Utjecaj CagA antigena bakterije Helicobacter pylori u razvoju aterosklerotske karotidne bolesti

Bago Rožanković, Petra

Doctoral thesis / Disertacija

2011

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:972235

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository



Središnja medicinska knjižnica

Bago Rožanković, Petra (2011) ***Utjecaj CagA antigena bakterije Helicobacter pylori u razvoju aterosklerotske karotidne bolesti [Influence of CagA-positive Helicobacter pylori strains on atherosclerotic carotid disease].*** **Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

http://medlib.mef.hr/1417

University of Zagreb Medical School Repository
http://medlib.mef.hr/

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Petra Bago Rožanković

Utjecaj CagA antigena bakterije Helicobacter pylori u razvoju aterosklerotske karotidne bolesti

DISERTACIJA

Zagreb, 2011

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Petra Bago Rožanković

Utjecaj CagA antigena bakterije Helicobacter pylori u razvoju aterosklerotske karotidne bolesti

DISERTACIJA

Zagreb, 2011

Disertacija je izrađena na Klinici za neurologiju, Klinici za kirurgiju, Kliničkom zavodu za patologiju i Zavodu za mikrobiologiju Kliničke bolničkog centra “Sestre milosrdnice” u Zagrebu.

Voditelj rada: prof. dr.sc. Arijana Lovrenčić-Huzjan

Najiskrenije se zahvaljujem svima koji su mi pomogli u ostvarenju ovog rada.

Zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Arijani Lovrenčić-Huzjan na podršci, uloženom vremenu i trudu, te nesebično podijeljenom znanju i iskustvu.

Zahvaljujem pročelnici Klinike za neurologiju, akademkinji Vidi Demarin na potpori i pomoći u realizaciji ovog rada.

Zahvaljujem kolegi patologu, doc. dr. sc. Hrvoju Čupiću na predano učinjenom imunohistokemijskom dijelu rada, kao i srdačnom pristupu od prvog dana naše suradnje.

Zahvaljujem kolegici mikrobiologu, prim. dr. sc. Ines Jajić-Benčić na ugodnoj suradnji i sudjelovanju u izradi ovog rada.

Zahvaljujem Pročelniku Zavoda za vaskularnu kirurgiju, Klinike za kirurgiju doc. dr. sc. Ivi Lovričeviću te ostalim kolegama kirurzima, na pomoći u realizaciji ovog rada te razumijevanju i podršci tijekom boravka u operacijskoj sali.

Zahvaljujem dr. sc. Milanu Miloševiću na predano učinjenoj statističkoj obradi podataka te spremnosti da uvijek nađe vremena za moja pitanja.

Zahvalu dugujem i svom ocu, gastroenterologu, prim. dr. sc. Josipu Bagi, na stalnoj podršci i ohrabrenjima te stručnim savjetima i pomoći u izradi ovog rada.

Zahvalu upućujem i svojim kolegicama i kolegama na Zavodu za neurologiju KB Dubrava i Klinici za neurologiju KBC “Sestre milosrdnice” na razumijevanju, potpori i prijateljskoj suradnji.

Zahvaljujem roditeljima što su u meni razvili ljubav prema radu i znanju. Hvala suprugu Marjanu i kćerkici Lari na strpljenju i ljubavi.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. Aterosklerotska bolest 2

1.1.1. Patofiziologija ateroskleroze 2

1.1.2. Rizični čimbenici za nastanak ateroskleroze 7

1.2. Karotidna aterosklerotska bolest 10

1.2.1. Anatomija karotidnih arterija 10

1.2.2. Patofiziologija karotidne aterosklerotske bolesti 13

1.2.3. Epidemiologija karotidne aterosklerotske bolesti i moždanog udara 13

1.2.4. Klinička slika karotidne aterosklerotske bolesti 13

1.2.5. Dijagnoza karotidne aterosklerotske bolesti 15

1.2.6. Liječenje karotidne aterosklerotske bolesti 19

1.2.6.1. Medikamentozno liječenje 19

1.2.6.2. Karotidna endarterektomija (CEA) 20

1.2.6.3. Karotidni stenting (CAS) 24

1.3. Helicobacter pylori 26

1.3.1. Karakteristike bakterije Helicobacter pylori 26

1.3.2. Dijagnoza infekcije bakterijom Helicobacter pylori 31

1.3.3. Helicobacter pylori i aterosklerotska bolest 32

2. HIPOTEZA 34

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 35

4. ISPITANICI I PLAN ISTRAŽIVANJA 36

4.1. Ispitanici 36

4.2. Plan istraživanja 38

5. METODE ISTRAŽIVANJA 41

5.1. Neurološki pregled 41

5.2. Ultrazvučni pregled karotidnih arterija 42

5.3. Serološka analiza 44

5.4. Histološka i imunohistokemijska analiza 45

5.5. Statističke metode 45

6. REZULTATI 46

7. RASPRAVA 67

8. ZAKLJUČCI 76

9. SAŽETAK 77

10. SUMMARY 78
11. LITERATURA 79
12. ŽIVOTOPIS 91
13. PRILOZI 92
Prilog 1 Obavijest o istraživanju za zdravog ispitanika
Prilog 2 Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju zdravog ispitanika
Prilog 3 Obavijest o istraživanju za ispitanika
Prilog 4 Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju ispitanika
Prilog 5 Test lista ispitanika

POPIS KRATICA

oxLDL	oksidirani lipoprotein male gustoće (engl. *low density lipoprotein*)
HSP	Heat-shock proteini (engl. *heat shock protein*)
CRP	C reaktivni protein
IMT	debljina kompleksa intime i medije (engl. *intima media thickness*)
TIA	tranzitorna ishemijska ataka
CTA	CT angiografija
MRA	MR angiografija
CEA	karotidna endarterektomija (engl. *carotid endarterectomy*)
CAS	karotidni stenting (engl. *carotid stenting*)
HP	Helicobacter pylori
CagA	citotoksin pridružen gen A (engl. *cytotoxin associated gene A*)
cagPAI	citotoksin pridružen gen A patogenetski otočić (engl. *cytotoxin associated gene A pathogenetic island*)
VacA	vakuolizirajući citotoksin A
CMV	Cytomegalovirus
NIHSS	National Institute of Health Stroke Scale
ELISA	enzimski imunotest (engl. *Enzyme linked immunosorbent assay*)
ACC	zajednička karotidna arterija
ACI	unutarnja karotidna arterija
ACE	vanjska karotidna arterija
PSV	vršna sistolička brzina (engl. *peak sistolic velocity*)

1. UVOD

Ateroskleroza je bolest velikih i srednje velikih arterija, obilježena endotelnom disfunkcijom, vaskularnom upalom te nakupinama lipida, kolesterola, kalcija i staničnog sadržaja unutar intime stijenke krvne žile, posljedično dovodeći do stvaranja plaka, akutne i kronične luminalne opstrukcije, poremećaja protoka krvi i u konačnici oslabljene opskrbe kisikom ciljnih organa.

Aterosklerotska vaskularna bolest predstavlja glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u industrijaliziranim zemljama [1]. Najčešće posljedice ateroskleroze su ishemijska bolest srca, cerebrovaskularna oboljenja i gangrenozne promjene udova [2]. Dosadašnje epidemiološke studije aterosklerozu povezuju s različitim čimbenicima rizika kao što su arterijska hipertenzija, pušenje, šećerna bolest, hiperlipidemija, hiperkoagulopatije, hiperhomocisteinemija [3]. Ipak, niti jedan od poznatih čimbenika, bilo pojedinačno ili u kombinaciji s drugima, ne može u potpunosti objasniti nastanak i progresiju bolesti. Čini se da su u razvoj ateroskleroze uključeni i drugi čimbenici [4, 5].

1.1. Aterosklerotska bolest

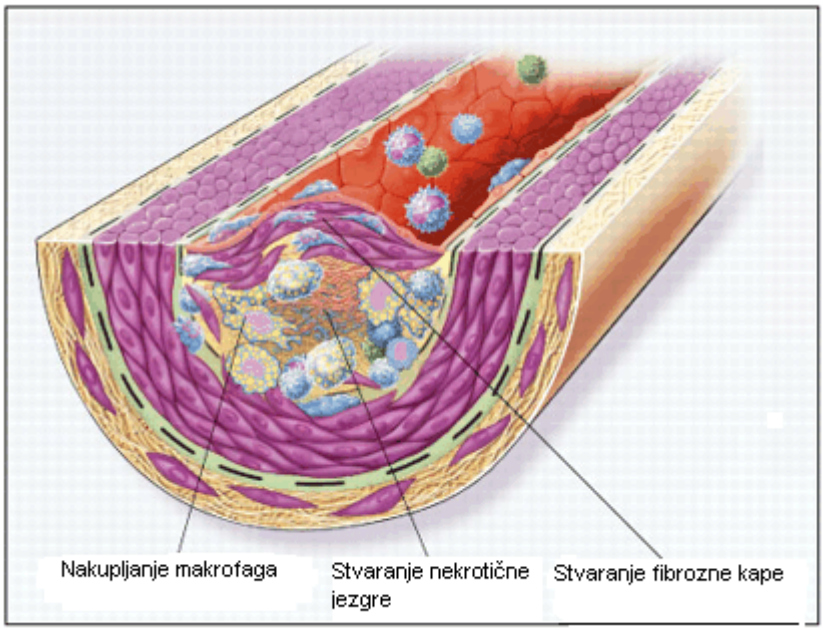
1.1.1. Patofiziologija ateroskleroze

Proces ateroskleroze predstavlja složenu i još uvijek nepotpuno jasnu interakciju nekoliko staničnih elemenata uključujući endotelne stanice, glatke mišićne stanice, trombocite i leukocite. Vazomotorička funkcija, trombogenost zida krvne žile, stanje aktiviranosti koagulacijske kaskade, fibrinolitički sustav, migracija i proliferacija glatkih mišićnih stanica uz staničnu upalu predstavljaju složene i međusobno povezane biološke procese koji dovode do aterogeneze i kliničkih manifestacija ateroskleroze.

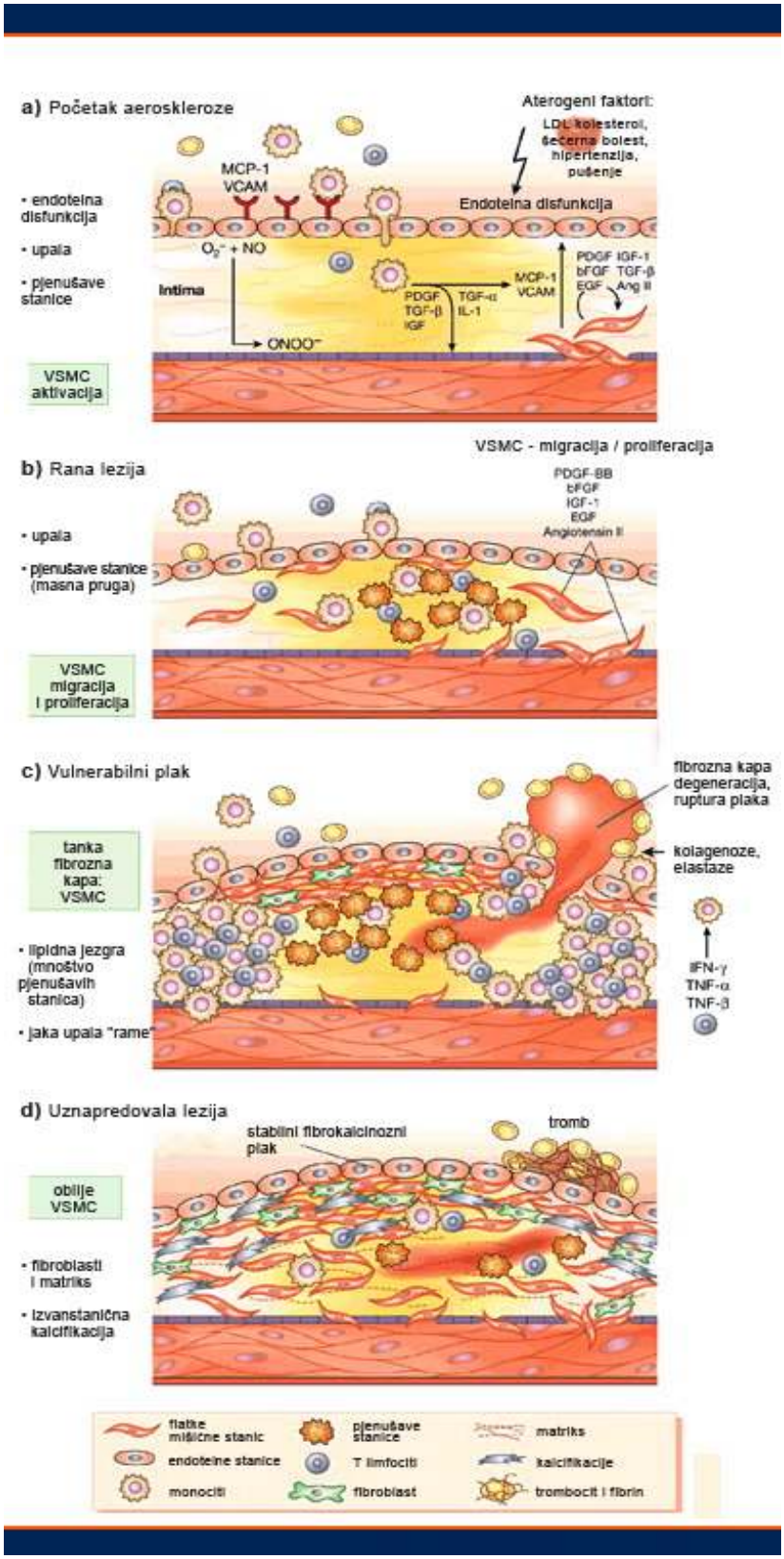
U procesu aterogeneze ključnu ulogu imaju upalne stanice, posebno T limfociti. Dio pomagačkih CD4+ T stanica prisutnih u aterosklerotskim plakovima [6, 7] reagira na pojedine autoantigene u plaku, od kojih su najznačajniji oksidirani LDL (oxLDL) i "heat shock proteini " (HSP) [7 - 9]. Taj proces dovodi do transformacije pomagačkih T limfocita u citotoksične T stanice te stimulira lučenje tkivnog faktora u makrofazima [9]. T limfociti infiltrirani u aterosklerotskom plaku aktiviraju cirkulirajuće proupalne citokine: interferon gama (INF gama), interleukin 12 (IL-12), interleukin 18 (IL-18) i tumor necrosis factor alfa (TNF alfa) [10], koji dalje stimuliraju makrofage [11, 12]. Makrofazi privučeni staničnim athezijskim molekulama i kemokinima na endotelnim stanicama ulaze u zid krvne žile izazivajući pretvorbu oxLDL u masne stanice karakteristične za ranu aterosklerozu [13,14]. Oksidirani LDL ima sposobnost toksičnog djelovanja te utjecaja na stijenku krvne žile dovodeći do paradoksalne vazokonstrikcije uslijed poremećene, o endotelu ovisne, dilatacije. Ti događaji posljedica su direktne inaktivacije nitričnog oksida uslijed pretjerane produkcije slobodnih radikala, smanjene transkripcije „messinger RNA“ (mRNA) za nitričnu oksid sintazu te posttranskripcijske destabilizacije mRNA. Smanjena razina nitričnog oksida povezana je i s povećanom adhezijom trombocita, porastom inhibitora aktivatora plazminogena, sniženjem aktivatora plazminogena, porastom tkivnog faktora, smanjenjem trombomodulina i promjenama heparin sulfat proteoglikana. Posljedice su stvaranje prokoagulantnog okruženja i formiranje trombocitnog tromba. Nadalje, oksidirani LDL aktivira upalne procese na razini transkripcije gena preko „up-regulacije” nuklearnog faktora kappa-B, ekspresije athezijskih molekula i gomilanja monocita/makrofaga. Dolazi do

indukcije brojnih gena u makrofazima, a time i produkcije tkivnog faktora, citokina i matrix metaloproteinaza (MMP) [15]. Jedna studija sugerira da hiperkolesterolinemijom inducirana neutrofilija infiltrira arterije primarno za vrijeme ranih stadija stvaranja aterosklerotske lezije [16]. Svi navedeni čimbenici uključeni su u progresiju ateroskleroze i destabilizaciju plaka.

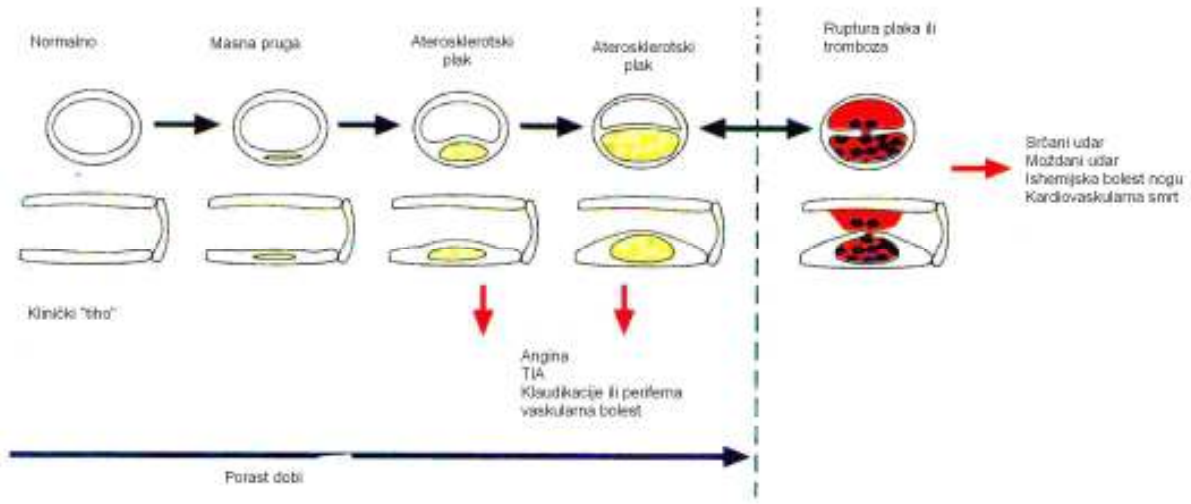
Najranija patološka lezija ateroskleroze je masna pruga. Vidljiva je u aorti i koronarnim arterijama u većine pojedinaca već u dobi od 20 godina. Masna pruga je posljedica fokalnog nakupljanja serumskih lipoproteina unutar intime stijenke krvne žile. Mikroskopski se vide nakupine makrofaga bogatih lipidima, T limfociti i glatke mišićne stanice. Masna pruga može progredirati do fibroznog plaka kao posljedica nakupljanja lipida te migracije i proliferacije glatkih mišićnih stanica. Aktivirani trombociti, makrofazi i disfunkcionalne endotelne stanice luče različite faktore rasta poput "inzulinlike growth factora", "transformirajućeg faktora rasta alfa i beta", trombina i angiotenzina II, predstavljajući glavno obilježje rane aterogeneze. Relativni nedostatak endotelnog nitričnog oksida potencira proliferaciju i sazrijevanje plaka. Nadalje, glatke mišićne stanice odgovorne su za odlaganje vanstaničnog vezivnog tkiva i formiranje fibrozne kape koja obavija srž ispunjenu masnim pjenušavim stanicama i nekrotičnim staničnim debrisom. Rast fibroznog plaka rezultira progresivnim suženjem lumena krvne žile, poremećajem protoka krvi i smanjenjem opskrbe kisikom ciljnih organa. Širenjem aterosklerotskog plaka i posljedičnim zahvaćanjem mikrovaskulature zvane vasa vasorum, moguća je pojava lokalnog krvarenja u vasa vasorum što pridonosi daljnjoj progresiji ateroskleroze [17]. Ruptura zaštitne fibrozne kape može rezultirati izlaganju trombogenog sadržaja središta plaka cirkulirajućoj krvi. To je uznapredovala ili komplicirana lezija. Upalne stanice uključujući ponajprije T limfocite i makrofage lokaliziraju se u rubno područje vulnerabilnog plaka. Ruptura plaka može rezultirati formiranjem tromba, djelomičnom ili kompletnom okluzijom krvne žile i daljnjom progresijom aterosklerotske lezije kao posljedica organizacije tromba i inkorporacije u sam plak (slika 1, 2, 3).



Slika 1. Aterosklerotski proces obilježen nakupljanjem makrofaga, stvaranjem nekrotične jezgre i fibrozne kape



Slika 2. Detaljan prikaz patofiziološkog procesa ateroskleroze



Slika 3. Prikaz kliničkih posljedica aterosklerotskog procesa koji u završnoj fazi pri rupturi ili trombozi plaka dovodi do pojave srčanog udara, moždanog udara, ishemijske bolesti nogu i kardiovaskularne smrti

1.1.2. Rizični čimbenici za nastanak ateroskleroze

Na temelju brojnih epidemioloških istraživanja poznati su rizični čimbenici za razvoj i progresiju ateroskleroze. Mogu se podijeliti na promjenjive i nepromjenjive i uključuju hiperlipidemiju, hipertenziju, pušenje, šećernu bolest, dob, spol. Nedavno su otkriveni dodatni rizični čimbenici koji pridonose prediktivnoj vrijednosti već utvrđenih rizičnih faktora i predstavljaju cilj budućih medicinskih djelovanja.

Hiperlipidemija je potvrđen rizični čimbenik za razvoj ateroskleroze. Sniženje serumskog kolesterola reducira rizik od koronarne bolesti srca i ukupne smrtnosti.

Hipertenzija je rizični čimbenik za razvoj ateroskleroze, aterosklerotske kardiovaskularne bolesti i moždanog udara. Točan mehanizam djelovanja nije u potpunosti jasan. Radi se o sindromu koji uz hipertenziju uključuje dodatne čimbenike poput hiperlipidemije, šećerne bolesti, debljine, fizičke neaktivnosti. Hipertenzija dovodi do morfoloških promjena endotela sličnih promjenama kao kod hiperkolesterolinemije i ateroskleroze. Endotelna disfunkcija je glavna karakteristika hipertenzije, hiperlipidemije i ateroskleroze i pridonosi prokoagulantnim, proupalnim i proliferativnim sastavnicama aterogeneze. Potvrđeno je da hipertenzija ubrzava aterosklerotsku vaskularnu bolest i povećava incidenciju kliničkih komplikacija.

Šećerna bolest je važan čimbenik rizika za razvoj ateroskleroze, često udružen s hipertenzijom, poremećajem koagulacije, athezijom i agregacijom trombocita, povećanim oksidativnim stresom te funkcionalnim i anatomskim abnormalnostima endotela.

Pušenje, kao poznati rizični čimbenik za razvoj ateroskleroze, dva do četiri puta povećava vjerojatnost razvoja koronarne srčane bolesti i dva puta povećava rizik od moždanog udara od nepušača [18]. Mehanizmi djelovanja su složeni i vjerojatno multifaktorski rezultirajući endotelnom disfunkcijom i hiperkoagulabilnim stanjem. Dokazano je da nakon prestanka pušenja, rizik mortaliteta i budućih srčanih događaja opada. Prema podacima "Third National Health and Nutritional Examination Survey" (NHANES III), dokazano je da pušenjem izazvani upalni odgovor nestaje unutar pet godina nakon prestanka pušenja, sugerirajući da kardiovaskularni rizik postupno pada smanjenjem izloženosti [19].

Debljina je također potvrđeni rizični čimbenik za razvoj ateroskleroze.

Zadnjih godina zagađenje zraka se prepoznaje kao promjenjivi rizični čimbenik u urbanom društvu [20]. Vjeruje se da je mehanizam djelovanja aktivacija proupalnih i direktno srčano toksičnih puteva preko sagorijevanjem potaknutih nanočestica.

U nedavno objavljenoj studiji, Pencina i suradnici izradili su algoritam predviđanja 30-godišnjeg rizika od koronarne smrti, srčanog infarkta ili moždanog udara, nazvanih "teški" kardiovaskularni događaji. Prospektivno 30-godišnje praćenje 4,506 sudionika Framingham kohortne skupine pokazalo je da standardni rizični čimbenici (muški spol, sistolički krvni tlak, antihipertenzivno liječenje, ukupni i HDL kolesterol, pušenje i šećerna bolest), mjereni na samom početku, značajno povećavaju incidenciju teške kardiovaskularne bolesti i ostaju istog značenja cijelim tijekom praćenja [21].

Navedni, od ranije dobro poznati rizični čimbenici, uspješno predviđaju budući kardiovaskularni događaj u oko 50-60% bolesnika. Zadnjih godina, uloženi su dodatni napori u identifikaciji novih rizičnih čimbenika za razvoj kliničkih posljedica ateroskleroze.

Lokalna i sistemska upala imaju važnu ulogu u genezi i razvoju aterosklerotskih lezija. C reaktivni protein (CRP) doprinosi prediktivnoj vrijednosti lipidnih parametara u određivanju rizika za kardiovaskularne i cerebrovaskularne događaje. Početne vrijednosti CRP također su prediktivne za razvoj simptomatske periferne vaskularne bolesti. CRP je marker sistemske upale, i ti rezultati potvrđuju hipotezu da kronična upala ima ulogu u patogenezi i progresiji ateroskleroze. Standardizacija CRP eseja je nužna prije kliničke primjene testa, a je li CRP uistinu promjenjivi rizični čimbenik ostaje nerazjašnjeno. Najraniji dokazi potvrđuju da modifikacija rizičnih čimbenika, prvenstveno upotreba aspirina i inhibitora hydroxymethylglutaryl coenzim A (HGM-CoA) reduktaze može reducirati upalu plaka [22]. U potvrdi hipoteze osim povišenih parametara upalne reakcije u krvi bolesnika s aterosklerozom stoje i rezultati histopatoloških istraživanja o karakteristikama nestabilnog plaka (tanka fibrozna kapa, manje glatkih mišićnih stanica i nakupine pjenušavih stanica i limfocita). Nadalje, nekoliko studija je pokazalo da upala ima ulogu u rupturi aterosklerotskog plaka, a još uvijek se istražuje potencijalna povezanost upale s nekih infektivnim čimbenicima [23 - 27].

Prema dosadašnjim kliničkim i istraživačkim opažanjima, različiti infektivni patogeni (uključujući Chlamydiu pneumoniae, Ebstein-Barr virus, Herpes simplex virus tip 2, Cytomegalovirus, Helicobacter pylori i druge) uključeni su u razvoj aterosklerotskih lezija kod bolesnika s koronarnom arterijskom bolesti i ishemijskim moždanim udarom [19, 28 - 30]. Utvrđena je povezanost progresije ateroskleroze mjerena porastom zadebljanje kompleksa intime i medije (IMT) i navedenih infektivnih uzročnika [31 - 33]. Nadalje, rađena su istraživanja o mogućem pozitivnom učinku antibiotske terapije na kliničko stanje kod kardiovaskularnog oboljenja [34]. Nedavno su objavljeni potencijalni mehanizmi djelovanja patogena Chlamydie pneumoniae i Cytomegalovirusa u procesu ateroskleroze [35, 36]. Kronične i akutne infekcije mogu potaknuti nastanak akutnog ishemijskog moždanog udara ubrzavajući proces ateroskleroze i dovodeći do imunohematoloških promjena. S druge strane, akutni moždani udar dovodi do imunosupresije i razvoja infekcije, najčešće komplikacije nakon razvoja moždanog udara [25, 37].

