νόσος

Τα κυκλοφορούντα επίπεδα του Αβ40 πεπτιδίου έχουν συσχετιστεί ανεξάρτητα με την παρουσία αγγειογραφικά επιβεβαιωμένης σταθερής στεφανιαίας νόσου (CAD) σε δύο διακριτές μελέτες κοόρτης, αποτελούμενες από 514 και 396 ασθενείς αντίστοιχα²⁰⁶. Αυτή η συσχέτιση έχει επιβεβαιωθεί από μεταγενέστερες μελέτες που περιλάμβαναν ενήλικες με φυσιολογική νοητική λειτουργία ή ασθενείς με νόσο Alzheimer²¹⁹. Συνοψίζοντας, υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις ότι ο ενισχυμένος μεταβολισμός του Αβ είναι παρών σε ασθενείς με CAD, με τα επίπεδα πλάσματος του Αβ40 να είναι αυξημένα και να σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου.

Επισταμένη έρευνα έχει επίσης διεξαχθεί για τον συσχετισμό μεταξύ του Αβ πεπτιδίου και της ΚΑΝ. Η υπόθεση συσχέτισης άνοιας-ΚΑΝ έχει αναδειχθεί από μελέτες σε διαγονιδιακούς επίμυες, όπως το μοντέλο Tg2576, που παρουσιάζει πενταπλάσια αύξηση των επιπέδων της ενδογενούς APP²²³. Αυτό οδηγεί σε νοητικό έλλειμμα και ενδοθηλιακή

δυσλειτουργία εξαρτώμενη από το Αβ40 και τις ROS^{223,224}, με εξασθένηση της εγκεφαλικής αιματικής ροής κατά 30%²²⁵. Οι B6Tg2576 επίμυες εμφανίζουν εκτεταμένες αορτικές βλάβες όταν τρέφονται με αθηρογόνο ή φυσιολογική διατροφή, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου²²⁶. Οι APP23 επίμυες, που υπερεκφράζουν τα APP και Αβ40, παρουσιάζουν αυξημένη ενεργοποίηση της ιντεγκρίνης των αιμοπεταλίων και αυξημένο ρυθμό δημιουργίας θρόμβων²²⁶.

Όταν οι APP23 επίμυες διασταυρώθηκαν με ApoE^{-/-} επίμυες, που είναι επιρρεπείς σε αθηροσκλήρωση, ανέπτυξαν μεγαλύτερες και πιο φλεγμονώδεις αθηρωματικές βλάβες στην αορτή, σε σύγκριση με τους ApoE^{-/-} επίμυες²²⁶. Αντίθετα, η διασταύρωση ApoE^{-/-} επίμυων με επίμυες με έλλειψη της APP (APP^{-/-}) οδήγησε σε σημαντικά μειωμένες αθηρωματικές πλάκες (κατά 90% στη θωρακική και 75% στην κοιλιακή αορτή), παρά τα συγκρίσιμα επίπεδα χοληστερόλης²²⁷. Οι πλάκες των επίμυων με έλλειψη της APP και της ApoE χαρακτηρίζονται από μειωμένη περιεκτικότητα σε μακροφάγα, αυξημένη περιεκτικότητα σε κολλαγόνο και παχύτερη ινώδη κάψα, υποδεικνύοντας μια πιο σταθερή μορφολογία.

Το κυκλοφορούν Αβ40 έχει επίσης συσχετιστεί με αυξημένο αθηρωματικό φορτίο στις περιφερικές αρτηρίες και την παρουσία στεφανιαίας νόσου σε δύο ανεξάρτητες μελέτες κοόρτης (n=877) μετά από προσαρμογή για τους κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, το σκορ κινδύνου Framingham, την υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (hsCRP) και το ρυθμό σπειραματικής διήθησης (GFR)²⁰⁶. Το Αβ40 στο πλάσμα έχει επίσης συσχετιστεί με το φορτίο ασβεστίου στις στεφανιαίες αρτηρίες, χωρίς όμως προσαρμογή για την ηλικία και τον εκτιμώμενο ρυθμό σπειραματικής διήθησης (eGFR), σε 3.266 συμμετέχοντες στη μελέτη φάσης 2 Dallas Heart Study²⁰⁵.

4.11 Αβ40 και οξύ στεφανιαίο σύνδρομο

Αρκετοί μηχανισμοί θα μπορούσαν να εξηγήσουν τη σχέση μεταξύ του Αβ40 στο πλάσμα και του οξέος στεφανιαίου συνδρόμου (ACS). Πειραματικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα Αβ πεπτίδια μπορεί να συμμετέχουν ενεργά σε καταβολικά μονοπάτια, που οδηγούν σε ρήξη αθηρωματικής πλάκας, θρόμβωση και τις επακόλουθες κλινικές εκδηλώσεις ενός ACS (Εικόνα 17). Το Αβ40 διεγείρει την ενεργοποίηση και προσκόλληση των αιμοπεταλίων στον άνθρωπο και στους επίμυες, ενώ επάγει την απελευθέρωση των μεταλλοπρωτεϊνών στρώματος από τα μονοκύτταρα, με αποτέλεσμα την αυξημένη

ευαλωτότητα της αθηρωματικής πλάκας²²⁸. Ειδικότερα, σε πειραματικό μοντέλο επίμυων με έμφραγμα του μυοκαρδίου, διαπιστώθηκε ότι η πρόωμη αύξηση των επιπέδων πλάσματος της sAPP770 προηγείται της απελευθέρωσης μυοκαρδιακών ενζύμων ισχαιμίας¹²¹. Η sAPP πλάσματος ήταν επίσης αυξημένη σε ασθενείς με ACS. Τα εν λόγω ευρήματα υποδηλώνουν πως η ενεργοποίηση της επεξεργασίας του APP/Aβ και η επακόλουθη απελευθέρωση των sAPP770 και Αβ40 μπορεί να πυροδοτήσουν τη ρήξη αθηρωματικής πλάκας ή την αλληλουχία γεγονότων που οδηγούν στην εκδήλωση ACS. Επιπλέον, η υπόθεση αυτή ενισχύεται από δύο διακριτές μελέτες κοόρτης ασθενών με NSTEMI-ACS, όπου τα αυξημένα επίπεδα πλάσματος του Αβ40 συσχετίστηκαν με δυσμενέστερο προφίλ κινδύνου, συμπεριλαμβανομένου του υψηλότερου GRACE score, της υψηλής ευαισθησίας καρδιακής τροπονίνης T, της μειωμένης συστολικής αρτηριακής πίεσης και του GFR¹¹¹. Συμπερασματικά, τα στοιχεία υποδεικνύουν ότι υπάρχει μια εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση του Αβ πεπτιδίου σχέση με τη σοβαρότητα εκδήλωσης ACS.

4.12 Αβ40 και αγγειακή φλεγμονή

Ο ρόλος των Αβ πεπτιδίων στη διαμόρφωση της φλεγμονώδους απόκρισης έχει αναδειχθεί στη διεθνή βιβλιογραφία, τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές συνθήκες. Επιπρόσθετα, παθολογικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων που συμμετέχουν στον καταρράκτη της πήξης και του Αβ μεταβάλλουν τις διαδικασίες της θρόμβωσης και ινωδόλυσης. Με αυτό τον τρόπο αναπτύσσονται συσχετισμοί ανάμεσα στην αθηροσκλήρωση, τη θρόμβωση, την CAA, την εγκεφαλική υποάρδευση και τη νόσο Alzheimer¹¹¹. Η παρουσία των Αβ πεπτιδίων στις αθηρωματικές πλάκες μπορεί να αυξήσει τις χρόνιες φλεγμονώδεις αποκρίσεις, που υποστηρίζουν την παρατεταμένη αποδόμηση και καταστροφή των αρτηριακών τοιχωμάτων. Η προσθήκη ανθρώπινων αιμοπεταλίων σε καλλιέργειες μακροφάγων ανθρώπων και τρωκτικών οδηγεί σε φαγοκυττάρωση, με επακόλουθη επαγωγή της iNOS και δημιουργία αφρωδών κυττάρων¹²¹. Επιπρόσθετα, η ενεργοποίηση μακροφάγων σε αθηροσκληρυντικές βλάβες διεγείρεται από Αβ πεπτίδια που επάγουν την παραγωγή iNOS και COX-2. Η τοπική αγγειακή φλεγμονώδης απόκριση στην ευάλωτη περιοχή της αθηρωματικής πλάκας δύναται να οδηγήσει στην αστάθεια και ρήξη της πλάκας¹²¹. Επιπλέον, η έκφραση του Αβ40 έχει συσχετιστεί με αυξημένη επιβίωση του ξενιστή σε κυτταροκαλλιέργειες σε μοντέλα λοίμωξης νηματωδών παρασίτων και επίμυων. Σημαντική αύξηση της επιβίωσης 28 ώρες μετά τη λοίμωξη από *C. albicans* έχει αναφερθεί σε υπερέκφραση των Αβ40 και Αβ1-42 στο νευρογλοίωμα ανθρώπινου εγκεφάλου και στα ωκύτταρα κινεζικού

χάμστερ σε σχέση με τα αντίστοιχα κύτταρα της ομάδας ελέγχου. Τα μολυσμένα από *C. albicans* νηματώδη παράσιτα που εξέφραζαν το Αβ1-42 παρουσίασαν σημαντική μείωση της θνησιμότητας σε σχέση με σκώληκες που δεν εξέφραζαν το Αβ. Ακόμη, η υπερέκφραση των Αβ40 και Αβ1-42 σε γενετικά τροποποιημένα μοντέλα επίμυων (στελέχη 5XFAD) παρείχε προστασία έναντι της μηνιγγίτιδας από *S. typhimurium*¹⁰⁹. Αυτό υποδηλώνει έναν πιθανό προστατευτικό ρόλο για το Αβ *in vivo* παρόμοιο με αυτόν άλλων αντιμικροβιακών πεπτιδίων (antimicrobial peptides, AMPs), με τα οποία το Αβ μοιράζεται πολλά φυσιολογικά χαρακτηριστικά¹⁰⁹.

Τα ανωτέρω δεδομένα υποδηλώνουν ότι η πλημμελής προσαρμοστικότητα αυτού του φυσιολογικού ενδογενούς αμυντικού μηχανισμού του APP/Αβ, και όχι τα ίδια τα μόρια, ευθύνεται για την κυτταρική και ιστική τοξικότητα. Οι εναποθέσεις λιπιδίων και η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου και του ανοσοποιητικού συστήματος σε θέσεις πρώιμων αθηρωματικών βλαβών αποτελούν το κατάλληλο μικροπεριβάλλον (τοπικά φλεγμονώδη ερεθίσματα και μεταβολίτες), το οποίο πυροδοτεί την εσφαλμένη αναδίπλωση και συσσώρευση των Αβ πεπτιδίων²²⁹. Με αυτόν τον τρόπο επάγεται και διατηρείται η αγγειακή φλεγμονή, η ιστική αποδόμηση και η αθηροθρόμβωση.

Εν κατακλείδι, τα προαναφερθέντα ευρήματα υποδηλώνουν τον άμεσο και έμμεσο ρόλο του Αβ40 στην προοδευτική εξέλιξη της αρτηριακής γήρανσης και της αθηροσκλήρυνσης σε διάφορα στάδια, τα οποία και λαμβάνουν χώρα πριν την κλινική εκδήλωση καρδιαγγειακής νόσου. Ωστόσο, παραμένει άγνωστο κατά πόσο τα επίπεδα του β-αμυλοειδούς σχετίζονται με την πρόοδο της αθηρωμάτωσης των καρωτίδων καθώς και με χαρακτηριστική ηχογένεια του καρωτιδικού τοιχώματος.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. Ερευνητικό πρωτόκολλο

5.1 Υπόθεση

Παρά την πρόοδο στην εκτίμηση του κινδύνου της αθηρωματικής καρδιαγγειακής νόσου (KAN) και την εμφάνιση νέων στρατηγικών θεραπειάς, η ΚΑΝ παραμένει η κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας στον δυτικό κόσμο.²³⁰ Αυτό υπογραμμίζει την ύπαρξη υπολειπόμενου κινδύνου, ο οποίος εν μέρει διαμεσολαβείται από αδιευκρίνιστες, αλλά προ-αθηροσκληρωτικές οδούς που δεν στοχεύονται από τις τρέχουσες συνήθειες θεραπείες.²³¹ Ένας αυξανόμενος όγκος στοιχείων δείχνει ότι το πεπτιδίο αμυλοειδές-β 40 εμπλέκεται σε ένα ευρύ φάσμα προ-αθηροσκληρωτικών μονοπατιών, υποστηρίζοντας την κλινική του σημασία ως πιθανού προγνωστικού και θεραπευτικού βιοδείκτη στην ΚΑΝ.¹¹¹ Η Αβ40 προέρχεται από την πρωτεολυτική διάσπαση της πρόδρομης πρωτεΐνης αμυλοειδούς (APP) από τη β-σεκρετάση3 και ασκεί προ-φλεγμονώδεις και προ-αθηροσκληρωτικές ιδιότητες.^{111,121} Προηγουμένως δείξαμε ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα Αβ40 σχετίζονται με την αρτηριακή σκληρία σε νέους ενήλικες²⁰⁶ και την αθηροσκλήρωση τόσο στο γενικό πληθυσμό όσο και σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο (ΣΝ)^{205,206}. Ειδικότερα, τα επίπεδα Αβ40 παρέχουν αυξημένη προγνωστική και επαναταξινομητική αξία πέρα από τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου και τις κλίμακες κινδύνου, για τη θνησιμότητα και τα μείζονα δυσμενή καρδιαγγειακά συμβάντα σε ασθενείς με σταθερή CHD και με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο χωρίς ανύψωση του τμήματος ST (NSTE-ACS)²³². Αυτά τα κλινικά δεδομένα υποστηρίζουν τα πειραματικά στοιχεία που δείχνουν ότι το Αβ40 εμπλέκεται στη συνέχεια της ΚΑΝ και της αγγειακής γήρανσης και υποδηλώνουν την κλινική χρησιμότητα αυτού του πεπτιδίου στην ΚΑΝ. Δεδομένου ότι η ευάλωτη πλάκα ορίζεται ως ο αθηρωματικός φαινότυπος που είναι επιρρεπής στη ρήξη, το τελικό βήμα που μεσολαβεί στην πλειονότητα των περιστατικών ΚΑΝ²³³, η διερεύνηση των συσχετίσεων των επιπέδων Αβ40 στο αίμα με χαρακτηριστικά της πλάκας που περιλαμβάνουν ή αντανακλούν συστατικά αυτού του ευάλωτου φαινοτύπου είναι κλινικά σημαντική και μπορεί να παράσχει νέες μηχανιστικές γνώσεις για τη σχέση μεταξύ Αβ40 και αυξημένων συμβαμάτων ΚΑΝ.^{111,206,212} Ωστόσο, παρά τις κλινικές ενδείξεις που συνδέουν σταθερά τα επίπεδα του Αβ40 στο πλάσμα με δυσμενή συμβάντα καρδιαγγειακής νόσου^{206,208,212}, η συσχέτισή του με δείκτες ευπάθειας της πλάκας δεν έχει διερευνηθεί. Η ηχοφάνεια (echolucency) της καρωτιδικής πλάκας αντανακλά μια πιο πλούσια σε λιπίδια αθηρωματική πλάκα και ενδοπλαστική αιμορραγία^{234,235} και θεωρείται δείκτης ευπάθειας της πλάκας, ενώ η αυξημένη ηχογένεια

(echogenicity) μπορεί να υποδηλώνει προχωρημένη αβεστοποίηση που συνδέεται με λιγότερο συμπτωματικές πλάκες.²³⁶⁻²³⁹ Η ηχογένεια της πλάκας που προσδιορίζεται με την ποσοτική διάμεση κλίμακα του γκρι (GSM) σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο μελλοντικών εγκεφαλικών επεισοδίων²⁴⁰ και καρδιαγγειακής νόσου²⁴¹ και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να καθοδηγήσει την παρέμβαση σε ασυμπτωματική στένωση της καρωτίδας^{104,242}. Ομοίως, το GSM του IMT GSM κερδίζει ολοένα και περισσότερο ενδιαφέρον λόγω της προγνωστικής του αξίας για μελλοντικά ανεπιθύμητα συμβάντα και της ευρύτερης εφαρμογής του ανεξαρτήτως της παρουσίας πλάκας.^{243,244}

Επομένως, τα νεότερα κλινικά δεδομένα αναφορικά με την συσχέτιση του Αβ40 και των υπερηχογραφικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με την ηχογένεια του καρωτιδικού τοιχώματος αποκτούν ιδιαίτερη σημασία για τους κάτωθι λόγους:

Δυναμικός βιοδείκτης για καρδιαγγειακές παθήσεις: Το Αβ40 είναι ένα πεπτίδιο που συνδέεται συνήθως με τη νόσο του Alzheimer, αλλά βρίσκεται επίσης σε αθηρωματικές πλάκες. Η παρουσία του στις καρωτιδικές πλάκες θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης για τον εντοπισμό ατόμων με υψηλότερο κίνδυνο για καρδιαγγειακά επεισόδια.

Κατανόηση της παθοφυσιολογίας: Η μελέτη της συσχέτισης μεταξύ του Αβ40 και της ηχοφάνειας των καρωτιδικών πλακών μπορεί να παράσχει πληροφορίες για τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που συνδέουν την εναπόθεση αμυλοειδούς και την αγγειακή νόσο, ενισχύοντας την κατανόηση της εξέλιξης της νόσου.

Διαστρωματοποίηση κινδύνου: Οι ηχοδιαφανείς πλάκες θεωρούνται συχνά πιο ασταθείς και επιρρεπείς σε ρήξη, οδηγώντας σε εγκεφαλικό επεισόδιο και άλλα καρδιαγγειακά συμβάντα. Εάν τα επίπεδα του Αβ40 σχετίζονται με την ηχοδιαύγεια, η μέτρηση του Αβ40 θα μπορούσε να βοηθήσει στην καλύτερη διαστρωμάτωση του κινδύνου των ασθενών και στην προσαρμογή ακριβέστερων παρεμβάσεων.

Θεραπευτικές επιπτώσεις: Ο εντοπισμός μιας σχέσης μεταξύ του Αβ40 και των χαρακτηριστικών της πλάκας μπορεί να ανοίξει νέους θεραπευτικούς δρόμους. Οι θεραπείες που στοχεύουν στο Αβ40 θα μπορούσαν ενδεχομένως να διερευνηθούν ως προς

την αποτελεσματικότητά τους στη μείωση της ευπάθειας της πλάκας και την πρόληψη των εγκεφαλικών επεισοδίων.

5.2 Σκοπός του ερευνητικού πρωτοκόλλου

Σκοπός αυτής της διατριβής είναι:

- να εξετάσει τη συσχέτιση του Αβ40 με την παρουσία και την έκταση της αθηρωμάτωσης στις καρωτίδες αρτηρίες, καθώς και του συνολικού αθηρωματικού φορτίου.
- να διερευνήσει τη συσχέτιση των επιπέδων πλάσματος του Αβ40 με την πρόοδο του αθηρωματικού φορτίου των καρωτίδων.
- να εξετάσει τη συσχέτιση των επιπέδων πλάσματος του Αβ40 με την ηχογένεια του τοιχώματος της καρωτίδας σε ασθενείς χωρίς κλινικά έκδηλη καρδιαγγειακή νόσο.
- να εξετάσει τη συσχέτιση των επιπέδων πλάσματος του Αβ40 με τις μεταβολές της ηχογένειας του τοιχώματος της καρωτίδας σε ασθενείς χωρίς κλινικά έκδηλη καρδιαγγειακή νόσο.

5.3 Σχεδιασμός και μέθοδοι

Η παρούσα μελέτη αποτελείται από δύο υπομελέτες. Συγκεκριμένα στη πρώτη υπομελέτη αξιολογήθηκε η συσχέτιση των επιπέδων του Αβ40 με την παρουσία, την έκταση και την πρόοδο της αθηρωμάτωσης των καρωτίδων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Στη δεύτερη υπομελέτη αξιολογήθηκε η συσχέτιση των επιπέδων του Αβ40 με την ηχογένεια του καρωτιδικού τοιχώματος (ΙΜΤ και πλάκα) σε ασθενείς με και χωρίς κλινικά έκδηλη καρδιαγγειακή νόσο από την Καρδιομεταβολική Κοορτή της Αθήνας.

5.4 Πληθυσμός

5.4.1 Υπομελέτη μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών

Σε αυτή την αναδρομικά σχεδιασμένη μελέτη, μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς κλινικά εμφανή καρδιαγγειακά νοσήματα προσλήφθηκαν από το Ιατρείο Εμμηνόπαυσης του Αρεταίειου Νοσοκομείου του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Ο πληθυσμός αυτής της μελέτης αποτελεί μέρος ενός συνεχιζόμενου μητρώου στο οποίο αξιολογούμε το κλινικό ιστορικό, τα μεταβολικά, ορμονικά και αγγειακά χαρακτηριστικά με τη χρήση μη επεμβατικών αγγειακών μελετών κατά την έναρξη της μελέτης και σε επισκέψεις παρακολούθησης κάθε 1 έως 3 έτη στη συνέχεια, όπως έχει ήδη περιγραφεί²⁴⁵⁻²⁴⁷. Η κλινικά εμφανής καρδιαγγειακή νόσος ορίστηκε ως προηγούμενο οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, στεφανιαία επαναιμάτωση, άλλες διαδικασίες αρτηριακής επαναιμάτωσης, εγκεφαλικό επεισόδιο και παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο, ανεύρυσμα αορτής και περιφερική αρτηριακή νόσος 1. Όλα τα άτομα (n=152) που παρείχαν γραπτή συγκατάθεση για τις βασικές μετρήσεις και τις μετρήσεις παρακολούθησης όσον αφορά τις υπερηχογραφικές μετρήσεις και τη φλεβοκέντηση ήταν επιλέξιμα για συμμετοχή. Η διάμεση διάρκεια παρακολούθησης ήταν 28,2 μήνες, με ελάχιστο χρόνο παρακολούθησης 12 μήνες. Πριν από την πρόσληψη, οι ασθενείς αξιολογήθηκαν σύμφωνα με το τυπικό πρωτόκολλο στην κλινική εμμηνόπαυσης, συμπεριλαμβανομένης της μαστογραφίας, του επιχρίσματος PAP και της διακολπικής υπερηχογραφίας, της θυρεοειδούς, της ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, των εξετάσεων πήξης του αίματος και της οστικής πυκνότητας. Οι διαδικασίες της μελέτης ήταν πανομοιότυπες τόσο κατά την αρχική όσο και κατά την παρακολούθηση. Η παρούσα μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι. Η τοπική επιτροπή δεοντολογίας του Αρεταίειου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου ενέκρινε το πρωτόκολλο της μελέτης.

Κριτήρια εισόδου

Κριτήριο ένταξης ήταν το πάχος του ενδομητρίου ≤ 5 mm (υπερηχογραφικά εκτιμώμενο). Κριτήρια αποκλεισμού ήταν η χειρουργική εμμηνόπαυση και η τρέχουσα ή προηγούμενη έκθεση σε ορμονοθεραπεία, η γυναικολογική κακοήθεια, η πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια, η θρομβοεμβολή, η μη θεραπευμένη δυσλειτουργία του θυρεοειδούς και οι γυναίκες με προβλήματα συμμόρφωσης και κατακράτησης (π.χ. αλκοολισμός, χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών). Η κατάσταση εμμηνόπαυσης ορίστηκε ως FSH > 25mIU/mL και οιστραδιόλη < 50pg/mL μετά από 12 συνεχόμενους μήνες χωρίς εμμηνόπαυση, όπως περιγράφηκε προηγουμένως²⁴⁸.

5.4.2 Υπομελέτη Καρδιομεταβολικής κοορτής Αθηνών

Πρόκειται για ένα μητρώο που αποτελείται από δύο υπομελέτες: Μία συγχρονική μελέτη που περιλαμβάνει όλους τους διαδοχικά προσληφθέντες ασθενείς με και χωρίς ΚΑΝ (υπομελέτη I) και ένα διαχρονικό μέρος που περιλαμβάνει διαδοχικούς ασθενείς που παρακολουθούνται με ετήσιες επισκέψεις και αφορά μόνο τους ασθενείς χωρίς ΚΑΝ (υπομελέτη II). Αυτό το εν εξελίξει μητρώο αποσκοπεί στη διαστρωμάτωση του καρδιαγγειακού κινδύνου σε συμμετέχοντες που αξιολογούνται στο πλαίσιο πρωτογενούς ή δευτερογενούς πρόληψης ΚΑΝ. Η στρατολόγηση πραγματοποιείται στη Μονάδα Δυσλιπιδαιμιών και Αθηροσκλήρωσης του Τμήματος Κλινικής Θεραπευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, όπως έχει περιγραφεί προηγουμένως²⁴⁹. Ο σχεδιασμός της μελέτης μας περιελάμβανε συμμετέχοντες και από τις δύο υπομελέτες, ως εξής:

Υπομελέτη I. Πραγματοποιήσαμε μια αναδρομικά σχεδιασμένη post-hoc ανάλυση, για μια ομάδα διαδοχικά προσληφθέντων συμμετεχόντων μεταξύ 2015 και 2019 από την Καρδιομεταβολική Μελέτη της Αθήνας. Οι συμμετέχοντες συμπεριλήφθηκαν με βάση τα ακόλουθα κριτήρια επιλεξιμότητας: 1. ασθενείς με και χωρίς κλινικά εμφανή νόσο ΚΑΝ και, 2. διαθέσιμα δεδομένα υπερηχογράφησης καρωτίδων κατά την έναρξη²⁴⁹. Από τα κριτήρια αυτά προέκυψε ένας συνολικός πληθυσμός n=893 ασθενών. Από αυτή την ομάδα, η Αβ40 μετρήθηκε στο πλάσμα σε τρεις υποομάδες: 1. n=342 διαδοχικών ασθενών χωρίς ΚΑΝ, 2. n=53 ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο και 3. n=85 ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο που προσλήφθηκαν διαδοχικά μεταξύ 12/2015 έως 09/2019, με βάση τους υπολογισμούς του μεγέθους του δείγματος, όπως περιγράφεται στις στατιστικές μεθόδους (**Εικόνα 18**).

Συγκεκριμένα οι τρεις αυτές υπο-ομάδες αποτελούνταν από:

1. 342 άτομα χωρίς εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο (ΚΑ νόσο) από το γενικό πληθυσμό της πόλης των Αθηνών. Τα άτομα αυτά δεν ανέφεραν ιστορικό χρόνιου καρδιαγγειακού νοσήματος και δεν παρουσίαζαν συμπτώματα καρδιαγγειακής νόσου, ενώ προέρχονταν από το υπάρχον μητρώο καταγραφής ασθενών που επισκέπτονταν τη Μονάδα Αγγειολογίας και Παθοφυσιολογίας του Ενδοθελίου, της Θεραπευτικής Κλινικής του Γ.Ν.Α. "Αλεξάνδρα", στα πλαίσια αξιολόγησης καρδιαγγειακού κινδύνου.
2. 135 ασθενείς με εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο. Οι ασθενείς αυτοί υποκατηγοριοποιήθηκαν σε:
 - i. 83 ασθενείς με ιστορικό σταθερής στεφανιαίας νόσου, επιβεβαιωμένο αγγειογραφικά (ομάδα σταθερής ΣΝ). Οι ασθενείς αυτοί προέρχονταν από το μητρώο ασθενών που επισκέπτονταν την προαναφερθείσα Μονάδα, στα πλαίσια εκτίμησης και βέλτιστης διαχείρισης καρδιαγγειακού κινδύνου. Οι ασθενείς που ανέφεραν ιστορικό σταθερής στεφανιαίας νόσου πληρούσαν τα ακόλουθα κριτήρια: α) ασθενείς που υπεβλήθησαν σε εκλεκτική στεφανιογραφία εντός του προηγούμενου μήνα εξαιτίας συμπτωματολογίας σταθερής στηθάγχης ή θωρακικού άλγους που δεν αποδόθηκε σε οξύ στεφανιαίο ή αορτικό σύνδρομο, β) προηγούμενο ιστορικό οξέος στεφανιαίου συνδρόμου που εκδηλώθηκε περισσότερο από ένα έτος πριν από την αρχική επίσκεψη, γ) επιβεβαιωμένη παρουσία ΣΝ μέσω στεφανιογραφίας ή δυναμικών απεικονιστικών τεχνικών όπως η δυναμική υπερηχοκαρδιογραφία (stress echo) .
 - ii. 52 ασθενείς που εισήχθησαν στη μονάδα εντατικής θεραπείας του Γ.Ν.Α. "Αλεξάνδρα" με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ΟΣΣ), εντός 12 ωρών από την εμφάνιση των συμπτωμάτων (ομάδα ΟΣΣ). Στους ασθενείς αυτούς διενεργήθηκε στεφανιογραφικός έλεγχος. Το ΟΣΣ ορίστηκε ως αυξημένα επίπεδα καρδιακής τροπονίνης υψηλής ευαισθησίας (με τιμή πάνω από το 99^ο εκατοστημόριο του ανώτερου ορίου αναφοράς) σε συνδυασμό με τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα: α) συμπτωματολογία ισχαιμίας, β) ηλεκτροκαρδιογραφικές διαταραχές, όπως νέες μεταβολές του ST-T διαστήματος, νεοεμφανισθείς αποκλεισμός αριστερού σκέλους (LBBB), εμφάνιση παθολογικών κυμάτων Q, γ)

απεικόνιση πρόσφατης απώλειας βιώσιμου μυοκαρδίου ή νέας περιοχικής διαταραχής της κινητικότητας του καρδιακού τοιχώματος, δ) ανίχνευση ενδοστεφανιαίου θρόμβου στη στεφανιογραφία ή στη νεκροτομή. Ο στεφανιογραφικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε στους ασθενείς που προσήλθαν στο Γ.Ν.Α. "Αλεξάνδρα" με εικόνα ΟΣΣ, δηλαδή ασθενείς με ανάσπαση του διαστήματος ST (STEMI), χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST (NSTEMI) ή ασταθή στηθάγχη. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν δόση φόρτισης με αναστολέα του P2Y12 (τικαγρελόρη, πρασουγρέλη ή κλοπιδογρέλη) και ασπιρίνη, σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες διαχείρισης ασθενών με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου(415). Η στεφανιογραφία διενεργήθηκε στο αιμοδυναμικό εργαστήριο του Γ.Ν.Α. "Αλεξάνδρα". Η προσπέλαση που χρησιμοποιήθηκε για τη διενέργεια της στεφανιογραφίας ήταν διαμέσου της κερκιδικής ή της μηριαίας αρτηρίας, με χρήση της μεθόδου Seldinger και χρήση θηκαριού 5 ή 6 French, αντίστοιχα. Σε κάθε στεφανιογραφία καταγράφηκε η ένοχη βλάβη, η θέση της βλάβης, το ποσοστό της στένωσης που προκαλεί, ο συνολικός αριθμός των αθηρωματικών πλακών του στεφανιαίου δικτύου καθώς και ο αριθμός των νοσούντων στεφανιαίων αγγείων. Στους ασθενείς που υπεβλήθησαν σε αγγειοπλαστική χορηγήθηκε άπαξ δόση μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης ενδοφλεβίως, σε δόση 70 IU/kg σωματικού βάρους. Η απόφαση για την εμφύτευση και επιλογή της ενδοστεφανιαίας πρόθεσης ήταν στην κρίση του επεμβατικού καρδιολόγου. Μετά τη στεφανιογραφία-αγγειοπλαστική, όλοι οι ασθενείς μεταφέρθηκαν στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) του Γ.Ν.Α. "Αλεξάνδρα".

