

Žiga Piletič^{1*}, Jurij Hanžel^{2*}, Mišo Šabovič³

Metode za ocenjevanje funkcijskih in strukturnih lastnosti arterijske stene

Methods for the Assessment of Functional and Structural Characteristics of the Arterial Wall

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: endotelijska funkcija, arterijska togost, od endotelija odvisna razširitev arterije, periferna arterijska tonometrija, hitrost pulznega vala, indeks togosti beta

Testiranje funkcijskih in strukturnih značilnosti arterij postaja klinično vedno bolj zanimivo. Razvitih je bilo več metod za neinvazivno merjenje endotelijske funkcije in arterijske togosti, ki so dovolj enostavne in primerne za vsakdanjo klinično uporabo, ne le v raziskovalne namene. V članku predstavljamo štiri metode, za katere menimo, da so trenutno najbolj uporabne in po svetu tudi največkrat uporabljene. Pri vsaki opisujemo postopek merjenja, njene prednosti in slabosti ter klinično uporabnost. Endotelijsko funkcijo lahko merimo preko določanja od endotelija odvisne razširitve arterij ali periferne arterijske tonometrije, arterijsko togost pa merimo z določanjem hitrosti pulznega vala ter indeksa togosti beta. Pri obravnavi bi bilo najbolj smiselno pri istem preiskovancu opraviti vse metode, saj vsaka izmed njih meri drug vidik žilne fiziologije. Na podlagi rezultatov meritev bi lahko natančneje izračunali srčno-žilno tveganje, individualizirali zdravljenje ter neposredno in sproti spremljali njegovo učinkovitost. Omenjene metode sicer še niso del kliničnih smernic, vendar bodo ob boljši standardizaciji to morda postale. Pomembno je poudariti, da je za pravilno in klinično ustrezno uporabo in vrednotenje izvidov potrebno ustrezno klinično znanje iz omenjenega področja. Zato priporočamo, da omenjene preiskave izvaja in vrednoti le zdravnik z ustreznim znanjem.

ABSTRACT

KEY WORDS: endothelial function, arterial stiffness, flow-mediated dilatation, peripheral arterial tonometry, pulse wave velocity, stiffness parameter beta

Tests of functional and structural properties of arteries are becoming clinically more and more relevant. Numerous non-invasive methods for assessing endothelial function and arterial stiffness have been developed, many of which are useful not only for research purposes but also in everyday clinical practice. In this paper we describe four methods which we believe are currently the most useful and most widely used. For each method

^{1*} Žiga Piletič, dr. med, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; zigapiletic@gmail.com

^{2*} Jurij Hanžel, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

³ Prof. dr. Mišo Šabovič, dr. med., Klinični oddelek za žilne bolezni, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana

* Avtorja si delita mesto prvega avtorja.

we present the measurement procedure, its advantages and disadvantages and clinical implications. Endothelial function can be assessed by flow-mediated dilatation and peripheral arterial tonometry while arterial stiffness is assessed by pulse wave velocity and stiffness parameter beta. When treating an individual patient, it would be best to combine all available methods because each of them measures a different aspect of vascular physiology. Based on these measurements, it would be possible to calculate cardiovascular risk more accurately, individualize treatment and directly monitor its efficacy through the course of time. Even though these methods are not yet part of clinical guidelines, they may be included in the future when better standardization is achieved. It is important to stress that it is only possible to assess and use the results correctly when the researcher possesses adequate clinical knowledge of the aforementioned field. We recommend that examinations are performed by a well trained and educated physician.

UVOD

Dejavniki tveganja za srčno-žilne bolezni neposredno vplivajo na žilno steno, kar povzroči spremembe v žilni funkciji in strukturi, ki vplivajo na nastanek in razvoj srč-

no-žilnih bolezni (1). Napredek v razumevanju patofiziologije žilne stene je omogočil razvoj številnih metod za neinvazivno merjenje njenih funkcijskih in strukturnih lastnosti (tabela 1). Četudi te za zdaj še niso

Tabela 1. Pregled predstavljenih metod z njihovimi prednostmi in slabostmi.

Metoda	Prednosti	Slabosti
Od endotelija odvisna razširitev arterije (angl. <i>flow-mediated dilatation</i> , FMD)	<ul style="list-style-type: none"> • korelacija z invazivno izmerjeno koronarno endotelijsko funkcijo • preizkušena v številnih populacijskih in kliničnih raziskavah 	<ul style="list-style-type: none"> • tehnično zahtevna izvedba • vprašljiva ponovljivost • ni standardiziranih protokolov merjenja • nejasne referenčne vrednosti
Periferna arterijska tonometrija (PAT)	<ul style="list-style-type: none"> • tehnično enostavna izvedba • avtomatizirana, neodvisna od opazovalca • zadovoljiva ponovljivost • preizkušena v manjšem številu raziskav, korelira z nekaterimi dejavniki tveganja za aterosklerozo 	<ul style="list-style-type: none"> • nepopolno pojasnjena fiziološka osnova • nepojasnen vpliv zunanjih dejavnikov na izid meritve • nejasne referenčne vrednosti • visoka cena sond za enkratno uporabo
Hitrost pulznega vala (angl. <i>pulse wave velocity</i> , PWV)	<ul style="list-style-type: none"> • standardiziran protokol za merjenje z aplanacijsko tonometrijo • del evropskih smernic za oceno subklinične okvare organov ob arterijski hipertenziji • določena referenčna vrednost 	<ul style="list-style-type: none"> • odvisnost od trenutne vrednosti arterijskega krvnega tlaka • neuskkljenost med programsko opremo za analizo meritev in smernicami
Indeks togosti beta	<ul style="list-style-type: none"> • lahko dostopno merilno mesto • avtomatiziran izračun 	<ul style="list-style-type: none"> • tehnično zahtevna izvedba • preizkušena v zelo majhnem številu raziskav • podvržena morebitnim razlikam v vrednostih arterijskega krvnega tlaka med karotidno in brahialno arterijo

del rutinske klinične prakse, veliko obetajo in utegnejo v prihodnosti spremeniti obravnavo srčno-žilnih bolezni. Širša uporaba teh metod bi lahko omogočila natančnejši izračun tveganja za pojav srčno-žilnih bolezni, bolj individualizirano zdravljenje in dodatno neposredno spremljanje učinkovitosti srčno-žilne terapije.

Namen prispevka je uvodoma na kratko predstaviti patofiziologijo endotelijske disfunkcije in arterijske togosti, na katerih temeljijo metode merjenja, nato pa predstaviti najbolj uveljavljene neinvazivne metode za merjenje funkcionalnih in strukturnih lastnosti arterijske stene, njihove prednosti in slabosti, klinično uporabnost ter možnosti nadaljnjega razvoja na tem področju.