Fibrinogen može biti povišen povezano s rizičnim čimbenicima za aterosklerozu, uključujući pušenje, dob, prehranu; ipak nedavna istraživanja pokazuju da je fibrinogen snažan nezavisni pretkazatelj budućih kardiovaskularnih događaja.

Hiperhomocisteinemija povećava rizik od moždanog udara [38]. Ipak studije o bolesnicima s već utvrđenom vaskularnom bolesti nisu potvrdile da sniženje homocisteina vitaminskom terapijom B-kompleksa povoljno utječe na kardiovaskularnu i cerebrovaskularnu bolest.

1.2. Karotidna aterosklerotska bolest

Stari Grci prepoznali su važnost ekstrakranijske karotidne arterije i nazvali je prema grčkoj riječi karoo, što znači "skameniti". Gowers je 1875. godine opisao bolesnika s desnom hemiplegijom koju je objasnio okludiranom lijevom karotidnom arterijom. Hunt je 1914. godine opisao povezanost ekstrakranijske karotidne bolesti i moždanog udara koristeći naziv cerebralna intermitentna klaudikacija. Prve naznake o mogućem budućem operativnom liječenju moždanog udara javile su se 1951. godine kada je Fisher izjavio: "Jasno je da će jednog dana vaskularna kirurgija naći način za premoštenje okludirane arterije u slučaju jasnih kliničkih znakova". Eastcott, Pickering i Rob su 1954. godine objavili najranije rezultate uspješne kirurške resekcije karotidnog plaka i primarne anastomoze.

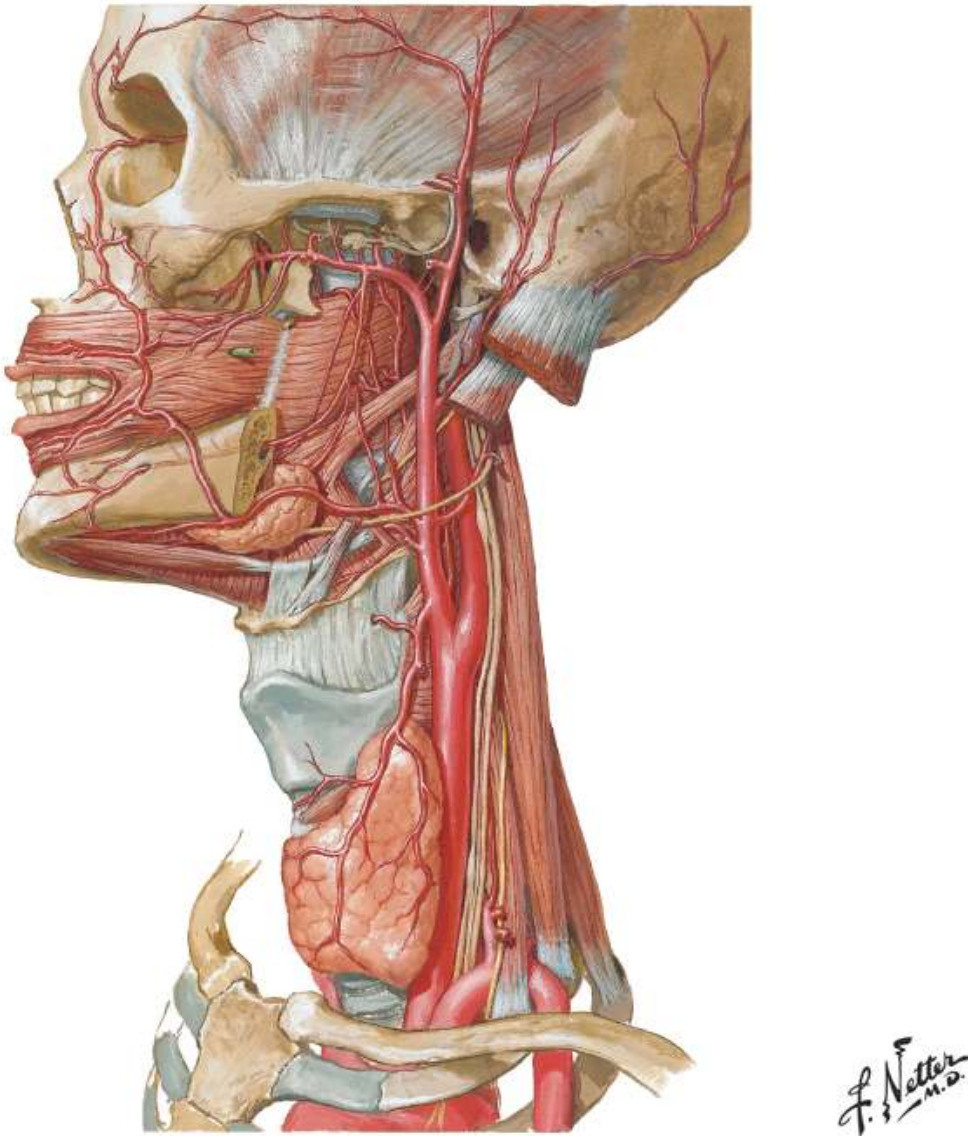
1.2.1. Anatomija karotidnih arterija

Anatomija aortnog luka i cervikalnih arterija koje opskrbljuju mozak podliježe brojnim varijacijama [39]. Iz luka aorte izlaze tri arterije koje hrane mozak: brahiocefalično stablo koje se dijeli na desnu zajedničku karotidnu arteriju i desnu arteriju subklaviju, zatim lijevu zajedničku karotidnu arteriju i lijevu arteriju subklaviju.

Zajednička karotidna arterija u vratnom dijelu obuhvaća prostor od sternoklavikularnog zgloba do štitne hrskavice, a iznad toga se dijeli na unutarnju karotidnu arteriju i vanjsku karotidnu arteriju. Nalazi se iza sternokleidomastoidnog mišića, medijalno od unutarnje jugularne vene i lateralno od dušnika, jednjaka i štitnjače.

Unutarnja karotidna arterija nastaje diobom zajedničke karotidne arterije obično u visini gornjeg ruba štitne hrskavice. Nastavlja se uzlazno, lateralno od vanjske karotidne arterije. Njoj medijalno se nalazi ždrijelo, a lateralno unutarnja jugularna vena i deseti kranijski živac. Vratni odsječak nema ogranaka. Zatim ulazi u karotični kanal sljepoočne kosti u kojem zavija prema naprijed i medijalno, izlazi preko fibrozne ploče i ulazi u kavernozni sinus, te probija duru mater medijalno od prednjeg klinoidnog nastavka, tako čineći intrapetrozni, intrakavernozni i supraklinoidni odsječak.

Neuroradiolozi obično intrakavernozni i supraklinoidni odsječak zajedno opisuju kao „karotidni sifon“ (jer je taj dio arterije zavijen u obliku slova „S“). Karotidni sifon daje niz malih ogranaka za bubnjište (rami caroticotympanici), kavernozni i donji petrozni sinus, polumjesečasti ganglij, hipofizu, te moždane ovojnice srednje lubanjske jame. Glavni ogranci supraklinoidnog odsječka su: oftalmička arterija, stražnja komunikantna arterija i prednja koroidalna arterija. Lateralno od hijazme vidnog živca, podijeli se unutarnja karotidna arterija na dva završna ogranka: manja prednja cerebralna arterija i veća srednja cerebralna arterija. Te dvije arterije primaju glavninu krvi iz unutarnje karotidne arterije, a prehranjuju prednju polovicu talamusa, korpus strijatum, korpus kalozum, najveći dio unutarnje čahure, lateralnu površinu sljepoočnog režnja te medijalnu i lateralnu površinu čeonog i tjemenog režnja (slika 4).



Slika 4. Anatomski prikaz karotidnog stabla (preslikano iz kompjuterske verzije Netterovog atlasa)

1.2.2. Patofiziologija karotidne aterosklerotske bolesti

Ekstrakranijska cerebrovaskularna bolest uključuje nekoliko poremećaja koje zahvaćaju arterije važne u opskrbi mozga. Embolizacija se smatra najvažnijim mehanizom nastanka ishemijskih cerebrovaskularnih lezija iz karotidnog stabla. Drugi potencijalni mehanizmi uključuju trombozu i usporen protok krvi.

1.2.3. Epidemiologija karotidne aterosklerotske bolesti i moždanog udara

Moždani udar je treći vodeći uzrok smrti u industrijaliziranim zemljama, najčešća neurološka dijagnoza koja zahtijeva hospitalizaciju [40] i vodeći uzrok dugotrajne onesposobljenosti [41]. Karotidna aterosklerotska bolest predstavlja važan uzrok moždanog udara i tranzitorne ishemijske atake. Bolesnici s karotidnom ekstrakranijskom cerebrovaskularnom bolesti imaju i povećan rizik od srčanog udara, periferne arterijske bolesti i smrti. Stoga je potrebno klinički definirati cerebralni i sistemski rizik.

1.2.4. Klinička slika karotidne aterosklerotske bolesti

Postoji povezanost između stupnja stenoze karotidne arterije i kliničke prezentacije karotidne cerebrovaskularne bolesti u simptomatskih [42] i asimptomatskih [43, 44] bolesnika, iako rezultati ovise o agresivnosti medikamentozne i intervencijske terapije. U NASCET studiji (North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial), bolesnici sa stenozom >70% razvili su moždani udar u 24% slučajeva kroz 18 mjeseci, a oni sa stenozom od 50% do 69% u 22% slučajeva kroz 5 godina [45]. Prema ACST studiji (Asymptomatic Carotid Surgery Trial) incidencija moždanog udara u asimptomatskih bolesnika sa stenozom >60% bila je 11.8% u 5 godina praćenja [46].

S obzirom da postoji nepotpuna povezanost stupnja stenoze karotidne arterije i pojave ishemijskih događaja, istražuju se i drugi potencijalni čimbenici rizika za razvoj moždanog udara.

Molekularni i stanični procesi odgovorni za sastav plaka [47 - 49] mogli bi imati važniju ulogu od stupnja stenoze u određivanju rizika od moždanog udara. Ipak, stupanj stenoze čini osnovu za većinu kliničkih odluka.

Smjernice za liječenje moždanog udara trebaju biti osnova akutnog zbrinjavanja bolesnika s fokalnim ishemijskim neurološkim simptomima [50]. Nakon postavljanja dijagnoze, stabilizacije bolesnika i početne terapije, potrebno je tragati za uzrokom i patofiziologijom događaja te odrediti rizične čimbenike [50 - 53].

Rizik od moždanog udara kod bolesnika s TIA-om doseže 13% u prvih 90 dana i do 30% unutar 5 godina [54 - 61]. U bolesnika s ishemijom u opskrbnom području stenozirane karotidne arterije, karotidna endarterektomija unutar 2 tjedna smanjuje rizik od moždanog udara [46, 62], no učinak operacije se smanjuje s vremenom nakon inicijalnog događaja [63].

Prolazna monookularna sljepoća (amaurosis fugax) uzrokovana je prolaznom redukcijom protoka krvi prema oku [64]. Najčešći uzrok je ateroskleroza ipsilateralne unutarnje karotidne arterije, a drugi uzroci uključuju stenozu ili okluziju karotidne arterije, disekciju, arteritis, radijacijski izazvanu arteriopatiju, embolizaciju, hipotenziju, intrakranijsku hipertenziju, glaukom, migrenu i vazospastičnu ili okluzivnu bolest oftalmičke arterije. Rizik od mogućeg moždanog udara povezan je s prisutnošću drugih rizičnih čimbenika kao što su arterijska hipertenzija, hiperkolesterolinemija, šećerna bolest i pušenje [65 - 67].

Intrakranijska arterijska stenoza može biti uzrokovana aterosklerozom, intimalnom fibroplazijom, vaskulitisom, adventicijskim cistama ili vaskularnim tumorima. Intrakranijska arterijska okluzija može se razviti na osnovi tromboze ili embolizacije iz srca, aorte, proksimalne ateromatozne bolesti karotidnih ili vertebralnih arterija ili paradoksalne embolizacije uslijed defekta srčanog septuma ili drugih desno-lijevih cirkulatornih shuntova. Kratkotrajni, stereotipni, ponavljajući simptomi kao dio prolazne cerebralne disfunkcije upućuju na mogući parcijalni epileptički napadaj, dok nefokalni neurološki znakovi uključujući prolaznu globalnu amneziju, akutnu konfuziju, sinkopu, izolirani vertigo, bilateralnu slabost i parestezije ne upućuju jasno na moguću ekstrakranijsku cerebrovaskularnu bolest. Mali udio bolesnika s teškom karotidnom stenozom može se prezentirati

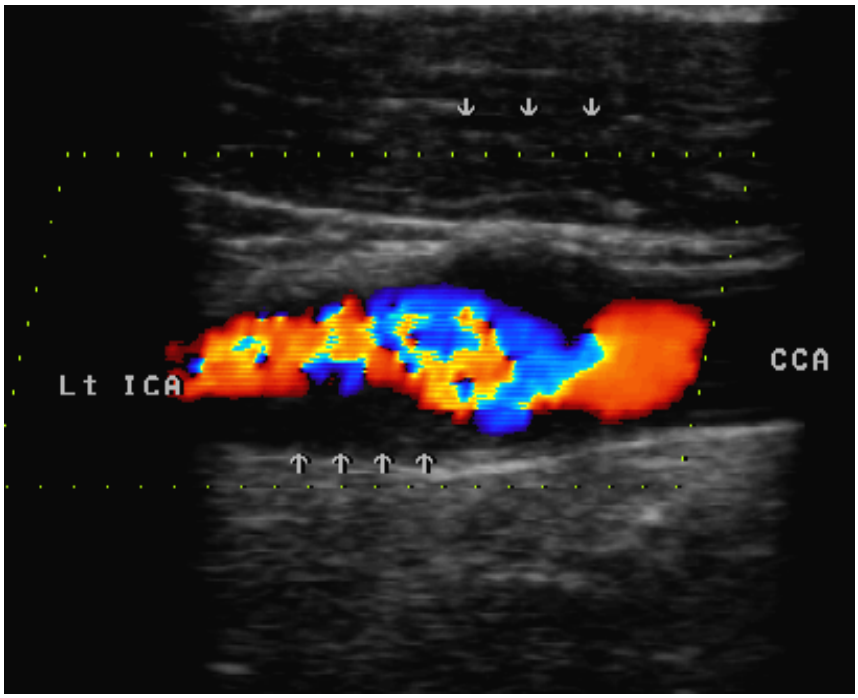
poteškoćama pamćenja, govora, sluha. Ako su simptomi prvenstveno osjetni, treba razmišljati o radikulopatiji, neuropatiji, mikrovaskularnoj cerebralnoj ili spinalnoj patologiji ili lakunarnom moždanom udaru.

1.2.5. Dijagnoza karotidne aterosklerotske bolesti

Stupanj stenoze određen prema angiografskim kriterijima primjenjivao se u NASCET studiji [42] i odgovara nalazu ultrasonografije [68], CT angiografije (CTA) i MR angiografije (MRA), iako neke metode mogu precijeniti stupanj stenoze. Indikacije za karotidnu sonografiju uključuju šum u području vrata u asimptomatskih bolesnika, praćenje od ranije poznate stenoze (>20%) u asimptomatskih pojedinaca, u bolesnika s višestrukim rizičnim čimbenicima za razvoj ateroskleroze, određivanje rizika od moždanog udara u bolesnika s koronarnom ili perifernom aterosklerotskom bolesti, "amaurosis fugax", hemisferalna TIA, moždani udar u kandidata za karotidnu revaskularizaciju, praćenje bolesnika nakon karotidne revaskularizacije i intraoperativno praćenje tijekom karotidne endarterektomije (CEA) i karotidnog stentiranja (CAS) [69].

Duplex ultrazvučna pretraga ne mjeri direktno stupanj stenotičke lezije već je brzina protoka krvi indikator težine stenoze**.** Vrijednost vršne sistoličke brzine u unutarnjoj karotidnoj arteriji i omjer vršne sistoličke brzine u unutarnjoj karotidnoj arteriji u odnosu na brzinu u ipsilateralnoj zajedničkoj karotidnoj arteriji korelira s angiografski utvrđenom stenozom.

Tipično, postoje dvije kategorije težine stenoze unutarnje karotidne arterije određene ultrazvučnom tehnikom, prva čini stenozu od 50% do 69%, praćenu porastom brzine protoka krvi zbog aterosklerotskog plaka i druga skupina sa stenozom od 70% do 99% predstavljajući ozbiljniju aterosklerotsku neokluzivnu bolest. Subtotalna arterijska okluzija ponekad se može zamijeniti za totalnu okluziju, a ponekad je teško razlikovati stenozu od 70% od stenoze manjeg stupnja, što sugerira potrebu primjene drugih vaskularnih slikovnih metoda (slika 5).



Slika 5. Prikaz protoka kroz stenozirano područje ACI obojenim doplerom. Vidljiv je suženi rezidualni lumen, a plak je vrlo niske ehogenosti

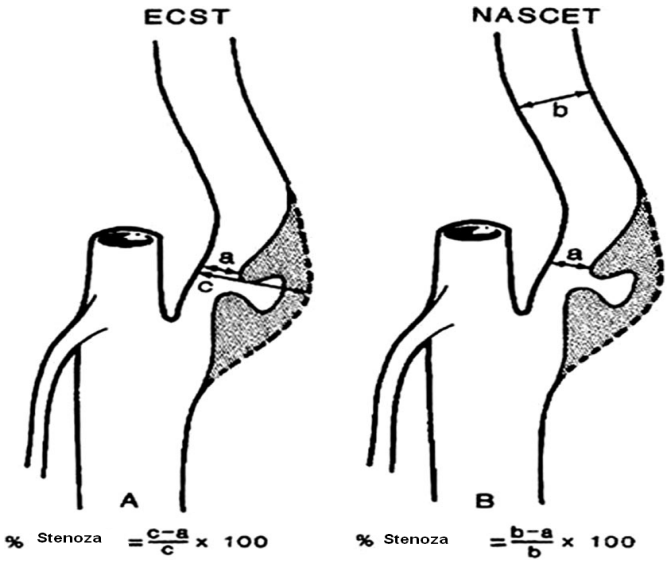
MR angiografija (MRA) može jasno prikazati anatomske odnose aortnog luka i cervikalnih i cerebralnih arterija [70] i može poslužiti za planiranje revaskularizacije bez izlaganja ionizirajućem zračenju. Među prednosti MRA u odnosu na ultrazvučnu pretragu i CT angiografiju (CTA) njezina je relativna neosjetljivost na arterijske kalcifikacije. Nedostaci su precjenjivanje stupnja stenoze, nemogućnost razlikovanja između subtotalne i potpune arterijske okluzije i nemogućnost pregleda bolesnika koji su klaustrofobični, pretjerano adipozni ili s ugrađenim nekompatibilnim sredstvima.

CTA omogućuje direktni prikaz arterijskog lumena i rezultati su usporedivi s kateterskom angiografijom u evaluaciji bolesnika s ekstrakranijskom cerebrovaskularnom bolesti. Potreba ionizirajućeg kontrastnog sredstva zahtijeva adekvatnu bubrežnu funkciju. Kao kod sonografije, jako kalcificirane lezije onemogućuju točno određivanje stupnja stenoze i ponekad razlikovanje subtotalne od potpune arterijske okluzije [71]. Adipozni i nemirni bolesnici su neprikladni za potpunu točnost pretrage, ali pacemakeri i defibrilatori nisu kontraindikacija za CTA.

Konvencionalna digitalna angiografija je standard s kojim se uspoređuju druge slikovne vaskularne metode u pregledu bolesnika s ekstrakranijskom cerebrovaskularnom bolesti (slika 6). Postoji nekoliko metoda za mjerenje stenoze unutarnje karotidne arterije (slika 7), ali metoda primjenjena u NASCET studiji se najčešće koristi. Važno je naznačiti metodologiju korištenu u pregledu pojedinog bolesnika s karotidnom bolešću, ali i u određivanju točnosti drugih neinvazivnih slikovnih tehnika. Nedostaci angiografije su njezin trošak i pridruženi rizici. Najteža komplikacija je moždani udar, incidencija je <1% ako pretragu izvodi iskusan liječnik [72 - 79]. Angiografija može biti metoda izbora ukoliko postoji izrazita adipoznost, renalna disfunkcija ili feromagnetični materijal s nemogućnošću izvođenja CTA ili MRA i ukoliko neinvazivne metode daju proturječene rezultate. Ipak, u praksi je nepotrebna u većini bolesnika s ekstrakranijskom cerebrovaskularnom bolesti i najčešće se koristi u terapijske svrhe tijekom revaskularizacije putem CAS metode.



Slika 6. Prikaz stenoze početnog dijela unutarnje karotidne arterije konvencionalnom angiografijom



Slika 7. Angiografske metode u određivanju stupnja karotidne stenoze. ECST označava „European Carotid Surgery Trial", a NASCET "North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial"

1.2.6. Liječenje karotidne aterosklerotske bolesti

1.2.6.1. Medikamentozno liječenje

Najbolje medikamentozno liječenje bolesnika s karotidnom stenozom uključuje liječenje hipertenzije, šećerne bolesti, poremećaja lipidnog statusa, promjenu stila život, antitrombocitnu terapiju.

Dobro je poznata povezanost između krvnog tlaka i pojave moždanog udara [80 - 82], te da antihipertenzivna terapija reducira taj rizik [83]. Epidemiološke studije, uključujući ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) [84], Cardiovascular Health Study [85] pokazale su udruženost hipertenzije i karotidne ateroskleroze. U bolesnika koji su doživjeli ishemijski moždani udar, kombinacija inhibitora angiotenzin-konvertirajućeg enzima perindoprila i diuretika (indapamida) smanjila je rizik od ponavljajućih ishemijskih događaja u 6105 sudionika u PROGRESS (Preventing Strokes by Lowering Blood Pressure in Patients With Cerebral Ischemia) studiji (smanjenje relativnog rizika za 28%) [86]. Zaštitna vrijednost snižavanja tlaka čak i u slučaju bez hipertenzije dokazana je u HOPE studiji (Heart Outcomes Protection Evaluation) [87]. Ipak, u simptomatskih bolesnika s teškom stenozom karotidne arterije nije poznat učinak antihipertenzivne terapije zbog potencijalne opasnosti od redukcije cerebralne perfuzije.

Pušenje povećava rizik od ishemijskog moždanog udara za 25-50% [88 - 94]. Rizik od moždanog udara opada unutar 5 godina u onih koji su prestali pušiti [89, 91].

U Framingham Heart Study, relativni rizik od karotidne stenoze >25% je bio oko 1.1 za svakih 10 mg/dL porasta ukupnog kolesterola [95]. U randomiziranoj SPARCLE (Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels) studiji, atorvastatin (80 mg dnevno) smanjio je apsolutni rizik od moždanog udara nakon 5 godina za 2.2% [96]. U Heart Protection Study, došlo je do 50% redukcije potrebe za CEA u bolesnika randomiziranih na statinsku terapiju [97].

Rizik od ishemijskog moždanog udara povećava se za 2 do 5 puta u bolesnika sa šećernom bolesti [98 - 100]. U nekoliko studija pokazano je da intenzivna terapija spuštanja vrijednosti šećera u krvi u bolesnika s šećernom bolesti tipa I i II nije značajno utjecala na pojavnost ishemijskog moždanog udara [101 - 104]. U bolesnika sa šećernom bolesti bitno je kontrolirati ostale rizične čimbenike za razvoj

ateroskleroze. U UK-TIA studiji, liječenje hipertenzije bilo je uspješnije u suzbijanju ponovnog moždanog udara od regulacije glikemije [105]. Primjena statina u dijabetičara može biti učinkovita čak i u slučaju da vrijednosti lipida nisu povišene [106].

Antitrombocitna terapija reducira rizik od moždanog udara kod bolesnika s tranzitornom ishemijskom atakom ili prethodnim moždanim udarom [107]. Nema kontroliranih studija koje bi pokazivale bolje rezultate primjene drugih antitrombocitnih lijekova u odnosu na aspirin u prevenciji moždanog udara kod bolesnika s karotidnom aterosklerotskom bolesti. WARSS studija (Warfarin-Aspirin Recurrent Stroke Study) uspoređivala je aspirin i varfarin u sekundarnoj prevenciji moždanog udara [108]. U podgrupi bolesnika s teškom stenozom ili okluzijom velikih arterija, uključujući i karotidne arterije, nije dokazana veća učinkovitost varfarina u odnosu na aspirin nakon dvije godine uz isključenje bolesnika koji su imali tešku stenozu karotidne arterije indiciranu za operativni zahvat. Kombinacija klopidogrela i aspirina nije reducirala rizik od moždanog udara u usporedbi s pojedinačnom primjenom lijeka u MATCH studiji (Management of Atherotrombosis with Clopidogrel in High-Risk Patients) i CHARISMA studiji (Clopidogrel in High Atherotrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management and Avoidance) [109, 110]. Ipak, u ESPS-2 studiji (Second European Stroke Prevention Study), kombinacija aspirina i dipiridamola je bila učinkovitija od samog aspirina u bolesnika s prethodnom TIA-om ili moždanim udarom [111]. U PROFESS studiji (Prevention Regimen for Effectively Avoiding Second Stroke) nije nađena razlika učinkovitosti u prevenciji ponovnog moždanog udara, srčanog udara i vaskularne smrti uspoređujući kombinaciju dipiridamola i aspirina u odnosu na sam klopidogrel [112], uz češću pojavu krvarenja u bolesnika koji su uzimali dipiridamol i aspirin (4.1% u odnosu na 3.6%). Varijacije odgovora na klopidogrel osnovane na genetskoj osnovi i interakciji s drugim lijekovima zahtijevaju individualizirani pristup u selekciji bolesnika pogodnih za optimalnu prevenciju moždanog udara.

1.2.6.2. Karotidna endarterektomija (CEA)

Karotidna endarterektomija je kirurški postupak uklanjanja plaka iz karotidne arterije čime se proširuje lumen krvne žile i suzbijanja moguće embolizacije u svrhu prevencije moždanog udara.

