



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI
MEDICINSKI FAKULTET



Gabrijela Malešević

**ZNAČAJ MARKERA HRONIČNE INFLAMACIJE NISKOG
STEPENA U DETEKCIJI SUBKLINIČKE ATEROSKLEROZE
KOD OBOLJELIH OD DIJABETES MELITUSA TIP 2**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banja Luka, 2021.



UNIVERSITY OF BANJA LUKA
FACULTY OF MEDICINE



Gabrijela Malesevic

**SIGNIFICANCE OF LOWGRADE CHRONIC INFLAMMATION
MARKERS IN DETECTION OF SUBCLINICAL
ATHEROSCLEROSIS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2021.

ZAHVALNICA

Ovu doktorsku disertaciju posvećujem svojoj porodici uz koju sam naučila da se ne osvrćem za prolaznim vrijednostima već da tragam za istinom, rukovodim se ljubavlju i da je nenametljivost privilegija onih ljudi koji ne moraju da dokazuju svoje postojanje.

Veliku zahvalnost dugujem svojoj mentorki, Prof. Snježani Popović-Pejičić za neizmjernu pomoć, podršku i razumevanje koje mi je pružila u toku izrade doktorske disertacije.

MENTOR: prof. dr Snježana Popović-Pejičić, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci

ZNAČAJ MARKERA HRONIČNE INFLAMACIJE NISKOG STEPENA U DETEKCIJI SUBKLINIČKE ATEROSKLEROZE KOD OBOLJELIH OD DIJABETES MELITUSA TIP 2

Rezime: Aterosklerozna kardiovaskularna bolest značajno je češća kod oboljelih od dijabetesa, naročito tipa 2 (DM tip 2) nego kod nedijabetičara. Posebna karakteristika ishemijske bolesti srca (IBS) kod oboljelih od DM tip 2 je da je ona često asimptomatska tzv. „nijema ishemija“, koja se javlja kao posljedica autonomne neuropatije kardiovaskularnog sistema. Disregulacija autonomnog nervnog sistema sa povećanjem simpatičke aktivnosti je povezana sa povišenim upalnim markerima, kao što su interleukin 6 (IL-6) i visokosenzitivni C reaktivni protein (hs-CRP). Dokazana je povezanost povećanog nivoa IL-6 i nivoa hs-CRP-a sa tradicionalnim kardiovaskularnim faktorima rizika (gojaznost, hipertenzija, hipertrigliceridemija i niski HDL holesterol). S obzirom na to da je ateroskleroza u osnovi oboljenje koje odlikuje hronična arterijska inflamacija, nivo hs-CRP-a i IL-6 bi mogli odražavati težinu ateroskleroze, kao i rizik za razvoj budućih kardiovaskularnih događaja kod oboljelih od DM tip 2. Zadebljanje intime i medije karotidne arterije odgovara ranom formiranju aterosklerotskog plaka. Studije su pokazale da mjerenje intima-medija kompleksa (IMK) zajedničkih karotidnih arterija predstavlja dobar izbor, kao rani marker ateroskleroze te da je povećana vrijednost IMK značajno povezana sa povećanim rizikom od cerebrovaskularne i IBS, ali je i pokazatelj progresije aterosklerotskih promjena i snažan prediktor budućih kardiovaskularnih događaja. Cilj studije je bio da bude utvrđeno postojanje korelacije između IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT sa tradicionalnim kardiovaskularnim faktorima rizika, kao i značaj udruženog nalaza povećanog nivoa IL-6, hs-CRP-a i povećane debljine IMT karotidnih arterija u detekciji nijeme ishemije kod oboljelih od DM tip 2.

Rezultati: Vrijednosti IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija imali su statistički značajnu korelaciju sa starošću, trajanjem dijabetesa, pušenjem, ukupnim holesterolom i trigliceridima ($p < 0.05$), dok sa polom i vrijednostima BMI nije postojala statistički značajna korelacija. Primjenom regresione analize dokazali smo da je povećanje IL-6, hs-CRP i IMT povezano sa povećanom vjerovatnoćom prisutnosti nijeme IBS kod ispitanika sa DM tip 2 ($p < 0.05$).

Zaključak: Udruženi nalaz povećanog nivoa IL-6, hs-CRP-a i povećane debljine IMT na zajedničkoj karotidnoj arteriji je značajan marker subkliničke ateroskleroze, koji ukazuje na postojanje asimptomatske IBS kod osoba sa DM tip 2, bez prethodne istorije KVB.

Ključne riječi: dijabetes mellitus, ishemijska bolest srca, inflamatorni marker, intima medija kompleks

Naučna oblast: interna medicina

Naučno polje: medicina

Klasifikaciona oznaka za naučnu oblast prema CERIF šifrarniku: B560

Tip odabrane licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za način korištenja sadržaja disertacije: autorstvo-nekomercijalno-dijeliti pod istim uslovima

Mentor: dr sc. Snježana Popović-Pejičić, Professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka

SIGNIFICANCE OF LOW-GRADE CHRONIC INFLAMMATION MARKERS IN DETECTION OF SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

Summary: Atherosclerotic cardiovascular disease is significantly more common in diabetics, especially type 2 (DM type 2), than in non-diabetics. A special feature of ischemic heart disease (IHD) in patients with type 2 DM is that it is often asymptomatic "silent ischemia", which occurs as a consequence of autonomic neuropathy of the cardiovascular system. Autonomic nervous system dysregulation with increased sympathetic activity is associated with elevated inflammatory markers such as interleukin 6 (IL-6) and highly sensitive C reactive protein (hs-CRP). Increased levels of IL-6 and hs-CRP levels with traditional cardiovascular risk factors (obesity, hypertension, hypertriglyceridemia and low HDL cholesterol) have been shown. Since atherosclerosis is basically a disease characterized by chronic arterial inflammation, hs-CRP levels and IL-6 could reflect the severity of atherosclerosis as well as the risk for the development of future cardiovascular events in patients with type 2 DM. Thickening of the intima and media of the carotid artery corresponds to the early formation of atherosclerotic plaque. Studies have shown that measuring the intima-media thickness (IMT) of common carotid arteries is a good option, as an early marker of atherosclerosis, and that increased IMT is significantly associated with an increased risk of cerebrovascular and IHD, but is also an indicator of progression of atherosclerotic changes and a strong predictor future cardiovascular events. The aim of the study was to determine the existence of a correlation between IL-6, hs-CRP and IMT with traditional cardiovascular risk factors as well as the significance of the combined findings of increased levels of IL-6, hs-CRP and increased IMT in the detection of silent ischemia in patients with DM type 2.

Results: Values of IL-6, hs-CRP and IMT carotid arteries had a statistically significant correlation with age, duration of diabetes, smoking, total cholesterol and triglycerides ($p < 0.05$), while with gender and BMI values there was no statistically significant correlation. Using regression analysis, we proved that the increase in IL-6, hs-CRP and IMT was associated with an increased likelihood of the presence of silent IBS in subjects with DM type 2 ($p < 0.05$),

Conclusion: The combined finding of increased levels of IL-6, hs-CRP and increased IMT on the common carotid artery is a significant marker of subclinical atherosclerosis indicating the existence of asymptomatic IBS in individuals with type 2 DM, without a previous history of CVD.

Key words: diabetes mellitus, ischemic heart disease, inflammatory marker, intima media complex

Scientific area: Internal medicine

Scientific field: Medicine

Classification code for the scientific area by CERIF codebook: B560

Type of the selected license (Creative Commons) how to use the content of the dissertation: autorship-non commercial-share like

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Karakteristike ishemijske bolesti srca u dijabetesu	1
1.2. Ateroskleroza	2
1.2.1. Insulinska rezistencija i ateroskleroza	3
1.2.2. Hiperglikemija i ateroskleroza.....	5
1.2.3. Lipidi i ateroskleroza	6
1.2.4. Arterijska hipertenzija i ateroskleroza	8
1.2.5. Gojaznost i ateroskleroza.....	9
1.2.6. Pušenje cigareta i ateroskleroza.....	10
1.3. C-reaktivni protein kao marker ili faktor rizika za aterosklerozu.....	11
1.3.1. CRP- porijeklo, struktura i biološka funkcija.....	11
1.3.2. Uloga CRP u aterosklerozi	12
1.3.3. CRP samo biomarker ili i faktor rizika u aterosklerozi	14
1.3.4. CRP je potencijalni nezavisni faktor kardiovaskularnog rizika ...	15
1.4. Interleukin 6	16
1.5. Intima-Media Thickness (IMT) karotidnih arterija.....	19
1.5.1. UZV karotidnih arterija kao metoda neinvazivne procjene rane ateroskleroze	20
1.5.2. Povezanost IMT-a i IL-6	22
2. HIPOTEZE I CILJEVI RADA.....	24
3. ISPITANICI I METODE	25
3.1. Ispitanici.....	25
3.2. Metode	26
3.2.1. Debljina intime-medije karotidnih arterija	26
3.2.2. Ergometrijsko testiranje.....	27
3.2.3. Određivanje hemoglobina A1c	28
3.2.4. Mjerenje albumina u 24-satnom urinu.....	28
3.2.5. Mjerenje lipida u serumu	28
3.2.6. Određivanje hs-CRP i IL6	29
3.2.7. Mjerenje krvnog pritiska	29
3.2.8. Indeks tjelesne mase	29
3.2.9. Statistička analiza podataka	30
4. REZULTATI	32
4.1. Grupe ispitanika	32
4.1.1. Pol.....	32
4.1.2. Starost	33
4.1.3. BMI.....	34
4.1.4. Trajanje DM	35
4.1.5. Pušenje.....	36
4.2. Holesterol.....	37

4.2.1.	Ukupni kolesterol	37
4.2.2.	HDL kolesterol	39
4.2.3.	LDL kolesterol.....	40
4.2.4.	Trigliceridi	42
4.2.5.	Krvni pritisak.....	43
4.2.6.	HbA1c.....	45
4.3.	Albuminurija	45
4.3.1.	Medijana Albuminurija.....	45
4.3.2.	IL-6	47
4.3.3.	hs-CRP.....	47
4.3.4.	IMT	48
4.3.5.	IL-6 i hs-CRP kao prediktori povećane debljine IMT.....	48
4.4.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa tradicionalnim kardiovaskularnim faktorima rizika (pol, dob, dužina trajanja dijabetesa, pušački status, stanje glikoregulacije, gojaznost, dislipidemija)	49
4.4.1.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija.....	49
4.4.2.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa polom	50
4.4.3.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa starošću	52
4.4.4.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa trajanjem DM.....	53
4.4.5.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa pušenjem.....	54
4.4.6.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa BMI.....	55
4.4.7.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa kolesterolom	56
4.4.8.	Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa trigliceridima	57
4.5.	Generisanje logističkog modela za predikciju ishodata ergometrijskog testa	57
4.5.1.	IL-6 i hs-CRP kao prediktori IBS.....	58
4.5.2.	IL-6, hs-CRP, starosti i pol kao prediktori IBS	59
4.5.3.	Backstep Wald metoda vise nezavinih varijabli na ishod ergometrije.....	61
4.5.4.	Primjena regresionih analiza za ispitivanje korelacije udruženog nalaza povećanog nivoa IL-6, hs-CRP-a i povećane debljine IMT karotidnih arterija sa pojavom IBS	63
4.5.5.	Senzitivnost i specifičnost vrijednosti IL-6 u predviđanju IBS....	64
4.5.6.	Senzitivnost i specifičnost vrijednosti hs-CRP-a u predviđanju IBS	65

5. DISKUSIJA.....	66
6. ZAKLJUČCI	81
7. LITERATURA	83
SPISAK SKRAĆENICA	100
BIOGRAFIJA	101

1. UVOD

1.1. Karakteristike ishemijske bolesti srca u dijabetesu

Aterosklerotska kardiovaskularna bolest ostaje glavni uzrok smrti i invalidnosti kod pacijenata sa dijabetes melitusom, posebno kod onih sa dijabetesom tip 2 (DM tip 2), kod kojih se tipično javlja 14.6 godina ranije, s većom težinom i sa difuznijom distribucijom nego kod osoba bez dijabetesa (1). Oko dvije trećine smrtnih slučajeva kod osoba sa DM tip 2 može se pripisati kardiovaskularnim bolestima (KVB), od čega oko 40% otpada na ishemijsku bolest srca, 15% druge oblike srčanih bolesti, uglavnom kongestivno zatajenja srca i oko 10% infarkt miokarda. Među osobama sa DM tip 2 komplikacije aterosklerotske kardiovaskularne bolesti posebno su izražene kod onih sa mlađom dobi, lošijom glikoregulacijom, bubrežnim komplikacijama u poređenju sa osobama bez dijabetesa slične dobi. Iako se primjenom intenzivnih preventivnih mjera incidenca kardiovaskularnih bolesti smanjila u protekle dvije decenije, pacijenti sa DM tip 2 i dalje imaju značajno povećan rizik od vaskularnih komplikacija u poređenju sa osobama bez dijabetesa (2). Procjenjuje se da 425 miliona ljudi širom svijeta ima dijabetes, a očekuje se da će taj broj dostići 640 miliona do 2050. godine, zbog čega se treba naglasiti povećana učestalost i težina aterosklerotske kardiovaskularne bolesti kod osoba oboljelih od dijabetesa (3). Ključne manifestacije aterosklerotske kardiovaskularne bolesti kod dijabetes melitusa uključuju manifestnu aterosklerozu, koja se klinički prezentuje kao ishemijska bolest srca, ishemijski moždani udar, bolest perifernih arterija i srčana insuficijenciju. Visoka prevalenca koronarne i periferne arterijske bolesti kod osoba sa dijabetesom prepoznata je još prije jednog vijeka, ali je mogućnost poboljšanja stope kardiovaskularnih događaja zbog glukoze per se ostala još neriješena. U značajnoj studiji Framingham Heart, objavljenoj 1979. godine, Kannel i McGee su prospektivno pokazali veću učestalost KVB u svim dobnim grupama kod osoba sa dijabetesom u poređenju sa onima bez dijabetesa, sa značajnim uticajem dijabetesa na kardiovaskularni morbiditet i mortalitet (4). Povećani rizik za nastanak aterosklerotske kardiovaskularne bolesti kod osoba oboljelih od DM tip 2 ne može se u potpunosti objasniti tradicionalnim kardiovaskularnim faktorima rizika, jer je prisustvo dijabetesa melitusa u kombinaciji sa drugim faktorima rizika dovelo do sinergističkog, a ne aditivnog dodatnog rizika. Naknadne studije potvrdile su važnost dijabetes melitusa kao faktora rizika per se za

nastanak ateroskleroze u različitim populacionim grupama i ukazale da je DM tip 2 ekvivalent rizika za kardiovaskularna oboljenja (5). Osobe sa DM tip 2 bez prethodne istorije KVB imaju visok rizik za nastanak infarkta miokarda (20,2% incidencija iznad sedam godina), slično kao kod osoba bez dijabetesa koji su imali infarkt miokarda, što je pokazano u Finskoj East–West studiji (6). Na obdukcionim nalazima aterosklerotske lezije kod bolesnika sa dijabetesom su ekstenzivnije nego u opštoj populaciji, uz postojanje većeg broja intimalnih fibrolipidnih traka i zahvaćenost većeg broja krvnih sudova. Koronarna bolest se kod bolesnika sa dijabetesom javlja u ranijem životnom dobu, poslije tridesete do četrdesete godine. Klinički se manifestuje kao i kod bolesnika bez dijabetesa i to kao angina pektoris, akutni infarkt miokarda, srčana slabost, poremećaji ritma, naprasna smrt ili kao asimptomatska koronarna bolest.

Kada pacijent daje podatke o anginoznim tegobama, u tom trenutku kod više od 90% bolesnika sa dijabetesom postoje ozbiljne ateromatozne promjene u koronarnim krvnim sudovima. Često je prisutna nijema ishemija zbog neuropatije vegetativnog nervnog sistema i oštećenja aferentnih vlakana simpatikusa koja prenose bolne senzacije iz miokarda (7). Imajući u vidu ovakve nalaze, dalja ispitivanja bila su usmjerena na identifikaciju dodatnih faktora rizika za razvoj KVB, koja bi mogla biti razlog značajno učestalije KVB kod pacijenata sa DM tip 2.

1.2. Ateroskleroza

Ateroskleroza je degenerativan proces koji se odvija na endotelu krvnog suda koji je pretrpio određeno oštećenje, što izaziva inflamatornu reakciju i fibrozu proliferaciju sa evolucijom ka nastanku stabilnog ili nestabilnog plaka (8). Razvoj ateroskleroze počinje oštećenjem endotela, koje može biti izazvano fizičkim, hemijskim, toksičnim, infektivnim i imunološkim faktorima, koji vode aktivaciji ili oštećenju endotelne ćelije. Endotel krvnih sudova ima jednu od ključnih uloga u održavanju homeostaze u kardiovaskularnom sistemu, a njegova disfunkcija ima inicijalnu ulogu u nastanku procesa ateroskleroze (9). Ateroskleroza se danas smatra inflamatornom bolešću, s obzirom na ključnu ulogu inflamacije u svim stadijumima nastanka i razvoja ateroskleroznog procesa. Inflamatorna priroda ateroskleroze se manifestuje korelacijom nivoa inflamatornih markera u krvi, a naročito C-reaktivnog proteina (CRP) sa nastankom i progresijom ateroskleroze (10). Porast ateroskleroznog plaka obuhvata kontinuiranu akumulaciju makrofaga i limfocita, proliferaciju glatkih mišićnih ćelija i akumulaciju lipida u intimi. Ključni faktor u procesu lokalne celularne akumulacije lipida je stvaranje oksidovanih LDL čestica. Promjene u

intimi i formiranje ateromatoznog plaka praćeno je progresivnom degeneracijom i slabljenjem medije i limfocitnom infiltracijom adventicije. Ponavljano oštećenje endotela je presudno za rast ateromatoznog plaka, a to je dalje praćeno nagomilavanjem trombocita i oslobađanjem trombocitnih faktora rasta, kao i proliferacijom vaskularnih glatkih mišićnih ćelija. Progresivno zadebljanje intime dovodi do ishemije dubljih slojeva plaka, kao i intimalno-medijalnog spoja. Ateroskleroza je u osnovi inflamatorni proces koji nastaje kao posljedica hroničnog oštećenja zida krvnog suda multiplim faktorima rizika, kao što su starenje, hiperlipidemija, hipertenzija, pušenje, dijabetes melitus i izloženost nekim infektivnim agensima (herpes virusi, hlamidije) (11). Danas je dokazan mogući uticaj brojnih faktora rizika na razvoj ateroskleroze. To je proces koji se odvija u više faza, a posreduje niz faktora koji djeluju više godina u kontinuitetu. Danas se smatra da su ključni momenti: poremećaj endotelne funkcije sa akumulacijom lipida u intimi arterije, mobilisanje leukocita, formiranje masne trake, proliferacija glatkomišićnih ćelija i promjene u organizaciji ekstracelularnog matriksa (12). Sve to dovodi do stvaranja plaka čija je evolucija odgovorna za pojavu različitih kliničkih manifestacija aterosklerotske bolesti. Kliničke manifestacije ateroskleroze rezultat su progresivnog rasta i izmjena ateromatoznih plakova, koje dovode do luminalne stenoze, tromboze, embolizacije, formiranja aneurizmi ili rupture krvnog suda. Posljedice tih procesa su ishemijska bolest srca, moždani udar i periferna arterijska bolest (13).

1.2.1. Insulinska rezistencija i ateroskleroza

Insulinska rezistencija se opisuje kao poremećeni biološki odgovor na insulin. Može nastati kao posljedica prereceptorskog, receptorskog ili postreceptorskog defekta. Pod normalnim okolnostima, nakon vezivanja insulina za receptore dolazi do autofosforilacije beta subjedinice, na šta se nadovezuje fosforilacija nekolicine unutarćelijskih proteina (uključujući i insulin receptorski supstrat-1, IRS-1), koji su snažno povezani sa enzimom fosfatidil inozitol 3 kinazom (PI3k). Vezivanje insulina za receptor dovodi do značajnog povećanja aktivnosti PI3k, što je od ključnog značaja za unutarćelijsko prenošenje signala, kako u kardiovaskularnim tako i u drugim insulin-senzitivnim tkivima. Povećanje aktivnosti enzima PI3k dovodi do porasta nivoa azot oksida (*nitric oxide*, NO), aktivnosti natrijumske pumpe, kalijumovih kanala i senzitivnosti miofilamenata na kalcijum, odnosno vazodilatacije, a rezistencija na dejstva insulina u vaskularnim i drugim insulin-senzitivnim tkivima se može povezati sa smanjenom aktivnošću PI3k (14). Insulin igra važnu ulogu u vaskularnoj homeostazi. Sa jedne strane stimuliše endotelnu produkciju NO, koji je

krucijalni vazodilatator sa antiagregacionim dejstvom i utiče na ograničavanje rasta glatkih ćelija i njihove migracije. Vaskularni efekti insulina mogu biti vazodilatatorni i vazokonstriktorni. Glavni medijator vazodilatatornih efekata insulina je NO, dok je glavni medijator vazokonstriktornih efekata endotelin jedan ET-1 (15). Svi efekti se odvijaju preko dva signalna puta. U fiziološkim uslovima predominira vazoprotektivni fosfoinozolid-3-kinazni put i on je odgovoran za ekspresiju i aktivaciju endotelne azot-oksida sintetaze (eNOS) (16).

Poremećena endotelijum-zavisna vazodilatacija u insulin-rezistentnim stanjima se može objasniti izmjenama unutarćelijskih signalnih puteva koji smanjuju produkciju NO. Sa druge strane prenos insulinskih signala putem mitogen-aktivirajuće protein kinaze (*mitogen activated protein kinase*, MAPK) u insulinskoj rezistenciji je intaktan. Aktivacija MAPK je povezana sa povećanom produkcijom ET-1 i povećanim nivoima inflamacije i tromboze (17). Insulin se vezuje za insulinski receptor koji sadrži dvije α i dvije beta podjedinice. Alfa podjedinice su komponente vezivanja hormona, dok su beta podjedinice proteinin kinaza specifična za tirozin koja i sama može biti autofosforilirana. Za α podjedinicu se vezuju insulin, insulinski faktor rasta i epidermalni faktor rasta. Subjedinica sadrži ekstracelularni, transmembranski i citozolni domen. Citozolni domen subjedinice je sa tirozin-kinaznom aktivnosti koja podleže konformacionim promjenama i autofosforilaciji nakon vezivanja insulina na α subjedinicu (18). Kod DM tip 2 insulinska rezistencija pojavljuje se kao poremećaj koji je udružen sa: hiperglikemijom, hiperinsulinemijom, poremećajem metabolizma lipoproteina (snižen HDL holesterol, poremećaj u sastavu i kompoziciji visoko aterogenog LDL-a) i hipofibrinolizom, tj. povišen nivo PAI-1 (plazminogen aktivator inhibitora) (19). Povećanje vrijednosti PAI-1 sprečava dejstva plazminogena na rastvaranje tromba (trombolizu) na taj način što endogeni trigliceridi podstiču endotelne ćelije da pojačano stvaraju inhibitor plazminogena, što usporava proces trombolize (20). Adipociti igraju značajnu ulogu u kontroli cirkulišućih slobodnih masnih kiselina (SMK), posreduju brzom klirensu SMK u postprandijalnom stanju u utiču na oslobađanje u lipolizi. SMK imaju ulogu u insulinskoj rezistenciji inhibirajući transport glukoze u mišićima i oksidaciju kroz serin/treonin fosforilaciju insulinskog receptor supstrata (IRS-1). Hronična izloženost povišenim koncentracijama SMK smanjuje odgovor insulina na glukozu, kao i da odgovor insulina na glukozu ne može da kompenzuje porast rezistencije indukovane produženoj izloženosti SMK. Visceralna mast ima jaču vezu sa insulinskom rezistencijom i ima veću lipolitičku aktivnost i sposobnost da oslobodi SMK direktno u jetru kroz portalnu cirkulaciju (21). Insulin ispoljava svoje dejstvo i preko metabolizma elektrolita. Hronična

hiperinsulinizacija dovodi do akumulacije natrijuma i kalcijuma u glatkim mišićnim ćelijama, senzibilizujući ih na presorne efekte noradrenalina i angiotenzina II. Posljedično dolazi do vazokonstrikcije i porasta krvnog pritiska kao još jednog veoma potentnog i nezavisnog kardiovaskularnog faktora rizika. Takođe, insulin posjeduje i mitogeno dejstvo. Pod njegovim uticajem se povećava sadržaj kolagena, proteina, broja monocita i glatkih mišićnih ćelija zida krvnog suda. Proliferacija glatkih mišićnih ćelija dovodi do zadebljanja zida krvnog suda sa suženjem njegovog lumena (22). Nedovoljno je ispitano kakvi su efekti insulinskih prekursora proinsulina, proinsulinskih razgradnih produkata i C-peptida u nastanku endotelijalne disfunkcije i ateroskleroze (23).

1.2.2. Hiperglikemija i ateroskleroza

Hronična hiperglikemija služi kao inicijalni okidač nastanka dijabetesnih komplikacija, ali još nije jasno da li isti patofiziološki proces igra ulogu u nastanku svih komplikacija i da li su patofiziološki procesi, odgovorni za nastanak komplikacija u različitim tkivima i organima, isti. Aktuelne su četiri teorije koje pokušavaju da objasne kako hronična hiperglikemija dovodi do nastanka dijabetesnih komplikacija. U prvoj teoriji povećanje nivoa glukoze vodi neenzimskoj glikozilaciji unutarćelijskih i vanćelijskih proteina i nastanku produkata uznapredovale glikozilacije (*advancedglycosylation end products*, AGE). Ovi AGE produkti se vezuju za druge proteine (npr. kolagen i ekstracelularni matriksni proteini) i dovode do endotelijalne disfunkcije i ubrzanja ateroskleroze. U drugoj teoriji hiperglikemija pod dejstvom enzima aldozo-reduktaze u sorbitolskom putu dovodi do povećanja nivoa sorbitola koji mijenjaju redoks potencijal, ćelijsku osmolarnost, dovode do stvaranja (reactive oxygens species ROS I) poremećaja endotelijalne funkcije. Treća teorija navodi da hiperglikemija uzrokuje povećano formiranje diacilglicerola i aktivaciju protein kinaze C (*protein kinase C*, PKC). Posljedice aktivacije PKC su brojne: indukcija vaskularnog endotelijalnog faktora rasta, poremećaja vaskularne permeabilnosti, poremećaja protoka krvi (putem smanjenja aktivnosti azot oksid sintaze i povećane sinteze endotelina 1, zadebljanja bazalne membrane (putem povećane sinteze kolagena Tipa IV) i fibronektina dejstvom transformišućeg faktora rasta β , poremećaja fibrinolize usljed povećane ekspresije aktivatora plazminogen inhibitora-1, povećanja oksidativnog stresa regulacijom nekolicine NADPH oksidaza. Sve navedeno stvara preduslov za nastanak poremećaja endotelijalne funkcije. U četvrtoj teoriji hronična hiperglikemija povećava produkciju fruktozo 6-fosfata (u heksozaminskom putu), koji služi kao supstrat za glikozilaciju i produkciju proteoglikana. Heksozaminski put može dovesti do izmjene

proteina kao što su endotelijalna NO sintaza ili do izmjene genske ekspresije TGF- β i/ili PAI-1, a to favorizuje hiperkoagulabilnost i trombozu. Jedinstven mehanizam koji može dovesti do aktivacije sva četiri puta navedena u prethodnim teorijama je najverovatnije povećana produkcija ROS ili superoksida u mitohondrijama pod uticajem hronične hiperglikemije (24,25,26,27). Aterosklerotske promjene osoba sa DM tipa 2 javljaju se ranije nego u opštoj populaciji i jedan su od uzroka povećanog mortaliteta osoba sa dijabetesom. Već samo smanjenje tolerancije glukoze predstavlja rizik od nastanka ateroskleroze. Muškarci sa intolerancijom glukoze imaju 50% veći rizik od nastanka koronarne bolesti, a žene čak dvostruko veći. Oko 80% osoba sa dijabetesom bolesti umire od aterosklerotskih promjena krvnih sudova (28). Između zajedničkih faktora rizika za ateroskrozu i dijabetes najviše se podataka u literaturi nalazi o dislipoproteinemijama. Brojne razlike između lipida osoba sa dijabetesom i ostale populacije sigurno su jedan od uzroka bržeg razvoja i izraženije ateroskleroze u dijabetesu. Studije pokazuju da osobe sa dijabetesom imaju povišenu prosječnu koncentraciju VLDL (very-low-density lipoprotein), LDL (Low Density Lipoprotein), HDL (High Density Lipoprotein) i triglicerida te sniženu vrijednost HDL-a u odnosu na ostalu populaciju. Hiperglikemijom i hipertrigliceridemijom uzrokovana oksidacija lipoproteina, na prvome mjestu LDL-a, smatra se važnim faktorom u početku nastajanja ateroma. Kod oboljelih od DM tipa 2 su značajne kvalitativne promjene LDL partikula kod kojih se oksidativna modifikacija LDL čestica odigrava i u cirkulaciji zbog smanjenog antioksidativnog kapaciteta plazme u uslovima poremećene glikoregulacije.

Oksidacija se može nastaviti unutar makrofaga, a produkti oksidacije postaju citotoksični za ove ćelije (29). HDL holesterol učestvuje u intravaskularnoj razgradnji trigliceridima bogatih lipoproteinskih čestica i prihvatanju holesterola iz perifernih tkiva i njegov reverzni transport u jetru, čime djeluje protektivno u odnosu na aterosklerotski proces. U uslovima hiperinsulinemije i hiperglikemije nizak nivo protektivnog HDL holesterola za posljedicu ima njegovu smanjenu funkcionalnu sposobnost i indirektni doprinos poremećajima na nivou endotelne ćelije (30).

1.2.3. Lipidi i ateroskleroza

Dislipidemije predstavljaju metabolički poremećaj koji dovodi do porasta jedne ili više frakcija lipida u krvi. Hiperlipoproteinemije vjerovatno imaju najveći značaj za nastanak ateroskleroze i aterosklerotskih vaskularnih bolesti (31). Iako u patogenezi ateroskleroze učestvuje veliki broj faktora rizika i dalje centralnu ulogu u nastajanju aterosklerotskog procesa ima poremećaj lipida. Zbog toga je i najbolje istražen faktor rizika upravo

hiperlipoproteinemija. U mnogim je istraživanjima dokazana povezanost povećane koncentracije ukupnoga holesterola, lipoproteina male gustine LDL, te smanjenog nivoa lipoproteina velike gustine HDL s povećanom učestalošću ateroskleroze. LDL čestice koje su isključivo sastavljene od esterifikovanog holesterola i apoproteina B 100, vežu se za LDL receptore na površini ćelija i endocitozom ulaze u ćelije (32). Oksidativno modifikovan LDL zauzima najznačajnije mjesto u inicijaciji endotelne disfunkcije i oštećenju endotelnih i glatkomišićnih ćelija zida krvnog suda i samim tim predstavlja centralni faktor aterogeneze (33).

Povećana koncentracija nivoa LDL u krvi dovodi do prodora i akumulacije u intimu i mediju krvnih sudova, čak i onda kada endotel nije oštećen. Infiltracija i akumulacija lipida oštećuje i endotelni i glatkomišićni sloj sa poremećajem fiziološke uloge endotela u regulaciji vaskularnog tonusa, vaskularne arhitektonike, homeostaze i regulacije inflamacije (34). Nakon što se procesom oksidacije hemijski promijene, ostaju zarobljeni u zidu arterije i tako doprinose procesu ateroskleroze (35). Osnovni proteinski dijelovi lipoproteina su apoproteini. Uloga im je da djeluju kao kofaktori pojedinih enzima koji učestvuju u metabolizmu proteinskih čestica te da se vežu za specifične LDL receptore na površini različitih ćelija i tako omogućuju ulazak lipoproteina i njihov katabolizam u ćelijama. Apoprotein B (apo B) je glavna komponenta LDL-a, IDL-a, VLDL-a i hilomikrona. Koncentracija apo B direktna je mjera koncentracije aterogenih lipoproteina u plazmi. Taj je parametar pogotovo koristan kod bolesnika s hipertrigliceridemijom ili kod onih s normalnim LDL-om. Apoprotein A1 (apo A1) je glavni dio HDL-a. Niske vrijednosti apo A1, kao i niski HDL udruženi sa povećanom koncentracijom apo B povećavaju rizik od nastanka koronarne bolesti (36,37). Iz ovoga se zaključuje da više lipidnih parametara zajednički utiču na proces ateroskleroze, zbog čega se u procjeni rizika za pojavu vaskularnih incidenata koriste različiti indeksi koji predstavljaju odnose između pojedinih lipidnih frakcija.

Povišena koncentracija triglicerida je važna u procesu aterogeneze zbog toga što je povezana sa LDL-om i HDL-om na način da podstiču aterosklerozu. Mali gusti LDL, pojavljuje se u plazmi kada je nivo triglicerida iznad 1,4 mmol/l. Takođe, visoke vrijednosti triglicerida praćene su niskim vrijednostima HDL-a i nastanka ateroskleroze. Dokazano je da povećan nivo triglicerida, kao i nizak nivo HDL-a predstavlja nezavisan faktor za nastanak aterosklerotskog procesa. Povećanjem nivoa triglicerida za 1 mmol/l povećava se i rizik za nastanak ishemijske bolesti srca i to kod muškaraca za 15%, a kod žena za čak 37%. Za napredovanje procesa ateroskleroze važna je umjerena hipertrigliceridemija u rasponu od

2 do 5 mmol/l. Hronična hiperlipidemija, hipertenzija, pušenje, dijabetes, povišen nivo homocisteina u krvi, infektivni agensi, mogu da izmjene normalni, fiziološki model ponašanja endotela (38).

1.2.4. Arterijska hipertenzija i ateroskleroza

Arterijska hipertenzija je jedan od najvažnijih nezavisnih faktora kardiovaskularnog rizika koji utiče na rani morbiditet, invalidnost i mortalitet u odrasloj populaciji. Zbog toga se nalazi u centru naučnih i kliničkih ispitivanja u području patogeneze, dijagnoze i liječenja (39). Oko 27% svjetske odrasle populacije ima arterijsku hipertenziju. U Framinghamskoj studiji dokazano je da je rizik koronarne bolesti kod osoba u dobi od 35 do 46 godina s arterijskom hipertenzijom dva puta veći u poređenju s osobama s normotenzijom. Hipertenzija je važan faktor rizika za razvoj ateroskleroze kod koje djelovanjem povišenih vrijednosti angiotenzina II, snažnog vazokonstriktora dolazi i do proliferacije glatkih mišićnih ćelija. Naime, angiotenzin II vezanjem na specifične receptore na glatkim mišićnim ćelijama potiče aktivaciju fosfolipaze C, koja povećava intracelularnu koncentraciju kalcija, kontrakciju glatkih mišićnih ćelija, sintezu proteina i hipertrofiju glatkih mišićnih ćelija (40).