ENDOTELIJSKA DISFUNKCIJA

Endotelij, najbolj notranja plast žilne stene, s svojimi produkti uravnava žilni tonus, prehajanje celic in makromolekul skozi žilno steno, proliferacijo gladkomišičnih celic žilne stene ter vzdržuje ravnovesje med trombozo in fibrinolizo (2). Kadar je vsaj ena izmed naštetih funkcij motena, govorimo o endotelijski disfunkciji, ki je najzgodnejši proces v patogenezi ateroskleroze (3).

Osrednji posrednik vazodilatacije, ki ga izloča endotelij, je dušikov oksid (NO). Sintetizirani NO prehaja v sosednje gladkomišične celice in aktivira citosolno gvanilat-ciklazo, nastali ciklični gvanozin monofosfat pa inhibira krčenje in tako povzroči vazodilatacijo. Poleg tega ima na gladkomišične celice še antiproliferativni učinek, preprečuje tudi njihovo preseljevanje v intimo žile. NO, ki prehaja v svetlino žile, preprečuje agregacijo trombocitov ter prehajanje makrofagov v žilno steno (4). Pri endotelijski disfunkciji zaradi pomanjkanja NO prevladajo učinki njegovih antagonistov: žila se krči, poveča se prepustnost endotelija, v žilno steno prehajajo vnetnice in pospešena je agregacija trombocitov. Vsi tradicionalni dejavniki tveganja za ate-

roskleroza na različne načine poslabšajo delovanje endotelija (4).

ARTERIJSKA TOGOST

Arterijska togost pomeni odpornost arterijske stene proti raztezanju. Normalno podajnost arterij omogoča uravnoteženo razmerje med elastinom, ki jim daje podajnost, in kolagenom, ki jim daje togost, ter napetost gladkega mišičja v žilni mediji. Staranje samo povzroča spremembe v zgradbi žilne stene in s tem povečano togost žilja, dodaten negativni vpliv pa imajo še prisotnost znanih dejavnikov tveganja za razvoj srčno-žilnih bolezni ter ateroskleroza, hipertenzija in endotelijska disfunkcija (5-7).

Ob vsakem utripu srce iztisne določeno količino krvi iz levega prekata v aorto in s tem povzroči zvišanje tlaka v aorti ter nastanek in širjenje pulznega vala od levega prekata proti periferiji. Ob tem prihaja do velikih razlik v pritisku na stene arterij, predvsem aorte. Ta se zaradi svoje podajnosti ob iztisu krvi vanjo razširi in v sodelovanju z drugimi elastičnimi arterijami ublaži in upočasni pulzni val na poti proti periferiji. Tako je v periferni mikrocirkulaciji tok krvi neprekinjen, tlačna nihanja, ki lahko okvarijo tarčne organe, kot so možgani in ledvice, pa so manjša (8). Med diastolo srce ne iztiska krvi proti aorti, pritisk na njeno steno je manjši, zato se aorta vrne v svoj prvotni položaj. To sproži tok krvi nazaj proti srcu, kar dvigne diastolni tlak in omogoči ustrezno prekrvavitev koronarnih arterij (7).

Bolj kot so arterije toge, manj učinkovito blažijo pulzni val, ki tako doseže periferijo hitreje in pri višjih tlakih. Ravno tako pride do hitrejšega vračanja odbitih valov s periferije. Do odboja valov v zdravih podajnih arterijah prihaja na razvejitvah in kjer se spremeni premer arterijske svetline. Ti valovi se nato vračajo proti srcu, kjer pripomorejo k dvigu diastolnega tlaka in boljši prekrvitvi koronarnih arterij. Pri bolj togih arterijah je večja tudi hitrost potovanja

odbitih valov, ki se k srcu vrnejo prej, še med sistolo. S tem pride do obremenitve levega prekata, hkrati pa se zaradi tega zmanjša dvig diastolnega tlaka zaradi prispevka odbitih valov. To vpliva na zmanjšanje prekrvavitve koronarnih arterij, kar v srčni mišici povzroči ishemijo, ki le-to še dodatno okvarja (5, 6).

MERITVE ENDOTELIJSKE FUNKCIJE **Od endotelija odvisna razširitev** **arterije**

Pri preiskavi od endotelija odvisne razširitve arterije (angl. *flow-mediated dilatation*, FMD) z ultrazvokom merimo spremembo premera izbrane arterije, najpogosteje brahialne, po njenem zažetju (9, 10). Ob zažetju arterije z manšeto se poveča strižna napetost na arterijsko steno, kar je dražljaj za sintezo NO v endotelijah celicah. Nastali NO nato prehaja v okolico in povzroči sprostitve gladkomišičnih celic v arterijski steni, kar privede do vazodilatacije (4).

Preiskovanec mora biti na meritev FMD ustrezno pripravljen (11–13). Žilna reaktivnost je odvisna od številnih dejavnikov, katerih vpliv je za verodostojno oceno endotelijске funkcije treba karseda zmanjšati. Preiskovanec mora biti zato pred preiskavo tešče vsaj 6 ur, vsaj 6 ur ne sme kaditi, vsaj 12 ur ne sme piti pijače, ki vsebujejo alkohol, kofein ali veliko količino polifenolov (kakav, sadni sokovi), vsaj 12 ur ne sme biti telesno dejaven in vsaj 72 ur ne sme uživati vitaminskih pripravkov. Na dan preiskave ne sme uživati vazoaktivnih zdravil. Meritev poteka v tihi sobi s stalno temperaturo.

Tik pred meritvijo preiskovanec počiva vsaj deset minut. Med merjenjem leži na hrbtu, roka, na kateri meritev poteka, pa mora biti podprta v višini srca. Manšeto namestimo 1–2 cm distalno od komolčnega pregiba, ultrazvočno sondo visoke ločljivosti pa proksimalno na nadlaket. Premer žile merimo ob koncu diastole, ki sovпада s pojavom zobca R v elektrokardiogramu. Merjenje premera v mirovanju traja vsaj

eno minuto, nato sledi petminutno zažetje pri tlaku, ki najmanj za 50 mmHg presega predhodno izmerjeni sistolični tlak preiskovanca. Po sprostitvi zažetja meritev izvajamo, vse dokler se arterija več ne širi.