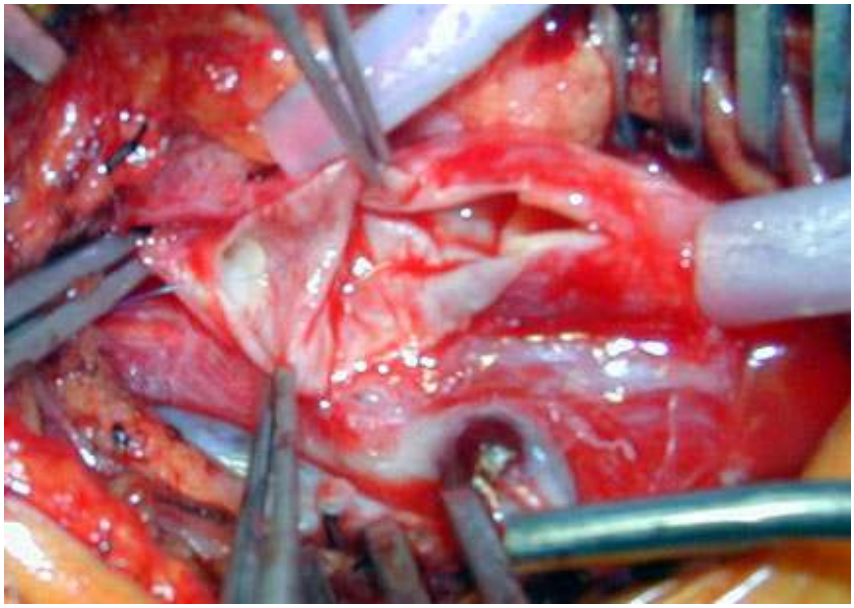
Postoje različite tehnike karotidne endarterektomije. U tradicionalnoj endarterektomiji, plak se odstranjuje putem longitudinalne arteriotomije. Everzijska endarterektomija je varijanta transverzalne arteriotomije uz reimplantaciju karotidne arterije (slika 8, 9, 10). Rezultati istraživanja pokazuju podjednaku učinkovitost obje metode bez obzira na primjenu primarnog zatvaranja ili "patch angioplastike" [113]. U svrhu sprečavanja restenoze većina kirurga koristi zakrpu od autologne vene ili umjetnog materijala kod zatvaranja arterije što reducira operativni rizik od moždanog udara i smrti za 60%, rizik od perioperativne okluzije arterije za 85% i dugotrajni rizik od restenoze za 80% [114]. Iako neki kirurzi rutinski primjenjuju intraluminalni shunt za vrijeme CEA, povećava se rizik od disekcije i širenja embolusa. CEA se tradicionalno provodi u općoj anesteziji, ali sve više se primjenjuje i lokalna anestezija. Nedavno objavljena velika randomizirana studija pokazala je da nema razlike u operativnom riziku od moždanog udara i smrti uspoređujući primjenu opće i lokalne anestezije [115].

Rezultati ECST (European Carotid Surgery Trial) i NASCET studije [45, 116] potvrđuju da je karotidna endarterektomija metoda izbora za liječenje umjerene i teške stenoze karotidne arterije u sekundarnoj prevenciji moždanog udara. Najvažniji rizici karotidne endarterektomije su smrtni ishod (1%) i moždani udar (oko 5%) [116, 117]. Analizom rezultata dosadašnjih studija o operaciji simptomatske karotidne bolesti, pokazano je da CEA reducira petogodišnji apsolutni rizik od moždanog udara i smrti u bolesnika sa stenozom od 50% do 69%, prema angiografskim NASCET kriterijima (apsolutna redukcija rizika 7.8%), a posebno je učinkovita kod stenoza od 70% do 99% (15.3%), ali bez pokazane koristi kod bolesnika s preokluzivnim stanjem [118]. Stoga se CEA smatra korisnom kod stenoza većih od 50% prema NASCET kriterijima, što je jednako stenozi od 65% prema ECST kriterijima. Stupanj stenoze je najvažniji čimbenik određivanja koristi od CEA, ali postoje i druge kliničke karakteristike koje utječu na rizike i koristi od operacije. Dokazano je da najviše koristi od CEA imaju muškarci, bolesnici stariji od 75 godina i bolesnici randomizirani unutar 2 tjedna od zadnjeg ishemijskog događaja [119]. CEA je učinkovitija u žena sa stenozom ≥70%, ali ne u žena sa stenozom od 50% do 69%. U isto vrijeme, CEA je reducirala apsolutni rizik za 8% u muškaraca sa stenozom od 50% do 69% [120].

U studijama o operativnom liječenju asimptomatske karotidne stenoze zaključeno je da iako operativno liječenje reducira incidenciju ispilateralnog moždanog udara, ukupni učinak je mali (oko 1% godišnje) [121 - 123], dok je perioperativna pojava moždanog udara i smrti oko 3%. Medikamentozno liječenje je najprikladnije za većinu asimptomatskih bolesnika; samo medicinski centri s perioperativnom stopom komplikacija do 3% mogu provoditi operativno liječenje u tih bolesnika. Bolesnici s visokom stopom rizika od moždanog udara (muškarci sa stenozom većom od 80% i očekivanim trajanjem života većim od 5 godina) mogu imati koristi od operacije [122, 123].



Slika 8. Prikaz karotidne arterije prije same karotidne endarterektomije



Slika 9. Prikaz karotidne arterije nakon karotidne endarterektomije i prije zatvaranja krvne žile



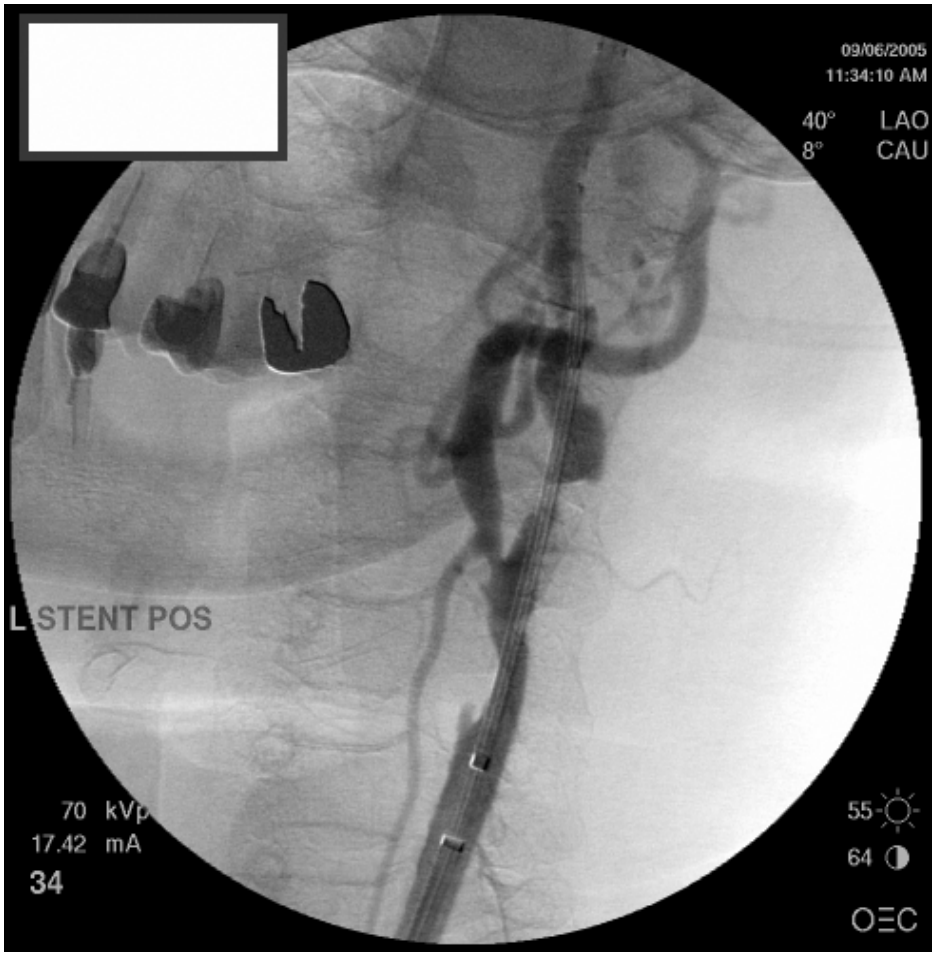
Slika 10. Karotidni aterosklerotski plak dobiven nakon karotidne endarterektomije

1.2.6.3. Karotidni stenting (CAS)

Nekoliko je studija uspoređivalo CAS i CEA u sekundarnoj prevenciji moždanog udara [124 - 130]. Nijedna od tih studija nije bila adekvatno provedena u svrhu dokazivanja učinkovitosti stentinga u odnosu na endarterektomiju. Većina studija je dizajnirana da dokaže ne-inferiornost stentinga prema endarterektomiji prateći rane rizike samih postupaka. Potvrđeno je da CAS nije jednako siguran kao CEA u bolesnika sa simptomatskom stenozom karotidne arterije. Nedavne meta-analize o usporedbi te dvije metode zaključile su da CEA treba ostati prva linija terapije u simptomatskih bolesnika standardnog rizika [131 - 133].

Rizik ipsilateralnog moždanog udara u perioperativnom razdoblju je nizak (<1% godišnje) i sličan uspoređujući CAS i CEA, što upućuje da je stenting jednako učinkovit kao endarterektomija u prevenciji ispilateralnog moždanog udara tijekom prve 4 godine poslije zahvata [127, 128, 130, 134, 135]. Incidencija ponavljane karotidne stenoze može biti značajno veća nakon CAS u odnosu na CEA [136], stoga je potrebno dugoročno praćenje učinaka karotidnog stentiranja, a posebno pojave restenoze.

Karotidna perkutana transluminalna angioplastika i stenting preporučuju se samo pojedinim grupama bolesnika. Primjena treba biti ograničena na bolesnike s teškom simptomatskom karotidnom stenozom: koji su kontraindicirani za karotidnu endarterektomiju, sa stenozom kirurški nedostupnog mjesta, restenozom nakon CEA i postradijacijskom stenozom. Postupak se mora provoditi samo u specijaliziranim CAS centrima s iskusnim intervencijskim radiolozima i poznatim periproceduralnim rizikom od komplikacija manjim od 6% (slika 11). Karotidna angioplastika, s ili bez stentinga se ne preporučuje u bolesnika s asimptomatskom karotidnom stenozom.



Slika 11. Prikaz postavljanja stenta u unutarnju karotidnu arteriju

1.3. Helicobacter pylori

1.3.1. Karakteristike bakterije Helicobacter pylori

Helicobacter pylori (H. pylori) je Gram-negativna, spiralna, mikroaerofilna bakterija, širine 0.3 do 1 μm, duljine 1.5 do 5 μm, zaobljenih polova (slika 12, 13). Primarno je nazvana Campylobacter pyloridis, ali kasnije je predložena nova podjela i danas je bakterija H. pylori klasificirana u obitelj Helicobacterijacija, rod Helicobacter [137 - 139]. Ovaj mikroorganizam živi u želučnoj sluznici, prileţeći na želučanom epitelu u više od 50% cjelokupne ljudske populacije [138 – 140] (slika 14, 15). Želučana kolonizacija bakterijom H. pylori potiče kroničnu želučanu upalu u svih inficiranih pojedinaca, s kliničkim znakovima u 10-20% [137 - 142]. Otkriće povezanosti H. pylori s bolestima želuca i dvanaesnika dovelo je do Nobelove nagrade za područje fiziologije i medicine dvojici australskih istraţivača, Barry J Marshallu i J Robin Warrenu, 2005-e godine [139].

Infekcija bakterijom H. pylori udruţena je s bolestima gornjeg probavnog sustava u ljudi, uključujući peptički ulkus (želučani i ulkus dvanaesnika), akutni, kronični i atrofični gastritis, intestinalnu metaplaziju, adenokarcinom želuca i B-stanični limfom želuca [137 - 143]. Povezanost s karcinomom želuca pridonijela je odluci Svjetske Zdravstvene Organzacije (WHO) da je ta bakterija karcinogen I. stupnja [144, 145].

Iako se stopa infekcije H. pylori zadnjih godina snizila, posebno u razvijenim zemljama, kao posljedica primjene eradikacijskih terapija kao i poboljšanja higijene i uvjeta ţivljenja, ova bakterija i dalje predstavlja važan ljudski patogen, osobito u zemljama u razvoju [137 - 143]. Smatra se da je tamo inficirano od 50-90% populacije. Naime, niski socio-ekonomski status tijekom djetinjstva pridonosi pojavi infekcije H. pylori [146 - 148]. U razvijenim zemljama, čini se da se infekcija bakterijom H. pylori ne stječe preko okoline, i osobe ispod 40 godina starosti su obično neinficirane ili je prevalencija infekcije mala (5-20%) [149].

Prijenos infekcije H. pylori je vjerojatno fekalno-oralnim putem, na što upućuje i dokaz organizma u zaraţenoj vodi [150]. H. pylori preţivljava neko vrijeme u želučanom soku. Svi mi ponekad, s vremena na vrijeme, imamo blagi refluks, zbog čega ne iznenađuje prisutnost DNA bakterije u ustima, na primjer u dentalnom plaku [145, 151]. Nedavna promatranja dobrovoljaca inficiranih

H. pylori, kod kojih je izazvano povraćanje ili proljev, pokazuju da bi osobe s tim simptomima mogle širiti H. pylori u neposrednu blizinu preko aerosola, inficiranog povraćanog ili proljevastog sadržaja [152]. Stoga se smatra da je glavni put širenja infekcije H. pylori fekalno-oralnim putem, ali moguće i oralno-oralnim putem ili širenjem inficiranih izlučevina.

H. pylori proizvodi velike količine enzima ureaze. Razgrađujući ureju u želučanom soku i vanstaničnoj tekućini, sposoban je stvarati bikarbonate i amonijak u svom unutarstaničnom i peristaničnom okruženju, učinkovito neutralizirajući vodikove ione prije nego što oni uspiju sniziti unutarstanični pH ispod 5.0. Stoga, u prisutnosti ureje, H. pylori može neko vrijeme preživjeti u želučanoj kiselini – dovoljno dugo da kolonizira želučanu sluznicu [153]. Vanjska površina H. pylori prekrivena je athezijskim molekulama privučenih specifičnim receptorima na želučanim epitelnim stanicama. Prirodno stanište H. pylori je želučana sluznica, područje sluz-secernirajućih epitelnih stanica. Organizam se može pronaći i u dvanaesniku, gdje kolonizira otočiće epitela (gastrična metaplazija).

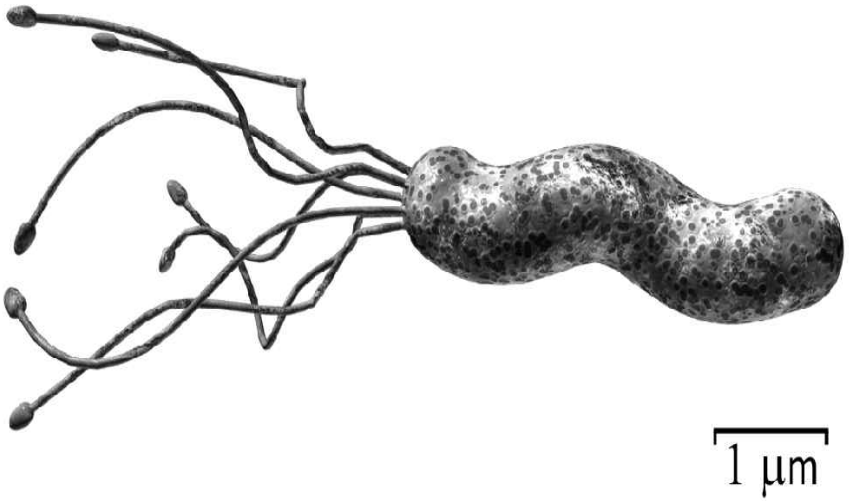
Jednom privučen želučanim epitelnim stanicama, H. pylori može izazvati oštećenje epitela stvarajući amonijak, ali i vakuolizacijom epitelnih stanica. Vakuolizacija je izazvana citotoksinom nazvanim vakuolizirajući citotoksin A (VacA), protein koji endocitozom ulazi u epitelne stanice i tamo izaziva endosomsko-lizosomsku fuziju (vakuole) [154]. Postoji više vrsta citotoksina, agresivniji oblici povezani su s peptičkim ulkusom, a blaži oblici s gastritisom u ljudi koji nemaju simptome ili ulkusnu bolest [155]. Zanimljivo je da se taj citotoksin aktivira pri niskom pH [156].

Drugi važan patogeni čimbenik je citotoksin pridružen gen (cagA) koji kodira CagA, jednog od prvih proteina povezanih s virulencijom H. pylori [157 - 160]. Nalazi se unutar otočića od oko trideset gena, vjerojatno stečenog od drugog organizma pošto se sadržaj gvanina i citozina u tom otočiću razlikuje od ostatka H. pylori genoma [161]. Većina gena u cagA patogenetskom otočiću (cagPAI) je dio strukture nazvane „Tip IV“ sekrecijski sustav. Njena važnost je u sposobnosti stvaranja tubula kroz koji se CagA protein prenosi do epitelnih stanica domaćina [162]. Ulaskom u stanicu, započinje fosforilacija tirozina unutar CagA proteina, a time i stanična signalizacija preko „faktora rasta“. To dovodi do sloma sposobnosti epitelnih stanica da zadrže svoju normalnu citoskeletalnu strukturu,

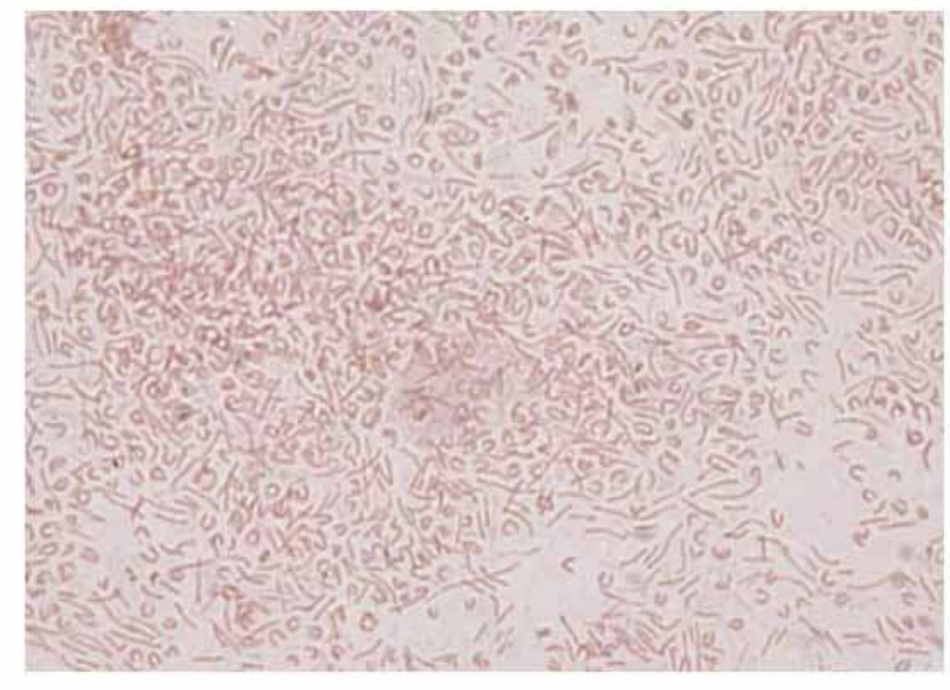
vjerojatno pojačavajući atheziju i preživljenje susjednog H. pylori [163]. Prisutnost CagA proteina povezuje s s teškim gastritisom, povećanim rizikom od peptičkog ulkusa, atrofičnog gastritisa i karcinoma želuca, osobito u zapadnoj populaciji [164 - 174]. H. pylori preko CagA utječe na imunološki sustav domaćina. Naime, T stanice u želučanoj sluznici H. pylori inficiranih bolesnika prepoznaju CagA [175, 176]. I uistinu, Th1 polarizacija imunološkog sustava na CagA i druge H. pylori antigene povezana je s perzistiranjem infekcije i pojavom ulkusne bolesti [177]. Osim toga, cag PAI također sadrži gene koji potiču stvaranje interleukina 8 (IL-8) u epitelnim stanicama. IL-8 privlači neutrofile koji migriraju iz kapilara kroz laminu propriju i nakupljaju se između epitelnih stanica [178, 179].

Naslanjajući se na navedene postavke, postoje istraživanja koja pokazuju da bi neki antigeni bakterije H. pylori mogli biti uključeni u ukrižene imunološke odgovore molekularne mimikrije s antigenima domaćina. Na primjer, Amedei i suradnici pokazali su da kod H. pylori inficiranih bolesnika s autoimunim gastritisom, aktivirani CD4 T limfociti prepoznaju vlastite i proteinske antigene bakterije H. pylori [180]. Liposaharidi bakterije H. pylori također se spominju kao makromolekule uključene u toksičnost i imunogenost. Aktivacija prirođene imunosti povezana je s prisutnošću oligosaharida, koji pokazuju strukturne i imunološke sličnosti s ljudskim antigenima [181].

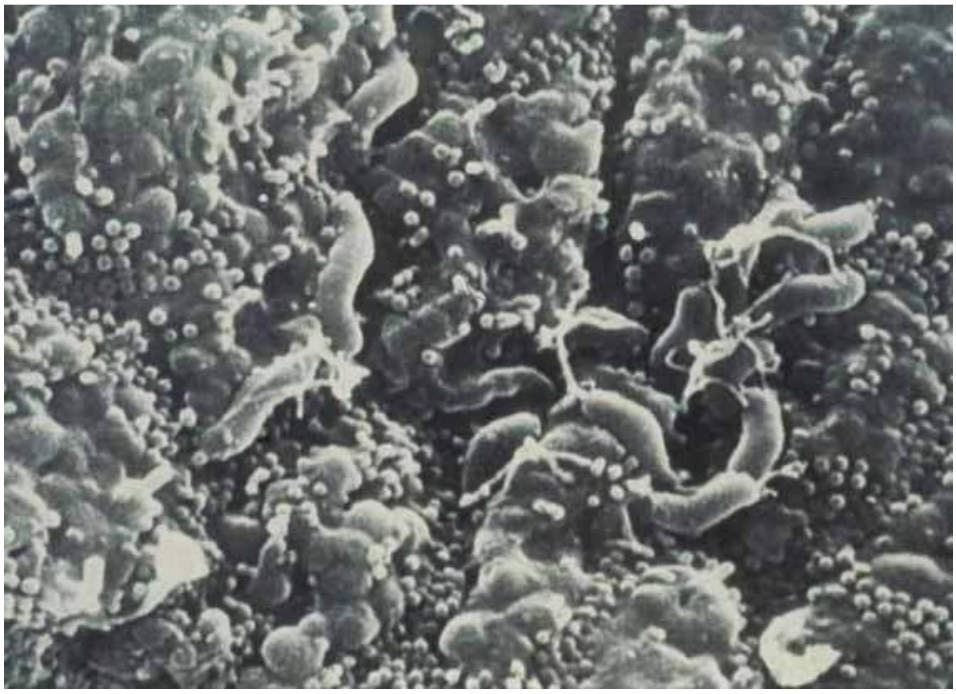
Osim dobro utvrđene povezanosti infekcije bakterijom H.pylori s razvojem gastritisa i peptičke ulkusne bolesti, ali i MALT (mucosa associated lymphoid tissue) limfoma [182, 183] i karcinoma želuca [184, 185], postoje pretpostavke o uključenosti infekcije H. pylori u razvoju drugih bolesti probavnog sustava kao što su idiopatska ahalazija [186], celijačna bolest [187], kolorektalna neoplazma [188], bolest žučnih kamenaca [189, 190], primarna bilijarna ciroza i primarni sklerozirajući kolangitis [191]. Dosadašnje spoznaje govore za mogućnost povezanosti infekcije H. pylori i brojnih bolesti izvan probavnog trakta, uključujući koronaritis, sideropeničnu anemiju, bolesti kože i reumatološka oboljenja [192]. Posebno je zanimljiva, još uvijek nedovoljno istražena povezanost s vaskularnim oboljenjima, prvenstveno ishemijskom bolesti srca i moždanim udarom [193, 194].



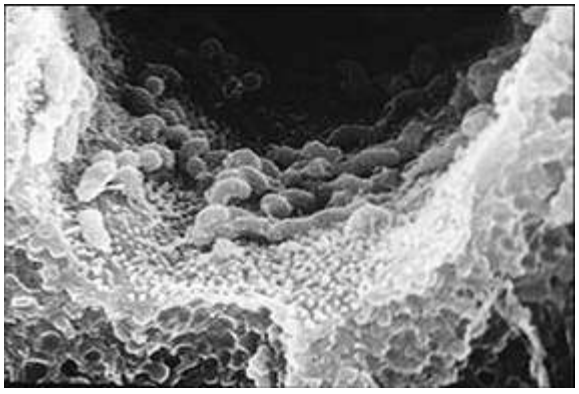
Slika 12. Trodimenzionalni prikaz bakterije Helicobacter pylori.



Slika 13. Prikaz bakterije Helicobacter pylori na preparatu bojenom po Gramu, dobivenog iz želučanog biopsijskog uzorka



Slika 14. Elektronsko fotomikroskopski prikaz kolonizacije želuca bakterijom Helicobacter pylori. Spiralna mikroaerofilna bakterija živi u sluznici koja oblaže želučani epitel.



Slika 15. Prikaz prijanjanja bakterije Helicobacter pylori na želučani sluznički epitel

1.3.2. Dijagnoza infekcije bakterijom Helicobacter pylori

Ureaza izdisajni test temelji se na detekciji razgradnih produkata ureje u organizmu. Zatraži se da bolesnik popije ureju obilježenu ugljičnim izotopom (C13 ili C14). Nakon 10-30 minuta, mjeri se koncentracija razine ugljika u izdisaju. Koncentracija je visoka samo ukoliko je u želucu prisutna ureaza. Pošto želudac nema sposobnost stvaranja ureaze, ta reakcija je moguća samo u prisutnosti H. pylori infekcije. Izdisajni test je skup, no postaje sve dostupniji. Drugi problemi uključuju lažno negativne rezultate kao posljedica infekcije oblicima H. pylori koji ne produciraju tolike količine ureaze ili kao posljedica uzimanja antibiotika, preparata bizmuta, blokatora histaminskih 2 receptora i inhibitora protonske pumpe.

Serologija na H. pylori ima visoku (>90%) specifičnost i osjetljivost. Trenutno se bazira na kvantifikaciji imunoglobulin G (IgG) protutijela protiv H. pylori temeljeno na enzimskom imunoeseju. Korisna je za detekciju novo inficiranih bolesnika, ali nije dobar izbor za praćenje liječenih bolesnika jer rezultati ne pokazuju sadašnju infekciju. Titar protutijela može ostati povišen dugo vremena nakon eradikacije H. pylori. Broj lažno pozitivnih rezultata raste s dobi bolesnika.

Antibiogram (antibiotski test osjetljivosti) u područjima s visokom stopom rezistencije na metronidazol i klaritromicin može biti od koristi [195, 196], ili se metronidazol i klaritromicin ne bi trebali preporučiti kao prvi lijek izbora.