Angiotenzin II veže se i na specifične angiotensin 1 receptore prisutne na membrani makrofaga, što aktivira ćelijsku lipooksigenazu koja je direktno odgovorna za oksidativnu transformaciju LDL-a i produkciju oksidiranih oblika LDL-a. Jedna od prvih stepenica u razvoju ateroskleroze je vezanje monocita za endotelne ćelije, a važan posrednik adhezije je angiotenzin II, te se i kroz ovaj mehanizam pokazuje važnost hipertenzije u razvoju aterosklerotskog procesa (41). Kod hipertenzivnih bolesnika povećana je aktivnost i lipoksigenaze glatkih mišićnih ćelija kao i proizvodnja hidrogen peroksida i slobodnih radikala, te tako hipertenzija i kroz oksidativni stres ima proinflamatorni, aterogenetski učinak (42). Bolesnici sa blagim oblicima hipertenzije u značajnom broju već imaju strukturne promjene krvnih sudova te čitav niz metaboličkih poremećaja kao što su insulinska rezistencija i dislipidemija, povećana aktivnost simpatikusa i renin-angiotensin-aldosteron sistema, poremećaj transporta elektrolita kroz membrane kao i pregradnje miokarda i nemanifestno oštećenje bubrežne funkcije (43). Meta-analiza koja je analizirala 23 randomizovane studije, pokazala je da upotreba antihipertenziva smanjuje rizik za infarkt miokarda za više od 30%, bez obzira na to koja je grupa antihipertenzivnih lijekova upotrebljavana (44). Nekoliko randomizovanih studija u koje je bilo uključeno više hiljada pacijenata dokazalo je efektivnost liječenja s ciljem prevencije KVB (45). Mala sniženja krvnog pritiska smanjuju značajno kardiovaskularni rizik. Metaanaliza 61 prospektivne

studije na više od milion odraslih osoba pokazala je da smanjenje sistolnog pritiska za 2 mmHg dovodi do 10-odstotne redukcije kardiovaskularnog rizika, odnosno 7-odstotnog smanjenja rizika ishemijske bolesti srca (46). Uprkos poboljšanju mogućnosti dijagnostike i monitoringa pacijenata, te efikasnosti antihipertenzivnih lijekova, kod velikog dijela populacije hipertenzija i dalje ostaje neotkrivena ili je neadekvatno liječena (47). Zbog toga je važna rana intervencija, kao i provođenje preventivnih mjera od ranog djetinstva u cijeloj populaciji.

1.2.5. Gojaznost i ateroskleroza

Gojaznost je oboljenje koje se karakteriše povećanim energetske unosom i/ili smanjenom energetske potrošnjom. Genetski je determinisana kod najvećeg broja pacijenata. Povezana je sa značajnim promjenama u funkciji adipocita i makrofaga u masnom tkivu, hroničnom inflamacijom niskog stepena i povećanim rizikom za razvoj insulinske rezistencije, dijabetesa i vaskularnih bolesti (48). Svjetska zdravstvena organizacija je 1997 godine uvrstila gojaznost u oboljenja epidemijskog karaktera, kao značajan faktor u razvoju ateroskleroze. Gojaznost je prekomjerna tjelesna masa nastala usljed povećanja masnog tkiva u organizmu, iznad 30% kod žena i 25% kod muškaraca (49). Najčešće korišten parametar je indeks tjelesne mase BMI (Body mass index) koji se dobije na osnovu količnika tjelesne mase i visine, gdje je tjelesna masa izražena u kilogramima, a tjelesna visina u metrima na kvadrat. BMI ima jako širok normalan opseg od 18,5-24,9 (kg/m²), jer uzima malo podataka u obzir. Različita distribucija masnog tkiva u organizmu je u visokoj korelaciji sa određenim bolestima i patološkim stanjima, tako da distribucija masnog tkiva predstavlja bolji pokazatelj zdravstvenog rizika u odnosu na BMI (50). Posljednjih godina je pokazano da masno tkivo ima centralnu ulogu u kontroli metabolizma glukoze i lipida i da sekretuje brojne hormone i citokine. Značajna povezanost povećane količine masnog tkiva, metaboličkih poremećaja i kardiovaskularnih događaja kao i specifična povezanost sa portnom cirkulacijom u jetri ukazali su na značajnu endokrinu funkciju visceralnih masnih depoa. Pokazano je da je sa patofiziološke tačke gledanja mnogo značajniji kvalitet od kvantiteta masnog tkiva (51,52). Adipociti i masno tkivo proizvode razne hormone i citokine koji su uključeni u metabolizam glukoze (adiponektin, rezistin), metabolizam lipida (holesteril ester transfer protein CETP), procese inflamacije (TNF- α , IL-6), koagulaciji (PAI-1), kontroli krvnog pritiska (angiotenzinogen, angiotenzin II), navikama u ishrani (leptin), tako da utiču na funkciju mišića, mozga, jetre, krvnih sudova (53,54). U gojaznosti dolazi do histoloških promjena u masnom tkivu sa povećanjem broja makrofaga prije svega M1

koji sekretuju proinflamatorne citokine interleukin 6 (IL6) i tumor necrosis factor (TNF). Odnos makrofaga i adipocitokina i njihova parakrina međufunkcija injiciraju i održavaju disfunkciju masnog tkiva koja postoji u gojznosti (55,56). Gojznost predstavlja veoma značajan faktor u razvoju ateroskleroze. Osobe koje imaju prekomjernu tjelesnu masu imaju za 20% kraći životni vijek u odnosu na svoje vršnjake koji nisu gojazni. Prekomjerna tjelesna težina, naročito abdominalni tip gojznosti, udružena sa drugim kardiovaskularnim faktorima rizika kao što su povišeni krvni pritisak, hiperinzulinemija i insulinska rezistencija, poremećena tolerancija glukoze, povišena koncentracija triglicerida, snižena koncentracija HDL holesterola, čine metabolički sindrom. Glavni značaj metaboličkog sindroma je povišen rizik za nastanak kardiovaskularnih oboljenja i DM tip 2 (57).

1.2.6. Pušenje cigareta i ateroskleroza

Pušenje je veoma važan uzrok povećane učestalosti ateroskleroze. Procijenjena prevalencija pušenja je 30-40%. Kod muškaraca pušača, starosti 40 godina života ishemijska bolest srca se javlja pet puta češće nego kod nepušača, a nastanak infarkta i iznenadne smrti je tri puta češća. Patofiziološki mehanizam kojim se objašnjava uticaj pušenja na razvoj ateroskleroze još nije dovoljno rasvijetljen. Važnu ulogu imaju izmjene u faktorima hemostaze, funkciji endotela i lipidima krvi. Međutim, sve je više dokaza da sastojci duvanskog dima bar dijelom mogu da ubrzaju pojavu aterotromboze, kroz pokretanje inflamacijske reakcije u krvnom sudu (58). U osnovi pojave ishemijske bolesti srca kod pušača je ubrzana ateroskleroza, ali i povećan rizik od nastanka tromboze na terenu aterosklerotski izmijenjenih arterija. Dokazano je da prestanak pušenja znatno smanjuje rizik za pojavu KVB, ali nikada ne dostiže nivo kao kod stalnih nepušača (59). Nikotin direktno dovodi do proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija i fibroblasta i pojačava mitogeni efekat angiotenzina II. Taj efekat se ostvaruje aktivacijom bazičnih zajedničkih mitogenih signalnih molekula. Ovi rezultati govore u prilog tome da interakcija nikotina i angiotenzina II može da doprinese patogenezi kardiovaskularnih bolesti vezanih za pušenje (60). Prema rezultatima studija nikotin, u koncentracijama koje se nalaze u krvi pušača, povećava ekspresiju gena za proteine uključene u angiogenezu, što uz stimulaciju proliferacije glatkih mišićnih ćelija i endotelnih ćelija podstiče patološku angiogenezu i rast aterosklerotskog plaka (61). Poznato je da pušenje djeluje sinergistički sa ostalim klasičnim faktorima rizika za kardiovaskularne bolesti, u razvoju aterosklerotske bolesti. Postoje studije u kojima se dokazuje da pušenje cigareta predstavlja nezavisan faktor rizika za nastanak ateroskleroze. Pušenje je

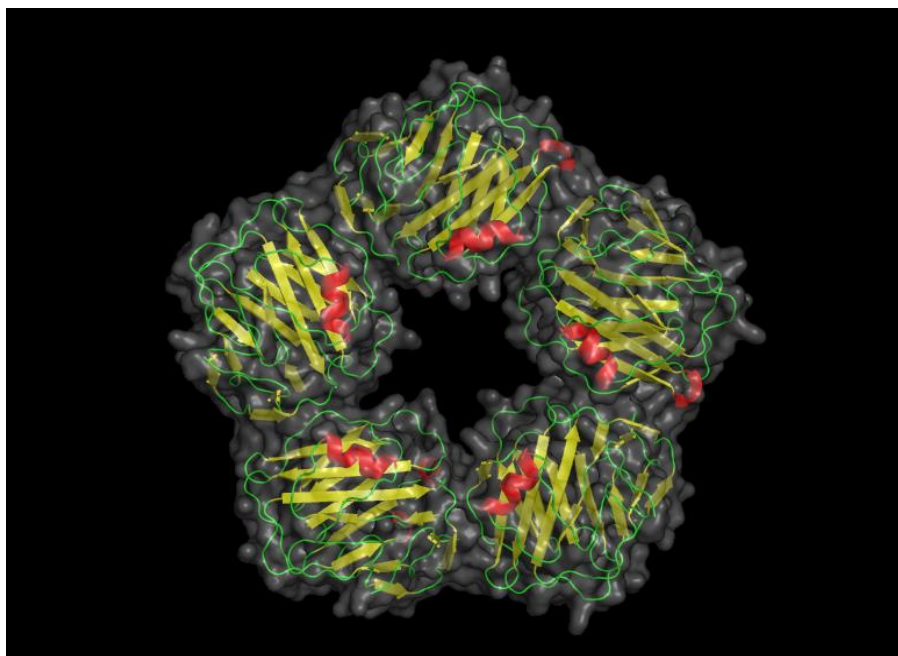
nedvosmisleno dokazan, nezavisan i izuzetno potentan faktor rizika za nastanak KVB što je pokazano brojnim velikim studijama (62,63).

1.3. C-reaktivni protein kao marker ili faktor rizika za aterosklerozu

1.3.1. CRP- porijeklo, struktura i biološka funkcija

CRP, nazvan po svojoj sposobnosti da taloži tjelesni C-polisaharid *Streptococcus pneumoniae*, bio je prvi protein akutne faze koji je opisan i koji je izuzetno senzitivni sistemski marker inflamacije i tkivnog oštećenja (64). Pripada pentraksinskoj porodici kalcijum zavisnih ligand vezujućih plazma proteina, čiji je drugi član kod ljudi serumski amiloid A komponenta (SAA). Molekul CRP u ljudi se sastoji od pet identičnih neglikoziliranih polipeptidnih subjedinica koje se svaka sastoje od 206 amino kiselinskih ostataka. Protomeri su nekovalentno udruženi u prstenastu konfiguraciju sa cikličnom pentamernom simetrijom (65). CRP se vezuje sa najvećim afinitetom za fosfolipidske rezidue, ali se takođe vezuje za različite druge autologe i spoljne ligande i agregira ili precipitira ćelije, čestice ili molekularne strukture koje nose te ligande. Autologi ligandi obuhvataju native i modifikovane plazma lipoproteine, oštećene ćelijske membrane, veliki broj različitih fosfolipida i od njih zavisnih jedinjenja, male ribonukleoproteine jezgra, i apoptotične ćelije (66). CRP je protein akutne faze koji proizvode hepatociti na stimulaciju nekoliko proinflamatornih citokina izvedeni iz monocita/makrofaga ili masnog tkiva (67). Njegova produkciju u hepatocitima uglavnom je stimulirana sa IL-6, pošto je ova sinteza sinergijski povećana za inter leukinom jedan (IL-1) (68). CRP-om posredovana aktivacija komplementa je ograničena na početnu fazu koja uključuje C1-C4 komponente i čini se da smanjuje količinu kasnije agresivne aktivacije komplementa putem uhođne regulacije ekspresije komplement-inhibitornih faktora od strane endotelne ćelije. Kao posljedica ovoga, CRP učestvuje u odbrani domaćina dok ograničava potencijalno oštećujuće efekte komponenti kasnije faze aktivacije komplementa, što konačno vodi hroničnoj inflamaciji (69). Osim produkcije u hepatocitima CRP se takođe proizvodi u aterosklerotičnoj leziji (posebno u glatkim mišićima i makrofaga) u bubrezima, neuronima i alveolarnim makrofagima (70). Štaviše, postoje dokazi o stimulaciji proizvodnje CRP putem lipidne peroksidacije i infekcija citomegalovirusom koja aktivira kaskadu proinflamatornih citokina (71). U hroničnim upalnim stanjima, CRP koncentracije mogu zauvijek ostati visoke (72). Kao značajna komponenta urođenog imuniteta, CRP vezuje fosforilholin oksidovanih LDL čestica i pomaže makrofagu fagocitozu. Oksidovane LDL partikule imaju snažan efekat na

kardiomiocyte, izazivajući oštećenje i poremećaj električne aktivnosti (73). Visok nivo oksidovanih LDL čestica u krvi je prediktor kardiovaskularnih događaja kod ove grupe bolesnika (74).



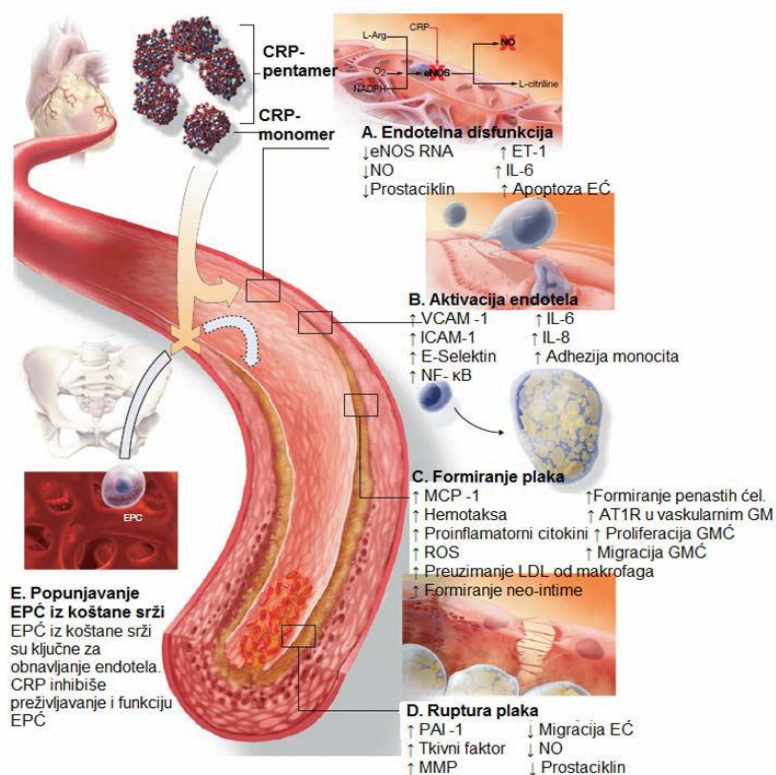
Slika 1. Molekulska struktura i morfologija humanog CRP: Vrpčasti dijagram kristalne strukture koji pokazuje lecitinske omče i po dva atoma kalcijuma na ligand-vezujućim mjestima svakog protomera (adaptirano iz Mark B. Pepys and Gideon M. Hirschfield. C reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003; 111:1805–1812.doi:10.1172/JCI200318921.)

1.3.2. Uloga CRP u aterosklerozi

Endotelne ćelije su normalno otporne na adheziju leukocita. Proinflamatorni stimulusi, uključujući dijetu bogatu zasićenim mastima, hiperholesterolemiju, gojaznost, hiperglikemiju, insulinsku rezistenciju, hipertenziju i pušenje, predstavljaju okidače za endotelnu ekspresiju adhezivnih molekula kao što su E-selectin i adhezivni molekul -1 (VCAM-1) koji posreduju priljubljivanje cirkulišućih monocita i limfocita (75). Paralelno, makrofage proliferišu i uvećavaju inflamatorni odgovor kroz sekreciju nekoliko faktora rasta i citokina, uključujući faktor tumorske nekroze - α (tumor necrosis factor- α) (TNF- α) i interleukin (IL)-1 β . Sve ovo ukazuje na značaj inflamacije u ranoj aterogenezi. T-ćelije, koje predstavljaju adaptivnu polugu imunog odgovora, takođe imaju kritičnu ulogu u aterogenezi, ulazeći u lezije kao odgovor na protein 10 koji indukuje hemokine, interferon-

γ koji indukuje monokine i interferonom indukovani T-ćelijski α -hemoatraktant. U lezijama dominira CD4⁺ subtip, koji prepoznaje antigene koji su predstavljeni kao fragmenti vezani za molekule glavnog histokompatibilnog kompleksa II (76). CRP favorizira razvoj proinflamatornog stanja, kroz redukciju endotelne sintaze azot oksida i redukcija transkripcije endotelne sintaze azot oksida kodirajućih gena endotelnih ćelija (77). NO koji proizvode endotelne ćelije ima esencijalnu ulogu u dilataciju krvnih sudova i povezan je sa membranom endotelnih ćelija, sprečava kontrakciju glatkih mišića krvnih sudova i inhibira aktivaciju trombocita (78). Inhibiranjem proizvodnje NO, CRP doprinosi apoptozi endotelne ćelije, a samim tim i pro-aterogene i pro-inflamatorne događaje (79). Osim toga, CRP i olakšava ulazak LDL, opsonizacijom u makrofagima, oksidaciju LDL holesterola i indukciju razvoja ateroskleroze (80). CRP je takođe uključen u destabilizaciju vlaknastih atheroma stimulirajući Matrix Metalloproteinase-1 oslobođen sa degradacijom kolagena i proteina. Ovaj proces olakšava formiranje tromba u zidu endotela, povećavajući rizik od kardiovaskularnog događaja (81).

Sposobnost CRP da predvidi rizik od kardiovaskularnih bolesti je nezavisna od tradicionalnih faktora rizika (82). CRP je dodatni faktor rizika za koronarnu arterijsku bolest kada je povezan sa visokim nivoima holesterola u plazmi (83). Dugi niz godina CRP je korišćen kao komplementaran metoda za dijagnostiku upalnih procesa. U međuvremenu, sa otkrićem upalne komponente koje su uključene u kardiovaskularne događaje, uglavnom ateroskleroze, CRP je određen kao indikator rizika za nastanak KVB (84).



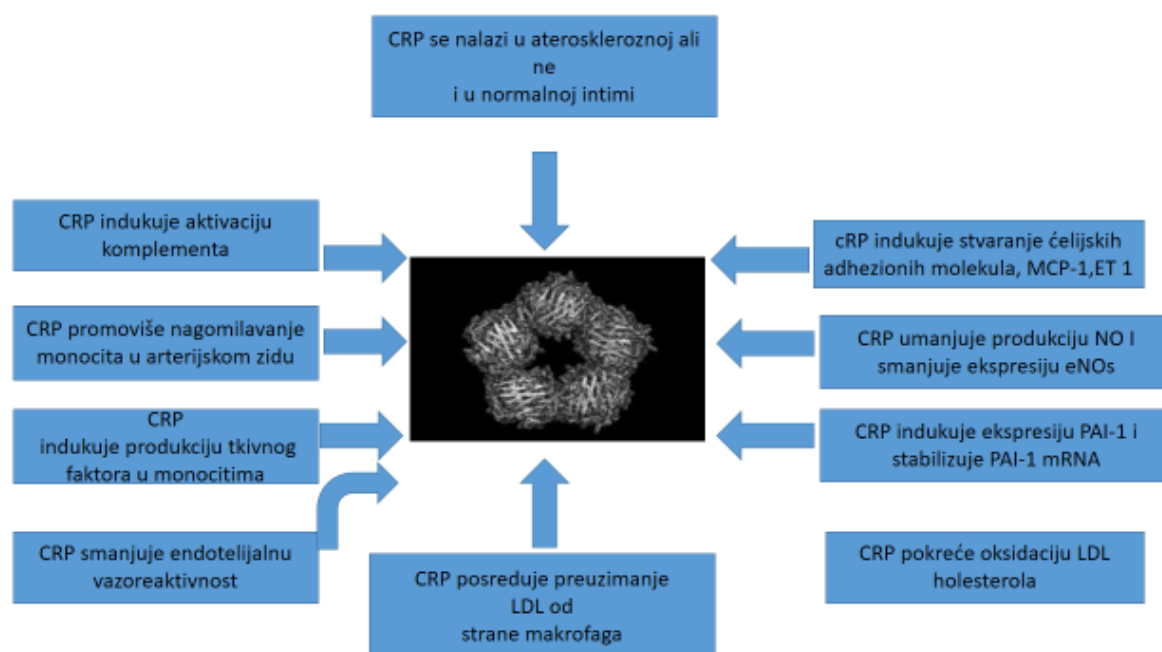
Slika 2. Uloga CRP u aterogenezi (Adaptirano prema: Verma S, Szmitko PE, Ridker PM. *Creactive protein comes of age. Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2005;2(1):29-36)

1.3.3. CRP samo biomarker ili i faktor rizika u aterosklerozi

Nedavne studije su pokazale da CRP ne nastaje samo u jetri već i u drugim tkivima, uključujući glatke mišićne ćelije, kao i iz endotelних ćelija koronarnih arterija, što može dati objašnjenje za potencijalne lokalne efekte CRP. Iako se količina CRP koju proizvodi jetra i druga tkiva ne mogu uporediti nedavne studije su pokazale da su aterosklerotski plakovi sposobni da oslobađaju CRP u sistemski krvotok. Dakle, ti dokazi snažno potvrđuju CRP ne samo kao endokrini (sistemski) inflamatorni marker, već i kao parakrini (lokalni) proaterosklerotski faktor (85). Različite populacije ćelija, lokalizovane u aterosklerotskom plaku ili drugim tkivima, su sposobne da eksprimuju ili sekretuju CRP (86). Brojne prospektivne epidemiološke studije su pokazale da kod zdravih ispitanika serumski CRP predviđa smrtnost od infarkta miokarda, perifernu vaskularnu bolest, kongestivnu srčanu insuficijenciju, moždani udar, aritmije (87,88).

1.3.4. CRP je potencijalni nezavisni faktor kardiovaskularnog rizika

Clarke i saradnici su u prospektivnoj studiji 5360 muškaraca (prosječne starosti 77 godina) koji su praćeni sedam godina, pokazali da su u kohorti starijih muškaraca viši CRP i niži nivo albumina snažno predviđali smrtnost, kako kardiovaskularnu tako i usled nevaskularnih uzroka, nezavisno od drugih karakteristika (89). Posljednjih godina se sve više razmatra mogućnost korišćenja CRP-a kao markera kardiovaskularnih bolesti. Ovaj koncept je proizašao iz saznanja da je ateroskleroza u osnovi bolest koju odlikuje hronična arterijska inflamacija. Podaci, prvenstveno *in vitro* studija, nameću pomisao na mogućnost da i sam CRP doprinosi nastanku i progresiji ateroskleroze, kao i da se može smatrati ne samo markerom već i pravim faktorom rizika (90). Inflamatorni proces u arterijskom tkivu koje je pogođeno procesom ateroskleroze rezultuje oslobađanjem citokina u cirkulaciju, a to započinje proces stvaranja CRP-a u jetri. Nivo CRP-a bi na taj način mogao odražavati težinu ateroskleroze, kao i rizik za razvoj budućih kardiovaskularnih događaja (91). Bilo bi od ogromnog značaja da se u potpunosti razjasni da li CRP ima direktnu funkcionalnu ulogu u procesu ateroskleroze, čime bi se mogao okarakterisati i kao faktor rizika. Da li je CRP samo marker ili je i faktor rizika za ateroskleroznu bolest kod ljudi pokazaće nove studije, čime će ova dilema u bliskoj budućnosti biti razriješena.

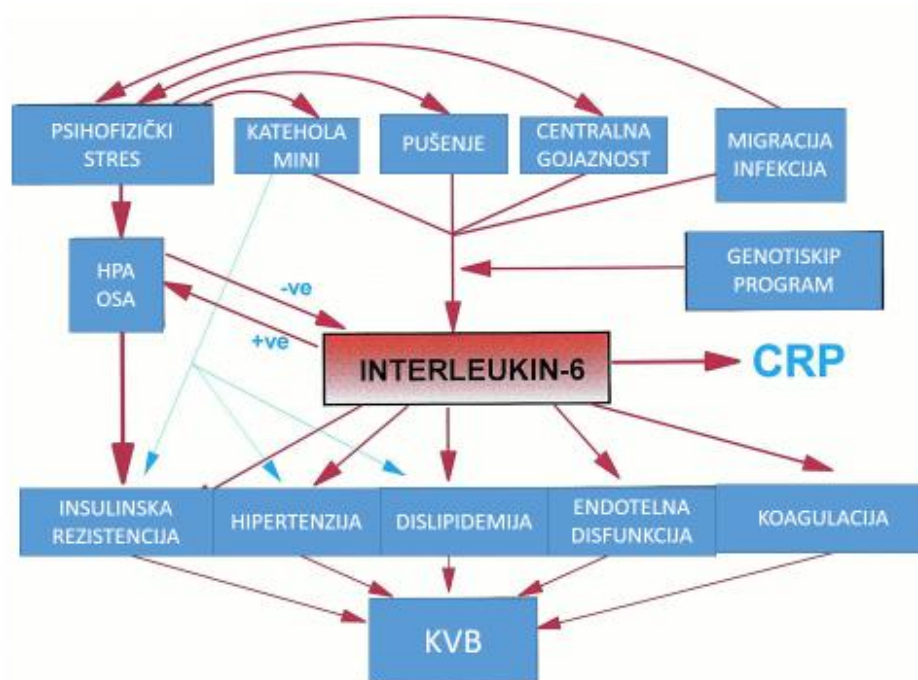


Slika 3. Mehanizmi kojima CRP učestvuje u razvoju i progresiji aterotromboze. Modifikovano prema Ridker P. M. Rosuvastatin in the primary prevention of cardiovascular disease among patients with low levels of low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein: Rationale and design of the JUPITER trial. *Circulation* 2003; 108: 2292-7.

1.4. Interleukin 6

Interleukin-6 (IL-6) je pleiotropni citokin koji je prekomjerno eksprimiran u odgovoru na ozljedu, upalu i infekciju (92). IL-6, takođe poznat kao interferon β 2, veličine ćelije 26-kDa je protein i B ćelijski stimulacijski faktor 2, kao i citokin koji indukuje stimulaciju sinteze imunoglobulina, povećanje rasta B ćelija i modulaciju sinteze proteina akutne faze od strane hepatocita. Sinteza IL-6 stimulirana je od IL-1, TNF-a ili faktora rasta izolovanog iz trombocita. Humani IL-6 gen nalazi se na hromosomu 7p21 i sastoji se od 5 eksona i 4 introna (93). Mehanizam regulacije ekspresije IL-6 gena nije do kraja razjašnjen. Dokazano je da porast intracelularnog cikličkog adenozin monofosfata pojačava gensku ekspresiju IL-6 putem protein kinaze C-nezavisnog mehanizma. IL-1 i faktor nekroze tumora takođe dovode do porasta IL-6 mRNA posredstvom protein kinaza C-nezavisnog mehanizma. U proizvodnji IL-6 učestvuju i različiti tipovi limfoidnih i nelimfoidnih ćelija kao što su T i B ćelije, monociti, fibroblasti, keratinociti, endotelne, mezengijalne i određene tumorske ćelije (94). Stvaranje IL-6 u ovim različitim ćelijama je regulisano pozitivno ili negativno različitim signalima koji uključuju IL-1, bakterijske endotoksine, tumor nekrosis faktor, onkostatin M i viruse (95). IL-6 je glavni induktor sinteze proteina akutne faze stimulacijom hepatocita i sinteze proteina akutne faze i to CRP, β 2-fibrinogen, amiloidni protein, haptoglobin i hemopeksin. Povišen nivo amiloida i CRP proteina povezani su sa aterosklerozom (96). Povišen nivo IL-6 u serumu javlja se zajedno s povišenim nivoom C-reaktivnog proteina u stanjima kao što su depresija, hronična upala i kardijalne bolesti (97). IL-6 receptor (IL-6R) se uglavnom eksprimira na hepatocitima i imunim ćelijama. Međutim, IL-6 je jedinstven u familiji interleukina jer ima topiv oblik njegovog receptora. Prema tome, ćelije koje nemaju IL-6R mogu i dalje da reaguju na IL-6 jer postoji prirodni rastvorljivi oblik IL-6R koji može stvoriti kompleks sa IL-6 i taj kompleks se zatim veže za gp130 (98). Ovo signaliziranje solubilnog IL-6R i membranski vezanog gp130 se naziva transsignalizacijom IL-6 (99). Pokazalo se da je transsignalizacija aktivna u mnogim sistemima u kojima ćelije postaju osjetljive samo na IL-6 u prisustvu solubilnog IL-6R, kao što su hematopoetske progenitorske ćelije T ćelije i endotelne ćelije (100). Povišen nivo amiloida i CRP-a povezan je sa aterosklerozom (101). Istovremeno dolazi do paralelne stimulacije od strane CRP-a i proizvodnje IL-6. Alternativno, moguće je da CRP gasi neidentifikovani inhibicioni faktor, kao što je azotni oksid, za koji se zna da smanjuje ekspresiju IL-6. Takođe je značajno da CRP služi za aktiviranje nuklearnog faktora-B koji rezultuje povećanje ekspresije IL-6 i drugih NF-B-reguliranih sistema. Pošto je IL-6 moćan podsticaj za CRP ekspresiju u jetri,

povećana vaskularna proizvodnja IL-6 može predstavljati mehanizam pozitivne povratne informacije za kontinuiranu proizvodnju CRP-a iz jetre. IL-6 je ključni upalni faktor koji je uključen u patogenezu i klinički tok aterosklerotičnog vaskularnog oboljenja (102). Učinak IL-6 na različite ćelije je brojan i raznolik. Učinak na B-limfocitne ćelije je stimulacija diferencijacije i stvaranje antitijela dok na T limfocite djeluje kao kostimulans u produkciji i ekspresiji IL-2. Takođe IL-6 pokazuje aktivnost faktora rasta na zrele ćelije timusa ili periferne T ćelije i indukuje diferencijaciju citotoksičnih T-ćelija u prisustvu IL-2 (103). U akutnom odgovoru IL-6 ima zaštitnu ulogu. Međutim, izvan ove vremenski ograničene uloge, proinflamatorna priroda IL-6 može postati patogena. Prethodno opisana djelovanja IL-6 govore u prilog značajne uloge IL-6 u posredovanju upalnog i imunog odgovora indukovano infekcijom ili ozljedom. Iako tačna funkcija IL-6 in vivo nije u potpunosti razjašnjena, rezultati istraživanja dokazali su da su povišene vrijednosti IL-6 povezane sa mnogim oboljenjima kao što su: autoimune bolesti: artritis, mezanglijski proliferativni glomerulonefritis, psorijaza, upalne bolesti crijeva. Nedostatak gena za IL-6 kod miševa manifestuje se smanjenjem reakcije akutne faze upale i smanjenom produkcijom IgA (104). Kao multifunkcionalni citokin IL-6 djeluje na imuni sistem kao i na druga lokalna tkiva. Unutar imunološkog sistema IL-6 može usmjeriti razvoj i status aktivacije i urođenih i adaptivnih imunih ćelija. IL-6 dovodi do signalizacije up-regulacije antiapoptotičkih molekula u T-ćelijama (105). U akutnoj inflamaciji dolazi do odgovora u koncentracijama mnogih proteina plazme kao i brojne bihevioralne, fiziološke, biohemijske i nutritivne promjene (106). Promjene u koncentracijama akutne faze proteina su u velikoj mjeri rezultat promjena u njihovoj proizvodnji u hepatocitima. Citokini IL-6, IL-1 β , tumor nekroza faktor- α , interferon- γ , transformirajući faktor rasta- β koji se proizvode tokom inflamatornih procesa su stimulatori proizvodnje proteina akutne faze. (107). IL-6 je glavni stimulator proizvodnje proteina akutne faze dok su drugi implicirani citokini utiču na podgrupe proteina akutne faze (108).



Slika 4. Atherosclerosis. 2000 Feb;148(2):209-14. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? Yudkin JS¹, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Author information Department of Medicine, Centre for Diabetes and Cardiovascular Risk, University College London Medical School, G Block, Archway Wing, Whittington Hospital, Archway Road, London, UK. j.yudkin@med.ucl.ac.uk

Kod hroničnih bolesti, tipično indukovanih imunim stresorima kao što je hronična intracelularna infekcija i tumori, IL-6 ne služi samo kao induktor reakcije akutne faze već ima i važnu ulogu u izazivanju ćelijskog imunog odgovora na pogođene ćelije usmjerenog protiv reinfekcije (109). Signalizacija IL-6 ima efekte u širokom spektru srčanih stanja. Srčano tkivo je primjer u kojem trajanje signalizacije, od akutnog do hroničnog, pokazuje zaštitnu i patogenu tranziciju. Signalizacija porodice IL-6 na srčanim miocitima je kardio-protektivna tokom akutnog odgovora, međutim kod zaostale inflamacije niskog stepena izaziva maladaptivnu hipertrofiju i smanjuje kontraktilnu funkciju. Odgovor miocita na povredu je povećanje IL-6 signalizacije što je povezano sa povećanom proizvodnjom IL-6 i sa oštećenom srčanom funkcijom (110,111). Rezultati istraživanja pokazala su da je povećan nivo cirkulacije IL-6 i CRP-a povezan sa visokim rizikom od smrtnosti od svih uzroka kod starijih ljudi, a povišen nivo cirkulirajućih citokina je dokazan i kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom. Posebno koncentracija IL-6 je povezana sa ozbiljnošću disfunkcije lijeve komore. U akutnoj fazi inflamacije citokini iz porodice IL-6 imaju protektivnu ulogu u odnosu na miocyte od oksidativnog stresa i njegova signalizacija indukuje antiapoptotski

program (112,113). Međutim, signaliziranje IL-6-porodice takođe smanjuje bazalnu kontraktilnost miocita kao i beta-adrenergičku reakciju ćelija što dovodi do smanjene funkcije (114). Dokazana je pozitivna korelacija povišenog nivoa IL-6 sa smanjenom ejakcionom frakcijom srca i lošom prognozom. Nedavne studije su pokazale da se sa progresijom srčane insuficijencije povećava i ekspresija IL-6 miokarda te da IL-6 može biti dobar pokazatelj pogoršanja stanja. In vitro i in vivo istraživanja ukazuju na to da proupalno citokini mogu smanjiti kontraktilnost miokarda. Aktivacija signalnih puteva gp130 dovodi do hipertrofije srca i ova signalizacija može biti uključena u fiziološku regulaciju miokarda (115). Kliničko prepoznavanje stepena ventrikularne hipertrofije je snažan prediktor neželjenih događaja. Prema tome, identifikacija signala koji posreduju putevi od mehaničkog stresa do nizvodnih ćelijskih događaja su glavna oblast interesa. Dakle, s obzirom na centralnu ulogu nivoa IL-6 u upalnim putevima i njegovoj kontinuiranoj povezanosti sa rizikom od nastanka kardiovaskularnih oboljenja dalja istraživanja trebalo bi da budu usmjerena na komplementarne strategije u procjeni kauzalnosti i istraživanju potencijalnih terapijskih ciljeva.