Υπομελέτη II. Όσον αφορά το διαχρονικό μέρος, από το σύνολο των n=342 ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στην υπομελέτη I, συμπεριλήφθηκαν οι συμμετέχοντες που συγκατατέθηκαν και μπορούσαν να παρακολουθήσουν διαδοχικές επισκέψεις για την επαναξιολόγηση της εξέλιξης της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης (n=159). Μεταξύ αυτών, n=11 χάθηκαν για παρακολούθηση και n=148 συμπεριλήφθηκαν για ανάλυση (**Εικόνα 18**).

Εικόνα 18. Διάγραμμα ροής των πληθυσμών της μελέτης. ΚΑΝ= αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσος.

Τα φάρμακα που κατεγράφησαν αφορούσαν τις ακόλουθες κατηγορίες: αντιαμοπεταλιακά, αντιπηκτικά, υπολιπιδαιμικά, αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης, ανταγωνιστές υποδοχέων αγγειοτασίνης II, αποκλειστές διαύλων ασβεστίου, αποκλειστές των β-αδρενεργικών υποδοχέων, αντιστηθαγγικά, διουρητικά και αντιαρρυθμικά (π.χ. αμιωδαρόνη).

Τα κριτήρια αποκλεισμού για τους συμμετέχοντες στη μελέτη περιελάμβαναν την παρουσία: χρόνιου φλεγμονώδους ή αυτοάνοσου νοσήματος, κακοήθειας, οξείας νεφρικής βλάβης, οξέος αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, ενεργούς λοίμωξης.

Πριν τη μελέτη, οι συμμετέχοντες ειδοποιήθηκαν προκειμένου να απέχουν από τη λήψη τροφής και φαρμακευτικής αγωγής για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 8 ωρών καθώς και από την κατανάλωση καπνού, αλκοόλ και καφεΐνης για το ίδιο διάστημα. Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε όλους τους ασθενείς σε ύπτια θέση σε ήσυχο εξεταστικό δωμάτιο ελεγχόμενης θερμοκρασίας (20° C έως 25° C). Όλες οι αγγειακές μετρήσεις ολοκληρώθηκαν σε μια επίσκεψη στο χρονικό διάστημα μεταξύ 09.30 - 11:30 π.μ. με βάση τα προηγούμενα δεδομένα, που υποδεικνύουν τη μικρότερη παρατηρούμενη διακύμανση των υπό εξέταση βιολογικών παραμέτρων στο εύρος του συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος. Οι περιφερικές πιέσεις μετρήθηκαν σε κάθε συμμετέχοντα δύο φορές με μεσοδιάστημα ενός λεπτού χρησιμοποιώντας την αυτοματοποιημένη συσκευή Omron 705IT (Omron) και αφού είχε προηγηθεί ανάπαυση στην καθιστή θέση για 5 λεπτά. Στην ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος των μετρήσεων αυτών. Τα ανθρωπομετρικά δεδομένα που καταγράφηκαν περιλαμβάνουν: το ύψος, το βάρος, την περίμετρο κοιλιάς και γοφών και το δείκτη μάζας σώματος. Επιπλέον, καταγράφηκε η επαγγελματική απασχόληση, το ιατρικό ατομικό και οικογενειακό ιστορικό, οι καπνιστικές συνήθειες και η κατανάλωση αλκοόλ. Επιπρόσθετα, αξίζει να επισημανθεί ότι οι αγγειολογικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν από τον ίδιο χειριστή, που αγνοούσε το ιατρικό ιστορικό.

Όλοι οι συμμετέχοντες έδωσαν γραπτή συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στο μητρώο. Η παρούσα μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι και η Τοπική Επιτροπή Δεοντολογίας του Γενικού Νοσοκομείου Αλεξάνδρα ενέκρινε το πρωτόκολλο της μελέτης (35/15.01.2019).

5.4.3 Κοορτή σοβαρής καρωτιδικής στένωσης με ενδαρτηρεκτομή

Μεταξύ Ιανουαρίου 2012 και Δεκεμβρίου 2013, οι καρωτιδικές πλάκες συλλέχθηκαν προοπτικά από n=56 διαδοχικούς ασθενείς με στένωση της έσω καρωτίδας $\geq 70\%$, οι

οποίοι υποβλήθηκαν σε καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή, όπως περιγράφηκε προηγουμένως²⁵¹. Καταγράφηκαν τα δημογραφικά και κλινικά δεδομένα μαζί με τη φαρμακευτική αγωγή και τις συννοσηρότητες. Η νευρολογική αξιολόγηση όλων των ασθενών πραγματοποιήθηκε προεγχειρητικά για την ταξινόμησή τους ως συμπτωματικών με βάση τα εξής: παρουσία εγκεφαλικού επεισοδίου, εμφράγματος του εγκεφάλου, παροδικών ισχαιμικών επεισοδίων και amaurosis fugax ή ασυμπτωματικών. Σε όλους τους ασθενείς διενεργήθηκε αγγειογραφία του καρωτιδικού διχασμού για την παρούσα μελέτη. Η σοβαρότητα της στένωσης του αυλού καθορίστηκε σύμφωνα με τα κριτήρια της North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial²⁵². Η μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τον Κώδικα Δεοντολογίας της Παγκόσμιας Ιατρικής Ένωσης (Διακήρυξη του Ελσίνκι). Όλα τα άτομα παρείχαν γραπτή συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στη μελέτη και το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Ιδρυματική Επιτροπή Δεοντολογίας (Επιστημονική και Δεοντολογική Επιτροπή του Ιπποκρατείου Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου, PN1539).

Τα δείγματα καρωτιδικής πλάκας αφαιρέθηκαν κατά τη διάρκεια της ενδοαρτηρεκτομής και το ένα μέρος τους σταθεροποιήθηκε αμέσως σε 10% ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα με 4% φορμαλδεΰδη για 24 ώρες και ενσωματώθηκε σε παραφίνη. Για την ιστολογική αξιολόγηση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης. Η μορφολογία των αθηρωματικών πλακών κάθε δείγματος πραγματοποιήθηκε από δύο παθολογοανατόμους, τυφλοί ως προς τα κλινικά δεδομένα, χρησιμοποιώντας την ταξινόμηση των αθηρωματικών πλακών της American Heart Association. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την παρουσία ιστολογικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με την ευπάθεια της πλάκας (π.χ. ενδοπλακική αιμορραγία, έλκος ή θρόμβος) ή με τη σταθερότητα της πλάκας, π.χ. ασβεστοποίηση²⁵³. Οι πλάκες χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου πλάκες ορίστηκαν ως ασβεστοποιημένες πλάκες χωρίς κανένα χαρακτηριστικό που να σχετίζεται με την ευπάθεια της πλάκας. Τα επίπεδα Αβ40 στο πλάσμα συσχετίστηκαν με τα χαρακτηριστικά των πλακών.

5.5 Υπερηχοκαρδιογράφημα καρωτίδων

Η καρωτιδική αθηροσκλήρωση αξιολογήθηκε σε τρία ζευγαρωμένα τμήματα τόσο της αριστερής όσο και της δεξιάς κοινής καρωτίδας, του καρωτιδικού διχασμού και της έσω καρωτίδας, τα οποία σαρώθηκαν από τρεις γωνίες του μορφοτροπέα με τη χρήση υπερηχογραφικής απεικόνισης B-mode (καθετήρας γραμμικής συστοιχίας πολλαπλών συχνοτήτων 14,0 MHz, Vivid 7 Pro, GE Healthcare, Chicago, Illinois, US). Το σύμπλεγμα

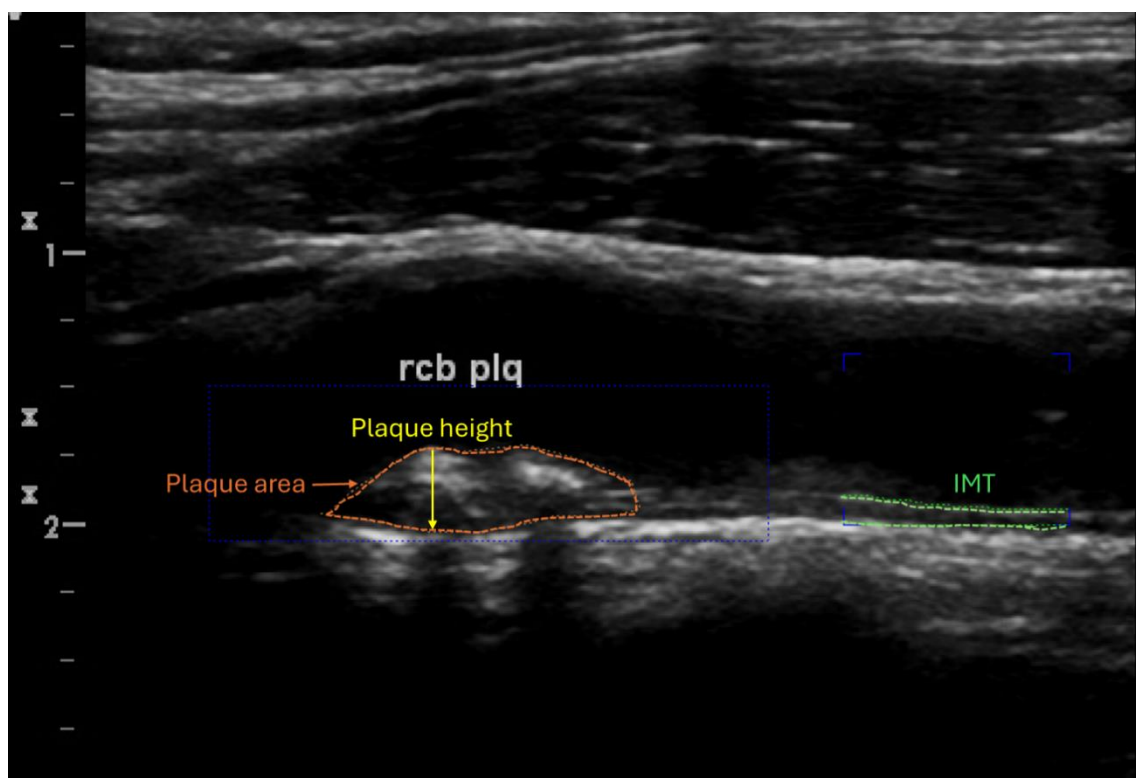
έσω-μέσου χιτώνα (IMT) ορίστηκε ως η μέγιστη απόσταση μεταξύ των εμπρόσθιων άκρων των υπερηχογραφικών διεπιφανειών αυλού-έσω-μέσου και μέσου-έξω χιτώνα σε κάθε σημείο της καρωτίδας, εξαιρουμένων των αθηρωματικών πλακών, σύμφωνα με προηγούμενες κατευθυντήριες οδηγίες⁹¹. Η IMT μετρήθηκε στο απώτερο τοίχωμα και των τριών τμημάτων στη δεξιά και αριστερή κοινή καρωτίδα (CC), στο καρωτιδικό βολβό (CB) και στην έσω καρωτίδα (IC) από 3 γωνίες του μορφοτροπέα με τη χρήση υπερηχογραφικής απεικόνισης B-mode. Για την CC, η IMT μετρήθηκε στο μακρινό τοίχωμα της CCA τουλάχιστον 5 mm κάτω από το άκρο της, κατά μήκος 10 mm μήκους ενός ευθύγραμμου αρτηριακού τμήματος σε μια περιοχή ελεύθερη από πλάκες. Για το CB και το IC IMT, το IMT μετρήθηκε στο διχασμό της καρωτίδας ή στο βολβό της ICA σε μια περιοχή χωρίς πλάκα, σε μήκος μικρότερο από 10 mm. Στην παρούσα μελέτη, το IMT χρησιμοποιήθηκε μόνο ως μέρος του αθροίσματος του πάχους του τοιχώματος, που χρησιμοποιείται ως δείκτης του αθηρωματικού φορτίου, όπως ορίζεται κατωτέρω. Οι καρωτιδικές πλάκες ορίστηκαν ως μια σαφώς προσδιορισμένη περιοχή εστιακά αυξημένης IMT μεγαλύτερης από 1,5 mm ή μια εστιακή δομή που εισχωρεί στον καρωτιδικό αυλό κατά 50% της περιβάλλουσας τιμής IMT⁹¹. Οι υπερηχογραφικές εικόνες ψηφιοποιήθηκαν και στη συνέχεια εισήχθησαν σε ένα ημιαυτόματο σύστημα λογισμικού που σχεδιάστηκε ειδικά για την ανάλυση της ηχογένειας των πλακών και της IMT²⁵⁴⁻²⁵⁶. Συγκεκριμένα, μετά την κανονικοποίηση των επιπέδων του γκρι προσδιορίστηκε το GSM από το λογισμικό: 1. Για το IMT GSM, χρησιμοποιήθηκε το ημιαυτόματο σύστημα ανίχνευσης ακμών (AMS v3.3) και στα τρία τμήματα για τη μέτρηση του IMT και την ανάλυση του IMT GSM και 2. Χρησιμοποιώντας το ημιαυτόματο λογισμικό, οριοθετήσαμε χειροκίνητα την πλάκα και το λογισμικό προσδιόρισε τη διάμεσο της κλίμακας του γκρι και την περιοχή της πλάκας (**Εικόνα 19**).

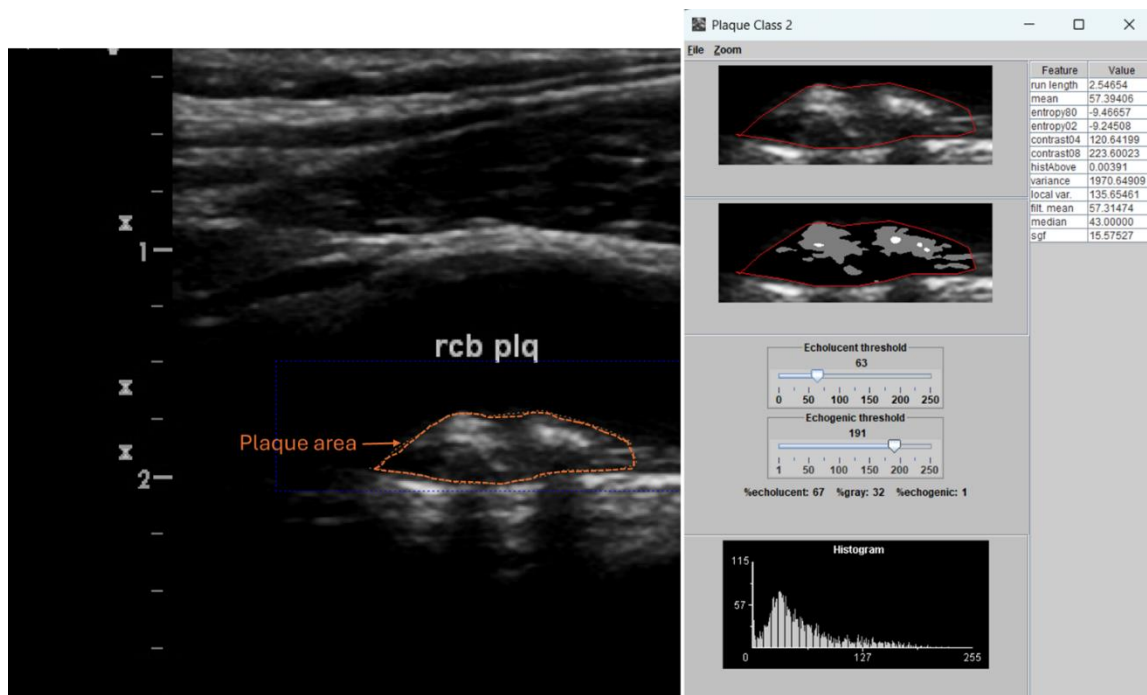
Οι δείκτες ενδιαφέροντος για την κοορτή μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών περιλάμβαναν: Το καρωτιδικό αθηρωματικό φορτίο αξιολογήθηκε με τη χρήση των ακόλουθων δεικτών: 1. AvgIMT, 2. Μέγιστο πάχος τοιχώματος και από τις έξι καρωτιδικές θέσεις που είχαν είτε αθηρωματική πλάκα είτε IMT (maxWT) και 3. Άθροισμα πάχους τοιχώματος (sumWT) που ορίζεται το αλγεβρικό άθροισμα του μέγιστου πάχους τοιχώματος και από τις 6 καρωτίδες.

Οι δείκτες ενδιαφέροντος για την υπομελέτη της Καρδιομεταβολικής κοορτής Αθηνών περιελάμβαναν: 1. Η ελάχιστη διάμεσος κλίμακας του γκρι (GSM) όλων των καρωτιδικών πλακών, 2. Η ελάχιστη GSM όλων των θέσεων IMT, 3. Η μέγιστη επιφάνεια

της πλάκας και 4. Η συνολική επιφάνεια όλων των καρωτιδικών πλακών. Το άθροισμα του πάχους του τοιχώματος ορίστηκε ως το αλγεβρικό άθροισμα του μέγιστου πάχους του τοιχώματος και από τις 6 καρωτιδικές θέσεις, που ήταν είτε αθηρωματική πλάκα είτε IMT^{79,257,258}. Η προγνωστική αξία της εκτίμησης της παρουσίας και της έκτασης της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης σε μη στενωτικές πλάκες έχει επικυρωθεί στο παρελθόν^{79,257,258} και αναγνωρίζεται ως τροποποιητής του κινδύνου ΚΑΝ από τις κατευθυντήριες οδηγίες της ESC^{52,60}. Το GSM των καρωτιδικών πλακών και η IMT εφαρμόστηκαν ως δείκτης ευπάθειας της πλάκας, όπως έχει περιγραφεί προηγουμένως^{259,260}. Μετά από διάμεση παρακολούθηση 35.5 μηνών, οι μετρήσεις υπερηχογραφίας καρωτίδων επαναλήφθηκαν σε ένα υποσύνολο του πληθυσμού χωρίς ΚΑΝ (N=148) με το ίδιο πρωτόκολλο όπως και στην αρχική φάση.

Εικόνα 19. Αξιολόγηση της ηχογένειας του καρωτιδικού τοιχώματος με τη χρήση ειδικού λογισμικού συστήματος μέτρησης αρτηριών. Α. Μέτρηση του IMT GSM και της επιφάνειας και του μέγιστου ύψους της πλάκας με χρήση ημιαυτόματης μεθόδου. Β. Μέτρηση της καρωτιδικής πλάκας GSM μετά από χειροκίνητη οριοθέτηση της πλάκας και το λογισμικό προσδιόρισε τη διάμεσο της κλίμακας του γκρι και την περιοχή της πλάκας.





5.6 Βιοχημικές μετρήσεις

Δείγματα φλεβικού αίματος ελήφθησαν και στις δυο υπομελέτες, μετά από ολονύκτια νηστεία και αποχή από οποιαδήποτε φαρμακευτική αγωγή για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 8 ωρών. Από την άλλη πλευρά, τα δείγματα αίματος από την ομάδα ασθενών με ΟΣΣ ελήφθησαν εντός 12 ωρών από την έναρξη των συμπτωμάτων. Σε κάθε άτομο λήφθηκαν συνολικά 20 ml αίματος, το οποίο συλλέχθηκε σε φιαλίδια πήγματος για βιοχημικό έλεγχο και σε φιαλίδια με αντιπηκτικό παράγοντα (EDTA) για απομόνωση κυττάρων και αιματολογικό έλεγχο. Τα φιαλίδια πήγματος παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά και στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε φυγοκέντρηση στο Βιοχημικό Τμήμα του Γ.Ν.Α. "Αλεξάνδρα". Από τον ορό του αίματος προσδιορίστηκαν βασικές παραμέτρους ρουτίνας, όπως ουρία, κρεατινίνη, ουρικό οξύ, τρανσαμινάσες, κρεατινική φωσφοκινάση, γλυκόζη, καθώς και το λιπιδαιμικό προφίλ [ολική χοληστερόλη (TC_{chol}), λιποπρωτεΐνη χαμηλής (LDL) και υψηλής (HDL) πυκνότητας, τριγλυκερίδια]. Η συγκέντρωση της hsCRP μετρήθηκε με ανοσοθολωσιμετρία (Cobas Integra, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), μια

μέθοδος με αναλυτική ευαισθησία 0.085 mg/L. Το ανώτερο φυσιολογικό όριο σε υγείες είναι 5 mg/L.

5.7 Μέτρηση επιπέδων πλάσματος Αβ40

Κοορτή μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και Καρδιομεταβολικής Κοορτής Αθηνών

Τα δείγματα αίματος νηστείας ελήφθησαν με φλεβοκέντηση. Τα δείγματα πλάσματος και ορού αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την επεξεργασία. Οι συγκεντρώσεις του Αβ40 σε δείγματα αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος (EDTA) πλάσματος μετρήθηκαν στα δείγματα βάσης χρησιμοποιώντας ένα αξιόπιστο αντιδραστήριο ανοσοπροσροφητικής ανάλυσης με ένζυμο (ELISA) που κατασκευάστηκε από την Biosource/Invitrogen στην Καλιφόρνια των ΗΠΑ, όπως έχει περιγραφεί προηγουμένως^{205,206}. Ο συντελεστής διακύμανσης των μετρήσεων ELISA εντός και μεταξύ των δοκιμών στο Εργαστήριό μας αναφέρθηκε ότι ήταν μικρότερος από 8%²⁰⁶, ο οποίος είναι σύμφωνος με αυτόν που αναφέρεται στη βιβλιογραφία²⁶¹. Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση του ανθρώπινου Αβ40 ήταν <6 pg/ml (Biosource/Invitrogen, California, USA). Αυτή η μεθοδολογία ακολουθήθηκε τόσο για την υπομελέτη των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών όσο και την Καρδιομεταβολική κοορτή της Αθήνας.

Κοορτή σοβαρής καρωτιδικής στένωσης με ενδοαρτηρεκτομή

Τα επίπεδα Αβ40 μετρήθηκαν σε δείγματα πλάσματος που αποκτήθηκαν μέσω φλεβοκέντησης προεγχειρητικά και αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την επεξεργασία. Οι συγκεντρώσεις του Αβ40 σε δείγματα πλάσματος EDTA μετρήθηκαν στα δείγματα βάσης με τη χρήση του ίδιου αντιδραστηρίου ELISA (Biosource/Invitrogen, California, USA) με αυτό της καρδιομεταβολικής κοορτής της Αθήνας^{205,206}.

5.8 Στατιστική επεξεργασία

Οι συνεχείς μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση όταν ακολουθείται η κανονικότητα και ως διάμεση τιμή και ενδοτεταρτημοριακό εύρος σε αντίθετη περίπτωση. Οι κατηγορικές μεταβλητές δόθηκαν ως απόλυτη τιμή και ποσοστό (%). Ο έλεγχος κανονικότητας των συνεχών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε γραφικά με ιστογράμματα κατανομής και γραφήματα εκατοστημορίων (Percentile-Percentile Plots). Οι συσχετίσεις των συνεχών μεταβλητών πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του

συντελεστή συσχέτισης Pearson ή με το συντελεστή συσχέτισης Spearman (μεταβλητές που δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή).

Κοορτή μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών

Χρησιμοποιήσαμε πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης για να εξετάσουμε την ανεξάρτητη συσχέτιση των αυξημένων καρωτιδικών τοιχωματικών δεικτών με τα κυκλοφορούντα επίπεδα του Αβ40 κατά την έναρξη της μελέτης, μετά τον έλεγχο για ένα προκαθορισμένο σύνολο βιολογικά πιθανών συγχυτικών παραγόντων. Στη συνέχεια, χρησιμοποιήσαμε γραμμικά μικτά μοντέλα δύο επιπέδων με τυχαίες επιδράσεις για κάθε συμμετέχοντα για να αξιολογήσουμε την επίδραση των διακυμάνσεων των επιπέδων του Αβ40 μεταξύ της αρχικής και της παρακολούθησης στις διαχρονικές μεταβολές των καρωτιδικών δεικτών. Για να διασφαλίσουμε την κανονική κατανομή των εξαρτημένων αποτελεσμάτων στην ανάλυση γραμμικών μικτών μοντέλων, χρησιμοποιήσαμε μετασχηματισμό φυσικού λογαρίθμου. Ένας όρος αλληλεπίδρασης μεταξύ της ομαδικής ταξινόμησης των μεταβολών του Αβ40 και του χρόνου συμπεριλήφθηκε στα γραμμικά μικτά μοντέλα για να αποτυπωθεί μια διαφορετική επίδραση κάθε τροχιάς των μεταβολών του Αβ40 στην εξέλιξη της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης. Η ταξινόμηση σε ομάδες ορίστηκε όπως περιεγράφηκε προηγουμένως^{262,263}: 1. Ομάδα αυξανόμενου ή σταθερά υψηλού Αβ40: όσοι αύξησαν το τριτημόριο του Αβ40 ή τα επίπεδά τους παρέμειναν σταθερά στο υψηλότερο τριτημόριο, 2. Ομάδα σταθερού χαμηλού-ενδιάμεσου Αβ40: Όσοι παρέμειναν σταθεροί στο χαμηλό ή μεσαίο τριτημόριο και 3. Μειωμένη ομάδα Αβ40: Όσοι μείωσαν τα επίπεδα Αβ40 σε χαμηλότερο τριτημόριο.

Καρδιομεταβολική κοορτή Αθηνών

Εφαρμόσαμε πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης για να εξετάσουμε την ανεξάρτητη συσχέτιση των δεικτών καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης (δηλ. υψηλότερα έναντι χαμηλότερων τριτημορίων για τη συνολική και τη μέγιστη πλάκα και χαμηλότερα έναντι υψηλότερων τριτημορίων για το GSM της πλάκας) με τα επίπεδα Αβ40 (δηλ. υψηλότερο τριτημόριο έναντι χαμηλότερου τριτημορίου του Αβ40). Εφαρμόσαμε τριτημόρια GSM δεδομένου ότι το χαμηλότερο τριτημόριο GSM στον πληθυσμό μας ήταν $\leq 34,3$, το οποίο εμπίπτει στο εύρος τιμών GSM 30-40, που συσχετίζεται με χαρακτηριστικά πλάκας υψηλού κινδύνου, όπως αναγνωρίζεται από τις συστάσεις της Αμερικανικής Εταιρείας Ηχοκαρδιογραφίας⁹² και όπως περιγράφεται σε προηγούμενες μελέτες^{104,242,264}. Το πολυπαραγοντικό μοντέλο προσαρμόστηκε για ένα σύνολο

βιολογικά εύλογων συγχυτικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων της ηλικίας, του φύλου, της υπέρτασης, της δυσλιπιδαιμίας, της κατάστασης καπνίσματος, του σακχαρώδη διαβήτη και του GFR (βασικό μοντέλο). Οι διαφορές στους αγγειακούς δείκτες ενδιαφέροντος μεταξύ των δύο επισκέψεων εξετάστηκαν με το Wilcoxon signed-rank test για τις συνεχείς μεταβλητές. Εφαρμόσαμε πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης για να εξετάσουμε τη συσχέτιση μεταξύ των μεταβολών των αγγειακών δεικτών (συνολική και μέγιστη επιφάνεια πλάκας και IMT και GSM πλάκας) και των επιπέδων Αβ40 μετά την προσαρμογή για το βασικό μοντέλο. Κατηγοριοποιήσαμε τις μεταβολές των αγγειακών δεικτών ως εξής: 1. αυξανόμενα ή επίμονα υψηλά τριτημόρια της συνολικής και μέγιστης επιφάνειας της πλάκας έναντι μειούμενων ή επίμονα χαμηλών τριτημορίων αυτών των δεικτών και 2. μειούμενα ή επίμονα χαμηλά τριτημόρια του GSM της πλάκας έναντι αυξανόμενων ή επίμονα υψηλών τριτημορίων του GSM της πλάκας. Όσον αφορά τις εκτιμήσεις ισχύος, το μέγεθος του δείγματος των 342 παρατηρήσεων παρείχε ισχύ 85% για την ανίχνευση μιας ελάχιστης αύξησης 50% (μη προσαρμοσμένης) στις πιθανότητες αθηρωματικής πλάκας GSM στο χαμηλότερο τριτημόριο ανά υψηλότερο έναντι χαμηλότερου τριτημορίου του Αβ40²⁶⁵. Το σφάλμα τύπου I ορίστηκε εκ των προτέρων σε 0.05 και το αναμενόμενο μέγεθος επίδρασης προεκτάθηκε από προηγουμένως δημοσιευμένα δεδομένα σχετικά με τους καθοριστικούς παράγοντες του GSM²⁶⁶.