Fekalni H. pylori antigenski test je baziran na monoklonskim protutijelima uzoraka stolice određenim imunokromatografski. Test je vrlo specifičan (98%) i osjetljiv (94%). Rezultati testa su pozitivni u početnim stadijima infekcije i mogu se koristiti za potvrdu eradikacije nakon terapije.

Ezofagogastruduodenoskopija (EGD) je često potrebna u bolesnika sa simptomima peptičke ulkusne bolesti, s ciljem da se uvidi stanje sluznice želuca i dvanaesnika i uzmu uzorci iz antruma želuca. Ehografija s pridruženom EGD je nužna u bolesnika s pozitivnom biopsijom na MALTom da bi se utvrdio točan stadij bolesti. Biopsijski uzorci dobiveni tijekom EGD, bojeni Giemsa bojilom, obično prikazuju različiti broj H. pylori organizama priljubljenih uz želučani epitel. Prikazuje se reducirana sluznica uz velike nakupine upalnih stanica (limfocita, neutrofila i MAST stanica) koje imaju važnu ulogu u patogenezi želučanog oštećenja u bolesnika s H. pylori infekcijom [197, 198].

Bakterijsku kulturu je teško dobiti i ne primjenjuje se u dijagnostičke svrhe.

Određivanje stadija infekcije H. pylori ne postoji, ali su opisani pojedini stupnjevi razvoja. Prvi stupanj je kronični gastritis, praćen razvojem atrofičnog gastritisa. Treći stupanj je intestinalna metaplazija koja može progredirati do displazije. Zadnji stupanj je razvoj želučanog adenokarcinoma. To je vrlo spor proces i može zastati u progresiji jer je za razvoj želučanog karcinoma potrebno više drugih čimbenika, a ne samo infekcija H. pylori.

1.3.3. Helicobacter pylori i aterosklerotska bolest

Sve je više pokazatelja da upalni i infektivni parametri imaju ulogu u razvoju ateroskleroze. Kao što je već dobro utvrđena povezanost infekcije bakterijom H. pylori i razvoja bolesti probavnog trakta, postoje dokazi povezanosti infekcije bakterijom H. pylori i različitih bolesti izvan probavnog sustava [192]. Iako je lista prilično dugačka, većina izvještaja je usredotočena na dvije specifične vaskularne bolesti: moždani udar i ishemijsku bolest srca. Potencijalni mehanizam objašnjenja patogeneze ateroskleroze, kao bolesti izvan probavnog sustava, uključuje aktivaciju sistemske imunološke reakcije potaknutu postojanjem lokalnog upalnog i imunološkog odgovora usmjerenog na bakteriju H. pylori u želucu [199, 200].

Još 1994. godine, Mendall i suradnici objavili su postojanje povećane prevalencije H. pylori infekcije u bolesnika s ishemijskom bolesti srca [201]. Nedugo zatim, Danesh i suradnici pokazali su povezanost između ishemijske bolesti srca i perzistirajuće infekcije H. pylori, C. pneumoniae i CMV [202]. I neke druge studije potvrdile su veću prevalenciju infekcije H. pylori u bolesnika s ishemijskom bolesti srca [203 - 209]. Ipak, postoje studije čiji rezultati ne pokazuju jasnu povezanost seroloških ili histoloških nalaza H. pylori i aterosklerotske bolesti [210 - 215].

Iz dosadašnjih spoznaja čini se da virulentni CagA pozitivni sojevi H. pylori imaju važniju ulogu u procesu aterosklerotske bolesti [216]. CagA-pozitivni sojevi bakterije H. pylori češće su prisutni u bolesnika s aterosklerozom karotidnih arterija i ishemijskim moždanim udarom nego u zdravoj populaciji, sugerirajući da bi pojačani imunološki odgovor izazvan tim sojevima mogao utjecati na

stvaranje i/ili aktivaciju plaka [217 - 222]. Preusch je utvrdio da je infekcija CagA pozitivnim sojevima Helicobacter pylori dodatni čimbenik rizika za razvoj moždanog udara [220]. Osim toga moguće je da CagA pozitivni sojevi H. pylori povećavaju rizik od ponavljajućeg aterosklerotskog moždanog udara [223]. Točan mehanizam kojim bi CagA-pozitivni sojevi mogli prodonijeti progresiji ateroskleroze još uvijek su nerazjašnjeni.

Predstavljeno je nekoliko mogućih patogenetskih modela u svrhu objašnjenja povezanosti infekcije H. pylori i ateroskleroze uključujući poremećaj lipidnog statusa, porast sistemskih upalnih markera, nastanak hiperkoagulabilnog stanja, promjene razine homocisteina, direktni utjecaj H. pylori na progresiju i nestabilnost aterosklerotskih plakova, te indukcija agregacije trombocita [224]. Posebno je zanimljiva autoimuna hipoteza moguće antigene mimikrije između antigena H. pylori i antigena unutar aterosklerotskog plaka. Postoje prve naznake da autoimuni mehanizmi sudjeluju u inicijaciji i progresiji ateroskleroze [225, 226]. Franceschi i suradnici [227] objavili su da anti-CagA protutijela reagiraju s antigenima unutar aterosklerotskog plaka u tibijalnim arterijama. Štoviše, pojačan imunološki odgovor protiv CagA-pozitivnih sojeva bakterije H. pylori mogao bi biti ključan u indukciji koronarne nestabilnosti potaknute antigenom mimikrijom između CagA antigena i antigena u koronarnim aterosklerotskim plakovima [228].

Iz navedenih dosadašnjih spoznaja ostaje otvoreno pitanje utjecaja infekcije bakterijom H. pylori na proces karotidne ateroskleroze, kao rizika za nastanak cerebrovaskularnog oboljenja. Do sada nije istražena incidencija infekcije H. pylori i udio virulentnih Cag A pozitivnih sojeva bakterije u skupini bolesnika s karotidnom bolesti na ovom zemljopisnom području. Potrebno je razjasniti povezanost anti-CagA protutijela i nestabilnosti karotidnog aterosklerotskog plaka. Osim toga, ostaje nejasan patogenetski mehanizam djelovanja kronične infekcije H. pylori na proces karotidne ateroskleroze, s posebnim osvrtom na mehanizam međudjelovanja antigena H. pylori i antigena unutar aterosklerotskog plaka.

2. HIPOTEZA

Cag A pozitivni sojevi bakterije Helicobacter pylori sudjeluju u nastanku i stabilnosti karotidnog aterosklerotskog plaka preko autoimunog mehanizma antigene mimikrije između CagA antigena i proteina u aterosklerotskom plaku.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

U smislu provjere navedene hipoteze postavljeni su sljedeći ciljevi istraživanja:

1. Istražiti prisutnost infekcije Helicobacter pylori u skupini bolesnika sa stenozom karotidne arterije, posebno u podskupinama bolesnika sa simptomatskom i s asimptomatskom stenozom karotidne arterije te u skupini zdravih ispitanika

2. Istražiti prisutnost CagA pozitivnih sojeva bakterije Helicobacter pylori u skupini bolesnika sa stenozom karotidne arterije, posebno u podskupinama bolesnika sa simptomatskom i s asimptomatskom stenozom karotidne arterije te u skupini zdravih ispitanika

3. Istražiti povezanost CagA antigena i simptomatske karotidne bolesti (stabilnosti karotidnog plaka)

4. Utvrditi postojanje autoimunog mehanizama međudjelovanja CagA antigena bakterije Helicobacter pylori i antigena unutar aterosklerotskog plaka karotidne arterije

4. ISPITANICI I PLAN ISTRAŽIVANJA

4.1. Ispitanici

U prvu skupinu uključeno je ukupno 64 bolesnika sa značajnom stenozom karotidne arterije. Oni su podijeljeni u dvije podskupine: prvu podskupinu činila su 33 bolesnika sa simptomatskom stenozom karotidne arterije (prethodni cerebralni ili retinalni ishemijski sindrom u opskrbnom području unutrašnje karotidne arterije stenozirane za ≥ 70%), a drugu podskupinu činio je 31 bolesnik s asimptomatskom stenozom unutrašnje karotidne arterije ≥ 70% (utvrđeno duplex ultrazvučnom pretragom). Svi bolesnici bili su predviđeni za operativni zahvat karotidne endarterektomije kao standardnog postupka prevencije moždanog udara.

U drugu, kontrolnu skupinu bilo je uključeno 65 ispitanika bez prisutnih ili suspektnih vaskularnih oboljenja. Pogodnost za ulazak u kontrolnu skupinu utvrđena je postojanjem negativne medicinske povijesti na srčane ili cerebrovaskularne bolesti, urednim 12-kanalnim EKG-om i ergometrijskim testiranjem (ukoliko je bilo potrebno prema anamnezi i bazalnom EKG-u) i stenozi karotidnih arterija <25% na Doppler ultrazvuku.

Svi bolesnici uključeni su u ispitivanje nakon postavljanja dijagnoze značajne stenoze karotidne arterije u Cerebrovaskularnom laboratoriju Klinike za neurologiju. Dijagnostički postupak asimptomatskih bolesnika proveden je u izvanbolničkim uvjetima (ambulantno), dok su simptomatski bolesnici pregledani na Klinici za neurologiju. U vrijeme uključenja u istraživanje, od svih ispitanika prikupljeni su demografski podaci, potencijalni rizični čimbenici za infekciju H. pylori (osobna anamneza peptičke ulkusne bolesti, kronični gastritis) i poznati rizični čimbenici za vaskularno oboljenje (arterijska hipertenzija, dijabetes, pušenje i hiperlipidemija).

Arterijska hipertenzija je definirana ukoliko je ispitanik imao dijastolički krvni tlak >90 mm Hg i/ili sistolički krvni tlak >140 mm Hg ili ukoliko je kronično (>6 mjeseci) uzimao antihipertenzivnu terapiju. Šećerna bolest je utvrđena ukoliko je razina šećera u krvi natašte u dva navrata bila > 6.4 mmol/L ili je ispitanik kronično (>6 mjeseci) uzimao hipoglikemijsku terapiju. Pušač je definiran u slučaju aktivnog pušenja ili apstinencije od pušenja <30 dana u vrijeme

uključenja u istraživanje. Hiperkolesterolemija je dijagnosticirana ukoliko je razina ukupnog serumskog kolesterola bila > 5 mmol/L ili je ispitanik kronično (>6 mjeseci) uzimao hipolipemijsku terapiju, hipertrigliceridemija ukoliko je razina triglicerida bila >2 mmol/L ili je ispitanik kronično (>6 mjeseci) uzimao hipolipemijsku terapiju. Pozitivna obiteljska anamneza na aterosklerotski moždani udar definirana je u slučaju da je ispitanik imao barem jednog prvog rođaka s preboljelim ishemijskim moždanim udarom.

Isključni kriteriji za ulazak u ispitivanje bili su nemogućnost davanja informiranog pristanka, dob manja od 18 godina, kardioembolijski moždani udar, prethodna eradikacijska terapija za H. pylori infekciju, anamneza karcinoma želuca, peptičkog ulkusa i teškog gastritisa.

Svi ispitanici obaviješteni su o istraživanju (Prilog 1, 3) te su pristupili istraživanju samo ako su pristali i potpisali suglasnost za sudjelovanje u istraživanju (Prilog 2, 4).

Istraživanje je provedeno u skladu sa institucijonalnim smjernicama i Helsinškom Deklaracijom i odobrena je od strane Etičkog povjerenstva ustanove gdje je istraživanje provedeno te Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta u Zagrebu.

4.2. Plan istraživanja

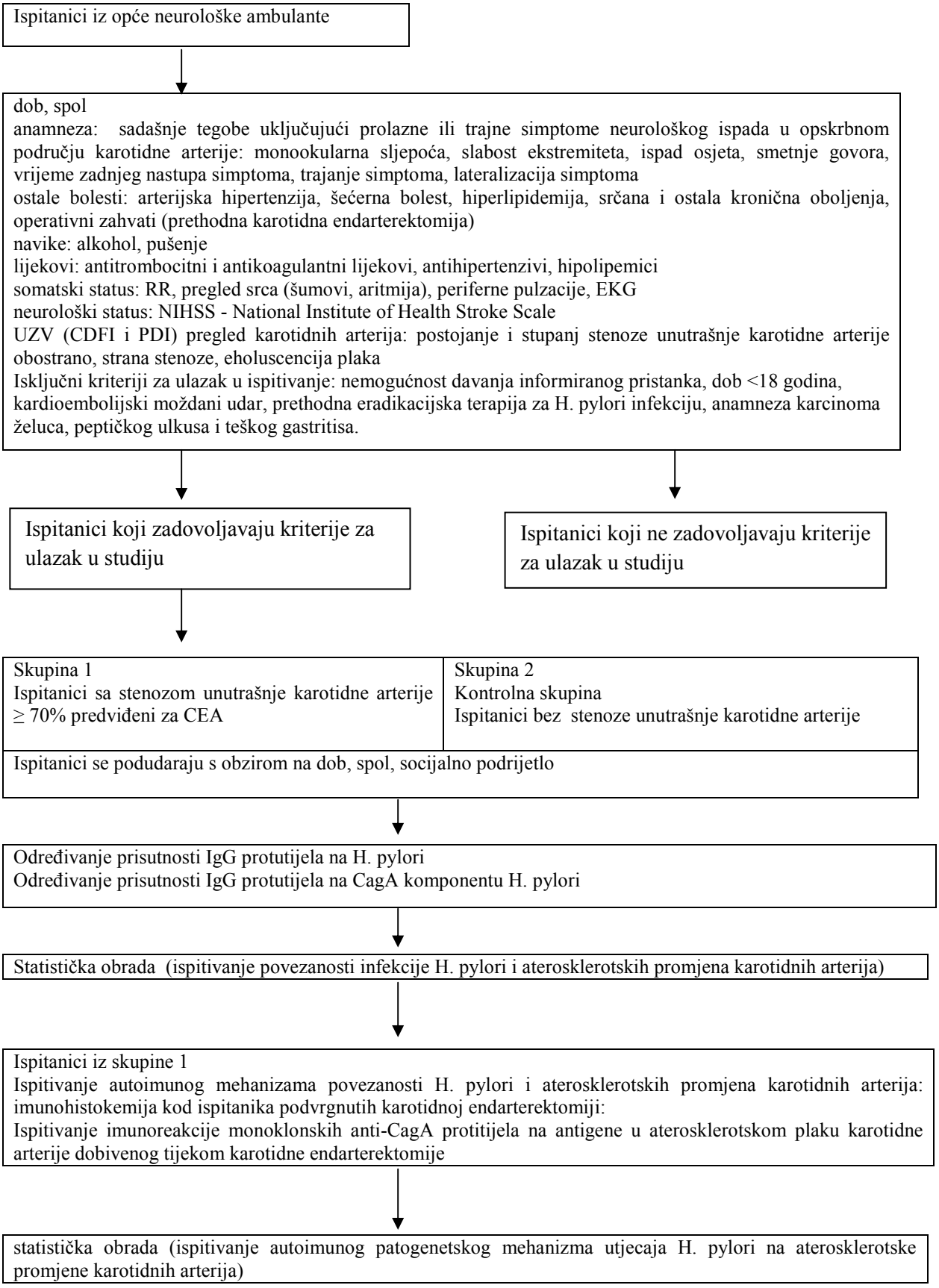
Svim ispitanicima određeni su dob i spol. Anamnestički su uzeti podaci o postojanju simptoma vezanih za opskrbno područje karotidne arterije (monookularna sljepoća, slabost ekstremiteta, ispad osjeta, smetnje govora), vrijeme zadnjeg nastupa simptoma, trajanje simptoma i lateralizacija simptoma. Zabilježeno je i postojanje drugih bolesti (arterijska hipertenzija, hiperlipidemija, šećerna bolest, srčana i ostala kronična oboljenja), prethodni operativni zahvati (prethodna karotidna endarterektomija), navike (pušenje, konzumiranje alkohola i droga), uzimanje lijekova (antitrombocitni i antikoagulantni lijekovi, antihipertenzivi, hipolipemici). U sklopu somatskog pregleda izmjeren je krvni tlak, učinjen srčani status (čujnost tonova, ritmičnost, šumovi), prisutnost perifernih pulzacija te EKG. Neurološki status je skoriran prema NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale). Ultrazvučnim pregledom karotidnih arterija (obojenim dupleks-dopler i power dopler) utvrđeno je postojanje stenoze unutrašnje karotidne arterije, stupanj stenoze, strana stenoze, eholuscencija plaka. Isključni kriteriji za ulazak u ispitivanje bili su nemogućnost davanja informiranog pristanka, dob <18 godina, kardioembolijski moždani udar, prethodna eradikacijska terapija za H. pylori infekciju, anamneza karcinoma želuca, peptičkog ulkusa i teškog gastritisa.

Prema navedenim uključnim i isključnim kriterijima te nalazu ultrazvučnog pregleda karotidnih arterija ispitanici su bili uključeni u studiju te podijeljeni u dvije skupine. Prvu skupinu činili su ispitanici sa značajnom stenozom unutrašnje karotidne arterije predviđeni za operativni zahvat karotidne endarterektomije. Drugu, kontrolnu skupinu činili su ispitanici bez prisutnih ili suspektnih vaskularnih oboljenja. Ispitanici su se podudarali s obzirom na dob, spol, socijalno podrijetlo (određeno prema očevom zaposlenju pri rođenju). Svaki ispitanik dobio je troznamnenkasti broj kako bi se osigurala anonimnost.

Svakom ispitaniku iz obje skupine učinjena je serološka analiza na prisutnost IgG protutijela na H. pylori i citotoksičnu komponentu bakterije (CagA) metodom ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). Provedena je statistička obrada dobivenih podataka kojom je utvrđeno postojanje razlike između skupina u svrhu ispitivanja povezanosti infekcije H. pylori, te citotoksičnih

CagA pozitivnih sojeva i aterosklerotskih promjena na karotidnim arterijama. Posebno je ispitana udruženost infekcije H. pylori i simptomatske stenoze unutrašnje karotidne arterije unutar prve skupine ispitanika.

Kod ispitanika predviđenih za karotidnu endarterektomiju (skupina 1), tijekom operativnog zahvata prikupljeni su uzorci karotidnog aterkosklerotskog plaka te je provedena imunohistokemijska obrada u svrhu ispitivanja autoimune reakcije antigene mimikrije između CagA antigena i antigena unutar karotidnog plaka. Provedena je statistička obrada s ciljem utvrđivanja autoimunog mehanizma utjecaja H. pylori na aterosklerotske promjene karotidnih arterija.


Ispitanici iz opće neurološke ambulante
dob, spol
anamneza: sadašnje tegobe uključujući prolazne ili trajne simptome neurološkog ispada u opskrbnom području karotidne arterije: monookularna sljepoća, slabost ekstremiteta, ispad osjeta, smetnje govora, vrijeme zadnjeg nastupa simptoma, trajanje simptoma, lateralizacija simptoma
ostale bolesti: arterijska hipertenzija, šećerna bolest, hiperlipidemija, srčana i ostala kronična oboljenja, operativni zahvati (prethodna karotidna endarterektomija)
navike: alkohol, pušenje
lijekovi: antitrombocitni i antikoagulantni lijekovi, antihipertenzivi, hipolipemici
somatski status: RR, pregled srca (šumovi, aritmija), periferne pulzacije, EKG
neurološki status: NIHSS - National Institute of Health Stroke Scale
UZV (CDFI i PDI) pregled karotidnih arterija: postojanje i stupanj stenoze unutrašnje karotidne arterije obostrano, strana stenoze, eholuscencija plaka
Isključni kriteriji za ulazak u ispitivanje: nemogućnost davanja informiranog pristanka, dob <18 godina, kardioembolijski moždani udar, prethodna eradikacijska terapija za H. pylori infekciju, anamneza karcinoma želuca, peptičkog ulkusa i teškog gastritisa.
Ispitanici koji zadovoljavaju kriterije za ulazak u studiju
Ispitanici koji ne zadovoljavaju kriterije za ulazak u studiju
Skupina 1
Ispitanici sa stenozom unutrašnje karotidne arterije ≥ 70% predviđeni za CEA
Skupina 2
Kontrolna skupina
Ispitanici bez stenoze unutrašnje karotidne arterije
Ispitanici se podudaraju s obzirom na dob, spol, socijalno podrijetlo
Određivanje prisutnosti IgG protutijela na H. pylori
Određivanje prisutnosti IgG protutijela na CagA komponentu H. pylori
Statistička obrada (ispitivanje povezanosti infekcije H. pylori i aterosklerotskih promjena karotidnih arterija)
Ispitanici iz skupine 1
Ispitivanje autoimunog mehanizama povezanosti H. pylori i aterosklerotskih promjena karotidnih arterija: imunohistokemija kod ispitanika podvrgnutih karotidnoj endarterektomiji:
Ispitivanje imunoreakcije monoklonskih anti-CagA protitijela na antigene u aterosklerotskom plaku karotidne arterije dobivenog tijekom karotidne endarterektomije
statistička obrada (ispitivanje autoimunog patogenetskog mehanizma utjecaja H. pylori na aterosklerotske promjene karotidnih arterija)

5. METODE ISTRAŽIVANJA

5.1. Neurološki pregled:

Svim ispitanicima učinjen je neurološki pregled, a deficit je ocijenjen upotrebom NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale), u prijevodu: Skala moždanog udara Nacionalnog zdravstvenog instituta

Radi se o standarnoj skali koja se rutinski primjenjuje za određivanje neurološkog deficita metodom neurološkog pregleda. Također se koristi u praćenju neurološkog ishoda i stupnja oporavka kod bolesnika s moždanim udarom. Skala određuje stupanj svijesti, ekstraokularne pokrete, vidna polja, funkciju ličnih mišića, snagu ekstremiteta, osjetnu funkciju, koordinaciju, govor, artikulaciju, zanemarivanje.

U prilogu 5 nalazi se navedena skala.

5.2. Ultrazvučni pregled karotidnih arterija (obojeni duplex dopler - CDFI i power dopler - PDI)

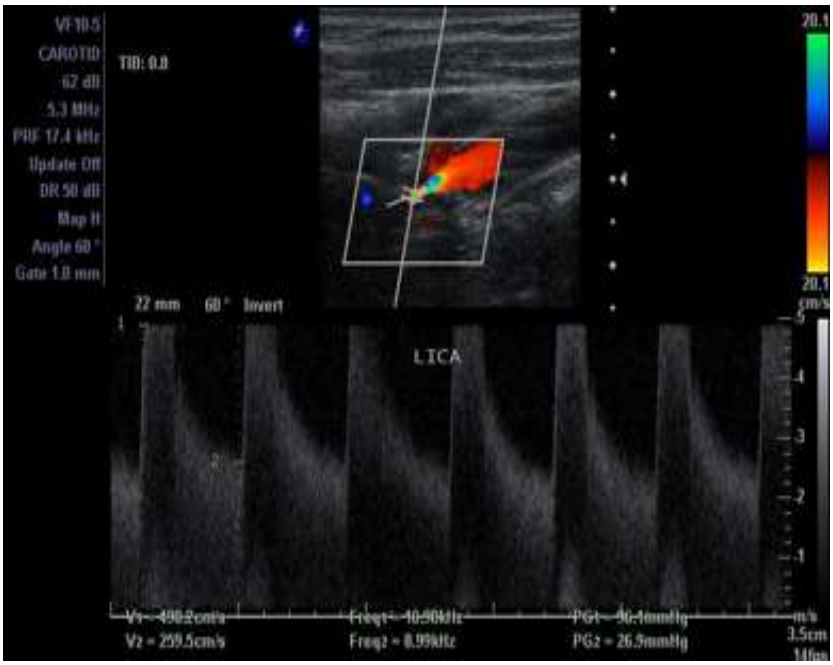
Obostrani pregled karotidnih arterija proveden je u svih ispitanika na Aloki 5500 SD i Aloki α 10 premium obojenim Doppler ultrazvučnim aparatima primjenom linearne sonde od 10.0 MHz.

Tehnika izvođenja ultrazvučne pretrage karotidnih arterija rađena je prema standardiziranom protokolu [229, 230]. Pregled započinje prikazom zajedničke karotidne arterije (ACC) u cijelom toku, u poprečnom i uzdužnim presjecima; zatim se prelazi na bifurkaciju, te na unutrašnju karotidnu arteriju (ACI) i vanjsku karotidnu arteriju (ACE). Već pri B-prikazu analiziraju se plakovi, opisuje njihova ehogenost, rubovi, mjeri debljina i okvirno procjenjuje stupanj suženja lumena žile. Obojeni dopler UZV pregled započinje u ACC. Doplerski spektri bilježe se u proksimalnom, srednjem i distalnom segmentu ACC, na bifurkaciji, u ACE, te u proksimalnom, srednjem i distalnom segmentu ACI. Najvažnije je prikazati ACI u što duljem ekstrakranijskom segmentu i učiniti spektralnu analizu na svim mjestima gdje se uočavaju plakovi, proksimalno i distalno od njih. Kut između UZV snopa i analizirane žile veoma je važan u dijagnostici stenoze karotidnih arterija, jer je glavni parametar na temelju kojeg se postavlja dijagnoza stenoze brzina protoka. Stoga doplerski kut uvijek treba biti što manji, a obvezatno mora biti ispod 60 stupnjeva.

Pri pregledu bolesnik leži na leđima s glavom okrenutom na stranu suprotnu arterijama koje se pregledavaju. Anatomski se zajednička karotidna arterija lako nalazi lateralno od režnjeva štitnjače. Važno je zabilježiti doplerske spektre u ACC, jer se na temelju promjena u morfologiji spektara može posredno zaključiti o postojanju hemodinamički znakovite stenoze proksimalno i distalno. Često kod okluzije ACI u ACC postoje spektri znatno povišene rezistencije, s gubitkom anterogradnog dijastoličkog protoka ili pojavom retrogradnog dijastoličkog protoka. Zato je važno uspoređivati spektre u lijevoj i desnoj ACC. Račvište (bifurkacija) karotidnih arterija prikazuje se kao proširenje, u kojem se normalno vidi retrogradni protok u dijelu lumena uz stražnju stijenku, zbog vrtloga koji nastaju pri utoku krvi iz relativno uske ACC u široku bifurkaciju. Potrebno je prikazati i razlikovati ACE i ACI. ACI je obično smještena posterolateralno u odnosu na ACE, direktni je nastavak bulbusa,

obično blago dilatirana u proksimalnom segmentu i šira je od ACE. ACI ima karakterističan niskorezistentni doplerski spektralni uzorak, s dosta velikim dijastoličkim protokom [231].