1.5. Intima-Media Thickness (IMT) karotidnih arterija

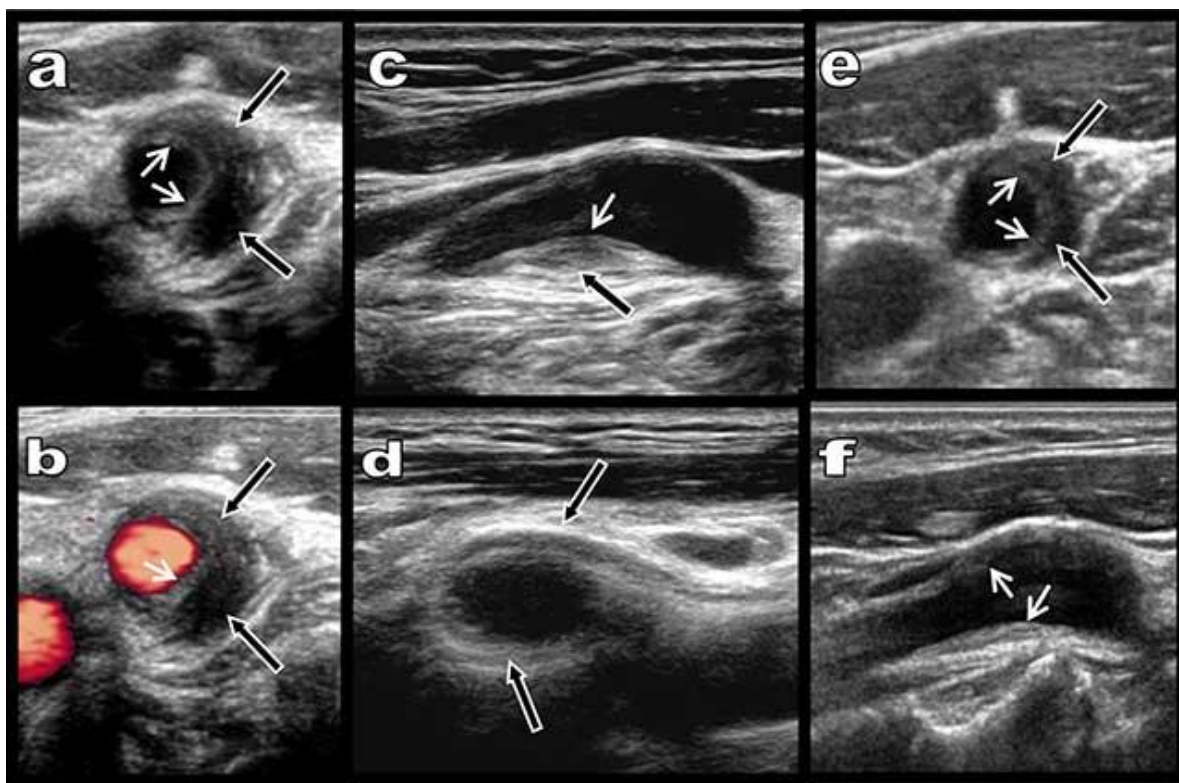
Prve morfološke promjene, koje označavaju početak aterosklerotskog procesa su zadebljanje zida krvnog suda. Mjerenje debljine zida podrazumijeva mjerenje debljine kompleksa intima-medija (*intima-media thickness* - IMT). Pošto su u literaturi opisivani različiti pristupi mjerenja IMT, Manhajmskim konsenzusom (*Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus*) su definisani kriterijumi za mjerenje IMT, da bi bila izbegnuta različita interpretacija nalaza (116). Nakon što se u B-mod slici, pri uzdužnom položaju ultrazvučne sonde, prikažu zidovi ACC kao obrazac dvostruke linije, određuje se IMT koji predstavlja dio zida krvnog suda od granice sa lumenom do granice između medije i adventicije (Slika 5). Po definiciji, IMT je rastojanje od linije koja označava granicu lumen-intima i linije koja označava granicu medija-adventicija (117). Populacijski utemeljene studije pokazale su povezanost težine ateroskleroze u jednom arterijskom području s aterosklerotskim promjenama drugih arterija u organizmu. Otkrivanje aterosklerotskih promjena na karotidnim arterijama ili arterijama nogu mnogo je prikladniji i manje invazivan metod nego otkrivanje tog procesa u koronarnim i cerebralnim arterijama. Zbog toga je rano otkrivanje arterijske bolesti usmjereno na periferno arterijsko područje i karotidne arterije. Interes epidemiologa i kliničkih istraživača je preusmjeren sa kliničkog procjenjivanja aterosklerotskih komplikacija infarkta miokarda, moždanog udara i kardiovaskularne smrti

na neinvazivne metode koje su vrlo osjetljive u otkrivanju ranih oblika ateroskleroze. Jedna od njih je mjerenje IMT zajedničkih karotidnih arterija koji predstavlja jednostavan i jeftin metod za procjenu kumulativnog učinka aterosklerotskih faktora rizika i nezavisan faktor budućeg kardiovaskularnog rizika (118). Mnoge studije su utvrdile korelaciju vrijednosti karotidnog IMT, sa prisustvom konvencionalnih faktora rizika pojavom KVB (119). Značajnost mjerenja karotidnog IMT je potvrđena time, da su različiti nacionalni i internacionalni vodiči uvrstili IMT kao dodatni faktor u procjeni ukupnog rizika za pojavu vaskularnih bolesti (120, 121).

1.5.1. UZV karotidnih arterija kao metoda neinvazivne procjene rane ateroskleroze

Zadebljanje intime i medije karotidne arterije odgovara ranom formiranju aterosklerotskog plaka. Studije su pokazale da mjerenje IMT karotidnih arterija predstavlja dobar izbor kao rani marker ateroskleroze (122). Promjene u zidu krvnog suda uzrokovane različitim faktorima rizika daje nam slika IMT-a, što je i potvrđeno u mnogim opservacijskim studijama gdje je poređen odnos ultrazvučnog i histološkog određivanja IMT karotidnih arterija. Epidemiološki podaci ukazuju na to da je povećana vrijednost IMT-a značajno povezana sa povećanim rizikom od cerebrovaskularne i koronarne bolesti. Takođe, mnoge studije su koristile metod procjene asimptomatske ateroskleroze i njene progresije mjerenjem debljine IMT zajedničkih karotidnih arterija (123). Prisutnost mikrovaskularnih komplikacija kod osoba oboljelih od DM tipa 2, značajno povećava i vrijednost IMT, te su kod njih znatno češće prisutne lezije račvišta karotidnih arterija u odnosu na grupu ispitanika oboljelih od DM tipa 2 bez mikrovaskularnih komplikacija kao i u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika bez dijabetesa. Razvoj mikrovaskularnih komplikacija kod osoba sa DM tipa 2 doprinosi daljem pogoršanju aterosklerotskih promjena. Povećana vrijednost IMT karotidnih arterija je pokazatelj progresije aterosklerotskih promjena, ali i snažan prediktor budućih kardiovaskularnih događaja (124). NOMAS studija (*Northern Manhattan study*) je pokazala da su ukupni holesterol, LDL holesterol i ApoB prediktori nastanka karotidnog aterosklerotskog plaka nezavisno od drugih konvencionalnih vaskularnih faktora rizika (125). Štaviše, povišene vrijednosti odnosa ApoB/ApoA-I su korelirale, kako sa znacima rane subkliničke ateroskleroze (povišene vrednosti IMT), tako i sa prisustvom hipohogenih, potencijalno nestabilnih plakova (126). Povezanost hipertenzije i karotidne ateroskleroze je takođe dobro dokumentovana. Nađena povezanost se odnosi praktično na sve faze ateroskleroze, od povećanog IMT do progresije plakova i pojave značajne stenoze (127). Nedavna studija sprovedena u Kini je pokazala da se incidencija prisustva karotidnih

plakova povećavala srazmjerno vrijednostima krvnog pritiska i da je ova korelacija bila nezavisna od prisustva drugih faktora rizika (128). Imajući u vidu da je ateroskleroza inflamatorna bolest ispitivan je i uticaj markera inflamacije kao što je CRP na povećanje karotidnog IMT i prisustvo morfoloških aterosklerotskih promjena. Utvrđena je povezanost CRP i stepena stenozе ACI. (129). I druge studije koje su bile fokusirane na odnos između koncentracije CRP u krvi i karotidne ateroskleroze su pokazale da je visok nivo CRP povezan sa povećanjem IMT, razvojem, napredovanjem i rupturom plaka, te posljedičnim cerebrovaskularnim događajima. U studiji sa pacijentima koji su imali asimptomatsku karotidnu stenozu povišen CRP je bio prediktor pojave cerebrovaskularnog događaja (130). I drugi autori su pokazali da su među pacijentima sa visokostepenom karotidnom stenozom povišen CRP imali upravo simptomatski bolesnici. Stoga je zaključeno da je povišen CRP jedan od markera nestabilnosti plaka (131).



Slika 5. Grayscale (**a** and **c-f**) and Colour Doppler ultrasound (**b**) show a massive eccentric and preferentially laterally developed hypoechoic adventitial thickening of the bulbar internal carotid (black arrows). A thin hyperechoic intimal fibrous plaque is seen (small white arrows). Stenosis is absent. Drastic regression of the hypoechoic thickening is already found after only 15 days of treatment with non steroidal anti-inflammatory drugs (**e** and **f**). The thin hyperchoic intimal plaque persists.

1.5.2. Povezanost IMT-a i IL-6

Lee i saradnici su u rezultatima svog istraživanja naveli povezanost između osnovnog nivoa IL-6 i IMT karotidnih arterija nakon 12 godina praćenja, čak i nakon prilagođavanja faktora rizika za nastanak ateroskleroze (132). IL-6 ne samo da stimuliše sekreciju proteina u akutnoj fazi inflamacije kao što je CRP29, već i promoviše različite aterosklerotske mehanizme u vidu regrutovanja i aktiviranja drugih inflamatornih ćelija, oksidaciji lipoproteina, što vodi u disfunkciju endotela. Dakle, nivo cirkulirajućeg IL-6 bi mogao biti povezan sa progresijom ateroskleroze kao i nivo CRP (133). Potrebna su dalja istraživanja da bi se odredilo da li dugoročna progresija IMT-a u visokorizičnoj populaciji odražava buduće kardiovaskularne bolesti događaje. Ateroskleroza je dugogodišnji kompleksni proces koji polako napreduje. Kratkotrajna promjena ateroskleroze, što predstavlja godišnji napredak IMT-a, je skroman i ne bi bila pouzdana mjera, bez obzira na korištenu metodu mjerenja. Rezultati studije koju su radili Okazaki i saradnici ukazuju na to da hronično povišenje nivoa IL-6 u serumu je povezano sa progresijom ateroskleroze. Ovi nalazi opravdavaju dalje istraživanje IL-6 kao kvantitativnog aterosklerotskog markera i istraživanje terapijskih opcija s ciljem usporenja aterosklerotskih procesa (134). Mjerenje debljine IMT karotidnih arterija, pored toga što je rani marker ateroskleroze, može da bude značajan u ocjenjivanju efikasnosti preventivne terapije. Promjene u načinu života kao što su prestanak pušenja, redovna fizička aktivnost, gubitak tjelesne težine, dobra glikoregulacija je početni i najvažniji korak u usporavanju napredovanja aterosklerotskih promjena kod oboljelih od dijabetesa tipa 2 (135,136).

S ciljem identifikovanja prisustva IBS kod asimptomatskih pacijenata sa dijabetesom i dalje se preporučuje pristup zasnovan na procjeni kardiovaskularnog rizika kroz detaljno evaluiranje faktora rizika jednom godišnje. Međutim, pokazalo se da ovi prediktivni modeli zasnovani na konvencionalnim faktorima rizika imaju tačnost manju od očekivane, jer i pored njihove primjene značajan procenat kardiovaskularnih komplikacija ostaje nedetektovan u primarnoj prevenciji.

Vodiči za kardiovaskularne faktore rizika su prethodno bili usmjereni na procjenu pretežno najznačajnijih tradicionalnih faktora rizika kao hipertenzija, hiperlipidemija ili dijabetes, što je rezultovalo isticanjem samo pojedinačnih visokih faktora rizika, a ne na sveukupnom nivou rizika nastalom kombinacijom više faktora. Ne treba zaboraviti da kardiovaskularne bolesti imaju multifaktorsku etiologiju i da faktori rizika mogu imati

višestruke efekte. Modifikacija faktora rizika je ključni dio primarne i sekundarne prevencije kardiovaskularnih bolesti.

Zbog svega navedenog važno je identifikovati dodatne markere za procjenu rizika IBS, kod asimptomatskih osoba oboljelih od dijabetesa, koji bi uz tradicionalne faktore rizika poboljšali stratifikaciju kardiovaskularnog rizika.

Na taj način bi mogli poboljšati primarnu prevenciju ishemijske bolesti srca i prevenirati početak bolesti kod zdravih osoba, tj. redukovati multiple faktore rizika da do bolesti ne bi došlo. Primarna prevencija IBS se može definisati kao prevencija procesa aterosklerotske kardiovaskularne bolesti. Ključna je rana, adekvatna dijagnostika kako bi se pravovremeno mogli primijeniti odgovarajući terapijski modaliteti, bilo da se radi o konzervativnom ili invazivnom liječenju.

Imajući u vidu do sada navedeno i potrebu za identifikovanjem dodatnih markera za procjenu kardiovaskularnog rizika kod asimptomatskih osoba oboljelih od DM tip 2 postavljene su sljedeće hipoteze i ciljevi rada:

2. HIPOTEZE I CILJEVI RADA

Hipoteza:

1. Kod oboljelih od DM tip 2 i asimptomatskom ishemijskom bolesti srca povećana debljina IMT karotidnih arterija je udružena sa povišenim nivoom IL-6 i hs-CRP-a.
2. Udruženi nalaz povećanog nivoa IL-6, hs-CRP-a i povećane debljine IMT karotidnih arterija je značajan marker subkliničke ateroskleroze, koji ukazuje na postojanje ishemijske bolesti srca, kod asimptomatskih osoba sa DM tip 2, bez prethodne istorije KVB.

Ciljevi:

Kako bi ispitali hipoteze postavili smo sljedeće ciljeve istraživanja:

I Utvrditi, kod oboljelih od DM tip 2 sa asimptomatskom IBS i bez IBS, da li postoje razlike u:

1. nivou IL-6 i hs-CRP-a
2. debljini IMT karotidnih arterija

II Utvrditi da li postoji korelacija između:

1. IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija i tradicionalnih kardiovaskularnih faktora rizika (pol, dob, dužina trajanja dijabetesa, pušački status, stanje glikoregulacije, gojaznost, dislipidemija).
2. Udruženog nalaza povećanog nivoa IL-6, hs-CRP-a i povećane debljine IMT karotidnih arterija i pojave asimptomatske IBS kod oboljelih od DM tip 2.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

Istraživanje je sprovedeno kao studija presjeka u Univerzitetском kliničkom centru Banja Luka i trajalo je 34 mjeseca, od jula 2016. do aprila 2019. godine. Redoslijed uključivanja u studiju bio je kontinuiran od početka trajanja studije do ispunjenja broja ispitanika, hospitalno i ambulantno. Istraživanje je obuhvatilo 100 ispitanika oboljelih od DM tip 2, bez simptoma i znakova ishemijske bolesti srca i 50 zdravih dobrovoljaca, starosne dobi od 40 do 70 godina. Iz istraživanja su isključeni ispitanici sa DM tip 2 koji su imali simptome i znakove ishemijske bolesti srca, koji su preboljeli moždani udar ili su bolovali od neke hronične ili maligne bolesti. Kod asimptomatski ispitanika sa DM tip 2 je urađeno ergometrijsko testiranje te su na osnovu rezultata ergometrije podijeljeni u dvije grupe.

Prvu grupu ispitanika sačinjavalo je 50 osoba oboljelih od DM tip 2 bez prisustva ishemijske bolesti srca, dokazano odsustvom simptoma i negativnim ergometrijskim testom. Drugu grupu činilo je 50 osoba oboljelih od DM tip 2 sa prisutnom nijemom ishemijom srca bez simptoma i znakova IBS, a sa pozitivnim testom opterećenja. Treća grupa je bila kontrolna grupa i činilo je 50 zdravih dobrovoljaca, koju su odabrani po dobi i polu, a na način da odgovaraju ispitivanoj grupi.

Dijagnoza DM tip 2 postavljena je na temelju dijagnostičkih kriterijuma Svjetske zdravstvene organizacije (136). Sa svim ispitanicima koji su zadovoljili navedene kriterijume obavljen je razgovor prilikom kojeg su detaljno upoznati s planom istraživanja. Ispitanici koji su pristali na učestvovanje potpisivanjem pismenog pristanka uključeni su odmah u istraživanje i odmah svrstani u jednu od tri stratifikacijske grupe.

Kod svih ispitanika su urađeni sljedeći kliničko-laboratorijski pregledi:

- anamneza sa posebnim osvrtom na dob, pol, pušački status te postojanje simptoma IBS
- klinički status sa posebnim osvrtom na određivanje antropometrijskih parametara (tjelesna visina, tjelesna težina, BMI) i mjerenje krvnog pritiska.
- laboratorijske pretrage: parametri glikoregulacije (HbA1C, dnevni profil glikemije), lipidni status (ukupni kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi), albumini u 24/h urinu, nivo faktora inflamacije: hs-CRP i IL-6.

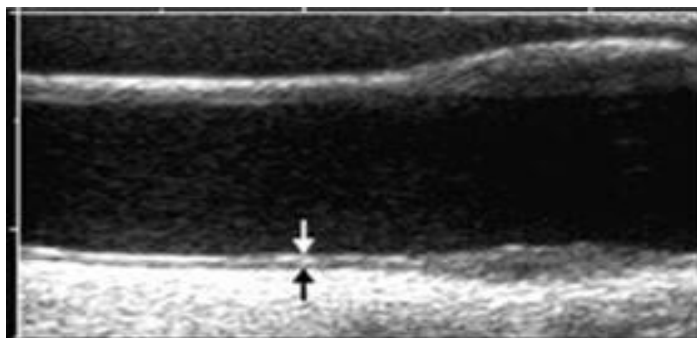
Potom se pacijentima koji ispunjavaju uslove za uključenje uradilo ergometrijsko testiranje po standardnom Bruceovom protokolu. Na osnovu dobijenih rezultata ispitanici su podijeljeni u grupe: sa negativnim i sa pozitivnim ergometrijskim testom (surogat ishemijske bolesti srca).

Svim ispitanicima se izmjerila debljina IMT zajedničke karotidne arterije u longitudinalnom skeniranju na zadnjem zidu, unutar 10 mm proksimalno bulbusu karotidne arterije na području koje je slobodno od aterosklerotskih plakova u ultrazvučnom kabinetu Odjeljenja centra za dijabetes sa endokrinologijom i u skladu sa debljinom IMT su podijeljeni u grupe

3.2. Metode

3.2.1. Debljina intime-medije karotidnih arterija

IMT karotidnih arterija mjerili smo ultrazvučnim sistemom visoke rezolucije na aparatu LOGIQ IM 7 PRO, VERSION 1 sa elektroničkom linearnom sondom frekvence 8 MHz. Mjerenje IMK ekstrakranijalnog dijela karotidne arterije određivalo se prema „Mannheim carotid intima-media thickness“ konsenzusu. Prema ovom konsenzusu IMK se mjerila u longitudinalnom skeniranju na zadnjem zidu zajedničke karotidne arterije, unutar 10 mm proksimalno bulbusu karotidne arterije na području koje je slobodno od aterosklerotskih plakova uz uslov da je dvostruka linija IMK-a jasno vidljiva. Za analizu se uzimala vrijednost srednjeg i maksimalnog IMK-a. Prema konsenzusu, plak se definisao kao fokalna struktura koja strši u lumen arterije više od 50% debljine okolnog IMK-a, odnosno zadebljanje koje iznosi više od >1,5 mm mjereno od granice medija-adventicija do granice intima-lumena krvnog suda (137). Savremenim ultrazvučnim uređajima sa sondama frekvence 8 ili više MHz u mogućnosti smo razlikovati granicu između lumena krvnog suda i intime, te između medije i adventicije. Debljina intime-medije, kako je udaljenost između vodećih rubova dvije ehogene linije. Karakterističan uzorak IMT karotidnih arterija na dvodimenzionalnom prikazu vidi se kao dvije paralelne ehogene linije odvojene s hipoehogenim prostorom (slika 6). Prvu liniju čini granica lumena krvnog suda i intime, a drugu granica medije i tunike adventicije.



Slika 6. *Ultrazvučni prikaz debljine intime-medije zajedničke karotidne arterije u uzdužnom presjeku*

Snimanje karotidnih arterija učinili smo obostrano u tri različita uzdužna prikaza (prednji kosi, lateralni i zadnji kosi prikaz) i u poprečnom prikazu.

Prvo, ispitanik je sjedio s glavom uspravno, a zajednička karotidna arterija se tada prikaže u prednjem kosom prikazu. Nakon toga nagnjanjem sonde zajednička karotidna arterija i unutrašnja karotidna arterija prikazu se u lateralnoj projekciji. Nagnjanjem glave lagano naprijed i na ispitivanu stranu prikazu se zajednička karotidna arterija i unutrašnja karotidna arterija u zadnjoj kosoj projekciji. I na kraju, ponovo podizanje glave, zajednička unutrašnja i vanjska karotidna arterija prikazu se u poprečnoj projekciji. Ovim projekcijama prikazali smo zajedničku karotidnu arteriju, karotidni bulbus i dijelove unutrašnje i vanjske karotidne arterije. Kada se postigao najbolji dvodimenzionalni prikaz, slika na ekranu se zamrzne na kraju dijastole, da se smanji varijabilnost tokom kardijalnog ciklusa. U svakom uzdužnom prikazu učinili smo jedno mjerenje i to na mjestu najvećeg difuznog zadebljanja, te jedan centimetar iznad i ispod te tačke. Najveća izmjerena srednja vrijednost od svih projekcija s obje strane vrata uzeta je kao mjera IMT karotidnih arterija.

3.2.2. Ergometrijsko testiranje

EKG pri fizičkom opterećenju - test opterećenja (ETT)

Ergometrijsko testiranje je izvođeno na pokretnoj traci proizvođača General Electric tip T 2100.

Test smo izvodili kod pacijenata nakon potpisanog informisanog pristanka. Testiranje je vršeno prema Bruceovom protokolu koji se ubraja u maksimalne, višestepenske progresivne testove na pokretnoj traci. Sastojao se od VII stepeni opterećenja od kojih svaki trajao po tri minute. Početni nagib pokretne trake je 10% (hodanje „uzbrdo“) i svake tri minute se povećavao za 2%. Početna brzina je bila 2,7 km/h, te se povećavala svake tri

minute (istovremeno kad i nagib) (138). Test se radio do postizanja submaksimalne srčane frekvence koja je data za starosnu dob, pol i tjelesnu težinu. Maksimalna srčana frekvencija se određivala prema formuli: $220 - \text{godine starosti}$. U toku testa su se pratili sljedeći parametri: simptomi, vrijednosti krvnog pritiska i srčane frekvence uz stalni EKG monitoring prvenstveno radi praćenja poremećaja srčanog ritma i/ili ST-denivelacije (139). Test je ocijenjen kao pozitivan kod ispitanika sa horizontalnom ili nishodnom ST-depresijom jednakom ili $>1\text{mm}$ u trajanju od 60-80ms od tačke J (tj. 1.5-2 kvadratića na EKG traci), najmanje u tri sukcesivna QRS kompleksa. Ove promjene su smatrane patološkim bilo da se jave za vrijeme testa ili poslije njega, tj. u neposrednom oporavku. ST-depresija predstavlja subendokardijalnu ishemiju. Takođe je test ocijenjen kao pozitivan i kod pacijenata kod kojih se javila ST-elevacija u toku testa opterećenja. Ona se smatra patološkom, ako se pojavi sa istim karakteristikama kao i depresija ST segmenta ($>1\text{mm}$, traje duže od 60-80ms) u bilo kom odvodu osim aVR i V1. Test je definisan kao: pozitivan i negativan. Pacijenti kod kojih je test opisan kao inkonkluzivan nisu uzimani u razmatranje (140).

3.2.3. Određivanje hemoglobina A1c

Hemoglobin A1c u lizatu eritrocita mjerili smo automatizovanim imunoturbidimetrijskim postupkom na aparatu Integra 400+, Roche proizvođača

3.2.4. Mjerenje albumina u 24-satnom urinu

Koncentraciju albumina u 24-satnom urinu mjerili smo imunoturbidimetrijski, komercijalnim reagensima postupkom na aparatu Integra 400+, Roche proizvođača. Za kalibraciju se koristio komercijalni kalibrator standardizovan prema primarnom standardu albumina (141). Referentno područje ($\text{M}/\text{Ž}$) $< 30 \text{ mg}/24\text{h}$.

3.2.5. Mjerenje lipida u serumu

Ukupni holesterol u serumu odredili smo standardnim enzimatskim metodama. Rezultati su očitavani automatski na samom instrumentu kao: Ukupni holesterol (mmol/L) = apsorbancija uzorka x vrijednost kalibratora / apsorbancija kalibratora, LDL i HDL-holesterol u serumu mjerili smo direktno, homogenim enzimskim postupkom, komercijalnim na aparatu Integra 400+, Roche proizvođača. Trigliceride smo određivali direktno standardnim enzimatskim metodama na aparatu Integra 400+, Roche proizvođača.

3.2.6. Određivanje hs-CRP i IL6

Određivanje nivoa parametara ateroskleroze: inflamatornog markera visokosenzitivnog C reaktivnog proteina i interleukina 6 imunoturbidimetrijskom metodom na aparatu Integra 400+, Roche proizvođača komercijalnim reagensima. Za kalibraciju se koristio komercijalni kalibrator.

Ispitanici sa povišenim vrijednostima visokosenzitivnog CRP (*high sensitive CRP*, hs-CRP) 10mg/L su isključeni iz studije, s obzirom na to da takva vrijednost hs-CRP ukazuje na postojanje akutne inflamatorne bolesti. Vrijednost hs-CRP 1 mg/L, označavaju mali rizik za KB; od 1-3 mg/L = umjereni rizik; od 3-10 mg/L = visoki rizik (142)

IL-6

Najniži nivo detektibilnosti IL-6 u serumu bila je 1,5 pg/ml. Prema analizama proizvođača kod 83% zdravih ispitanika vrijednosti IL-6 su bile niže od 3.12, a kod 17% ispitanika 3.12-12.5 pg/ml.

3.2.7. Mjerenje krvnog pritiska

Krvni pritisak je mjereno pomoću živinog manometra, u sjedećem položaju, sa manžetom u visini srca u dva odvojena mjerenja u razmaku od 10 minuta. Hipertenzija je definisana kao srednji sistolni pritisak ≥ 140 mmHg ili srednji dijastolni pritisak ≥ 90 mmHg, prethodna dijagnoza hipertenzije ili korištenje antihipertenziva (143).

3.2.8. Indeks tjelesne mase

Isti ljekar obavio je i antropometrijska mjerenja. Obim struka (OS) je mjereno mekom, neelastičnom mjernom trakom na sredini rastojanja između donje ivice 12. rebra i najviše tačke kriste ilijake u srednjoj aksilarnoj liniji na kraju normalnog izdisaja. Za evropsku populaciju obim struka za žene je ≤ 80 cm, a za muškarce ≥ 92 cm. Tjelesna masa mjerena je kalibriranom vagom kod lagano obučanih pacijenata bez obuće. Tjelesna visina mjerena je u stojećem stavu pacijenata bez obuće koristeći visinomjer. Indeks tjelesne mase (BMI) izračunat je pomoću formule: $BMI = \text{tjelesna masa (kg)} / \text{visina (m)}^2$. Normalna je uhranjenost pri BMI 18,5-24,9 kg/m², prekomjerna tjelesna masa između 25,0-29,9 kg/m², gojaznost kod BMI $> 30,0$ kg/m². BMI izražava samo opšte stanje uhranjenosti a ne način raspodjele tjelesne masti (144).

3.2.9. Statistička analiza podataka

Kvalitativni podaci su prikazani kroz broj pojava i procentualnu zastupljenost.

Za prikaz kvantitativnih podataka korišteni su pokazatelji deskriptivne statistike (broj ispitanika, aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna greška aritmetičke sredine, ekstremne vrijednosti, kvartili i medijana). Svi parametri su prikazani i pomoću unakrsnih tabela u odnosu na ispitivanu grupu ispitanika (u ovim tabelama n označava učestalost, a % označava procentualnu zastupljenost). Za upoređivanje razlika u učestalosti posmatranih obilježja prema grupama ispitanika korišten je *Pearson-ov χ^2 test kontigencije*. Za upoređivanje srednjih vrednosti obilježja prema različitim grupama ispitanika korišten je *Studentov t test za nezavisne uzorke*, ako posmatrana obilježja imaju normalnu raspodjelu, te neparametarski *Mann-Whitney U test za dva nezavisna uzorka*, ako posmatrana obilježja nemaju normalnu raspodjelu. Kod korištenja *Studentovog t testa za nezavisne uzorke*, značajnost razlike u varijansama posmatranih obilježja testirana je F testom. Normalnost raspodjele kod posmatranih obilježja je testirana *Kolmogorov-Smirnovim testom normalnosti*.

Kao statistički značajne uzimane su vrijednosti u kojima je $p < 0.05$. Statistički značajne p vrijednosti su označene "podebljanim" fontom. Za utvrđivanje stepena povezanosti (korelacije) posmatranih obilježja korištena je neparametarska *Spearmanova korelacija*.

Za statističku analizu, te tabelarne i grafičke prikaze rezultata korišten je sljedeći *software: IBM SPSS Statistics 19.0; MS Office Word 2010 i MS Office Excel 2010*.

Svi rezultati su predstavljeni tabelarnim prikazom, a pojedini rezultati (sa statistički značajnim razlikama) su predstavljeni i grafički (pita, stubičasti i *box-plot* grafikoni). Kvalitativni podaci su prikazani kroz broj pojava i procentualnu zastupljenost. Za prikaz kvantitativnih podataka korišteni su pokazatelji deskriptivne statistike (broj ispitanika, aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna greška aritmetičke sredine, ekstremne vrijednosti, kvartili i medijana).

Svi parametri su prikazani i pomoću unakrsnih tabela u odnosu na ispitivanu grupu ispitanika (u ovim tabelama n označava učestalost, a % označava procentualnu zastupljenost).

Za upoređivanje razlika u učestalosti posmatranih obilježja prema grupama ispitanika korišten je *Pearson-ov χ^2 test kontigencije*. Za upoređivanje srednjih vrijednosti obilježja prema različitim grupama ispitanika korišten je *Studentov t test za nezavisne uzorke* ako

posmatrana obilježja imaju normalnu raspodjelu, te neparametarski Mann-Whitney U test za dva nezavisna uzorka ako posmatrana obilježja nemaju normalnu raspodjelu. Kod korištenja Studentovog t testa za nezavisne uzorke, značajnost razlike u varijansama posmatranih obilježja testirana je F testom.

Normalnost raspodjele kod posmatranih obilježja je testirana Kolmogorov-Smirnovim testom normalnosti. Kao statistički značajne uzimane su vrijednosti u kojima je $p < 0.05$. Statistički značajne p vrijednosti su označene "podebljanim" fontom. Za utvrđivanje stepena povezanosti (korelacije) posmatranih obilježja korištena je neparametarska Spearmanova korelacija.

Za statističku analizu, te tabelarne i grafičke prikaze rezultata korišten je sljedeći software: IBM SPSS Statistics 19.0; MS Office Word 2010 i MS Office Excel 2010.

Svi rezultati su predstavljeni tabelarnim prikazom, a pojedini (sa statistički značajnim razlikama) su predstavljeni i grafički (pita, stubičasti i box-plot grafikoni).

4. REZULTATI

4.1. Grupe ispitanika

Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 150 ispitanika podijeljenih u tri grupe i to: 50 pacijenata ili 33,3% koji su imali pozitivan nalaz ergometrije, 50 pacijenata ili 33,3% koji su imali negativan nalaz i ostalih 50 ispitanika ili 33,3% koji su pripadali kontrolnoj grupi. (Slika 7).

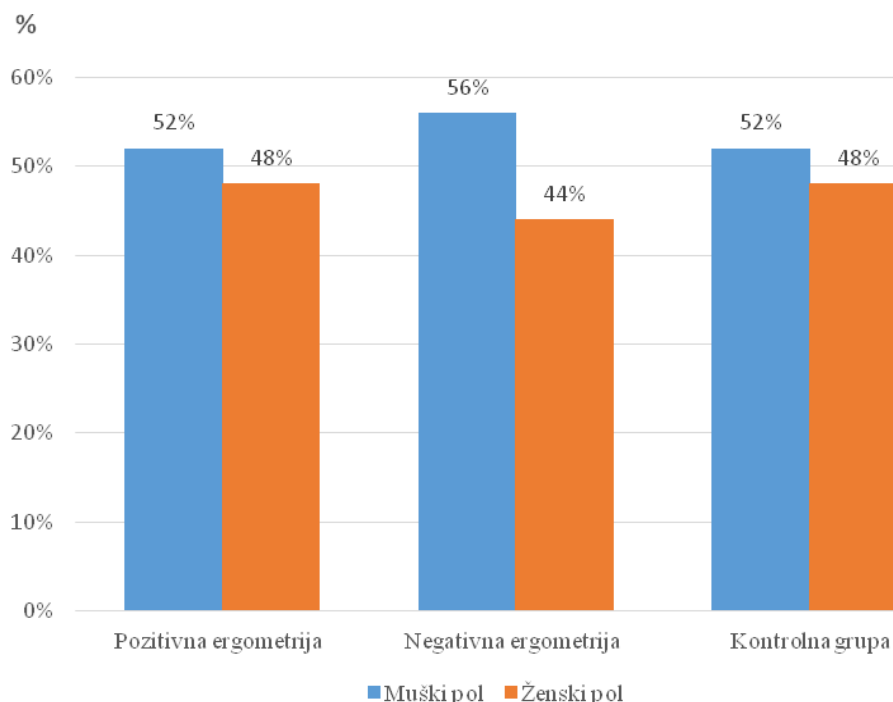


Slika 7. Distribucija ispitanika (uzorka) prema pojedinim grupama

4.1.1. Pol

Od ukupno 150 ispitanika, 80 (53,3%) su bili muškog pola, a 70 (46,7%) ženskog pola. U grupi ispitanika kojima smo dokazali IBS na osnovu pozitivnog nalaza ergometrije bilo je 26 (52,0%) muškaraca i 24 (48,0%) žena. U grupi ispitanika oboljelih od DM tip 2 bez dokazane IBS je bilo 28 (56,0%) muškaraca i 22 (44,0%) žena, a u kontrolnoj grupi ispitanika je bilo 26 (52,0%) muškaraca i 24 (48,0%) žena.