Και στις δυο κοορτές το επίπεδο της προκαθορισμένης στατιστικής σημαντικότητας σε όλες τις αναλύσεις ήταν $p = 0.05$, ενώ όλοι οι έλεγχοι ήταν αμφίπλευροι. Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού STATA, έκδοση 11.1 (StataCorp, College Station, Texas USA) και του SPSS 21 (IBM Corporation, Armonk, New York).

6. Αποτελέσματα

6.1 Κοορτή μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών

Χαρακτηριστικά του πληθυσμού

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 5**, ο ΔΜΣ, η περίμετρος μέσης, ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης (GFR), ο επιπολασμός της υπέρτασης και της υπερλιπιδαιμίας αυξήθηκαν κατά την παρακολούθηση. Τα επίπεδα του Αβ40 στο πλάσμα αυξήθηκαν επίσης σημαντικά κατά την παρακολούθηση ($p < 0.001$). Δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στη φαρμακευτική αγωγή κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης. Όσον αφορά την καρωτιδική αθηροσκλήρωση, όλοι οι δείκτες πάχους του καρωτιδικού τοιχώματος αυξήθηκαν μεταξύ των δύο επισκέψεων (**Πίνακας 6**).

Πίνακας 5. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

| | Βασική γραμμή | Παρακολούθηση | p-value |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|------------------|
| Ηλικία | 56 (5.3) | 58.3 (5.5) | <0.001 |
| Έτη εμμηνόπαυσης | 8.0 (6.0) | 10.68 (7.7) | <0.001 |
| Κάπνισμα | 39 (25.6) | 38 (25) | 0.999 |
| ΔΜΣ (kg/m)² | 26.7 (4.3) | 27.2 (4.7) | 0.037 |
| Σακχαρώδης διαβήτης | 4 (2.6) | 9 (5.9) | 0.063 |
| Υπέρταση | 30 (19.7) | 44 (28.9) | <0.001 |
| Υπερλιπιδαιμία | 69 (45.3) | 96 (63.1) | <0.001 |
| Περιφέρεια μέσης (cm) | 87.9 (11.1) | 91.1 (11.4) | <0.001 |
| Συστολική πίεση (mmHg) | 120.3 (17.6) | 119.3 (17.2) | 0.39 |
| Διαστολική πίεση (mmHg) | 73.9 (9.1) | 72.1 (10.9) | 0.052 |
| Ολική χοληστερόλη (mg/ml) | 218.5 (40.5) | 214.4 (33.4) | 0.161 |
| LDL-C (mg/mL) | 135.5 (36.2) | 134.8 (31.3) | 0.926 |
| Τριγλυκερίδια (mg/ml) | 92.9 (36.9) | 90.8 (33.8) | 0.552 |
| HDL-C (mg/ml) | 61.9 (15.4) | 61.8 (13.8) | 0.933 |
| Γλυκόζη (mg/dl) | 93.4 (8.5) | 93.0 (9.7) | 0.564 |
| Ινσουλίνη (μIU/mL) | 7.1 (4.8) | 7.7 (4.3) | 0.334 |
| HbA1c (%) | 5.5 (0.5) | 5.6 (0.5) | 0.391 |
| CRP (mg/L) | 0.3 (0.4) | 0.3 (0.6) | 0.663 |
| GFR (ml/min/m)² | 87 (13.7) | 89.4 (14.0) | 0.038 |
| SHBG (nmol/L) | 68.9 (34.1) | | |
| Τεστοστερόνη (ng/mL) | 0.42 (0.3) | | |
| DHEAS (μg/dl) | 247.7 (343.2) | | |
| E2 (pg/mL) | 22.5 (13.0) | | |
| Αβ40 (pg/mL) | 17.2 (10.7) | 23.4 (15.8) | <0.001 |

BMI=Δείκτης μάζας σώματος- BP=Αρτηριακή πίεση- LDL-C=Χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας- HDL-C=Χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας- HbA1c=Γλυκοποιημένη αιμοσφαιρίνη- CRP=C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, GFR= ρυθμός σπειραματικής διήθησης- SHBG= σφαιρίνη που δεσμεύει τις ορμόνες του φύλου, n=114- τεστοστερόνη n=125- DHEAS=θειική αφυδροεπιανδροστερόνη, n=110- E2=οιστραδιόλη, n=90. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος (SD) και οι ονομαστικές ως αριθμός (απόλυτα ποσοστά), οι p-τιμές προκύπτουν από το T Test του Student σε ζεύγη δειγμάτων ή το Wilcoxon Rank Sum Test για τις συνεχείς μεταβλητές και το chi squared test του McNemar για τις κατηγορικές μεταβλητές.

Πίνακας 6. Μεταβολές των αγγειακών δεικτών με την πάροδο του χρόνου

| | Βασική γραμμή | Παρακολούθηση | p-value |
|----------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| ccIMT (<u>mm</u>) | 0.69 (0.12) | 0.74 (0.13) | <0.001 |
| cbIMT (<u>mm</u>) | 0.83 (0.19) | 0.88 (0.19) | 0.03 |
| icIMT (<u>mm</u>) | 0.65 (0.16) | 0.70 (0.17) | 0.001 |
| avgIMT (<u>mm</u>) | 0.73 (0.12) | 0.77 (0.12) | <0.01 |
| maxWT (<u>mm</u>) | 1.0 (0.29) | 1.1 (0.41) | <0.001 |
| sumWT (<u>mm</u>) | 4.4 (0.85) | 4.7 (1.0) | <0.001 |

IMT=πάχος μέσου χιτώνα- Cc=κοινή καρωτίδα- Cb=καρυτιδικός βολβός- ic=εσωτερική καρωτίδα- Avg=μέσος όρος IMT καρωτίδας και από τις 6 θέσεις- WT=πάχος τοιχώματος- Max=μέγιστο WT και από τις 6 θέσεις καρωτίδας- Sum WT=άθροισμα όλων των μέγιστων WT και από τις 6 θέσεις. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος (SD). Η τιμή P προέκυψε από το τεστ t-Student's t-test για ζευγαρωμένα δείγματα. Οι σημαντικές (P<0.05) αλλαγές στους αγγειακούς δείκτες σημειώνονται με έντονη γραφή.

Προσδιοριστικοί παράγοντες των αρχικών και διαχρονικών μεταβολών των επιπέδων Αβ40 στο πλάσμα

Το Αβ40 στην αρχική τιμή συσχετίστηκε ανεξάρτητα με τα επίπεδα θεικής δεϋδροεπιανδροστερόνης (DHEAS) στον ορό, όπως φαίνεται στους **Πίνακας 7**. Όσον αφορά τις διαχρονικές μεταβολές του Αβ40, μεταξύ των μεταβολών σε διάφορους πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες που καταγράφηκαν κατά την έναρξη και την παρακολούθηση, η γήρανση του πληθυσμού (όπως αντικατοπτρίζεται από την αυξημένη διάρκεια της παρακολούθησης) και η επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας ήταν οι μόνοι ανεξάρτητοι παράγοντες πρόβλεψης των μεταβολών των επιπέδων του Αβ40 με την πάροδο του χρόνου. (**Πίνακας 8**).

Πίνακας 7. Μονοπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης των τριτημορίων Αβ40 της αρχικής τιμής (δηλ. υψηλότερα έναντι χαμηλότερων τριτημορίων) σε σχέση με πιθανούς καθοριστικούς παράγοντες της αρχικής τιμής σε διάφορες παραμέτρους της αρχικής τιμής

| | OR (95% CI) | P-Value |
|------------------------------|-----------------------|-------------|
| Ηλικία (έτη) | 0.95 (0.76/1.24) | 0.73 |
| Έτη εμμηνόπαυσης | 1.0 (0.94/1.05) | 0.90 |
| Υπέρταση | 0.85 (0.36/2.01) | 0.71 |
| Υπερλιπιδαιμία | 0.83 (0.41/1.61) | 0.55 |
| Κάπνισμα | 0.88 (0.40/1.92) | 0.74 |
| Σακχαρώδης διαβήτης | 2.06 (0.28/15.1) | 0.48 |
| GFR (ml/min/m ²) | 1.0 (0.76/1.49) | 0.94 |
| ΔΜΣ (kg/m ²) | 0.92 (0.65/1.31) | 0.65 |
| E2 (pg/mL) | 0.83 (0.48/1.29) | 0.53 |
| SHBG (nmol/L) | 0.71 (0.66/1.40) | 0.84 |
| DHEAS (μg/mL) | 0.512 (0.18/1) | 0.03 |
| Τεστοστερόνη (ng/mL) | 0.97 (0.67/1.41) | 0.87 |

Λόγος πιθανοτήτων ανά σύγκριση των υψηλότερων έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων του Αβ40 ανά αύξηση SD για τις συνεχείς, σε αντιδιαστολή με την κατηγορία αναφοράς για τις διχοτομικές μεταβλητές. CI=διαστήματα εμπιστοσύνης- BMI=δείκτης μάζας σώματος- GFR=ρυθμός σπειραματικής διήθησης- TSH=θυρεοειδοτρόπος ορμόνη- fT3=ελεύθερη T3- fT4=ελεύθερη T4- E2=οιστραδιόλη- SHBG=σφαιρίνη που δεσμεύει τις ορμόνες του φύλου- DHEAS=θειική δεϋδροεπιανδροστερόνη. Οι τιμές P-values προέρχονται από μονομεταβλητή ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης. Οι σημαντικές συσχετίσεις (P<0.05) μεταξύ τριτημορίων του Αβ40 και πιθανών καθοριστικών παραγόντων της αρχικής κατάστασης επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Πίνακας 8. Μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης που των καθοριστικών παραγόντων μεταβολής του Αβ40.

| | Μονοπαραγοντική | | Πολυπαραγοντική | |
|---|-------------------------|---------------|-------------------------|--------------|
| | OR (95% CI) | P-Value | OR (95% CI) | P-Value |
| Ηλικία (έτη) | 0.90 (0.72/1.11) | 0.392 | 0.87 (0.63/1.19) | 0.366 |
| Έτη εμμηνόπαυσης (έτη) | 1.0 (0.75/1.34) | 0.932 | 1.38(0.93/2.09) | 0.111 |
| Διάρκεια παρακολούθησης (μήνες) | 1.22 (0.85/1.48) | 0.38 | 1.45 (1.02/2.17) | 0.044 |
| Νέο κάπνισμα | 1.81 (0.615/5.33) | 0.281 | 1.79 (0.551/5.79) | 0.334 |
| Νεοεμφανιζόμενη υπερλιπιδαιμία | 1.36 (0.615/3.02) | 0.446 | 1.57 (0.656-3.76) | 0.311 |
| Νεοεμφανιζόμενη υπέρταση | 0.965 (0.348/2.68) | 0.945 | 1.42 (0.428-4.69) | 0.568 |
| Νεοεμφανιζόμενος σακχαρώδης διαβήτης | 1.08 (0.219/5.29) | 0.927 | 0.903 (0.173-4.71) | 0.903 |
| Δ GFR (ml/min/m) ² | 0.65 (0.47/0.92) | 0.0118 | 0.60 (0.42-0.86) | 0.005 |

Οι αναλογίες των πιθανοτήτων αναφέρονται στην πιθανότητα να κατηγοριοποιηθούν στο πρότυπο της αυξανόμενης ή της επίμονα υψηλής ομάδας Αβ40 ανά αύξηση SD για συνεχείς μεταβλητές ή για νέα εμφάνιση ενός παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου. Τα έντονα γράμματα υποδεικνύουν CI=διαστήματα εμπιστοσύνης. GFR=ρυθμός σπειραματικής διήθησης- ο Δ GFR υπολογίστηκε ως GFR κατά την παρακολούθηση - GFR κατά την έναρξη.

Τα επίπεδα Αβ40 στο πλάσμα σχετίζονται με την καρωτιδική αθηροσκλήρωση κατά την έναρξη της μελέτης

Το Αβ40 ως συνεχής μεταβλητή στην αρχική τιμή συσχετίστηκε με το άθροισμα WT στην αρχική τιμή (προσαρμοσμένη συσχέτιση OR=1,68, ανά SD αύξηση του Αβ40, 95% CI 1,11-2,46, $p=0.014$), το IMT του καρωτιδικού βολβού (προσαρμοσμένη συσχέτιση OR=1.52 ανά αύξηση SD, 95% CI 1.11-2.15, $p=0.039$) και οριακά με το avgIMT (OR=1.52 ανά αύξηση SD, 95% CI 0.989- 2.12, $p=0.056$ για το πολυπροσαρμοσμένο μοντέλο). Επιπλέον, οι ασθενείς με επίπεδα Αβ40 στο πλάσμα στο υψηλότερο τριτημόριο είχαν σημαντικά υψηλότερο cbIMT (OR=2.62, 95% CI 1.12-6.15, $p=0.027$), avgIMT (OR=2.41, 95% CI 1.03-5.68, $p=0.044$) και sumWT (OR=2.68, 95% CI 1.15-6.29, $p=0.023$) (Πίνακας 3). Αυτές οι συσχετίσεις παρέμειναν στατιστικά σημαντικές μετά από προσαρμογή για την ηλικία, το κάπνισμα, την υπερλιπιδαιμία, την υπέρταση, τον σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ) και τον GFR (Πίνακας 9). Ένα εναλλακτικό μοντέλο που περιλάμβανε προσαρμογή για τη ΣΑΠ και τη χρήση αντιυπερτασικών φαρμάκων κατά την έναρξη αντί της υπέρτασης δεν άλλαξε αυτά τα αποτελέσματα. Επιπλέον, στην υποομάδα των γυναικών με διαθέσιμες μετρήσεις ορμονών, η πρόσθετη προσαρμογή για την οιστραδιόλη (E2), τη σφαιρίνη δέσμευσης ορμονών του φύλου (SHBG), την τεστοστερόνη ή το DHEAS δεν άλλαξε τις παρατηρούμενες συσχετίσεις μεταξύ του Αβ40 και των δεικτών αθηροσκλήρωσης.

| Πίνακας 9. Συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων Αβ40 στην αρχική κατάσταση και των δεικτών καρωτιδικής νόσου | | | | |
|--|--|--|--|--------------------------------|
| | cbIMT (mm) | avgIMT (mm) | sumWT (mm) | maxWT (mm) |
| | OR (95% CI) | | | |
| Υψηλότερο τριτημόριο της αρχικής τιμής Αβ40 (μονομεταβλητή) | 2.62 (1.12/6.15) p=0.027 | 2.41 (1.03/5.68) p=0.044 | 2.68 (1.15/6.29) p=0.023 | 1.75 (0.72- 4.28) p=0.23 |
| | OR (95% CI) | | | |
| *Υψηλότερο τριτημόριο της αρχικής τιμής Αβ40 (πολυμεταβλητή) | 3.01 (1.18- 7.63) p=0.021 | 2.65 (1.05- 6.72) p=0.039 | 3.52 (1.35- 9.17) p=0.001 | 1.85 (0.70- 4.89) p=0.22 |

Τα OR αντιπροσωπεύουν τις πιθανότητες για μια γυναίκα που κατατάσσεται στο υψηλότερο τριτημόριο του Αβ40 να έχει αυξημένο πάχος καρωτιδικού τοιχώματος (δηλαδή στο υψηλότερο τριτημόριο).

*Ρυθμίζεται για την ηλικία, το κάπνισμα, την υπέρταση, την υπερλιπιδαιμία, τον σακχαρώδη διαβήτη και τον ρυθμό σπειραματικής διήθησης. Τα έντονα γράμματα υποδεικνύουν τη στατιστική σημαντικότητα, η οποία ορίστηκε σε επίπεδο p-value <0.05.

Όλοι οι καρωτιδικοί δείκτες αναφέρονται στο υψηλότερο τριτημόριο. IMT= πάχος μέσου χιτώνα- Cb= βολβός καρωτίδας- Avg=μέσος όρος IMT καρωτίδας και από τις 6 περιοχές- WT= πάχος τοιχώματος- Max= μέγιστο WT και από τις 6 περιοχές καρωτίδας- Sum WT= άθροισμα όλων των μέγιστων WT και από τις 6 περιοχές. Οι σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του υψηλότερου τριτημορίου του Αβ40 και των αυξημένων καρωτιδικών δεικτών επισημαίνονται με έντονη γραφή.

Επίπεδα Αβ40 στο πλάσμα και εξέλιξη της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης.

Στην **Εικόνα 20Α** απεικονίζονται οι δυναμικές μεταβολές των επιπέδων Αβ40 στο πλάσμα με την πάροδο του χρόνου σύμφωνα με τις 3 προκαθορισμένες ομάδες, όπως περιγράφεται στην ενότητα "Στατιστικές μέθοδοι". Οι γυναίκες με το αυξανόμενο ή επίμονα υψηλό πρότυπο Αβ40 παρουσίασαν επιταχυνόμενη πρόοδο στο cbIMT ($p=0.019$) (**Εικόνα 20Β**), προσαρμοσμένη για την αρχική ηλικία, τη διάρκεια παρακολούθησης, τη μεταβολή της κατάστασης καπνίσματος, την υπέρταση, την υπερλιπιδαιμία, τον ΣΔ και τον GFR και το αρχικό Αβ40 (βασικό μοντέλο, **Πίνακας 4**). Ομοίως, ένα αυξανόμενο ή επίμονα υψηλό πρότυπο Αβ40 συσχετίστηκε ανεξάρτητα με υψηλότερο ρυθμό εξέλιξης του maxWT (**Εικόνα 20C**) και του sumWT (**Εικόνα 20D**) χρησιμοποιώντας το βασικό μοντέλο (**Πίνακας 10**). Μια σχετική αύξηση των επιπέδων του Αβ40 στο πλάσμα κατά 10% από την αρχική τιμή έως την παρακολούθηση (υπολογίζεται ως ο λόγος παρακολούθηση - επίπεδα αρχικής τιμής / επίπεδα αρχικής τιμής), το sumWT αυξήθηκε κατά 0.1mm (95% CI 0.01-0.17mm, $p=0.047$). Η αντικατάσταση της υπέρτασης με τη ΣΑΠ και τη χρήση αντιυπερτασικών φαρμάκων κατά την έναρξη και την παρακολούθηση στο πολυπαραγοντικό βασικό μοντέλο δεν άλλαξε ουσιαστικά αυτά τα αποτελέσματα, εκτός από τη συσχέτιση maxWT που μετατοπίστηκε σε οριακή σημαντικότητα ($p=0.073$). Η προσαρμογή για τις ορμόνες του φύλου (τεστοστερόνη, SHBG ή E2) ή το DHEAS δεν άλλαξε αυτές τις συσχετίσεις. Τέλος, τα επίπεδα του Αβ40 στο πλάσμα κατά την έναρξη συσχετίστηκαν με τον ρυθμό μεταβολής του maxWT (με ανάλυση γραμμικών μικτών μοντέλων, μέσος ρυθμός αύξησης 0,586mm, 95% CI 0.055-1,11, $p=0.047$, ανά SD αύξησης του Αβ40 κατά την έναρξη). Αυτές οι συσχετίσεις δεν ήταν σημαντικές για το cbIMT ή το sumWT ($p>0.05$).

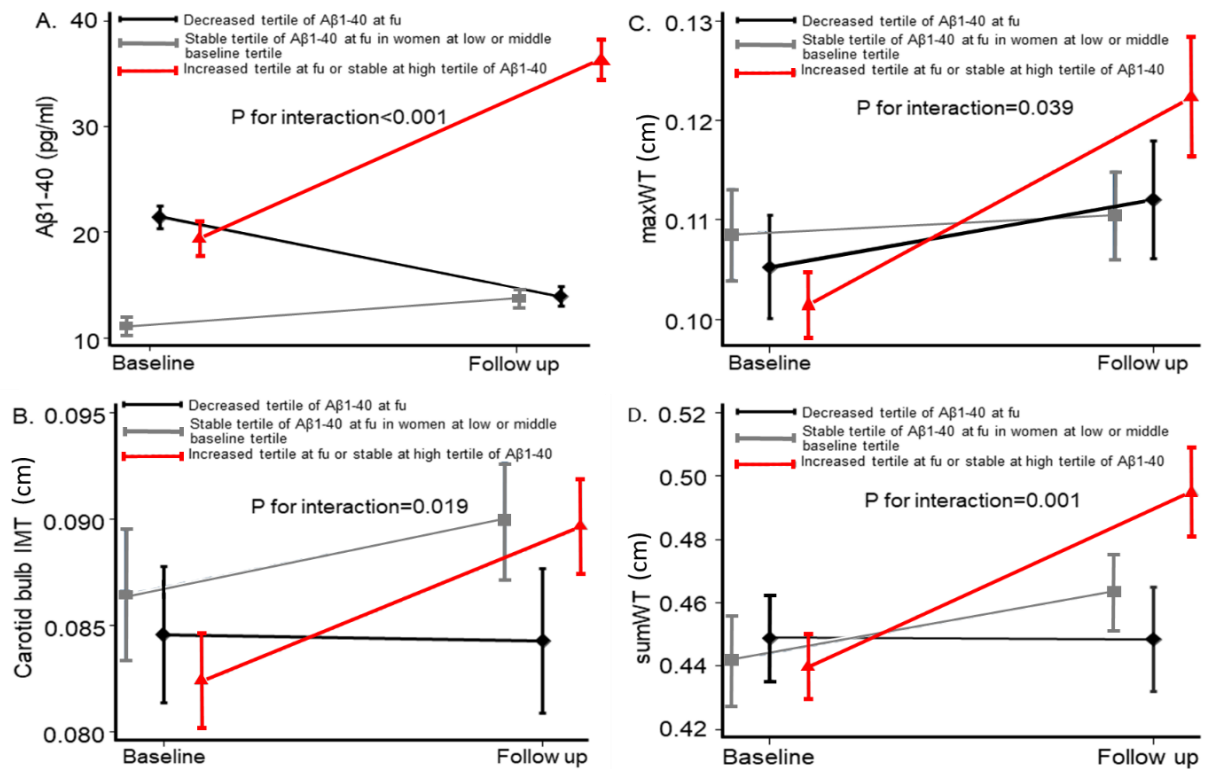
Πίνακας 10. Ανάλυση γραμμικού μικτού μοντέλου που δείχνει τη συσχέτιση μεταξύ των προτύπων μεταβολής των επιπέδων Αβ40 με τις μεταβολές των καρωτιδικών δεικτών κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης

| | cbIMT (mm) | avgIMT (mm) | sumWT (mm) | maxWT (mm) |
|--|---|---------------------------------|--|--|
| | Coefficient (95% CI) | | | |
| Αύξηση ή επίμονα υψηλό Αβ40 *χρόνος (μονοπαραγοντικό) | 0.09 (0.001/0.2) p=0.047 | 0.03 (-0.03/0.08) p=0.317 | 0.136 (0.05/0.22) p=0.001 | 0.098 (0.0001/0.2) p=0.0497 |
| | * Coefficient (95% CI) | | | |
| * Αύξηση ή επίμονα υψηλό Αβ40*χρόνος (πολυπαραγοντικό) | 0.12 (0.02/0.21) P=0.019 | 0.04 (-0.02/0.10) P=0.146 | 0.147 (0.058/0.236) P=0.001 | 0.112 (0.006/0.22) P=0.039 |

Ο συντελεστής και η τιμή P αντιστοιχούν στον όρο αλληλεπίδρασης της ταξινόμησης της ομάδας (αυξημένο τριτημόριο κατά την παρακολούθηση ή επίμονα στο υψηλό τριτημόριο του Αβ40 έναντι μειούμενου ή σταθερού στα χαμηλότερα τριτημόρια Αβ40 προτύπου κατά την παρακολούθηση)*χρόνος. Οι συντελεστές προκύπτουν μετά από μετασχηματισμό φυσικού λογαρίθμου της μεταβλητής αποτελέσματος (καρωτιδικοί δείκτες)

*Προσαρμοσμένο για την ηλικία, τις μεταβολές στην υπέρταση, την υπερλιπιδαιμία, το κάπνισμα, τον σακχαρώδη διαβήτη, τον ρυθμό σπειραματικής διήθησης, τη διάρκεια παρακολούθησης και την αρχική τιμή Αβ40. Τα έντονα γράμματα υποδεικνύουν στατιστική σημαντικότητα, η οποία ορίστηκε σε επίπεδο p-value <0.05.

Όλοι οι καρωτιδικοί δείκτες αναφέρονται στο υψηλότερο τριτημόριο. IMT= πάχος μέσου χιτώνα- Cb= βολβός καρωτίδας- Avg=μέσος όρος IMT καρωτίδας και από τις 6 περιοχές- WT= πάχος τοιχώματος- Max= μέγιστο WT και από τις 6 περιοχές καρωτίδας- Sum WT= άθροισμα όλων των μέγιστων WT και από τις 6 περιοχές.



Εικόνα 20. Μεταβολές των επιπέδων Αβ40 στο πλάσμα με βάση τα πρότυπα μεταβολής τους από την αρχική τιμή έως την παρακολούθηση (Α). Η τιμή P προκύπτει από την ανάλυση γραμμικού μικτού μοντέλου για τις μεταβολές των επιπέδων Αβ40 μετά τον έλεγχο για την ηλικία, τις μεταβολές στην υπέρταση, την υπερλιπιδαιμία, το κάπνισμα, το DM, τον GFR και τη διάρκεια της παρακολούθησης. Οι γυναίκες με το αυξανόμενο ή επίμονο υψηλό πρότυπο Αβ40 παρουσίασαν υψηλότερο ποσοστό εξέλιξης του IMT του καρωτιδικού βολβού (Β), του μέγιστου πάχους του τοιχώματος (Γ) και του αθροίσματος του μέγιστου πάχους του τοιχώματος (Δ) σε σύγκριση με τις γυναίκες με σταθερά ή μειούμενα επίπεδα Αβ40. Η τιμή P-value στα Β, C και D προκύπτει από την ανάλυση γραμμικού μικτού μοντέλου για τη συσχέτιση των μεταβολών των επιπέδων του Αβ40 με τις μεταβολές των καρωτιδικών δεικτών κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης μετά από έλεγχο για την ηλικία, τις μεταβολές στην υπέρταση, την υπερλιπιδαιμία, το κάπνισμα, το ΣΔ, τον GFR, τη διάρκεια της παρακολούθησης και το Αβ40 της αρχικής γραμμής. IMT=πάχος έσω-μέσου χιτώνα, Cb=καρωτιδικός βολβός- Max=μέγιστο πάχος τοιχώματος από τις 6 καρωτιδικές θέσεις- Sum WT=άθροισμα όλων των μέγιστων παχών τοιχωμάτων και από τις 6 θέσεις- GFR=ρυθμός σπειραματικής διήθησης- DM=σακχαρώδης διαβήτης.

6.2 Καρδιομεταβολική κοορτή Αθηνών και Κοορτή σοβαρής καρωτιδικής στένωσης με ενδαρτηρεκτομή

Χαρακτηριστικά του συνολικού πληθυσμού

Οι ασθενείς με κλινικά έκδηλη ΚΑΝ ήταν συχνότερα άνδρες με υψηλότερη μέση ηλικία και υψηλότερο επιπολασμό υπέρτασης, υπερλιπιδαιμίας, σακχαρώδους διαβήτη και καπνίσματος ($p < 0.05$ για όλες τις συγκρίσεις). Οι ασθενείς με ΚΑΝ εμφάνιζαν υψηλότερες τιμές συστολικής και διαστολικής πίεσης, επιπέδων Αβ40 και hsCRP ($p < 0.05$ για όλες τις συγκρίσεις). Τέλος, οι ασθενείς με ΚΑΝ εμφάνισαν συχνότερα παρουσία καρωτιδικής πλάκας και αυξημένη ολική επιφάνεια πλακών έναντι του πληθυσμού χωρίς ΚΑΝ (Πίνακας 11).

Πίνακας 11. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού χωρίς ΚΑΝ (n=342) ανά τριτημόριο Αβ40 (δηλ. χαμηλότερο vs. υψηλότερο)

| | Ασθενείς χωρίς ΚΑΝ (n=342) | Ασθενείς με ΟΣΣ (n=52) | Ασθενείς με Σταθερή ΣΝ (n=83) | p-value |
|---|----------------------------|------------------------|-------------------------------|---------|
| Φύλο [αρσενικό], n (%) | 140 (40.9) | 42 (89) | 66 (83.4) | <0.001 |
| Ηλικία [έτη], μέσος όρος (SD) | 57 (12.6) | 61.4 (11.9) | 67.1 (9.6) | <0.001 |
| Κάπνισμα, n (%) | 104 (30.4) | 24 (51.1) | 28 (35.4) | <0.001 |
| Υπέρταση, n (%) | 127 (37.1) | 28 (59.6) | 61 (77.2) | <0.001 |
| Υπερλιπιδαιμία, n (%) | 164 (47.9) | 26 (55.3) | 62 (78.5) | <0.001 |
| Υπολιπιδαιμική αγωγή, n (%) | 94 (27.4) | 14 (27.1) | 64 (78.8) | <0.001 |
| Σακχαρώδης διαβήτης, n (%) | 42 (12.2) | 10 (21.2) | 32 (40.5) | <0.001 |
| ΔΜΣ [kg/m ²], μέσος όρος (SD) | 27.5 (4.7) | 27.6 (5.0) | 28.1 (5.4) | 0.112 |
| GFR [ml/m ² /min], μέσος όρος (SD) | 108.3 (43.1) | 94.5 (42.6) | 64.5 (29.7) | <0.001 |
| Ολική χοληστερόλη [mg/dl], μέσος όρος (SD) | 204 (46) | 179 (42) | 161 (65) | <0.001 |
| Τριγλυκερίδια [mg/dl], διάμεσος (IQR) | 95 (70) | 131 (94) | 117 (75) | <0.001 |
| LDL-C [mg/dl], μέσος όρος (SD) | 125 (40) | 121.3 (51.6) | 104.3 (32.0) | 0.192 |
| HDL-C [mg/dl], μέσος όρος (SD) | 56 (16) | 41.7 (16.4) | 42.6 (10.3) | 0.837 |
| hs-CRP [mg/dl], διάμεσος (IQR) | 1.1 (2.07) | 7.3 (15.3) | 2.1 (4.7) | <0.001 |
| Αβ 40 [pg/ml], διάμεσος (IQR) | 49.0 (35.6) | 63.0 (42.1) | 53.8 (31.4) | 0.001 |
| ΣΑΠ [mmHg], μέσος όρος (SD) | 125.6 (19.2) | 131.4 (18.9) | 142.6 (19.5) | <0.001 |
| ΔΑΠ [mmHg], μέσος όρος (SD) | 72.3 (10.8) | 74.6 (14.4) | 73.4 (11.0) | 0.047 |
| Παρουσία καρωτιδικής πλάκας, n (%) | 136 (39.7) | 37 (78.7) | 65 (82.3) | <0.001 |
| GSM πλάκας, [διάμεσος (IQR) | 43 (20) | 38 (20) | 38 (20) | 0.398 |
| Μέγιστη επιφάνεια πλάκας, [mm ²], διάμεσος (IQR) | 24.8 (26.1) | 19.5 (20.8) | 27.9 (35.9) | 0.114 |
| Συνολική επιφάνεια πλάκας, [mm ²], διάμεσος (IQR) | 34.4 (43.9) | 36.7 (62.3) | 60.9 (74.9) | 0.007 |

Οι τιμές P-values προκύπτουν από το ανεξάρτητο t-test του Student για τις συνεχείς μεταβλητές και το τεστ chi squared του Pearson για τις κατηγορικές μεταβλητές. ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, hs-CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας, GFR: ρυθμός σπειραματικής διήθησης, GSM: διάμεσος της κλίμακας του γκρι, LDL-C: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, HDL-C: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας, ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση, ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση.