Plak je definiran kao protruzija u lumen krvne žile za barem 2 mm, mjeren između adventicijskih i središnjih slojeva. Određene su osnovne karakteristike aterosklerotskog karotidnog plaka (uključujući stupanj stenoze i karakteristike površine plaka). Kriteriji za tešku stenozu uključivali su barem dva od sljedećih parametara: redukcija promjera za vrijeme sistole u uzdužnom promjeru za > 75%, korekcijom kuta brzina sistoličkog protoka krvi ≥ 3m/s, PSV (vršna sistolička brzina) ICA/PSV CCA ≥ 4, ispilaterana PSV u oftalmičkoj arteriji <0.1 m/s ili obrnut smjer protoka u oftalmičkoj arteriji prema prethodno utvrđenim kriterijima ultrazvučnog laboratorija [232] (slika 16). Određena je i eholuscencija plaka (<25% mekog materijala; >ili jednako 25% mekog materijala). Stupanj eholuscencije mjeren je prema medijanu sive skale (GMS) [231, 232].



Slika 16. Subtotalna stenoza ACI, s vrlo visokim sistoličkim i dijastoličkim brzinama protoka na mjestu stenoze i vrlo uskim rezidualnim lumenom

5.3. Serološka analiza

Krvni uzorci dobiveni od svih ispitanika na početku istraživanja poslani su u laboratorij u svrhu pripreme i pohrane seruma na - 20 C. Svi uzorci su analizirani istovremeno od strane tehničara koji nije bio upoznat s podacima o tome kojoj skupini ispitanika pripada pojedini uzorak.

U svrhu potvrde IgG protutijela na H. pylori u serumu primjenjen je komercijalni enzim-vezajući imunoesej test (Pyloriset EIA-G III, Orion Diagnostica, Espoo, Finland) prema uputama proizvođača. Titar protutijela >20 U/ml smatran je pozitivnim. Za određivanje prisutnosti IgG protutijela na CagA antigen bakterije H. pylori primjenjen je enzim-vezujući imunoesej test (Helori CTX IgG, Eurospital, Trieste, Italy). Uzorci s vrijednostima titra protutijela >7.5 U/ml smatrani su pozitivnim.

5.4. Histološka i imunohistokemijska analiza

Svježi uzorci karotidnih aterosklerotskih plakova od bolesnika sa simptomatskom i asimptomatskom karotidnom arterijskom bolesti prikupljeni su tijekom karotidne endarterektomije. Imunohistokemijska analiza izražajnosti CagA antigena obavljena je na 5 μm debelim formalin-fiksiranim parafinskim prerezima upotrebom monoklonalnog antitijela HP-317, HP-387 (IBT systems Reutlingen, Gearmany) u razrijeđenju 1:200 koristeći peroksidaza-antiperoksidaza (PAP) metodu uz En Vision ^{TM} Flex (DAKO, Denmark) vizualizacijski sistem u automatiziranom imunobojaču DAKO AUTOSTAINER. Svi uzorci i kontrole su bojane simultano.

5.5. Statističke metode

Podaci su prikazani u tablično i grafički. Normalnost distribucije podataka određena je Smirnov-Kolmogorovljevim testom i shodno rezultatima u daljnjoj analizi su korišteni primjereni neparametrijski testovi.

Razlike između simptomatskih i asimptomatskih grupa u kategorijskim vrijednostima su analizirane X2 testom u kojemu je primjerena Yatesova korekcija, dok je Mann-Whitney U test korišten u analiziranju kvantitativnih vrijednosti. Kruskall-Wallisov test korišten je u svrhu analize razlika između simptomatskih, asimptomatskih i zdravih ispitanika. Provedena je binarna logistička regresija s ciljem utvrđivanja važnosti prediktivnih čimbenika na vjerojatnost da će bolesnici imati simptome. Sve P vrijednosti ispod 0.05 smatrane su značajnim.

U statističkim analizama i izradi grafičkih slika korištena je programska podrška STATISTICA verzija 8.1 (StatSoft, Inc. (2008). STATISTICA (data analysis software system), version 8.1. www.statsoft.com).

6. REZULTATI

Kliničke značajke bolesnika

Kliničke značajke bolesnika i kontrolnih ispitanika prikazane su u tablici 1. Prosječna dob u studiju uključena 64 bolesnika bila je 70 godina (64.3-75.0), od kojih su 43 (67.2%) bili muškarci. U grupi bolesnika bilo je 24 (37.5%) pušača, njih 48 (75.0%) imalo je povijest arterijske hipertenzije, 44 (68.8%) hiperlipidemiju, 21 (32.8%) šećernu bolest, i 29 (45.3%) ishemijsku bolest srca. Obiteljska anamneza ishemijskog moždanog udara bila je pozitivna u 16 (25.0%) bolesnika. Nije bilo značajne razlike uspoređujući prevalenciju peptičkog ulkusa i teškog gastritisa između bolesnika i kontrolne skupine ($p = 0.568$; $p = 0.732$, pojedinačno).

Razlike između simptomatske i asimptomatske grupe prikazane su u tablici 2. Te dvije grupe podjedanke su s obzirom na osnovne karakteristike, prevalenciju žučnih bolesti, pušenje, i druge rizične čimbenike za aterosklerozu. Postojala je značajna razlika u upotrebi acetilsalicilne kiseline (simptomatska grupa vs. asimptomatska grupa: 81.8 vs. 58.1%, $P = 0.038$). Uspoređujući ultrazvučni nalaz površine karotidnog plaka, postojala je značajna razlika u eholuscenciji ($\geq$ 25% mekog plaka) između simptomatske i asimptomatske grupe ($P = 0.034$). Nije bilo razlike između simptomatskih i asimptomatskih bolesnika uspoređujući stranu stenoze (16/31; 51.6% stenoza na lijevoj strani i 15/31; 48.4% stenoza na desnoj strani u asimptomatskoj skupini te 21/33; 63.6% stenoza na lijevoj strani i 12/33; 36.4% stenoza na desnoj strani u simptomatskoj skupini; $P=0.947$), (Tablica 3).

Tablica 1: Demografski podaci i razlike između bolesnika i kontrolne grupe: X^2 test

Varijable	Bolesni (N=64)	Zdravi (N=65)	P
Muški spol: N (%)	43 (67,2%)	38 (58,5%)	0,305
Pozitivna hiperlipoproteinemija: N (%)	44 (68,8%)	13 (20,0%)	<0,001
Pozitivna arterijska hipertenzija: N (%)	48 (75,0%)	8 (12,3%)	<0,001
Pozitivna šećerna bolest: N (%)	21 (32,8%)	1 (1,5%)	<0,001
Pozitivna ishemijska bolest srca: N (%)	29 (45,3%)	0 (0,0%)	<0,001
Pušenje: N (%)	24 (37,5%)	17 (26,2%)	0,166
Pozitivna obiteljska anamneza: N (%)	16 (25,0%)	7 (10,8%)	0,035
Antihipertenzivna terapija: N (%)	48 (75,0%)	8 (12,3%)	<0,001
Statini: N (%)	44 (68,8%)	13 (20,0%)	<0,001
Acetilsalicilna kiselina: N (%)	45 (70,3%)	1 (1,5%)	<0,001
Pozitivna imunohistokemija: N (%)	55 (85,9%)	NA	NA
Eholuscencija: meki plak	16 (25,0%)	NA	NA
Eholuscencija: kalcificirani plak	9 (14,1%)	NA	NA
Dob(godine): medijan (IQR)*	70 (64,3-75,0)	68 (61,0-74,5)	0,131
NIHSS: medijan (IQR)*	0 (0,0-2,0)	0 (0,0-0,0)	<0,001
Anti HP: medijan (IQR)*	26 (15,5-26,0)	38 (17,5-75,0)	0,961
Anti CagA: medijan (IQR)*	6,9 (5,8-32,7)	5,0 (2,2-7,9)	0,018

* Medijan i interkvartilni raspon (IQR): Mann-Whitney U test

**NA= nije dostupno

Legenda: NIHSS – National Institute of Health Stroke Scale, anti HP – protutijela na bakteriju Helicobacter pylori, anti CagA – protutijela na citotoksični antigen A

Tablica 2: Demografski podaci i razlike između simptomatskih i asimptomatskih bolesnika i kontrolne grupe: X^2 test

Varijable	Simptomatski (N=33)	Asimptomatski (N=31)	P
Muški spol: N (%)	22 (66,7%)	21 (67,7%)	0,927
Pozitivna hiperlipoproteinemija: N (%)	24 (72,4%)	20 (64,5%)	0,479
Pozitivna arterijska hipertenzija: N (%)	25 (75,8%)	23 (74,2%)	0,885
Pozitivna šećerna bolest: N (%)	11 (33,3%)	10 (32,3%)	0,927
Pozitivni ishemijska bolest srca: N (%)	15 (45,5%)	14 (45,2%)	0,981
Pušenje: N (%)	14 (42,4%)	10 (32,3%)	0,401
Pozitivna obiteljska anamneza: N (%)	9 (27,3%)	7 (22,6%)	0,665
Antihipertenzivna terapija: N (%)	25 (75,8%)	23 (74,2%)	0,885
Statini: N (%)	24 (72,4%)	20 (64,5%)	0,479
Acetilsalicilna kiselina: N (%)	27 (81,8%)	18 (58,1%)	0,038
Pozitivna imunohistokemija: N (%)	32 (97,0%)	23 (74,2%)	0,009
Eholuscencija: meki plak	12 (36,4%)	4 (12,9%)	0,034
Eholuscencija: kalcificirani plak	2 (6,1%)	7 (22,6%)	0,011
Dob(godine): medijan (IQR)*	70 (63,5-75,5)	70 (64,0-74,0)	0,979
NIHSS: medijan (IQR)*	2 (0,0-3,5)	0 (0,0-0,0)	<0,001
Anti HP: medijan (IQR)*	35 (17,0-114,5)	23 (14,0-118,0)	0,412
Anti CagA: medijan (IQR)*	8,8 (5,8-32,7)	4,7 (2,1-8,8)	0,005

* Medijan i interkvartilni raspon (IQR): Mann-Whitney U test

Legenda: NIHSS – National Institute of Health Stroke Scale, anti HP – protutijela na bakteriju Helicobacter pylori, anti CagA – protutijela na citotoksični antigen A

Tablica 3. Prikaz usporedbe strane stenoze između simptomatskih i asimptomatskih bolesnika sa stenozom karotidne arterije

			Strana stenoze		Ukupno
			Lijeva	Desna	
Simptomi	Asimptomatski	N	16	15	31
		%	51,6%	48,4%	100,0%
	Simptomatski	N	21	12	33
		%	63,6%	36,4%	100,0%
Ukupno		N	37	27	64
		%	57,8%	42,2%	100,0%

	Vrijednost	df	P
X2 test	0,947	1	0,330

Serološki rezultati

Prevalencija H. pylori infekcije u skupini bolesnih bila je 62.5% (40/64), a u kontrolnoj skupini 58.5% (38/65), (P=0.639), (Tablica 4). Nije nađena statistički značajna razlika u prevalenciji H. pylori infekcije uspoređujući bolesnike prema postojanju simptoma (23/33; 69.7% u simptomatskoj skupini), (17/31; 54.8% u asimptomatskoj skupini), (P=0.428), (Tablica 5). Prevalencija CagA pozitivnih sojeva bakterije H. pylori statistički je značajnije veća u skupini bolesnih (31/64; 48.4%) u odnosu na kontrolnu skupinu (18/65; 27.7%), (P=0.015), (Tablica 6). Također je uočen veći udio CagA pozitivnih sojeva bakterije H. pylori u simptomatskoj skupini (21/33; 63.3%) prema asimptomatskoj skupini (10/31; 32.3%), (P=0.002), (Tablica 7). Uspoređujući odnos citotoksičnih CagA sojeva bakterije H. pylori i ultrazvučnog nalaza karotidnog plaka uočen je statistički značajno veći udio mekih plakova (12/31; 38.7%) prema kalcificiranim plakovima (4/31; 12.9%) u skupini bolesnika s pozitivnim anti- CagA protutijelima (P=0.047), (Tablica 8). Titar Helicobacter pylori protutijela nije se razlikovao među skupinama: 26 (15.5-26.0) u bolesnika, 38 (17.5-75.0) u kontrolnoj skupini (P=0.96). Također se titar protutijela na bakteriju Helicobacter pylori nije razlikovao među podskupinama i uspoređujući s kontrolnom skupinom: 35 (17.0-114.5) u simptomatskih bolesnika, 23 (14.0-118.0) u asimptomatskih bolesnika, i 38 (17.5-75.0) u kontrolnoj skupini (0.72) (Slika 17). Međutim, titrovi CagA protutijela bili su značajnije viši u simptomatskih bolesnika (8.8*;* raspon*,* 5.8-32.7) u usporedbi s asimptomatskim bolesnicima (4.7; raspon*,* 2.1-8.8; P = 0.005) i kontrolnom grupom (5.0; raspon*,* 2.2-7.9; P < 0.001) (Slika 18). Isto tako postoji statistički značajna razlika uspoređujući titar CagA protutijela u skupini bolesnih 6.0 (5.8-32.7) i zdravih ispitanika 5.0 (2.2-7.9) (P=0.018).

Tablica 4. Prikaz prevalencije Helicobacter pylori infekcije u skupini bolesnih (svi bolesnici sa stenozom karotidne arterije) i kontrolnoj skupini

			Skupina		Ukupno
			Bolesni	Zdravi	
anti HP skupine	<20	N	24	27	51
		% Skupina	37,5%	41,5%	39,5%
	>20	N	40	38	78
		% Skupina	62,5%	58,5%	60,5%
Ukupno		N	64	65	129
		% Skupina	100,0%	100,0%	100,0%

	Vrijednost	df	P
Pearson X2	,220[a]	1	0,639

Tablica 5. Prikaz prevalencije Helicobacter pylori infekcije uspoređujući ispitanike s obzirom na postojanje simptoma

			Simptomi			Ukupno
			Asimtomatski	Simptomatski	Zdravi	
anti HP skupine	<20	N	14	10	27	51
		% Simptomi	45,2%	30,3%	41,5%	39,5%
	>20	N	17	23	38	78
		% Simptomi	54,8%	69,7%	58,5%	60,5%
Ukupno		N	31	33	65	129
		% Simptomi	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

	Vrijednost	df	P
Pearson X2	1,696[a]	2	0,428

Tablica 6. Prikaz prevalencije CagA pozitivnih sojeva bakterije Helicobacter pylori u skupini bolesnih (svi bolesnici sa stenozom karotidne arterije) i kontrolnoj skupini

			Skupina		Ukupno
			Bolesni	Zdravi	
Anti CagA groups	<7,5	N	33	47	80
		%	51,6%	72,3%	62,0%
	>7,5	N	31	18	49
		%	48,4%	27,7%	38,0%
Ukupno		N	64	65	129
		%	100,0%	100,0%	100,0%

	Vrijednost	df	P
Pearson X2	5,892	1	0,015

Tablica 7. Prikaz prevalencije CagA pozitivnih sojeva bakterije Helicobacter pylori uspoređujući ispitanike s obzirom na postojanje simptoma

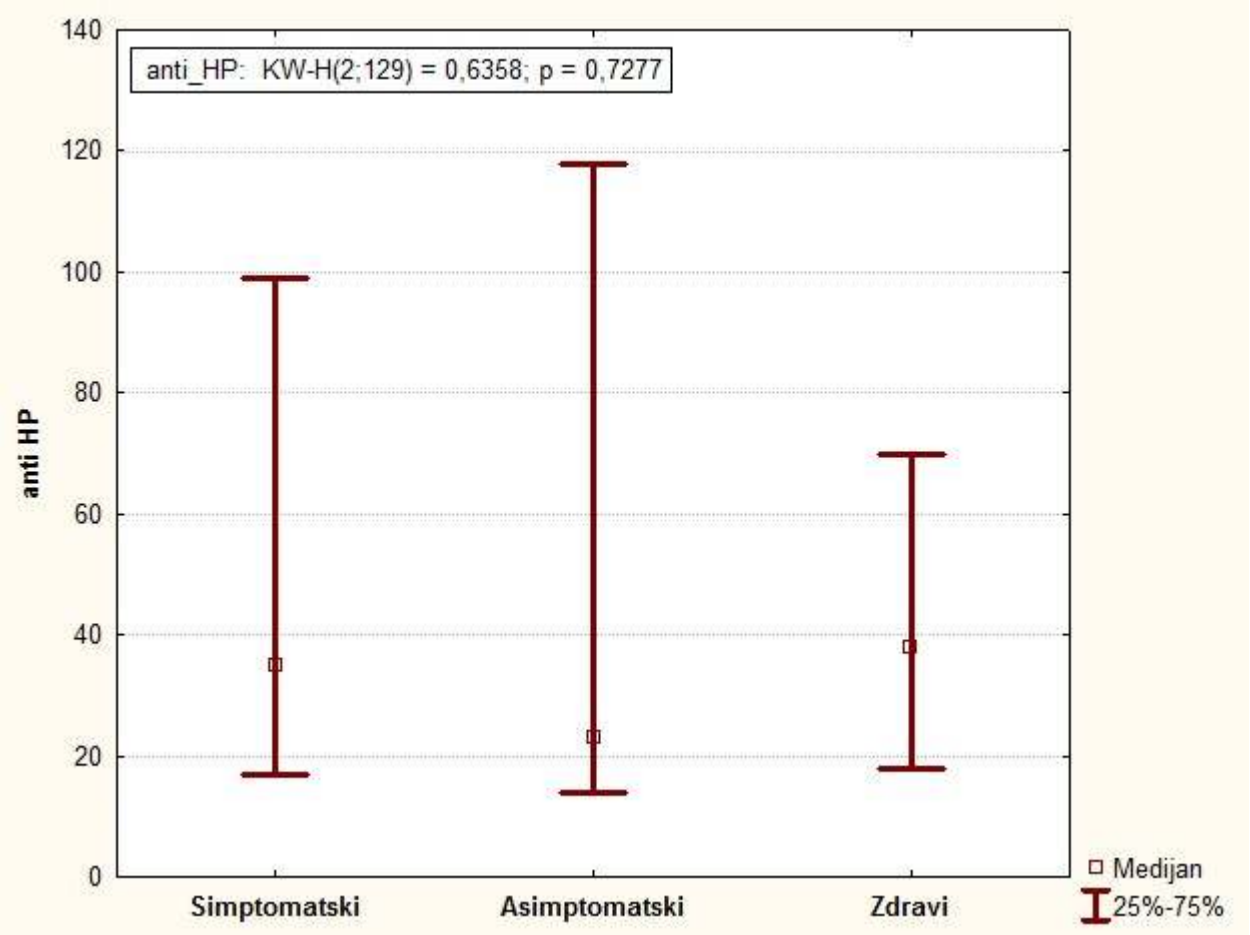
			Simptomi			Ukupno
			Asimtomatski	Simptomatski	Zdravi	
Anti CagA groups	<7,5	N	21	12	47	80
		%	67,7%	36,4%	72,3%	62,0%
	>7,5	N	10	21	18	49
		%	32,3%	63,6%	27,7%	38,0%
Ukupno		N	31	33	65	129
		%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

	Vrijednost	df	P
Pearson X2	12,573[a]	2	0,002

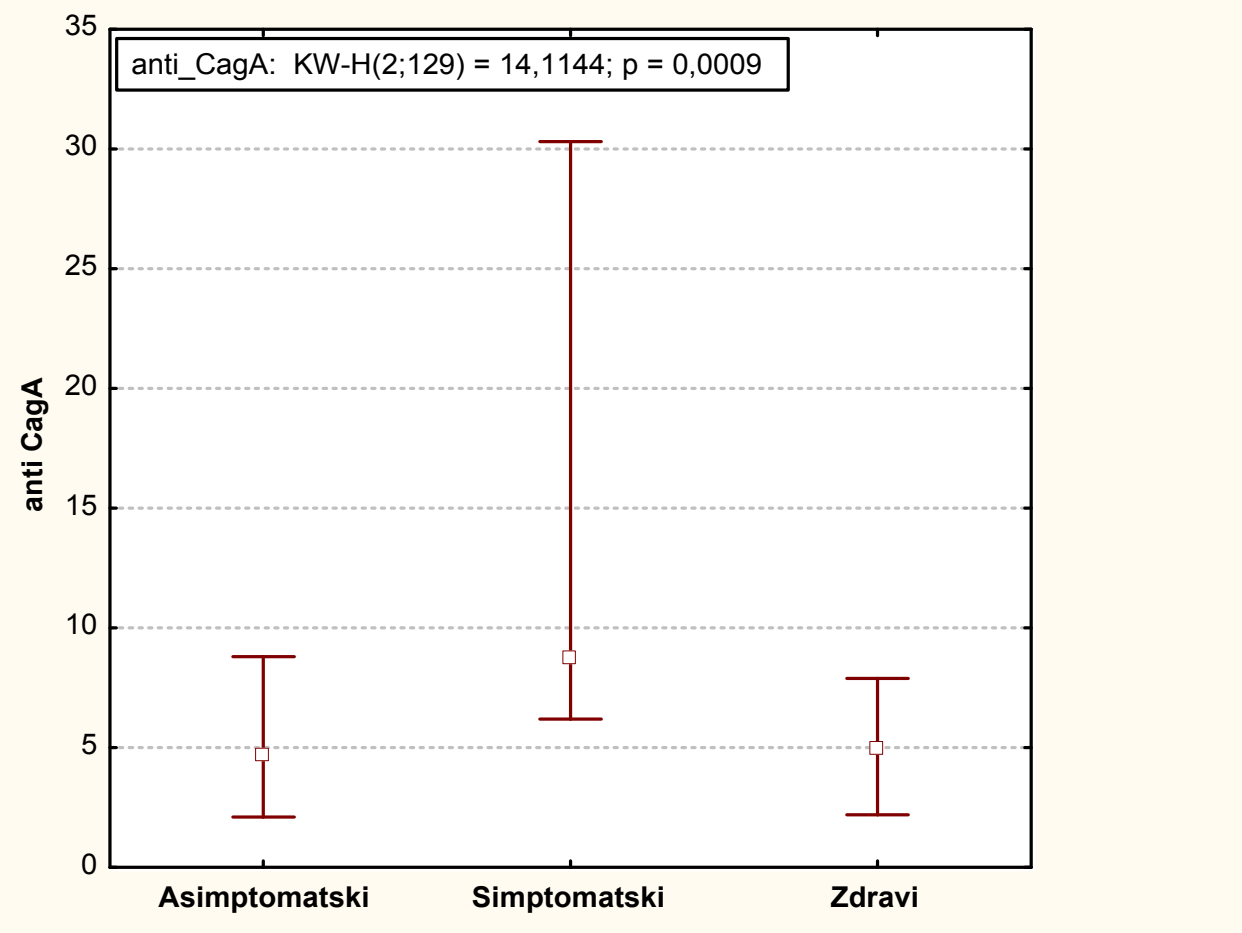
Tablica 8. Prikaz odnosa citotoksičnih CagA sojeva bakterije Helicobacter pylori i ultrazvučnog nalaza eholuscencije

			Eholuscencija plaka			Ukupno
			Meki	Mješoviti	Kalcificirani	
Anti CagA groups	<7,5	N	4	24	5	33
		%	25,0%	61,5%	55,6%	51,6%
	>7,5	N	12	15	4	31
		%	75,0%	38,5%	44,4%	48,4%
Ukupno		N	16	39	9	64
		%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

	Vrijednost	df	P
Pearson X2	6,132[a]	2	0,047



Slika 17. Razlike u anti HP vrijednostima između simptomatskih bolesnika, asimptomatskih bolesnika i kontrolne skupine: Kruskal-Wallis test



Slika 18. Razlike u anti CagA vrijednostima između simptomatskih bolesnika, asimptomatskih bolesnika i kontrolne skupine: Kruskal-Wallis test

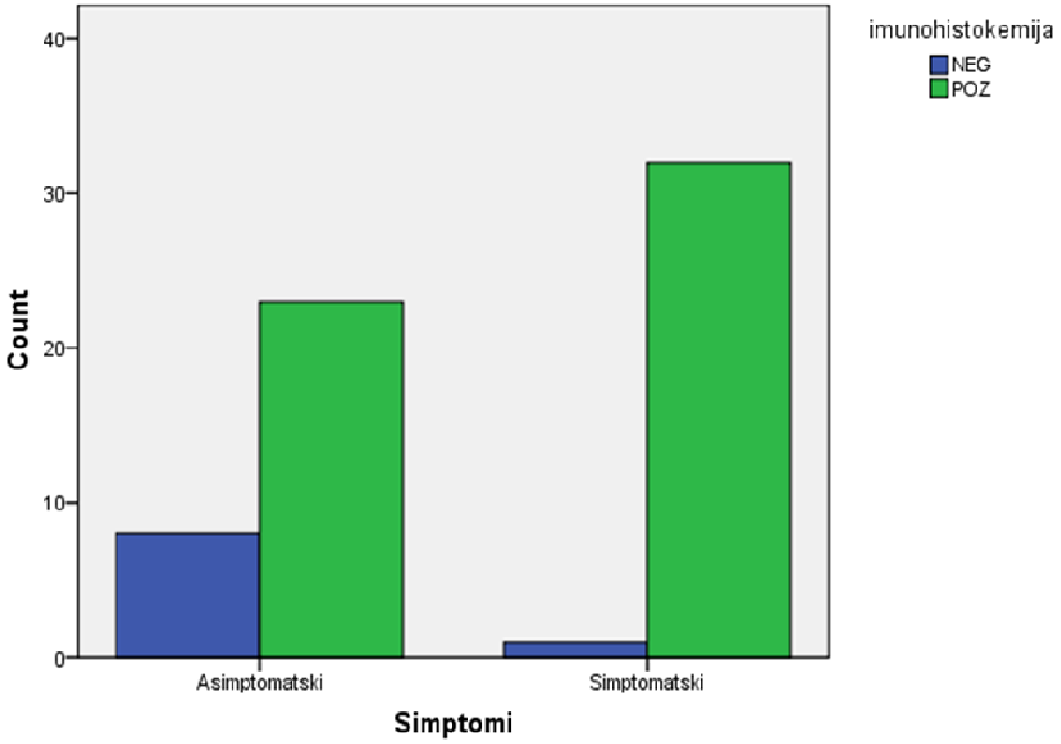
Imunohistokemijski rezultati

Pozitivna imunoreaktivnost između monoklonalnih CagA protutijela i antigena unutar aterosklerotskih uzoraka bila je veća u skupini simptomatskih bolesnika uspoređujući s asimptomatskim bolesnicima (97.0 vs. 74.2%; P = 0.009), (Tablica 9, slika 19). Aterosklerotski "fibrozno-masni" plak s upalnim infiltratom sastavljen od limfocita, makrofaga i siderofaga mogao se jasno patohistološki prikazati (Slike 20, 21). Anti-CagA protutijela reagirala su s citoplazmom fibroblasta i jezgrama i citoplazmom limfocita (Slika 22). Razlike u imunoreaktivnosti CagA antigena u aterosklerotskom plaku između asimptomatskih i simptomatskih bolesnika također su prikazane (Slika 23).