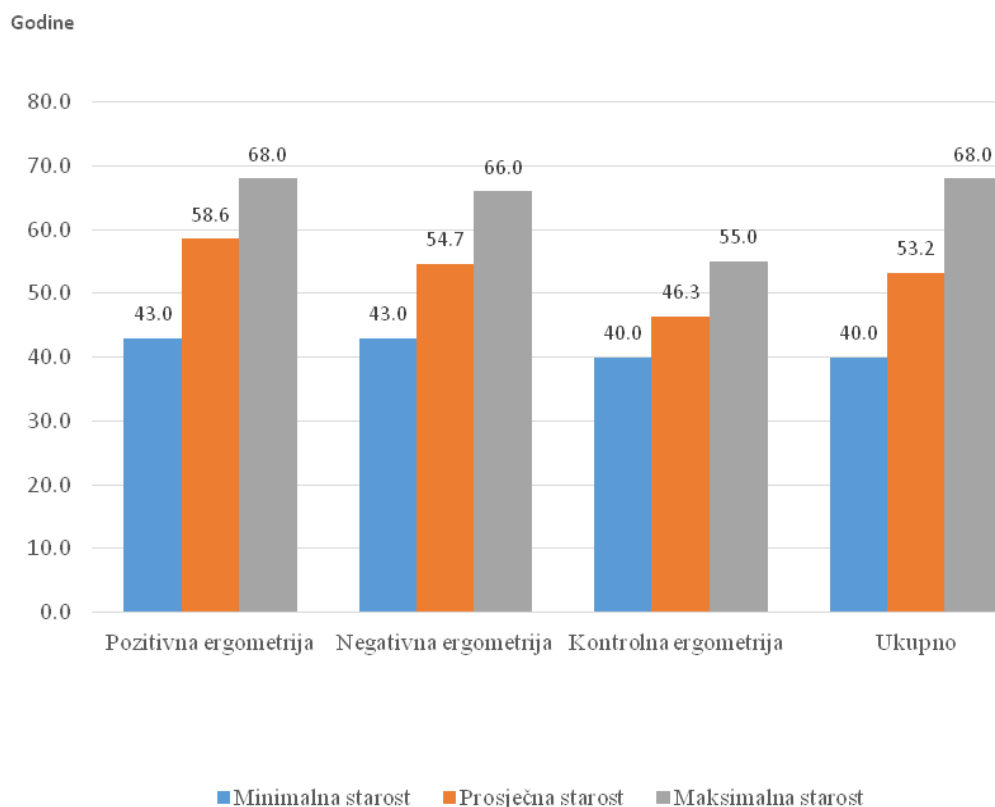
Utvdili smo da su različite grupe ispitanika ujednačene prema frekvenciji pola, tj. da nema statistički značajne razlike u frekvenciji (distribuciji) polova između različitih grupa ispitanika. Distribucija ispitanika prema grupama i polovima prikazana je u okviru slike 8.



Slika 8. Distribucija ispitanika prema polu i grupama ispitanika

4.1.2. Starost

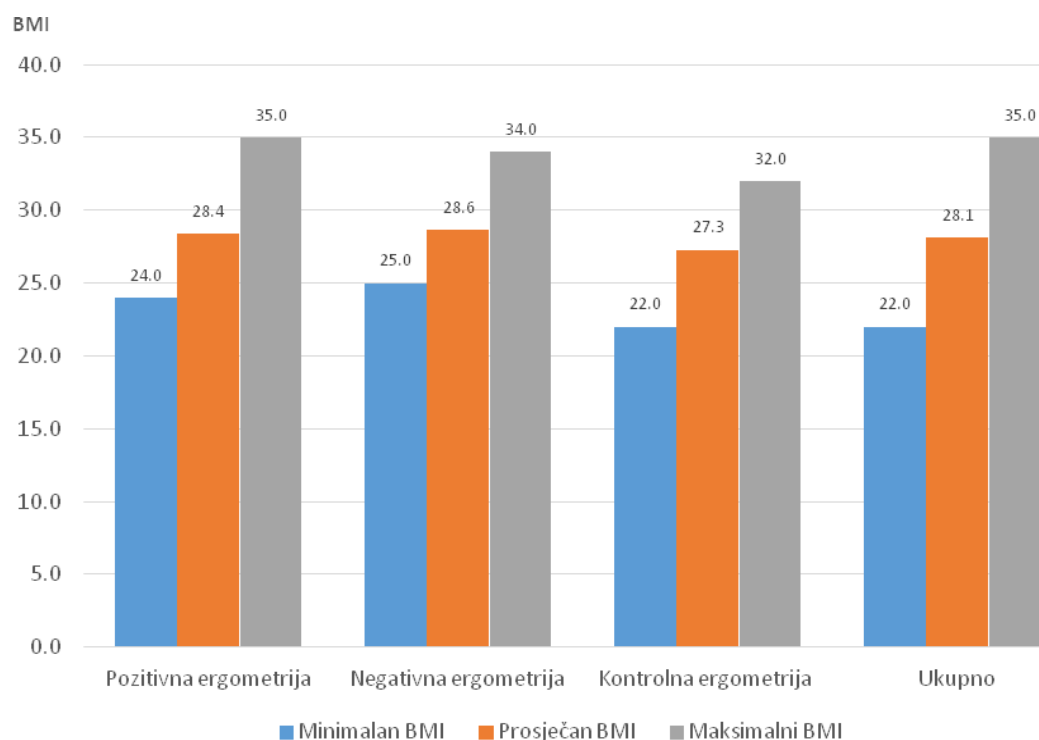
Najmlađi ispitanici su bili iz kontrolne grupe, prosječne vrijednosti ($\pm$ SD) su $46,3 \pm 4,1$ godina, nešto stariji su ispitanici sa negativnim nalazom ergometrije $54,7 \pm 6,6$ godina, a najstarija je grupa ispitanika sa pozitivnim ergometrijskim nalazom $58,6 \pm 5,1$ godina. Utvdili smo da postoje statistički značajne razlike u prosječnoj starosti pacijenata između svih pojedinačnih grupa ispitanika, tj. između kontrolne grupe i grupe sa pozitivnom ergometrijom ($p < 0.05$), između kontrolne grupe i grupe sa negativnom ergometrijom ($p < 0.05$) i između grupe sa pozitivnom ergometrijom i grupe sa negativnom ergometrijom ($p < 0.05$). (Slika 9).



Slika 9. Distribucija ispitanika prema životnoj dobi i pojedinim grupama

4.1.3. BMI

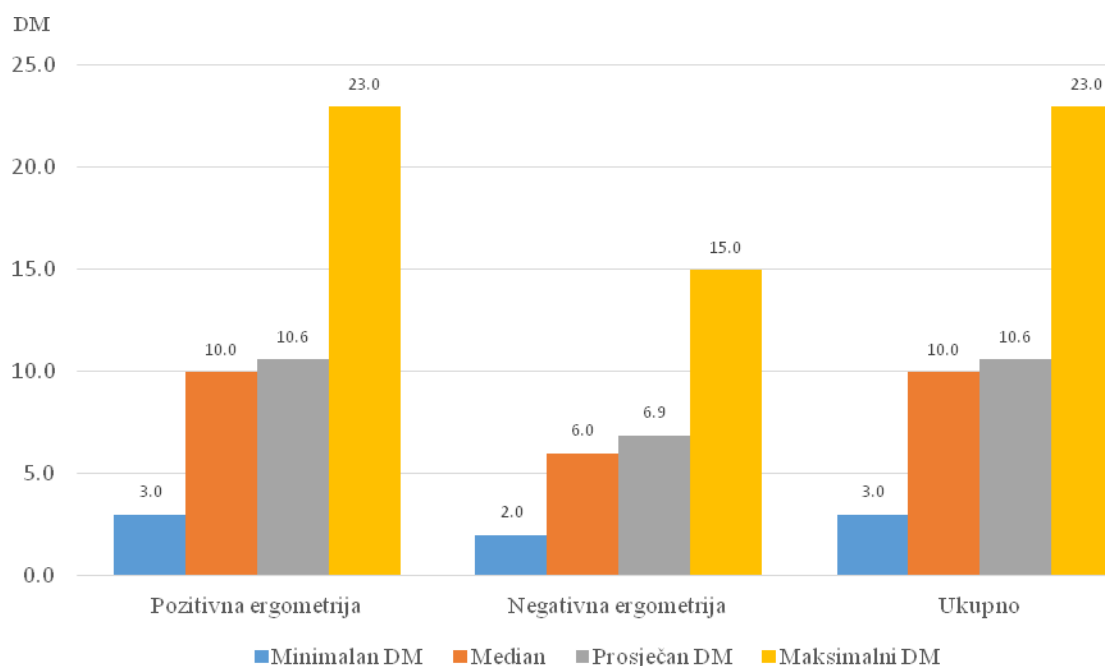
Najveće prosječne vrijednosti BMI ($\pm$ SD) imala je grupa ispitanika sa negativnim rezultatima ergometrije $28,64 \pm 2,20$, nešto manje vrijednosti imala je grupa sa pozitivnim rezultatima ergometrije $28,36 \pm 2,51$, a najmanje prosječne vrijednosti BMI su evidentirane u kontrolnoj grupi $27,28 \pm 2,30$. Utvrdili smo da postoje statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima BMI između kontrolne grupe i grupe sa pozitivnom ergometrijom ($p = .022$) i između kontrolne grupe i grupe sa negativnom ergometrijom ($p = .004$). Između ispitanika grupe sa pozitivnom ergometrijom i grupe sa negativnom ergometrijom ne postoje statistički značajne razlike u vrijednosti BMI ($p = .550$). (Slika 10).



Slika 10. Distribucija ispitanika prema vrijednosti BMI i pojedinim grupama

4.1.4. Trajanje DM

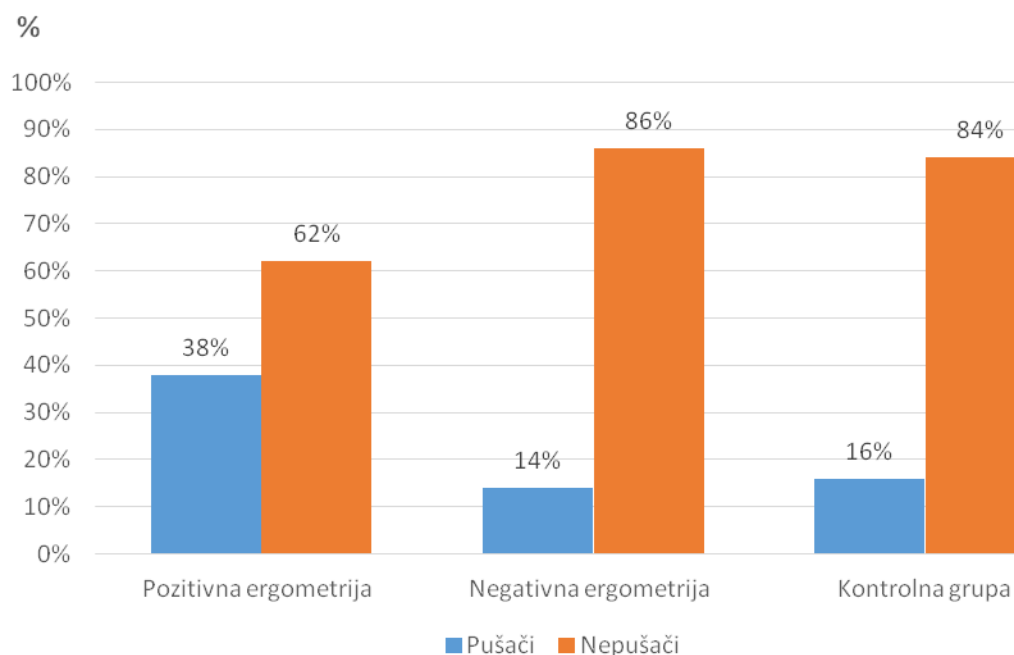
Trajanje DM tip 2 u grupi u kojoj smo dokazali IBS je statistički značajno duže ($\pm$ SD) $10,6 \pm 4,6$ godina, u odnosu na trajanje DM u grupi ispitanika bez IBS $6,9 \pm 3,4$. U grupi sa pozitivnom ergometrijom minimum trajanja DM je iznosio 3 godine, a maksimum 23 godine, sa medijanom od 10 godina. U drugoj grupi minimalno trajanje je bilo 2 godine, maksimalno 15 godina sa medijanom od 6 godina. (Slika 11).



Slika 11. Distribucija ispitanika prema trajanju DM i pojedinim grupama

4.1.5. Pušenje

U grupi ispitanika sa dijabetesom tipa 2 kojima je dokazana IBS bilo je 19 (38,0%) aktivnih pušača, i 31 (62,0%) nepušača. U grupi ispitanika bez IBS bilo je 7 (14,0%) aktivnih pušača i 43 (86,0%) nepušača, dok je u kontrolnoj grupi bilo 8 (16,0%) aktivnih pušača i 42 (84,0%) nepušača. Korištenjem hi-kvadrat testa utvrdili smo da između različitih grupa ispitanika postoji statistički značajna razlika u frekvenciji pušača ($\chi^2 = 10.117$, $p = .006$). Najveći procenat pušača (38,0%) se nalazi u grupi sa pozitivnim nalazom ergometrije, u odnosu na 16,0% pušača u kontrolnoj grupi i 14% pušača u grupi sa negativnim nalazom ergometrije. (Slika 12).

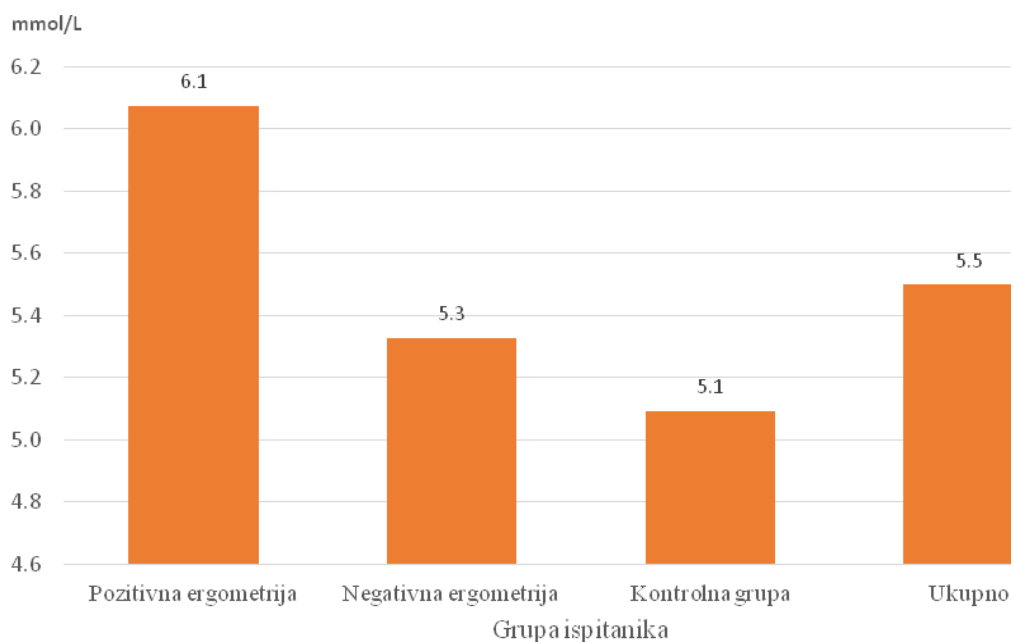


Slika 12. Distribucija ispitanika prema pušenju i pojedinim grupama

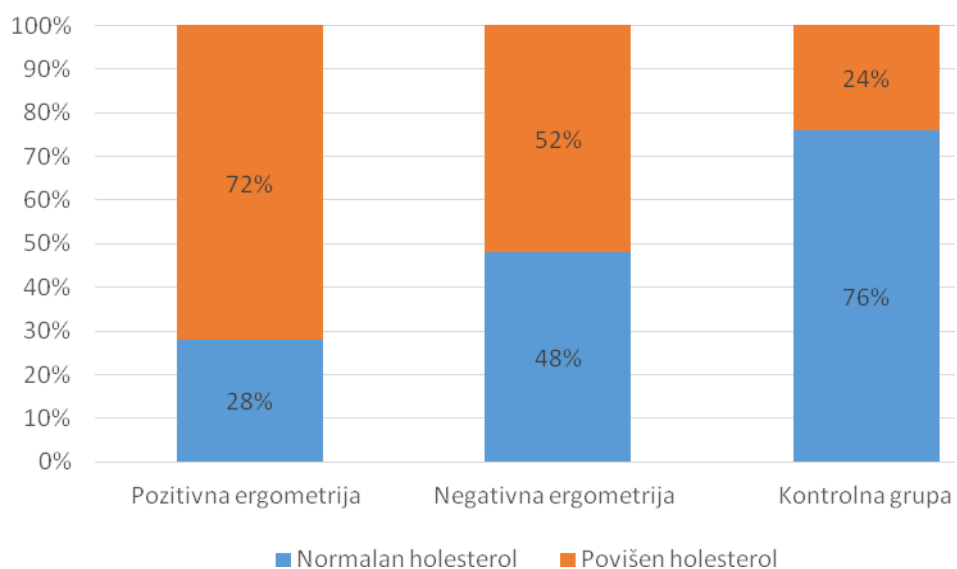
4.2. Holesterol

4.2.1. Ukupni kolesterol

Na osnovu postojećih standarda za definisanje normalne i povišene vrijednosti holesterola sve ispitanike smo podijelili po odgovarajućim grupama. Srednja vrijednost ukupnog holesterola ($\pm$ SD) u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom je bila 6.074 ± 1.352 , u grupi sa negativnom ergometrijom je bila 5.3260 ± 1.443 , dok je u kontrolnoj grupi bila $5.0932 \pm .461$. Postoje statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima holesterola između kontrolne grupe i grupe sa pozitivnom ergometrijom ($p < .05$), između grupe sa pozitivnom ergometrijom i grupe sa negativnom ergometrijom ($p = .002$). U kontrolnoj grupi ispitanika normalna vrijednost holesterola je kod 76,0% ispitanika, u grupi ispitanika sa negativnom ergometrijom vrijednost holesterola u referentnom opsegu je bila kod 48,0%, a u grupi sa pozitivnim rezultatima ergometrije svega 28,0% ispitanika. Ove razlika u distribuciji frekvencija ispitanika sa normalnim i povišenom vrijednošću holesterola po pojedinim grupama ispitanika je statistički značajna ($p < .05$). (Slika 13 i 14).



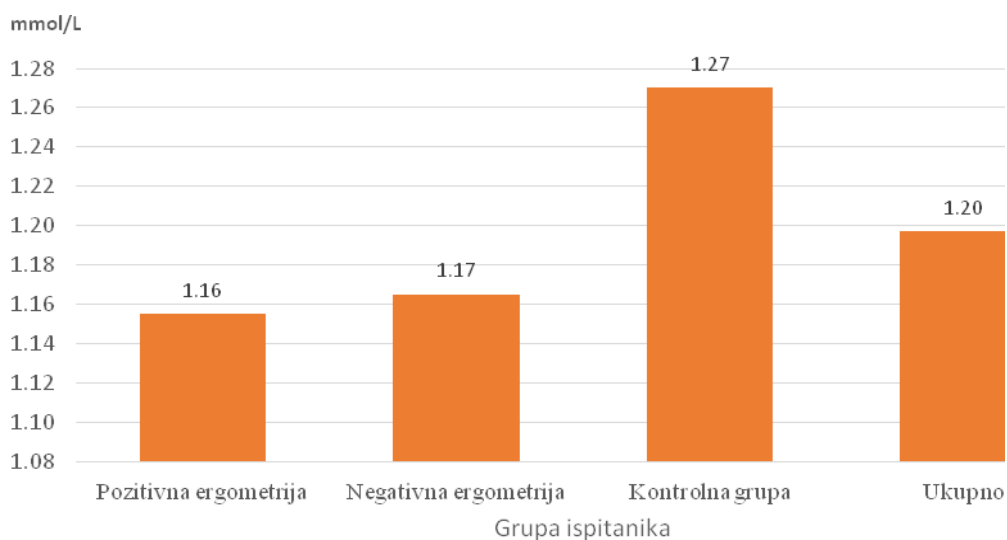
Slika 13. Prosječne vrijednosti holesterola po pojedinim grupama ispitanika



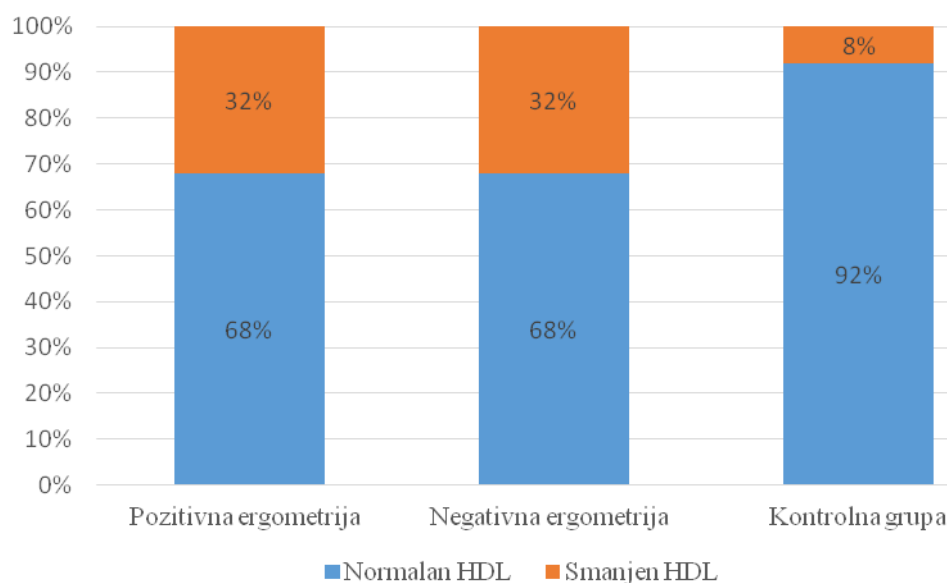
Slika 14. Distribucija ispitanika prema vrijednosti holesterola i pojedinim grupama

4.2.2. HDL kolesterol

Srednja vrijednost HDL kolesterola ($\pm$ SD) u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom je bila $1.155 \pm .276$, u grupi sa negativnom ergometrijom je bila 1.165 ± 1.17 , dok je u kontrolnoj grupi bila $1.270 \pm .187$. Između različitih grupa ispitanike ne postoje statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima HDL kolesterola ($p = .175$) (Slika 15). Primjenom standarda za nivo HDL, vrijednosti kolesterola smo klasifikovali kao smanjene i normalne. Raspodjela učestalosti pomenutih HDL grupa je statistički značajno različita između različitih grupa ispitanika ($p = 0,005$). Tako je u kontrolnoj grupi svega oko 8% ispitanika sa smanjenim vrednostima HDL kolesterola, do je u ostale dvije grupe značajno više ili 32% ispitanika sa smanjenim vrijednostima HDL-a. (Slika 16).



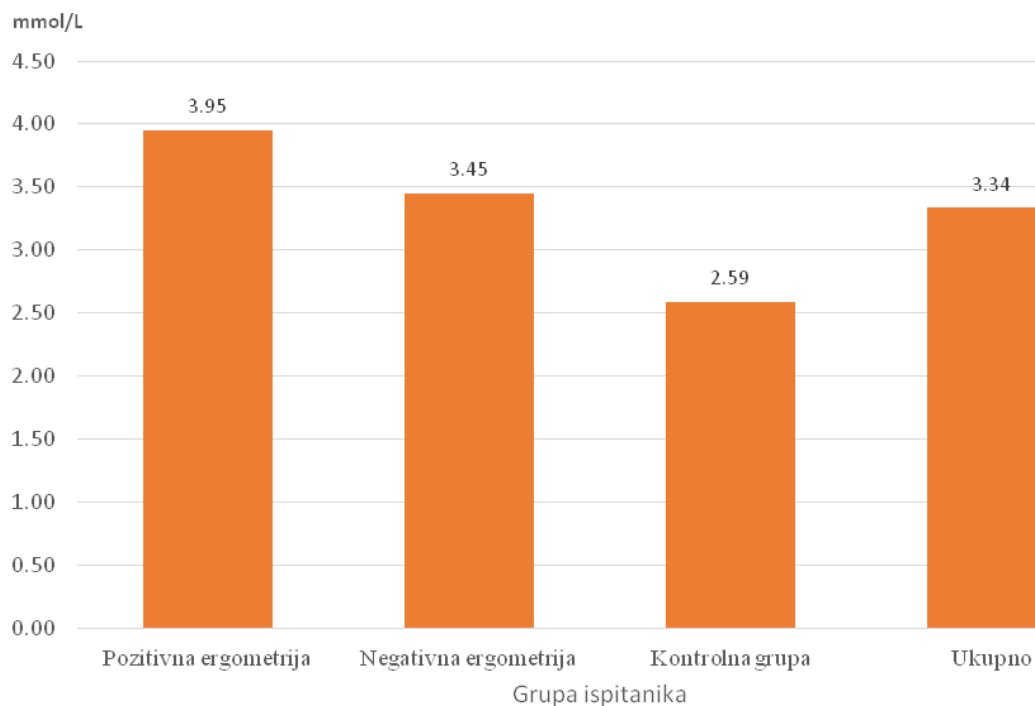
Slika 15. Prosječne vrijednosti HDL kolesterola po pojedinim grupama ispitanika



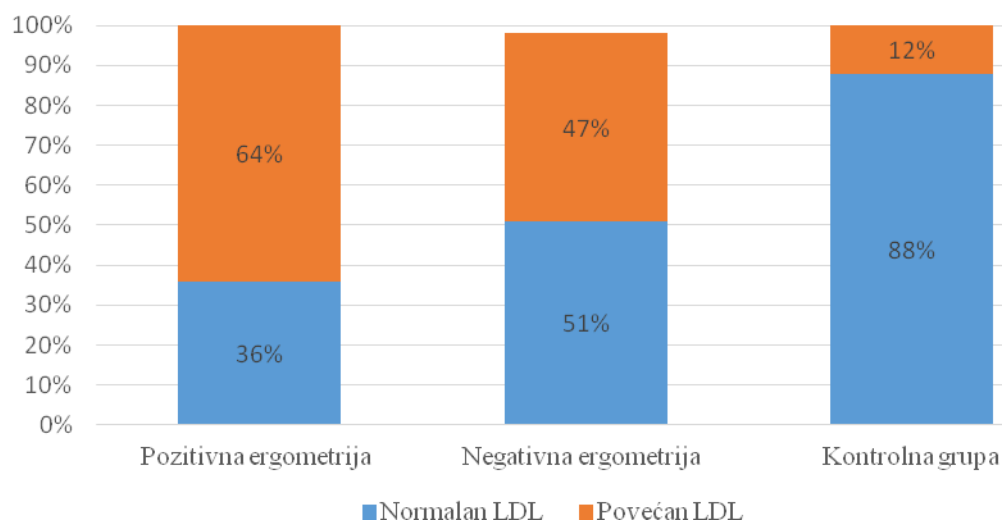
Slika 16. Distribucija ispitanika prema vrijednosti HDL holesterola i pojedinim grupama

4.2.3. LDL holesterol

Srednja vrijednost LDL holesterola ($\pm$ SD) u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom je bila 3.954 ± 1.128 , u grupi sa negativnom ergometrijom je bila $3.451 \pm .983$, dok je u kontrolnoj grupi bila $2.590 \pm .591$. Između navedenih grupa ispitanika postoje statistički značajne razlike u prosječnim vrijednostima LDL holesterola ($p < 0.05$) (Slika 17). Analizirali smo i vrijednosti LDL holesterola i transformisali smo u dvije kategorije i to normalnu i povećanu. Povećane vrijednosti LDL u kontrolnoj grupi evidentirano je kod 12,2% ispitanika, dok je istovremeno u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom evidentirano 64,0% ispitanika i 46,9% ispitanika u grupi sa negativnim vrijednostima ergometrije, što je statistički značajno ($p < .05$). (Slika 18)



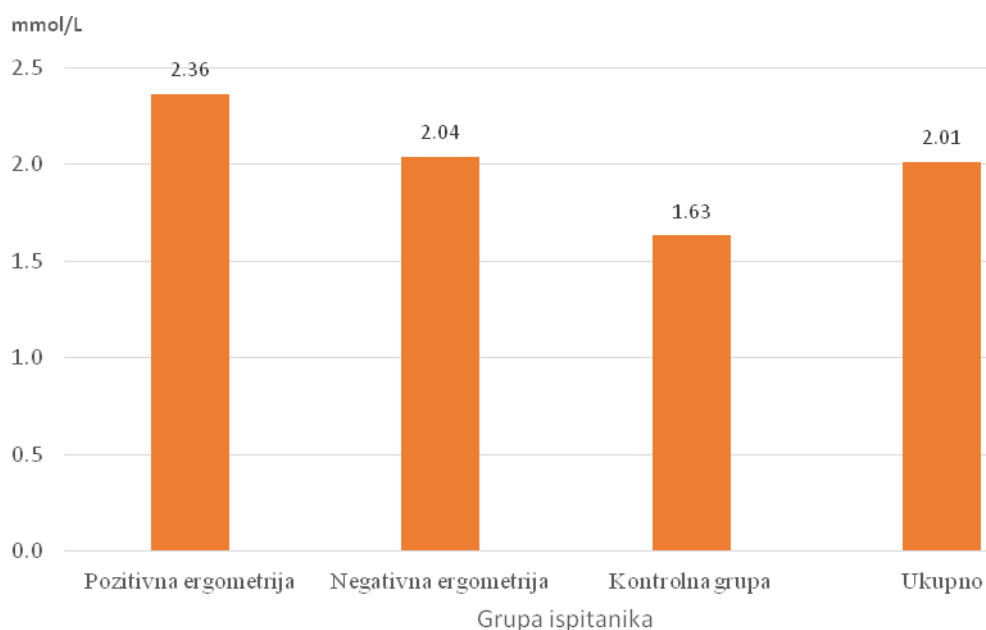
Slika 17. Prosječne vrijednosti LDL holesterola po pojedinim grupama ispitanika



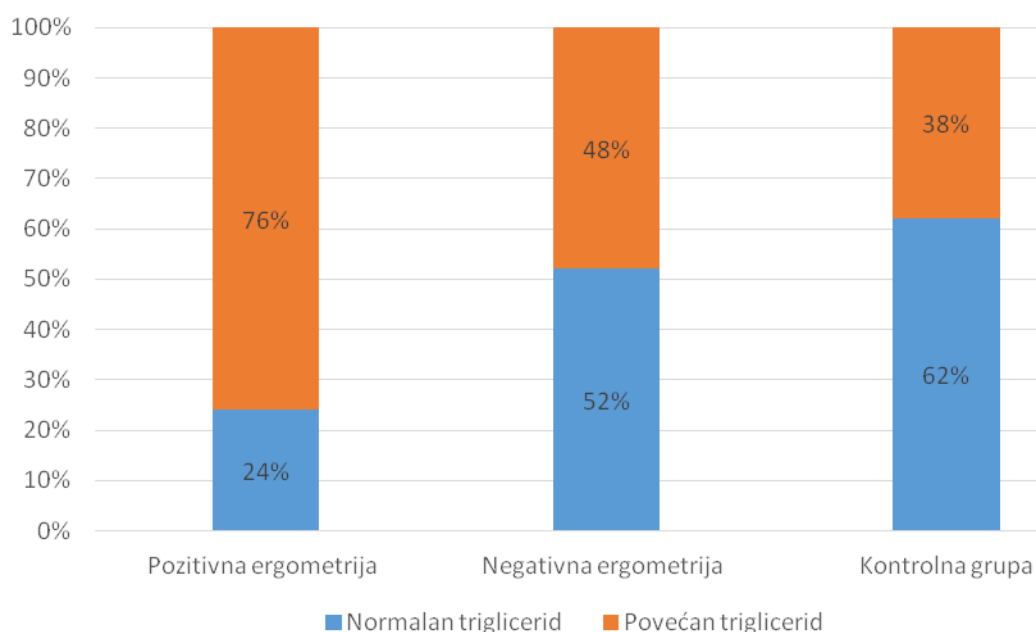
Slika 18. Distribucija ispitanika prema vrijednosti LDL holesterola i pojedinim grupama

4.2.4. Trigliceridi

Srednja vrijednost triglicerida ($\pm$ SD) u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom je bila $2,36 \pm 1,01$, u grupi sa negativnom ergometrijom je $2,04 \pm 1,81$, a u kontrolnoj grupi $1,63 \pm 0,46$. Raspodjela vrijednosti triglicerida između grupa sa pozitivnom i negativnom ergometrijom je statistički značajna ($p=.001$), između kontrolne grupe i grupe sa pozitivnom ergometrijom statistički značajna raspodjela ($p < .05$) dok razlika u distribuciji vrijednosti triglicerida između kontrolne grupe i grupe sa negativnim vrijednostima ergometrije nije statistički značajana ($p = 1.00$) (Slika 19). Vrijednosti triglicerida su svrstane u dvije kategorije i to normalne i povećanje po pojedinim grupama ispitanika. U kontrolnoj grupi je oko 38% ispitanika sa povećanim vrijednostima, u grupi sa negativnim vrijednostima ergometrije 48%, dok u grupi sa pozitivnom ergometrijom procenat ispitanika sa povećanim vrijednostima triglicerida iznosi 76,0%, što je statistički značajno ($p < .05$). (Slika 20)



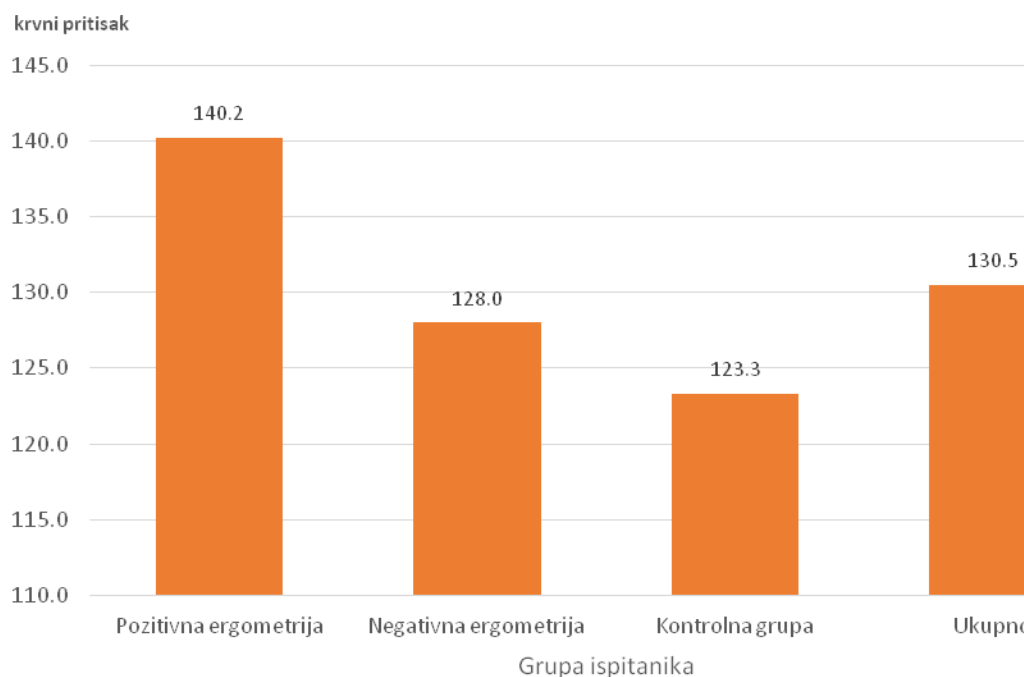
Slika 19. Prosječne vrijednosti triglicerida po pojedinim grupama ispitanika



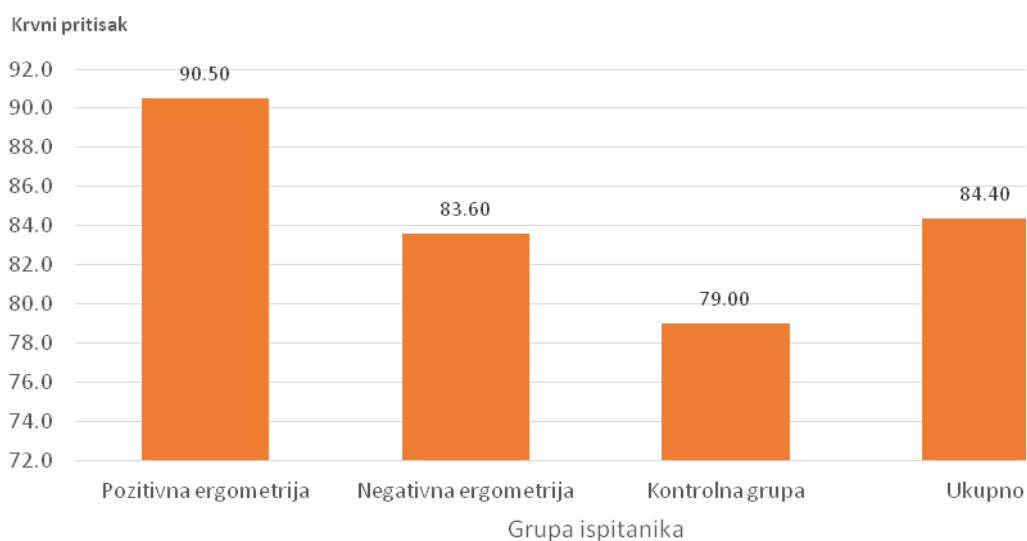
Slika 20. Distribucija ispitanika prema vrijednosti triglicerida i pojedinim grupama

4.2.5. Krvni pritisak

Statistike srednje vrijednosti ($\pm$ SD) sistolnog krvnog pritiska u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom je bila $140,2 \pm 11,6$, u grupi sa negativnom ergometrijom $128,0 \pm 12,1$, a u kontrolnoj grupi $123,3 \pm 11,0$. Vrijednosti sistolnog krvnog pritiska su statistički značajno različite između ispitivanih grupa ($p < .05$). Statistike srednje vrijednosti ($\pm$ SD) dijastolnog krvnog pritiska u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom je bila $92,0 \pm 8,9$, u grupi sa negativnom ergometrijom $83,6 \pm 8,4$, a u kontrolnoj grupi bila $79,0 \pm 6,2$. Vrijednosti dijastolnog krvnog pritiska su statistički bile različite između ispitivanih grupa ($p < .05$) (Slika 21). Vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska su najveći u grupi sa pozitivnom ergometrijom i oni su statistički značajno veći od vrijednosti kod kontrolne grupe i grupe ispitanika sa negativnom ergometrijom. Takođe, vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska su veći u grupi sa pozitivnom ergometrijom u odnosu na kontrolnu grupu ($p < .05$) (Slika 22).