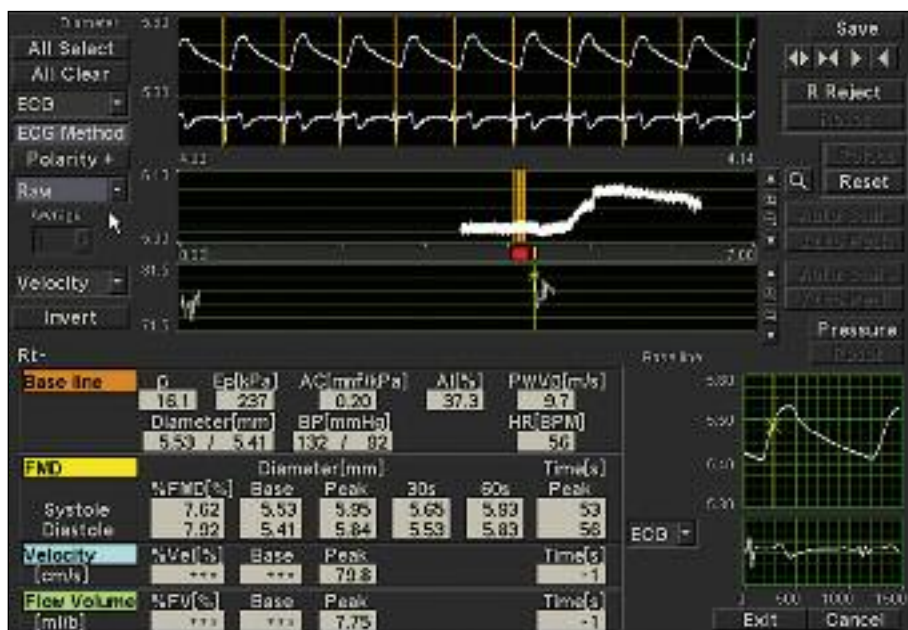
Rezultat meritve je izražen v odstotkih kot količnik med največjim premerom po sprostitvi in premerom v mirovanju. Ostali parametri, kot so na primer FMD 60 sekund po sprostitvi, čas do največje razširitve in površina pod krivuljo (angl. *area under the curve*, AUC), so se izkazali za slabše ponovljive in manj povedne (14). Ker je razširitev obratno sorazmerna s premerom arterije v mirovanju, je priporočljivo navesti tudi slednjega in absolutno spremembo premera. Zaradi razlik v merilnih protokolih med raziskavami je patološko vrednost FMD težko opredeliti, ravno tako so otežene primerjave med študijami (slika 1a, 1b) (15).

Meritev FMD je najbolj preizkušena in najpogosteje uporabljena neinvazivna metoda za merjenje endotelijске funkcije (16). V številnih, ne pa vseh, populacijskih raziskavah je bila vrednost FMD neodvisni napovedni dejavnik za srčno-žilne dogodke z boljšo napovedno vrednostjo od klasičnih točkovnikov za ocenjevanje srčno-žilnega tveganja (17–21). Podobno se je izkazalo tudi pri visoko ogroženih bolnikih in tistih, ki so že doživeli srčno-žilne dogodke, kot sta akutni koronarni sindrom in možganska kap (22–25).

Spreminjanje vrednosti FMD med zdravljenjem se je izkazalo kot napovedni dejavnik za nadaljnje srčno-žilne dogodke. Bolniki, pri katerih se vrednosti FMD med zdravljenjem niso izboljšale, so imeli pomembno višjo incidenco srčno-žilnih dogodkov kot tisti, pri katerih so se vrednosti izboljšale (26, 27). Merjenje FMD kljub temu še ni del evropskih ali ameriških smernic za preprečevanje srčno-žilnih bolezni, deloma tudi zaradi težav pri standardizaciji (28, 29). Metoda je tehnično zahtevna za izvajanje, zato je potrebno dovolj dolgo usposabljanje izvajalcev. Pogosta



Slika 1a. Prikaz merjenja od endotelija odvisne razširitve arterij nad desno brahialno arterijo preiskovanca. Ultrazvočna sonda je pritrjena na ogrodje, da se ne premika, ustrezno podprta je tudi preiskovančeva roka. Na podlakti je nameščena manšeta za zažem arterije.



Slika 1b. Zaslón z rezultati merjenja od endotelija odvisne razširitve arterij. Med meritvijo se samodejno beleži premer brahialne arterije. Rumena črta označuje sprostitvev zažema, po katerem se je arterija razširila. Rezultat je izražen v odstotkih in predstavlja spremembo premera arterije v diastoli po sprostitvi zažema v primerjavi z izhodiščem (označeno z rdečo).

pomisleka glede uporabe FMD sta odvisnost od izvajalca in ponovljivost, vendar pa izsledki nedavne multicentrične raziskave kažejo, da so ob dobri standardizaciji protokola meritev rezultati primerljivi tudi med posameznimi centri (30).

Periferna arterijska tonometrija

S periferno arterijsko tonometrijo (PAT) pletizmografsko merimo prostornino krvi, ki z vsakim utripom srca prihaja v prste roke. Tudi pri tej metodi se izvede zažetje brahialne arterije, kar pri ohranjeni funkciji endotelija povzroči vazodilatacijo in s tem povečanje prostornine krvi v prstih (31). Vazodilatacija pri tej metodi je le deloma odvisna od NO (32).

Priprava in namestitvev preiskovanca sta podobni kot pri meritvi FMD. Na kazalca obeh rok namestimo pletizmografski sondi v obliki naprstnika. Ob začetku preiskave se tlak v sondah zviša na 50 mmHg, stisne vene ter tako prepreči kopičenje krvi, ki bi lahko sprožila veno-arteriolarni vazokonstriktorni refleks (31). Merjenje v mirovanju poteka pet minut, nato pa z manšeto zažmemo brahialno arterijo na nadlakti ene roke, druga roka pa služi za kontrolo. Pri zažetju mora biti tlak v manšeti višji od 200 mmHg oziroma za 60 mmHg presežati sistolični tlak preiskovanca (izberemo višjo od obeh vrednosti). Po petminutnem zažetju manšeto sprostimo in merimo še nadaljnjih pet minut.

Rezultat meritve je izražen kot indeks reaktivne hiperemije (angl. *reactive hyperemia index*, RHI), ki je izračunan s tovarniškimi računalniškimi algoritmi. Indeks je brez enote. RHI dobimo tako, da količnik med povprečno prostornino krvi v prstih testnega uda po zažetju in povprečno prostornino krvi v prstih testnega uda pred zažetjem delimo z istim količnikom na kontrolnem udu. Količnik nato pomnožimo še s korekcijskim faktorjem, ki upošteva izhodiščno povprečno prostornino (33). Časovno

obdobje, za katerega se računa povprečje, se razlikuje med posameznimi algoritmi.