Χαρακτηριστικά του πληθυσμού χωρίς ΚΑΝ

Στη μελέτη μας, συμπεριλάβαμε 342 συμμετέχοντες χωρίς κλινικά έκδηλη ΚΑΝ (n=140 άνδρες, 40,9%), με μέση ηλικία 57.7 (12.6) ετών, με επιπολασμό 37.1% (n=127) για υπέρταση, 48% (n=164) για υπερλιπιδαιμία, 30.4% (n=104) για κάπνισμα και 12.2% (n=42) για σακχαρώδη διαβήτη. Όσον αφορά τα δεδομένα του υπερηχογραφήματος των καρωτιδίων, βρέθηκε τουλάχιστον μία καρωτιδική πλάκα στο 39,7% του πληθυσμού και σύμπλεγμα καρωτιδικού χιτώνα (IMT) σε όλους τους συμμετέχοντες. Οι τιμές GSM της πλάκας κυμαίνονταν από 1.2 έως 88, οι τιμές IMT GSM από 1.0 έως 89.0, η μέγιστη επιφάνεια της πλάκας από 3.16 έως 88.9mm² και η συνολική επιφάνεια της πλάκας από 3.16 έως 318.5mm². Τα άτομα με επίπεδα Αβ40 στο υψηλότερο τριτημόριο είχαν οριακά υψηλότερο επιπολασμό του ανδρικού φύλου (p=0.062) και υψηλότερη παρουσία καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης, υψηλότερη συνολική και μέγιστη επιφάνεια πλάκας και χαμηλότερη ταχύτητα σπειραματικής διήθησης (GFR), HDL-C και GSM πλάκας (p<0.05 για όλα) (Πίνακας 12).

| Πίνακας 12. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού χωρίς ΚΑΝ (n=342) ανά τριτημόριο Αβ40 (δηλ. χαμηλότερο vs. υψηλότερο) | | | | |
|---|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------|
| | Συνολικός πληθυσμός (n=342) | Χαμηλότερα τριτημόρια (n=228) | Υψηλότερο τριτημόριο (n=114) | p-value |
| Φύλο [αρσενικό], n (%) | 140 (40.9) | 85 (37.3) | 55 (39.3) | 0.062 |
| Ηλικία [έτη], μέσος όρος (SD) | 57 (12.6) | 56.9 (12.8) | 59.3 (12.0) | 0.095 |
| Κάπνισμα, n (%) | 104 (30.4) | 71(31.7) | 33 (30.3) | 0.751 |
| Υπέρταση, n (%) | 127 (37.1) | 78 (34.7) | 49 (44.5) | 0.178 |
| Υπερλιπιδαιμία, n (%) | 164 (47.9) | 107(47.6) | 57 (50) | 0.651 |
| Υπολιπιδαιμική αγωγή, n (%) | 94 (27.4) | 60 (26.7) | 34 (30.9) | 0.574 |
| Σακχαρώδης διαβήτης, n (%) | 42 (12.2) | 23 (10.2) | 19 (17.3) | 0.15 |
| ΔΜΣ [kg/m ²], μέσος όρος (SD) | 27.5 (4.7) | 27.4 (4.7) | 27.5 (4.7) | 0.95 |
| GFR [ml/m ² /min], μέσος όρος (SD) | 108.3 (43.1) | 117.3 (42.4) | 105.8 (45.6) | 0.04 |
| Ολική χοληστερόλη [mg/dl], μέσος όρος (SD) | 204 (46) | 205 (43) | 203 (51) | 0.649 |
| Τριγλυκερίδια [mg/dl], διάμεσος (IQR) | 95 (70) | 110 (59) | 118 (73) | 0.268 |

| | | | | |
|---|--------------|-------------------|--------------------|--------|
| LDL-C [mg/dl], μέσος όρος (SD) | 125 (40) | 130 (39) | 130 (43) | 0.916 |
| HDL-C [mg/dl], μέσος όρος (SD) | 56 (16) | 52 (16) | 44 (14) | 0.018 |
| hs-CRP [mg/dl], διάμεσος (IQR) | 1.1 (2.07) | 1.05 (2.08) | 1.2 (2.46) | 0.486 |
| Αμυλοειδές-β 40 [pg/ml], διάμεσος (IQR) | 49.0 (35.6) | 40.95 (24.9-51.6) | 91.3 (71.53-118.4) | <0.001 |
| ΣΑΠ [mmHg], μέσος όρος (SD) | 125.6 (19.2) | 127.1 (18.4) | 131.4 (20.7) | 0.053 |
| ΔΑΠ [mmHg], μέσος όρος (SD) | 72.3 (10.8) | 72.5 (11.0) | 73.3 (10.5) | 0.551 |
| Παρουσία καρωτιδικής πλάκας, n (%) | 136 (39.7) | 82 (37.4) | 54 (51.4) | 0.022 |
| GSM πλάκας, [διάμεσος (IQR) | 43 (20) | 46 (26.3) | 38.0 (22.0) | 0.037 |
| Μέγιστη επιφάνεια πλάκας, [mm ²], διάμεσος (IQR) | 24.8 (26.1) | 21.8 (19.0) | 28.4 (32.8) | 0.017 |
| Συνολική επιφάνεια πλάκας, [mm ²], διάμεσος (IQR) | 34.4 (43.9) | 30.5 (34.3) | 51.2 (53.1) | 0.016 |

Οι τιμές P-values προκύπτουν από το ανεξάρτητο t-test του Student για τις συνεχείς μεταβλητές και το τεστ chi squared του Pearson για τις κατηγορικές μεταβλητές. ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, hs-CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας, GFR: ρυθμός σπειραματικής διήθησης, GSM: διάμεσος της κλίμακας του γκρι, LDL-C: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, HDL-C: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας, ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση, ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση.

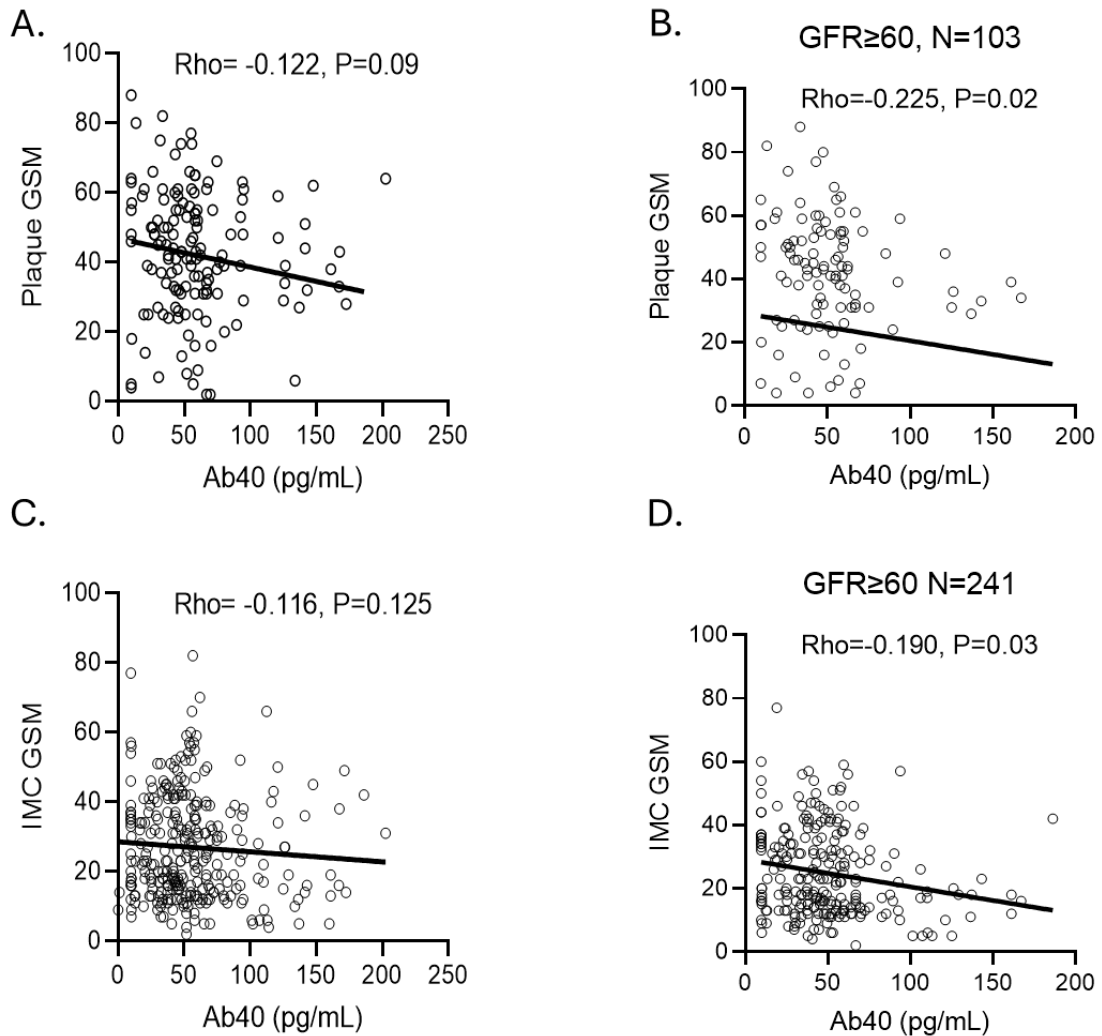
Συγχρονική διατομή. Τα επίπεδα Αβ40 στο πλάσμα σχετίζονται με την ηχοδιάγνωση της πλάκας και την έκταση της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης.

Η γραμμική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων Αβ40 και του GSM της πλάκας και του IMT ήταν οριακά σημαντική στο σύνολο του πληθυσμού (**Εικόνα 21A, C**). Δεδομένου ότι ο GFR είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας τόσο της αγγειακής ασβεστοποίησης^{267,268} όσο και της κάθαρσης του Αβ40¹¹¹, διερευνήσαμε αυτή τη συσχέτιση στην υποομάδα ασθενών με $GFR \geq 60 \text{ ml/min/m}^2$ και βρήκαμε μια σημαντικά γραμμική συσχέτιση μεταξύ τόσο του IMT όσο και του GSM της πλάκας (**Εικόνα 21B, D**). Τα αυξημένα επίπεδα Αβ40 συσχετίστηκαν με υψηλότερες πιθανότητες για χαμηλότερο IMT GSM και χαμηλότερο plaque GSM σε όλες τις καρωτίδες (OR=2.54 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.35, 4.79, $p=0.004$ για το IMT GSM και OR=4.78 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.69, 13.52, $p=0.025$ για το plaque GSM) μετά

από προσαρμογή για το μοντέλο πυρήνα και το άθροισμα του πάχους του καρωτιδικού τοιχώματος (**Πίνακας 13, Εικόνα 22**). Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα Αβ40 συσχετίστηκαν με αυξημένες πιθανότητες για μεγαλύτερη συνολική και μέγιστη επιφάνεια πλάκας (OR= 3.81 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1,35, 10.75, P=0.011, OR=4.68 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.68, 14.21, P=0.002 για τη μέγιστη και συνολική επιφάνεια πλάκας, αντίστοιχα) (**Πίνακας 13**). Αυτές οι συσχετίσεις δεν άλλαξαν μετά από περαιτέρω προσαρμογή για την hs-CRP και τη υπολιπιδαιμική αγωγή (**Πίνακας 13**).

Οι συσχετίσεις αυτές δεν ήταν σημαντικές στον πληθυσμό με κλινικά έκδηλη ΚΑΝ, τόσο στους ασθενείς με ΟΣΣ όσο και με σταθερή ΣΝ. (**Πίνακας 14**)

Εικόνα 21. Πίνακας συσχέτισης για τα επίπεδα του Ab40 σε ολόκληρο τον πληθυσμό (A, C) και σε ασθενείς με $GFR \geq 60 \text{ ml/min/m}^2$ (B, D) για το GSM πλακών και IMT σε ασθενείς χωρίς ΚΑΝ. Οι τιμές P προκύπτουν από τον συντελεστή συσχέτισης κατάταξης του Spearman. Ab40: Αμυλοειδές-β 40, GSM: διάμεσος γκριζας κλίμακας, IMT: σύμπλεγμα έσω-μέσου χιτώνα.



Πίνακας 13. Συσχέτιση των επιπέδων Αβ40 με δείκτες καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης σε ασθενείς χωρίς ΚΑΝ (N=342)

| | Μοντέλο 1 | Μοντέλο 2 |
|--|--------------------------------|--------------------------------|
| | OR (95% CI) | |
| Μέγιστη επιφάνεια πλάκας (υψηλότερο τριτημόριο) | 3.81 (1.35 / 10.75) P=0.011 | 4.01 (1.34 / 12.02) P=0.013 |
| Συνολική επιφάνεια πλάκας (υψηλότερο τριτημόριο) | 4.68 (1.68 / 14.21) P=0.002 | 5.69 (1.77 / 18.22) P=0.003 |
| IMT GSM * (χαμηλότερο τριτημόριο) | 2.54 (1.35 / 4.79) P=0.004 | 4.40 (1.49 / 13.02) P=0.007 |
| GSM Πλάκας* (χαμηλότερο τριτημόριο) | 4.78 (1.69 / 13.52) P=0.025 | 7.20 (2.08 / 24.92) P=0.002 |

Το OR αντιπροσωπεύει την αναλογία πιθανοτήτων για έναν ασθενή με επίπεδα Αβ40 στο υψηλότερο τριτημόριο να έχει καρωτιδικούς αθηροσκληρωτικούς δείκτες (συνολική και μέγιστη επιφάνεια πλάκας) στο υψηλότερο τριτημόριο και GSM στο χαμηλότερο σε σύγκριση με τους αντίστοιχους ασθενείς με χαμηλά επίπεδα Αβ40 (δηλ. χαμηλότερα τριτημόρια).

Το πολυπαραγοντικό μοντέλο 1 περιλαμβάνει το φύλο, την ηλικία, την κατάσταση καπνίσματος, το ιστορικό υπέρτασης, τη δυσλιπιδαιμία, το ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη και τον ρυθμό σπειραματικής διήθησης. Μοντέλο 2: Μοντέλο 1 συν τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και τη υπολιπιδαιμική αγωγή.

*Το πολυπαραγοντικό μοντέλο για το IMT και το GSM της πλάκας περιλαμβάνει επίσης το άθροισμα του πάχους του καρωτιδικού τοιχώματος

Συντομογραφίες: hs-CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας, GSM: διάμεσος της κλίμακας του γκρι, IMT: πάχος έσω-μέσο χιτώνα.

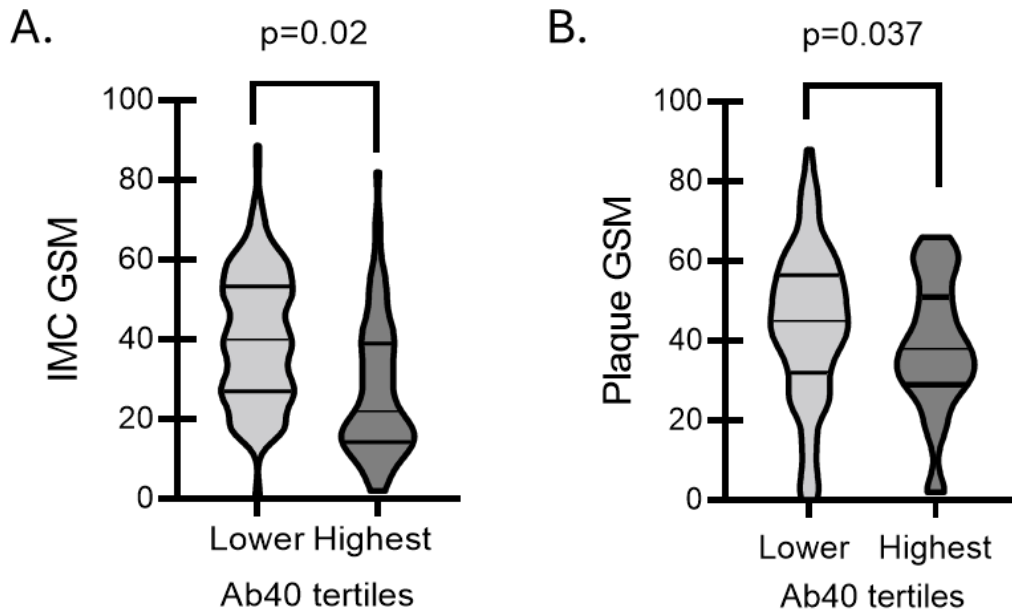
Πίνακας 14. Συσχέτιση των επιπέδων Αβ40 με δείκτες καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης σε ασθενείς με κλινικά έκδηλη ΚΑΝ (N=135)

| | ΟΣΣ (n=52) | Σταθερή ΣΝ (n=83) |
|--|------------------------------|------------------------------|
| | OR (95% CI) | |
| Μέγιστη επιφάνεια πλάκας (υψηλότερο τριτημόριο) | 1.40 (0.37 / 5.27) P=0.62 | 0.97 (0.35 / 2.67) P=0.95 |
| Συνολική επιφάνεια πλάκας (υψηλότερο τριτημόριο) | 2.0 (0.52 / 7.71) P=0.31 | 0.88 (0.31 / 2.45) P=0.81 |
| IMT GSM * (χαμηλότερο τριτημόριο) | 1.45 (0.4 / 5.26) P=0.57 | 1.69 (0.64 / 4.49) P=0.29 |
| GSM Πλάκας* (χαμηλότερο τριτημόριο) | 0.8 (0.20 / 3.37) P=0.76 | 1.41 (0.50 / 3.99) P=0.51 |

Το OR αντιπροσωπεύει την αναλογία πιθανοτήτων για έναν ασθενή με επίπεδα Αβ40 στο υψηλότερο τριτημόριο να έχει καρωτιδικούς αθηροσκληρωτικούς δείκτες (συνολική και μέγιστη επιφάνεια πλάκας) στο υψηλότερο τριτημόριο και GSM στο χαμηλότερο σε σύγκριση με τους αντίστοιχους ασθενείς με χαμηλά επίπεδα Αβ40 (δηλ. χαμηλότερα τριτημόρια).

Συντομογραφίες: ΟΣΣ: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, ΣΝ: στεφανιαία νόσος, GSM: διάμεσος της κλίμακας του γκρι, IMT: πάχος έσω-μέσου χιτώνα.

Εικόνα 22. Διαγράμματα Violin των διαφορών στο IMT και στο GSM της πλάκας ανά τεταρτημόριο Αβ40 σε ασθενείς χωρίς ΚΑΝ. Οι τιμές P-values προέρχονται από ανεξάρτητα δείγματα Mann-Whitney συγκρίνοντας τις τιμές GSM μεταξύ του υψηλότερου έναντι του χαμηλότερου και του μεσαίου τριτημορίου των επιπέδων Αβ40. Αβ40: Αμυλοειδές-β 40, GSM: διάμεσος γκριζας κλίμακας, IMT: πάχος έσω-μέσου χιτώνα.



Προοπτική ανάλυση. Τα επίπεδα Αβ40 στο πλάσμα σχετίζονται με τις αλλαγές στην ηχοδιαύγεια της πλάκας και την έκταση της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης.

Μετά από διάμεση παρακολούθηση 35.5 μηνών, οι υπερηχογραφικές μετρήσεις καρωτίδων επαναλήφθηκαν με το ίδιο πρωτόκολλο σε μια υποομάδα των ασθενών χωρίς ΚΑΝ (n=148). Οι ασθενείς με διαθέσιμες μετρήσεις παρακολούθησης για τη μελέτη δεν διέφεραν από εκείνους με διαθέσιμες μόνο τις αρχικές μετρήσεις (**Πίνακας 15**). Τόσο η μέγιστη επιφάνεια της πλάκας όσο και η συνολική επιφάνεια της πλάκας αυξήθηκαν σημαντικά σε n=148 ασθενείς, ενώ η IMT και το GSM της πλάκας δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά (**Πίνακας 16**). Ωστόσο, σε n=70 και n=23 ασθενείς, το IMT GSM και το GSM της πλάκας μειώθηκαν επίσης, αντίστοιχα (**Πίνακας 16**). Τα επίπεδα του Αβ40 συσχετίστηκαν με το χαμηλότερο IMT GSM και με το GSM της πλάκας κατά την παρακολούθηση (**Εικόνα 23A-B**) και με τις αλλαγές στο GSM της πλάκας στην ομάδα των ασθενών με επίμονα χαμηλό / μειούμενο GSM (**Εικόνα 23Γ**). Οι μεταβολές στο IMT GSM και στις δύο ομάδες και στο GSM της πλάκας στην ομάδα του επίμονα υψηλού / αυξανόμενου GSM δεν συσχετίστηκαν με τα επίπεδα Αβ40 (**Εικόνα 23D-F**). Είναι σημαντικό ότι τα αυξημένα επίπεδα Αβ40 συσχετίστηκαν με μειούμενα ή επίμονα χαμηλά επίπεδα GSM της IMT και της πλάκας (OR= 2.78 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.46, 3.68, p=0.002 για το IMT GSM και OR=4.5 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 95% CI: 1.63, 12.44, p=0.004, για το GSM της πλάκας) (**Πίνακας 17, Εικόνα 24**) κατά την παρακολούθηση μετά από προσαρμογή για το μοντέλο πυρήνα και το άθροισμα του πάχους του καρωτιδικού τοιχώματος. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα Αβ40 συσχετίστηκαν με υψηλότερες πιθανότητες για αυξημένο ή επίμονα υψηλό φορτίο καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης (OR=4.49 95% αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 CI: 1.54, 13.09, p=0.006 για την μεταβολή της μέγιστης επιφάνειας της πλάκας και OR=5.15 αύξηση για τα υψηλότερα έναντι των χαμηλότερων τριτημορίων Αβ40 αύξηση 95% CI: 1.70, 15.58, p=0.004 για την μεταβολή του συνόλου της επιφάνειας της πλάκας) κατά την παρακολούθηση μετά από προσαρμογή για το βασικό μοντέλο (**Πίνακας 17**). Αυτές οι συσχετίσεις δεν άλλαξαν ουσιαστικά μετά από περαιτέρω προσαρμογή για την hs-CRP και τη υπολιπιδαιμική αγωγή (**Πίνακας 17**), ενώ η αλληλεπίδραση μεταξύ φύλου και επιπέδων Αβ40 δεν είχε σημαντική επίδραση στους καρωτιδικούς δείκτες (p>0.05 για όλους).

Πίνακας 15. Σύγκριση των χαρακτηριστικών των ασθενών χωρίς διαθέσιμη παρακολούθηση (n=194) και με διαθέσιμη παρακολούθηση (n=148) μετρήσεις των αγγειακών δεικτών σε ασθενείς χωρίς ΚΑΝ

| | Ασθενείς χωρίς παρακολούθηση (n=194) | Ασθενείς με διαθέσιμη παρακολούθηση (n=148) | p-value |
|------------------------------|--------------------------------------|---|---------|
| Φύλο (αρσενικό) | 80 (41.2) | 60 (40.5) | 0.768 |
| Ηλικία (έτη) | 58.1 (14.5) | 56.7 (8.8) | 0.377 |
| Κάπνισμα, % | 62 (33.5) | 42 (28.7) | 0.671 |
| Υπέρταση, % | 75 (38.7) | 52 (35.1) | 0.314 |
| Υπερλιπιδαιμία, % | 98 (50.5) | 66 (44.5) | 0.264 |
| Υπολιπιδαιμική αγωγή, % | 49 (25.3) | 35 (23.6) | 0.454 |
| Σακχαρώδης διαβήτης, % | 29 (14.9) | 13 (8.8) | 0.153 |
| ΔΜΣ (kg/m) ² | 27.7 (4.5) | 27.3 (5.0) | 0.481 |
| GFR (ml/m ² /min) | 113.7 (43.9) | 121.9 (38.6) | 0.120 |
| LDL-C (mg/dl) | 128.0 (42.8) | 135.2 (36.7) | 0.142 |
| ΣΑΠ (mmHg) | 126.7 (18.3) | 129.3 (19.7) | 0.249 |
| DBP (mmHg) | 73.4 (10.9) | 72.0 (10.8) | 0.283 |

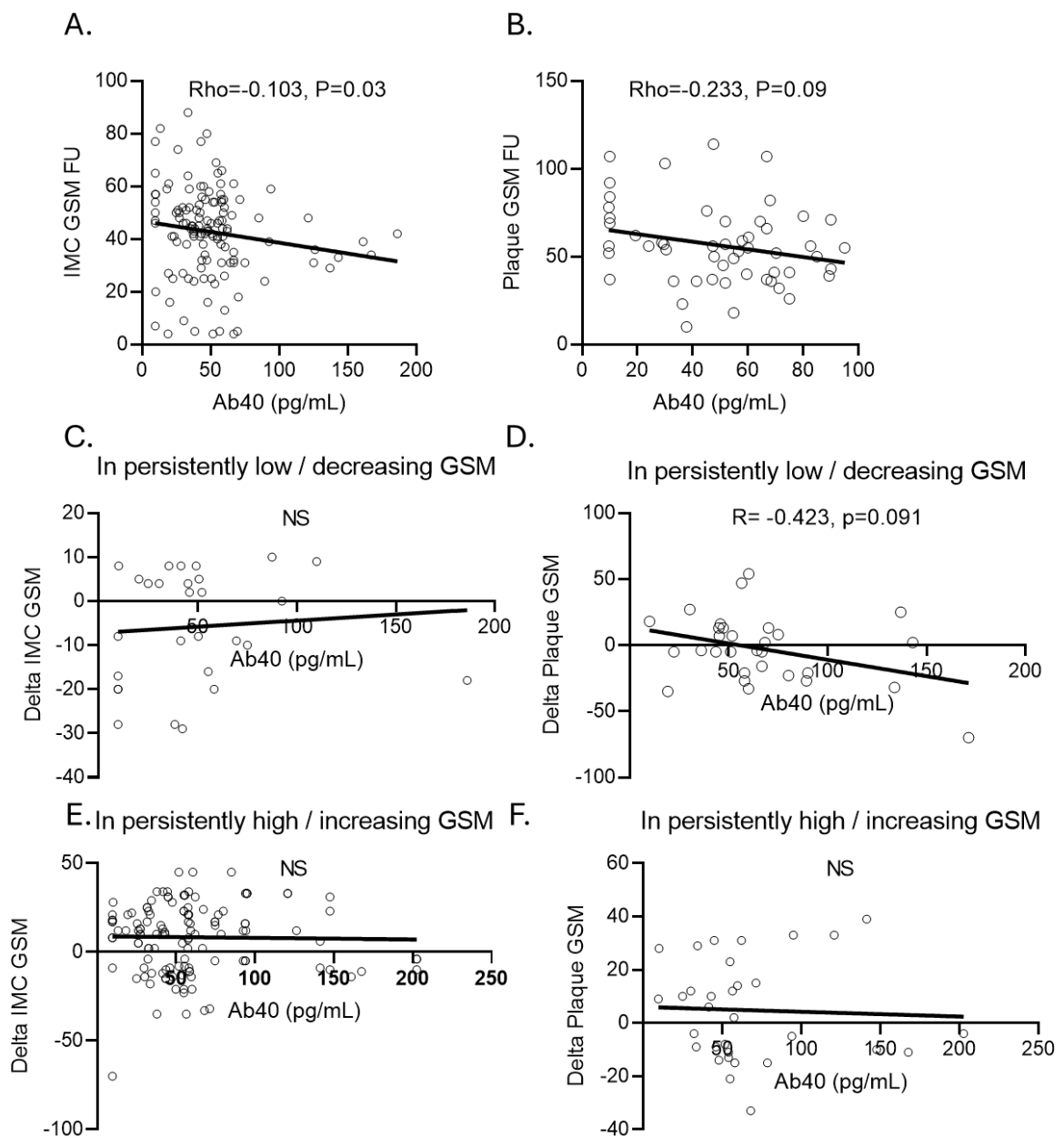
Οι τιμές P-values προκύπτουν από το ανεξάρτητο t-test του Student για τις συνεχείς μεταβλητές και το τεστ chi squared του Pearson για τις κατηγορικές μεταβλητές. ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, GFR: ρυθμός σπειραματικής διήθησης, LDL-C: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, HDL-C: χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας, SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση.