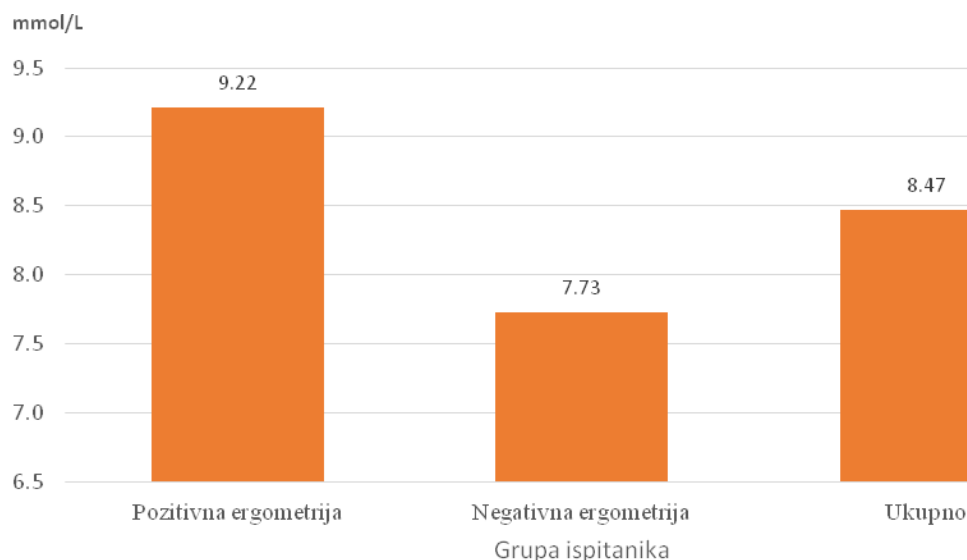
Slika 21. Prosječne vrijednosti sistolnog krvnog pritiska po pojedinim grupama ispitanika



Slika 22. Prosječne vrijednosti dijastolnog krvnog pritiska po pojedinim grupama ispitanika

4.2.6. HbA1c

Medijana HbA1c ($\pm$ SD) u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom su bile $9,22 \pm 1,92$, dok su sa negativnom ergometrijom bile $7,73 \pm 1,14$, što se statistički značajno razlikuje (t -test = 4.686 i $p < .05$). (Slika 23).

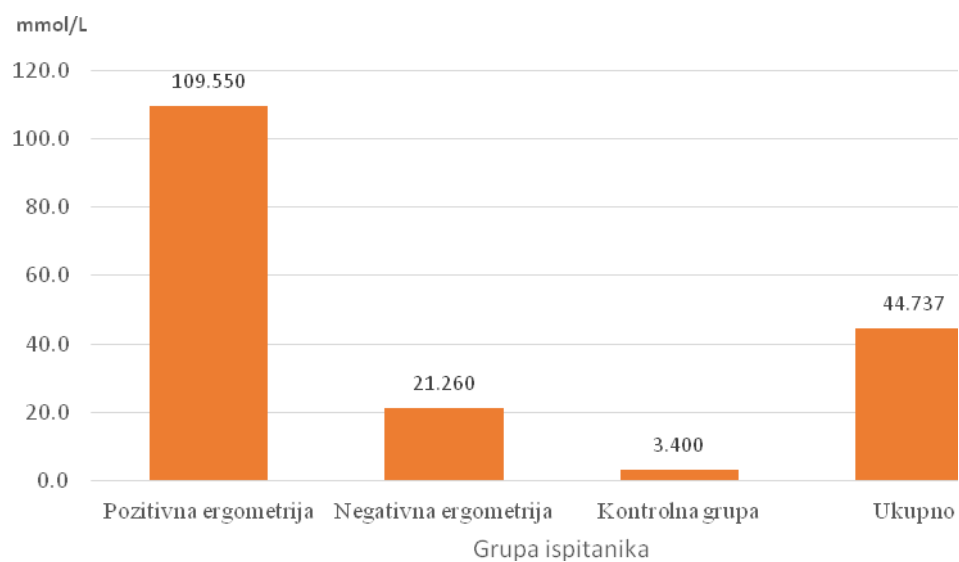


Slika 23. Prosječne vrijednosti HbA1c po pojedinim grupama ispitanika

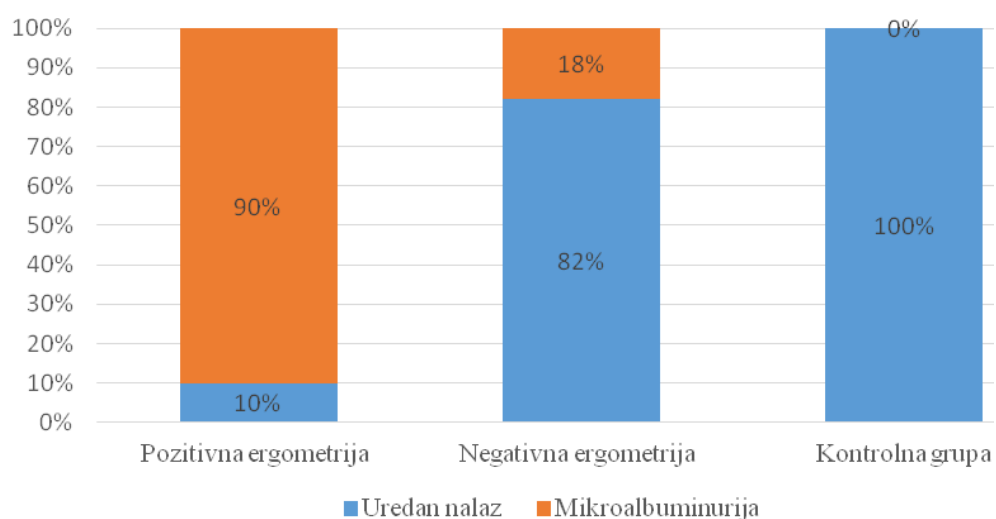
4.3. Albuminurija

4.3.1. Medijana Albuminurija

Medijana albuminurije ($\pm$ SD) u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom su bile 109.550 ± 72.248 , sa negativnom ergometrijom 21.260 ± 23.205 , a u kontrolnoj grupi 3.400 ± 5.410 , što se statistički značajno razlikuje ($p < .05$) (Slika 24). Dalje smo vrijednosti albuminurije grupisali su u dvije kategorije i to mikroalbuminurija i uredan nalaz, a potom po pojedinim grupama ispitanika. U kontrolnoj grupi svi ispitanici imaju normalan nalaz, u grupi sa negativnom ergometrijom 82% ispitanika ima uredan nalaz, dok u grupi sa pozitivnom ergometrijom 90% ispitanika ima mikroalbuminuriju. Ove razlike u distribuciji frekvencija su statistički značajne ($p < .05$) (Slika 25)



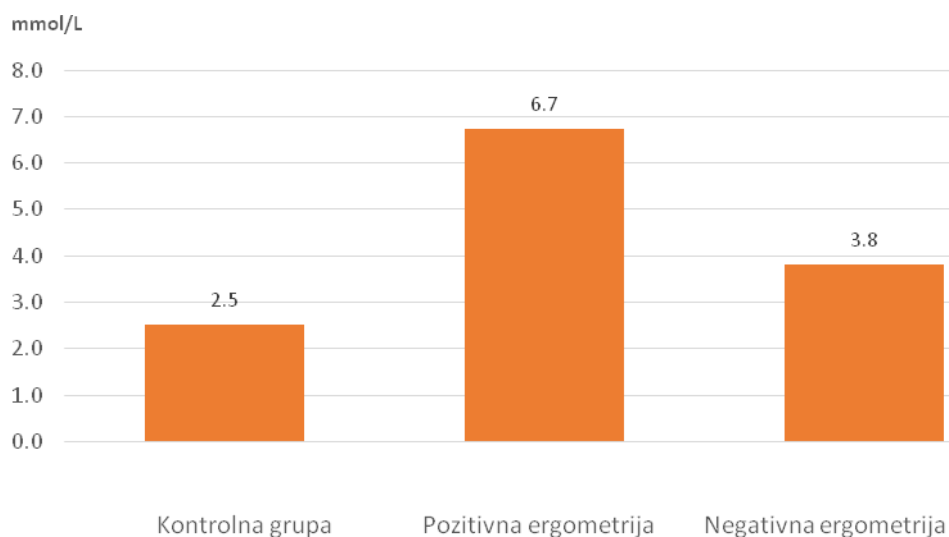
Slika 24. Prosječne vrijednosti albiminurije po pojedinim grupama ispitanika



Slika 25. Distribucija ispitanika prema vrijednosti albuminurija i pojedinim grupama

4.3.2. IL-6

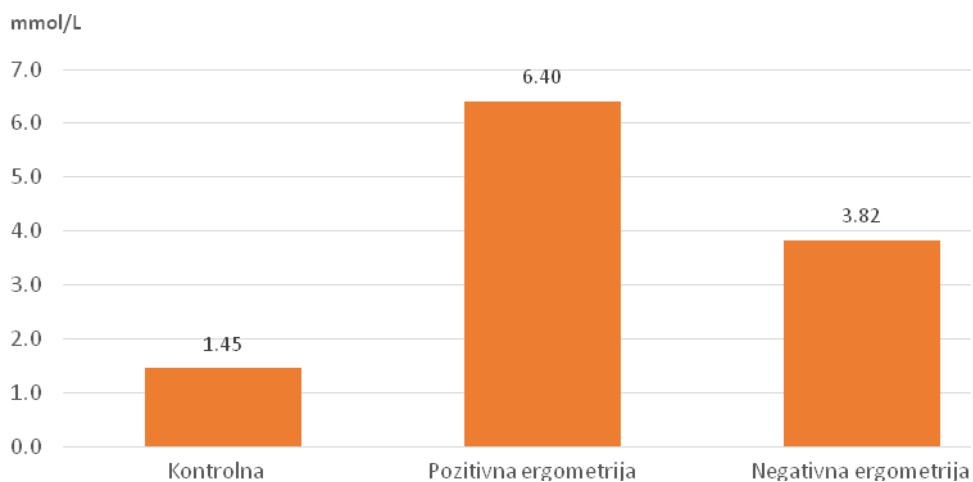
Medijana interleukina 6 ($\pm$ SD) u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom bile su 6.734 ± 2.018 , sa negativnom ergometrijom 3.8123 ± 1.325 , a u kontrolnoj grupi 2.5318 ± 1.126 , što se statistički značajno razlikuje između grupa ispitanika ($p < .05$) (Slika 26).



Slika 26. Prosječne vrijednosti IL-6 po pojedinim grupama ispitanika

4.3.3. hs-CRP

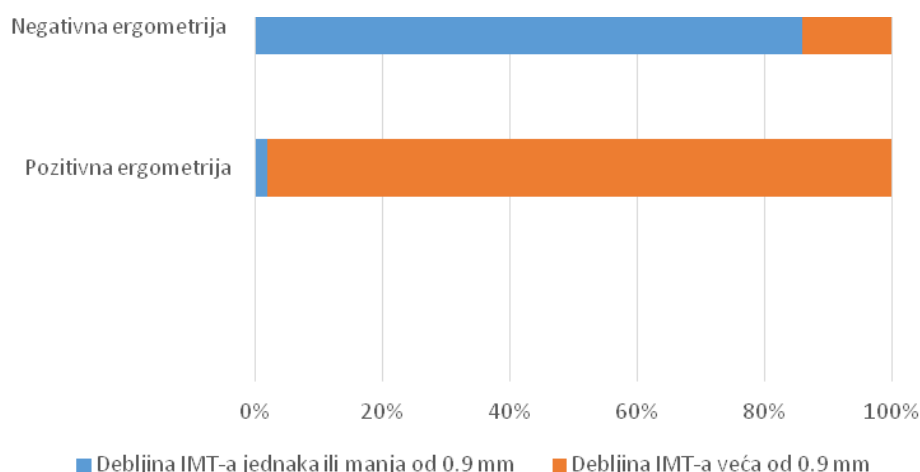
Medijana visokosenzitivnog CRP ($\pm$ SD) u grupi ispitanika sa pozitivnom ergometrijom su bile su 6.4 ± 2.17 , sa negativnom ergometrijom 3.823 ± 1.525 , a u kontrolnoj grupi 1.447 ± 1.35 , što se statistički značajno razlikuje između grupa ispitanika $p < .05$ (Slika 27).



Slika 27. Prosječne vrijednosti hs-CRP po pojedinim grupama ispitanika

4.3.4. IMT

Vrijednosti IMT manje od 0,9 mm (bez karotidne ateroskleroze) imalo je 43 (86,0%) ispitanika sa negativnom ergometrijom i samo 1 (2,0%) ispitanik sa pozitivnom ergometrijom, dok su vrijednosti IMT bile veće od 0,9 mm (karotidna ateroskleroza) kod 7 (14,0%) ispitanika sa negativnom ergometrijom i 49 (98,0%) ispitanika sa pozitivnom ergometrijom, što se statistički značajno razlikuje. $p = 0.000$ Procjenjujući odnos IMT i rezultata ergometrije dobili smo rezultate koji pokazuju da je mediana ($\pm$ SD) IMT kod ispitanika koji su imali pozitivnu ergometriju bila $1.100 \pm .143$, a kod ispitanika koji su imali negativnu ergometriju mediana IMT je bila $0.850 \pm .108$, što se statistički značajno razlikuje ($p < .05$). (Slika 28).



Slika 28. Odnos vrijednosti IMT-a i ergometrije

4.3.5. IL-6 i hs-CRP kao prediktori povećane debljine IMT

Primjenom modela logističke regresije dokazali smo da je povećanje vrijednosti IL-6 i hs-CRP povezano sa povećanom debljinom IMT-a. Pacijenti sa većom vrijednošću IL-6 imaju 1.716 veću mogućnost povećanja debljine IMT koji definišu ateroskleroza, od onih sa manjim IL6 (OR = 1.716, 95% CI = 1.031 - 2.856). Takođe, pacijenti sa većim vrijednostima hs-CRP imaju 1.466 puta značajno veću mogućnost povećanja debljine IMT u aterosklerotskom opsegu (OR=1.466, 95% CI = .989 - 2.174). (Tabela 1).

Tabela 1. Logistička regresija odnosa vrijednosti IL-6 i hs-CRP prema vrijednostima IMT

		Variables in the Equation						95% C.I. for EXP(B)	
		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	Lower	Upper
Step 1a	IL-6	.540	.260	4.309	1	.038	1.716	1.031	2.856
	hs-CRP	.383	.201	3.624	1	.057	1.466	.989	2.174
	Constant	-3.111	.677	21.102	1	.000	.045		

a. Variable(s) entered on step 1: IL-6, hs-CRP.

4.4. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa tradicionalnim kardiovaskularnim faktorima rizika (pol, dob, dužina trajanja dijabetesa, pušački status, stanje glikoregulacije, gojaznost, dislipidemija)

4.4.1. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija

Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih u tabeli 2 možemo zaključiti da postoji jaka i pozitivna, statistički značajna korelacija između hs-CRP i IL-6 ($p < .05$), između hs-CRP i IMT-a ($p < .05$) kao i između vrijednosti IL-6 i IMT-a ($p < .05$).

Tabela 2. Korelacija IMT, IL-6 i hs-CRP s

Correlations				
		IL-6	hs-CRP	IMT_mean
IL-6	Pearson Correlation	1	.883**	.621**
	Sig. (2-tailed)		.000	.000
	N	100	100	100
hs-CRP	Pearson Correlation	.883**	1	.651**
	Sig. (2-tailed)	.000		.000
	N	100	100	100
IMT_mean	Pearson Correlation	.621**	.651**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	
	N	100	100	100

****.** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.4.2. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa polom

Test korelacije prikazan u tabeli 3 ukazuje na to da nema jakih i statistički značajnih korelacija između pola pacijenata sa IL-6, hs-CRP i IMT.

Tabela 3. Korelacija IMT, IL-6 i hs-CRP sa polom

		IL-6	hs-CRP	IMT_mean	Pol
IL-6	Pearson Correlation	1	.883**	.621**	-.063
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.535
	Sum of Squares and Cross-products	703.189	715.391	28.872	-8.293
	Covariance	7.103	7.226	.292	-.084
	N	100	100	100	100
hs-CRP	Pearson Correlation	.883**	1	.651**	-.041
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.687
	Sum of Squares and Cross-products	715.391	933.515	34.924	-6.210
	Covariance	7.226	9.429	.353	-.063
	N	100	100	100	100
IMT_mean	Pearson Correlation	.621**	.651**	1	-.020
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.842
	Sum of Squares and Cross-products	28.872	34.924	3.078	-.176
	Covariance	.292	.353	.031	-.002
	N	100	100	100	100
Pol	Pearson Correlation	-.063	-.041	-.020	1
	Sig. (2-tailed)	.535	.687	.842	
	Sum of Squares and Cross-products	-8.293	-6.210	-.176	24.840
	Covariance	-.084	-.063	-.002	.251
	N	100	100	100	100

**, Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.4.3. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa starošću

Možemo zaključiti da postoji umjerena i pozitivna, statistički značajna korelacija između starosti i debljine IMT-a ($p < .05$), slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između starosti i hs-CRP ($p = .026$), kao i slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između starosti i vrijednosti IL-6 ($p = .01$). (Tabela 4).

Tabela 4. Korelacija IMT, IL-6 i hs-CRP sa starošću

Correlations					
		IL-6	hs-CRP	IMT_mean	Starost
IL-6	Pearson Correlation	1	.883**	.621**	.256*
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.010
	Sum of Squares and Cross-products	703.189	715.391	28.872	417.570
	Covariance	7.103	7.226	.292	4.218
	N	100	100	100	100
hs-CRP	Pearson Correlation	.883**	1	.651**	.223*
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.026
	Sum of Squares and Cross-products	715.391	933.515	34.924	419.181
	Covariance	7.226	9.429	.353	4.234
	N	100	100	100	100
IMT_mean	Pearson Correlation	.621**	.651**	1	.435**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.000
	Sum of Squares and Cross-products	28.872	34.924	3.078	46.978
	Covariance	.292	.353	.031	.475
	N	100	100	100	100
Starost	Pearson Correlation	.256*	.223*	.435**	1
	Sig. (2-tailed)	.010	.026	.000	
	Sum of Squares and Cross-products	417.570	419.181	46.978	3791.560
	Covariance	4.218	4.234	.475	38.299
	N	100	100	100	100

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.4.4. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa trajanjem DM

Postoji umjerena i pozitivna, statistički značajna korelacija između trajanja DM i debljine IMT-a ($p < .05$), slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između trajanja DM i vrijednosti hs-CRP ($p = .003$), kao i slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između trajanja DM i vrijednosti IL-6 ($p = .007$). Navedeni rezultati prikazani su u tabeli 5.

Tabela 5. Korelacija IMT, IL-6 i hs-CRP sa trajanjem DM

		Correlations			
		IL-6	hs-CRP	IMT_mean	Trajanje_DM
IL-6	Pearson Correlation	1	.883**	.621**	.269**
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.007
	Sum of Squares and Cross-products	703.189	715.391	28.872	316.703
	Covariance	7.103	7.226	.292	3.199
	N	100	100	100	100
hs-CRP	Pearson Correlation	.883**	1	.651**	.293**
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.003
	Sum of Squares and Cross-products	715.391	933.515	34.924	397.783
	Covariance	7.226	9.429	.353	4.018
	N	100	100	100	100
IMT_mean	Pearson Correlation	.621**	.651**	1	.447**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.000
	Sum of Squares and Cross-products	28.872	34.924	3.078	34.838
	Covariance	.292	.353	.031	.352
	N	100	100	100	100
Trajanje_DM	Pearson Correlation	.269**	.293**	.447**	1
	Sig. (2-tailed)	.007	.003	.000	
	Sum of Squares and Cross-products	316.703	397.783	34.838	1974.750
	Covariance	3.199	4.018	.352	19.947
	N	100	100	100	100

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.4.5. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa pušenjem

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da postoji slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između pušenja i debljine IMT-a ($p = .005$), slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između pušenja i vrijednosti hs-CRP ($p = .002$), kao i slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između pušenja i vrijednosti IL-6 ($p = .002$). (Tabela 6).

Tabela 6. Korelacija IMT, IL-6 i hs-CRP sa pušenjem

		Correlations			
		IL-6	hs-CRP	IMT_mean	Pušenje
IL-6	Pearson Correlation	1	.883**	.621**	-.305**
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.002
	Sum of Squares and Cross-products	703.189	715.391	28.872	-35.465
	Covariance	7.103	7.226	.292	-.358
	N	100	100	100	100
hs-CRP	Pearson Correlation	.883**	1	.651**	-.307**
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.002
	Sum of Squares and Cross-products	715.391	933.515	34.924	-41.124
	Covariance	7.226	9.429	.353	-.415
	N	100	100	100	100
IMT_mean	Pearson Correlation	.621**	.651**	1	-.282**
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.005
	Sum of Squares and Cross-products	28.872	34.924	3.078	-2.169
	Covariance	.292	.353	.031	-.022
	N	100	100	100	100
Pušenje	Pearson Correlation	-.305**	-.307**	-.282**	1
	Sig. (2-tailed)	.002	.002	.005	
	Sum of Squares and Cross-products	-35.465	-41.124	-2.169	19.240
	Covariance	-.358	-.415	-.022	.194
	N	100	100	100	100

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.4.6. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa BMI

Na osnovu dobijenih rezultata možemo da zaključimo da ne postoji statistički značajna povezanost između IMT, IL-6 i hs-CRP sa BMI. (Tabela 7).

Tabela 7. Korelacija IMT, IL-6 i hs-CRP sa BMI

		Correlations			
		IL-6	hs-CRP	IMT_mean	BMI
IL-6	Pearson Correlation	1	.883**	.621**	-.112
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.269
	Sum of Squares and Cross-products	703.189	715.391	28.872	-69.175
	Covariance	7.103	7.226	.292	-.699
	N	100	100	100	100
hs-CRP	Pearson Correlation	.883**	1	.651**	-.027
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.792
	Sum of Squares and Cross-products	715.391	933.515	34.924	-19.055
	Covariance	7.226	9.429	.353	-.192
	N	100	100	100	100
IMT_mean	Pearson Correlation	.621**	.651**	1	.009
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.933
	Sum of Squares and Cross-products	28.872	34.924	3.078	.350
	Covariance	.292	.353	.031	.004
	N	100	100	100	100
BMI	Pearson Correlation	-.112	-.027	.009	1
	Sig. (2-tailed)	.269	.792	.933	
	Sum of Squares and Cross-products	-69.175	-19.055	.350	547.000
	Covariance	-.699	-.192	.004	5.525
	N	100	100	100	100

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.4.7. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa holesterolom

Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih u tabeli 8 možemo zaključiti da postoji umjerena i pozitivna, statistički značajna korelacija između vrijednosti holesterola i IL-6 ($p < .05$), slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između vrijednosti holesterola i hs-CRP ($p < .05$), kao i slaba i pozitivna, statistički beznačajna korelacija između vrijednosti holesterola i debljine IMT-a ($p = .152$).

Tabela 8. Korelacija IMT, IL-6 i hs-CRP sa holesterolom

		IL-6	hs-CRP	IMT_mean	Holesterol
IL-6	Pearson Correlation	1	.883**	.621**	.426**
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.000
	Sum of Squares and Cross-products	703.189	715.391	28.872	161.990
	Covariance	7.103	7.226	.292	1.636
	N	100	100	100	100
hs-CRP	Pearson Correlation	.883**	1	.651**	.382**
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.000
	Sum of Squares and Cross-products	715.391	933.515	34.924	167.331
	Covariance	7.226	9.429	.353	1.690
	N	100	100	100	100
IMT_mean	Pearson Correlation	.621**	.651**	1	.144
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.152
	Sum of Squares and Cross-products	28.872	34.924	3.078	3.628
	Covariance	.292	.353	.031	.037
	N	100	100	100	100
Holesterol	Pearson Correlation	.426**	.382**	.144	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.152	
	Sum of Squares and Cross-products	161.990	167.331	3.628	205.520
	Covariance	1.636	1.690	.037	2.076
	N	100	100	100	100

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.4.8. Korelacija IL-6, hs-CRP-a i debljine IMT karotidnih arterija sa trigliceridima

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da postoji izrazito slaba i pozitivna, statistički beznačajna korelacija između vrijednosti triglicerida i debljine IMT-a ($p = .807$), slaba i pozitivna, statistički značajna korelacija između vrijednosti triglicerida i hs-CRP ($p = .013$), kao i slaba i pozitivna, statistički beznačajna korelacija između vrijednosti triglicerida i IL-6 ($p = .049$). (tabela 9).

Tabela 9. Korelacija IMT, IL-6 i hs-CRP sa trigliceridima

		Correlations			
		IL-6	hs-CRP	IMT_mean	Trigliceridi
IL-6	Pearson Correlation	1	.883**	.621**	.198*
	Sig. (2-tailed)		.000	.000	.049
	Sum of Squares and Cross-products	703.189	715.391	28.872	76.620
	Covariance	7.103	7.226	.292	.774
	N	100	100	100	100
hs-CRP	Pearson Correlation	.883**	1	.651**	.247*
	Sig. (2-tailed)	.000		.000	.013
	Sum of Squares and Cross-products	715.391	933.515	34.924	110.546
	Covariance	7.226	9.429	.353	1.117
	N	100	100	100	100
IMT_mean	Pearson Correlation	.621**	.651**	1	.025
	Sig. (2-tailed)	.000	.000		.807
	Sum of Squares and Cross-products	28.872	34.924	3.078	.634
	Covariance	.292	.353	.031	.006
	N	100	100	100	100
Trigliceridi	Pearson Correlation	.198*	.247*	.025	1
	Sig. (2-tailed)	.049	.013	.807	
	Sum of Squares and Cross-products	76.620	110.546	.634	213.969
	Covariance	.774	1.117	.006	2.161
	N	100	100	100	100

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

4.5. Generisanje logističkog modela za predikciju ishodata ergometrijskog testa

U ovom djelu analize podataka su korištene univarijantna (neadastrirana) i multivarijantna (adastrirana) logistička regresija. U svim logističkim regresijama zavisna varijabla je ista - ergometrija sa dva moguća ishoda: pozitivna ili negativna, a nezavisne varijable su redom: starost, pol, pušenje, ukupni holesterol, LDL holesterol, trigliceridi, sistolni krvni pritisak, dijastolni krvni pritisak, IMT, albuminurija, IL-6 i hs-CRP. Poslednje dvije su one čiju značajnost ispitujeemo a ostale su kovarijate, odnosno varijable za koje se zna ili pretpostavlja da su značajno povezane sa rezultatima ergometrije (iz drugih istraživanja ili rutinskih podataka).

4.5.1. IL-6 i hs-CRP kao prediktori IBS

Realizovana je binarna logistička regresija, gdje se kao nezavisne varijable pojavljuju vrijednosti IL-6 i hs-CRP i rezultati ergometrije da bi utvrdili uticaj nezavisnih varijabli na pojavu zavisne varijable. Sa statistički značajnom vjerovatnoćom može predvidjeti pojavu ishoda ergometrije na bazi vrijednosti IL-6 i hs-CRP ($p < .05$) (tabela 10).

Tabela 10. Omnibus test u predviđanju ishoda ergometrije

Omnibus Tests of Model Coefficients				
		Chi-square	df	Sig.
Step 1	Step	88.834	2	.000
	Block	88.834	2	.000
	Model	88.834	2	.000

Veće vrijednosti IL-6 i hs-CRP povezane su sa pozitivnom ergometrijom, a manje sa negativnom ergometrijom. Sa povećanjem vrijednosti ovih nezavisnih varijabli (u ovom slučaju predikora) povećava se vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije. Pacijenti sa većom vrijednošću IL-6 imaju 1.857 puta veću mogućnost da imaju pozitivnu ergometriju od onih sa manjim IL-6 (OR = 1.857). Takođe, pacijenti sa većim vrijednostima hs-CRP imaju 1.740 puta značajno veću mogućnost da imaju pozitivnu ergometriju (OR = 1.740). Tačnije rečeno, u uslovima kad su ostale prediktorske varijable konstantne sa povećanjem vrijednosti hs-CRP-a za jednu jedinicu, vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije je veća za 1.740 puta, odnosno sa povećanjem vrijednosti IL-6 za jedinicu mjere vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije raste za 1.857 puta. (Tabela 11).

Tabela 11. CRP i IL-6 kao prediktori IBS

		Variables in the Equation						95% C.I. for EXP(B)	
		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	Lower	Upper
Step 1a	IL-6	.619	.276	5.025	1	.025	1.857	1.081	3.191
	hs-CRP	.554	.218	6.473	1	.011	1.740	1.136	2.666
	Constant	-4.496	.873	26.557	1	.000	.011		

Variable(s) entered on step 1: IL-6, hs-CRP.

4.5.2. IL-6, hs-CRP, starosti i pol kao prediktori IBS

Realizovali smo binarni multivarijantni logistički regresioni model u okviru kojeg smo kao nezavisne varijable uključili IL-6, hs-CRP, starost pacijenta i pol pacijenta. Na osnovu rezultata *Omnibus Tests of Model Coefficients* može konstatovati da je ovaj binarni regresioni model statistički značajan, odnosno da sa statistički značajnom vjerovatnoćom može predvidjeti pojavu pozitivne ergometrije na osnovu vrijednosti IL-6, hs-CRP, godina starosti i pola pacijenta ($\chi^2 = 97.577$, $p < .05$). (Tabela 11).

Tabela 2. Omnibus test u predviđanju ishoda ergometrije

Omnibus Tests of Model Coefficients			
	Chi-square	df	Sig.
Step	97.577	4	.000
Step 1			
Block	97.577	4	.000
Model	97.577	4	.000

Na osnovu rezultata Wald statistike možemo utvrditi parcijalni doprinos pojedinih nezavisnih varijabli na pojavu zavisne varijable-pozitivne ergometrije. Možemo konstatovati da su starost ($p = .027$), IL-6 ($p = .034$) i hs-CRP ($p = .006$) statistički značajni prediktori za model predviđanja pojave ergometrije. S druge strane, pol nema statistički značajan prediktorski uticaj ($p = .130$) u okviru postavljenog regresionog modela na pojavu pozitivne ergometrije. To svakako ne znači da ova varijabla nema uticaja na pojavu ergometrije već prosto da u skupu prediktorskih varijabli pojedinačno posmatrajući nema statistički značajan uticaj na predviđanje.

Starost, vrijednosti IL-6 i hs-CRP su pozitivno povezan sa vjerovatnoćom pojave pozitivne ergometrije. To znači da stariji pacijenti i pacijenti sa većim vrijednostima IL-6 i hs-CRP imaju veće šanse da imaju pozitivnu ergometriju.

Model je pokazao da starije osobe imaju veće šanse da imaju pozitivnu ergometriju. U uslovima kad su ostale prediktivne varijable konstantne, za svaku dodatnu godinu starosti pacijenta vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije raste za 1.23 puta ili 23.9% ($1.239 \times 100 - 100$). U uslovima kad su ostale prediktorske varijable konstantne sa povećanjem vrijednosti hs-CRP-a za jednu jedinicu, vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije veća je za 2.066 puta, odnosno sa povećanjem vrijednosti IL-6 za jedinicu mjere raste vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije za 1.886 puta. (Tabela 12).