Kljub standardizirani metodi, ki je le malo odvisna od izurjenosti izvajalca, referenčne vrednosti RHI niso določene. Na podlagi raziskave med bolniki, napotenimi na koronarografijo, so bile kot patološke opredeljene vrednosti, nižje od 1,35, vendar je bila na podlagi kasnejše raziskave na primerljivi populaciji bolnikov kot mejna predlagana vrednost 1,67, še kasneje pa vrednost 2,00 (34–36). V nekaterih raziskavah je bil RHI izračunan drugače kot predvideva tovarniški algoritem, kar je treba upoštevati pri vrednotenju rezultatov (slika 2a, 2b) (33, 37).

Avtomatiziranost in enostavnost sta glavni prednosti PAT pred merjenjem FMD, zadovoljiva je tudi ponovljivost metode (38). Vrednost RHI korelira s stopnjo koronarne ateroskleroze in je po nekaterih raziskavah napovedni dejavnik za srčno-žilne dogodke (34, 39, 40). Četudi je bila vrednost RHI v velikih populacijskih raziskavah povezana s prisotnostjo dejavnikov tveganja, je bila korelacija s FMD šibka (37, 41, 42). Na podlagi teh ugotovitev se zdi, da periferna arterijska tonometrija meri drug, še nepopolno pojasnjen, vidik endotelijske funkcije kot FMD. Prav tako ni znano, kako na vrednost RHI vplivajo prehrana, telesna dejavnost in zdravila, velik del variabilnosti v vrednosti RHI kljub multivariatni statistični analizi ostaja nepojasnen (38, 43). Ne nazadnje pa je omejujoč dejavnik tudi cena sond, ki so namenjene le enkratni uporabi (38).

MERITVE ARTERIJSKE TOGOSTI Hitrost pulznega vala

Hitrost pulznega vala (angl. *pulse wave velocity*, PWV) je definirana kot količnik poti, ki jo prepotuje pulzni val, in časa, ki ga potrebuje za to pot (6, 44). Povečana togost aorte povzroči manjše blaženje pulznega vala in njegovo hitrejšo potovanje proti periferiji (6). Tako prihaja ob višji PWV do večjih tlačnih obremenitev v periferni



Slika 2a. Prikaz merjenja indeksa reaktivne hipertenzije s periferno arterijsko tonometrijo. Preiskovanec ima na kazalcih obeh rok nameščeni pletizmografski sonde, na levi nadlaktki je nameščena manšeta za zažem arterije.



Slika 2b. Zaslona z rezultati meritve s periferno arterijsko tonometrijo. V sredini zaslona so prikazane krivulje meritve. Rezultati so prikazani na desni strani, kjer je izračunan indeks reaktivne hipertenzije. AT2 – pulzna amplituda na testnem udu po zažemu, AT1 – povprečna pulzna amplituda na testnem udu pred zažemom, AK2 in AK1 – smiselno enako za kontrolni ud.

mikrocirkulaciji in do poškodb tarčnih organov, predvsem možganov in ledvic (5).

Za merjenje PWV moramo zajemati pulzne valove na dveh merilnih mestih, med katerima natančno izmerimo razdaljo ter nato spremljamo čas potovanja pulznih valov med merilnima mestoma (5). Meritev arterijske togosti s PWV lahko izvajamo lokalno ali regionalno. Lokalno merimo PWV z ultrazvokom. Najpogosteje izvajamo meritev nad karotidno arterijo, saj so tam aterosklerotične spremembe pogosto prisotne. PWV izračunamo glede na časovno razliko med dvema valovoma, ki povzročita razteg arterijske stene (44). Za regionalno merjenje arterijske togosti je najpriljavnejša PWV, merjena med karotidno in femoralno arterijo, saj meri togost aorte, ki je klinično najpomembnejša (44, 45).

Meritev PWV mora potekati v standardiziranih pogojih, da se izognemo zunanjim vplivom na meritev. Preiskovanec mora biti zato pred preiskavo vsaj tri ure tešč, ravnno toliko časa ne sme kaditi in piti pijač, ki vsebujejo alkohol ali kofein. Meritev izvajamo leže po vsaj desetih minutah počitka. Meritve izvajamo na bolnikovi desni strani. Pred vsako meritvijo je treba natančno izmeriti krvni tlak in biti pozoren na učinek bele halje (6, 44, 45).

Čeprav obstaja več različnih naprav, se meritve najpogosteje izvajajo tako, da nad mesto najmočneje tipnega pulza arterije prislonimo merilno sondo, ki zaznava pulzne valove. Med merilnima mestoma je treba natančno izmeriti razdaljo (6, 44). Izmerjene vrednosti vnesemo v računalniški program, ki po opravljeni meritvi izračuna PWV. Na tržišču je trenutno na voljo več različnih naprav za merjenje PWV, katerih programi za izračun PWV uporabljajo različne načine merjenja razdalje med merilnimi mesti. Najnovejše smernice zato priporočajo merjenje neposredne razdalje med merilnima mestoma v čim bolj ravni črti in nato uporabo 80 % izmerjene razdalje za izračun PWV (6, 44, 45).

Za prepoznavo posameznega pulznega vala računalniški programi večinoma uporabljajo vznožje valov, ki nakazuje konec diastole. Potovalni čas je čas, ki ga pulzni val potrebuje, da prepotuje med dvema merilnima mestoma. Ta je pri napravah, ki pulzne valove zajemajo na obeh merilnih mestih hkrati, izračunan kot časovna razlika med pojavom pulznega vala na enem in drugem merilnem mestu. Pri aparataturah, kjer pulzne valove najprej zajamemo nad enim, nato pa še nad drugim merilnim mestom, pa se kot referenčna točka uporablja val R na EKG, ki ga merimo hkrati z zajemanjem pulznih valov. Potovalni čas je tu časovna razlika med pojavom vala R v EKG in pulznega vala na merilnem mestu (5, 6, 44).

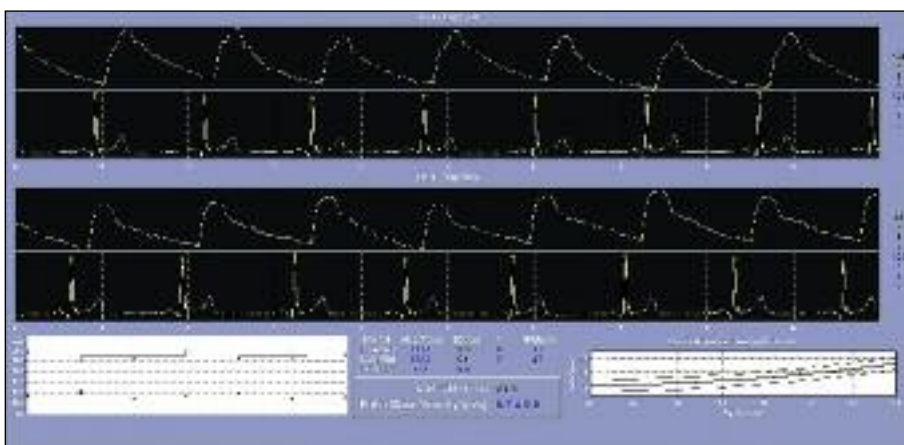
Dobljeni rezultat je hitrost pulznega vala med merilnima mestoma, ki je izražena v m/s. Najnovejše smernice so kot patološko vrednost PWV, merjene nad karotidno in femoralno arterijo, opredelile hitrosti nad 10 m/s (slika 3a, 3b) (5, 45).