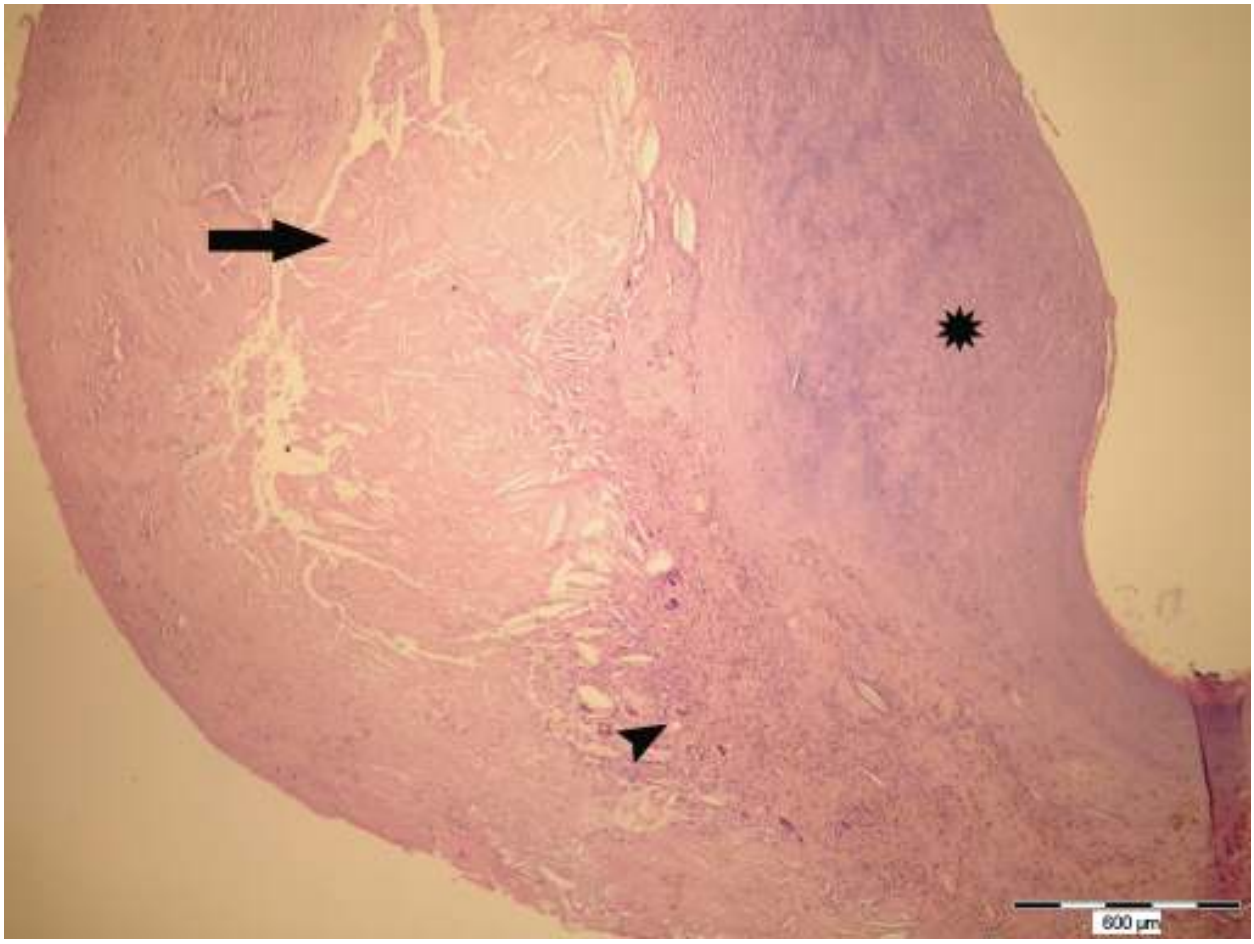
Tablica 9. Prikaz imunoreaktivnosti između monoklonalnih CagA protutijela i antigena unutar aterosklerotskih uzoraka u skupini simptomatskih i asimptomatskih bolesnika

			Imunohistokemija		Ukupno
			NEG	POZ	
Simptomi	Asimptomatski	N	8	23	31
		%	25,8%	74,2%	100,0%
	Simptomatski	N	1	32	33
		%	3,0%	97,0%	100,0%
Ukupno		N	9	55	64
		%	14,1%	85,9%	100,0%

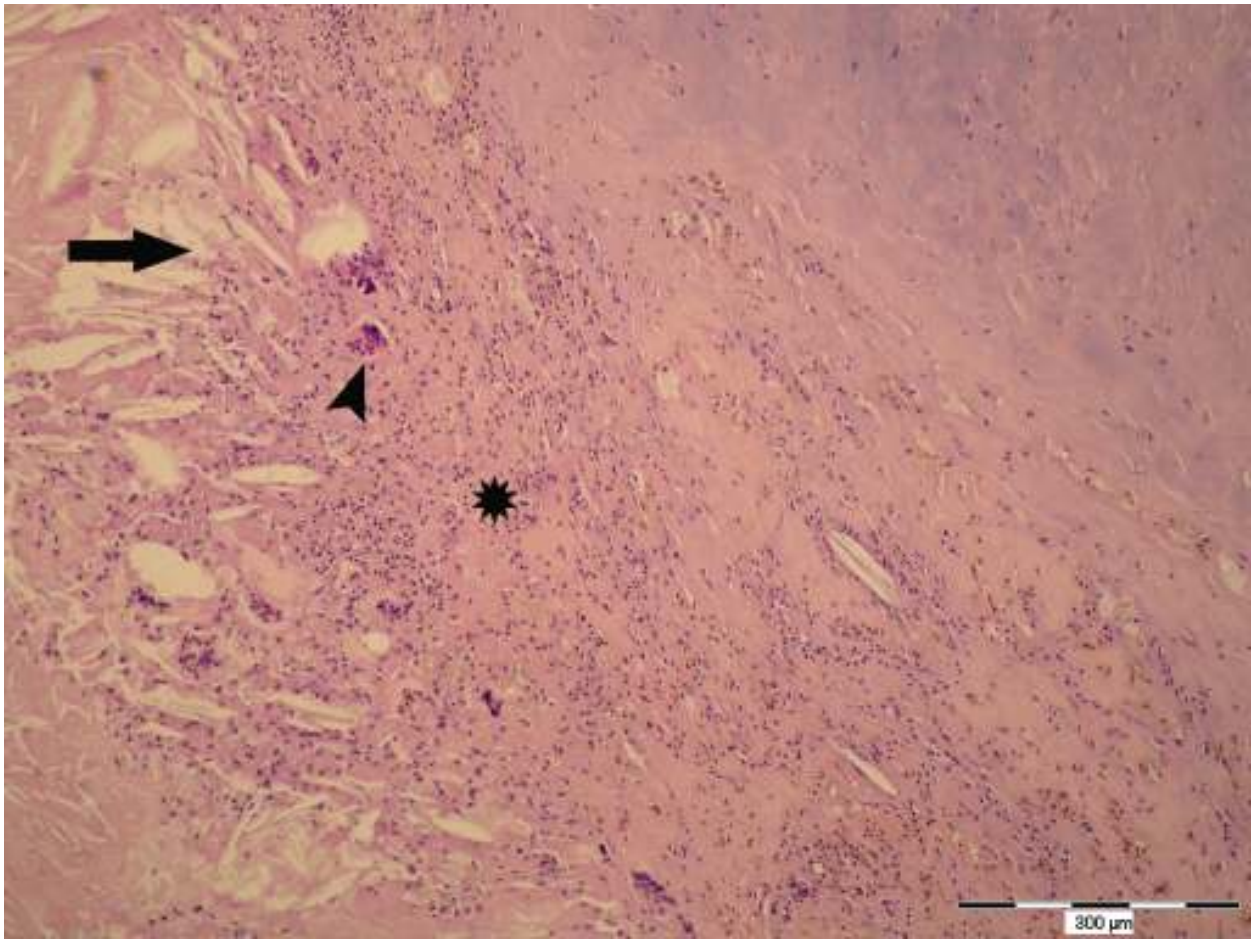
	Vrijednost	df	P (2-sided)
X2 test	6,861	1	0,009



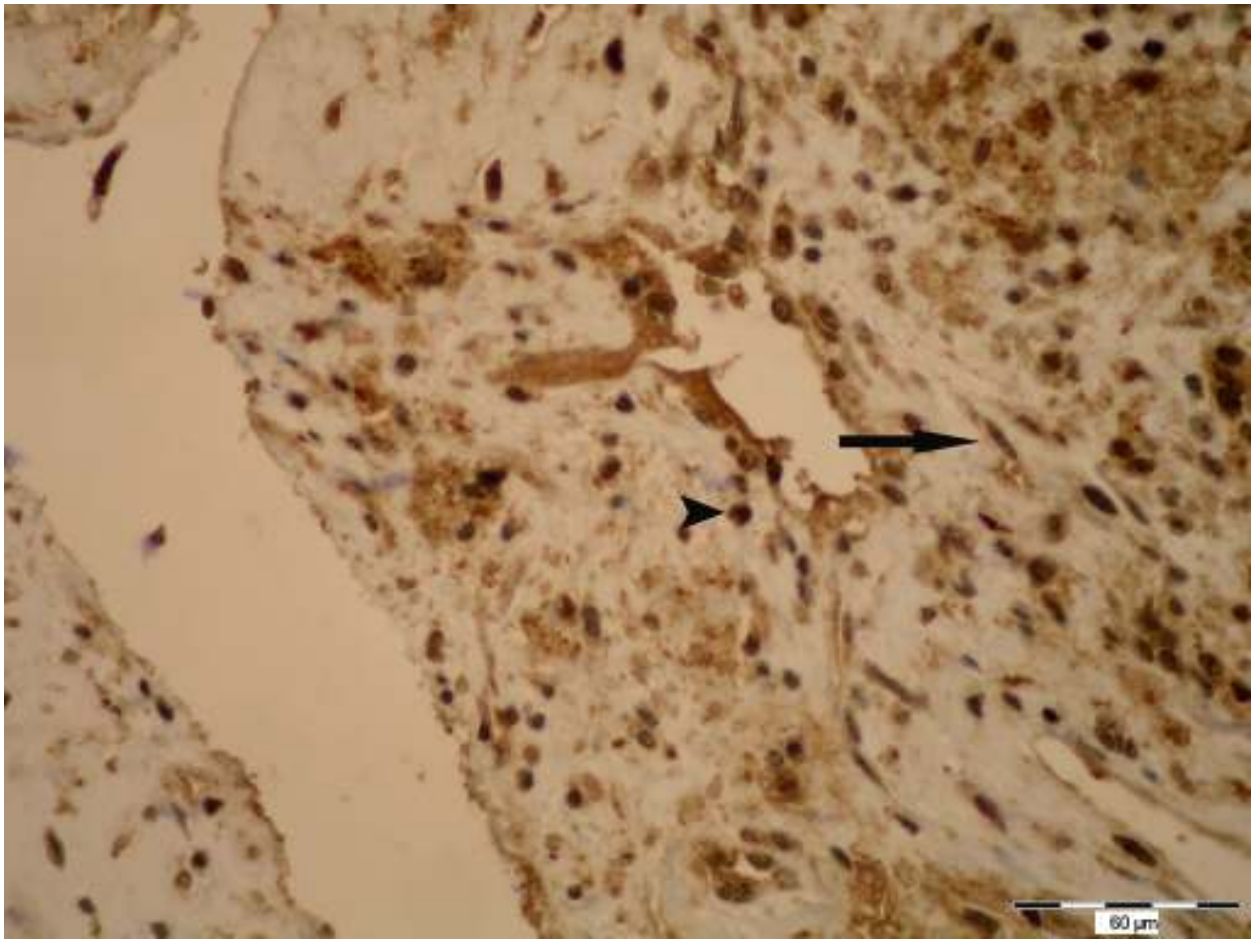
Slika 19. Prikaz imunoreaktivnosti između monoklonalnih CagA protutijela i antigena unutar aterosklerotskih uzoraka u skupini simptomatskih i asimptomatskih bolesnika



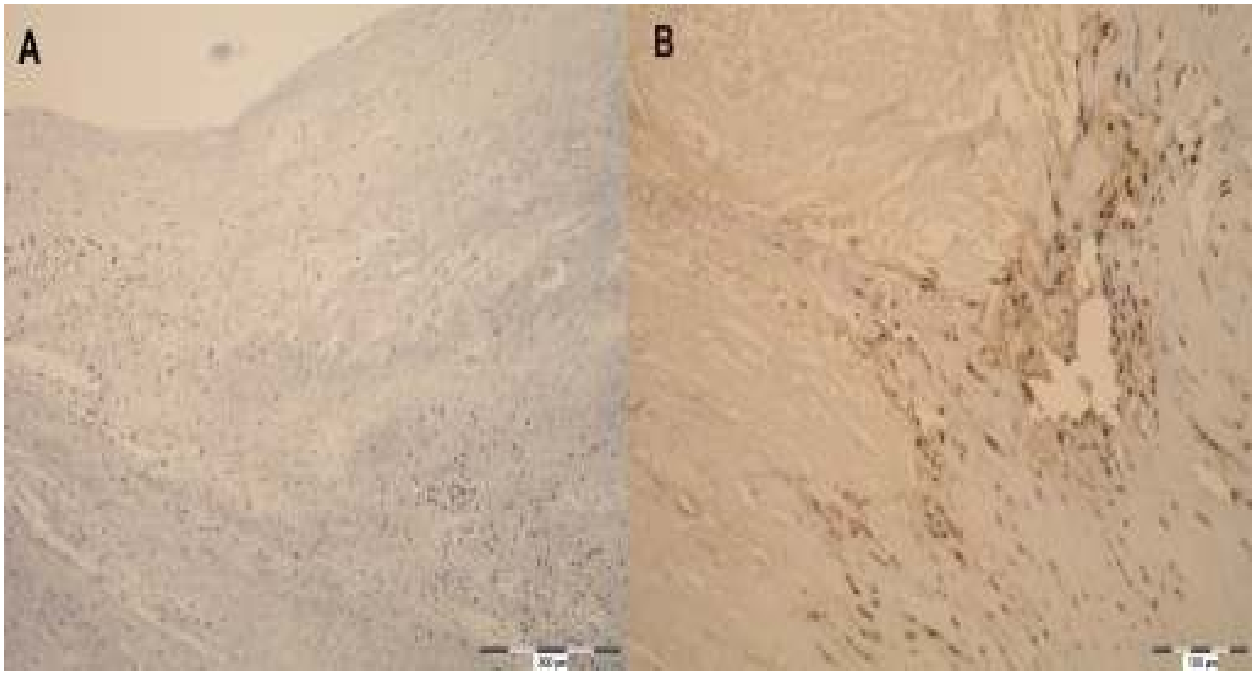
Slika 20. Aterosklerotski "fibrozno-masni" plak s fibrotičnom kapom (zvijezdica), mekom, nekrotičnom, većinom lipidnom jezgrom (strelica) i upalnom reakcijom u području "ramena" plaka (glava strelice), (HE x40)



Slika 21. Detalj aterosklerotskog plaka s upalnim infiltratom, smještenim između lipidne jezgre i fibrotične kape (zvijezdica), sastavljen od limfocita, makrofaga, siderofaga i rijetko multinuklearnih gigantskih stanica (glava strelice) smješteni blizu pukotine kolesterolskih kristala (strelica), (HE x100)



Slika 22. Imunoreaktivnost CagA antigena u citoplazmi limfocita (glava strelice) i fibroblasta (strelica) aterosklerotskog plaka, (anti CagA, PAP x400)



Slika 23. Razlike u imunoreaktivnosti CagA antigena u aterosklerotskom plaku između asimptomatskih (A) i simptomatskih (B) bolesnika, (anti CagA, A – PAPx100, B – PAPx200)

Binarna logistička regresija

Binarna logistička regresija provedena je s ciljem utvrđivanja utjecaja kliničkih čimbenika na vjerojatnost da će bolesnici imati simptome. Model je sadržavao šest nezavisnih prediktorskih varijabli (spol, dob, anti HP, anti-CagA grupe, imunohistokemiju). Cjelokupni model bio je statistički značajan (df = 7, N = 64) = 13.59, P= 0.018), indicirajući sposobnost razlike bolesnika koji su imali od onih koji nisu imali simptome. Model je u cjelini objasnio između 19.1% (Cox and Snell R square) i 25.5% (Nagelkerke R squared) varijance u postojanju simptomatologije, i točno klasificirao 69% slučajeva. Kao što je prikazano u Tablici 10, samo je jedna od nezavisnih varijabli jedinstveno, statistički značajno pridonijela samom modelu (anti-CagA grupa >7.5). To je pokazatelj da su bolesnici s vrijednostima anti-CagA preko 7.5 imali 3.7 puta veću vjerojatnost za razvoj simptoma, kontrolirajući sve preostale varijable u modelu.

Tablica 10. Model predikcije postojanja simptoma: binarna logistička regresija

Predictors	B	S.E.	Wald	df	P	OR	95% CI for OR	
							Donji	Gornji
Ženski spol	0,48	0,64	0,55	1	0,457	1,61	0,46	5,68
Dob (godine)	-0,04	0,04	1,08	1	0,299	0,96	0,89	1,04
Anti HP	0,00	0,00	0,47	1	0,491	1,00	1,00	1,01
Anti CagA >7,5	1,31	0,59	4,84	1	0,028	3,70	1,15	11,84
Pozitivna imunohistokemija	2,19	1,12	3,81	1	0,051	8,89	0,99	79,88
Konstanta	-0,11	2,66	0,00	1	0,968	0,90		

7. RASPRAVA

Najvažniji rezultati našeg istraživanja pokazuju da je titar anti-CagA protutijela značajno viši u bolesnika sa simptomatskom stenozom karotidne arterije u usporedbi s asimptomatskom stenozom karotidne arterije i kontrolnom grupom. Također je utvrđeno da anti-CagA protutijela reagiraju s antigenima unutar karotidnog aterosklerotskog plaka u bolesnika predviđenih za karotidnu endarterektomiju, uključujući simptomatske i asimptomatske bolesnike. Ta reakcija antigene mimikrije između CagA antigena i antigena u karotidnom aterosklerotskom plaku bila je izraženija u podgrupi bolesnika sa simptomatskom karotidnom arterijskom bolesti i odgovarala je ultrazvučnim pokazateljima nestabilnosti plaka. Nadalje, anti-CagA protutijela su reagirala s citoplazmom fibroblasta i jezgrama i citoplazmom limfocita, stanicama uključenih u destabilizaciju plaka. U konačnici, rezultati binarne logističke regresije pokazuju da vrijednost CagA protutijela >7.5 U/L pridonosi pojavnosti simptomatske karotidne arterijske bolesti.

Ateroskleroza je glavni uzrok smrti u razvijenim zemljama, ali još uvijek ostaje nerasvijetljena njena patogeneza [233]. Mnogi bolesnici razvijaju aterosklerozu u odsutnosti poznatih rizičnih čimbenika, što pretpostavlja postojanje neprepoznatih mehanizama u patogenezi bolesti [234 - 236]. U pokušaju objašnjenja navedenih opažanja, nekoliko autora predložilo je postojanje i dodatnih čimbenika rizika [234 - 236]. U zadnje vrijeme sve više je pokazatelja da bi biljezi upale i kronična infektivna bolest mogli imati utjecaj na razvoj aterosklerotskih lezija u bolesnika s ishemijskim moždanim udarom i koronarnom arterijskom bolesti [19, 237, 238]. Prethodna ili trajna izloženost učestalim infekcijama, uključujući i H. pylori infekciju, povezana je sa zadebljanjem karotidnog plaka, kao poznatog obilježja ateroskleroze [33].

H. pylori uzročnik je jedne od najčešćih kroničnih bakterijskih infekcija u ljudskoj populaciji, prisutne u svim zemljama svijeta. Procjenjuje se da je njome inficirano više od 50% odraslog stanovništva razvijenih i 80-90% zemalja u razvoju. Infekcija se stječe tipično u djetinjstvu. Djeca u zemljama u razvoju inficiraju se između druge i osme godine života, po stopi od 10% godišnje, a u razvijenim zemljama po stopi manjoj od 1% godišnje. To značajno utječe na razlike u epidemiološkoj

situaciji između razvijenih zemalja i zemalja u razvoju. Prevalencija ne varira samo između pojedinih zemalja nego i između područja ili populacijskih grupa unutar iste zemlje [239]. Dinamika infekcije u razvijenim i zemljama u razvoju vrlo je različita, ali su stope prevalencije u nekim zemljama u razvoju, posebno Istočne Europe, slične vrijednostima koje su prije nekoliko godina imale razvijene zemlje [240]. Seroprevalencija infekcije H. pylori u uzorcima odrasle populacije je ovakva: Danska 25.5%, Irska 43%, Engleska 15%, Švicarska 24%, Australija 38%, s većim vrijednostima u starijim dobnim skupinama. U Sjedinjenim Američkim Državama inficirano je oko 35% odraslih, ali mnogo više u nekim manjinskim grupama i u doseljenika iz nerazvijenih zemalja. Prevalencija je viša u južnim i jugoistočnim dijelovima Europe, Južnoj Americi, Africi i dijelovima Azije. Južni dijelovi Italije imaju 63% seropozitivnih. Visoke stope inficiranosti nađene su i u Turskoj, Španjolskoj, Kini i Japanu [241]. Stopa prevalencije infekcije u Hrvatskoj je također visoka i prema rezultatima iz 1998. godine iznosi 68%. U sjevernim područjima koja imaju i nekoliko puta višu incidenciju raka želuca nego južna obalna područja, nađena je nešto viša stopa inficiranih. Tako Međimurje ima stopu od 68.9%, Varaždin 76.8%, a zadarsko područje 66% seropozitivnih. Stopa seroprevalencije viša je u dobnoj skupini od 45 i više godina nego u mlađoj od 45 godina [242]. U našem istraživanju prevalencija infekcije H. pylori bila je 62.5% u bolesnoj skupini i 58.5% u zdravoj skupini. Uočena je viša prevalencija virulentnih CagA pozitivnih sojeva bakterije u skupini bolesnika s karotidnom bolesti u odnosu na zdravu populaciju (48.4% u bolesnoj skupini, 27.7% u zdravoj skupini; P=0.05). U nedavno provedenom istraživanju, seropozitivnost na CagA bakterije H. pylori u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom bila je 87.9%, a u kontrolnoj skupini 66.7% [243]. U bolesnika s akutnim moždanim udarom također je potvrđena značajno veća CagA seropozitivnost (60%) u odnosu na kontrolnu skupinu (43.2%) [220]. Bastiani i suradnici objavili su rezultate svog istraživanja potvrđujući višu prevalenciju H. pylori infekcije u bolesnika s aterosklerotskim moždanim udarom (63%) u odnosu na kontrolnu skupinu (54%) s naglaskom na CagA pozitivnost kao posebnim čimbenikom rizika za razvoj aterosklerotskog moždanog udara [244].

Najviše stope incidencije povezuju se s niskim socioekonomskim statusom i lošim životnim uvjetima u djetinjstvu: prenapučenošću, sanitarnim uvjetima i neadekvatnom vodoopskrbom [245]. Dob

je također važan čimbenik koji se povezuje s infekcijom. Primjerice, u Sjedinjenim Američkim Državama inficirano je oko 50% ljudi starijih od 60 godina, u usporedbi s 20% mlađih od 40 godina, odnosno osobe rođene prije 1950. godine imaju značajno više stope infekcije nego osobe rođene kasnije. To je povećanje prevalencije s dobi samo prividno i odraz je kontinuiranog općeg pada prevalencije. Budući da se infekcija stječe u djetinjstvu i doživotna je, veliki postotak inficirane starije populacije posljedica je infekcije u djetinjstvu kada je životni standard bio nizak, a živjelo se u mnogobrojnoj obitelji [241]. I u našem istraživanju, gdje je prosječna dob ispitanika bila 70 godina u bolesnoj skupini i 68 godina u zdravoj skupini, rezultati prevalencije infekcije H. pylori odgovaraju navedenim spoznajama.

Epidemiološke studije temeljene na povezanosti H. pylori i koronarne bolesti srca ili akutnog srčanog infarkta pokazuju mogući utjecaj infekcije H. pylori na razvoj kardiovaskularne bolesti [246]. Infekcija H. pylori kod bolesnika s akutnim koronarnim sindromom može utjecati na aterogenezu preko trajne, blage upalne reakcije [247]. Sawayama i suradnici dokazali su da bi kronična infekcija H. pylori mogla biti jedan od rizičnih čimbenika za nastanak periferne vaskularne bolesti [248]. Rezultati nekih dosadašnjih studija utvrdili su povezanost kronične infekcije H. pylori s aterotrombotskim ili lakunarnim moždanim udarom, ali ne i drugim tipovima moždanog udara [249 - 252]. Nadalje, kronična infekcija H. pylori može biti dodatni čimbenik u povećanju rizika za nastanak akutnog ishemijskog cerebrovaskularnog inzulta [200]. Petogodišnja prospektivna studija potvrđuje važan utjecaj infekcije i upale u nastanku cerebrovaskularnih i kardiovaskularnih događaja u bolesnika s asimptomatskim aterosklerotskim lezijama karotidnih arterija [253]. Nedavno objavljene studije o utjecaju infekcije H. pylori na proces ateroskleroze preko IMT potvrđuju postavljenu hipotezu, naglašavajući potrebu daljnjeg istraživanja mogućeg mehanizma djelovanja infekcije na sam proces ateroskleroze [32, 33]. Ipak, neka istraživanja pokazuju suprotne rezultate [254 - 256]. Hagiwara u svom istraživanju nije dokazao povezanost infekcije potencijalnim patogenima (Citomegalovirus, Chlamydia pneumoniae, Herpes simplex virus, H. pylori) s karotidnom aterosklerozom u japanskih bolesnika [257].