Tabela 12. CRP , IL-6, starost i pol kao prediktori IBS

		Variables in the Equation						95% C.I. for EXP(B)	
		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	Lower	Upper
Step 1 ^a	Pol(1)	-1.328	.877	2.293	1	.130	.265	.048	1.478
	Starost	.214	.097	4.868	1	.027	1.239	1.024	1.499
	IL-6	.635	.300	4.471	1	.034	1.886	1.047	3.397
	hs-CRP	.726	.264	7.556	1	.006	2.066	1.231	3.465
	Constant	-16.782	6.170	7.398	1	.007	.000		

a. Variable(s) entered on step 1: Pol, Starost, IL-6, hs-CRP.

4.5.3. Backstep Wald metoda vise nezavinih varijabli na ishod ergometrije

Ovaj put smo koristili isti model tj. model sa identičnim zavisnim i nezavisnim varijablama ali sa drugačijim metodom izbora nezavisnih varijabli tzv. *Backstep Wald metod* ili korak po korak unazad.

Rezultati *Omnibus Tests of Model Coefficients* govore da je ovaj regresioni model statistički značajan, odnosno da se sa statistički značajnom vjerovatnoćom može predvidjeti ishod ergometrije na bazi uvrštenih prediktornih varijabli ($\chi^2 = 87.745$, $p < .05$). (Tabela 13).

Tabela 13. Omnibus test u predviđanju ishoda ergometrije

Omnibus Tests of Model Coefficients			
		Chi-square	Sig.
Step 13 ^a	Step	-44.367	.000
	Block	87.745	.000
	Model	87.745	.000

a. A negative Chi-squares value indicates that the Chi-squares value has decreased from the previous step.

Rezultati *Classification Table* ukazuju da naš regresioni model može ispravno predvidjeti u čak 90.9% slučajeva pojavu pozitivne ergometrije na bazi vrijednosti postavljenih nezavisnih varijabli. U prvom koraku ovog regresionog modela na osnovu rezultata Wald statistike možemo vidjeti da ni jedna varijabla pojedinačno nema statistički značaj uticaj u predviđanju mogućnosti pojave pozitivne ergometrije u okviru definisanog regresionog modela. U posljednjem koraku ostaju dvije nezavisne varijable koje pojedinačno imaju statistički značajan uticaj u predviđanja pojave pozitivne ergometrije kod pacijenata putem modela. (Tabela 14).

Tabela 34. Prediktivna vrijednost pojedinih nezavisnih varijabli na ishod ergometrije

	Variables in the Equation						95%	C.I.for
	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	EXP(B)	
							Lower	Upper
Pol(1)	-20.637	12113.026	.000	1	.999	.000	.000	
Starost	.421	2451.821	.000	1	1.000	1.523	.000	.
Pušenje(1)	7.477	17594.471	.000	1	1.000	1766.794	.000	.
Holesterol	-9.169	7182.637	.000	1	.999	.000	.000	.
LDL	6.659	8382.394	.000	1	.999	779.886	.000	.
Trigliceridi	5.220	5917.641	.000	1	.999	184.921	.000	.
Sistolni krvni pritisak	-1.107	1274.942	.000	1	.999	.330	.000	.
Dijastolni krvni pritisak	1.074	1972.466	.000	1	1.000	2.926	.000	.
IMT_mean	175.698	85882.759	.000	1	.998	2.018E+7 6	.000	.
Albuminurija	.142	310.960	.000	1	1.000	1.153	.000	5.640E +264
IL-6	4.019	7422.442	.000	1	1.000	55.639	.000	.
hs-CRP	4.529	1760.599	.000	1	.998	92.705	.000	.
Constant	196.789	218986.89 6	.000	1	.999	.000		

a. Variable(s) entered on step 1: Pol, Starost, Pušenje, Holesterol, LDL, Trigliceridi, Systolni krvni pritisak, Dijastolni krvni pritisak, IMT_mean, Albuminurija, , IL-6, hs-CRP.

4.5.4. Primjena regresionih analiza za ispitivanje korelacije udruženog nalaza povećanog nivoa IL-6, hs-CRP-a i povećane debljine IMT karotidnih arterija sa pojavom IBS

Rezultati regresione analize su vrijednosti prikazane u tabeli 15. Oni daju odgovor na naše pitanje o zajedničkom efektu nezavisnih varijabli (IL-6, hs-CRP i IMT) na zavisnu varijablu (ishod ergometrije). Rezultati su pokazali da je povećanje IL-6, IMT i hs-CRP povezano sa povećanom vjerovatnoćom pozitivne ergometrije. Na osnovu rezultata regresione analize uticaja pojedinih nezavisnih varijabli na predikciju zavisne varijable tj. pojave pozitivne ergometrije došli smo do zaključka da prema vrijednosti koeficijenta B pojedinačno najbolji prediktor pojave pozitivne ergometrije jeste povećana vrijednost IMT-a, zatim slijede IL-6 i na kraju hs-CRP. Svi prediktori imaju pozitivan koeficijent B što znači da sa porastom njihove vrijednosti raste i mogućnost pozitivne ergometrije. S obzirom na to da je rezultat hi-kvadrat omnibus testa statistički značajan (hi-kvadrat = 133.508, df = 3, $p < .05$), to ukazuje da ovaj regresioni model statistički značajno objašnjava uticaj vrijednosti, IL-6, hs-CRP i IMT-a na ishod ergometrije, tj. da je ukupan efekat povećanih vrijednosti pomenutih parametara na ishod ergometrije kao zavisne varijable statistički značajan. Naš regresioni model ispravno klasifikuje ishod za 98,0% slučajeva

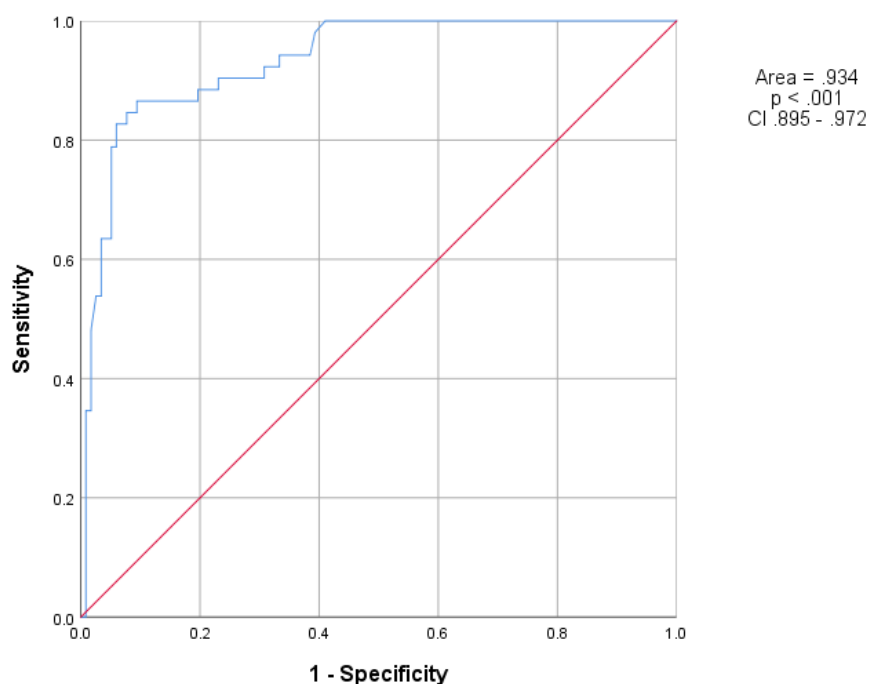
Tabela 15. Uticaj vrijednosti IMT, IL-6 i hs-CRP sa ishodima ergometrijskog testiranja

Variables in the Equation									
	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)		
							Lower	Upper	
Step 1 ^a	IL-6	4.174	4.155	1.010	1	.315	64.997	.019	223470.307
	hs-CRP	2.322	1.968	1.392	1	.238	10.196	.215	482.835
	IMT_mean	105.512	110.679	.909	1	.340	6.659E+45	.000	1.080E+140
	Constant	-124.810	128.122	.949	1	.330	.000		

a. Variable(s) entered on step 1: IL-6, hs-CRP, IMT_mean.

4.5.5. Senzitivnost i specifičnost vrijednosti IL-6 u predviđanju IBS

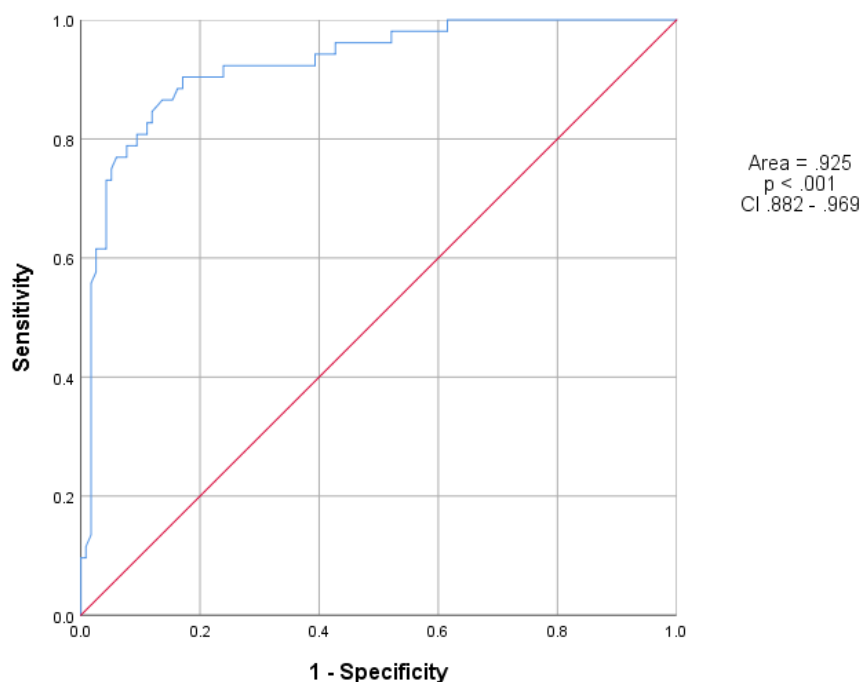
ROC analiza korištena je za testiranje prediktivne moći IL-6 u detekciji IBS dokazanu pozitivnim ergometrijskim testom. Korištenjem multivarijantnog modela logističke registracije koji se koristi u analizi ROC, klinička tačnost dijagnostičkog postupka bila je dobra; Područje ispod krivulje AUC od 0,925 (CI: 0,882 do 0,969). IL-6 ima osetljivost od 90,4% i specifičnost od 82,9%. (Slika 29).



Slika 29. ROC kriva prediktivna moći IL-6 u dokazivanju IBS

4.5.6. Senzitivnost i specifičnost vrijednosti hs-CRP-a u predviđanju IBS

ROC analiza je takođe korišćena u ispitivanju prediktivne moći hs-CRP u detekciji IBS dokazanu pozitivnim ergometrijskim testom. Korištenjem multivarijantnog modela logističke regresije korištenog u ROC analizi, klinička preciznost dijagnostičkog postupka bila je dobra. Područje ispod krivulje AUC od 0,934 (CI: 0,895 do 0,972). Hs-CRP ima osjetljivost od 88,5%, a specifičnost od 80% (Slika 30).



Slika 30. ROC kriva prediktivna moći hs-CRP u dokazivanju IBS

5. DISKUSIJA

Uzročno-posljedične veze pojedinih komponenti metaboličkog sindroma u DM tip 2 indukuju aterogenezu i nastanak aterotromboznih komplikacija. Ovi procesi obuhvataju endotelnu disfunkciju, oksidativni stres, hroničnu inflamaciju, hiperaktivnost i aktivaciju trombocita, kao i narušavanje ravnoteže procesa koagulacije i fibrinolize od najranijih faza razvoja. Istraživanje kompleksnih uzročno-posljedičnih veza omogućava primarnu prevenciju nastanka aterosklerotskih promjena (149). UKPDS studija koja je praćena do danas u kojoj su uključeni pacijenti sa novodijagnosticiranim DM tip 2 daje najjači dokaz da dobra kontrola glikemije smanjuje nastanak KVB (150). U ACCORD studiji nisu dokazana poboljšanja primarnih kardiovaskularnih ishoda postizanjem striktno glikemijske kontrole s ciljem snižavanja HbA1c ispod 6,5%, nego je čak izazvala zabrinutost zbog povećanja kardiovaskularnog rizika. Studija je završena prije vremena zbog neočekivanog povećanog mortaliteta od svih uzroka (prvenstveno kardiovaskularnih). Daljim analizama zaključeno je da kod oboljelih od KVB hipoglikemijske epizode mogu da pokrenu nastanak malignih aritmija. Takođe, više vrijednosti HbA1c su bile snažan prediktor mortaliteta, bez obzira na grupu tretmana. Došlo je do linearnog povećanja u riziku od mortaliteta sa povećanjem HbA1c preko raspona od 6% do 9% u grupi sa intenzivnim tretmanom (151).

Nemanifestna (asimptomatska) ishemija miokarda je posebna karakteristika koronarne bolesti kod oboljelih od dijabetesa, gdje je isto kao i kod simptomatskih stanja smanjen priliv kiseonika i gdje dolazi do neadekvatnog nakupljanja metaboličkih produkata usljed smanjene perfuzije srčanog mišića. Perfuzioni defekt je posljedica odmakle bolesti koronarnih arterija i visokog stepena opstruktivnih promjena u njima (152). Izostanak bola u toku ishemijskih epizoda miokarda, atipični i slabo izraženi simptomi akutnog infarkta miokarda odgađaju početak liječenja, što uzrokuje povećani morbiditet i mortalitet oboljelih. Autonomna disfunkcija na početku zahvata parasimpatikus i dovodi do neuravnoteženog simpatičkog tonusa i razvoja nijemih epizoda ishemije, povišenja frekvencije srca, produženja QT intervala i povećane incidencije koronarne bolesti kao i nijemih infarkta miokarda (153). Zbog svega navedenog koronarna arterijska bolest kod pacijenata sa dijabetesom predstavlja dijagnostički i terapijski izazov. Test opterećenja je najviše korišten i prihvaćen za procjenu funkcionalnog kapaciteta bolesnika i za dijagnozu koronarne bolesti. Test se smatra pozitivnim za koronarnu bolest ukoliko dođe do pada krvnog pritiska za više od 15 mmHg, pojave ventrikularne tahiaritmije ili pojave nishodne depresije ST segmenta veće od 1mm, trajanja 0,08 sec. i u visokom je pozitivan kod onih

koji imaju promjene stabla lijeve koronarne arterije i višesudovnu bolest. S druge strane normalan test opterećenja je dobar prognostički znak uprkos njegovoj niskoj osjetljivosti u otkrivanju jednosudovne srčane bolesti. Stres ehokardiografija se primjenjuje u mnogim slučajevima gdje je primjena testa opterećenja na tredmilu (*treadmill*) ili ergobiciklu kontraindikovana ili neizvodljiva (154). Ujedno kod bolesnika sa dijabetesom postoje teži opšti cirkulatorni poremećaji. Oštećenje cirkulacije se ogleda u nesposobnosti perifernih krvnih sudova da se dilatiraju i prilagode protok opterećenju (posljedica i autonomne neuropatije), što smanjuje maksimalni mišićni protok, remeti metabolizam i znatno doprinosi smanjenju tolerancije na napor, koronarnoj insuficijenciji i pojavi klaudikacija. Kod osoba sa DM tipa 2 postoji značajno manji stepen maksimalnog preuzimanja kiseonika u odnosu na nedijabetičare, pri čemu je dijastolna disfunkcija od najvećeg značaja (155). Najpoznatija studija koja je pratila incidenciju nemanifestnih ishemija u odnosu na starost, pol i faktore rizika je *Framingamska studija*. Ova studija je pokazala da incidencija nemanifestnih ishemija raste s godinama naročito važi za muški pol. Kod oboljelih od dijabetesa, pridružena hipertenzija kao nezavisan faktor rizika za razvoj hroničnih vaskularnih komplikacija igra značajnu ulogu u nastajanju nijemih ishemija (156). Prospektivne studije su potvrdile da je DM tipa 2 snažan faktor rizika za pojavu koronarne bolesti i da ima značajne efekte na endotel koronarnih arterija, aorte i perifernih arterija. Rezultati dvije velike kliničke studije, Framinghamske studije i Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) pokazuju da DM tipa 2 udvostručuje vjerovatnost kardiovaskularnih bolesti kod muškaraca i utrostručuje rizik kod žena. Dijabetes je nezavisan faktor rizika za kardiovaskularne bolesti i nakon prilagođavanja za dob, arterijsku hipertenziju, pušenje, hiperholesterolemiju i hipertrofiju lijeve komore (157). Studija East/West je pokazala da osobe oboljele od DM tipa 2 imaju povećan kardiovaskularni rizik te da osobe oboljele od DM tipa 2 bez prethodnog infarkta miokarda imaju isti rizik za nastanak infarkta miokarda kao i nedijabetičari sa prethodnim infarktomiokarda. Relativni rizik od srčanog infarkta je 50% veći kod muškaraca, a 150% veći kod žena sa dijabetesom u odnosu na osobe bez DM. Iznenadna srčana smrt je 50% češća kod muškaraca, a 300% češća kod žena sa DM tipa 2 u odnosu na osobe bez dijabetesa. U starijoj populaciji očekuje se veći stepen morbiditeta uzrokovanog komplikacijama bolesti i godinama života koji donose dodatne rizike. Brojnim ranijim kliničkim studijama dokazano je da veći rizik od obolijevanja od dijabetesa tipa 2 imaju osobe starije od 45 godina, te je dob veća od 45 godina jedan od faktora rizika za obolijevanje od dijabetesa. Rizik od hroničnih komplikacija se povećava sa dužinom trajanja bolesti. Pošto DM tipa 2 može imati dug asimptomatski

period hiperglikemije, mnoge osobe sa DM tipa 2 imaju komplikacije u vrijeme dijagnoze (158) .

Rezultati našeg istraživanja su pokazali da postoje statistički značajne razlike u trajanju DM između dvije grupa ispitanika, tj. da je trajanje DM u grupi kod koje smo dokazali IBS bilo značajno duže ($10,6 \text{ godina} \pm 4,6$) u odnosu na trajanje DM u grupi ispitanika koji nisu imali IBS ($6,9 \text{ godina} \pm 3,4$). U grupi ispitanika sa IBS minimum trajanja DM je iznosio 3 godine, a maksimum 23 godine, sa medijanom od 10 godina. U drugoj grupi ispitanika bez IBS minimalno trajanje je bilo 2 godine, maksimalno 15 godina sa medijanom od 6 godina. Takođe, rezultati našeg istraživanja su pokazali da postoji pozitivna, statistički značajna korelacija između starosti i debljine IMT-a, hs-CRP i IL-6 . Rezultati našeg istraživanja pokazali su da je starost ispitanika udružena sa vrijednostima IL-6 i hs-CRP značajan prediktor za model predviđanja ishoda ergometrije. S druge strane, pol nije imao statistički značajan prediktorski uticaj na pojavu ishoda ergometrije kao pojedinačna varijabla. U našem istraživanju dokazano je da sarije osobe imaju veće šanse da imaju pozitivnu ergometriju. U uslovima kad su ostale prediktivne varijable konstantne, za svaku dodatnu godinu starosti pacijenta vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije raste za 1.23 puta. U uslovima kad su ostale prediktorske varijable konstantne sa povećanjem vrijednosti hs-CRP-a za jednu jedinicu, vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije veća je za 2.066 puta, odnosno sa povećanjem vrijednosti IL-6 za jedinicu mjere raste vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije za 1.886 puta.

Gojaznost predstavlja jedan od značajnih faktora rizika za razvoj ateroskleroze. Osobe koje imaju prekomjernu tjelesnu masu imaju za 20% kraći životni vijek od svojih vršnjaka sličnog zdravstvenog stanja, ali normalne tjelesne mase. Gojaznost je i dokazani faktor rizika za DM tipa 2 povećavajući insulinsku rezistenciju i smanjujući osjetljivost tkiva na insulin, a takođe je dokazano da dijabetes tipa 2 pogoršava aterosklerozu (159). U našoj studiji svi ispitanici su imali prekomjernu tjelesnu težinu i bili su predgojazni. Nije uočena statistički značajna razlika u medijanama BMI između ispitanika sa pozitivnom i negativnom ergometrijom, što možemo da objasnimo time da u našoj studiji svi ispitanici su bili predgojazni.

Dislipidemija je jedan od najznačajnijih faktora rizika za aterosklerotsku kardiovaskularnu bolest te je zbog toga ispitivana u studijama sa populacijom ispitanika sa i bez dijabetesa melitusa (160). Rizik od KVB kod pacijenata oboljelih od DM tip 2 je veći kod bilo kojeg nivoa serumskog holesterola, kao i njegova povezanost sa

hipertrigliceridemijom nego u opštoj populaciji (161). Postoje jaki i ubjedljivi dokazi da terapija snižavanja holesterola značajno smanjuje rizik od nastanka KVB kod pacijenata sa i bez dijabetesa (162). Takođe je moguće da je svaka kardiovaskularna korist koja se može dobiti iz intenzivnog snižavanja glukoze povezana i sa efektima na metabolizam lipoproteina, a ne samo direktno kroz izmenjenu glikemiju (163). Dislipidemija kod oboljelih od DM tipa 2 karakterišu visoki nivoi triglicerida i smanjenje HDL-a i navedene promjene su zabilježene mnogo ranije od početka klinički značajne hiperglikemije (164). Nedavni dokazi ukazuju da je nizak HDL holesterol nezavisan faktor ne samo za kardiovaskularne bolesti, već i za razvoj samog dijabetesa. Ove promjene, kao i prisustvo malih gustih LDL čestica, vjerovatno doprinose ubrzanju ateroskleroze čak i prije formalne dijagnoze dijabetesa.

Rezultati našeg istraživanja pokazali su da postoji pozitivna i statistički značajna korelacija između vrijednosti holesterola i IL-6, hs-CRP i debljine IMT-a. Povišeni serumski trigliceridi najavljuju razvoj DM tipa 2, posebno kada je povezan sa drugim osobinama metaboličkog sindroma, dok pri postavljanju dijagnoze DM tip 2, oni nastavljaju da predviđaju rizik od KVB, često nezavisno od drugih faktora rizika. Serumski trigliceridi su važan faktor rizika za razvoj aterosklerotskih promjena krvnih sudova te mogu biti bolji predznak IBS nego povišene vrijednosti LDL holesterola (165). Dokazana povezanost smanjene koncentracije lipoproteina velike gustine sa povećanom učestalošću ateroskleroze i njenih kliničkih manifestacija koronarne bolesti, infarkta miokarda, moždanog udara i obliteracije perifernih arterija. Važan prediktivni značaj za buduće kardiovaskularne događaje, naročito kod oboljelih od dijabetesa, ima zastupljenost malih i gustih LDL čestica, kao i odnos ukupnog i HDL holesterola. (166). Meta-analiza od 18.686 osoba sa dijabetesom iz 14 randomiziranih studija (1466 sa tipom 1 i 17.220 sa tipom 2) pokazala je smanjenje od 9% u ukupnom mortalitetu na svakih 1 mmol / L smanjenja LDL holesterola (167). Navedene činjenice su potvrđene i u našem istraživanju, gdje je zastupljenost ispitanika sa ciljnim vrijednostima ukupnog holesterola, LDL holesterola i triglicerida statistički bila značajno manja kod ispitanika sa IBS u odnosu na ispitanike bez IBS. HDL holesterol u ciljanim vrijednostima je imalo više ispitanika sa negativnom ergometrijom (bez IBS) u odnosu na ispitanike sa IBS, međutim te razlike nisu bile statistički značajne.

Kod osoba oboljelih od DM tip 2 prevalenca arterijske hipertenzije je dva puta veća nego kod opšte populacije i znatno povećava rizik od kardiovaskularnih oboljenja. Hipertenzija je važan faktor rizika za razvoj ateroskleroze gdje povišene vrijednosti angiotenzina II dovode osim vazokonstrikcije i do proliferacije glatkih mišićnih ćelija (168).

Poznato je i dejstvo angiotenzina II na specifične AT1 receptore prisutne na membrani makrofaga, što aktivira ćelijsku lipooksigenazu koja je direktno odgovorna za oksidativnu transformaciju LDL-a i produkciju oksidativnih oblika LDL-a te i na taj način djeluje aterogeno te se i kroz ovaj mehanizam pokazuje važnost hipertenzije u razvoju aterosklerotskog procesa (169). Značaj hipertenzije kao faktora aterogenosti naročito kod osoba oboljelih od DM tipa 2 i povezanosti sa IBS potvrđena je i u našoj studiji, gdje je nađena statistički značajno veća zastupljenost IBS kod osoba sa povišenim krvnim pritiskom u odnosu na osobe sa krvnim pritiskom u referentnim vrijednostima.

Pušenje je takođe veoma važan uzrok povećane učestalosti ateroskleroze i IBS. Kod muškaraca pušača, starosti 40 godina, IBS se javlja pet puta češće nego kod nepušača, a nastanak infarkta i iznenadne smrti je tri puta češći. Patofiziološki mehanizam kojim se objašnjava uticaj pušenja na razvoj ateroskleroze još nije dovoljno rasvijetljen. Poznato je da pušenje djeluje sinergistički sa ostalim klasičnim faktorima rizika za kardiovaskularne bolesti, u razvoju aterosklerotske bolesti. Postoje, međutim, studije u kojima se dokazuje da pušenje cigareta predstavlja nezavisan faktor rizika za nastanak ateroskleroze. Rizik od koronarne ateroskleroze srazmjeran je broju popušenih cigareta u toku dana. Prestankom pušenja kod pacijenata sa kardiovaskularnim oboljenjima rizik u naredne tri godine pada na nivo nepušača koji imaju kardiovaskularno oboljenje, a kod asimptomatskih bolesnika potrebno je oko 10 godina da se dosegne nivo rizika nepušača (170).

U našem ispitivanju najveći i statistički značajan procenat pušača se nalazio u grupi ispitanika kojima smo dokazali nijemu ishemiju u odnosu na grupu bez IBS i kontrolne grupe. Rezultati našeg istraživanja takođe su pokazali da postoji pozitivna, statistički značajna korelacija između pušenja i debljine IMT-a, vrijednosti hs-CRP i vrijednosti IL-6.

O značaju striktne kontrole glikemije kao jednom od najznačajnijih faktora za smanjenje i odgađanje hroničnih komplikacija dokazano je u više velikih studija. Jedna od najvećih studija je UKPDS studija, rađena u Velikoj Britaniji u kojoj su pacijenti praćeni preko trideset godina. Rezultati ove studije pokazali su da striktna kontrola glikemije dovodi do redukcije mikrovaskulanog, a u manjoj mjeri makrovaskularnog rizika. Takođe i EPIC-Norfolk studija je našla povezanost između opšte smrtnosti i regulacije glikemije cijenjene vrijednostima HbA1c, gdje je zabilježeno da postprandijalna glikemija ima veći uticaj na HbA1c i kardiovaskularnu smrtnost. Kod naših ispitanika prosječna vrijednost HbA1c je bila statistički značajno veća kod onih kod kojih je dokazana IBS u odnosu na ispitanike bez dokazane IBS, odnosno ispitanici sa lošijom glikoregulacijom (evaluirano sa HbA1C i dnevnim glikemijskim profilima) imali su češće IBS. U razvijenim zemljama zapada velika

se pažnja posvećuje prevenciji i liječenju kardiovaskularnih oboljenja. Rezultati NHANES studije (National Health and Nutrition Examination Study) u SAD pokazuju da je smrtnost osoba bez dijabetesa opala tri puta više nego kod osoba sa DM tipa 2, što ukazuje na nedovoljnu efikasnost primijenjenih preventivno- terapijskih mjera, posebno kod žena oboljelih od DM tipa 2 (171). Povećanja debljine IMT karotidnih arterija i rizik od razvoja kardiovaskularnih događaja cijenjen je u velikim studijama s dugoročnim praćenjem kod bolesnika koji imaju verifikovano kardiovaskularno oboljenje i pojedinaca bez poznate istorije u vezi sa kardiovaskularnim događajima. Zaključeno je da je povećanje debljine IMT karotidnih arterija kod pojedinaca bez istorije kardiovaskularnih oboljenja povezano sa povećanim rizikom od kardiovaskularnih događaja u tim populacijama. U studiji Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) praćeno je 7.289 žena i 5.552 muškarca starosti od 45 do 70 godina bez istorije koronarne bolesti. Period praćenja je bio 4-7 godina. Oni s najvišim vrijednostima debljine IMT karotidnih arterija imali su povećan rizik (prilagođen za dob i pol) od infarkta miokarda ili moždanog udara u poređenju s onima koji su imali niže vrijednosti. Zadebljanje IMT karotidnih arterija bio jak prediktor kardiovaskularnih događaja kao i tradicionalni faktori rizika. Čak i nakon usklađivanja tradicionalnih faktora rizika povećana debljina IMT bila je povezana sa kardiovaskularnim događajima (172).

Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study je studija kod koje je opisano da je rizik od infarkta miokarda povećan za 11% sa svakim povećanjem 0,1-mm IMT karotidne arterije (173). Rotterdam Studija je jednocentrična, prospektivna, follow-up studija o bolesti i invaliditetu kod starijih osoba kod 7.983 ispitanika u dobi od ≥ 55 godina koji su živjeli u predgrađu Rotterdama Ommoordu, Holandija. Rezultati ove studije pokazuju da je povećanje IMT zajedničke karotidne arterije povezana s budućim cerebrovaskularnih i kardiovaskularnim događajima kod starijih osoba nezavisno od pola i istorije infarkta miokarda ili moždanog udara (174).

Ovome u prilog govore i rezultati našeg istraživanja gdje je kod ispitanika kojima smo ergometrijskim testiranjem dokazali IBS medijana IMT zajedničkih karotidnih arterija bila statistički značajno veća nego kod ispitanika bez dokazane IBS . Rezultati našeg istraživanja su pokazali da najbolji prediktor pojave pozitivne ergometrije tj IBS jeste povećana vrijednost IMT-a, zatim slijede IL-6 i na kraju hs.-CRP, znači da sa porastom njihove vrijednosti raste i mogućnost pojave IBS.

Irie i saradnici su radili studiju u kojoj su procjenjivali 251 pacijenta sa DM tipa 2 bez simptoma i znakova IBS kojima su mjerili IMT karotidnih arterija. Na osnovu dobijenih

rezultata zaključili su da sa povećanjem debljine IMT raste i rizik od nastanka kardiovaskularnih oboljenja te da bi se dodavanje mjerenja IMT karotidnih arterija, tradicionalnim faktorima rizika, poboljšala stratifikacija rizika za kardiovaskularna oboljenja (175).

Studije koje su se bavile uticajem preventivnih intervencija na IMT zajedničke karotidne arterije dokazale su da promjene u načinu života, kao što su prestanak pušenja, redovno vježbanje, zdrava ishrana i gubitak tjelesne težine predstavljaju početne i najvažnije korake u zaustavljanju napretka aterosklerotskog procesa.

Pored toga što je CRP otkriven u intimi aterosklerotske lezije, pronađen je i u makrofagima aterosklerotskog plaka. Preko CRPmRNA je dokazana produkcija CRP od strane makrofaga. Važno je otkriće da po izlaganju makrofaga hiperglikemiji dolazi do pojačane ekspresije CRPmRNA u makrofagima koji potiču iz same aterosklerotske lezije (176). U odnosu na bolesnike bez dijabetesa, kod bolesnika sa dijabetesom je pronađena povećana koncentracija CRP-a u plaku karotidne arterije nakon endarektomije za čak 62% više ($p = 0,05$) nego u plaku bolesnika bez dijabetesa. Autori zaključuju da kod bolesnika sa dijabetesom postoji pojačana produkcija CRP-a u karotidnom plaku i makrofagima (177).

Rezultati naših istraživanja pokazali su da je vrijednost IMT-a u grupi ispitanika koja ima pozitivnu ergometriju statistički značajno veća u odnosu na vrijednost istog parametra kod ispitanika sa negativnom ergometrijom. Prateći odnos vrijednosti IL6 i hs-CRP-a dobili smo rezultate koji pokazuju da su vrijednosti IL-6 i hs-CRP-a u grupi pacijenata sa IMT koji imaju subkliničku aterosklozu (veće od 0,9 mm) statistički značajno veće u odnosu na ispitanike sa IMT u referentnom opsegu. Primjenom modela logističke regresije rezultati našeg istraživanja pokazali su da sa povećanjem vrijednosti IL-6 i hs-CRP raste i debljina IMT-a. Pacijenti sa većim vrijednostima hs-CRP imaju 1.466 puta značajno veću mogućnost da imaju debljinu IMT u aterosklerotskom opsegu, a pacijenti sa IL-6 imaju 1.716 veću mogućnost da imaju debljinu IMT koji definišu aterosklozu, od onih sa manjim vrijednostima upalnih parametara.

Istraživanja koja su proveli Ishikawa i saradnici izvijestili su da hs-CRP potiče disfunkciju endotela i progresiju aterosklerotskih lezija u ranim fazama, kao i da ima važnu ulogu u destabilizaciji plaka i trombotičnih komplikacija. Značajni epidemiološki studije dokazale su povezanost hs-CRP sa povećanim rizikom od nastanka KVB događaja (178). Povećanje debljine IMT karotidnih arterija od 0,34 mm godišnje može dovesti do kardiovaskularnog događaja (179). Predviđanje rizika od nastanka kardiovaskularnih događaja i progresije ateroskleroze te povezanost upalnih agenasa u njenoj progresiji sve

više je u fokusu istraživanja. Postoje brojne studije koje su ispitale povezanost IL-6 sa CVD (180). Šestogodišnja studija praćenja zdravih muškaraca srednjih godina je pokazala da su početni nivoi IL-6 koji su veći od 2,28 pg/ml, povezani sa 2,3 puta većim rizikom od budućeg infarkta miokarda, zbog čega je i IL-6 identifikovan kao značajan prediktor rizika od pojave kardiovaskularnih događaja (181).

U šestogodišnjem praćenju ispitivanja naizgled zdravih muškaraca povišene vrijednosti IL-6 bile su povezane sa povećanim rizikom od budućeg infarkta miokarda čak i nakon prilagođavanja u početnim razlikama ukupnog holesterola, HDL-holesterola, BMI, krvnog pritiska, dijabetes melitusa, porodičnoj anamnezi, konzumiranja alkohola i primjeni fizičke aktivnosti.

Na osnovu iznesenih dokaza možemo da zaključimo da su upalni procesi značajno uključeni u proces nastanka ateroskleroze i da postoji značajna povezanost između debljine IMT karotidnih arterija i IL-6 kod ispitanika sa KVB kao i kod ispitanika bez istorije KVB, što su pokazali i rezultati našeg istraživanja, gdje smo dokazali da postoji jaka i pozitivna, statistički značajna korelacija hs-CRP i IMT-a, kao i između vrijednosti IL-6 i IMT-a.