Določanje PWV velja za najenostavnejšo, neinvazivno in ponovljivo metodo merjenja arterijske togosti (5, 44). PWV, merjena med karotidno in femoralno arterijo, je bila v zadnjih evropskih smernicah za zdravljenje hipertenzije določena kot zlati standard merjenja arterijske togosti in subklinične poškodbe tarčnih organov (44–46).

Leta 2010 je bila objavljena metaanaliza 17 longitudinalnih raziskav, ki so na skupno več kot 15.000 tako zdravih kot bolnih preiskovancev proučevale uporabnost togosti arterij, merjene s PWV, kot napovedni dejavnik za srčno-žilne dogodke. Metaanaliza je pokazala, da je bilo tveganje za razvoj srčno-žilnih dogodkov oz. umrljivost zaradi njih vsaj dvakrat večje pri posameznikih s patološkimi vrednostmi PWV. Tveganje se namreč ob zvišanju PWV za 1 m/s zveča za 10 %, ob zvišanju PWV za 1 SD pa za 40 % (45, 47). Več nedavno objavljenih študij je ugotovilo tudi, da je PWV neodvisen dejavnik tveganja za srčno-žilne dogodke z boljšo napovedno vrednostjo od



Slika 3a. Prikaz merjenja hitrosti pulznega vala med karotidno in femoralno arterijo z aplanacijsko tonometrijo. Trenutno poteka zajem pulznih valov nad desno karotidno arterijo. Preiskovanec ima nad obema zapeljema in nad levim medialnim gležnjem nameščene elektrode EKG. Meritev preiskovalec izvaja s tonometrom nad desno karotidno in femoralno arterijo.



Slika 3b. Zaslón z rezultati meritve hitrosti pulznega vala z aplanacijsko tonometrijo. V zgornjem delu zaslóna so prikazane zajete krivulje pulznega vala in EKG-meritve nad karotidno oz. femoralno arterijo. V sredini spodaj je prikazan izračunan rezultat meritve.

običajnih dejavnikov tveganja in točkovnikov za ocenjevanje tveganja (5, 44, 47, 48).

Opravljenе so bile tudi intervencijske raziskave, od katerih je najpomembnejša študija Guerina in sodelavcev, ki so pri bolnikih z ledvično odpovedjo proučevali vpliv znižanja PWV na srčno-žilno in splošno umrljivost bolnikov z ledvično odpovedjo. Bolniki so prejeli različno antihipertenzivno terapijo. Izkazalo se je, da je bilo mnogo boljše preživetje tistih preiskovancev, ki se jim je na antihipertenzivni terapiji poleg perifernega krvnega tlaka znižala tudi vrednost PWV (49).

Pomembna pomanjkljivost metode je možen vpliv sprememb v krvnem tlaku na vrednost meritve. Togost posameznega arterijskega segmenta se namreč spreminja glede na pritisk, ki ga kri vrši na žilno steno. Ob večjem pritisku na steno, torej ob višjem srednjem arterijskem tlaku, lahko izmerimo večjo arterijsko togost (8).

Računalniški programi večinoma upoštevajo vrednost predhodno izmerjenega krvnega tlaka pri izračunu PWV, dodatno pa se izognemo vplivu sprememb krvnega tlaka z izvajanjem meritev v stabilnih pogojih in s ponavljanjem meritev. Tako najnovejše smernice za klinično prakso priporočajo izračun srednje vrednosti dveh zaporednih meritev. Če se meritvi razlikujeta za več kot 0,5 m/s, je treba izvesti še tretjo meritev. Rezultat je nato mediana (5, 45). Pomembna je tudi pazljivost pri merjenju razdalje med merilnima mestoma. Najnovejše smernice sicer predlagajo uporabo 80 % izmerjene razdalje med merilnima mestoma kot najboljši približek dolžine aorte, vendar računalniški programi tega načina izračunavanja večinoma še ne upoštevajo. Tako bi bilo potrebno ročno prilagajanje dobljenih vrednosti po posamezni meritvi, kar pa je zahtevno.

Indeks togosti beta

Indeks togosti beta je merilo lokalne togosti žilne stene in opisuje odziv žilne stene

na delovanje raztezne sile pulznih valov nanjo. Gre za matematični indeks, izračunan iz ultrazvočno zaznanih sprememb arterijskega premera ob vsakem pulznem valu, in iz vrednosti krvnega tlaka. Izračunamo ga po naslednji enačbi:

$$\beta = \ln (P_{\text{sist}}/P_{\text{diast}}) / ((D_{\text{sist}} - D_{\text{diast}})/D_{\text{diast}}),$$

kjer je P_{sist} sistolni krvni tlak, P_{diast} diastolni krvni tlak, D_{sist} je notranji premer arterije med sistolo, D_{diast} pa med diastolo (50, 51).

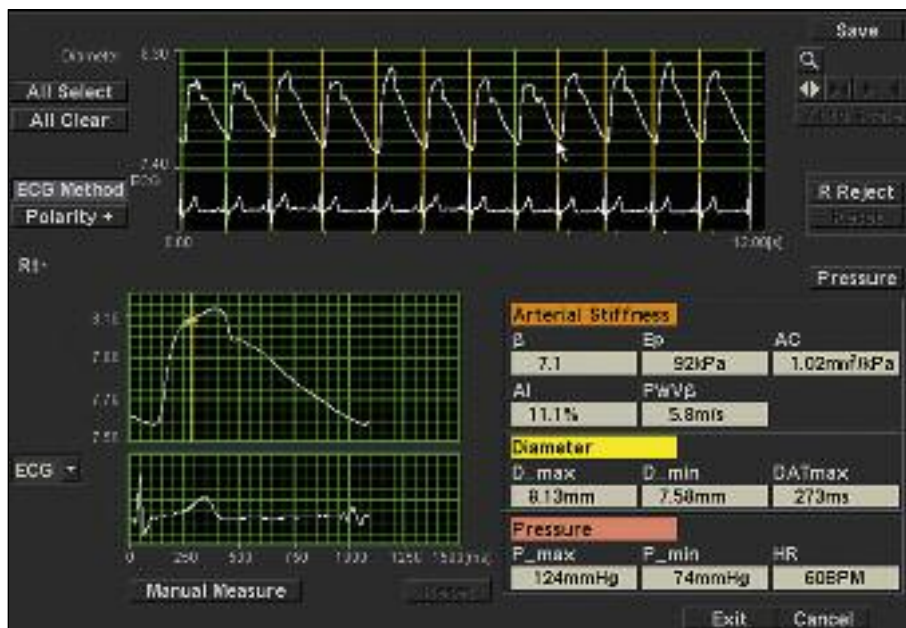
Preiskovance je za meritev treba pripraviti podobno kot za meritev hitrosti pulznega vala glede na zadnje klinične smernice (44). Preiskovanci morajo med preiskavo ležati na hrbtu z nekoliko nazaj zvrnjeno glavo. Po vsaj desetminutnem počitku preiskovancem izmerimo krvni tlak na brahialni arteriji. Najpogosteje meritve izvajamo nad karotidno arterijo, ki je lahko dostopna ultrazvočnemu pregledu in kjer se že zgodaj pojavijo aterosklerotične spremembe ter s tem povezana povečana togost.