Πίνακας 16. Σύγκριση των αγγειακών δεικτών μεταξύ της αρχικής και της παρακολούθησης σε ασθενείς χωρίς ΚΑΝ

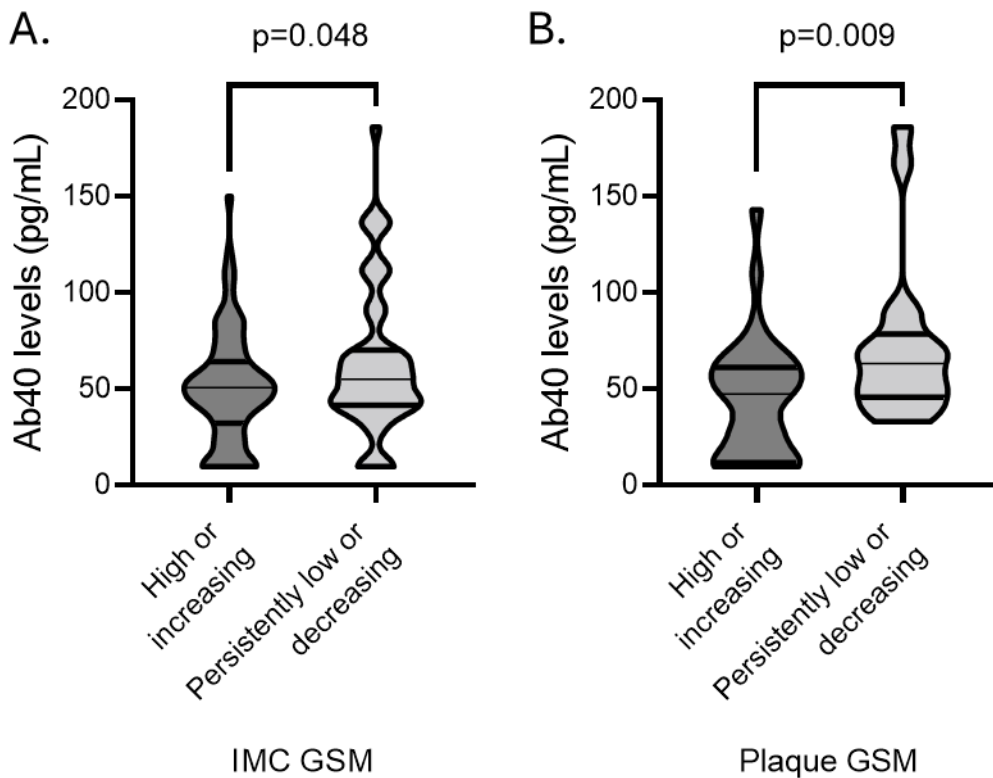
| | Αρχική γραμμή (N=342) | Παρακολούθηση (N=148) | p-value |
|--|-----------------------|--------------------------|---------|
| Μέγιστη επιφάνεια πλάκας, [mm ²], διάμεσος (IQR) | 24.8 (15.8, 41.9) | 37.1 (24.1, 63.94) | 0.007 |
| Συνολική επιφάνεια πλάκας, [mm ²], διάμεσος (IQR) | 34.4 (18.0, 61.9) | 64.2 (31.5, 121.7) | 0.015 |
| .IMT GSM, διάμεσος (IQR) | 23.0 (15.0, 37.0) | 20.5 (16.5, 26.0) | 0.633 |
| Πλάκα GSM, διάμεσος (IQR) | 43.0 (31.0, 55.0) | 36.0 (28.0, 50.5) | 0.936 |
| Σε ασθενείς με αυξανόμενο .IMT GSM n=78 / plaque GSM n=25 | | | |
| .IMT GSM, διάμεσος (IQR) | 34.0 (25.0, 43.0) | 27.0 (23.0, 21.0) | 0.186 |
| Πλάκα GSM, διάμεσος (IQR) | 50.5 (42.7, 61.0) | 47.1 (32.7-67.7) | 0.292 |
| Σε ασθενείς με φθίνουσα .IMT GSM n=70 / plaque GSM n=23 | | | |
| IMT GSM, διάμεσος (IQR) | 19.0 (13.0, 31.0) | 15.0 (13.0, 16.5) | 0.083 |
| Πλάκα GSM, διάμεσος (IQR) | 31.0 (27.0, 37.0) | 25.0 (14.5, 31.0) | 0.01 |

.IMT: intima-media thicknss, GSM: gray scale median. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος (SD). Η τιμή P προέκυψε από το Wilcoxon Signed Rank Test.

Εικόνα 23. Διάγραμμα διασποράς για τη συσχέτιση των επιπέδων Ab40 με: A. .IMT και B. GSM πλάκας κατά την παρακολούθηση. Μεταβολές στην .IMT (C, E) και μεταβολές στο GSM της πλάκας (D, F) σε ασθενείς με επίμονα χαμηλά / μειούμενα επίπεδα GSM και επίμονα υψηλά / αυξανόμενα επίπεδα GSM. Οι τιμές P προκύπτουν από τον συντελεστή συσχέτισης Spearman's rank correlation coefficient. Ab40: Αμυλοειδές β-40, GSM: διάμεσος γκρίζας κλίμακας, IMT: πάχος έσω-μέσου χιτώνα, Delta: Διαφορά μεταξύ της παρακολούθησης και της αρχικής γραμμής.



Εικόνα 24. Διαγράμματα Violin των επιπέδων Αβ40 με βάση το χαμηλό / μειούμενο GSM έναντι του υψηλού / αυξανόμενου Α. IMT GSM και Β. plaque GSM (δηλ. χαμηλότερο έναντι υψηλότερου τριτημορίου). Οι τιμές P-values προέρχονται από ανεξάρτητα δείγματα Mann-Whitney που συγκρίνουν τις τιμές GSM μεταξύ των υψηλότερων vs. χαμηλότερων και μεσαίων τριτημορίων των επιπέδων Αβ40. Αβ40: Αμυλοειδές-βήτα 40, GSM: διάμεσος γκριζας κλίμακας, IMT: πάχος έσω-μέσου χιτώνα.



Πίνακας 17. Συσχέτιση των επιπέδων Αβ40 με την εξέλιξη των δεικτών καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης (n=148) σε ασθενείς χωρίς ΚΑΝ

| Καρωτιδική αθηροσκλήρωση | Μοντέλο 1 | Μοντέλο 2 |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| Μοτίβο αύξησης ή επίμονα υψηλότερο τριτημόριο του | OR (95% CI) | |
| Μέγιστη περιοχή πλάκας | 4.49 (1.54 / 13.09) P=0.006 | 4.80 (1.54 / 15.00) P=0.007 |
| Συνολική επιφάνεια πλάκας | 5.15 (1.70 / 15.58) P=0.004 | 6.39 (1.85 / 22.14) P=0.003 |
| Μοτίβο φθίνουσας ή επίμονα το χαμηλότερο τριτημόριο του | OR (95% CI) | |
| IMT GSM min* | 2.78 (1.46 / 3.68) P=0.002 | 6.08 (1.99 / 19.43) P=0.002 |
| PLQ GSM min* | 4.50 (1.63 / 12.44) P=0.004 | 7.20 (2.08 / 24.92) P=0.002 |

Το OR αντιπροσωπεύει την αναλογία πιθανοτήτων για έναν ασθενή με επίπεδα Αβ40 στο υψηλότερο τριτημόριο να έχει αυξανόμενους ή επίμονα υψηλούς καρωτιδικούς αθηροσκληρωτικούς δείκτες (συνολική και μέγιστη επιφάνεια πλάκας) και μειούμενο ή επίμονα χαμηλό GSM (IMT και πλάκα) σε σύγκριση με τους αντίστοιχους ασθενείς με χαμηλά επίπεδα Αβ40 (δηλ. χαμηλότερα τριτημόρια).

Το πολυπαραγοντικό μοντέλο 1 περιλαμβάνει το φύλο, την ηλικία, την κατάσταση καπνίσματος, το ιστορικό υπέρτασης, τη δυσλιπιδαιμία, το ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη και τον ρυθμό σπειραματικής διήθησης. Μοντέλο 2: Μοντέλο 1 συν τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και τη υπολιπιδαιμική αγωγή.

*Το πολυπαραγοντικό μοντέλο για το IMT και το GSM της πλάκας περιλαμβάνει επίσης το άθροισμα του πάχους του καρωτιδικού τοιχώματος

Συντομογραφίες: hs-CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας, GSM: διάμεσος της κλίμακας του γκρι, IMT: πάχος έσω-μέσο χιτώνα.

Ιστολογική ανάλυση. Τα επίπεδα Αβ40 σχετίζονται με λιγότερο ασβεστοποιημένες και λιγότερες πλάκες χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου.

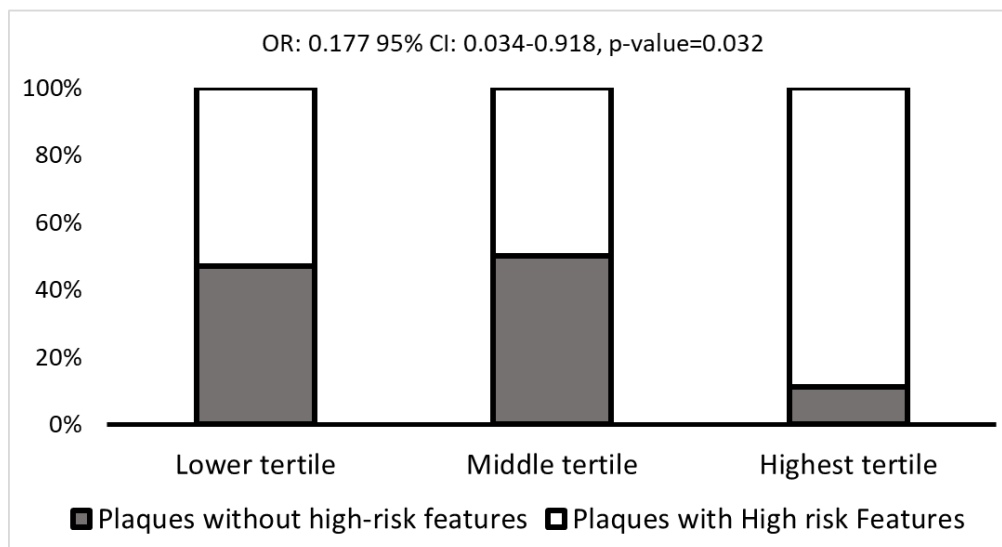
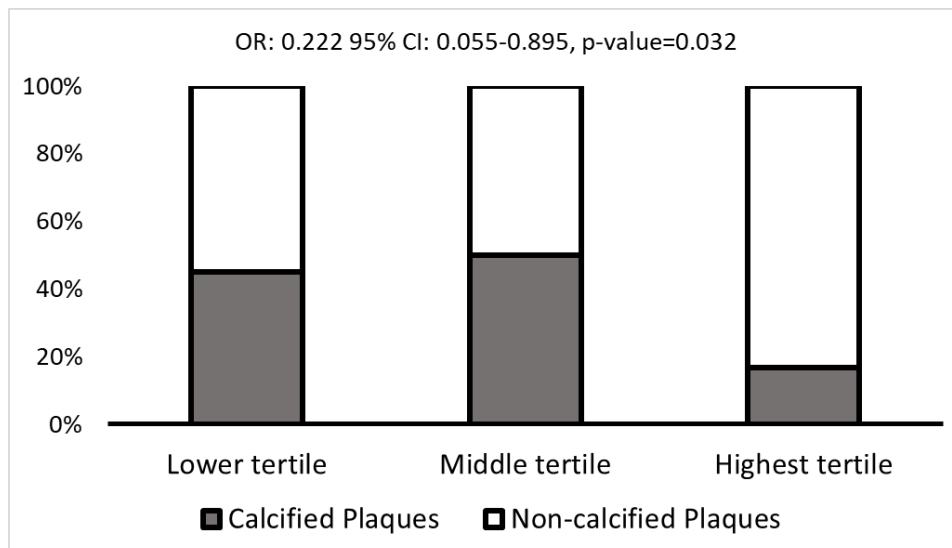
Οι ασθενείς με επίπεδα Αβ40 στο υψηλότερο τριτημόριο είχαν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης $GFR < 60 \text{ ml/min/m}^2$ χωρίς άλλες διαφορές στα δημογραφικά ή κλινικά δεδομένα (Πίνακας 18). Όσον αφορά τον χαρακτηρισμό των πλακών, οι ασθενείς με Αβ40 στο υψηλότερο τριτημόριο είχαν χαμηλότερη επίπτωση αποσαθρωμένων πλακών (16,7% στο υψηλότερο τριτημόριο Αβ40 έναντι 47,8% στα χαμηλότερα τριτημόρια, $p=0.039$, $OR=0,222$ 95% CI: 0. 055-0,895, $p=0.034$, Εικόνα 25A) και χαμηλότερη επίπτωση πλακών χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου (11,1% στο υψηλότερο τριτημόριο έναντι 41,4% στα χαμηλότερα τριτημόρια, $p=0.047$, $OR=0,177$, 95% CI: 0.034, 0,918, $p=0.039$, Εικόνα 25B).

| Πίνακας 18. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού με ενδοαρτηρεκτομή (n=56) ανά τριτημόριο Αβ40 (δηλ. χαμηλότερο έναντι υψηλότερου) | | | |
|---|-------------------|-------------------|---------|
| | Χαμηλότερα (n=38) | Υψηλότερη (n=18) | p-value |
| Φύλο [αρσενικό], n (%) | 17 (44.4) | 6 (33.3) | 0.563 |
| Ηλικία [έτη], μέσος όρος (SD) | 74.4 (8.6) | 76.5 (10.3) | 0.445 |
| Κάπνισμα, n (%) | 10 (26.7) | 2 (11.1) | 0.403 |
| Υπέρταση, n (%) | 37 (97.4) | 17 (94.4) | 0.544 |
| Υπερλιπιδαιμία, n (%) | 8 (21.1) | 4 (22.2) | 1.0 |
| $GFR < 60 \text{ ml/min/m}^2$, n (%) | 5 (13.2) | 7 (38.9) | 0.04 |
| Σακχαρώδης διαβήτης, n (%) | 10 (26.3) | 7 (17.9) | 0.366 |
| Στεφανιαία νόσος, n (%) | 19 (50) | 9 (50) | 1.0 |
| PAD, n (%) | 7 (18.4) | 2 (11.1) | 0.413 |
| Στατίνες, n (%) | 31 (83.8) | 14 (87.5) | 1.0 |
| ACEi, n (%) | 27 (71.2) | 13 (72.2) | 0.385 |
| Αντιαιμοπεταλιακά, n (%) | 34 (89.5) | 16 (88.8) | 0.9 |
| Αμυλοειδές-β 40 [pg/ml], διάμεσος (IQR) | 42 (33.4-53.3) | 98.3 (81.9-131.4) | <0.001 |
| Συμπτωματική καρωτιδική στένωση, n (%) | 22 (57.9) | 12 (39.3) | 0.573 |
| Αγγειογραφική καρωτιδική στένωση $\geq 90\%$, n (%) | 25 (67.6) | 11 (61.1) | 0.764 |
| Ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά της πλάκας | | | |
| Ασβεστοποιημένες πλάκες, n (%) | 18 (47.8) | 13 (16.7) | 0.039 |
| Αιμορραγία, n (%) | 2 (5.3) | 2 (11.1) | 0.587 |
| Εξέλκωση, n (%) | 15 (39.5) | 10 (55.6) | 0.388 |

| | | | |
|--|-----------|----------|-------|
| Θρόμβος, n (%) | 6 (15.8) | 5 (27.8) | 0.305 |
| Πλάκες χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου, n (%) | 16 (41.4) | 2 (11.1) | 0.047 |

Οι τιμές P-values προκύπτουν από το ανεξάρτητο t-test του Student για τις συνεχείς μεταβλητές και το τεστ chi squared του Pearson για τις κατηγορικές μεταβλητές. ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος, GFR: ρυθμός σπειραματικής διήθησης, SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση. Η συμπτωματική καρωτιδική στένωση περιλαμβάνει: παρουσία εγκεφαλικού επεισοδίου, εγκεφαλικών εμφραγμάτων, παροδικών ισχαιμικών επεισοδίων και amaurosis fugax. Οι καρωτιδικές πλάκες κατατάχθηκαν ανάλογα με την παρουσία ιστολογικών συστατικών που σχετίζονται με την ευπάθεια της πλάκας, δηλαδή ενδοπλακική αιμορραγία, έλκος ή θρόμβος ή με τη σταθερότητα της πλάκας, δηλαδή ασβεστοποίηση. Οι πλάκες χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου ορίστηκαν ως ασβεστοποιημένες πλάκες χωρίς κανένα ασταθές χαρακτηριστικό.

Σχήμα 25. Ποσοστό ασθενών με Α. ασβεστωμένες αθηρωματικές πλάκες και Β. Αθηρωματικές πλάκες χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου ανά τριτημόριο Αβ40. Οι τιμές P-values προέρχονται από ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (υψηλότερο έναντι χαμηλότερου τριτημορίου Αβ40).



7. Συζήτηση

Στο πρώτο σκέλος της παρούσας διατριβής, διερευνήσαμε τον ρόλο των επιπέδων του Αβ40 στο πλάσμα στην εμμηνόπαυση, δείχνοντας ότι το Αβ40 σχετίζεται με αυξημένο επιπολασμό, έκταση και εξέλιξη της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης, ανεξάρτητα από το ορμονικό προφίλ των γυναικών. Πρόκειται για τα πρώτα στοιχεία που δείχνουν ότι ένα μοτίβο αυξανόμενων ή επίμονα υψηλών επιπέδων Αβ40 στο πλάσμα σχετίζεται με επιταχυνόμενο ρυθμό εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης με την πάροδο του χρόνου στον άνθρωπο, ανεξάρτητα από τα βασικά του επίπεδα, υποστηρίζοντας την υπόθεση του κομβικού του ρόλου στη συνέχεια της ανθρώπινης αθηρωματικής νόσου²⁶⁹. Έτσι, τα ευρήματα αυτά παρέχουν απόδειξη της έννοιας ότι το πεπτίδιο αυτό εμπλέκεται στην αθηροσκλήρωση και επομένως θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω η προγνωστική του αξία στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, έναν πληθυσμό με σημαντικό μη αναγνωρισμένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου πέραν των TRFs. Η εμμηνόπαυση σχετίζεται με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης αθηροσκλήρωσης και ανεπιθύμητων καρδιαγγειακών συμβαμάτων²⁷⁰⁻²⁷⁵. Ωστόσο, με τη χρήση μόνο συνολικών βαθμολογιών καρδιαγγειακού κινδύνου με βάση τους TRFs, ο κίνδυνος μπορεί να υποεκτιμάται στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες^{40,273-280}. Αυτό μπορεί να αποδοθεί σε ειδικούς για την εμμηνόπαυση παράγοντες κινδύνου και σε διαφορετικές συσχετίσεις των TRFs με την πρόκληση ανεπιθύμητων συμβάντων^{275,281,282}. Για το σκοπό αυτό, η προγνωστική αξία νέων παραγόντων κινδύνου, όπως η hsCRP, έχει δοκιμαστεί σε τροποποιημένες βαθμολογίες κινδύνου σε γυναίκες που οδηγούν σε βελτιωμένη διαστρωμάτωση του κινδύνου²⁷⁸. Παρά τις προσπάθειες αυτές, δεν έχει καθιερωθεί μέχρι σήμερα ένα ευρέως αποδεκτό προφίλ παραγόντων κινδύνου που να προβλέπει με ακρίβεια τον κίνδυνο σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες^{283,284}. Συνεπώς, η αναγνώριση νέων μονοπατιών που μεσολαβούν στην αθηρωματική νόσο και των σχετικών μορίων που θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες κινδύνου σε μετεμμηνοπαυσιακούς πληθυσμούς είναι κλινικά απαραίτητη για τη βελτίωση της διάκρισης των γυναικών υψηλού κινδύνου που έχουν ανάγκη επιθετικών προληπτικών μέτρων.

Το Αβ40 είναι ένα πεπτίδιο που αναγνωρίστηκε αρχικά ως το κύριο μόριο που εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της εγκεφαλικής αγγειοπάθειας του αμυλοειδούς (CAA) και σε συνδυασμό με το Αβ1-42 ως βασικός παράγοντας στη νόσο του Alzheimer²⁶⁹. Είναι ενδιαφέρον ότι το Αβ40 σχετίζεται αρνητικά με τη γήρανση, τη CAA και την αρτηριακή νόσο²⁶⁹. Το Αβ40 εμπλέκεται σε πολλαπλές διεργασίες της αθηρωματικής νόσου, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης των ενδοθηλιακών κυττάρων, της

συσταλτικότητας των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων, της προσκόλλησης, μετανάστευσης και μετατροπής των μονοκυττάρων, της ενεργοποίησης και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και της αποσταθεροποίησης και ρήξης της πλάκας²⁶⁹ υποδεικνύοντας ότι αυτό το πεπτίδιο εμπλέκεται σε πολλαπλά στάδια της συνέχειας της αθηροσκλήρωσης. Ο ρόλος του Αβ40 στην αρτηριακή νόσο έχει πρόσφατα αναδειχθεί σε κλινικές μελέτες από την ομάδα μας και άλλους ερευνητές²⁸⁵, που δείχνουν ότι τα επίπεδα του Αβ40 στο πλάσμα συνδέονται με την παρουσία και την έκταση της αθηροσκλήρωσης στο γενικό πληθυσμό και σε ασθενείς με ΚΑΝ^{205,206,232}. Τα αποτελέσματα αυτών των μελετών υποδηλώνουν ότι το Αβ40 μπορεί να διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη συνέχεια της αθηροσκλήρωσης και στον άνθρωπο, ξεκινώντας από τις πρώιμες λειτουργικές και δομικές αλλαγές, όπως η αύξηση του IMT και η αρτηριακή δυσκαμψία ^{205,206} έως την προχωρημένη αθηροσκληρωτική νόσο και τα κλινικά επακόλουθά της^{206,232}. Ωστόσο, η συσχέτιση του Αβ40 με την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης με την πάροδο του χρόνου, η οποία θα παρείχε μια πιο στέρεη μεταφραστική υποστήριξη των πειραματικών στοιχείων, ήταν άγνωστη.

Συγκεκριμένα, αν και η ρύθμιση του μεταβολισμού του Αβ40 είναι πολυπαραγοντική, συμπεριλαμβανομένης της δραστηριότητας των ενζύμων αποικοδόμησης, της νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας, της απολιποπρωτεΐνης E, της φαρμακευτικής αγωγής και της στέρησης ύπνου, η γήρανση είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας των κυκλοφορούντων επιπέδων του²⁶⁹. Κατά συνέπεια, κατά μέσο όρο τα επίπεδα του Αβ40 στο πλάσμα αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου^{206,286,287} στον άνθρωπο, αλλά η κλινική σημασία των προτύπων μεταβολής του Αβ40 δεν έχει διερευνηθεί. Στην παρούσα εργασία αποδεικνύουμε ότι ένα μοτίβο αυξανόμενων ή επίμονα υψηλών επιπέδων του Αβ40 με την πάροδο του χρόνου σχετίζεται με την επιταχυνόμενη εξέλιξη της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης. Είναι σημαντικό ότι η συσχέτιση αυτή ήταν ανεξάρτητη από την αρχική τιμή του Αβ40, η οποία με τη σειρά της παρουσίασε λιγότερο ισχυρές συσχετίσεις με την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Έτσι, το εύρημα αυτό παρέχει έναν πιθανό νέο κλινικό ρόλο για την παρακολούθηση των επιπέδων του Αβ40 στο πλάσμα, υποδηλώνοντας ότι το Αβ40 εμπλέκεται ενεργά στην αθηρωματική συνέχεια. Περαιτέρω, αποδεικνύουμε ότι οι κύριοι προσδιοριστικοί παράγοντες των επιπέδων Αβ40 στο πλάσμα σε αυτές τις γυναίκες είναι η γήρανση της κοόρτης και η φθίνουσα νεφρική λειτουργία. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα επίπεδα του DHEAS στον ορό, ενός ασθενούς ανδρογόνου που παράγεται κυρίως από τα επινεφρίδια και θεωρείται δείκτης γήρανσης ^{288,289}, συσχετίστηκαν επίσης ανεξάρτητα με το Αβ40 υποστηρίζοντας τις ιδιότητες αυτού

του πεπτιδίου ως υποκατάστατου δείκτη συστηματικής γήρανσης στην εμμηνόπαυση. Το εύρημα σχετικά με τη νεφρική λειτουργία συμφωνεί με καθιερωμένα στοιχεία που δείχνουν ότι η κάθαρση του Αβ40 εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη νεφρική δυσλειτουργία^{206,269} καθώς και τις συσχετίσεις που αναφέρθηκαν προηγουμένως μεταξύ των κυκλοφορούντων επιπέδων του Αβ40 και της νεφρικής λειτουργίας²⁹⁰⁻²⁹² σε άλλους πληθυσμούς^{205,206,232,269}. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι το Αβ40 μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης της φθίνουσας νεφρικής λειτουργίας στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, γεγονός που δικαιολογεί περαιτέρω διερεύνηση για την επιβεβαίωση αυτής της υπόθεσης. Από την άλλη πλευρά, ο ρόλος της νεφρικής δυσλειτουργίας ως παράγοντα που συμβάλλει στη συσχέτιση του Αβ40 με την επιτάχυνση της αθηροσκλήρωσης δεν ήταν εμφανής στον πληθυσμό μας, δεδομένου ότι τα ευρήματά μας ήταν ανεξάρτητα από τον GFR. Αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενα ευρήματα που συνδέουν το Αβ40 με δείκτες υποκλινικής αθηρωμάτωσης²⁰⁵ και αγγειακής δυσλειτουργίας²⁰⁶ καθώς και με τη θνησιμότητα^{206,232}, ανεξάρτητα από τη νεφρική λειτουργία, υποστηρίζοντας έναν άμεσο ρόλο του Αβ40 στη ΚΑΝ. Σημειωτέον, η συσχέτιση του Αβ40 με την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης δεν μεταβλήθηκε μετά από προσαρμογή για την αρχική τιμή της E2, της SHBG ή της τεστοστερόνης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η συσχέτιση αυτή δεν οφείλεται στο ορμονικό περιβάλλον της εμμηνόπαυσης. Ωστόσο, δεδομένου ότι ήταν διαθέσιμος περιορισμένος αριθμός μετρήσεων των ορμονικών επιπέδων, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης ανάλυσης θα πρέπει να επικυρωθούν περαιτέρω. Συνολικά, τα ευρήματά μας παρέχουν νέες πληροφορίες σχετικά με τη σχέση μεταξύ του Αβ40 και της επιταχυνόμενης αθηροσκλήρωσης στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η οποία δεν συγγέεται από τα βασικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την εμμηνόπαυση ή από τη γήρανση ή τη νεφρική λειτουργία που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τον μεταβολισμό του. Είναι σημαντικό ότι διάφορες παρεμβάσεις μπορούν να επηρεάσουν το Αβ40 και τον μεταβολισμό του, όπως οι τροποποιήσεις του τρόπου ζωής, οι εκτός στόχου επιδράσεις των συστηματικά χρησιμοποιούμενων καρδιαγγειακών φαρμάκων²⁶⁹ καθώς και φάρμακα που στοχεύουν ειδικά το Αβ40²⁹³. Έτσι, τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να χρησιμεύσουν ως απόδειξη της έννοιας για την περαιτέρω αξιολόγηση της κλινικής χρησιμότητας των επιπέδων του Αβ40 στο πλάσμα ως βιοδείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου σε αυτόν τον πληθυσμό.

Θα πρέπει να αναγνωριστούν ορισμένοι περιορισμοί όσον αφορά το πρώτο σκέλος της μελέτης. Ο σχεδιασμός αυτής της μελέτης, που είναι μια μη παρεμβατική μελέτη παρατήρησης, δεν επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων για αιτιώδεις σχέσεις.

Επιπλέον, σύμφωνα με προηγούμενους σχεδιασμούς μελετών ^{262,263} αξιολογήσαμε τη μεταβολή του Αβ40 σε δύο χρονικές στιγμές. Ωστόσο, η συμπερίληψη μιας μόνο επίσκεψης παρακολούθησης ενδέχεται να περιορίσει τη διαθεσιμότητα ορισμένων χρονο-εξαρτώμενων δεδομένων. Τέλος, θα πρέπει να συζητηθούν τα πλεονεκτήματα και οι περιορισμοί της χρήσης των δεικτών καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης ως υποκατάστατων συμβαμάτων ΚΑΝ σε αυτή τη μελέτη. Η αξιολόγηση της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης παρέχει διάφορα πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένης της άμεσης *in vivo* μηχανικής γνώσης σχετικά με τη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης και της έμμεσης προγνωστικής εκτίμησης του καρδιαγγειακού κινδύνου ²⁹⁴. Σημειωτέων, αξιολογήσαμε το συνδυασμό του καρωτιδικού ΙΜΤ και των αθηρωματικών πλακών σε όλες τις περιοχές αντί του κοινού καρωτιδικού ΙΜΤ²⁹⁵ μόνο, δεδομένου ότι αντικατοπτρίζει το συνολικό καρωτιδικό αθηρωματικό φορτίο, σχετίζεται αυξητικά με τα καρδιαγγειακά συμβάντα^{296,297}, βελτιώνει από κοινού τη διαστρωμάτωση κινδύνου σε σχέση με τη βαθμολογία κινδύνου Framingham^{77,257,298} και η εκτίμηση του φορτίου των καρωτιδικών πλακών μπορεί να καθοδηγήσει στη σωστή έναρξη αγωγής με στατίνη ειδικά σε ασθενείς ενδιάμεσου καρδιαγγειακού κινδύνου²⁹⁹. Έτσι, τα ευρήματά μας υποδηλώνουν ότι τα μοτίβα αυξανόμενης ή επίμονα υψηλής Αβ40 στην εμμηνόπαυση μπορεί επίσης να σχετίζονται με δυσμενή καρδιαγγειακά συμβάντα. Ωστόσο, οι υποκατάστατοι δείκτες δεν μπορούν να αντικαταστήσουν τις προοπτικές αναλύσεις των δυσμενών καρδιαγγειακών εκβάσεων και, ως εκ τούτου, δικαιολογούνται επιδημιολογικές μελέτες για την περαιτέρω αξιολόγηση αυτής της υπόθεσης στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

Συμπερασματικά, το πρώτο σκέλος της μελέτης καταδεικνύει ότι ένα μοτίβο αυξανόμενων ή επίμονα υψηλών επιπέδων Αβ40 σχετίζεται με την παρουσία, την έκταση και τον ρυθμό εξέλιξης της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες παραμένουν ένας πληθυσμός με σημαντικό μη αναγνωρισμένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου πέραν των TRF και ότι το κυκλοφορούν Αβ40 παρέχει προγνωστική και επαναταξινομητική αξία σε άλλους πληθυσμούς, τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι το Αβ40 εμπλέκεται στη συνέχεια της αθηροσκλήρωσης στην εμμηνόπαυση και δικαιολογούν περαιτέρω έρευνα για τον κλινικό προγνωστικό του ρόλο σε αυτόν τον πληθυσμό.