Prospektivne opservacijske studije dokazale su da je i pojava mikroalbuminurije udružena s porastom kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta. Velika pažnja posvećena je ulozi mikroalbuminurije, kao pokazatelja kardiovaskularnog rizika, pogotovo kod bolesnika sa DM tipa 2 i hipertenzijom. Procjenjuje se da je rizik od kardiovaskularnih oboljenja i smrtnosti oko 1,8 puta veći kod osoba sa DM tipa 2 i mikroalbuminurijom u odnosu na one sa normoalbuminurijom.

Patofiziološki procesi povezanosti mikroalbuminurije i kardiovaskularnih oboljenja su nejasni. Mikroalbuminurija bi mogla biti uzrok ili posljedica vaskularne bolesti. U Steno hipotezi koju je iznio Deckert i saradnici, propuštanja albumina u urin je odraz rasprostranjenog oštećenja krvnih sudova (182). Druge studije ukazuju na oštećenje endotelne funkcije i hroničnu upalu kao moguće kandidate povezanosti mikroalbuminurije i kardiovaskularnih bolesti. Međutim, postoje mnoge nedosljednosti u literaturi. Istina je da upala niskog stepena može biti i uzrok i posljedica endotelne disfunkcije, a neke studije koriste markere upale, kao što su C-reaktivni protein, IL-6 i TNF- α , koji pokazuju da je upala niskog stepena povezana sa pojavom i progresijom mikroalbuminurije te povećanim rizikom za aterosklerotske oboljenja (183). Druge studije pokazuju da su mikroalbuminurija, disfunkcija endotela i upala niskog stepena povezani, svaki posebno i nezavisno sa povećanim rizikom od kardiovaskularnih oboljenja. Korelacija između mikroalbuminurije i povećane stope mortaliteta proučavana je u studijama koje sa bave visokorizičnim

pacijentima (184). Zabilježeno je da je smrtnost među pacijentima bez mikroalbuminurije bila 9,4%, dok je kod pacijenata kod kojih je bila prisutna mikroalbuminurija smrtnost bila 18,2%. U prospektivnom istraživanju u koje su uključeni pojedinci u dobi od 50 do 75 godina, mikroalbuminurija je bila povezana s povećanim rizikom od kardiovaskularne smrti nakon prilagođavanja sa drugim faktorima rizika (185). PREVEND studija (Prevention of Renal and Vascular Endstage Disease) obuhvatala je ispitanike iz mjesta Groningen, Holandija, starosne dobi od 28 do 75 god, ukupno 40,548 učesnika. Svi ispitanici ispunjavali su upitnik i davali jedan jutarnji uzorak urina za mjerenje mikroalbuminurije. U navedenom ispitivanju dokazana je pozitivna korelacija između mikroalbuminurije i kardiovaskularnih uzroka smrti, ali i pozitivna korelacija mikroalbuminurije sa nekardiovaskularnim uzrokom smrti ispitanika (186).

Strong Heart Study pokazala je značajnu povezanost između mikroalbuminurije i ehokardiografskih parametara sistolne i dijasolne disfunkcije lijeve komore u grupi od 1.576 Indijanaca sa DM tip 2 (187). Takođe i rezultati studije u kojoj su učestvovala 64 asimptomatska pacijenta sa dijabetesom pokazala su veću učestalost ishemije miokarda dokazane stres ehokardiografijom i elektrokardiografijom u prisutnosti mikroalbuminurije u odnosu na pacijente sa normoalbuminurijom (188). Slične rezultate smo dobili u našoj studiji, gdje su svi ispitanici kontrolne grupe imali nalaz albuminurije u referentnom opsegu, u grupi ispitanika oboljelih od DM tip 2 bez dokazanog kardiovaskularnog oboljenja nalaz albuminurije u referentnom opsegu je imalo 82% ispitanika, dok u grupi ispitanika sa nijemom ishemijom miokarda 90% ispitanika je imalo mikroalbuminuriju. Ove razlike u distribuciji frekvencija su statistički značajne.

Povišene vrijednosti inflamatornih markera udružene su sa progresijom koronarne bolesti i dijabetesa u prospektivnim populacionim studijama (189). Inflamacija je rana promjena u razvoju metaboličkog sindroma koja je prisutna u ranom stadiju ateroskleroze i koja perzistira te je prisutna i prije kliničke prezentacije dijabetesa i KVB. Oboljeli od DM tip 2 imaju veću predispoziciju za razvoj agresivnije forme vaskularne bolesti sa difuznom koronarnom aterosklerozom sa značajno većom incidencom srčane slabosti, infarkta miokarda i srčane smrti u poređenju sa bolesnicima bez dijabetesa (190).

Nedavna istraživanja izvijestila su o značaju inflamacije u razvoju i progresiji ateroskleroze kao i mogućnosti da se inflamatorni markeri koriste za procjenu kardiovaskularnog rizika. Među nekoliko biomarkera koji su predloženi u stratifikaciji kardiovaskularnog rizika je i CRP, koji bi se koristio kod identifikaciji osoba koji imaju rizik od razvoja KVB, ali to još nije preporučeno u smjernicama (191,192,193). U RISC studiji

na zdravim ispitanicima nađena je povezanost inflamacije niskog stepena sa insulinskom rezistencijom, ali i drugim faktorima rizika za nastanak ateroskleroze, nezavisno od insulinske rezistencije (194).

U prospektivnoj kohortnoj studiji koju su radili Hisayama i saradnici kod japanske populacije koja je trajala 14 godina i koja je pratila 2.589 učesnika, zaključeno je da godišnja stopa incidencije KVB progresivno raste sa povećanjem nivoa CRP. Rizik od KVB u najvišoj kvartilnoj grupi bio je 2,98 puta veći od rizika u najnižem kvartilu (195). Rezultati ispitivanja John Vu-a i saradnika pokazuju da su povećani nivoi CRP povezani sa većom vjerovatnoćom postojanja periferne arterijske bolesti kod pacijenata sa metaboličkim sindromom, čak i u odsustvu ispoljenog dijabetesa Malik i saradnici navode da pacijenti sa metaboličkim sindromom koji imaju povećane nivoe CRP imaju veći rizik za kardiovaskularne događaje, slično kao i pacijenti sa dijabetesom i normalnim nivoima CRP (196). U nedavnim istraživanjima takođe je dokazano da se vrijednosti CRP u DM tip 2 smanjuju sa postizanjem dobre glikemijske kontrole (197).

U studiji koja je rađene kod 8.139 asimptomatskih pacijenata (PREVEND) uočena je veza između CRP-a i angiografskih karakteristika i posljedično kliničke nestabilnost ateroskleroze plaka dok su rezultati PRINCE studije pokazali da kod asimptomatskih pacijenata, bez prethodne istorije KVB pravastatin smanjuje nivo CRP nezavisno od nivoa holesterola (198, 199). U skladu sa smjernicama za primarnu prevenciju kardiovaskularnih bolesti CRP još nije ušao u smjernice i preporuke za primjenu u opštoj populaciji za procjenu kardiovaskularnog rizika, međutim može se koristiti za stratifikaciju kardiovaskularnog rizika odrasle osobe sa srednjim rizikom od koronarne bolesti i pomoći u odluci o upotrebi statina u primarnoj prevenciji (200, 201). Pošto je upalni proces sastavni dio evolucije ateroskleroze, upotreba CRP kao biomarkera postaje veoma korisna u kombinaciji sa kontrolom klasičnih faktora rizika, kao što su nivoi lipida, promjena navika u ishrani, gubitak tjelesne težine, redovna fizička aktivnost, kontrola nivoa glikemije i prestanak pušenja. Međusobno povezivanje ovih faktora rizika za nastanak KVB su strategije za smanjenje kardiovaskularnih događaja u primarnoj i sekundarna prevencija (202). Studija Rio de Janeiro Type 2 Diabetes Study (RIO-T2D) je pokazala da početno povišene vrijednosti, kao i konstantno povišeni nivoi CRP-a tokom dvogodišnjeg praćenja stoje udruženi sa 80% povećanja rizika od velikih kardiovaskularnih događaja, nezavisno od konvencionalnih faktora rizika. Autori navode i da kontrolisana fizička aktivnost, striktna metabolička kontrola i farmakološke intervencije (statin, aspirin i tiazolidinedioni) mogu sniziti

koncentraciju CRP-a kod bolesnika sa dijabetesom. Međutim, nije dokazano da li su korisni efekti posredovani djelimično i sniženjem koncentracije CRP-a (203).

I pored svih ovih dokaza da bi CRP mogao da se primjenjuje u rutinskoj kliničkoj praksi bilo je neophodno dokazati njegov značaj u smanjivanju rizika.

Rezultati REVERSAL studije (*Reversing Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering*), pokazali su da regresija ateroskleroze terapijom statinima, praćena intravaskularnim ultrazvukom, je verifikovana samo kod osoba kod kojih je postignuto sniženje i CRP-a i LDL holesterola (204). Zahvaljujući velikom broju postojećih dokaza, primjena CRP-a u kliničkoj praksi definisana je od strane nekoliko organizacija. Prve kliničke preporuke za upotrebu CRP-a kao dodatak globalnoj procjeni rizika definisali su Američka asocijacija za srce (*American Heart Association, AHA*) i Centar za kontrolu bolesti i prevenciju (*Centers for Disease Control and Prevention, CDC*) 2003. godine. Na osnovu AHA/CDC preporuka, CRP kao nezavisan marker rizika može da se koristi kod osoba sa intermedijernim rizikom na osnovu globalne procjene rizika (10-godišnji rizik od pojave KBS između 10% i 20%), kao pomoć u daljoj evaluaciji stanja pacijenta i izboru terapije u primarnoj prevenciji. Koncentracije CRP-a <1 mg/l, 1-3 mg/l i >3 mg/l se interpretiraju kao nizak, umjeren i visok rizik od pojave KVB (205). Ove preporuke su sadržane i u NACB LMPG preporukama za upotrebu novih laboratorijskih biomarkera kardiovaskularnog rizika u primarnoj prevenciji, s tim što je ovdje uvedena i dodatna kategorija veoma visokog rizika za koncentracije CRP >10 mg/L. Poslije objavljivanja rezultata JUPITER studije, Fondacija američkog koledža kardiologa (*American College of Cardiology Foundation, ACCF*) i AHA, u svojim preporukama za procjenu kardiovaskularnog rizika kod asimptomatskih odraslih osoba iz 2010. godine, definiše da određivanje CRP-a kod muškaraca starih ≥ 50 ili žena ≥ 60 godina sa koncentracijama LDL holesterola $<2,59$ mmol/L; koji ne primaju hormonsku supstitucionu ili imunosupresivnu terapiju; bez klinički manifestovane KBS, dijabetesa, hronične bolesti bubrega, teških inflamatornih stanja ili kontraindikacija za terapiju statinima, može biti korisno u izboru pacijenata za terapiju statinima. Takođe, određivanje se preporučuje i kod asimptomatskih muškaraca ≤ 50 ili žena ≤ 60 godina sa procijenjenim intermedijernim rizikom (206). Rezultati Whitehall britanske populacione studije pokazali su da se srednja vrijednost - CRP statistički značajno razlikovala između ispitanika sa dijabetesom i onih bez (207).

U Studiji praćenja trendova i determinant kardiovaskularne bolesti (Monica)/KORA (The Monitoring of trends and determinants in Cardiovascular Disease (MONICA)/KORA (Cooperative Health Research in the Region of Augsburg) Study, Koenig i saradnici su

istraživali hsCRP kao prediktor smrti kod 3.620 u početku zdravih muškaraca (starosti 45-74 godina), tokom 7,1-godišnjeg perioda. Nakon prilagođavanja za starost, pušenje, hipertenziju, hiperlipidemije, dijabetes, gojaznost i socioekonomsko stanje, oni s početnim koncentracijama hs-CRP > 3 mg/L imali su dva puta povećan rizik od ukupne smrtnosti i rizik je bio najistaknutiji za kardiovaskularnu smrtnost (208). Rezultati istraživanja Marsika i saradnika pokazali su da bolesnici (n = 274 515, prosečna starost 51 godina), sa koncentracijom CRP > 5 mg/L u trenutku prijema u bolnicu imaju 50% do 330% povećanje rizika od smrti od bilo kojeg uzroka. Visok CRP je bio prediktivniji za kratkoročnu smrtnost (30 dana) nego za srednju (> 30 dana i <1 godine) i dugoročnu smrtnost (> 1 godine), a porastao je u veličini kod koncentracije CRP > 10 mg/L (209).

Shodno vrijednostima CRP-a ispitanici mogu da se klasifikuju u tri rizične grupe: niskorizična grupa sa vrijednostima CRP do 1 mg/L; grupa sa umjerenim rizikom gdje su vrijednosti CRP od 1 do 3mg/L; i visokorizična grupa sa vrijednostima CRP preko 3 mg/L(210). Klasifikacija na mali, umjereni ili visoki kardiovaskularni rizik u zavisnosti od vrijednosti CRP-a je jednostavna i korisna za primarnu praksu (211). Rezultati PEACE studije kod osoba koje su imale stabilnu koronarnu bolest pokazali su da je da vrijednosti CRP iznad 1 mg/L povećava rizik od smrtnosti od akutnog infarkta miokarda (212). Tome u prilog govore i rezultati našeg istraživanja koji su pokazali da je distribucija vrijednosti hs-CRP statistički značajno veća kod ispitanika sa DM tip 2 kojima je dokazana IBS u odnosu na ispitanike sa DM tip 2 bez IBS . Vjerovatnoća pozitivne ergometrije se povećava kod ispitanika koji imaju veće vrijednosti hs-CRP, odnosno sa povećanjem vrijednosti hs-CRP kao prediktora povećava se i vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije. Na taj način može se ostvariti parcijalni doprinos hs-CRP kao statistički značajnog prediktora za model predviđanja ishoda ergometrije.

Proinflamatorni citokini mogu biti uključeni u destabilizaciju aterosklerotskog plaka u koronarnim arterijama. Prisustvo upalnog procesa može da destabilizuje plak i izazove njegovu rupturu ili eroziju, a dokazano je da proupalni citokini regulišu ekspresiju metalproteinaza matriksa koji su uključeni u vaskularno remodelirane plaka i njegovu disrupciju (213). Meta-analiza populacionih studija pokazala je da je dugoročno povišenje nivoa IL-6 udvostručuje rizik za nastanak kardiovaskularnih oboljenja (214). Ove studije, između ostalih, pokazuju povezanost između hronične upale niskog stepena i kardiovaskularnih oboljenja (215, 216). Mnogi polimorfizmi u regiji promotora IL6, kao i polimorfizmi u lokusu IL6R gena koji postoje u populaciji povezani su s upalom i povećanim rizikom od KVB (217). Povišeni nivoi IL6 u serumu kod pacijenata mogu imati prediktivnu

ulogu za nastanak KVB, čime se obezbeđuje potencijalno prognostičko sredstvo u različitim srčanim bolestima, kao što su srčana insuficijencija, infarkt miokarda (MI) i angina (218). Rezultati istraživanja Biasuccia i saradnika pokazali su da pacijenti sa nestabilnom anginom imaju viši nivo IL-6 u odnosu na ispitanika bez komplikacije (219). U dvije studije praćena je korelacija IL-6 sa nastankom kardiovaskularnih oboljenja. U prvoj, Reykjavik studiji je praćeno 8.888 muškaraca i 9.681 žena u dobi od 33 do 86 godina bez istorije infarkta miokarda. Svi učesnici su praćeni prospektivno i utvrđivala se smrtnost uzrokovanu kardiovaskularnim bolestima. U drugoj, BRHS studiji je bilo uključeno 7.735 muškaraca u dobi od 40 do 59 godina (220). Rezultati istraživanja u obje studije pokazali su da je nivo IL-6 bio značajno veći kod onih sa KVB nego u kontrolnoj grupi. Takođe, u obje studije utvrđeni su i kardiovaskularni faktori rizika te su korelirani sa vrijednostima IL-6. Osnovni nivoi IL-6 su bili pozitivno i visoko značajno povezani sa starošću, pušenjem, sistolnim krvnim pritiskom i koncentracijom triglicerida, glukoze natašte i nekoliko inflamatornih markera (uključujući CRP). Povećanje nivoa IL-6 je povezano sa progresivno povećanom vjerovatnoćom za nastanak KVB, tj. postoje kontinuirani, približno log-linearni odnosi. Ustanovljena je i umjerena povezanost nivoa IL-6 sa nekim ustanovljenim KV faktorima rizika (naročito pušenje, dijabetes i dislipidemija) i sa ključnom ulogom IL-6 u posredovanju kod upalnih kaskada. Pokazujući da putevi posredovani dugotrajnim IL-6 nivoi su povezani sa rizikom od KVB otprilike jednako kao i neki osnovni faktori rizika za nastanak KVB. Dakle, s obzirom na centralnu ulogu nivoa IL-6 u upalnim putevima i njegovoj kontinuiranoj povezanosti sa rizikom od nastanka KVB, opravdana su dalja istraživanja kao i istraživanja potencijalnih terapijskih ciljeva. Hronična upala niskog stepena koja se javlja kod gojaznosti i koja podrazumijeva dva do tri puta povećanje sistemskog nivoa citokina, uključujući IL-6, predstavlja faktor rizika za kasniji razvoj insulinske rezistencije i DM tip 2 (221).

DM tip 2 odnosno hiperglikemija, dislipidemija i hronična upala zajedno izazivaju kardiovaskularne komplikacije, uključujući ateroskleroza, koronarnu arterijsku bolest, moždani udar i periferne arterijske bolesti, koje su glavne uzroci morbiditeta i mortaliteta u DM tip 2. IL-6 je identifikovan kao nezavisni predictor DM tip 2 i pridruženog kardiovaskularnog događaja (222). Adipociti i makrofagi koji žive u masnom tkivu su glavni izvori za povišenu koncentraciju IL-6 u plazmi kod pacijenata sa gojaznošću i DM tip 2 (223). Kada se razmatra veliki broj ranijih studija, uloga IL-6 u insulinskoj rezistenciji i dalje ostaje kontroverzna. Hepatociti, ćelije skeletnih mišića i adipociti, glavni tipovi ćelija uključeni u regulaciju periferne insulinske osjetljivosti i homeostaza glukoze, reaguju

različito na IL-6. Sposobnost IL-6 da smanji osjetljivost insulina u hepatocitima ometanje signalizacije insulinom je podržano snažnim eksperimentalnim dokazima, dok rezultati na adipocitima i ćelijama skeletnih mišića nisu uvijek dosljedni (224). Aterogeneza je injicirana endotelijalnom disfunkcijom i formiranju neointime nakon vaskularnog defekta i kasniji razvoj ateroskleroznog plaka (225). IL-6 djeluje na autokrini način preko transsignalizacije za ubrzavanje inflamatornih odgovora u glatkim mišićnim ćelijama tako što uključuje ekspresiju proteina akutne faze, njihovu migraciju i proliferaciju u indukciji ateroskleroze (226). Takođe, IL-6 potiče aktivaciju endotela indukcijom ekspresije hemoatraktantnih proteina i adhezionih molekula regrutuje imune ćelije u subintimalni prostor (227). IL-6 može imati direktne efekte povezane sa razvojem i progresijom ateroskleroze koji podrazumijeva stimulaciju i proliferaciju glatkih mišića krvnih sudova, aktivaciju endotelnih ćelija, kao i aktivaciju trombocita i proizvodnju fibrinogena koji promovišu agregaciju trombocita, dovode do formiranja ugrušaka i okluzije krvnih sudova (228, 229). Lefkou i saradnici dokazali su da djeca u dobi od 5 do 15 godina sa pozitivnom porodičnom istorijom preuranjene bolesti koronarnih arterija imaju značajno veći IL-6 u plazmi u poređenju sa kontrolnom grupom djece bez ove porodične anamneze (230). Fišman i saradnici u praćenju koje je trajalo 6 godina su utvrdili da su ispitanici koji su imali stabilnu bolest koronarnih arterija i viši nivo IL-6 imali lošiju prognozu u odnosu na ispitanike sa stabilnom bolesti koronarnih arterija koji su imali niži nivo IL-6. (231). U studiji koju su provodili Teherani i saradnici je takođe dokazana pozitivna korelacija IL-6 sa oboljenjem koronarnih arterija (232). Istraživanja su pokazala da je povišeni nivo IL-6 kod oboljelih od DM tip 2 nezavisan prediktor kardiovaskularnih događaja.

Rezultati našeg istraživanja pokazali su da je distribucija vrijednosti IL-6 statistički značajno veća kod oboljelih od DM tip 2 kojima smo dokazali IBS u odnosu na ispitanike bez IBS. U našoj studiji pratili smo vrijednosti IL-6 kao nezavisne varijable u predikciji ishoda ergometrijskog testiranja, te su rezultati našeg istraživanja pokazali da se mogućnost pozitivne ergometrije povećava kod ispitanika koji imaju veće vrijednosti IL-6, odnosno sa povećanjem vrijednosti IL-6 kao prediktora povećava se i vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije (tj IBS). Na taj način može se ostvariti parcijalni doprinos IL-6 kao statistički značajnog prediktora za model predviđanja ishoda ergometrije.

Na osnovu rezultata našeg istraživanja možemo da zaključimo sa povećanjem vrijednosti ovih nezavisnih varijabli IL-6 i hs-CRP (u ovom slučaju prediktora) povećava se vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije. Pacijenti sa većom vrijednošću IL-6 imaju 1.857 puta veću mogućnost da imaju pozitivnu ergometriju od onih sa manjim IL-6 (OR = 1.857).

Takođe, pacijenti sa većim vrijednostima hs-CRP imaju 1.740 puta značajno veću mogućnost da imaju pozitivnu ergometriju ($OR = 1.740$). Tačnije rečeno, u uslovima kad su ostale prediktorske varijable konstantne sa povećanjem vrijednosti hs-CRP-a za jednu jedinicu, vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije je veća za 1.740 puta, odnosno sa povećanjem vrijednosti IL-6 za jedinicu mjere vjerovatnoća pojave pozitivne ergometrije raste za 1.857 puta.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata izvedeni su sljedeći zaključci:

6. Kod oboljelih sa DMT2 asimptomatska IBS se češće javljala kod ispitanika sa:

6.1. Prisutnim tradicionalnim faktorima rizika

- Dužim trajanjem dijabetesa
- Nezadovoljavajućom glikoregulacijom
- Patološkim lipidnim statusom
- Mikroalbuminurijom
- Kod pušača

6.2. Povišenim vrijednostima faktora inflamacije

- hs-CRP
- IL-6

6.3. Povećanom debljinom IMT karotidnih arterija

6.4. Ispitanici sa povećanom debljinom IMT karotidnih arterija imaju:

- povišene vrijednosti IL-6
- povišene vrijednosti hs-CRP-a
- udruženi nalazom povišenih vrijednosti hs-CRP i IL-6

6.5 Sa porastom vrijednosti IL-6 i hs-CRP-a raste i mogućnost povećanja debljine IMT, surogata subkliničke ateroskleroze

- Najznačajniji prediktori za pojavu IBS su povećana debljina IMT, povišene vrijednosti hs-CRP i IL-6.
- Sa porastom njihove vrijednosti raste i vjerovatnoća postojanja IBS.

6.6. Postoji pozitivna, statistički značajna korelacija između:

- IL-6, hs-CRP i IMT
- Između debljine IMT-a, IL-6 i hs-CRP i tradicionalnih faktora rizika:
 - * Starošću
 - * Trajanjem dijabetesa
 - * Pušenjem
 - * Holesterolom

* Trigliceridima

6.7 Najbolji prediktor pojave asimptomatske IBS jeste povećana debljina IMT-a, zatim IL-6 i na kraju hs-CRP. Sa porastom njihove vrijednosti raste i mogućnost pojave asimptomatske IBS.

6.8 Udruženi nalaz povećanog nivoa IL-6, hs-CRP-a i povećane debljine IMT na zajedničkoj karotidnoj arteriji je značajan marker subkliničke ateroskeroze koji ukazuje na postojanje asimptomatske IBS kod osoba sa DM tip 2, bez prethodne istorije KVB.

S ciljem identifikovanja dodatnih faktora rizika kojima bi se poboljšala procjena rizika od prisustva IBS kod asimptomatskih pacijenata oboljelih od DM tip 2, a na osnovu prethodno iznesenih rezultata možemo zaključiti da su hs-CRP, IL-6 i debljina IMT karotidnih arterija markeri subkliničke ateroskleroze i važni prediktori IBS kod asimptomatskih pacijenata oboljelih od DM tip 2.

Određivanje IL-6, hs-CRP i debljine IMT karotidnih arterija u procjeni rizika na prisustvo IBS kod asimptomatskih pacijenata oboljelih od DM tip 2 ima veću prediktivnu vrijednost u odnosu na tradicionalne faktore rizika.

Njihovo određivanje u svakodnevnoj praksi bi značajno poboljšalo stratifikaciju kardiovaskularnog rizika i primarnu prevenciju IBS, te pravovremenu primjenu odgovarajućih terapijskih modaliteta, bilo da se radi o konzervativnom ili invazivnom liječenju.

7. LITERATURA

1. Beckman JA, Paneni F, Cosentino F, Creager MA. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part II. *Eur Heart J*. 2013; 34:2444-2452.
2. Gregg EW, Li Y, Wang J, Burrows NR, Ali MK, Rolka D, Williams DE, Geiss L. Changes in diabetes-related complications in the United States, 1990-2010. *N Engl J Med*. 2014; 370:1514-1523.
3. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014; 103:137-149.
4. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham study. *Diabetes Care*. 1979; 2:120-126.
5. Bulugahapitiya U, Siyambalapitiya S, Sithole J, Idris I. Is diabetes a coronary risk equivalent? Systematic review and meta-analysis. *Diabet Med*. 2009; 26:142-148.
6. Haffner SM, Lehto S, Rönnekaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1998; 339:229-234.
7. Đorđević PB: Ishemijska bolest srca u dijabetesu. U: Đorđević PB. Diabetes mellitus, inovacija znanja I-III, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Republička stručna komisija za šećernu bolest i Institut za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, KC Srbije, Beograd, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd; 1996:114-9.
8. Valentin F. Atherosclerosis thrombosis and vascular biology. In: Goldman S. (ed) Cecil text book of medicine, 21st ed. New York: Saunders Company, 2000. pp. 291-304.
9. Savić T., Janković D. Poremećaj metabolizma lipida i ateroskleroza. Lipidologija u svakoj ambulanti. 2004; 1:7-Medikamenti u primarnoj i sekundarnoj prevenciji. *Arh.farm.* 2000; (1-2): 27-30
10. Ridker P.M. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*, 2003; 107: 363-369.
11. Calabro P, Willerson J.T, Yeh E.T. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation*, 2003; 108: 1930-1932.
12. Gotto AM, Pownall HJ. Manual of lipid disorders. Reducing the risk for coronary heart disease. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2003.
13. Craeger M.A, Luscher T.F, Cosentino F and Beckman J.A. Diabetes and Vascular disease. Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I. *Circulation*, 2003; 108:1527-1532.

14. Buja L.M, Mc Allister H.A. Atherosclerosis: Pathologic Anatomy and Pathogenesis. In Cardiovascular medicine, 3rd Ed. Springer, London, 2003; 1581-1589.
15. Cardillo C, Nambi S.S, Kilcoyne C.M et al. Insulin stimulates both endothelin and nitric oxide activity in human forearm. *Circulation*, 1999; 100: 820-825.
16. Hartge M, Unger T, Kintscher U. The endothelium and vascular inflammation in diabetes. *Diab and Vasc Dis Res* 2007; 2 (4): 84-88.
17. Schalkwijk C.G and Stehouwer C.D.A. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clinical Science*, 2005; 109:143-159.
18. Youngren JF. Regulation of insulin receptor function. *Cell Molec Lif Sci* 2007; 64 (7-8): 873-891.
19. King GL, Wakasaki H: Theoretical mechanism by which hyperglycemia and insulin resistance could cause cardiovascular diseases in diabetes. *Review Diabetes Care* 1999 Apr;22 Suppl 3:C31-7
20. Lalić K., M. Medić-Zamaklar. Značaj lipidskih poremećaja za aterogenezu. *Priručnik za dijagnostiku i lečenje lipidskih poremećaja*, 2004; 57-64.
21. McPherson Ruth and Jones PH,:The metabolic syndrome and type 2 diabetes: role of the adipocyte. *Current Opinion in Lipidology* 2003;14:549-553.
22. Sh. Malik, N. D. Wong, S. S. Franklin, et al.: "Impact of the Metabolic Syndrome on Mortality From Coronary Heart Disease, Cardiovascular Disease, and All Causes in United States Adults" *Circulation*. 2004; 110: 1245-50.
23. Bassuk SS, Rafai N, Ridker PM. High-Sensitivity C-Reactive Protein: Clinical Importance. *Current Problems in Cardiology* 2004; 29:439-93.
24. Bassuk SS, Rafai N, Ridker PM. High-Sensitivity C-Reactive Protein: Clinical Importance. *Current Problems in Cardiology* 2004; 29:439-93.
25. Schalkwijk C.G and Stehouwer C.D.A. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clinical Science*, 2005;109:143-159.
26. Price CL, Knight SC. Advanced glucation: a novel outlook on atherosclerosis. *Curr Pharm Des* 2007; 13(36): 3681-7. 38.
27. Temma J, Matshuisa M, Horie T, Kuroda A, Mori H, Tamaki M, Endo I, et all. Non-invasive measurement of skin autofluorescence as a Beneficial Surrogate Marker for Atherosclerosis in Patients with Type 2 Diabetes. *J Med Invest* 2015; 62(3-4): 126-9.
28. American Diabetes Association: National Heart, Lung and Blood Institute;National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease; AmericanHeart Association. Diabetes mellitus: a major risk factor for cardiovascular disease. *Circulation* 1999; 100:1132-34.
29. Memisogulari R., Seyithan T, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct* 2003; 21:291-6.
30. Gotto AM. Fundamentals of blood lipid metabolism and concepts in atherogenesis. In: *Contemporary Diagnosis and Management of Lipid Disorders*, AM Gotto (ed), 2nd edition, Handbooks in Health Care Co, Pennsylvania, 2001, 2:27-55.

31. Zamaklar M OM. Vodič za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja Beograd: Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2011. Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. J Am Coll Cardiol. 2006;47(8 Suppl):C7-12.
32. Maron DJ , Grundy SM, Ricker PM, Pearson TA. Dyslipidemia, other risk factors and prevention of coronary heart disease. Hurst's. Heart, Eleventh edition 2004; 43: 1093-1122.
33. Mahley R, Weisgraber K, Farese R. Disorders of lipid metabolism: primary disorders of hyperlipidemia. Williams Textbook of Endocrinology, 10th edition Philadelphia: Saunders. 2003:1668-77.
34. Janković D, Savić T. Lipoproteini velike gustine i ateroskleroza. Balneoklimatologija. 2001; 25(4): 1-7.
35. Lee J.L. ,Saver A. Towfighi Efficacy of fibrates for cardiovascular risk reduction in persons with atherogenic dyslipidemia: a meta-nalysis Atherosclerosis 217;2011; 492- 498.
36. Mooradian AD *et al.* (2008) Obesity-related changes in high density lipoprotein metabolism. Obesity 16: 1152-1160.
37. Mooradian AD *et al.* (2004) Transcriptional control of apolipoprotein A-I gene expression in diabetes mellitus. Diabetes 53: 513-520
38. Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. J Am Coll Cardiol., 1999: 34; 631-8.
39. Arauz-Pacheco C, Parrott MA, Raskin P: The treatment of hypertension in adult patients with diabetes (Technical Review). *Diabetes Care* 25:134-147, 2002.
40. Kannel WB, Dawber TR, Kagava A, Stokes J. Factors of risk in development of coronary heart disease six year follow up experience; The Framingham study. Ann Intern Med 1961; 55: 336-53.
41. Moreno PR, Fuster V. New aspects in the pathogenesis of diabetic atherothrombosis. JACC 2004; 44: 2293-2300.
42. Dandona P, Aljada A. A rationale approach to pathogenesis and treatment of type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, inflammation and atherosclerosis. Am J Cardiol 2002; 90: 27-33.
43. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. The JNC VII report. JAMA 2003; 289:2560-72.
44. Psaty BM, Lumley T, Furberg CD, Schellenbaum G, Pahor M, Alderman MH, et al. Health outcomes associated with various antihypertensive therapies used as first-line agents: a network meta-analysis. JAMA. 2003; 289(19):2534-44.
45. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). Lancet.1998; 351(9113):1379-87.
46. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. Lancet 2005; 365: 2176-223.

47. Grigoryan L, Pavlik VN, Hyman DJ. Characteristics, drug combinations and dosages of primary care patients with uncontrolled ambulatory blood pressure and high medication adherence. *J Am Soc Hypertens*. 2013; 7(6):471-6.
48. Lacobelis G, Ribaudo MC, Zappaterreno A et al: prevalence of uncomplicated obesity in an Italian obese population. *Obes Res* 2005; 13:1116-22.
49. Södlerlund A, Fischer A, Johansson T. Physical activity, diet and behaviour modification in the treatment of overweight and obese adults: a systematic review. *Perspect Public Health* 2009; 129(3):132-42.
50. Campbell RK. Type 2 diabetes: where we are today: an overview of disease burden, current treatments, and treatment strategies. *J Am Pharm Assoc (2003)* 2009; 49 Suppl 1: S3-9.
51. Hager G.R, W van Haeften T and Visseren F.L.J: Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes and vascular disease. *European Heart Journal*. 2008.29:2959-71
52. Ciric V, Djindjic B. Relationship between obesity and quality of glycemic control in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Acta Medica Medianae* 2008; 47(2):20.
53. Chu N.F, Spiegelman D, Hotamisligil GS et al: Plasma insulin, leptin, and soluble TNF receptors levels in relation to obesity related atherogenic and thrombotic cardiovascular disease risk factors among men. *Atherosclerosis* 2001; 157:495-503.
54. Skurk T, Albetti-Huber C., Herder C, Hauner H: Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1023-33.
55. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltier AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest* 2007; 117:175-84.
56. Cencello R, Henegar C, Viguerie N et al: Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery induced weight loss. *Diabetes* 2005; 54:2277-86.
57. Liese AD, Mayer-Davis EJ, Haffner SM. Development of the multiple metabolic syndrome: an epidemiologic perspective. *Epidemiol Rev* 1998; 20:157-72.
58. Best LG, Zhang Y, Lee ET, Yeh JL, Cowan L, Palmieri V, Roman M, Devereux RB, Fabsitz RR, Tracy RP, Robbins D, Davidson M, Ahmed A, Howard BV. C-reactive protein as a predictor of cardiovascular risk in a population with a high prevalence of diabetes: the Strong Heart Study. *Circulation*. 2005; 112:1289-1295.
59. Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ, Emeis JJ, Yudkin JS, Nijpels G, Dekker JM, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. von Willebrand factor, C-reactive protein, and 5-year mortality in diabetic and nondiabetic subjects: the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19:3071-3078.
60. Luria MH, Erel J, Sapoznikov D, Gotsman MD. Cardiovascular risk factor clustering and ratio of total cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol in angiographically documented coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1991; 67:31-36.
61. Li JM, Cui TX, Shiuchi T, Liu HW, Min LJ, Okumura M, et al. Nicotine enhances angiotensin II-induced mitogenic response in vascular smooth muscle cells and fibroblasts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(1): 8-14.