Ultrazvočno sondo namestimo nad skupno karotidno arterijo približno 2 cm proksimalno od razcepišča. Merjenje izvajamo s funkcijo sledenja odbojem (angl. *echo-tracking*), kjer naprava preko zaznanih sprememb odbojev ultrazvočnih valov avtomatsko zaznava premike bližnje in daljne stene arterije, ki kažejo na pulzatilne spremembe njenega premera. Naprava nato iz zajetih vrednosti na podlagi prej opisane formule indeks togosti beta avtomatsko izračuna (52–54).

Indeks togosti beta nima enote. Ker arterije postajajo s staranjem zaradi normalnih strukturnih sprememb arterij vedno bolj toge, je treba pri postavljanju referenčnih vrednosti upoštevati tudi starost preiskovancev (50, 53, 55). Napredovale patološke spremembe na karotidnih arterijah naj bi bile prisotne pri vrednostih, višjih od 13 (50). Vrednosti nad 10,1 pa naj bi nakazovale večje tveganje za splošno umrljivost (slika 4a, 4b) (53).



Slika 4a. Prikaz merjenja arterijske togosti nad karotidno arterijo. Preiskovanec ima pod obema ključnicama in na trebuhu nameščene elektrode EKG. Preiskovalec drži ultrazvočno sondo nad desno karotidno arterijo.



Indeks togosti beta je star indeks, vendar je bil razmeroma redko uporabljen v različnih študijah. Raziskave so pokazale, da je izmerjena vrednost indeksa togosti beta premo sorazmerna s stopnjo aterosklerotičnih sprememb na karotidnih arterijah in je tako pokazatelj strukturnih sprememb v arterijski steni, ki se zgodijo tako zaradi staranja kot tudi zaradi aterosklerotičnih sprememb (50). Prav tako so ugotovili, da imajo bolniki po možganski kapi oz. na hemodializi povišane vrednosti indeksa togosti beta, kar kaže na večjo togost njihovih arterij v primerjavi z zdravimi posamezniki (52, 53). Objavljeni pa so bili tudi izsledki raziskave slovenske raziskovalne skupine, ki je ugotovila pomembno znižanje indeksa togosti beta, pri preiskovancih, ki so 30 dni jemali fluvastatin v nizkem odmerku (56).

Pri indeksu togosti beta se pojavljajo metodološke pomanjkljivosti, saj se za izračun večinoma uporablja krvni tlak, izmerjen brahialno, in ne krvni tlak v karotidni arteriji, ki se lahko od brahialnega precej razlikuje (53, 57). Poleg tega je metoda za izvajanje tehnično zahtevna, zaradi česar je nujna dobra usposobljenost izvajalcev (54, 57). Zavedati pa se je treba tudi, da gre za lokalni kazalnik togosti, ki ga ne gre posploševati na cel organizem. Ravno zato nekateri predlagajo širšo uporabo novega indeksa arterijske togosti, za katerega še nimamo uveljavljenega slovenskega izraza, angleški pa je *cardio-ankle vascular index*, ki v svojem izračunu poleg indeksa togosti beta uporablja tudi karotidno-femoralno hitrost pulznega vala (53, 58).

Klinična uporabnost

Danes je na voljo že širok nabor metod, ki nudijo celovit vpogled v delovanje in zgradbo arterijske stene, vendar pa se je pred uporabo posamezne metode treba vprašati, kaj želimo doseči, pri katerih preiskovancih in katera metoda je za to najprimernejša.

Vse več raziskav kaže, da upoštevanje meritev endotelijske funkcije in arterijske

togosti omogoča natančnejšo oceno srčno-žilnega tveganja v primerjavi z običajnimi izračuni, ki temeljijo na običajnih dejavnikih tveganja. Ker vsi dejavniki tveganja okrnejo normalno delovanje endotelija in vplivajo na zmanjšanje podajnosti arterijske stene, lahko tovrstne meritve obravnavamo kot pokazatelj celokupnega bremena dejavnikov tveganja. Endotelijska funkcija se s časom lahko precej spreminja, saj na rezultate meritev lahko vplivajo akutne okužbe, telesna dejavnost ali celo nekatere vrste hrane. Prav tako lahko na izmerjeno arterijsko togost vpliva spremenjen arterijski tlak, telesna aktivnost, celo temperatura okolice med merjenjem lahko poveča izmerjeno togost arterij. Pomembno se je zavedati tudi vpliva staranja na strukturne spremembe v arterijski steni, kar se še posebno odraža pri merjenju indeksa togosti beta.

Občutljivost meritev na našete spremembe je po eni strani pomanjkljivost, saj lahko zaradi tega pridemo do napačnih rezultatov, hkrati pa nam ob standardiziranih pogojih merjenja in natančnih navodilnih preiskovancem omogoča sledenje in sprotno spremljanje učinka določene intervencije, ki bi ga zgolj z uporabo morfoloških meril, kot sta na primer debelina intima-media in breme kalcija v koronarnih arterijah, opazili mnogo kasneje ali pa sploh ne. V primerjavi z morfološkimi metodami lahko z merjenjem endotelijske funkcije bolezen odkrijemo bolj zgodaj, saj se funkcionalne spremembe pojavijo pred strukturnimi. Ravno tako lahko z merjenjem arterijske togosti zaznamo začetne strukturne spremembe v arterijah, na katere lahko še vplivamo in upočasnimo napredovanje bolezni.