Στην μελέτη για την ηχογένεια της αθηρωματικής πλάκας, αναφέρουμε για πρώτη φορά σε ανθρώπους ότι τα επίπεδα του Αβ40 στο πλάσμα σχετίζονται α. με την ηχοδιαύγεια της πλάκας, έναν υπερηχογραφικό δείκτη αστάθειας της πλάκας, σε ασθενείς χωρίς

κλινικά εμφανή ΚΑΝ και β. με ιστολογικά χαρακτηριστικά χαμηλότερης ασβεστοποίησης της πλάκας και χαμηλότερης συχνότητας εμφάνισης πλακών χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου σε σοβαρά στενωτικές πλάκες ασθενών που υποβλήθηκαν σε ενδοαρτηρεκτομή. Είναι σημαντικό ότι οι υπερηχογραφικές συσχετίσεις παρέμειναν με την πάροδο του χρόνου για μια διάμεση παρακολούθηση 35.5 μηνών. Τέλος, επιβεβαιώσαμε ότι τα επίπεδα του Αβ40 σχετίζονται με την εξέλιξη της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης όχι μόνο στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, όπως είχε αναφερθεί στο πρώτο σκέλος της μελέτη³⁰⁰, αλλά και σε έναν ευρύτερο πληθυσμό ασθενών με παράγοντες κινδύνου και χωρίς εγκατεστημένη ΚΑΝ.

Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι τα αυξημένα επίπεδα Αβ40 σχετίζονται με ηχοδιαυγές καρωτιδικό τοίχωμα. Παρόλο που η κλινική αξία του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα εξακολουθεί να είναι αμφισβητήσιμη^{52,60}, η αξιολόγηση της καρωτιδικής πλάκας έχει καθιερωθεί ως επαυξητικός παράγοντας καρδιαγγειακού κινδύνου από τις κατευθυντήριες οδηγίες της ESC, επιτρέποντας την επανααναταξινόμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου των ασθενών και την εντατικότερη θεραπεία σε σχέση με τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου ΚΑΝ^{52,60}. Πέρα από τις προηγουμένως αναφερθείσες συσχετίσεις του Αβ40 με την παρουσία, την έκταση και την εξέλιξη της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης που ήταν επίσης εμφανείς στην παρούσα μελέτη^{205,206,300}, αναφέρουμε περαιτέρω σημαντικά δεδομένα σχετικά με τη συσχέτιση της Αβ40 με δείκτες της σύνθεσης του καρωτιδικού τοιχώματος (ΙΜΤ και πλάκα). Η ηχοφάνεια των καρωτιδικών πλακών αντανακλά μια πιο πλούσια σε λιπίδια πλάκα και θεωρείται δείκτης αστάθειας της πλάκας^{234,235}, ενώ η υψηλή ηχογένεια μπορεί να αντανακλά αυξημένη ασβεστοποίηση^{236,237}. Το GSM είναι η πιο ακριβής μέθοδος για την εκτίμηση της ηχογένειας με αναπαραγωγιμότητα μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών και σε διάφορα χρονικά πλαίσια.²⁵⁴⁻²⁵⁶ και έχει προταθεί για την καθοδήγηση των αποφάσεων σχετικά με την επεμβατική θεραπεία των αποφρακτικών καρωτιδικών βλαβών^{242,259}. Η ηχογένεια του ΙΜΤ και της πλάκας είναι αλληλένδετες³⁰¹, και οι δύο έχουν συσχετιστεί με δυσμενές καρδιαγγειακό προφίλ και αυξημένο κίνδυνο ΚΑΝ^{241,256}, ανεξάρτητα από την έκταση της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης²⁶⁴ και του βαθμού στένωσης του αυλού¹⁰³. Σε πρόσφατες μελέτες, το ΙΜΤ GSM αναγνωρίζεται ως ένας πρόσθετος δείκτης ηχοδιαύγειας του καρωτιδικού τοιχώματος, που σχετίζεται με την αθηροσκλήρωση και την αγγειακή γήρανση και είναι εύκολα μετρήσιμος σε όλους τους συμμετέχοντες ανεξάρτητα από την παρουσία καρωτιδικής πλάκας.^{243,244} Ως εκ τούτου, τα ευρήματά μας σε ασθενείς χωρίς εγκατεστημένη ΚΑΝ, παρέχουν νέα κλινικά μηχανιστικά στοιχεία σχετικά με την προ-

αθηροσκληρωτική επίδραση του Αβ40 και θα υποστηρίξουν την κλινική αξία αυτού του βιοδείκτη σε έναν πληθυσμό πρωτογενούς πρόληψης που χρειάζεται ακριβή διαστρωμάτωση κινδύνου .

Επιπλέον, παρουσιάζουμε τα πρώτα διαχρονικά στοιχεία που δείχνουν ότι η αυξημένη αρχική τιμή του Αβ40 συνδέεται σταθερά με υψηλότερη ηχοδιαύγεια του καρωτιδικού αρτηριακού τοιχώματος με την πάροδο του χρόνου (35.5 μήνες διάμεση παρακολούθηση). Σε συμφωνία με προηγούμενα στοιχεία, κατά μέσο όρο, οι τιμές GSM δεν μεταβλήθηκαν στον πληθυσμό μας^{302,303}. Ωστόσο, οι σταθερές τιμές σε έναν πληθυσμό μπορεί να οφείλονται σε αντίθετες κατευθύνσεις των μεταβολών του GSM σε συγκεκριμένες υποομάδες. Πράγματι, στην υποομάδα μας με επίμονα χαμηλό ή μειούμενο GSM καρωτιδικού τοιχώματος, οι τιμές του GSM έτειναν να μειώνονται, ενώ αυτό το μοτίβο αλλαγής του GSM έχει προταθεί ως δυσμενές χαρακτηριστικό που σχετίζεται με υψηλότερη επίπτωση συμβάντων ΚΑΝ και αυξημένο κίνδυνο γνωστικής δυσλειτουργίας^{302,303}. Ένα άλλο σημείο ενδιαφέροντος, είναι το εύρημά μας ότι τα επίπεδα Αβ40 συσχετίστηκαν με την εξέλιξη της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης σε έναν ευρύτερο πληθυσμό ασθενών με παράγοντες κινδύνου και χωρίς εγκατεστημένη ΚΑΝ από ό,τι σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που είχε αναφερθεί στο πρώτο σκέλος της μελέτης³⁰⁰, επεκτείνοντας τη γενίκευση της παρατηρούμενης συσχέτισης αυτού του πεπτιδίου με την αθηροσκλήρωση στον άνθρωπο. Συλλογικά, τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν μια συνεπή συσχέτιση των επιπέδων του Αβ40 στο πλάσμα με την ηχογένεια του καρωτιδικού τοιχώματος με την πάροδο του χρόνου και γενικεύοντας τα κλινικά στοιχεία που συνδέουν το Αβ40 με την αθηροσκλήρωση στον άνθρωπο σε περισσότερους πληθυσμούς. Από την άλλη πλευρά, απαιτείται περαιτέρω έρευνα σε μεγαλύτερη προοπτική κοόρτη για τη διερεύνηση και επικύρωση της συσχέτισης του Αβ40 με τη μακροπρόθεσμη εξέλιξη προς ένα προφίλ αθηρωματικής πλάκας υψηλού κινδύνου.

Στην παρούσα μελέτη, παρέχουμε την πρώτη ανθρώπινη ιστολογική απόδειξη ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα Αβ40 σχετίζονται με τη σύνθεση της καρωτιδικής πλάκας και συγκεκριμένα με λιγότερο ασβεστοποιημένες πλάκες, ένα χαρακτηριστικό που σχετίζεται με λιγότερο συμπτωματικές πλάκες.^{238,239}, και λιγότερες πλάκες χωρίς χαρακτηριστικά υψηλού κινδύνου. Δεδομένου ότι η αυξημένη ηχογένεια οφείλεται κυρίως στην ασβεστοποίηση^{236,237}, τα αποτελέσματα από το υπερηχογραφικό και το ιστολογικό μέρος της μελέτης μας ευθυγραμμίζονται, υποστηρίζοντας την υπόθεση ότι τα αυξημένα

επίπεδα Αβ40 στο πλάσμα μπορεί να αντανακλούν πιο ευάλωτη σύνθεση του αρτηριακού τοιχώματος που κυμαίνεται από υποκλινικές πρώιμες αθηρωματικές βλάβες της πάχυνσης του έσω-μέσου χιτώνα έως σοβαρές συμπτωματικές πλάκες. Ένα άλλο κοινό εύρημα που παρατηρήθηκε και στις δύο ομάδες ήταν η διαβαθμισμένη και όχι γραμμική συσχέτιση μεταξύ των δεικτών της σύνθεσης του αρτηριακού τοιχώματος και των επιπέδων Αβ40. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στις εγγενείς ιδιότητες των αμυλοειδικών πεπτιδίων, τα οποία παρουσιάζουν υψηλότερη τοξικότητα όταν συσσωρεύονται μονομερή Αβ40, σχηματίζοντας ολιγομερή και προκαλώντας κυτταρική βλάβη πέραν ενός ορίου ουδού συγκέντρωσης ολιγομερών^{304,305}. Προς επίρρωση, παρόμοιες κλιμακωτές συσχετίσεις έχουν αναφερθεί προηγουμένως μεταξύ του Αβ40 και των τελικών σημείων ΚΑΝ^{206,208,212}. Μηχανιστικά, προηγούμενα πειραματικά στοιχεία υποδεικνύουν ότι η Αβ40 εμπλέκεται στο σχηματισμό προχωρημένων και ευάλωτων αθηρωματικών πλακών μέσω της φαγοκυττάρωσης των αιμοπεταλίων, της νεοαγγειογένεσης, της διέγερσης των μονοκυττάρων και του επιταχυνόμενου σχηματισμού αφρωδών κυττάρων^{110,111,121}. Αυτές οι λειτουργίες μπορεί να μεσολαβούν στα κλινικά συμβάματα που συσχετίζονται τα επίπεδα του Αβ40 στο αίμα με μείζονα δυσμενή καρδιαγγειακά συμβάντα ανεξάρτητα από τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου, τις καθιερωμένες βαθμολογίες κινδύνου και τη συστηματική φλεγμονή όπως εκτιμάται με την hs-CRP τόσο σε ασθενείς με σταθερή ΚΑΝ όσο και σε ασθενείς με NSTEMI-ACS.^{206,212}, υποστηρίζοντας την πρόσθετη κλινική χρησιμότητά του ως προγνωστικού βιοδείκτη στην ΚΑΝ. Δεδομένης της συστηματικής φύσης της αθηροσκλήρωσης^{52,60}, τα ευρήματά μας υποστηρίζουν αυτή τη μηχανιστική σύνδεση που συνδέει την Αβ40 με την ευπάθεια της αθηρωματικής πλάκας και τα δυσμενή καρδιαγγειακά συμβάντα, υποδηλώνοντας ότι η Αβ40 εμπλέκεται στη σύνθεση της αθηρωματικής πλάκας πέρα από το φλεγμονώδες φορτίο και άλλους καθιερωμένους προσδιοριστικούς παράγοντες της ηχογένειας της πλάκας^{267,268,306,307}. Ως εκ τούτου, τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν μηχανιστικά τη διερεύνηση του προγνωστικού ρόλου της Αβ40 στον γενικό πληθυσμό και χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης δεδομένου ότι το μέγεθος του πληθυσμού μας και ο σχετικά χαμηλός κίνδυνος ΚΑΝ δεν επέτρεψαν την ανάλυση των συμβάντων. Τέλος, τα ευρήματα αυτά θα μπορούσαν να δώσουν το έναυσμα για περαιτέρω έρευνα που θα αξιολογεί την Αβ40 ως πιθανό θεραπευτικό στόχο. Η τροποποίηση του τρόπου ζωής και διάφορα καρδιαγγειακά φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων των στατινών, των αναστολέων του άξονα αγγειοτενσίνης-ρενίνης, των β-αναστολέων και της αιμοκάθαρσης, έχουν δείξει ότι μπορούν να

διαμορφώσουν τα επίπεδα και τον μεταβολισμό της Αβ40¹¹¹. Η επίδραση των μεταβολών των επιπέδων Αβ40 στη σύνθεση της πλάκας ως απόκριση σε αυτές τις παρεμβάσεις χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Θα πρέπει να αναγνωριστούν ορισμένοι περιορισμοί. Πρώτον, αν και το μέγεθος του δείγματος της μελέτης μας είναι περιορισμένο, παρόμοια μεγέθη δείγματος έχουν χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες μελέτες που διερευνούν τη συσχέτιση βιοδεικτών με την ηχογένεια της πλάκας^{266,308-310}. Ωστόσο, ο περιορισμένος αριθμός ασθενών ειδικά στους ασθενείς με ΚΑΝ θα μπορούσε να εξηγήσει την έλλειψη σημαντικής συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων Αβ40 και των δεικτών αθηρωμάτωσης και ηχογένειας των καρωτιδίων. Η έλλειψη συσχέτισης μεταξύ του Αβ40 και των χαρακτηριστικών του καρωτιδικού τοιχώματος θα μπορούσε να εξηγηθεί επιπλέον από τους πολλαπλούς μηχανισμούς που επιδρούν στην αύξηση της ηχογένειας του καρωτιδικού τοιχώματος όπως η αυξημένη ηλικία³¹¹ και η μείωση του GFR^{267,268} που αυξάνουν την ηχογένεια του τοιχώματος και η θεραπεία με στατίνες που μειώνει επιπλέον το αθηρωματικό φορτίο^{312,313}. Δεδομένου της υψηλής συχνότητας των παραγόντων αυτών στο δείγμα των ασθενών της μελέτης, θα μπορούσαν να συγχέουν την συσχέτιση του Αβ40 με τα χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας στον πληθυσμό αυτό. Συνεπώς, η συσχέτιση του Αβ40 με τα χαρακτηριστικά της αθηρωματικής πλάκας και του τοιχώματος των καρωτιδίων πρέπει να μελετηθεί σε μεγαλύτερες μελέτες κοορτής. Επιπρόσθετα, τα προοπτικά αποτελέσματα ήταν διαθέσιμα σε μια υποομάδα των ασθενών χωρίς ΚΑΝ. Ωστόσο, τα περιγραφικά χαρακτηριστικά μεταξύ των δύο υποομάδων με και χωρίς παρακολούθηση δεν διέφεραν. Επιπλέον, ο σχεδιασμός της παρούσας μελέτης που είναι μια μη παρεμβατική μελέτη παρατήρησης δεν επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων για αιτιώδεις σχέσεις. Επιπλέον, παρά την πολυπαραγοντική προσαρμογή, η υπολειμματική σύγχυση (residual confounding) μπορεί να επηρεάσει την ερμηνεία αυτών των ευρημάτων. Επιπλέον, η συσχέτιση μεταξύ του IMT GSM και των επιπέδων Αβ40 φαίνεται λιγότερο ισχυρή από το GSM της πλάκας. Αυτό δεν είναι απροσδόκητο, δεδομένου ότι το IMT αντικατοπτρίζει πολύ νωρίτερα φαινοτυπικά στάδια της αθηροσκλήρωσης, γεγονός που πιθανώς αποδυναμώνει τη δυνατότητα του Αβ40 να αποτυπώσει την παθοφυσιολογία σε αυτό το επίπεδο. Αν και οι φλεγμονώδεις παράμετροι δεν ήταν διαθέσιμες στην ιστολογική υπομελέτη, στον πληθυσμό χωρίς σοβαρή καρωτιδική στένωση διαπιστώσαμε ότι η συσχέτιση του Αβ40 με το GSM παρέμεινε σημαντική ακόμη και μετά από προσαρμογή των επιπέδων hs-CRP, της υπολιπιδαιμικής αγωγής, του GFR και του φορτίου της καρωτιδικής αθηροσκλήρωσης.

Συμπερασματικά, τα ευρήματά μας παρέχουν υπερηχογραφικά και ιστολογικά στοιχεία που υποδεικνύουν ότι τα επίπεδα του Αβ40 σχετίζονται με δείκτες της σύνθεσης του καρωτιδικού τοιχώματος τόσο στο μη στενωτικό καρωτιδικό αρτηριακό τοίχωμα όσο και στις σοβαρά στενωτικές πλάκες. Περαιτέρω, τα προοπτικά δεδομένα μας υποστηρίζουν αυτά τα ευρήματα υποδεικνύοντας σταθερές συσχετίσεις με την πάροδο του χρόνου μεταξύ των επιπέδων Αβ40 με την ηχοδιαφάνεια της πλάκας σε ασθενείς χωρίς κλινικά εμφανή ΚΑΝ. Συνολικά, τα ευρήματά μας υποδηλώνουν μια σύνδεση μεταξύ των συστηματικών επιπέδων Αβ40 και της ευπάθειας της πλάκας στον άνθρωπο, η οποία υποστηρίζει τα προηγουμένως δημοσιευμένα επιδημιολογικά στοιχεία σχετικά με την προγνωστική της αξία για δυσμενή συμβάντα ΚΑΝ.

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Ford ES, Capewell S. Coronary heart disease mortality among young adults in the U.S. from 1980 through 2002: concealed leveling of mortality rates. *J Am Coll Cardiol* 2007;**50**:2128-2132. doi: 10.1016/j.jacc.2007.05.056
2. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, *et al.* Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2013;**127**:e6-e245. doi: 10.1161/CIR.0b013e31828124ad
3. Mirzaei M, Truswell AS, Taylor R, Leeder SR. Coronary heart disease epidemics: not all the same. *Heart* 2009;**95**:740-746. doi: 10.1136/hrt.2008.154856
4. Mayerl C, Lukasser M, Sedivy R, *et al.* Atherosclerosis research from past to present--on the track of two pathologists with opposing views, Carl von Rokitansky and Rudolf Virchow. *Virchows Arch* 2006;**449**:96-103. doi: 10.1007/s00428-006-0176-7
5. Kiechl S, Willeit J. The natural course of atherosclerosis. Part I: incidence and progression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;**19**:1484-1490. doi: 10.1161/01.atv.19.6.1484
6. Herrington W, Lacey B, Sherliker P, Armitage J, Lewington S. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circ Res* 2016;**118**:535-546. doi: 10.1161/circresaha.115.307611
7. Hennekens CH, Gaziano JM. Antioxidants and heart disease: Epidemiology and clinical evidence. *Clinical Cardiology* 1993;**16**:10-15. doi: <https://doi.org/10.1002/clc.4960161305>
8. Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. Histopathological study of the combination of metformin and garlic juice for the attenuation of gentamicin renal toxicity in rats. *J Renal Inj Prev* 2013;**2**:15-21. doi: 10.12861/jrip.2013.07
9. Jebari-Benslaïman S, Galicia-García U, Larrea-Sebal A, *et al.* Pathophysiology of Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences* 2022;**23**:3346. doi:
10. Tavafi M. Complexity of diabetic nephropathy pathogenesis and design of investigations. *J Renal Inj Prev* 2013;**2**:59-62. doi: 10.12861/jrip.2013.20
11. Zhang S, Liu Y, Cao Y, *et al.* Targeting the Microenvironment of Vulnerable Atherosclerotic Plaques: An Emerging Diagnosis and Therapy Strategy for Atherosclerosis. *Advanced Materials* 2022;**34**:2110660. doi: <https://doi.org/10.1002/adma.202110660>
12. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Douidi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med* 2014;**5**:927-946. doi:
13. Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med* 2011;**17**:1410-1422. doi: 10.1038/nm.2538
14. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;**362**:801-809. doi: 10.1038/362801a0
15. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, *et al.* Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004;**350**:1495-1504. doi: 10.1056/NEJMoa040583
16. Kovanen PT. Mast Cells as Potential Accelerators of Human Atherosclerosis-From Early to Late Lesions. *Int J Mol Sci* 2019;**20**. doi: 10.3390/ijms20184479
17. Bergheanu SC, Bodde MC, Jukema JW. Pathophysiology and treatment of atherosclerosis : Current view and future perspective on lipoprotein modification treatment. *Neth Heart J* 2017;**25**:231-242. doi: 10.1007/s12471-017-0959-2
18. Mann DL, Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. Braunwald's heart disease : a textbook of cardiovascular medicine. Tenth edition ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. pvolumes : illustrations (some color), color maps ; 29 cm.

19. Naylor M, Brown KJ, Vasan RS. The Molecular Basis of Predicting Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk. *Circulation Research* 2021;**128**:287-303. doi: doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.315890
20. Lekakis J, Papamichael C, Vemmos C, *et al.* Effect of Acute Cigarette Smoking on Endothelium-Dependent Brachial Artery Dilatation in Healthy Individuals. *The American Journal of Cardiology* 1997;**79**:529-531. doi: [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(96\)00805-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(96)00805-3)
21. Quyyumi AA. Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. *Am J Med* 1998;**105**:32s-39s. doi: 10.1016/s0002-9343(98)00209-5
22. Leitinger N, Schulman IG. Phenotypic polarization of macrophages in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;**33**:1120-1126. doi: 10.1161/atvbaha.112.300173
23. Aziz M, Yadav K. Pathogenesis of Atherosclerosis A Review. *Medical & Clinical Reviews* 2016;**2**. doi: 10.21767/2471-299X.1000031
24. Sanz J, Fayad ZA. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature* 2008;**451**:953-957. doi: 10.1038/nature06803
25. Pedrighi RM, de Silva R, Bovens SM, *et al.* Thin-cap fibroatheroma rupture is associated with a fine interplay of shear and wall stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;**34**:2224-2231. doi: 10.1161/atvbaha.114.303426
26. Lamon BD, Hajjar DP. Inflammation at the Molecular Interface of Atherogenesis: An Anthropological Journey. *The American Journal of Pathology* 2008;**173**:1253-1264. doi: <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.080442>
27. Ward MR, Pasterkamp G, Yeung AC, Borst C. Arterial remodeling. Mechanisms and clinical implications. *Circulation* 2000;**102**:1186-1191. doi: 10.1161/01.cir.102.10.1186
28. Libby P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy. *N Engl J Med* 2013;**368**:2004-2013. doi: 10.1056/NEJMra1216063
29. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;**20**:1262-1275. doi: 10.1161/01.atv.20.5.1262
30. van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, Das PK. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994;**89**:36-44. doi: 10.1161/01.cir.89.1.36
31. Stone GW, Maehara A, Lansky AJ, *et al.* A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 2011;**364**:226-235. doi: 10.1056/NEJMoa1002358
32. Burke AP, Farb A, Malcom GT, *et al.* Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997;**336**:1276-1282. doi: 10.1056/nejm199705013361802
33. Ahmadi A, Argulian E, Leipsic J, Newby DE, Narula J. From Subclinical Atherosclerosis to Plaque Progression and Acute Coronary Events: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology* 2019;**74**:1608-1617. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.08.012>
34. Zhang S, Liu Y, Cao Y, *et al.* Targeting the Microenvironment of Vulnerable Atherosclerotic Plaques: An Emerging Diagnosis and Therapy Strategy for Atherosclerosis. *Advanced Materials* 2022;**34**:2110660. doi: 10.1002/adma.202110660
35. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, *et al.* Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* 2001;**103**:934-940. doi: 10.1161/01.cir.103.7.934
36. Grundy SM. Coronary plaque as a replacement for age as a risk factor in global risk assessment. *Am J Cardiol* 2001;**88**:8e-11e. doi: 10.1016/s0002-9149(01)01712-x
37. Kuller L, Borhani N, Furberg C, *et al.* Prevalence of subclinical atherosclerosis and cardiovascular disease and association with risk factors in the Cardiovascular Health Study. *Am J Epidemiol* 1994;**139**:1164-1179. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a116963
38. Jaffer FA, O'Donnell CJ, Larson MG, *et al.* Age and sex distribution of subclinical aortic atherosclerosis: a magnetic resonance imaging examination of the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;**22**:849-854. doi: 10.1161/01.atv.0000012662.29622.00

39. Sutton-Tyrrell K, Kuller LH, Matthews KA, *et al.* Subclinical atherosclerosis in multiple vascular beds: an index of atherosclerotic burden evaluated in postmenopausal women. *Atherosclerosis* 2002;**160**:407-416. doi: 10.1016/s0021-9150(01)00591-3
40. Michos ED, Vasamreddy CR, Becker DM, *et al.* Women with a low Framingham risk score and a family history of premature coronary heart disease have a high prevalence of subclinical coronary atherosclerosis. *Am Heart J* 2005;**150**:1276-1281. doi: 10.1016/j.ahj.2005.02.037
41. Lee TC, O'Malley PG, Feuerstein I, Taylor AJ. The prevalence and severity of coronary artery calcification on coronary artery computed tomography in black and white subjects. *J Am Coll Cardiol* 2003;**41**:39-44. doi: 10.1016/s0735-1097(02)02618-9
42. Nasir K, Santos RD, Tufail K, *et al.* High-normal fasting blood glucose in non-diabetic range is associated with increased coronary artery calcium burden in asymptomatic men. *Atherosclerosis* 2007;**195**:e155-160. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.05.025
43. Ingelsson E, Sullivan LM, Murabito JM, *et al.* Prevalence and prognostic impact of subclinical cardiovascular disease in individuals with the metabolic syndrome and diabetes. *Diabetes* 2007;**56**:1718-1726. doi: 10.2337/db07-0078
44. Zeina AR, Odeh M, Rosenschein U, Zaid G, Barneir E. Coronary artery disease among asymptomatic diabetic and nondiabetic patients undergoing coronary computed tomography angiography. *Coron Artery Dis* 2008;**19**:37-41. doi: 10.1097/MCA.0b013e3282f2f19e
45. Toth PP. Subclinical atherosclerosis: what it is, what it means and what we can do about it. *Int J Clin Pract* 2008;**62**:1246-1254. doi: 10.1111/j.1742-1241.2008.01804.x
46. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, *et al.* Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am J Epidemiol* 1991;**134**:250-256. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a116078
47. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2007;**115**:459-467. doi: 10.1161/circulationaha.106.628875
48. Taylor AJ, Kent SM, Flaherty PJ, *et al.* ARBITER: Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol: a randomized trial comparing the effects of atorvastatin and pravastatin on carotid intima medial thickness. *Circulation* 2002;**106**:2055-2060. doi: 10.1161/01.cir.0000034508.55617.65
49. Bedi R, Nagra A, Fukumoto T, *et al.* Detection of subclinical atherosclerosis in peripheral arterial beds with B-mode ultrasound: a proposal for guiding the decision for medical intervention and an artifact-corrected volumetric scoring index. *Glob Heart* 2014;**9**:367-378. doi: 10.1016/j.gheart.2014.10.007
50. Johri AM, Behl P, Héту MF, *et al.* Carotid Ultrasound Maximum Plaque Height-A Sensitive Imaging Biomarker for the Assessment of Significant Coronary Artery Disease. *Echocardiography* 2016;**33**:281-289. doi: 10.1111/echo.13007
51. Naqvi TZ, Mendoza F, Rafii F, *et al.* High prevalence of ultrasound detected carotid atherosclerosis in subjects with low Framingham risk score: potential implications for screening for subclinical atherosclerosis. *J Am Soc Echocardiogr* 2010;**23**:809-815. doi: 10.1016/j.echo.2010.05.005
52. Mach F, Baigent C, Catapano AL, *et al.* 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2020;**41**:111-188. doi: 10.1093/eurheartj/ehz455
53. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;**106**:3143-3421. doi:
54. Greenland P, LaBree L, Azen SP, Doherty TM, Detrano RC. Coronary artery calcium score combined with Framingham score for risk prediction in asymptomatic individuals. *Jama* 2004;**291**:210-215. doi: 10.1001/jama.291.2.210
55. Roman MJ, Naqvi TZ, Gardin JM, *et al.* Clinical application of noninvasive vascular ultrasound in cardiovascular risk stratification: a report from the American Society of Echocardiography and the Society of Vascular Medicine and Biology. *J Am Soc Echocardiogr* 2006;**19**:943-954. doi: 10.1016/j.echo.2006.04.020

56. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, *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 (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2016;**37**:2315-2381. doi: 10.1093/eurheartj/ehw106
57. Lloyd-Jones DM, Leip EP, Larson MG, *et al.* Prediction of lifetime risk for cardiovascular disease by risk factor burden at 50 years of age. *Circulation* 2006;**113**:791-798. doi: 10.1161/circulationaha.105.548206
58. Nasir K, Michos ED, Blumenthal RS, Raggi P. Detection of high-risk young adults and women by coronary calcium and National Cholesterol Education Program Panel III guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2005;**46**:1931-1936. doi: 10.1016/j.jacc.2005.07.052
59. Greenland P, Smith SC, Jr., Grundy SM. Improving coronary heart disease risk assessment in asymptomatic people: role of traditional risk factors and noninvasive cardiovascular tests. *Circulation* 2001;**104**:1863-1867. doi: 10.1161/hc4201.097189
60. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, *et al.* 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J* 2021;**42**:3227-3337. doi: 10.1093/eurheartj/ehab484
61. Georgiopoulos G, Mavraganis G, Delialis D, *et al.* Carotid ultrasonography improves residual risk stratification in guidelines-defined high cardiovascular risk patients. *Eur J Prev Cardiol* 2022;**29**:1773-1784. doi: 10.1093/eurjpc/zwac095
62. Nicolaides AN, Panayiotou AG, Griffin M, *et al.* Arterial Ultrasound Testing to Predict Atherosclerotic Cardiovascular Events. *J Am Coll Cardiol* 2022;**79**:1969-1982. doi: 10.1016/j.jacc.2022.03.352
63. Greenland P, Bonow RO, Brundage BH, *et al.* ACCF/AHA 2007 clinical expert consensus document on coronary artery calcium scoring by computed tomography in global cardiovascular risk assessment and in evaluation of patients with chest pain: a report of the American College of Cardiology Foundation Clinical Expert Consensus Task Force (ACCF/AHA Writing Committee to Update the 2000 Expert Consensus Document on Electron Beam Computed Tomography) developed in collaboration with the Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention and the Society of Cardiovascular Computed Tomography. *J Am Coll Cardiol* 2007;**49**:378-402. doi: 10.1016/j.jacc.2006.10.001
64. Coles DR, Smail MA, Negus IS, *et al.* Comparison of radiation doses from multislice computed tomography coronary angiography and conventional diagnostic angiography. *J Am Coll Cardiol* 2006;**47**:1840-1845. doi: 10.1016/j.jacc.2005.11.078
65. McClelland RL, Chung H, Detrano R, Post W, Kronmal RA. Distribution of coronary artery calcium by race, gender, and age: results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Circulation* 2006;**113**:30-37. doi: 10.1161/circulationaha.105.580696
66. Mitchell CK, Aeschlimann SE, Korcarz CE. Carotid intima-media thickness testing: technical considerations. *J Am Soc Echocardiogr* 2004;**17**:690-692. doi: 10.1016/j.echo.2004.03.019
67. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, *et al.* Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008;**21**:93-111; quiz 189-190. doi: 10.1016/j.echo.2007.11.011
68. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, *et al.* Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Stroke* 1993;**24**:1297-1304. doi: 10.1161/01.str.24.9.1297
69. Wong M, Edelstein J, Wollman J, Bond MG. Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall. Verification of intima-media thickness. *Arterioscler Thromb* 1993;**13**:482-486. doi: 10.1161/01.atv.13.4.482
70. Bard RL, Kalsi H, Rubenfire M, *et al.* Effect of carotid atherosclerosis screening on risk stratification during primary cardiovascular disease prevention. *Am J Cardiol* 2004;**93**:1030-1032. doi: 10.1016/j.amjcard.2003.12.056

71. Gepner AD, Keevil JG, Wyman RA, *et al.* Use of carotid intima-media thickness and vascular age to modify cardiovascular risk prediction. *J Am Soc Echocardiogr* 2006;**19**:1170-1174. doi: 10.1016/j.echo.2006.04.009
72. Ali YS, Rembold KE, Weaver B, *et al.* Prediction of major adverse cardiovascular events by age-normalized carotid intimal medial thickness. *Atherosclerosis* 2006;**187**:186-190. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.09.003
73. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986;**74**:1399-1406. doi: 10.1161/01.cir.74.6.1399
74. Persson J, Formgren J, Israelsson B, Berglund G. Ultrasound-determined intima-media thickness and atherosclerosis. Direct and indirect validation. *Arterioscler Thromb* 1994;**14**:261-264. doi: 10.1161/01.atv.14.2.261
75. Ling Y, Wan Y, Barinas-Mitchell E, *et al.* Varying Definitions of Carotid Intima-Media Thickness and Future Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Heart Association* 2023;**12**:e031217. doi: 10.1161/JAHA.123.031217
76. Craven TE, Ryu JE, Espeland MA, *et al.* Evaluation of the associations between carotid artery atherosclerosis and coronary artery stenosis. A case-control study. *Circulation* 1990;**82**:1230-1242. doi: 10.1161/01.cir.82.4.1230
77. Nambi V, Chambless L, Folsom AR, *et al.* Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) study. *J Am Coll Cardiol* 2010;**55**:1600-1607. doi: 10.1016/j.jacc.2009.11.075
78. Kablak-Ziembicka A, Tracz W, Przewlocki T, *et al.* Association of increased carotid intima-media thickness with the extent of coronary artery disease. *Heart* 2004;**90**:1286-1290. doi: 10.1136/hrt.2003.025080
79. Baldassarre D, Hamsten A, Veglia F, *et al.* Measurements of carotid intima-media thickness and of interadventitia common carotid diameter improve prediction of cardiovascular events: results of the IMPROVE (Carotid Intima Media Thickness [IMT] and IMT-Progression as Predictors of Vascular Events in a High Risk European Population) study. *J Am Coll Cardiol* 2012;**60**:1489-1499. doi: 10.1016/j.jacc.2012.06.034
80. Patel J, Al Rifai M, Blaha MJ, *et al.* Coronary Artery Calcium Improves Risk Assessment in Adults With a Family History of Premature Coronary Heart Disease. *Circulation: Cardiovascular Imaging* 2015;**8**:e003186. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.115.003186
81. Den Ruijter HM, Peters SAE, Anderson TJ, *et al.* Common Carotid Intima-Media Thickness Measurements in Cardiovascular Risk Prediction: A Meta-analysis. *JAMA* 2012;**308**:796-803. doi: 10.1001/jama.2012.9630
82. Taylor AJ, Merz CN, Udelson JE. 34th Bethesda Conference: Executive summary--can atherosclerosis imaging techniques improve the detection of patients at risk for ischemic heart disease? *J Am Coll Cardiol* 2003;**41**:1860-1862. doi: 10.1016/s0735-1097(03)00363-2
83. Espeland MA, O'Leary D H, Terry JG, *et al.* Carotid intimal-media thickness as a surrogate for cardiovascular disease events in trials of HMG-CoA reductase inhibitors. *Curr Control Trials Cardiovasc Med* 2005;**6**:3. doi: 10.1186/1468-6708-6-3
84. Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Increased common carotid intima-media thickness. Adaptive response or a reflection of atherosclerosis? Findings from the Rotterdam Study. *Stroke* 1997;**28**:2442-2447. doi: 10.1161/01.str.28.12.2442
85. Nagai Y, Metter EJ, Earley CJ, *et al.* Increased carotid artery intimal-medial thickness in asymptomatic older subjects with exercise-induced myocardial ischemia. *Circulation* 1998;**98**:1504-1509. doi: 10.1161/01.cir.98.15.1504
86. Virmani R, Avolio AP, Mergner WJ, *et al.* Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis. Comparison between occidental and Chinese communities. *Am J Pathol* 1991;**139**:1119-1129. doi: 10.1161/01.hyp.33.1.116
87. Li Z, Froehlich J, Galis ZS, Lakatta EG. Increased expression of matrix metalloproteinase-2 in the thickened intima of aged rats. *Hypertension* 1999;**33**:116-123. doi: 10.1161/01.hyp.33.1.116

88. Najjar SS, Scuteri A, Lakatta EG. Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension* 2005;**46**:454-462. doi: 10.1161/01.Hyp.0000177474.06749.98
89. Willeit P, Tschiderer L, Allara E, *et al.* Carotid Intima-Media Thickness Progression as Surrogate Marker for Cardiovascular Risk. *Circulation* 2020;**142**:621-642. doi: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046361
90. Darabian S, Hormuz M, Latif MA, Pahlevan S, Budoff MJ. The role of carotid intimal thickness testing and risk prediction in the development of coronary atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2013;**15**:306. doi: 10.1007/s11883-012-0306-4
91. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, *et al.* Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis* 2012;**34**:290-296. doi: 10.1159/000343145
92. Johri AM, Nambi V, Naqvi TZ, *et al.* Recommendations for the Assessment of Carotid Arterial Plaque by Ultrasound for the Characterization of Atherosclerosis and Evaluation of Cardiovascular Risk: From the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2020;**33**:917-933. doi: 10.1016/j.echo.2020.04.021
93. Hollander M, Bots ML, Del Sol AI, *et al.* Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly: the Rotterdam study. *Circulation* 2002;**105**:2872-2877. doi: 10.1161/01.cir.0000018650.58984.75
94. van der Meer IM, Bots ML, Hofman A, *et al.* Predictive value of noninvasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 2004;**109**:1089-1094. doi: 10.1161/01.Cir.0000120708.59903.1b
95. Rundek T, Elkind MS, Pittman J, *et al.* Carotid intima-media thickness is associated with allelic variants of stromelysin-1, interleukin-6, and hepatic lipase genes: the Northern Manhattan Prospective Cohort Study. *Stroke* 2002;**33**:1420-1423. doi: 10.1161/01.str.0000015558.63492.b6
96. Adams A, Bojara W, Schunk K. Early Diagnosis and Treatment of Coronary Heart Disease in Asymptomatic Subjects With Advanced Vascular Atherosclerosis of the Carotid Artery (Type III and IV b Findings Using Ultrasound) and Risk Factors. *Cardiol Res* 2018;**9**:22-27. doi: 10.14740/cr667w
97. Spence JD. Ultrasound measurement of carotid plaque as a surrogate outcome for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2002;**89**:10B-15B; discussion 15B-16B. doi: 10.1016/s0002-9149(01)02327-x
98. Lal BK, Hobson RW, 2nd, Pappas PJ, *et al.* Pixel distribution analysis of B-mode ultrasound scan images predicts histologic features of atherosclerotic carotid plaques. *J Vasc Surg* 2002;**35**:1210-1217. doi: 10.1067/mva.2002.122888
99. Reilly LM, Lusby RJ, Hughes L, *et al.* Carotid plaque histology using real-time ultrasonography. Clinical and therapeutic implications. *Am J Surg* 1983;**146**:188-193. doi: 10.1016/0002-9610(83)90370-7
100. Geroulakos G, Ramaswami G, Nicolaidis A, *et al.* Characterization of symptomatic and asymptomatic carotid plaques using high-resolution real-time ultrasonography. *Br J Surg* 1993;**80**:1274-1277. doi: 10.1002/bjs.1800801016
101. el-Barghouty N, Geroulakos G, Nicolaidis A, Androulakis A, Bahal V. Computer-assisted carotid plaque characterisation. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1995;**9**:389-393. doi: 10.1016/s1078-5884(05)80005-x
102. Biasi GM, Froio A, Diethrich EB, *et al.* Carotid plaque echolucency increases the risk of stroke in carotid stenting: the Imaging in Carotid Angioplasty and Risk of Stroke (ICAROS) study. *Circulation* 2004;**110**:756-762. doi: 10.1161/01.Cir.0000138103.91187.E3
103. Mathiesen EB, Bønaa KH, Joakimsen O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis: the tromsø study. *Circulation* 2001;**103**:2171-2175. doi: 10.1161/01.cir.103.17.2171
104. Huibers A, de Borst GJ, Bulbulia R, Pan H, Halliday A. Plaque Echolucency and the Risk of Ischaemic Stroke in Patients with Asymptomatic Carotid Stenosis Within the First

- Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST-1). *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2016;**51**:616-621. doi: 10.1016/j.ejvs.2015.11.013
105. Falkowski A, Kaczmarczyk M, Cieszanowski A, *et al.* Computer-assisted characterisation of a carotid plaque. *Med Sci Monit* 2004;**10 Suppl 3**:67-70. doi:
106. Kyriacou EC, Pattichis C, Pattichis M, *et al.* A review of noninvasive ultrasound image processing methods in the analysis of carotid plaque morphology for the assessment of stroke risk. *IEEE Trans Inf Technol Biomed* 2010;**14**:1027-1038. doi: 10.1109/titb.2010.2047649
107. Mancia G, Kreutz R, Brunström M, *et al.* 2023 ESH Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension: Endorsed by the International Society of Hypertension (ISH) and the European Renal Association (ERA). *J Hypertens* 2023;**41**:1874-2071. doi: 10.1097/hjh.0000000000003480
108. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, *et al.* Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 1999;**286**:735-741. doi: 10.1126/science.286.5440.735
109. Soscia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, *et al.* The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One* 2010;**5**:e9505. doi: 10.1371/journal.pone.0009505
110. Roher AE, Esh CL, Kokjohn TA, *et al.* Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and their significance for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2009;**5**:18-29. doi: 10.1016/j.jalz.2008.10.004
111. Stakos DA, Stamatelopoulos K, Bampatsias D, *et al.* The Alzheimer's Disease Amyloid-Beta Hypothesis in Cardiovascular Aging and Disease: JACC Focus Seminar. *J Am Coll Cardiol* 2020;**75**:952-967. doi: 10.1016/j.jacc.2019.12.033
112. Obregon D, Hou H, Deng J, *et al.* Soluble amyloid precursor protein- α modulates β -secretase activity and amyloid- β generation. *Nat Commun* 2012;**3**:777. doi: 10.1038/ncomms1781
113. van der Kant R, Goldstein LS. Cellular functions of the amyloid precursor protein from development to dementia. *Dev Cell* 2015;**32**:502-515. doi: 10.1016/j.devcel.2015.01.022
114. Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, *et al.* Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Science* 2010;**330**:1774. doi: 10.1126/science.1197623
115. Burgermeister P, Calhoun ME, Winkler DT, Jucker M. Mechanisms of cerebrovascular amyloid deposition. Lessons from mouse models. *Ann N Y Acad Sci* 2000;**903**:307-316. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06381.x
116. Biffi A, Greenberg SM. Cerebral amyloid angiopathy: a systematic review. *J Clin Neurol* 2011;**7**:1-9. doi: 10.3988/jcn.2011.7.1.1
117. Wisniewski HM, Wegiel J, Vorbrodt AW, Mazur-Kolecka B, Frackowiak J. Role of perivascular cells and myocytes in vascular amyloidosis. *Ann N Y Acad Sci* 2000;**903**:6-18. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06344.x
118. Kokjohn TA, Van Vickle GD, Maarouf CL, *et al.* Chemical characterization of pro-inflammatory amyloid-beta peptides in human atherosclerotic lesions and platelets. *Biochim Biophys Acta* 2011;**1812**:1508-1514. doi: 10.1016/j.bbadis.2011.07.004
119. McGowan E, Pickford F, Kim J, *et al.* Abeta42 is essential for parenchymal and vascular amyloid deposition in mice. *Neuron* 2005;**47**:191-199. doi: 10.1016/j.neuron.2005.06.030
120. Fryer JD, Simmons K, Parsadanian M, *et al.* Human apolipoprotein E4 alters the amyloid-beta 40:42 ratio and promotes the formation of cerebral amyloid angiopathy in an amyloid precursor protein transgenic model. *J Neurosci* 2005;**25**:2803-2810. doi: 10.1523/jneurosci.5170-04.2005
121. De Meyer GR, De Cleen DM, Cooper S, *et al.* Platelet phagocytosis and processing of beta-amyloid precursor protein as a mechanism of macrophage activation in atherosclerosis. *Circ Res* 2002;**90**:1197-1204. doi: 10.1161/01.res.0000020017.84398.61
122. Bell RD, Sagare AP, Friedman AE, *et al.* Transport pathways for clearance of human Alzheimer's amyloid beta-peptide and apolipoproteins E and J in the mouse central nervous system. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007;**27**:909-918. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600419

123. Kitazume S, Yoshihisa A, Yamaki T, *et al.* Soluble amyloid precursor protein 770 is released from inflamed endothelial cells and activated platelets: a novel biomarker for acute coronary syndrome. *J Biol Chem* 2012;**287**:40817-40825. doi: 10.1074/jbc.M112.398578
124. Melchor JP, Van Nostrand WE. Fibrillar amyloid beta-protein mediates the pathologic accumulation of its secreted precursor in human cerebrovascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 2000;**275**:9782-9791. doi: 10.1074/jbc.275.13.9782
125. Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol* 2011;**10**:241-252. doi: 10.1016/s1474-4422(10)70325-2
126. Atwood CS, Obrenovich ME, Liu T, *et al.* Amyloid-beta: a chameleon walking in two worlds: a review of the trophic and toxic properties of amyloid-beta. *Brain Res Brain Res Rev* 2003;**43**:1-16. doi: 10.1016/s0165-0173(03)00174-7
127. Kontush A, Berndt C, Weber W, *et al.* Amyloid-beta is an antioxidant for lipoproteins in cerebrospinal fluid and plasma. *Free Radic Biol Med* 2001;**30**:119-128. doi: 10.1016/s0891-5849(00)00458-5
128. Whitson JS, Selkoe DJ, Cotman CW. Amyloid beta protein enhances the survival of hippocampal neurons *in vitro*. *Science* 1989;**243**:1488-1490. doi: 10.1126/science.2928783
129. Xu J, Chen S, Ku G, *et al.* Amyloid beta peptide-induced cerebral endothelial cell death involves mitochondrial dysfunction and caspase activation. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;**21**:702-710. doi: 10.1097/00004647-200106000-00008
130. Grammas P, Ovase R. Inflammatory factors are elevated in brain microvessels in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001;**22**:837-842. doi: 10.1016/s0197-4580(01)00276-7
131. Grammas P, Ottman T, Reimann-Philipp U, Larabee J, Weigel PH. Injured brain endothelial cells release neurotoxic thrombin. *J Alzheimers Dis* 2004;**6**:275-281. doi: 10.3233/jad-2004-6308
132. Wirth KJ, Fink E, Rudolphi K, *et al.* Amyloid beta-(1-40) stimulates cyclic GMP production via release of kinins in primary cultured endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 1999;**382**:27-33. doi: 10.1016/s0014-2999(99)00576-2
133. Carnevale D, Mascio G, D'Andrea I, *et al.* Hypertension induces brain β -amyloid accumulation, cognitive impairment, and memory deterioration through activation of receptor for advanced glycation end products in brain vasculature. *Hypertension* 2012;**60**:188-197. doi: 10.1161/hypertensionaha.112.195511
134. Carrano A, Hoozemans JJ, van der Vies SM, *et al.* Amyloid Beta induces oxidative stress-mediated blood-brain barrier changes in capillary amyloid angiopathy. *Antioxid Redox Signal* 2011;**15**:1167-1178. doi: 10.1089/ars.2011.3895
135. Li M, Shang DS, Zhao WD, *et al.* Amyloid beta interaction with receptor for advanced glycation end products up-regulates brain endothelial CCR5 expression and promotes T cells crossing the blood-brain barrier. *J Immunol* 2009;**182**:5778-5788. doi: 10.4049/jimmunol.0803013
136. d'Uscio LV, He T, Santhanam AV, *et al.* Mechanisms of vascular dysfunction in mice with endothelium-specific deletion of the PPAR- δ gene. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;**306**:H1001-1010. doi: 10.1152/ajpheart.00761.2013
137. Kim SM, Byun JS, Jung YD, *et al.* The effects of oxygen radicals on the activity of nitric oxide synthase and guanylate cyclase. *Exp Mol Med* 1998;**30**:221-226. doi: 10.1038/emmm.1998.32
138. Eckert A, Hauptmann S, Scherping I, *et al.* Soluble beta-amyloid leads to mitochondrial defects in amyloid precursor protein and tau transgenic mice. *Neurodegener Dis* 2008;**5**:157-159. doi: 10.1159/000113689
139. Silverberg GD, Messier AA, Miller MC, *et al.* Amyloid efflux transporter expression at the blood-brain barrier declines in normal aging. *J Neuropathol Exp Neurol* 2010;**69**:1034-1043. doi: 10.1097/NEN.0b013e3181f46e25
140. Austin SA, Sens MA, Combs CK. Amyloid precursor protein mediates a tyrosine kinase-dependent activation response in endothelial cells. *J Neurosci* 2009;**29**:14451-14462. doi: 10.1523/jneurosci.3107-09.2009

141. Briones AM, Montoya N, Giraldo J, Vila E. Ageing affects nitric oxide synthase, cyclooxygenase and oxidative stress enzymes expression differently in mesenteric resistance arteries. *Auton Autacoid Pharmacol* 2005;**25**:155-162. doi: 10.1111/j.1474-8673.2005.00344.x
142. Goldgaber D, Harris HW, Hla T, *et al.* Interleukin 1 regulates synthesis of amyloid beta-protein precursor mRNA in human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;**86**:7606-7610. doi: 10.1073/pnas.86.19.7606
143. Félétou M, Huang Y, Vanhoutte PM. Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products. *Br J Pharmacol* 2011;**164**:894-912. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01276.x
144. Münzel T, Gaiad A, Kurz S, Stewart DJ, Harrison DG. Evidence for a role of endothelin 1 and protein kinase C in nitroglycerin tolerance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;**92**:5244-5248. doi: 10.1073/pnas.92.11.5244
145. Fonseca AC, Ferreiro E, Oliveira CR, Cardoso SM, Pereira CF. Activation of the endoplasmic reticulum stress response by the amyloid-beta 1-40 peptide in brain endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2013;**1832**:2191-2203. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.08.007
146. Price JM, Chi X, Hellermann G, Sutton ET. Physiological levels of beta-amyloid induce cerebral vessel dysfunction and reduce endothelial nitric oxide production. *Neurol Res* 2001;**23**:506-512. doi: 10.1179/016164101101198758
147. Miller TW, Isenberg JS, Shih HB, Wang Y, Roberts DD. Amyloid- β inhibits No-cGMP signaling in a CD36- and CD47-dependent manner. *PLoS One* 2010;**5**:e15686. doi: 10.1371/journal.pone.0015686
148. Hayashi T, Yano K, Matsui-Hirai H, *et al.* Nitric oxide and endothelial cellular senescence. *Pharmacol Ther* 2008;**120**:333-339. doi: 10.1016/j.pharmthera.2008.09.002
149. Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. *J Med Food* 2011;**14**:969-974. doi: 10.1089/jmf.2011.1594
150. Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest* 2001;**81**:645-672. doi: 10.1038/labinvest.3780275
151. Herczenik E, Bouma B, Korporaal SJ, *et al.* Activation of human platelets by misfolded proteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;**27**:1657-1665. doi: 10.1161/atvbaha.107.143479
152. Lang IM, Moser KM, Schleef RR. Expression of Kunitz protease inhibitor--containing forms of amyloid beta-protein precursor within vascular thrombi. *Circulation* 1996;**94**:2728-2734. doi: 10.1161/01.cir.94.11.2728
153. Jarre A, Gowert NS, Donner L, *et al.* Pre-activated blood platelets and a pro-thrombotic phenotype in APP23 mice modeling Alzheimer's disease. *Cell Signal* 2014;**26**:2040-2050. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.05.019
154. Canobbio I, Catricalà S, Di Pasqua LG, *et al.* Immobilized amyloid A β peptides support platelet adhesion and activation. *FEBS Lett* 2013;**587**:2606-2611. doi: 10.1016/j.febslet.2013.06.041
155. Canobbio I, Abubaker AA, Visconte C, Torti M, Pula G. Role of amyloid peptides in vascular dysfunction and platelet dysregulation in Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci* 2015;**9**:65. doi: 10.3389/fncel.2015.00065
156. Stellos K, Panagiota V, Kögel A, *et al.* Predictive value of platelet activation for the rate of cognitive decline in Alzheimer's disease patients. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010;**30**:1817-1820. doi: 10.1038/jcbfm.2010.140
157. Sonkar VK, Kulkarni PP, Dash D. Amyloid β peptide stimulates platelet activation through RhoA-dependent modulation of actomyosin organization. *Faseb j* 2014;**28**:1819-1829. doi: 10.1096/fj.13-243691
158. Gowert NS, Donner L, Chatterjee M, *et al.* Blood platelets in the progression of Alzheimer's disease. *PLoS One* 2014;**9**:e90523. doi: 10.1371/journal.pone.0090523
159. Laske C, Sopova K, Gkotsis C, *et al.* Amyloid- β peptides in plasma and cognitive decline after 1 year follow-up in Alzheimer's disease patients. *J Alzheimers Dis* 2010;**21**:1263-1269. doi: 10.3233/jad-2010-100510

160. Ahn HJ, Zamolodchikov D, Cortes-Canteli M, *et al.* Alzheimer's disease peptide beta-amyloid interacts with fibrinogen and induces its oligomerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;**107**:21812-21817. doi: 10.1073/pnas.1010373107
161. Zamolodchikov D, Renné T, Strickland S. The Alzheimer's disease peptide β -amyloid promotes thrombin generation through activation of coagulation factor XII. *J Thromb Haemost* 2016;**14**:995-1007. doi: 10.1111/jth.13209
162. Wilhelmsen L, Svärdsudd K, Korsan-Bengtson K, *et al.* Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984;**311**:501-505. doi: 10.1056/nejm198408233110804
163. Bush AI, Martins RN, Rumble B, *et al.* The amyloid precursor protein of Alzheimer's disease is released by human platelets. *J Biol Chem* 1990;**265**:15977-15983. doi:
164. Ponte P, Gonzalez-DeWhitt P, Schilling J, *et al.* A new A4 amyloid mRNA contains a domain homologous to serine proteinase inhibitors. *Nature* 1988;**331**:525-527. doi: 10.1038/331525a0
165. Tanzi RE, McClatchey AI, Lamperti ED, *et al.* Protease inhibitor domain encoded by an amyloid protein precursor mRNA associated with Alzheimer's disease. *Nature* 1988;**331**:528-530. doi: 10.1038/331528a0
166. Van Nostrand WE, Schmaier AH, Farrow JS, Cunningham DD. Protease nexin-II (amyloid beta-protein precursor): a platelet alpha-granule protein. *Science* 1990;**248**:745-748. doi: 10.1126/science.2110384
167. Smith RP, Higuchi DA, Broze GJ, Jr. Platelet coagulation factor XIa-inhibitor, a form of Alzheimer amyloid precursor protein. *Science* 1990;**248**:1126-1128. doi: 10.1126/science.2111585
168. Schmaier AH, Dahl LD, Rozemuller AJ, *et al.* Protease nexin-2/amyloid beta protein precursor. A tight-binding inhibitor of coagulation factor IXa. *J Clin Invest* 1993;**92**:2540-2545. doi: 10.1172/jci116863
169. Puglielli L, Friedlich AL, Setchell KD, *et al.* Alzheimer disease beta-amyloid activity mimics cholesterol oxidase. *J Clin Invest* 2005;**115**:2556-2563. doi: 10.1172/jci23610
170. Xu F, Previti ML, Van Nostrand WE. Increased severity of hemorrhage in transgenic mice expressing cerebral protease nexin-2/amyloid beta-protein precursor. *Stroke* 2007;**38**:2598-2601. doi: 10.1161/strokeaha.106.480103
171. Ciallella JR, Figueiredo H, Smith-Swintosky V, McGillis JP. Thrombin induces surface and intracellular secretion of amyloid precursor protein from human endothelial cells. *Thromb Haemost* 1999;**81**:630-637. doi:
172. Hart MN, Merz P, Bennett-Gray J, *et al.* beta-amyloid protein of Alzheimer's disease is found in cerebral and spinal cord vascular malformations. *Am J Pathol* 1988;**132**:167-172. doi:
173. Hooper NM, Trew AJ, Parkin ET, Turner AJ. The role of proteolysis in Alzheimer's disease. *Adv Exp Med Biol* 2000;**477**:379-390. doi: 10.1007/0-306-46826-3_39
174. Golde TE, Eckman CB. Cholesterol modulation as an emerging strategy for the treatment of Alzheimer's disease. *Drug Discov Today* 2001;**6**:1049-1055. doi: 10.1016/s1359-6446(01)01965-1
175. Brown DA, London E. Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts. *J Biol Chem* 2000;**275**:17221-17224. doi: 10.1074/jbc.R000005200
176. Barrett PJ, Song Y, Van Horn WD, *et al.* The amyloid precursor protein has a flexible transmembrane domain and binds cholesterol. *Science* 2012;**336**:1168-1171. doi: 10.1126/science.1219988
177. Morgado I, Garvey M. Lipids in Amyloid- β Processing, Aggregation, and Toxicity. *Adv Exp Med Biol* 2015;**855**:67-94. doi: 10.1007/978-3-319-17344-3_3
178. Chauhan NB. Membrane dynamics, cholesterol homeostasis, and Alzheimer's disease. *J Lipid Res* 2003;**44**:2019-2029. doi: 10.1194/jlr.R300010-JLR200
179. Atwood CS, Perry G, Smith MA. Cerebral hemorrhage and amyloid-beta. *Science* 2003;**299**:1014; author reply 1014. doi: 10.1126/science.299.5609.1014b
180. Kepp KP. Bioinorganic chemistry of Alzheimer's disease. *Chem Rev* 2012;**112**:5193-5239. doi: 10.1021/cr300009x