62. Soinio M, Marniemi J, Laakso M, Lehto S, Rönnemaa T. High-sensitivity C-reactive pro-teín and coronary heart disease mortality in patients with type 2 diabetes: a 7-year follow-up study. *Diabetes Care*. 2006; 29:329–333.
63. Maeng M, Jensen LO, Tilsted HH, Kaltoft A, Kelbaek H, Abildgaard U, Villadsen A, Aaroe J, Thayssen P, Krusell LR, Christiansen EH, Botker HE, Kristensen SD, , et al. Outcome of sirolimus-eluting versus zotarolimus-eluting coronary stent implantation in patients with and without diabetes mellitus (a SORT OUT III Substudy). *Am J Cardiol* 2011; 108: 1232-1237.
64. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003; 111:1805-1812.
65. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure* 1999; 7:169–177.
66. Gershov D, Kim S, Brot N, Elkon KB. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med* 2000; 192:1353–1363.
67. Silva D, Lacerda AP (2012) Proteína C reativa de alta sensibilidade como biomarcador de risco na doença coronária. *Revista Portuguesa de Cardiologia* 31: 733-745.
68. Marnell L, Mold C, Du Clos TW (2005) C-reactive protein: Ligands, receptors and role in inflammation. *Clin Immunology* 117: 104-111.
69. Meneilly GS, Tessier D. Diabetes in elderly adults. *J Gerontol Med Sci* 2001; 56A:M5-M13.
70. Calabro P, Willerson JT, Yeh ET (2003) Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 108: 1930- 1932.
71. Hajsadeghi S, Chitsazan M, Chitsazan M, Salehi N, Amin A, et al. (2015) Changes of high sensitivity C-reactive protein during clopidogrel therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Res Cardiovasc Med* 5:e28997.
72. Bezerra CFR, Amaral BA, Camelo FP, Ana RLA, EduardoGS, et al. (2008) O papel da proteína C-reativa na relação entre as doenças periodontais e cardiovasculares. *R Periodontia* 18:7-13.
73. Fordjour PA, Wang Y, Shi Y, Agyemang K, Akinyi M, Zhanq Q, Fan G. Possible mechanismus of C- reactive protein mediated acute myocardial infarction. *Eur J Pharmacol* 2015; 760: 72- 80.
74. Nakhjavani M, Khalilzadeh O, Khajeali L, Esteghamati A, Morteza A, Jamali A, et al. Se-rum oxidized-LDL is associated with diabetes duration independent of maintaining opti-mized levels of LDL-cholesterol. *Lipids* 2010; 45: 321-327.
75. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005; 111:3481-3488.
76. Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem* 2008; 54(1):24-38.

77. Denardi CAS, Filho AC, Chagas ACP C-Reactive protein: an update. *Rev SOCERJ* 2008; 2: 329-334
78. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV, Jothianandan D. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6: S336-S343.44.
79. Teixeira BC, Lopes AL, Macedo RCO, Cleiton SC, Thiago RR, et al. Inflammatory markers, endothelial function and cardiovascular risk. *J Vasc Bras*;2014 13:108-115.46.
80. Blake GJ, Ridker PM C-reactive protein: a surrogate risk marker or mediator of atherothrombosis? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 285: 1250-1252.
81. Volp AC, Alfenas RC, Costa NM, Minim VPR, Stringueta CP, et al. Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab*.2008;52:537-549.
82. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation*.1998;97: 2007-2011.
83. Hashimoto H, Kitagawa K, Hougaku H, Shimizu Y, Sakaguchi M, et al. C-reactive protein is an independent predictor of the rate of increase in early carotid atherosclerosis. *Circulation* 2001;104: 63-67.
84. Scirica BM, Morrow DA, Cannon CP, de Lemos JA, Murphy S, et al. Clinical application of C-reactive protein across the spectrum of acute coronary syndromes. *Clin Chem*. 2007;53:1800-1807.
85. Singh P, Hoffmann M, Wolk R, Shamsuzzaman AS, Somers VK. Leptin induces C-reactive protein expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:e302-e307.
86. Jabs WJ, Theissing E, Nitschke M, Bechtel JF, Duchrow M, Mohamed S, et al. Local generation of C-reactive protein in diseased coronary artery venous bypass grafts and normal vascular tissue. *Circulation* 2003; 108:1428-1431.
87. Boekholdt SM, Hack CE, Sandhu MS, et al. C-reactive protein levels and coronary artery disease incidence and mortality in apparently healthy men and women: the EPIC-Norfolk prospective population study 1993-2003. *Atherosclerosis* 2006; 187:415–22.132.
88. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, et al. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation* 2003; 108:2317–22.
89. Clarke R, Emberson JR, Breeze E, Casas JP, Parish S, Hingorani AD, Fletcher A, Collins R and Smeeth L. Biomarkers of inflammation predict both vascular and non-vascular mortality in older men. *European Heart Journal* 2008; 29: 800–809.
90. Nilsson J. CRP-Maker or Marker of Cardiovascular Disease? *Atherosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 2005; 25:1527-1528.
91. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FAH, et al. The JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008; 359: 2195-207

92. Scheller J, Rose-John S. Interleukin-6 and its receptor: from bench to bedside. *Med Microbiol Immunol*. 2006; 195(4):173-83.
93. Sehgal PB, Zilberstein A, Ruggieri RM, May LT, Ferguson-Smith A, Slate DL, et al. Human chromosome 7 carries the β 2-interferon gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986; 83(14):5219-22.
94. Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood* 1995; 86(4):1243-54.
95. Hirano T. Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 62: S60-S65.
96. Thompson JC, Jayne C, Thompson J, et al. A brief elevation of serum amyloid A is sufficient to increase atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2015; 56:286–293.
97. Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med*. 2009; 71(2):171-86
98. Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, Bilsborough J, Rosenfeld-Franklin M, Presnell SR, et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nature immunology*. 2004; 5:752–60.
99. Jones SA, Richards PJ, Scheller J, Rose-John S. IL-6 transsignaling: the in vivo consequences. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2005; 25:241–53.
100. Hacker C, Kirsch RD, Ju XS, Hieronymus T, Gust TC, Kuhl C, et al. Transcriptional profiling identifies Id2 function in dendritic cell development. *Nature immunology*. 2003; 4:380–6.
101. Thompson JC, Jayne C, Thompson J, et al. A brief elevation of serum amyloid A is sufficient to increase atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2015; 56:286-293
102. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, et al. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* 2000; 148: 209-14.
103. Kikutani H, Taga T, Akira S, Kishi H, Miki Y, Saiki O, Yamamura Y, Kishimoto T. Effect of B cell differentiation factor (BCDF) on biosynthesis and secretion of immunoglobulin molecules in human B cell lines. *J Immunol* 1985; 134: 990-995.117.
104. Tosato G, Pike SE. Interferon-beta 2/interleukin 6 is a co-stimulant for human T lymphocytes. *J Immunol* 1988; 141: 1556-1562.118.
105. Curnow SJ, Scheel-Toellner D, Jenkinson W, Raza K, Durrani OM, Faint JM, et al. Inhibition of T cell apoptosis in the aqueous humor of patients with uveitis by IL-6/soluble IL-6 receptor trans-signaling. *Journal of immunology*. 2004; 173:5290–7.
106. Gabay C, Kushner I: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999, 340:448-454.4.
107. Wigmore SJ, Fearon KCH, Maingay JP, Lai PBS, Ross JA: Interleukin-8 can mediate acute-phase protein production by isolated human hepatocytes. *Am J Physiol* 1997, 273:E720-E726.
108. Gauldie J, Richards C, Harnish D, Lansdorp P, Baumann H: Interferon γ 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-

- stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:7251-7255.
109. Onogawa T. Local delivery of soluble interleukin-6 receptors to improve the outcome of alpha-toxin producing *Staphylococcus aureus* infection in mice. *Immunobiology*. 2005; 209:651-60.
 110. Terrell AM, Crisostomo PR, Wairiuko GM, Wang M, Morrell ED, Meldrum DR. Jak/STAT/SOCS signaling circuits and associated cytokine-mediated inflammation and hypertrophy in the heart. *Shock*. 2006; 26:226-34.
 111. Yang S, Zheng R, Hu S, Ma Y, Choudhry MA, Messina JL, et al. Mechanism of cardiac depression after trauma-hemorrhage: increased cardiomyocyte IL-6 and effect of sex steroids on IL-6 regulation and cardiac function. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2004; 287:H2183-91.
 112. Tsutamoto T, Hisanaga T, Wada A, et al. Interleukin-6 spillover in the peripheral circulation increases with the severity of heart failure, and the high plasma level of interleukin-6 is an important prognostic predictor in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 391-8.
 113. Munger MA, Johnson B, Amber IJ, Callahan KS, Gilbert EM, Terrell AM, Crisostomo PR, Wairiuko GM, Wang M, Morrell ED, Meldrum DR. Jak/STAT/SOCS signaling circuits and associated cytokine-mediated inflammation and hypertrophy in the heart. *Shock*. 2006; 26:226-34.
 114. Prabhu SD. Cytokine-induced modulation of cardiac function. *Circulation research*. 2004; 95:1140-53.
 115. Hirota H, Yoshida K, Kishimoto T, Taga T. Continuous activation of gp130, a signal-transducing receptor component for interleukin 6-related cytokines, causes myocardial hypertrophy in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4862-6.45
 116. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, 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. *Cerebrovas Dis*. 2012; 34(4):290-6.
 117. Gonzalez J, Wood JC, Dorey FJ, Wren TA, Gilsanz V. Reproducibility of carotid intima-media thickness measurements in young adults. *Radiology*. 2008; 247(2):465-71.
 118. Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999; 340:14-22.
 119. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997; 96(5):1432-7.
 120. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, et al. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults:

a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines.

121. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, 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(2):93-111;
122. Yamamoto M, Egusa G, Yamakido M. Carotid atherosclerosis and serum lipoprotein(a) concentrations in patients with diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20(5):829-3.
123. Cheng K, Mikhailidis D, Hamilton G, Seifalian A. A review of the carotid and femoral intima media thickness as an indicator of the presence of peripheral vascular disease and cardiovascular risk factors. *Cardiovasc Res* 2002; 54:528-38.
124. Yamasaki Y, Kodama M, Nishizawa H i sur. Carotid intima-media thickness in Japanese type 2 diabetes subjects. *Diabetes Care* 2000;23(9):1310-5. Spence JD, Hegele RA. Noninvasive phenotypes of atherosclerosis: similar windows but different views. *Stroke.* 2004; 35(3):649-53.
125. Gardener H, Della Morte D, Elkind MS, Sacco RL, Rundek T. Lipids and carotid plaque in the Northern Manhattan Study (NOMAS). *BMC Cardiovasc Disord.* 2009; 9:55.
126. Panayiotou A, Griffin M, Georgiou N, Bond D, Tyllis T, Tziakouri-Shiakalli C, et al. ApoB/ApoA1 ratio and subclinical atherosclerosis. *Int Angiol.* 2008; 27(1):74-80.
127. Spence JD, Hegele RA. Noninvasive phenotypes of atherosclerosis: similar windows but different views. *Stroke.* 2004; 35(3):649-53.
128. Zhu Y, Chen CX, Li XQ, Zhou Y, Huang W, Liu XR, et al. Association between blood pressure level and incidence of carotid artery plaque in middle-aged and elderly people. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.* 2013; 41(7):611-5.
129. Blackburn R, Giral P, Bruckert E, Andre JM, Gonbert S, Bernard M, et al. Elevated C-reactive protein constitutes an independent predictor of advanced carotid plaques in dyslipidemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(12):1962-8.
130. Corrado E, Rizzo M, Tantillo R, Muratori I, Bonura F, Vitale G, et al. Markers of inflammation and infection influence the outcome of patients with baseline asymptomatic carotid lesions: a 5-year follow-up study. *Stroke.* 2006; 37(2):482-6.
131. Papas TT, Maltezos CK, Papanas N, Kopadis G, Marakis J, Maltezos E, et al. High-sensitivity CRP is correlated with neurologic symptoms and plaque instability in patients with severe stenosis of the carotid bifurcation. *Vasc Endovascular Surg.* 2008; 42(3):249-55.
132. Lee WY, Allison MA, Kim DJ, Song CH, Barrett-Connor E. Association of interleukin-6 and C-reactive protein with subclinical carotid atherosclerosis (the Rancho Bernardo Study). *Am J Cardiol.* 2007; 99:99-102.
133. Weber C, Zernecke A, Libby P. The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8:802-815.

134. Okazaki S, Sakaguchi M, Miwa K, Furukado S, Yamagami H, Yagita Y, Mochizuki H, Kitagawa K. Association of interleukin-6 with the progression of carotid atherosclerosis: a 9-year follow-up study. *Stroke*. 2014 Oct; 45(10):2924-9.
135. Zanchetti A, Bond G, Henning G i sur. Calcium antagonist lacipidine slows down progression of asymptomatic carotid atherosclerosis. Prinicipal results of the European Lacipidine Study on Atherosclerosis (ELSA), arandomized, double-blind, long-term trial. *Circulation* 2002; 106:r47-r52.
136. Peters SA, Bots ML. Carotid intima-media thickness studies: Study design and data analysis. *J Stroke* 2013;15:38-48.
137. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S,et al. Mannheim intima-media thicknes consensus. *Cerebrovascular disease* 2004; 18:346-349
138. ChaBMian BR. Exercise stress testing. In Braunwald, Zipes, Libby(Eds): *Heart Disease, Textbook of Cardiovascular Medicine* 6th ed. W.B. Saunder Company, 2001. Philadelphia, pp. 129-159.
139. ACC/AHA 2002 5 5Guideline Update for Exercise Testing A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Exercise Testing). web version, American College of Cardiology Foundation - www.acc.org American Heart Association - www.americanheart.org
140. Gersh BJ, Braunwald E, Bonow RO. Chronic Coronary Artery Disease. In Braunwald, Zipes, Libby(Eds): *Heart Disease, Textbook of Cardiovascular Medicine* 6th ed. W.B. Saunder Company, 2001. Philadelphia, pp. 1272-1363.
141. Rowe DJF, Dawney A, Watts GF. Microalbuminuria in diabetes mellitus: review and recommendation for the measurment of albumin in urine. *An Clin Biochem* 1990; 27: 297-312.
142. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *The Journal of Clinical Investigation*, 2003; 111 (12): 1805-12. 52. Lloyd-Jones DM, Liu K, Tian L, Greenland P (05 Jun 2006). Narrative Review: Assessment of C - reactive protein in Risk Prediction for Cardiovascular Disease. *Annals of Internal Medicine*, 2006; 145 (1): 35-42.
143. 2013European Society of Hypertension - European Society of Cardiology Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens* 2013; 24:1011-153.
144. WHO Physical status: the use of interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva, World Health Organisation, Technical Report Series 1995; 854:368:9.
145. NCEP ATP III (18) Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (AdultTreatment Panel III) Final Report. *Circulation* 2002; 106:3143-421.
146. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville,et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2003; 10:Suppl 1:1-78

147. Wierzbicki AS, Reynolds TM, Gill K, Alg S, Crook MA. A comparison of algorithms for initiation of lipid lowering therapy in primary prevention of coronary heart disease. *J Cardiovasc Risk* 2000; 7:63-71.
148. Hackman DG, Anand SS. Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease: A critical review of the evidence. *JAMA* 2003; 290:932-40.
149. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: Epidemiology, Pathophysiology and Management. *JAMA* 2002; 287:2570-81. 236. Executive Summary of The 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). *JAMA* 2001; 285:2486-97.
150. Chalmers J, Cooper ME. UKPDS and the legacy effect. *N Engl J Med*. 2008;359:1618–1620. doi: 10.1056/NEJMe0807625. 332. Murray P, Chune GW, Raghavan VA. Legacy effects from DCCT and UKPDS: what they mean and implications for future diabetes trials. *Curr Atheroscler Rep*. 2010; 12:432-439.
151. Duckworth W, Abraira C, Moritz T, Reda D, Emanuele N, Reaven PD, Zieve FJ, Marks J, Davis SN, Hayward R, Warren SR, Goldman S, McCarren M, Vitek ME, Henderson WG, Huang GD; VADT Investigators. Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2009; 360:129-139.
152. Pepine CJ. Coronary angiography and cardiac catheterization. In: *Cardiovascular Medicine*. Topol E. Ed. Lippicott-Raven Publishers, 1998.
153. Young LH, Wackers FJ, Chyun DA, et al. Cardiac outcomes after screening for study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2009; 301:1547-1555. Scognamiglio R, Negut C, Ramondo A, et al. Detection of coronary artery disease in asymptomatic patients with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:65.
154. Gerson MC, Khoury JC, Hertzberg VS, Fischer EE, Scott RC. Prediction of coronary artery disease in a population of insulin-requiring diabetes 2008; 6:85-88
155. Moirier P, Garneau C. Impact of Left Ventricular Diastolic Dysfunction on Maximal Treadmill Performance in Normotensive Subjects With Well Controlled Type II Diabetes Mellitus. *Am J Cardiol* 2000; 85:473-7.
156. Fauci A.S., Braunwald E., Kasper D.L. et al: Harrison "s principales of Internal medicine, 17th edition, Medical the McGrawHill Companies, 2008, XIII:2112-2115, 1380., 2574-2575-zamjeniti Calles-Escandon J, Cipolla M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspectives. *Endocr Rev* 2001; 22:36-52.
157. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993; 16: 434-44.
158. Vaccaro O, Stamler J, Neaton JD: Sixteen-year coronary mortality in black and white men with diabetes screened for the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *Int J Epidemiol*, 1998; 27:636-641.
159. Fauci A.S., Braunwald E., Kasper D.L. et al: Harrison "s principales of Internal medicine, 17th edition, Medical the McGrawHill Companies, 2008, XIII:2112-2115, 1380., 2574-2575

160. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators, Mihaylova B, Emberson J, Blackwell L, Keech A, Simes J, Barnes EH, Voysey M, Gray A, Collins R, Baigent C: The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. *Lancet* 2012, 380:581–590.
161. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care*. 1993;16:434-444.
162. Cholesterol Treatment Trialists Collaborators. Kearney PM, Blackwell L, et al. Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18,686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis. *Lancet*. 2008; 371:117-125.
163. Ray KK, Seshasai SR, Wijesuriya S, et al. Effect of intensive control of glucose on cardiovascular outcomes and death in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet*. 2009; 373:1765-1772.
164. Dean JD, Durrington PN. Treatment of dyslipoproteinaemia in diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1996; 13:297-312.
165. Abbasi A, Corpeleijn E, Gansevoort RT, et al. Role of HDL cholesterol and estimates of HDL particle composition in future development of type 2 diabetes in the general population: the PREVEND study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98:E1352-E1359.
166. Haffner SM. Clinical relevance of the oxidative stress concept. *Metabolism* 2000; 49(2 Suppl 1): 30-4.
167. Cholesterol Treatment Trialists Collaborators. Kearney PM, Blackwell L, et al. Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18,686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis. *Lancet*. 2008; 371:117–125.
168. Moreno PR, Fuster V. New aspects in the pathogenesis of diabetic atherothrombosis. *JACC* 2004; 44: 2293-2300.
169. Dandona P, Aljada A. A rationale approach to pathogenesis and treatment of type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, inflammation and atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2002; 90: 27-33.
170. De Backer G, Ambrosioni E, Boch-Johnsen K, Brontos C, Cifkova R, Dallongeville J, et al for the Third Joint Task Force of European and other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J* 2003; 24:1601-10
171. Human Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics. Available from www.cdc.gov/nchs/about/major/nhanes/nhanes99_00.htm. Accessed 17 April 2007
172. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study, 1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997; 146:483-94.
173. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993; 87:II56-65. Salonen R, Salonen JT. Progression of carotid atherosclerosis and its determinants: a population-based ultrasonography study. *Atherosclerosis* 1990; 81:33-40.

174. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam study. *Circulation* 1997; 96:1432-7.
175. Y. Irie, N. Katakami, H. Kaneto, et al., "Maximum carotid intima-media thickness improves the prediction ability of coronary artery stenosis in type 2 diabetic patients without history of coronary artery disease," *Atherosclerosis*, vol. 221, no. 2, pp. 438-444, 2012.
176. Kaplan M, Tendler Y, Mahamid R, Shiner M, Aviram M, Hayek T. High glucose upregulates C- reactive protein production in macrophages. *Clin Chem* 2010; 56: 1036-8.
177. Kaplan M, Hamond Sh, Tendler Y, Meilin E, Lazarovitch A, Nitecki S, Hayek T. A significant correlation between C- reactive protein levels in blood monocytes derived macrophages versus content in carotid atherosclerotic lesion. *J Inflamm* 2014; 11: 7-15.
178. Shikawa T, Hatakeyama K, Imamura T, Date H, Shibata Y, et al. Involvement of C-reactive protein obtained by directional coronary atherectomy in plaque instability and developing restenosis in patients with stable or unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2003; 91: 287-292.
179. Aminbakhsh A and Mancini GB. Carotid intima media thickness measurements media thickness measurements: What defines an abnormality? A systematic review. *Clin Invest Med* 1999; 22: 149-157
180. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ and Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101: 1767-1772.
181. Lee KW, Lip GY, Tayebjee M, Foster W and Blann AD. Circulating endothelial cells, von Willebrand factor, interleukin-6, and prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Blood* 2005; 105: 526-32
182. Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, Jensen T, Kofoed-Enevoldsen A: Albuminuria reflects widespread vascular damage. The Steno hypothesis. *Diabetologia* 1989; 32 :219-226.
183. Stehouwer CD, Smulders YM: Microalbuminuria and risk for cardiovascular disease: Analysis of potential mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2106– 2111.
184. Weir MR: Microalbuminuria in type 2 diabetics: An important, overlooked cardiovascular risk factor. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2004; 6:134-41.
185. Jager A, Kostense PJ, Ruhe HG, Heine RJ, Nijpels G, Dekker JM, Bouter LM, Stehouwer CD: Microalbuminuria and peripheral arterial disease are independent predictors of cardiovascular and all-cause mortality, especially among hypertensive subjects: Five-year follow-up of the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:617-624.
186. Diercks GF, van Boven AJ, Hillege HL, Janssen WM, Kors JA, de Jong PE, Grobbee DE, Crijns HJ, van Gilst WH: Microalbuminuria is independently associated with ischaemic electrocardiographic abnormalities in a large non-diabetic population. The

- PREVEND (Prevention of Renal and Vascular Endstage Disease) study. *Eur Heart J* 2000; 21:1922-1927.
187. Liu JE, Robbins DC, Palmieri V, Bella JN, Roman MJ, Fabsitz R, Howard BV, Welty TK, Lee ET, Devereux RB: Association of albuminuria with systolic and diastolic left ventricular dysfunction in type 2 diabetes: The Strong Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:2022-2028.
 188. Earle KA, Mishra M, Morocutti A, Barnes D, Stephens E, Chambers J, Viberti GC: Microalbuminuria as a marker of silent myocardial ischaemia in IDDM patients. *Diabetologia* 1996; 39:854-856.
 189. A. Pearson, G. A.Mensah, R.W. Alexander et al., "Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the AmericanHeart Association," *Circulation*, vol. 107, no. 3, pp. 499-511, 2003.
 190. Giri S, Shaw LJ, Murthy DR, Travin MI, Miller DD, HachamovitchR, et al. Impact of diabetes on the risk stratification using stress single-photon emission computed tomography myocardial perfusion imaging in patients with symptoms suggestive of coronary artery disease. *Circulation* 2002; 105:32-40.
 191. Ridker P.M, Hennekens C.H, Buring J.E, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *The New England Journal of Medicine*, 2000; 342: 836-843.
 192. Dutta P, Courties G, Wei Y, Leuschner F, Gorbato R, Robbins CS, et al. Myocardial infarction accelerates atherosclerosis. *Nature*. 2012; 487(7407):325-9.
 193. Goff DC, Jr., Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D'Agostino RB, Gibbons R, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014; 129(25 Suppl 2):S49-73.
 194. De Rooij SR, Nijpels G, Nilsson PM, et al. Low-grade chronic inflammation in the relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease (RISC) population: associations with insulin resistance and cardiometabolic risk profile. *Diabetes Care*. 2009; 32:1295-1301
 195. Chow WS, Tso AW, Xu A, Yuen MM, Fong CH, Lam TH, et al. Elevated circulating adipocyte-fatty acid binding protein levels predict incident cardiovascular events in a community-based cohort: a 12-year prospective study. *J Am Heart Assoc*. 2013; 2(1):130-137.
 196. Malik S, Wok N.D, Franklin S.S, et al. Risk of cardiovascular disease in U.S. persons with metabolic syndrome, diabetes, and elevated C-reactive protein. *Diabetes Care*, 2005; 28: 690-693.
 197. X.F. Samaropoulos, L. Light, W. T. Ambrosius, S.M. Marcovina, J. Probstfield, and D. C. Goff Jr., "The effect of intensive risk factor management in type 2 diabetes on inflammatory biomarkers," *Diabetes Research and Clinical Practice*, vol. 95, no.3, pp. 389-398, 2012.

198. Geluk CA, Post WJ, Hillege HL, Tio RA, Tijssen JG, et al.(2008) C-reactive protein and angiographic characteristics of stable and unstable coronary artery disease: Data from the prospective PREVEND cohort. *Atherosclerosis* 196:372-382.
199. Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM, PRINCE Investigators (2001) Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: The pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): A randomized trial and cohort study. *JAMA* 286: 64-70.
200. Silva D, Lacerda AP (2012) Proteína C reativa de alta sensibilidade como biomarcador de risco na doença coronária.
201. Revista Portuguesa de Cardiologia 31: 733-745. Christenson RH, Azzazy HM (2009) Cardiac point of care testing: A focused review of current National Academy of Clinical Biochemistry guidelines and measurement platforms. *Clin Biochem* 42: 150-157.
202. Denardi CAS, Filho AC, Chagas ACP (2008) A Proteína C-reativa na atualidade. *Rev SOCERJ* 2: 329-334.
203. Cardoso CRL, Leite NC, Salles GF. Prognostic Importance of C-Reactive Protein in High Cardiovascular Risk Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: The Rio de Janeiro Type 2 Diabetes Cohort Study. *J Am Heart Assoc* 2016
204. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela WJ, Tsai J, et al. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352:29-38.
205. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease. Application to clinical and public health practice. A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107:499-511.
206. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, et al. 2010 ACCF/AHA Guideline for Assessment of Cardiovascular Risk in Asymptomatic Adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2010; 122:e584-e636.
207. Tabak AG, Kivimaki M, Brunner EJ, Lowe GD, Jokela M, Akbaraly TN, et al. Changes in C-reactive protein levels before type 2 diabetes and cardiovascular death: the Whitehall II study. *Eur J Endocrinol.* 2010;
208. Koenig W, Khuseynova N, Baumert J, Meisinger C. A prospective study of high sensitivity C-reactive protein as a determinant of mortality: results from the MONICA/KORA Augsburg Cohort Study 1984 to 1998. *Clin Chem* 2008; 54:335-342.
209. Marsik C, Kazemi-Sharazi L, Joukhadar C, Schickbauer T, Winkler S, Wagner OF, Endler G. C-reactive protein and all-cause mortality in a large hospital-based cohort. *Clin Chem* 2008; 54:343-349.
210. Pearson T.A, Mensah G.A, Alexander W.R, Anderson J.L, Cannon R.O, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for

- Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*, 2003; 107:499- 511.
211. Ridker P.M, Cook N.R. Clinical utility of very high and very low levels of C-reactive protein across the full range of Framingham risc scores. *Circulation*, 2004; 109: 1955
 212. Sabatine MS, Morrow DA, Jablonski KA, Rice MM, Warnica JW, et al. (2007) Prognostic significance of the Centers for Disease Control/American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable coronary artery disease.*Circulation* 115: 1528-1536.
 213. Van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, *et al.* 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.
 214. Danesh J, Kaptoge S, Mann AG, Sarwar N, Wood A, Angleman SB, et al. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. *PLoS medicine*. 2008; 5:e78.
 215. Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF, Gregson J, Willeit P, et al. Collaboration IRGCERF. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet*. 2012; 379:1205–13.
 216. Smith AJ, Zheng D, Palmen J, Pang DX, Woo P, Humphries SE. Effects of genetic variation on chromatin structure and the transcriptional machinery: analysis of the IL6 gene locus. *Genes and immunity*. 2012; 13:583–6.
 217. Harrison SC, Smith AJ, Jones GT, Swerdlow DI, Rampuri R, Bown MJ, et al. Interleukin-6 receptor pathways in abdominal aortic aneurysm. *European heart journal*. 2013; 34:3707-16.
 218. Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation* 1999; 99: 2079-84.
 219. Jonsdottir LS, Sigfusson N, Gudnason V, Sigvaldason H, Thorgeirsson G Do lipids, blood pressure, diabetes, and smoking confer equal risk of myocardial infarction in women as in men? The Reykjavik Study. *J Cardiovasc Risk* 2002; 9: 67–76.28-30.
 220. Wang D, Liu Z, Li Q, Karpurapu M, Kundumani-Sridharan V, Cao H *et al.* An essential role for gp130 in neointima formation following arterial injury. *Circ Res* 2007;100: 807-816.
 221. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;339: 229-234
 222. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286: 327-33
 223. Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen T. Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent? 2005; 54 (Suppl. 2): S114-S124.
 224. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives.*Physiol Rev* 91: 327-387.

225. Wang D, Liu Z, Li Q, Karpurapu M, Kundumani-Sridharan V, Cao H *et al.* An essential role for gp130 in neointima formation following arterial injury. *Circ Res* 2007; 100: 807-816.
226. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1685-1695.
227. Wung BS, Hsu MC, Wu CC, et al. Resveratrol suppresses IL-6-induced ICAM-1 gene expression in endothelial cells: effects on the inhibition of STAT3 phosphorylation. *Life Sci.* 2005; 78:389-397.
228. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med.* 2007; 357:2482-2494.79,80.
229. Lefkou E, Fragakis N, Ioannidou E, et al. Increased levels of proinflammatory cytokines in children with family history of coronary artery disease. *Clin Cardiol.* 2010; 33:E6-10.
230. Fisman EZ, Benderly M, Esper RJ, et al. Interleukin-6 and the risk of future cardiovascular events in patients with angina pectoris and/or healed myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2006; 98:14-18.
231. Tehrani DM, Gardin JM, Yanez D, Hirsch CH, Lloyd-Jones DM, Stein PK *et al.* Impact of inflammatory biomarkers on relation of high density lipoprotein-cholesterol with incident coronary heart disease: Cardiovascular Health Study. *Atherosclerosis* 2013; 231: 246-251.
232. Lowe G, Woodward M, Hillis G, et al. Circulating inflammatory markers and the risk of vascular complications and mortality in people with Type 2 diabetes and cardiovascular disease or risk factors: the advance study. *Diabetes.* 2014; 63:1115-1123.61-64.

SPISAK SKRAĆENICA

DM tip 2	diabetes melitus tip 2
KVB	kardiovaskularne bolesti
CRP	C-reaktivni protein
IRS-1	insulin receptorski supstrat-1
PI3k	fosfatidil inozitol 3 kinazom
NO	azot oksid
eNOS	endotelni azot-oksidi sintetaza
MAPK	mitogen aktivirajuće protein kinaze
ET-1	endotelin jedan
PAI-1	plazminogen aktivator inhibitora
SMK	slobodne masne kiseline
IRS	insulinski receptor supstrat
AGE	advanced glycosylation end products
ROS I	reactive oxygens species
PKC	protein kinaza C
LDL	Low Density Lipoprotein
HDL	High Density Lipoprotein
VLDL	very low density lipoprotein
HDL	High Density Lipoprotein
Apo B	Apoprotein B
Apo A	Apoprotein A1
TNF	tumor necrosis factor
IL-1	interleukin jedan
VCAM-1	adhezioni molekul -1
TNF-α	tumor necrosis factor- α
IL-6	Interleukin 6
IL-6R	interleukin 6 receptor
IMT intima	media thickness
KVB	kardiovaskularne bolesti
IBS	ishemijska bolest srca

BIOGRAFIJA

Gabrijela Malešević je rođena 19.09.1976 godine u Bihaću. Osnovnu školu je završila u Ključu, a srednju medicinsku školu i medicinski fakultet u Banja Luci. Zaposlena je u UKC RS Banja Luka na Klinici za unutrašnje bolesti-Odjeljenje endokrinologije sa internom medicinom od 2007 godine do danas. Specijalistički ispit iz oblasti interne medicine je položila 2013. godine sa odličnom ocjenom. Subspecijalizaciju iz endokrinologije pohađala je u Institutu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma u Beogradu. 2016 godine položila je subspecijalistički ispit i odbranila subspecijalistički rad na medicinskom fakultetu u Beogradu sa najvišom ocjenom. Januara 2016 godine odbranila je magistarski rad pod nazivom: "Udruženost mikroalbuminurije i zadebljanja intime i medije karotidnih arterija kao marker ishemijske bolesti srca kod oboljelih od diabetes mellitus tip 2". Autor je i koautor više stručnih i naučnih publikacija prezentovanih na domaćim i međunarodnim kongresima od kojih su neke objavljene u časopisima od državnog i međunarodnog značaja. Učesnik je mnogih stručnih sastanaka, radionica i kongresa, kliničkih istraživanja i projekata. Član je Evropske asocijacije za izučavanje dijabetesa EASD (European Association for the Study of Diabetes), Evropskog udruženja endokrinologa ESE (European Society of Endocrinology), Udruženja endokrinologa i dijabetologa Republike Srpske, Komore doktora medicine Republike Srpske i Društva doktora medicine Republike Srpske. Udata je i majka dvoje djece.

Izjava 1

IZJAVA O AUTORSTVU

**Izjavljujem
da je doktorska disertacija**

"Značaj markera hronične inflamacije niskog stepena u detekciji subkliničke ateroskleroze kod oboljelih od dijabetes mellitusa tipa 2"

" Significance of low-grade chronic inflammation markers in detection of subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes "

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da doktorska disertacija, u cjelini ili u dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Banjoj Luci, februar 2021.

Potpis doktoranta

Gabriela Matković

Izjava 2

Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom

Ovlašćujem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom

"Značaj markera hronične inflamacije niskog stepena u detekciji subkliničke ateroskleroze kod oboljelih od dijabetes mellitusa tipa 2"

koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnom.

Doktorsku disertaciju sa svim prilogima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo
2. Autorstvo-nekomercijalno
3. Autorstvo - nekomercijalno - bez prerade
- 4. Autorstvo - nekomercijalno - dijeliti pod istim uslovima**
5. Autorstvo - bez prerade
6. Autorstvo - dijeliti pod istim uslovima

U Banjoj Luci, februar 2021.

Potpis doktoranta

Gabriela Malešević

Izjava 3

Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora: Gabrijela Malešević

Naslov rada : Značaj markera hronične inflamacije niskog stepena u detekciji subkliničke
ateroskleroze kod oboljelih od dijabetes mellitusa tipa 2“

Mentor: Prof. dr Snježana Popović Pejičić

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji koju
sam predala za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci, februar 2021. godine

Potpis doktoranta

Gabrijela Malešević