V okviru raziskav so se metode za merjenje funkcijskih in strukturnih lastnosti arterijske stene izkazale tako med asimptomatskimi preiskovanci v okviru primarne preventive kot v populacijah bolj ogroženih bolnikov. Zdi se, da imata makrovaskularna

in mikrovaskularna endotelijska funkcija različen pomen pri različnih preiskovancih; prva je bolj prizadeta pri bolnikih z že prisotno aterosklerozo, medtem ko je druga boljši pokazatelj tveganja pri mlajših, še asimptomatskih preiskovancih. Zanimiva je tudi ugotovitev, da so vrednosti FMD v močnejši korelaciji z običajnimi dejavniki tveganja, kot sta starost in arterijska hipertenzija, vrednosti RHI pa v močnejši korelaciji z metabolnimi dejavniki tveganja, kot sta sladkorna bolezen in debelost.

Običajni dejavniki tveganja negativno vplivajo tako na endotelijsko funkcijo kot tudi na arterijsko togost in pospešijo razvoj degenerativnih sprememb v arterijski steni. Ravno tako z merjenjem arterijske togosti hitreje zaznavamo vpliv bolezenskih procesov, predvsem ledvične odpovedi in metabolnega sindroma, na stene arterij. Zaznano povišanje kazalnikov arterijske togosti je predvsem povedno pri mlajših, saj pri njih tega ne moremo pripisati vplivu naravnega staranja.

Zaradi razhajanj in pogosto slabih korelacij med posameznimi metodami bi bilo najverjetneje smotno pri posameznem preiskovancu ob vsakem obisku izvesti meritve z več metodami. Le tako lahko ob primeri analizi dobljenih rezultatov dobimo celovito predstavo o stanju žilja pri določenem bolniku. Ob tem pa se moramo zavedati omejitvev posameznih metod in karseda standardizirati pogoje, v katerih izvajamo meritve. Pomembno je tudi, da izven študij uporabljamo le ustrezno preverjene metode, saj uporaba nezadostno preverjenih metod prej otežuje tolmačenje kot pa doprinese k učinkovitejši obravnavi bolnikov.

Kljub naštetim prednostim te metode še niso del smernic za vsakdanjo klinično prakso. Še vedno je namreč prisotnih nekaj omejitvev in nejasnosti, ki otežujejo prenos navedenih metod v vsakdanjo prakso. Stremenje k boljši standardizaciji in izvedba študij, ki bodo odgovorile na ključna vprašanja, ki se porajajo pri poskusni uporabi posamez-

nih metod, utegneta privedti do širše uporabe teh meritvenih metod. Ni še znano, kako smiselno je merjenje funkcijskih in strukturnih lastnosti arterij pri osebah z majhnim tveganjem za razvoj srčno-žilnih bolezni. Prav tako ni znano, kako ravnati pri bolnikih s srednjim tveganjem – ravno pri tej podskupini bi uporaba novejših metod lahko privedla do hitrejše odločitve o uvedbi zdravljenja ali pa olajšala odločitev o ustreznosti zdravljenja.

V zadnjem času opažamo, da se izvajajo nekatere od navedenih meritev brez natančne indikacije in z nevalidiranimi aparaturami ter neustreznim znanjem preiskovalcev. Menimo, da je takšen pristop škodljiv. Pomembno je namreč poudariti, da je za pravilno uporabo in vrednotenje izvidov potrebno ustrezno klinično znanje in validirane aparature.

ZAKLJUČEK

Tehnološki razvoj in želja po natančnejši oceni tveganja za srčno-žilne bolezni ter natančnejšem spremljanju vpliva različnih oblik farmakološkega in nefarmakološkega zdravljenja na srčno-žilni sistem sta privedla do razvoja različnih metod za neinvazivno in enostavno merjenje endotelijske funkcije in arterijske togosti. Danes za merjenje endotelijske funkcije najpogosteje določamo od endotelija odvisno razširitev arterij ali indeks reaktivne hiperemije, arterijsko togost pa merimo z določanjem hitrosti pulznega vala ter indeksa togosti beta. Zdi se, da bi bilo za celostno obravnavo bolnikov najbolj smotno pri istem preiskovancu opraviti pregled z vsemi metodami, saj nam le skupna analiza posameznih rezultatov da natančne podatke o stanju arterijskega sistema. Omenjene metode trenutno še niso del priporočil za vsakodnevno obravnavo bolnikov. Pričakujemo nove študije, ki bodo pomagale razjasniti pomanjkljivosti posameznih metod in vprašanja, ki se pojavljajo ob njihovi širši uporabi.

Za pravilno in klinično ustrezno uporabo in vrednotenje izvidov je potrebno primerno klinično znanje z omenjenega

področja, zato naj omenjene preiskave opravlja le zdravnik z ustreznim znanjem.

LITERATURA

1. Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part I: pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). *Circulation*. 2006; 114 (25): 2850–70.
2. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007; 115 (10): 1285–95.
3. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang EHC, et al. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiologica*. 2009; 196 (2): 193–222.
4. Mudau M, Genis A, Lochner A, et al. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis. *Cardiovasc J Afr*. 2012; 23 (4): 222–31.
5. Chirinos JA. Arterial Stiffness: Basic Concepts and Measurement Techniques. *J Cardiovasc Trans Res*. 2012; 5 (3): 243–55.
6. Tomiyama H, Yamashina A. Non-invasive vascular function tests: their pathophysiological background and clinical application. *Circ J*. 2010; 74 (1): 24–33.
7. Greenwald SE. Ageing of the conduit arteries. *J Pathol*. 2007; 211 (2): 157–72.
8. Tomlinson LA. Methods for assessing arterial stiffness. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2012; 21 (6): 655–60.
9. Celermajer DSD, Sorensen KEK, Gooch VMV, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992; 340 (8828): 1111–5.
10. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 39 (2): 257–65.
11. Charakida M, Masi S, Lüscher TF, et al. Assessment of atherosclerosis: the role of flow-mediated dilatation. *Eur Heart J*. 2010; 31 (23): 2854–61.
12. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, et al. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension*. 2010; 55 (5): 1075–85.
13. Thijssen DHJ, Black MA, Pyke KE, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 300 (1): 2–12.
14. Donald AE, Halcox JP, Charakida M, et al. Methodological approaches to optimize reproducibility and power in clinical studies of flow-mediated dilation. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 51 (20): 1959–64.
15. Raitakari OT, Celermajer DS. Flow-mediated dilatation. *Br J Clin Pharmacol*. 2000; 50 (5): 397–404.
16. Poredoš P, Ježovnik MK. Testing endothelial function and its clinical relevance. *J Atheroscler Thromb*. 2013; 20 (1): 1–8.
17. Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, et al. Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the firefighters and their endothelium (fate) study. *Circulation*. 2011; 123 (2): 163–9.
18. Rossi R, Nuzzo A, Origliani G, et al. Prognostic role of flow-mediated dilation and cardiac risk factors in post-menopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 51 (10): 997–1002.
19. Hirsch L, Shechter A, Feinberg MS, et al. The impact of early compared to late morning hours on brachial endothelial function and long-term cardiovascular events in healthy subjects with no apparent coronary heart disease. *Int J Cardiol*. 2011; 151 (3): 342–7.
20. Shechter M, Issachar A, Marai I, et al. Long-term association of brachial artery flow-mediated vasodilation and cardiovascular events in middle-aged subjects with no apparent heart disease. *Int J Cardiol*. 2009; 134 (1): 52–8.

21. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, et al. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009; 120 (6): 502–9.
22. Fichtlscherer S. Prognostic value of systemic endothelial dysfunction in patients with acute coronary syndromes: further evidence for the existence of the «vulnerable» patient. *Circulation*. 2004; 110 (14): 1926–32.
23. Karatzis EN, Ikonomidis I, Vamvakou GD, et al. Long-term prognostic role of flow-mediated dilatation of the brachial artery after acute coronary syndromes without ST elevation. *Am J Cardiol*. 2006; 98 (11): 1424–8.
24. Guazzi M, Reina G, Gripari P, et al. Prognostic value of flow-mediated dilatation following myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2009; 132 (1): 45–50.
25. Careri G, Nerla R, Di Monaco A, et al. Clinical correlates and prognostic value of flow mediated dilation in patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes. *Am J Cardiol*. 2013; 111 (1): 51–7.
26. Modena MG, Bonetti L, Coppi F, et al. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 40 (3): 505–10.
27. Kitta Y, Obata J, Nakamura T, et al. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*; 2009; 53 (4): 323–30.
28. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J*. 2012; 33 (13): 1635–701.
29. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, 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 (25): 584–636.
30. Charakida M, de Groot E, Loukogeorgakis SP, et al. Variability and reproducibility of flow-mediated dilatation in a multicentre clinical trial. *Eur Heart J*. 2013; 34 (45): 3501–7.
31. Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, et al. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *Am Heart J*. 2003; 146 (1): 168–74.
32. Nohria A, Gerhard-Herman M, Creager MA, et al. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J App Physiol*. 2006; 101 (2): 545–8.
33. Bruyndonckx L, Radtke T, Eser P, et al. Methodological considerations and practical recommendations for the application of peripheral arterial tonometry in children and adolescents. *Int J Cardiol*. 2013; 168 (4): 3183–90.
34. Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, et al. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 44 (11): 2137–41.
35. Toggweiler S, Schoenenberger A, Urbanek N, et al. The prevalence of endothelial dysfunction in patients with and without coronary artery disease. *Clin Cardiol*. 2010; 33 (12): 746–52.
36. Moerland M, Kales AJ, Schrier L, et al. Evaluation of the EndoPAT as a tool to assess endothelial function. *Int J Vasc Med*. 2012; 2012 (22): 1–8.
37. Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008; 117 (19): 2467–74.
38. Hedetoft M, Olsen NV. Evaluation of endothelial function by peripheral arterial tonometry and relation with the nitric oxide pathway. *Nitric Oxide*. 2014; 42 (C): 1–8.
39. Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, et al. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J*. 2010; 31 (9): 1142–8.
40. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sumida H, et al. Peripheral endothelial function and cardiovascular events in high-risk patients. *JAHA*. 2013; 2 (6): 1–21.
41. Hamburg NM, Palmisano J, Larson MG, et al. Relation of brachial and digital measures of vascular function in the community: The Framingham heart study. *Hypertension*. 2011; 57 (3): 390–6.
42. Schnabel RB, Schulz A, Wild PS, et al. Noninvasive vascular function measurement in the community: cross-sectional relations and comparison of methods. *Circulation: cardiovascular imaging*. 2011; 4 (4): 371–80.
43. Kontinen J, Lindholm H, Sinisalo J, et al. Association between lowered endothelial function measured by peripheral arterial tonometry and cardio-metabolic risk factors – a cross-sectional study of Finnish municipal workers at risk of diabetes and cardiovascular disease. *BMC Cardiovasc Disord*. 2013; 13: 83–90.
44. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006; 27 (21): 2588–605.
45. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens*. 2012; 30 (3): 445–8.

46. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2013; 34 (28): 2159–219.
47. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55 (13): 1318–27.
48. Laurent S, Boutouyrie P. Arterial stiffness: a new surrogate end point for cardiovascular disease? *J Nephrol*. 2007; 20 (12): 45–50.
49. Guerin AP, Blacher J, Pannier B, et al. Impact of aortic stiffness attenuation on survival of patients in end-stage renal failure. *Circulation*. 2001; 103 (7): 987–92.
50. Wada T, Kodaira K, Fujishiro K, et al. Correlation of ultrasound-measured common carotid artery stiffness with pathological findings. *Arterioscler Thrombo Vasc Biol*. 1994; 14 (3): 479–82.
51. Hayashi K, Handa H, Nagasawa S, et al. Stiffness and elastic behavior of human intracranial and extracranial arteries. *J Biomech*. 1980; 13 (2): 175–84.
52. Mitsumura H, Sakuta K, Bono K, et al. Stiffness parameter β of cardioembolism measured by carotid ultrasound was lower than other stroke subtypes. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014; 23 (6): 1391–5.
53. Sato M, Ogawa T, Otsuka K, et al. Stiffness parameter β as a predictor of the 4-year all-cause mortality of chronic hemodialysis patients. *Clin Exp Nephrol*. 2012; 17 (2): 268–74.
54. Jurasic MJ, Josef-Golubić S, Sarac R, et al. Beta stiffness-setting age standards. *Acta Clin Croat*. 2009; 48 (3): 253–8.
55. O'Rourke MF, Staessen JA, Vlachopoulos C, et al. Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values. *Am J Hypertens*. 2002; 15 (5): 426–44.
56. Lunder M, Janić M, Habjan S, et al. Subtherapeutic, low-dose fluvastatin improves functional and morphological arterial wall properties in apparently healthy, middle-aged male—a pilot study. *Atherosclerosis*. 2011; 215 (2): 446–51.
57. Rhee MY, Lee HY, Park JB. Measurements of arterial stiffness: methodological aspects. *Korean Circ J*. 2008; 38 (7): 343–50.
58. Shirai K, Hiruta N, Song M, et al. Cardio-ankle vascular index (CAVI) as a novel indicator of arterial stiffness: theory, evidence and perspectives. *J Atheroscler Thromb*. 2011; 18 (11): 924–38.