181. Bailey JA, Maloney B, Ge YW, Lahiri DK. Functional activity of the novel Alzheimer's amyloid β -peptide interacting domain (A β ID) in the APP and BACE1 promoter sequences and implications in activating apoptotic genes and in amyloidogenesis. *Gene* 2011;**488**:13-22. doi: 10.1016/j.gene.2011.06.017
182. Wildsmith KR, Holley M, Savage JC, Skerrett R, Landreth GE. Evidence for impaired amyloid β clearance in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2013;**5**:33. doi: 10.1186/alzrt187
183. Bateman RJ, Munsell LY, Morris JC, *et al.* Human amyloid-beta synthesis and clearance rates as measured in cerebrospinal fluid *in vivo*. *Nat Med* 2006;**12**:856-861. doi: 10.1038/nm1438
184. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, *et al.* Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 1993;**43**:1467-1472. doi: 10.1212/wnl.43.8.1467
185. Tiraboschi P, Hansen LA, Masliah E, *et al.* Impact of APOE genotype on neuropathologic and neurochemical markers of Alzheimer disease. *Neurology* 2004;**62**:1977-1983. doi: 10.1212/01.wnl.0000128091.92139.0f
186. Tokuda T, Calero M, Matsubara E, *et al.* Lipidation of apolipoprotein E influences its isoform-specific interaction with Alzheimer's amyloid beta peptides. *Biochem J* 2000;**348 Pt 2**:359-365. doi:
187. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004;**141**:137-147. doi: 10.7326/0003-4819-141-2-200407200-00013
188. Wilson C, Wardell MR, Weisgraber KH, Mahley RW, Agard DA. Three-dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. *Science* 1991;**252**:1817-1822. doi: 10.1126/science.2063194
189. Deane R, Sagare A, Hamm K, *et al.* apoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain. *J Clin Invest* 2008;**118**:4002-4013. doi: 10.1172/jci36663
190. Smith CC, Hyatt PJ, Stanyer L, Betteridge DJ. Platelet secretion of beta-amyloid is increased in hypercholesterolaemia. *Brain Res* 2001;**896**:161-164. doi: 10.1016/s0006-8993(01)02080-7
191. Opazo C, Huang X, Cherny RA, *et al.* Metalloenzyme-like activity of Alzheimer's disease beta-amyloid. Cu-dependent catalytic conversion of dopamine, cholesterol, and biological reducing agents to neurotoxic H(2)O(2). *J Biol Chem* 2002;**277**:40302-40308. doi: 10.1074/jbc.M206428200
192. Schulz B, Liebisch G, Grandl M, *et al.* Beta-amyloid (A β 40, A β 42) binding to modified LDL accelerates macrophage foam cell formation. *Biochim Biophys Acta* 2007;**1771**:1335-1344. doi: 10.1016/j.bbaliip.2007.08.002
193. Medeiros LA, Khan T, El Khoury JB, *et al.* Fibrillar amyloid protein present in atheroma activates CD36 signal transduction. *J Biol Chem* 2004;**279**:10643-10648. doi: 10.1074/jbc.M311735200
194. Chandler AB, Hand RA. Phagocytized platelets: a source of lipids in human thrombi and atherosclerotic plaques. *Science* 1961;**134**:946-947. doi: 10.1126/science.134.3483.946
195. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002;**297**:353-356. doi: 10.1126/science.1072994
196. Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol* 2010;**9**:689-701. doi: 10.1016/s1474-4422(10)70104-6
197. Greco S, Zaccagnini G, Perfetti A, *et al.* Long noncoding RNA dysregulation in ischemic heart failure. *J Transl Med* 2016;**14**:183. doi: 10.1186/s12967-016-0926-5
198. Troncone L, Luciani M, Coggins M, *et al.* A β Amyloid Pathology Affects the Hearts of Patients With Alzheimer's Disease: Mind the Heart. *J Am Coll Cardiol* 2016;**68**:2395-2407. doi: 10.1016/j.jacc.2016.08.073
199. Greco S, Zaccagnini G, Fuschi P, *et al.* Increased BACE1-AS long noncoding RNA and β -amyloid levels in heart failure. *Cardiovasc Res* 2017;**113**:453-463. doi: 10.1093/cvr/cvx013

200. Bayes-Genis A, Barallat J, de Antonio M, *et al.* Bloodstream Amyloid-beta (1-40) Peptide, Cognition, and Outcomes in Heart Failure. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2017;**70**:924-932. doi: 10.1016/j.rec.2017.02.021
201. Donnini S, Solito R, Cetti E, *et al.* Abeta peptides accelerate the senescence of endothelial cells *in vitro* and *in vivo*, impairing angiogenesis. *Faseb j* 2010;**24**:2385-2395. doi: 10.1096/fj.09-146456
202. Hayashi S, Sato N, Yamamoto A, *et al.* Alzheimer disease-associated peptide, amyloid beta40, inhibits vascular regeneration with induction of endothelial autophagy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;**29**:1909-1915. doi: 10.1161/atvbaha.109.188516
203. Saido TC, Yokota M, Maruyama K, *et al.* Spatial resolution of the primary beta-amyloidogenic process induced in postischemic hippocampus. *J Biol Chem* 1994;**269**:15253-15257. doi:
204. Thomas T, Thomas G, McLendon C, Sutton T, Mullan M. beta-Amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature* 1996;**380**:168-171. doi: 10.1038/380168a0
205. Stamatelopoulos K, Pol CJ, Ayers C, *et al.* Amyloid-Beta (1-40) Peptide and Subclinical Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol* 2018;**72**:1060-1061. doi: 10.1016/j.jacc.2018.06.027
206. Stamatelopoulos K, Sibbing D, Rallidis LS, *et al.* Amyloid-beta (1-40) and the risk of death from cardiovascular causes in patients with coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2015;**65**:904-916. doi: 10.1016/j.jacc.2014.12.035
207. Loffredo FS, Nikolova AP, Pancoast JR, Lee RT. Heart failure with preserved ejection fraction: molecular pathways of the aging myocardium. *Circ Res* 2014;**115**:97-107. doi: 10.1161/circresaha.115.302929
208. Zhu F, Wolters FJ, Yaqub A, *et al.* Plasma Amyloid- β in Relation to Cardiac Function and Risk of Heart Failure in General Population. *JACC Heart Fail* 2023;**11**:93-102. doi: 10.1016/j.jchf.2022.09.006
209. Gabelle A, Schraen S, Gutierrez LA, *et al.* Plasma β -amyloid 40 levels are positively associated with mortality risks in the elderly. *Alzheimers Dement* 2015;**11**:672-680. doi: 10.1016/j.jalz.2014.04.515
210. Ibanez B, James S, Agewall S, *et al.* 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal* 2017;**39**:119-177. doi: 10.1093/eurheartj/ehx393
211. Lawton JS, Tamis-Holland JE, Bangalore S, *et al.* 2021 ACC/AHA/SCAI Guideline for Coronary Artery Revascularization: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation* 2022;**145**:e18-e114. doi: 10.1161/CIR.0000000000001038
212. Stamatelopoulos K, Mueller-Hennessen M, Georgiopoulos G, *et al.* Amyloid- β (1-40) and Mortality in Patients With Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndrome: A Cohort Study. *Ann Intern Med* 2018;**168**:855-865. doi: 10.7326/m17-1540
213. Laina A, Stellos K, Stamatelopoulos K. Vascular ageing: Underlying mechanisms and clinical implications. *Exp Gerontol* 2018;**109**:16-30. doi: 10.1016/j.exger.2017.06.007
214. Park L, Zhou P, Pitstick R, *et al.* Nox2-derived radicals contribute to neurovascular and behavioral dysfunction in mice overexpressing the amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;**105**:1347-1352. doi: 10.1073/pnas.0711568105
215. Deane R, Du Yan S, Subramanian RK, *et al.* RAGE mediates amyloid-beta peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nat Med* 2003;**9**:907-913. doi: 10.1038/nm890
216. Paris D, Quadros A, Humphrey J, *et al.* Nilvadipine antagonizes both Abeta vasoactivity in isolated arteries, and the reduced cerebral blood flow in APPsw transgenic mice. *Brain Res* 2004;**999**:53-61. doi: 10.1016/j.brainres.2003.11.061
217. Wang J, Zhao C, Zhao A, *et al.* New insights in amyloid beta interactions with human telomerase. *J Am Chem Soc* 2015;**137**:1213-1219. doi: 10.1021/ja511030s

218. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2010;**55**:1318-1327. doi: 10.1016/j.jacc.2009.10.061
219. Hughes TM, Kuller LH, Barinas-Mitchell EJ, *et al.* Arterial stiffness and β -amyloid progression in nondemented elderly adults. *JAMA Neurol* 2014;**71**:562-568. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.186
220. Bucerius J, Barthel H, Tiepolt S, *et al.* Feasibility of *in vivo* (18)F-florbetaben PET/MR imaging of human carotid amyloid- β . *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2017;**44**:1119-1128. doi: 10.1007/s00259-017-3651-2
221. Janelidze S, Stomrud E, Palmqvist S, *et al.* Plasma β -amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci Rep* 2016;**6**:26801. doi: 10.1038/srep26801
222. Wang W, Gottesman RF, Meyer ML, *et al.* Carotid Intima-Media Thickness and Amyloid- β Deposition: The ARIC-PET Study. *J Alzheimers Dis* 2022;**88**:17-22. doi: 10.3233/jad-215671
223. Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, *et al.* Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 1996;**274**:99-102. doi: 10.1126/science.274.5284.99
224. Niwa K, Younkin L, Ebeling C, *et al.* Abeta 1-40-related reduction in functional hyperemia in mouse neocortex during somatosensory activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;**97**:9735-9740. doi: 10.1073/pnas.97.17.9735
225. Giokarini T, Bonafini L, Shearman MS, Hill RG, Longmore J. beta-Amyloid (A beta 1-40)-evoked changes in vascular reactivity are mediated via an endothelium-specific mechanism: studies using rabbit isolated aorta. *Ann N Y Acad Sci* 1997;**826**:475-478. doi: 10.1111/j.1749-6632.1997.tb48507.x
226. Tibolla G, Norata GD, Meda C, *et al.* Increased atherosclerosis and vascular inflammation in APP transgenic mice with apolipoprotein E deficiency. *Atherosclerosis* 2010;**210**:78-87. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.10.040
227. Van De Parre TJ, Guns PJ, Fransen P, *et al.* Attenuated atherogenesis in apolipoprotein E-deficient mice lacking amyloid precursor protein. *Atherosclerosis* 2011;**216**:54-58. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.032
228. Chong YH, Sung JH, Shin SA, Chung JH, Suh YH. Effects of the beta-amyloid and carboxyl-terminal fragment of Alzheimer's amyloid precursor protein on the production of the tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase-9 by human monocytic THP-1. *J Biol Chem* 2001;**276**:23511-23517. doi: 10.1074/jbc.M009466200
229. Zhang Q, Powers ET, Nieva J, *et al.* Metabolite-initiated protein misfolding may trigger Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;**101**:4752-4757. doi: 10.1073/pnas.0400924101
230. Timmis A, Vardas P, Townsend N, *et al.* European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2021. *Eur Heart J* 2022;**43**:716-799. doi: 10.1093/eurheartj/ehab892
231. Patel KV, Pandey A, de Lemos JA. Conceptual Framework for Addressing Residual Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk in the Era of Precision Medicine. *Circulation* 2018;**137**:2551-2553. doi: 10.1161/circulationaha.118.035289
232. Stamatelopoulos K, Mueller-Hennessen M, Georgiopoulos G, *et al.* Amyloid-beta (1-40) and Mortality in Patients With Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndrome: A Cohort Study. *Ann Intern Med* 2018;**168**:855-865. doi: 10.7326/m17-1540
233. Sary HC. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;**20**:1177-1178. doi: 10.1161/01.atv.20.5.1177
234. Kardoulas DG, Katsamouris AN, Gallis PT, *et al.* Ultrasonographic and histologic characteristics of symptom-free and symptomatic carotid plaque. *Cardiovascular Surgery* 1996;**4**:580-590. doi: [https://doi.org/10.1016/0967-2109\(96\)00030-0](https://doi.org/10.1016/0967-2109(96)00030-0)
235. El-Barghouty NM, Levine T, Ladva S, Flanagan A, Nicolaidis A. Histological verification of computerised carotid plaque characterisation. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 1996;**11**:414-416. doi: [https://doi.org/10.1016/S1078-5884\(96\)80172-9](https://doi.org/10.1016/S1078-5884(96)80172-9)

236. Kagawa R, Moritake K, Shima T, Okada Y. Validity of B-mode ultrasonographic findings in patients undergoing carotid endarterectomy in comparison with angiographic and clinicopathologic features. *Stroke* 1996;**27**:700-705. doi: 10.1161/01.str.27.4.700
237. Goes E, Janssens W, Maillet B, *et al.* Tissue characterization of atheromatous plaques: correlation between ultrasound image and histological findings. *J Clin Ultrasound* 1990;**18**:611-617. doi:
238. Homssi M, Saha A, Delgado D, *et al.* Extracranial Carotid Plaque Calcification and Cerebrovascular Ischemia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Stroke* 2023;**54**:2621-2628. doi: 10.1161/strokeaha.123.042807
239. Yoon WJ, Crisostomo P, Halandras P, Bechara CF, Aulivola B. The Use of the Agatston Calcium Score in Predicting Carotid Plaque Vulnerability. *Ann Vasc Surg* 2019;**54**:22-26. doi: 10.1016/j.avsg.2018.08.070
240. Topakian R, King A, Kwon SU, *et al.* Ultrasonic plaque echolucency and emboli signals predict stroke in asymptomatic carotid stenosis. *Neurology* 2011;**77**:751-758. doi: 10.1212/WNL.0b013e31822b00a6
241. Mitchell CC, Korcarz CE, Gepner AD, *et al.* Carotid Artery Echolucency, Texture Features, and Incident Cardiovascular Disease Events: The MESA Study. *J Am Heart Assoc* 2019;**8**:e010875. doi: 10.1161/jaha.118.010875
242. Gupta A, Kesavabhotla K, Baradaran H, *et al.* Plaque echolucency and stroke risk in asymptomatic carotid stenosis: a systematic review and meta-analysis. *Stroke* 2015;**46**:91-97. doi: 10.1161/strokeaha.114.006091
243. Nyman E, Liv P, Wester P, Näslund U, Grönlund C. Carotid wall echogenicity at baseline associates with accelerated vascular aging in a middle-aged population. *Int J Cardiovasc Imaging* 2023;**39**:575-583. doi: 10.1007/s10554-022-02760-3
244. Frigerio B, Coggi D, Bonomi A, *et al.* Determinants of Carotid Wall Echolucency in a Cohort of European High Cardiovascular Risk Subjects: A Cross-Sectional Analysis of IMPROVE Baseline Data. *Biomedicines* 2024;**12**. doi: 10.3390/biomedicines12040737
245. Georgiopoulou GA, Lambrinouadaki I, Athanasouli F, *et al.* Free androgen index as a predictor of blood pressure progression and accelerated vascular aging in menopause. *Atherosclerosis* 2016;**247**:177-183. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.021
246. Georgiopoulou G, Kontogiannis C, Stakos D, *et al.* Abdominal Fat Tissue Echogenicity: A Marker of Morbid Obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;**104**:301-311. doi: 10.1210/jc.2018-01301
247. Georgiopoulou GA, Stamatelopoulou KS, Lambrinouadaki I, *et al.* Prolactin and preclinical atherosclerosis in menopausal women with cardiovascular risk factors. *Hypertension* 2009;**54**:98-105. doi: 10.1161/hypertensionaha.109.132100
248. Creatsa M, Armeni E, Stamatelopoulou K, *et al.* Circulating androgen levels are associated with subclinical atherosclerosis and arterial stiffness in healthy recently menopausal women. *Metabolism* 2012;**61**:193-201. doi: 10.1016/j.metabol.2011.06.005
249. Bampatsias D, Mavroeidis I, Tual-Chalot S, *et al.* Beta-Secretase-1 Antisense RNA Is Associated with Vascular Ageing and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Thromb Haemost* 2022. doi: 10.1055/a-1914-2094
250. American Diabetes Association Professional Practice C. 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care* 2023;**47**:S20-S42. doi: 10.2337/dc24-S002
251. Sigala F, Efentakis P, Karageorgiadi D, *et al.* Reciprocal regulation of eNOS, H(2)S and CO-synthesizing enzymes in human atheroma: Correlation with plaque stability and effects of simvastatin. *Redox Biol* 2017;**12**:70-81. doi: 10.1016/j.redox.2017.02.006
252. Bonati LH, Kakkos S, Berkefeld J, *et al.* European Stroke Organisation guideline on endarterectomy and stenting for carotid artery stenosis. *Eur Stroke J* 2021;**6**:I-xxvii. doi: 10.1177/23969873211012121
253. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, *et al.* A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: A report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;**92**:1355-1374. doi:

254. Sundholm J, Gustavsson T, Sarkola T. Semi-automatic border detection software for the quantification of arterial lumen, intima-media and adventitia layer thickness with very-high resolution ultrasound. *Atherosclerosis* 2014;**234**:283-287. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.03.006
255. Kolyviras A, Manios E, Georgiopoulos G, *et al.* Differential associations of systolic and diastolic time rate of blood pressure variation with carotid atherosclerosis and plaque echogenicity. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2017;**19**:1070-1077. doi: 10.1111/jch.13070
256. Andersson J, Sundström J, Gustavsson T, *et al.* Echogenicity of the carotid intima-media complex is related to cardiovascular risk factors, dyslipidemia, oxidative stress and inflammation: the Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS) study. *Atherosclerosis* 2009;**204**:612-618. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.038
257. Sillesen H, Sartori S, Sandholt B, *et al.* Carotid plaque thickness and carotid plaque burden predict future cardiovascular events in asymptomatic adult Americans. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2018;**19**:1042-1050. doi: 10.1093/ehjci/jex239
258. Georgiopoulos G, Mavraganis G, Delialis D, *et al.* Carotid ultrasonography improves residual risk stratification in guidelines-defined high cardiovascular risk patients. *European Journal of Preventive Cardiology* 2022;**29**:1773-1784. doi:
259. Ibrahim P, Jashari F, Johansson E, *et al.* Vulnerable plaques in the contralateral carotid arteries in symptomatic patients: a detailed ultrasound analysis. *Atherosclerosis* 2014;**235**:526-531. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.05.934
260. Salem MK, Bown MJ, Sayers RD, *et al.* Identification of patients with a histologically unstable carotid plaque using ultrasonic plaque image analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2014;**48**:118-125. doi: 10.1016/j.ejvs.2014.05.015
261. Abdullah L, Paris D, Luis C, *et al.* The influence of diagnosis, intra- and inter-person variability on serum and plasma Abeta levels. *Neurosci Lett* 2007;**428**:53-58. doi: 10.1016/j.neulet.2007.09.058
262. Ghorbani A, Bhambhani V, Christenson RH, *et al.* Longitudinal Change in Galectin-3 and Incident Cardiovascular Outcomes. *J Am Coll Cardiol* 2018;**72**:3246-3254. doi: 10.1016/j.jacc.2018.09.076
263. Cauwenberghs N, Knez J, Thijs L, *et al.* Relation of Insulin Resistance to Longitudinal Changes in Left Ventricular Structure and Function in a General Population. *J Am Heart Assoc* 2018;**7**. doi: 10.1161/jaha.117.008315
264. Hirano M, Nakamura T, Kitta Y, *et al.* Assessment of carotid plaque echolucency in addition to plaque size increases the predictive value of carotid ultrasound for coronary events in patients with coronary artery disease and mild carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2010;**211**:451-455. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.03.003
265. Hsieh FY, Bloch DA, Larsen MD. A simple method of sample size calculation for linear and logistic regression. *Statistics in Medicine* 1998;**17**:1623-1634. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(19980730\)17:14<1623::AID-SIM871>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0258(19980730)17:14<1623::AID-SIM871>3.0.CO;2-S)
266. Irie Y, Katakami N, Kaneto H, *et al.* The risk factors associated with ultrasonic tissue characterization of carotid plaque in type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications* 2014;**28**:523-527. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2014.03.009
267. Budoff MJ, Rader DJ, Reilly MP, *et al.* Relationship of estimated GFR and coronary artery calcification in the CRIC (Chronic Renal Insufficiency Cohort) Study. *Am J Kidney Dis* 2011;**58**:519-526. doi: 10.1053/j.ajkd.2011.04.024
268. Freedman BI, Hsu FC, Langefeld CD, *et al.* Renal artery calcified plaque associations with subclinical renal and cardiovascular disease. *Kidney Int* 2004;**65**:2262-2267. doi: 10.1111/j.1523-1755.2004.00645.x
269. Stakos DA, Stamatelopoulos K, Bampatsias D, *et al.* The Alzheimer's Disease Amyloid-Beta Hypothesis in Cardiovascular Aging and Disease: JACC Focus Seminar. *J Am Coll Cardiol* 2020;**75**:952-967. doi: 10.1016/j.jacc.2019.12.033
270. Haider A, Bengs S, Luu J, *et al.* Sex and gender in cardiovascular medicine: presentation and outcomes of acute coronary syndrome. *Eur Heart J* 2019. doi: 10.1093/eurheartj/ehz898

271. Bonithon-Kopp C, Scarabin PY, Taquet A, *et al.* Increased risk of atherosclerosis in women after the menopause. *Bmj* 1989;**298**:1311. doi:
272. Ramezani Tehrani F, Behboudi-Gandevani S, Ghanbarian A, Azizi F. Effect of menopause on cardiovascular disease and its risk factors: a 9-year follow-up study. *Climacteric* 2014;**17**:164-172. doi: 10.3109/13697137.2013.828197
273. Lambrinouadaki I, Armeni E, Georgiopoulos G, *et al.* Subclinical atherosclerosis in menopausal women with low to medium calculated cardiovascular risk. *Int J Cardiol* 2013;**164**:70-76. doi: 10.1016/j.ijcard.2011.06.063
274. Stamatelopoulos KS, Armeni E, Georgiopoulos G, *et al.* Recently postmenopausal women have the same prevalence of subclinical carotid atherosclerosis as age and traditional risk factor matched men. *Atherosclerosis* 2012;**221**:508-513. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.12.006
275. Kryczka KE, Kruk M, Piotrowski W, *et al.* Menopause improves the predictive value of common cardiovascular risk scores in women with premature coronary artery disease. *Menopause* 2018;**25**:408-414. doi: 10.1097/gme.0000000000001029
276. Michos ED, Nasir K, Braunstein JB, *et al.* Framingham risk equation underestimates subclinical atherosclerosis risk in asymptomatic women. *Atherosclerosis* 2006;**184**:201-206. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.04.004
277. Desai MY, Nasir K, Braunstein JB, *et al.* Underlying risk factors incrementally add to the standard risk estimate in detecting subclinical atherosclerosis in low- and intermediate-risk middle-aged asymptomatic individuals. *Am Heart J* 2004;**148**:871-877. doi: 10.1016/j.ahj.2004.05.033
278. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, Cook NR. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. *Jama* 2007;**297**:611-619. doi: 10.1001/jama.297.6.611
279. Greenland P, Knoll MD, Stamler J, *et al.* Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *Jama* 2003;**290**:891-897. doi: 10.1001/jama.290.7.891
280. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, *et al.* Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *Jama* 2003;**290**:898-904. doi: 10.1001/jama.290.7.898
281. Appelman Y, van Rijn BB, Ten Haaf ME, Boersma E, Peters SA. Sex differences in cardiovascular risk factors and disease prevention. *Atherosclerosis* 2015;**241**:211-218. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.027
282. Sattar N, Greer IA. Pregnancy complications and maternal cardiovascular risk: opportunities for intervention and screening? *Bmj* 2002;**325**:157-160. doi: 10.1136/bmj.325.7356.157
283. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, *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 (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts)Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *European Heart Journal* 2016;**37**:2315-2381. doi: 10.1093/eurheartj/ehw106
284. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, *et al.* 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation* 2019;**139**:e1082-e1143. doi: 10.1161/cir.0000000000000625
285. Bayes-Genis A, Barallat J, de Antonio M, *et al.* Bloodstream Amyloid-beta (1-40) Peptide, Cognition, and Outcomes in Heart Failure. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2017;**70**:924-932. doi: 10.1016/j.rec.2017.02.021
286. Rembach A, Faux NG, Watt AD, *et al.* Changes in plasma amyloid beta in a longitudinal study of aging and Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2014;**10**:53-61. doi: 10.1016/j.jalz.2012.12.006

287. Toledo JB, Vanderstichele H, Figurski M, *et al.* Factors affecting A β plasma levels and their utility as biomarkers in ADNI. *Acta Neuropathol* 2011;**122**:401-413. doi: 10.1007/s00401-011-0861-8
288. Teixeira CJ, Veras K, de Oliveira Carvalho CR. Dehydroepiandrosterone on metabolism and the cardiovascular system in the postmenopausal period. *J Mol Med (Berl)* 2020;**98**:39-57. doi: 10.1007/s00109-019-01842-5
289. Rutkowski K, Sowa P, Rutkowska-Talipska J, Kuryliszyn-Moskal A, Rutkowski R. Dehydroepiandrosterone (DHEA): hypes and hopes. *Drugs* 2014;**74**:1195-1207. doi: 10.1007/s40265-014-0259-8
290. Gronewold J, Klafki HW, Baldelli E, *et al.* Factors Responsible for Plasma beta-Amyloid Accumulation in Chronic Kidney Disease. *Mol Neurobiol* 2016;**53**:3136-3145. doi: 10.1007/s12035-015-9218-y
291. Gronewold J, Todica O, Klafki HW, *et al.* Association of Plasma beta-Amyloid with Cognitive Performance and Decline in Chronic Kidney Disease. *Mol Neurobiol* 2017;**54**:7194-7203. doi: 10.1007/s12035-016-0243-2
292. Liu YH, Xiang Y, Wang YR, *et al.* Association Between Serum Amyloid-Beta and Renal Functions: Implications for Roles of Kidney in Amyloid-Beta Clearance. *Mol Neurobiol* 2015;**52**:115-119. doi: 10.1007/s12035-014-8854-y
293. Lao K, Ji N, Zhang X, *et al.* Drug development for Alzheimer's disease: review. *J Drug Target* 2019;**27**:164-173. doi: 10.1080/1061186x.2018.1474361
294. Mach F, Baigent C, Catapano AL, *et al.* 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal* 2019. doi: 10.1093/eurheartj/ehz455
295. Den Ruijter HM, Peters SA, Anderson TJ, *et al.* Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis. *Jama* 2012;**308**:796-803. doi: 10.1001/jama.2012.9630
296. Amato M, Veglia F, de Faire U, *et al.* Carotid plaque-thickness and common carotid IMT show additive value in cardiovascular risk prediction and reclassification. *Atherosclerosis* 2017;**263**:412-419. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.05.023
297. Nambi V, Chambless L, He M, *et al.* Common carotid artery intima-media thickness is as good as carotid intima-media thickness of all carotid artery segments in improving prediction of coronary heart disease risk in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Eur Heart J* 2012;**33**:183-190. doi: 10.1093/eurheartj/ehr192
298. Polak JF, Pencina MJ, Pencina KM, *et al.* Carotid-Wall Intima-Media Thickness and Cardiovascular Events. *New England Journal of Medicine* 2011;**365**:213-221. doi: 10.1056/NEJMoa1012592
299. Mortensen MB, Fuster V, Muntendam P, *et al.* A Simple Disease-Guided Approach to Personalize ACC/AHA-Recommended Statin Allocation in Elderly People: The BioImage Study. *J Am Coll Cardiol* 2016;**68**:881-891. doi: 10.1016/j.jacc.2016.05.084
300. Lambrinouadaki I, Delialis D, Georgiopoulos G, *et al.* Circulating Amyloid Beta 1–40 Is Associated with Increased Rate of Progression of Atherosclerosis in Menopause: A Prospective Cohort Study. *Thrombosis and Haemostasis* 2021;**121**:650-658. doi:
301. Lind L, Andersson J, Rönn M, Gustavsson T. The echogenicity of the intima-media complex in the common carotid artery is closely related to the echogenicity in plaques. *Atherosclerosis* 2007;**195**:411-414. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.03.029
302. Reiter M, Effenberger I, Sabeti S, *et al.* Increasing carotid plaque echolucency is predictive of cardiovascular events in high-risk patients. *Radiology* 2008;**248**:1050-1055. doi: 10.1148/radiol.2483071817
303. Mastroiacovo D, Mengozzi A, Dentali F, *et al.* Enhanced Carotid Plaque Echolucency Is Associated with Reduced Cognitive Performance in Elderly Patients with Atherosclerotic Disease Independently on Metabolic Profile. *Metabolites* 2023;**13**. doi: 10.3390/metabo13040478

304. Mayes J, Tinker-Mill C, Kolosov O, *et al.* β -Amyloid Fibrils in Alzheimer Disease Are Not Inert When Bound to Copper Ions but Can Degrade Hydrogen Peroxide and Generate Reactive Oxygen Species*. *Journal of Biological Chemistry* 2014;**289**:12052-12062. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.525212>
305. Medeiros LA, Khan T, El Khoury JB, *et al.* Fibrillar Amyloid Protein Present in Atheroma Activates CD36 Signal Transduction*. *Journal of Biological Chemistry* 2004;**279**:10643-10648. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M311735200>
306. Puri R, Nicholls SJ, Shao M, *et al.* Impact of statins on serial coronary calcification during atheroma progression and regression. *J Am Coll Cardiol* 2015;**65**:1273-1282. doi: 10.1016/j.jacc.2015.01.036
307. Khan F, Gonçalves I, Shore AC, *et al.* Plaque characteristics and biomarkers predicting regression and progression of carotid atherosclerosis. *Cell Reports Medicine* 2022;**3**:100676. doi: <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100676>
308. Mastroiacovo D, Ettorre E, Mengozzi A, *et al.* Serum Uric Acid Levels Are Associated with the Echogenic Features of Carotid Plaque Vulnerability in Elderly Patients with Atherosclerotic Disease. *Metabolites* 2023;**13**. doi: 10.3390/metabo13060693
309. Kadoglou NPE, Moulakakis KG, Mantas G, *et al.* The Association of Arterial Stiffness With Significant Carotid Atherosclerosis and Carotid Plaque Vulnerability. *Angiology* 2022;**73**:668-674. doi: 10.1177/00033197211068936
310. Kadoglou NP, Gerasimidis T, Golemati S, *et al.* The relationship between serum levels of vascular calcification inhibitors and carotid plaque vulnerability. *J Vasc Surg* 2008;**47**:55-62. doi: 10.1016/j.jvs.2007.09.058
311. Zureik M, Bureau J-M, Temmar M, *et al.* Echogenic Carotid Plaques Are Associated With Aortic Arterial Stiffness in Subjects With Subclinical Carotid Atherosclerosis. *Hypertension* 2003;**41**:519-527. doi: 10.1161/01.HYP.0000054978.86286.92
312. Kadoglou NPE, Gerasimidis T, Moutzouoglou A, *et al.* Intensive Lipid-lowering Therapy Ameliorates Novel Calcification Markers and GSM Score in Patients with Carotid Stenosis. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 2008;**35**:661-668. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2007.12.011>
313. Urbak L, Sandholt B, Græbe M, *et al.* Echolucent Carotid Plaques Becomes More Echogenic over Time – A 3D Ultrasound Study. *Annals of Vascular Surgery* 2022;**84**:137-147. doi: <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2022.01.028>