Citotoksični sojevi H. pylori mogu uzrokovati jači sistemski imunološki odgovor. Bolesnici s aterotrombotskom bolešću češće su inficirani CagA pozitivnim sojevima H. pylori nego zdrava

populacija [258, 259]. Značajna povezanost CagA pozitivnih H. pylori sojeva i koronarne bolesti srca dokazana je u više dosadašnjih istraživanja [259 - 262]. Nađeno je da anti-CagA protutijela mogu reagirati s citoplazmom i jezgrama glatkih mišićnih stanica, stanicama sličnim fibroblastima nađenim u aterosklerotskim plakovima i s endotelnim stanicama membrane [227]. U bolesnika s nestabilnom anginom pektoris, pojačan imunološki odgovor protiv CagA H. pylori sojeva mogao bi imati važnu ulogu u razvoju koronarne nestabilnosti mehanizmom antigenske ukriženosti CagA antigena i proteina unutar aterosklerotskog koronarnog plaka [228]. Nedavno objavljeni rezultati meta-analize naglašavaju značajnu udruženost CagA pozitivnih oblika H. pylori i moždanog udara [217]. Cremonini je skupljajući dosadašnja istraživanja potvrdio da je povezanost između H. pylori, anti CagA i moždanog udara izraženija u podgrupi moždanih udara velikih krvnih žila [218]. U velikoj prospektivnoj studiji, Mayr i suradnici [219] dokazali su da infekcija CagA-pozitivnim sojevima H. pylori značajno povećava rizik od rane ateroskleroze u karotidnim arterijama preko imunoupalnih reakcija. Štoviše, u bolesnika s aterosklerotskim moždanim udarom utvrđeno je da infekcija CagA-pozitivnim H. pylori sojevima dovodi do većeg zadebljanja kompleksa intime i medije te lošijeg kratkoročnog ishoda u odnosu na CagA negativne bolesnike [222]. Sukladno dosadašnjim spoznajama o utjecaju infekcije bakterijom H. pylori na aterosklerotsku bolest i rezultati našeg istraživanja upućuju na važnost citotoksičnih sojeva bakterije u razvoju karotidne aterosklerotske bolesti. Naime, titar protutijela na samu bakteriju H. pylori podjednak je među skupinama, no titar anti CagA protutijela je značajno viši u bolesnika sa simptomatskom značajnom stenozom karotidne arterije. Štoviše, rezultati binarne logističke regresije upućuju da povišen serumski titar anti-CagA protutijela povećava vjerojatnost postojanja simptomatske stenoze karotidne arterije za 3.7 puta. To se slaže s rezultatima prethodnih studija koja pokazuju veću prevalenciju CagA protutijela u bolesnika s aterosklerotskim moždanim udarom [217 - 222].

Nekoliko je potencijalnih modela mehanizama djelovanja bakterije H. pylori na proces ateroskleroze. Još uvijek nije u potpunosti jasna patogeneza ateroskleroze, a time ni uloga infekcije H. pylori u tom procesu. Mogući mehanizmi koji objašnjavaju povezanost H. pylori infekcije i ateroskleroze su sljedeći: utjecaj na lipidni status, aktivacija sistemske upale, hiperkoagulabilnost,

hiperhomocisteinemija, autoimuno djelovanje (molekularna mimikrija), direktni utjecaj na nestabilnost i progresiju aterosklerotskog plaka, indukcija agregacije trombocita, indukcija endotelne disfunkcije i porast vazokonstriktora, oksidativna modifikacija.

Dosadašnja istraživanja vezana uz utjecaj infekcije H. pylori na lipidni status su oprečna. Pojedini rezultati pokazuju sniženje HDL, porast ukupnog kolesterola, triglicerida te nižeg HDL/kolesterol omjera [263, 264]. H. pylori CagA pozitivna infekcija mogla bi sudjelovati u razvoju koronarne ateroskleroze modificirajći serumske lipide, pojačavajući oksidaciju LDLa te aktivirajući upalne odgovore [261]. Nedavno objavljen članak potvrđuje navedeni mehanizam djelovanja bakterije H. pylori. Naime u bolesnika inficiranih bakterijom H. pylori nađene su značajno veće vrijednosti triglicerida i LDL [265]. Također je dokazano da eradikacijska terapija dovodi do sniženja LDLa, kolesterola i porasta HDLa [266 - 268]. Ipak postoje studije koje ne potvrđuju navedenu ideju o H. pylori ovisnoj dislipidemiji [269, 270].

Predloženo je da bi mogući mehanizam djelovanja bakterije H. pylori na aterosklerozu mogao biti kronični upalni proces niskog stupnja. Poznato je da infekcija H. pylori izaziva porast interleukina 6 (IL-6), tumor nekrotizirajućeg faktora α (TNFα), IL-1b i IL-8 u sluznici želuca [271]. U H. pylori inficiranim pojedincima nađen je porast cirkulirajućeg TNFα, čije su se vrijednosti značajno snizile nakon eradikacije [272, 273]. Prema Pienziazeku, H. pylori inficirani bolesnici s ishemijskom bolesti srca imaju više vrijednosti CRP-a u odnosu na kontrolnu skupinu [274]. Iste rezultate pokazala su i neka druga istraživanja [253, 274, 275]. Infekcija H. pylori može utjecati na aterogenezu u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom preko sistemske upale niskog stupnja [247]. Ipak postoje studije koje nisu potvrdile navedenu postavku [276].

Hipoteza da H. pylori infekcija utječe na koagulacijske parametre istraživana je u brojnim studijama s primarnom pozornošću na fibrinogen, fragmente protrombina, plazminogen inhibirajući faktor 1 (PAI-1), faktor VII, čak i von Willenbrandov faktor (vWF). Uglavnom je dokazano da bolesnici s ishemijskom bolesti srca pozitivni na H. pylori imaju više vrijednosti fibrinogena [277, 278], a da eradikacija H. pylori dovodi do snižavanja vrijednosti fibrinogena u toj skupini bolesnika [279]. Elizalde je pokazao da infekcija H. pylori u miša inducira agregaciju trombocita [280]. Oštećenjem

endotela mezenterične arteriole, grupa autora uspjela je dokazati značajan porast broja trombocitnih embolusa i trajanje embolizacije u miša inficiranog H. pylori u odnosu na neinficiranog miša [281]. Ossei-Gerning nije uspio dokazati povezanost infekcije H. pylori i cirkulirajućih fibrinogena, PAI-1, vWF, faktora VII u bolesnika podvrgnutih koronarnoj angiografiji [282].

U svrhu razjašnjenja učinka H. pylori na aterosklerozu predložena je i hipoteza porasta homocisteina kao posljedica redukcije folata i/ili slabe apsorpcije vitamina B12 [283]. Poznato je da hiperhomocisteinemija predstavlja poseban rizični čimbenik za razvoj ateroskleroza udruženih bolesti u sklopu endotelnog vaskularnog oštećenja [284]. Kutluana je u svom istraživanju pokazao da atrofični gastritis dovodi do hiperhomocisteinemije te da ti bolesnici imaju više vrijednosti IMT u odnosu na skupinu ispitanika bez atrofičnog gastritisa [285]. Ipak većina istraživanja pokazuje oprečne rezultate [286].

Utjecaj H. pylori na proces aterogeneze može se ispitati i metodom PCR (polymerase chain reaction) u smislu detekcije H. pylori DNA u ateromatskoj leziji. Farsak i suradnici dokazali su veći broj prisutne DNA H. pylori u uzorcima aterosklerotskih lezija dobivenih endarterektomijom karotidnih arterija u odnosu na uzorke sa zdravih regija [287]. U nekim studijama nije potvrđena navedena hipoteza direktnog učinka H. pylori na aterosklerotski plak [288]. Hagiwara u nedavnoj studiji nije uspio dokazati povezanost infekcije i ateroskleroze u 50 uzoraka dobivenih karotidnom endarterektomijom [289].

Imunoupalni čimbenici igraju važnu ulogu u progresiji ateroskleroze i destabilizaciji plaka unutarnje karotidne arterije, pretvarajući kronični proces u akutni poremećaj, tromboembolizaciju s posljedičnim tranzitornim ishemijskim atakama ili moždanim udarom. Tijekom ateroskleroze, T stanice i makrofazi infiltriraju zid krvne žile privučeni endotelnom disfunkcijom. Autoreaktivne T stanice mogu prepoznati određene autoantigene, kao oxLDL, hsp, zajedničke mikrobne antigene, te lokalno otpuštati proupalne citokine vodeći daljnjoj progresiji ateroskleroze i destabilizaciji plaka [290 - 293].

Osnovan na hipotezi da imunološki odgovor protiv antigena H. pylori može ukriženo reagirati s identičnim proteinom domaćina u obliku molekularne mimikrije, neki autori su istraživali ulogu „heat shock proteina“ (HSP) koji je izražen i u bakteriji H. pylori i u čovjeka. HSP je protein prisutan

u svim prokariotskim i eukariotskim organizmima. Visoki stupanj homolognosti između mikrobakterijskog i ljudskog HSP temelji se na konceptu molekularne mimikrije što može biti osnova nekih autoimunih oboljenja [294]. U procesu aterogeneze, stanična i humoralna imunost protiv HSP-a infektološkog patogena potiče razvoj ateroskleroze jer imuni sustav može prepoznati endogeni HSP izražen na površini endotela [295]. Lokalna upala i imunološki odgovor protiv H. pylori u želucu može potaknuti sistemsku imunološku reakciju. Poznato je da kronična H. pylori infekcija stvara IgG anti-Hp-HSP60 protutijela [296] i inducira Th1 polarizaciju T limfocita [297]. Bolesnici s aterosklerozom povremeno imaju cirkulirajuća protutijela IgG koja ukriženo reagiraju s endogenim HSP60 i Th1 dominanti T limfociti infiltriraju u njihove aterosklerotske lezije [298]. Prisustvo protutijela na hsp60 i antimikobakterijski hsp65 (mHSP65) dokazano je kod ateroskleroze karotidnih [299] i koronarnih arterija [298, 300]. I druga istraživanja potvrdila su pretpostavku o mogućem autoimunom mehanizmu nastanka ateroskleroze i njezinih posljedica [228, 301, 302]. Okada i suradnici dokazali su da je prisutnost protutijela na Hp-HSP60, a pogotovo na peptidni fragment Hp-HSP60$_{II3}$ koja križno reagiraju s Hu-HSP60w, nezavisni dijagnostički marker povezan s kardiovaskularnom bolesti [303]. Nedavno objavljeno istraživanje prikazuje mogući detaljan mehanizam međudjelovanja infekcije H. pylori i ateroskleroze. U početku H. pylori aktivira makrofage i limfocite u želučanoj sluznici, nakon čega slijedi sistemski imunološki odgovor protiv Hp-HSP60. Cirkulirajući T limfociti senzibilizirani na Hp-HSP60 pretvaraju se u Th1 dominantne T limfocite pri interakciji s endogenim HSP60 molekulama na endotelu arterija. Diferencirani Th1 limfociti penetriraju u intimu gdje aktivacijom makrofaga pridonose formiranju masnih stanica. Antibiotska terapija i pasivni transfer (imunizacija) anti-Hp-HSP60 protutijelima može biti učinkovita terapija prevencije ateroskleroze [293]. Ipak, Rothenbacher nije našao povezanost između antihsp60 i ishemijske bolesti srca [304]. Nedavno je predloženo da bi citotoksin pridružen gen A (CagA) mogao biti drugi antigen povezan s bakterijom H. pylori koji izaziva aktivaciju autoimunih mehanizama. Anti-CagA protutijela prepoznala su antigene lokalizirane unutar aterosklerotskog plaka, u tibijalnim arterijama te dovela do specifične imunoprecipitacije dva antigena težine 160 i 180 kDa iz arterijskih lizata [227]. Druga studija potvrdila je postojanje antigene mimikrije između CagA antigena i proteina u koronarnim aterosklerotskim

plakovima [228].

Naše istraživanje pokazuje, po prvi puta, mimikriju između antigena u karotidnom aterosklerotskom plaku i CagA antigena. Također je otkriveno da je titar CagA protutijela viši u bolesnika sa simptomatskom stenozom karotidne arterije u odnosu na bolesnike s asimptomatskom stenozom karotidne arterije ili kontrolom. Rezultati ultrazvučne pretrage potvrđuju prisutnost hipoehogenih plakova učestalije u grupi bolesnika sa simptomatskom stenozom karotidne arterije u odnosu na bolesnike s asimptomatskom stenozom karotidne arterije. Ti nalazi sugeriraju da bi kod bolesnika koji su preboljeli tranzitornu ishemijsku ataku ili moždani udar uzrokovane stenozom karotidne arterije, pojačan imunološki odgovor protiv CagA-pozitivnog H. pylori mogao uzrokovati destabilizaciju i rupturu aterosklerotskog plaka. Gabrielli i suradnici [221] su prethodno pokazali povezanost između CagA-pozitivnih H. pylori sojeva i prisutnosti nestabilnosti karotidnog plaka u bolesnika s aterosklerotskim moždanim udarom.

U našem istraživanju, pozitivna imunoreaktivnost između monoklonskih CagA protutijela i antigena u karotidnom aterosklerotskom plaku bila je učestalije izražena u simptomatskoj grupi uspoređujući s asimptomatskom grupom. U suprotnosti, Franceschi i suradnici [228] pronašli su pozitivnu reakciju u svim koronarnim aterosklerotskim uzorcima uključujući bolesnike sa stabilnom anginom pektoris i bolesnike s nestabilnom anginom pektoris. CagA protutijela reagirala su s citoplazmom fibroblasta i jezgrama i citoplazmom limfocita, stanica uključenih u destabilizaciju plaka. Objašnjenje te razlike među grupama ostaje nejasno. Moglo bi biti povezano s činjenicom da se pozitivna imunoreaktivnost može bolje vizualizirati u simptomatskoj grupi. Naime, prethodnim histopatološkim istraživanjima endarterektomiranih uzoraka otkriveno je da su ulceracija i ruptura plaka glavne morfološke karakteristike simptomatskih stenoza u odnosu na asimptomatske plakove [305 - 307]. Nadalje, uzorci dobiveni od simptomatskih bolesnika s rupturom i ulceracijom plaka češće su pokazivali luminalnu trombozu, osobito u podgrupi bolesnika s prethodnim ishemijskim moždanim udarom [308 - 310]. Područja plaka prekrivena upalnim stanicama bila su značajnije veća u simptomatskim karotidnim plakovima prema asimptomatskim plakovima, indicirajući da bi akutna upala također mogla biti uključena u destabilizaciju plaka [306, 311 - 313].

U konačnici, važnost rezultata ovog istraživanja počiva u spoznaji da citotoksični CagA pozitivni sojevi bakterije H. pylori imaju utjecaja na razvoj aterosklerotske karotidne bolesti. Poseban naglasak je na povezanosti CagA pozitivnih sojeva bakterije H. pylori i simptomatske karotidne aterosklerotske bolesti. Prema rezultatima imunohistokemijske analize i ultrazvučne pretrage, postoji mogućnost utjecaja imunoupalnog procesa na destabilizaciju karotidnog aterosklerotskog plaka prodonoseći razvoju akutne cerebrovaskularne bolesti [314]

8. ZAKLJUČCI

1. Prevalencija infekcije H. pylori podjednaka je u skupini bolesnika sa stenozom karotidne arterije i kontrolnoj skupini, kao i uspoređujući simptomatske bolesnike i asimptomatske bolesnike sa stenozom karotidne arterije.
2. Prevalencija CagA pozitivnih sojeva bakterije H. pylori statistički je značajno veća u skupini bolesnika sa stenozom karotidne arterije u odnosu na kontrolnu skupinu, a isto tako je veća i u skupini simptomatskih bolesnika u odnosu na asimptomatske bolesnike sa stenozom karotidne arterije.
3. Titar anti-CagA protutijela značajnije je viši u bolesnika sa stenozom karotidne arterije u odnosu na kontrolnu skupinu.
4. Titar anti-CagA protutijela značajnije je viši u bolesnika sa simptomatskom u odnosu na bolesnike s asimptomatskom stenozom karotidne arterije.
5. Bolesnici sa simptomatskom karotidnom arterijskom bolesti češće su imali iregularne, ulcerirajuće plakove prikazano ultrazvučnim pregledom u odnosu na bolesnike s asimptomatskom stenozom karotidne arterije, sugerirajući mogući utjecaj imunoupalnog procesa u destabilizaciji plaka.
6. Povišen serumski titar anti-CagA protutijela povećava vjerojatnost postojanja simptomatske stenoze karotidne arterije za 3.7 puta.
7. Imunohistokemijskom metodom dokazano je postojanje molekularne mimikrije između CagA antigena bakterije H. pylori i antigena zida krvne žile unutar aterosklerotski promijenjenih karotidnih arterija.

9. SAŽETAK

Dosadašnji rezultati upućuju na mogući utjecaj citotoksin pridružen gen-A (CagA) pozitivnih sojeva bakterije Helicobacter pylori na pojavu i destabilizaciju koronarnih aterosklerotskih plakova. Ipak, nedostaju podaci o povezanosti CagA pozitivne H. pylori infekcije i nestabilnosti plakova karotidne arterije. Stoga je istražena uloga CagA antigena u bolesnika sa simptomatskim i asimptomatskim karotidnim aterosklerotskim plakovima. U ispitivanje je uključeno ukupno 64 bolesnika s uznapredovalom stenozom karotidne arterije, uključujući 33 bolesnika sa simptomatskom i 31 bolesnik s asimptomatskom stenozom unutarnje karotidne arterije, potvrđeno ultrazvučnom metodom, liječenih karotidnom endarterektomijom. Kontrolnu grupu su činila 65 ispitanika bez anamneze ili prisutnosti vaskularnih oboljenja. Svim ispitanicima je učinjena serologija na bakteriju H. pylori i na CagA antigen bakterije. Uzorci aterosklerotskih plakova, dobiveni od svih bolesnika tijekom karotidne endarterektomije, obrađeni su imunohistokemijski uz primjenu anti-CagA monoklonskih protutijela. Također su određena i ultrazvučna obilježja plaka. Titrovi CagA protutijela značajnije su viši u simptomatskih bolesnika (8.8; raspon, 5.8–32.7) uspoređujući s asimptomatskim bolesnicima (4.7; raspon, 2.1–8.8; P = 0.005) i kontrolnom skupinom (5.0; raspon 2.2–7.9; P<0.001). Postojala je značajna razlika u eholuscenciji plaka (≥25% mekog materijala) između simptomatske i asimptomatske skupine (P = 0.034) utvrđeno ultrazvučnim pregledom. Pozitivna imunoreaktivnost između monoklonalnih CagA protutijela i antigena unutar aterosklerotskih uzoraka bila je izraženija kod simptomatskih bolesnika uspoređujući s asimptomatskim bolesnicima (97.0 vs. 74.2%; P = 0.009). Rezultati ovog istraživanja pokazuju da H. pylori može imati ulogu u patogenezi aterosklerotskog procesa preko autoimunog mehanizma te dodatno doprinijeti destabilizaciji karotidnog aterosklerotskog plaka.

10. SUMMARY

Influence of CagA-positive Helicobacter pylori strains on atherosclerotic carotid disease

Petra Bago Rožanković, 2011.

Citotoxin-associated gene-A (CagA)-positive Helicobacter pylori strains have been associated with occurrence and destabilization of coronary atherosclerotic plaques. However, data on the relationship between CagA positive H. pylori infection and carotid artery instability are lacking. Thus, the role of CagA antigen in patients with symptomatic and asymptomatic carotid atherosclerotic plaques was investigated. A total of 64 patients with advanced carotid artery stenosis, including 33 patients with symptomatic and 31 patients with asymptomatic internal carotid artery stenosis, verified by duplex ultrasound, all undergoing carotid endarterectomy, were studied. The control group consisted of 65 subjects without a history or presence of vascular diseases. Serology for H. pylori and CagA antigen was assessed in all participants. Specimens of atherosclerotic plaques obtained from all patients during carotid endarterectomy were analyzed immunohistochemically using anti-CagA monoclonal antibodies. The ultrasonographic plaque characteristics were also estimated. CagA antibody titers were significantly higher in symptomatic patients (8.8; range, 5.8–32.7) compared to asymptomatic patients (4.7; range, 2.1–8.8; $P = 0.005$) and the control group (5.0; range 2.2–7.9; $P<0.001$). There was significant difference in echolucency (≥25% soft material) between the symptomatic and asymptomatic groups ($P = 0.034$) by ultrasonographic evaluation. Positive immunoreactivity between monoclonal CagA antibodies and antigens within atherosclerotic specimens was significantly higher among symptomatic patients compared to asymptomatic patients (97.0 vs. 74.2%; $P = 0.009$). The results of this study indicate that H. pylori may play a role in the pathogenesis of the atherosclerotic process due to autoimmune mechanisms and even contribute to destabilization of carotid atherosclerotic plaques.

11. LITERATURA

1. Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability and contribution of risk factors: Global Burden Of Disease Study. Lancet. 1997;349:1436-1442.
2. Libby P. Changing concepts of atherogenesis. J Int Med. 2000;247:349-358.
3. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a prospective from the 1990s. Nature. 1993;362:801-809.
4. Stehbens WE. Epidemiological risk factors of coronary heart disease are not causal in atherosclerosis. Clin Exp Hypertens. 2000;22;445-453.
5. Wald NJ, Law M, Watt HC et al. Apolipoproteins and ischaemic heart disease: implications for screening. Lancet. 1994;343:75-79.
6. Zhou X, Stemme S, Hansson GK. Evidence for a local immune response in atherosclerosis: CD4+ T cells infiltrate lesions of apolipoprotein-E-deficient mice. Am J Pathol. 1996;149:359:366.
7. Stemme S, Faber B, Holm J, et al. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. Proc Natl Acad Sci (USA). 1995;92:3893-97.
8. Xu Q, Kleindienst R, Waitz W, Dietrich H, Wick G. Increased expression of heat shock protein 65 coincides with a population infiltrating T lymphocytes in atherosclerotic lesions of rabbits specifically responding to heat shock protein 65. J Clin Invest. 1993;91:2693-2702.
9. Benangiano M, D Delios MM, Amadei A, et al. Human 60-kDa heat shock protein is a target autoantigen of T cells derived from atherosclerotic plaques. J Immunol. 2005;174:6509-6517.
10. Rus HG, Niculescu F, Vlaicu R. Tumor necrosis factor-alfa in human arterial wall with atherosclerosis. Atherosclerosis. 1991;89:247-254.
11. Birnbaum G, Antel J, Hartung HP. Introduction to immunology. In: Antel J, Birnbaum G, Hartung HP, Vincent A, eds. Clinical Neuroimmunology. 2nd Edition. Oxford, England: Oxford University Press; 2005:1-11.
12. Hartung HP, Kieseier BC, Gold R, Stoll G, Tokya KV. Introduction to immune reactions in the periferal nervous system. In:Dyck PJ, Thomas PK, eds. Periferal Neuropathy. 4th Edition. Philadephia, Pa: Elsevier Saunders: 2005:559-572.
13. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001;21:1876-1890.
14. Li AC, Glass CK. The macrophage foam cell as a target for therapeutic intervention. Nat Med. 2002;8:1235-1242.
15. Lutgens E, Faber B, Schapira K, Evelo CT, et al. Gene profiling in atherosclerosis reveals a key role for small inducible cytokine: validation using a novel monocyte chemoattractant protein monoclonal antibody. Circulation. 2005;111:3443-3452.
16. Drechsler M, Megens RT, van Zandvoort M, Weber C, Soehnlein O. Hyperlipidemia-triggered neutrophilia promotes early atherosclerosis. Circulation. 2010;122(18):1837-45.
17. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. N Engl J Med. 2003;349(24):2316-25.
18. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, et al. Heart disease and stroke statistics-2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Circulation. 2009;119(3):e21-181.
19. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. N Engl J Med. 1999;340(2):115-26.
20. Mills NL, Donaldson K, Hadoke PW, et al. Adverse cardiovascular effects of air pollution. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2009;6(1):36-44.
21. Ridker PM. Evaluating novel cardiovaskular risk factors: can we better predict heart attacks? Ann Intern Med. 1999;130(11):933-7.
22. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. N Engl J Med. 2008;359(21):2195-207.

23. O' Connor S, Taylor C, Campbell LA, et al. Potential infectious etiologies of atherosclerosis: a multifactorial perspective. Emerg Infect Dis. 2001;7:780-788.
24. Kinjo K, Sato H, Ohnishi Y, Hishida E, et al. Joint effects of Chlamydia pneumoniae infection and classic coronary risk factors on risk of acute myocardial infarction. Am Heart J. 2003;146:324-330.
25. Sessa R, Di Peitro M, Santino I, et al. Chlamydia pneumoniae infection and atherosclerotic coronary disease. Am Heart J. 1999;137:1116-1119.
26. Zairis MN, Papadaki OA, Psarogianni PK, Thoma MA, et al. Serologic markers of persistent Chlamydia pneumonia infection and long-term prognosis after successful coronary stenting. Am Heart J. 2003;146:1082-1089.
27. Wong BY, Gnarpe J, Teo KK, Ohman EM, Prosser C, et al. Does chronic Chlamydia pneumoniae infection increase the risk of myocardial injury? Insights from patients with non-ST elevation acute coronary syndromes. Am Heart J. 2002;144:987-994.
28. Lindsberg PJ, Grau AJ. Inflamation and infections as risk factors for ischemic stroke. Stroke. 2003;34:2518-2532.
29. Grau AJ. Infection, inflammation, and cerebrovascular ischemia. Neurology. 1997;49:S47-S51.
30. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and risk of cardiovascular disease in apparentely helathy men. N Engl J Med. 1997;336:973-997.
31. Espiola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, et al. Inpact of infectious burden on progression of carotid atherosclerosis. Stroke. 2002;33:2581-2586.
32. Akbas HS, Basyigit S, Suleymanlar I, et al. The assessment of carotid intima media thickness and serum paraoxonase-1 activity in Helicobacter pylori positive subjects. Lipids health Dis. 2010;9:92.
33. Elkind MS, Luna JM, Moon YP, Boden-Albala B, et al. Infectious burden and carotid plaque thickness: the northen Manhattan study. Stroke. 2010;41(3):e117-22.
34. Stone AF, Mendall MA, Kaski JC et al. Effect of treatment for Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori on markers of inflammation and cardiac events in patients with acute coronary syndromes: South Thames Trial of Antibiotics in Myocardial Infarction and Unstable Angina (STAMINA). Circulation. 2002;106:1219-1223.
35. Fazio G, Giovino M, Gullotti A, et al. Atherosclerosis, inflammation and Chlamydia pneumoniae. World J Cardiol. 2009;1(1):31-40.
36. Caposio P, Orloff SL, Streblow DN. The role of cytomegalovirus in angiogenesis. Virus Res. 2010;157(2):204-11.
37. Ionita CC, Siddiqui AH, Levy EI, Hopkins LN, et al. Acute ischemic stroke and infections. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2011;20(1):1-9.
38. Antithrombin Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomized trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. BMJ. 2002;324:71–86.
39. Cho L, Mukherjee D. Basic cerebral anatomy for the carotid interventionalist: the intracranial and extracranial vessels. Catheter Cardiovasc Interv. 2006;68:104 –11.
40. Wolf PA, Clagett GP, Easton JD, et al. Preventing ischemic stroke in patients with prior stroke and transient ischemic attack: a statement for healthcare professionals from the Stroke Council of the American Heart Association. Stroke. 1999;30:1991– 4.
41. Centers for Disease Control and Prevention. Prevalence of disabilities and associated health conditions among adults–United States, 1999. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2001;50:120 –5.
42. National Institute of Neurological Disorders and Stroke Stroke and Trauma Division. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) Investigators. Clinical alert: benefit of carotid endarterectomy for patients with high-grade stenosis of the internal carotid artery. Stroke. 1991;22:816 –7.
43. Young B, Moore WS, Robertson JT, et al., ACAS Investigators. An analysis of perioperative surgical mortality and morbidity in the asymptomatic carotid atherosclerosis study.

Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. Stroke. 1996;27:2216 –24.
44. Halliday AW, Thomas D, Mansfield A, Steering Committee. The Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST): rationale and design. Eur J Vasc Surg. 1994;8:703–10.
45. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. N Engl J Med. 1991;325:445–53.
46. Halliday A, Mansfield A, Marro J, et al. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. Lancet. 2004;363:1491–502.
47. Fisher M, Paganini-Hill A, Martin A, et al. Carotid plaque pathology: thrombosis, ulceration, and stroke pathogenesis. Stroke. 2005;36:253–7.
48. Lal BK, Hobson RW, Pappas PJ, et al. Pixel distribution analysis of B-mode ultrasound scan images predicts histologic features of atherosclerotic carotid plaques. J Vasc Surg. 2002;35:1210 –7.
49. Redgrave JN, Coutts SB, Schulz UG, et al. Systematic review of associations between the presence of acute ischemic lesions on diffusion weighted imaging and clinical predictors of early stroke risk after transient ischemic attack. Stroke. 2007;38:1482– 8.
50. Adams HP Jr., del Zoppo GJ, Alberts MJ, et al. Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups. Stroke. 2007;38:1655–711.
51. Sacco RL, Adams R, Albers G, et al. Guidelines for prevention of stroke in patients with ischemic stroke or transient ischemic attack: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Council on Stroke. Stroke. 2006;37:577–617.
52. Adams HP Jr., Adams RJ, Brott T, et al. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: a scientific statement from the Stroke Council of the American Stroke Association. Stroke. 2003;34:1056–83.
53. Williams JE, Rosamond WD, Morris DL. Stroke symptom attribution and time to emergency department arrival: the delay in accessing stroke healthcare study. Acad Emerg Med. 2000;7:93– 6.
54. Lisabeth LD, Ireland JK, Risser JM, et al. Stroke risk after transient ischemic attack in a population-based setting. Stroke. 2004;35:1842– 6.
55. Kleindorfer D, Panagos P, Pancioli A, et al. Incidence and short-term prognosis of transient ischemic attack in a population-based study. Stroke. 2005;36:720 –3.
56. Lovett JK, Dennis MS, Sandercock PA, et al. Very early risk of stroke after a first transient ischemic attack. Stroke. 2003;34:e138–40.
57. Johnston SC, Easton JD. Are patients with acutely recovered cerebral ischemia more unstable? Stroke. 2003;34:2446 –50.
58. Fisher M. Stroke and TIA: epidemiology, risk factors, and the need for early intervention. Am J Manag Care. 2008;14:S204 –11.
59. Heyman A, Wilkinson WE, Hurwitz BJ, et al. Risk of ischemic heart disease in patients with TIA. Neurology. 1984;34:626 –30.
60. Dennis M, Bamford J, Sandercock P, et al. Prognosis of transient ischemic attacks in the Oxfordshire Community Stroke Project. Stroke. 1990;21:848 –53.
61. Whisnant JP. Clinical epidemiology in transient cerebral ischemic attacks (TIA) in the anterior and posterior circulation. In: Sundt TM, editor. Occlusive Cerebrovascular Disease: Diagnosis and Surgical Management. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1987:60 –5
62. Barnett HJ, Taylor DW, Eliasziw M, et al., North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. N Engl J Med. 1998;339:1415–25.
63. Naylor AR. Occam's razor: intervene early to prevent more strokes! J Vasc Surg.

2008;48:1053–9.
64. Gautier JC. Amaurosis fugax. N Engl J Med. 1993;329:426–8.
65. Benavente O, Eliasziw M, Streifler JY, et al. Prognosis after transient monocular blindness associated with carotid-artery stenosis. N Engl J Med. 2001;345:1084 –90.
66. Gaul JJ, Marks SJ, Weinberger J. Visual disturbance and carotid artery disease: 500 symptomatic patients studied by non-invasive carotid artery testing including B-mode ultrasonography. Stroke. 1986;17:393– 8.
67. Gallego CJ, Herrera M, Navarro M. Ophthalmological manifestations of cerebrovascular disease [in Spanish]. An Sist Sanit Navar. 2008;31Suppl 3:111–26.
68. Grant EG, Benson CB, Moneta GL, et al. Carotid artery stenosis: gray-scale and Doppler US diagnosis–Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference. Radiology. 2003;229:340–6.
69. Quershi AI, Alexandrov AV, Tegeler CH, Hobson RW, Baker DJ, Hopkins LN. Guidelines for screening of extracranial carotid artery disease: a statement for healthcare professionals from the Multidisciplinary Practice Guidelines Committee of the American Society of Neuroimaging; cosponsored by the Society of Vascular and Interventional Neurology. J Neuroimaging. 2007;17:19-47.
70. Long A, Lepoutre A, Corbillon E, et al. Critical review of non- or minimally invasive methods (duplex ultrasonography, MR- and CT-angiography) for evaluating stenosis of the proximal internal carotid artery. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2002;24:43–52.
71. Chen CJ, Lee TH, Hsu HL, et al. Multi-slice CT angiography in diagnosing total versus near occlusions of the internal carotid artery: comparison with catheter angiography. Stroke. 2004;35:83–5.
72. Eisenberg RL, Bank WO, Hedgcock MW. Neurologic complications of angiography in patients with critical stenosis of the carotid artery. Neurology. 1980;30:892–5.
73. Earnest F, Forbes G, Sandok BA, et al. Complications of cerebral angiography: prospective assessment of risk. AJR Am J Roentgenol. 1984;142:247–53.
74. Dion JE, Gates PC, Fox AJ, et al. Clinical events following neuroangiography: a prospective study. Stroke. 1987;18:997–1004.
75. Grzyska U, Freitag J, Zeumer H. Selective cerebral intraarterial DSA: complication rate and control of risk factors. Neuroradiology. 1990;32:296–9.
76. Hankey GJ, Warlow CP, Sellar RJ. Cerebral angiographic risk in mild cerebrovascular disease. Stroke. 1990;21:209 –22.
77. Hankey GJ, Warlow CP, Molyneux AJ. Complications of cerebral angiography for patients with mild carotid territory ischaemia being considered for carotid endarterectomy. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1990;53:542– 8.
78. Davies KN, Humphrey PR. Complications of cerebral angiography in patients with symptomatic carotid territory ischaemia screened by carotid ultrasound. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1993;56:967–72.
79. Leonardi M, Cenni P, Simonetti L, et al. Retrospective study of complications arising during cerebral and spinal diagnostic angiography from 1998 to 2003. Interv Neuroradiol. 2005;11:213–21.
80. MacMahon S, Peto R, Cutler J, et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1: prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. Lancet. 1990;335:765–74.
81. Rodgers A, MacMahon S, Gamble G, et al., Blood pressure and risk of stroke in patients with cerebrovascular disease. The United Kingdom Transient Ischaemic Attack Collaborative Group. BMJ. 1996;313:147.
82. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, et al. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. Lancet. 2002;360:1903–13.
83. Lawes CM, Bennett DA, Feigin VL, et al. Blood pressure and stroke: an overview of published reviews. Stroke. 2004;35:776–85.
84. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, et al. Carotid atherosclerosis measured by B-mode

ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. Am J Epidemiol. 1991;134:250–6.
85. Howard G, Manolio TA, Burke GL, et al., The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) and Cardiovascular Health Study (CHS) Investigators. Does the association of risk factors and atherosclerosis change with age? An analysis of the combined ARIC and CHS cohorts. Stroke. 1997;28:1693–701.
86. PROGRESS Collaborative Group. Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. Lancet. 2001;358:1033–41.
87. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, et al. Effects of an angiotensin-convertingenzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients: the Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. N Engl J Med. 2000;342:145–53.
88. Shinton R, Beevers G. Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. BMJ. 1989;298:789 –94.
89. Kawachi I, Colditz GA, Stampfer MJ, et al. Smoking cessation and decreased risk of stroke in women. JAMA. 1993;269:232– 6.
90. Robbins AS, Manson JE, Lee IM, et al. Cigarette smoking and stroke in a cohort of U.S. male physicians. Ann Intern Med. 1994;120:458–62.
91. Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH, et al. Smoking cessation and the risk of stroke in middle-aged men. JAMA. 1995;274:155– 60.
92. Rohr J, Kittner S, Feeser B, et al. Traditional risk factors and ischemic stroke in young adults: the Baltimore-Washington Cooperative Young Stroke Study. Arch Neurol. 1996;53:603–7.
93. Howard G, Wagenknecht LE, Cai J, et al. Cigarette smoking and other risk factors for silent cerebral infarction in the general population. Stroke. 1998;29:913–7.
94. Lu M, Ye W, Adami HO, et al. Stroke incidence in women under 60 years of age related to alcohol intake and smoking habit. Cerebrovasc Dis. 2008;25:517–25.
95. Wilson PW, Hoeg JM, D'Agostino RB, et al. Cumulative effects of high cholesterol levels, high blood pressure, and cigarette smoking on carotid stenosis. N Engl J Med. 1997;337:516 –22.
96. Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A III, et al. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. N Engl J Med. 2006;355:549–59.
97. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2002;360:7–22.
98. Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, et al. A prospective study of maturity-onset diabetes mellitus and risk of coronary heart disease and stroke in women. Arch Intern Med. 1991;151:1141–7.
99. Karapanayiotides T, Piechowski-Jozwiak B, van Melle G, et al. Stroke patterns, etiology, and prognosis in patients with diabetes mellitus. Neurology. 2004;62:1558–62.
100. Folsom AR, Rasmussen ML, Chambless LE, et al. Prospective associations of fasting insulin, body fat distribution, and diabetes with risk of ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Diabetes Care. 1999;22:1077– 83.
101. Laakso M. Benefits of strict glucose and blood pressure control in type 2 diabetes: lessons from the UK Prospective Diabetes Study. Circulation. 1999;99:461–2.
102. Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, et al. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. N Engl J Med. 2008;358:2545–59.
103. Patel A, MacMahon S, Chalmers J, et al. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med. 2008;358:2560 –72.
104. Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. N Engl J Med. 2005;353:2643–53.
105. UK-TIA Study Group. United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: interim results. Br Med J (Clin Res Ed). 1988; 296:316 –20.
106. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study

(CARDS): multicentre randomized placebo-controlled trial. Lancet. 2004;364:685–96.
107. Antithrombin Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. BMJ. 2002;324:71–86.
108. Mohr JP, Thompson JL, Lazar RM, et al. A comparison of warfarin and aspirin for the prevention of recurrent ischemic stroke. N Engl J Med. 2001;345:1444 –51.
109. Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM, et al. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 2004;364:331–7.
110. Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, et al. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. N Engl J Med. 2006;354:1706 –17.
111. Diener HC, Cunha L, Forbes C, et al. European Stroke Prevention Study: 2: dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke. J Neurol Sci. 1996;143:1–13.
112. Sacco RL, Diener HC, Yusuf S, et al. Aspirin and extended-release dipyridamole versus clopidogrel for recurrent stroke. N Engl J Med. 2008;359:1238 –51.
113. Cao PF, Sweango P, Zannetti S, et al. Eversion versus conventional carotid endarterectomy for preventing stroke. Cochrane Database Syst Rev. 2000;4:CD001921.
114. Bond R, Rerkasem K, Aburahma AF, Naylor AR, Rothwell PM. Patch angioplasty versus primary closure for carotid endarterectomy. Cochrane Database Syst Rev. 2004,2: CD000160.
115. GALA Trial Collaborative Group. General anaesthesia versus local anaesthesia for carotid surgery (GALA): a multicentre, randomised controlled trial. Lancet. 2008;372:2132-42.
116. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70-99%) or with mild (0-20%) carotid stenosis. Lancet. 1991;337:1235-43.
117. Stingele R, Berger J, Alfke K, Eckstein HH, Fraedrich G, Allenberg J, et al. Clinical and angiographic risk factors for stroke and death within 30 days after carotid endarterectomy and stent-protected angioplasty: a subanalysis of the SPACE study. Lancet Neurol. 2008;7:216-22.
118. Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Fox AJ, Taylor DW, Mayberg MR, et al. Analysis of pooled data from the randomised controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. Lancet. 2003;361:107-16.
119. Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJ. Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups and timing of surgery. Lancet. 2004;363:915-24.
120. Rothwell PM, Gibson R, Warlow CP. The interrelation between plaque surface morphology and degree of stenosis on carotid angiograms and the risk of ischaemic stroke in patients with symptomatic carotid stenosis. Stroke. 2000;31:615-21.
121. Executive Committee for the Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. Endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis. JAMA 1995;273:1421-8.
122. Halliday A, Mansfield A, Marro J, Peto C, Peto R, Potter J, et al.; MRC Asymptomatic Carotid Surgery Trial (ACST) Collaborative Group. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomized controlled trial. Lancet. 2004;363:1491-502.
123. Chambers BR, Donnan GA. Carotid endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis. Cochrane Data Syst Rev 2005;4:CD001923.
124. Yadav JS, Wholey MK, Kuntz RE, Fayad P, Katzen BT, Mishkel GJ, et al. Protected carotid artery stenting *versus* endarterectomy in high-risk patients. N Engl J Med. 2004;351:1493-501.
125. Mas JL, Chatellier G, Beyssen B, Branchereau A, Moulin T, Becquemin JP, et al. Endarterectomy versus stenting in patients with symptomatic severe carotid stenosis. N Engl J Med. 2006;355:1660-71.
126. Ringleb PA, Allenberg J, Brunckmann H, Eckstein HH, Fraedrich G, Hartmann M, et al. 30-

day results from the SPACE trial of stent-protected angioplasty versus carotid endarterectomy in symptomatic patients: a randomised noninferiority trial. Lancet. 2006;368:1239-47.
127. Mas JL, Trinquart L, Leys D, Albucher JF, Rousseau H, Viguier A, et al. Endarterectomy versus Angioplasty in Patients with Symptomatic Severe Carotid Stenosis (EVA-3S) trial: results up to 4 years from a randomised, multicentre trial. Lancet Neurol. 2008;7:885-92.
128. Gurm HS, Yadav JS, Fayad P, Katzen BT, Mishkel GJ, Bajwa TK, et al. Long-term results of carotid stenting versus endarterectomy in high-risk patients. N Engl J Med. 2008;358:1572-9.
129. Stingele R, Berger J, Alfke K, Eckstein HH, Fraedrich G, et al. Clinical and angiographic risk factors for stroke and death within 30 days after carotid endarterectomy and stent-protected angioplasty: a subanalysis of the SPACE study. Lancet Neurol. 2008;7:216-22.
130. Hobson RW, Howard VJ, Roubin GS, Brott TG, Ferguson RD, Pompa JJ, et al. Carotid artery stenting is associated with increased complications in octogenarians: 30-day stroke and death rates in the CREST lead-in phase. J Vasc Surg. 2004;40:1106-11.
131. Coward LJ, Featherstone RL, Brown MM. Percutaneous transluminal angioplasty and stenting for carotid artery stenosis. Cochrane Database Syst Rev. 2004;2:CD000515
132. Ringleb PA, Chatellier G, Hacke W, Favre JP, Bartoli JM, Eckstein HH, et al. Safety of endovascular treatment of carotid artery stenosis compared with surgical treatment: a meta-analysis. J Vasc Surg. 2008;47:350-5.
133. Ederle J, Featherstone RL, Brown MM. Randomized controlled trials comparing endarterectomy and endovascular treatment for carotid artery stenosis: a Cochrane systematic review. Stroke 2009;40:1373-80.
134. CAVATAS Investigators. Endovascular versus surgical treatment in patients with carotid stenosis in the Carotid and Vertebral Artery Transluminal Angioplasty Study (CAVATAS): a randomised trial. Lancet. 2001;357:1729-37.
135. Gray WA, Chaturvedis, Verta P. Thirty-day outcomes for carotid artery stenting in 6320 patients from two prospective, multicentre, high-surgical-risk registries. Circ Cardiovasc Intervent. 2009;2:159-66.
136. Eckstein HH, Ringleb P, Allenberg JR, Berger J, Fraedrich G, Hacke W, et al. Results of the Stent-Protected Angioplasty versus Carotid Endarterectomy (SPACE) study to treat symptomatic stenoses at 2 years: a multinational, prospective, randomised trial. Lancet. 2008;7:893-902.
137. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clin Microbiol Rev. 2006;19(3):449-490.
138. Amieva MR, El-Omar EM. Host-bacterial interactions in Helicobacter pylori infection. Gastroenterology. 2008; 134(1):306-323.
139. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet. 1984; 1(8390):1311-1315.
140. Blaser MJ, Atherton JC. Helicobacter pylori persistence: biology and disease. J Clin Invest. 2004;113(3):321-333.
141. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of Helicobacter pylori: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Ann Rev Microbiol. 2000;54:615-640.
142. Atherton JC. The pathogenesis of Helicobacter pylori-induced gastro-duodenal diseases. Ann Rev Pathol. 2006;1:63-96.
143. Modena JL, Acrani GO, Micas AF, et al. Correlation between Helicobacter pylori infection, gastric diseases and life habits among patients treated at a university hospital in southeast Brazil. Braz J Infect Dis. 2007;11(1):89-95.
144. The EUROGAST Study Group. An international association between Helicobacter pylori infection and gastric cancer. Lancet. 1993; 341(8857):1359-1362.
145. Forman D, Sitas F, Newell DG, et al. Geographic association of Helicobacter pylori antibody prevalence and gastric cancer mortality in rural China. Int J Cancer. 1990;46(4):608-611.
146. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, et al. Epidemiology of Helicobacter pylori in an

asymptomatic polulation in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 1991;100:1495-1501.
147. Mendall MA, Goggin PM, et al. Childhood living conditions and Helicobacter pylori seropositivity in adult life. Lancet. 1992;339:896-897.
148. Fiodorek SC, Malaty HM, Evans DL, et al. Factors influencing the epidemiology of Helicobacter pylori infection in children. Pediatrics. 1991;88:578-582.
149. Baltrus DA, Amieva MR, Covacci, et al. The complete genome sequence of Helicobacter pylori strain G27. J Bacteriol. 2009;191(1):447-448.
150. Dunn BE, Campbell GP, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Purification and characterization of urease from Helicobacter pylori. J Biol Chem. 1990;265(16):9464-9469.
151. Stingl K, De Reuse H. Staying alive overdosed: how does Helicobacter pylori control urease activity? Int J Med Microbiol. 2005;295(5):307-315.
152. Parsonnet J, Shmuely H, Haggerty T. Fecal and oral shedding of Helicobacter pylori from healthy infected adults. JAMA. 1999;282:2240–5.
153. Marshall BJ, Barrett LJ, Prakash C, McCallum RW, Guerrant RL. Urea protects Helicobacter (Campylobacter) pylori from the bactericidal effect of acid. Gastroenterology. 1990;99:697–702.
154. Ge Z, Taylor DE. Contributions of genome sequencing to understanding the biology of Helicobacter pylori. Review. Annu Rev Microbiol.1999;53:353–87.
155. Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of Helicobacter pylori: association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. J Biol Chem 1995;270:17771–7.
156. de Bernard M, Papini E, de Filippis V, Gottardi E, et al. Low pH activates the vacuolating toxin of Helicobacter pylori, which becomes acid and pepsin resistant. J Biol Chem. 1995;270:23937–40.
157. Ge Z, Taylor DE. Contributions of genome sequencing to understanding the biology of Helicobacter pylori. Review. Annu Rev Microbiol. 1999;53:353–87.
158. Melchers K, Herrmann L, Mauch F, Bayle D, et al. Properties and function of the P type ion pumps cloned from Helicobacter pylori. Acta Physiol Scand Suppl. 1998;643:123-35.
159. Cover TL, Dooley CP, Blaser MJ. Characterization of and human serologic response to proteins in Helicobacter pylori broth culture supernatants with vacuolizing cytotoxin activity. Infect Immun. 1990;58(3):603-610.
160. Covacci A, Censini S, Bugnoli M, et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of Helicobacter pylori associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. Proc Natl Acad Sci USA. 1993; 90(12),5791-5795.
161. Atherton JC, Peek RM Jr, Tham KT, et al. Clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, the vacuolating gene of Helicobacter pylori. Gastroenterology. 1997;112:92-97.
162. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R. Helicobacter pylori virulence and genetic geography. Review. Science. 1999;284:1328–33.
163. Segal ED, Cha J, Lo J, Falkow F, Tompkins LS. Altered states: involvement of phosphorylated Caga in the induction of host cellular growth changes by Helicobacter pylori. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;96:14559–64.
164. Godoy AP, Ribeiro ML, Benvengo YH, et al. Analysis of antimicrobial susceptibility and virulence factors in Helicobacter pylori clinical isolates. BMC Gastroenterol. 2003;3:20.
165. Erzin Y, Koksal V, Altun S, et al. Prevalence of Helicobacter pylorivacA, cagA, cagE, iceA, babA2 genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. Helicobacter. 2006;11(6):574-580.
166. Censini S, Lange C, Xiang Z et al. Cag, a pathogenicity island of Helicobacter pylori, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA. 1996; 93(25):14648-14653.
167. Proenca Modena JL, Lopes Sales AI, Olszanski Acrani G, et al. Association between Helicobacter pylori genotypes and gastric disorders in relation to the cag pathogenicity island. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;59(1):7-16.

168. Ashour AA, Magalhães PP, Mendes EM, et al. Distribution of vacA genotypes in Helicobacter pylori strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. FEMS Immunol Med Microbiol. 2002;33(3):173-178.
169. Figueiredo C, Van Doorn LJ, Nogueira C, et al. Helicobacter pylori genotypes are associated with clinical outcome in Portuguese patients and show a high prevalence of infections with multiple strains. Scand. J. Gastroenterol. 2001;36(2):128-135.
170. Miehlke S, Kirsch C, Agha-Amiri K, et al. The Helicobacter pylori vacA s1, m1 genotype and cagA is associated with gastric carcinoma in Germany. Int J Cancer. 2000; 87(3):322-327.
171. Rota CA, Pereira-Lima JC, Blaya C, Nardi NB. Consensus and variable region PCR analysis of Helicobacter pylori 3' region of cagA gene in isolates from individuals with or without peptic ulcer. J Clin Microbiol. 2001;39(2):606-612.
172. Queiroz DM, Mendes EN, Carvalho AS et al.: Factors associated with Helicobacter pylori infection by a cagA-positive strain in children. J. Infect. Dis. 181(2),626-630.
173. Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, et al. CagA-positive Helicobacter pylori and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. Int J Cancer. 1998; 78(2):135-139.
174. Rudi J, Kolb C, Maiwald M, et al. Diversity of Helicobacter pylori vacA and cagA genes and relationship to VacA and CagA protein expression, cytotoxin production, and associated diseases. J Clin Microbiol. 1998;36(4):944-948.
175. D'Elios MM, Manghetti M, De Carli M, et al. T helper 1 effector cells specific for Helicobacter pylori in the gastric antrum of patients with peptic ulcer disease. J Immunol. 1997;158(2),962-967.
176. D'Elios MM, Manghetti M, Almerigogna F, et al. Different cytokine profile and antigen-specificity repertoire in Helicobacter pylori-specific T cell clones from the antrum of chronic gastritis patients with or without peptic ulcer. Eur J Immunol. 1997;27(7):1751-1755.
177. D'Elios MM, Amedei A, Del Prete G. Helicobacter pylori antigen-specific T-cell responses at gastric level in chronic gastritis, peptic ulcer, gastric cancer and low-grade mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. Microbes Infect. 2003;5(8):723-730.
178. van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, et al. Distinct variants of Helicobacter pylori cagA are associated with vacA subtypes. J Clin Microbiol. 1999;37:2306-11.
179. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori. Nature. 1997;388(6642):539-47.
180. Amedei A, Bergman MP, Appelmelk BJ, et al. Molecular mimicry between Helicobacter pylori antigens and H^+, K^+ - adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity. J Exp Med. 2003;198(8):1147-1156.
181. Monteiro MA, Chan KH, Rasko DA, et al. Simultaneous expression of type 1 and type 2 Lewis blood group antigens by Helicobacter pylori lipopolysaccharides. Molecular mimicry between H. pylori lipopolysaccharides and human gastric epithelial cell surface glycoforms. J Biol Chem. 1998;273(19):11533-11543.
182. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. Helicobacter pylori-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. Lancet. 1991;338;1175-6.
183. Steinbach G, Ford R, Glober G, Sample D, et al. Antibiotic treatment of gastric lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue. An uncontrolled trial. Ann Intern Med. 1999;66:2569-74.
184. Correa P, Fox J, Fontham E, et al. Helicobacter pylori and gastric carcinoma. Serum antibody prevalence in populations with contrasting cancer risks. Cancer. 1990;66:2569-74.
185. Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, et al. Association between infection with Helicobacter pylori and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. BMJ. 1991;302:1302-5.
186. Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptosis and autoimmunity as proposed pathogenetic links between Helicobacter pylori infection and idiopathic achalasia. Med Hypothesis. 2004;63:624-9.
187. Konturek PC, Karczewska E, Dieterich W, Hahn EG, Schuppan D. Increased prevalence of

Helicobacter pylori infection in patients with celiac disease. Am J Gastroenterol. 2000;95:3682-3.
188. Mizuno S, Morita Y, Inui T, Asawaka A, Ueno N, et al. Helicobacter pylori infection is associated with colon adenomatous polyps detected by high-resolution colonoscopy. Int J Cancer. 2005;117:1058-9.
189. Chen W, Li D, Cannan RJ, Stubbs RS. Common presence of Helicobacter DNA in the gallbladder of patients with gallstone diseases and controls. Dig Liver Dis. 2003;35:237-43.
190. Farshad SH, Alborzi A, malek Hosseini SA, Oboodi B, et al. Identification of Helicobacter pylori DNA in Iranian patients with gallstones. Epidemiol Infect. 2004;132:1185-9.
191. Nilsson HO, Taneera J, Castedal M, Glatz E, Olsson R, Wadstrom T. Identification of Helicobacter pylori and other Helicobacter species by PCR, hybridization, and partial DNA sequencing in human liver samples from patients with primary sclerosing sholangitis or primary biliary cirrhosis. J Clin Microbiol. 2000;38:1072-6.
192. Pakodi F, Abdel-Salam OM, Debreceni A, Mozsik G. Helicobacter pylori. One bacterium and a broad of human disease! An overview. J Psysiol Paris. 2000;94:139-52.
193. Elkind MS, Cole JW. Do common infections cause stroke? Semin Neurol. 2006;26:88-99.
194. Kusters JG, KuipersEJ. Helicobacter and atherosclerosis. Am Heart J. 1999;138(5 pt 2):S523-S527.
195. Horiki N, Omata F, Uemura M, et al. Annual change of primary resistance to clarithromycin among Helicobacter pylori isolates from 1996 through 2008 in Japan. Helicobacter. 2009;14(5):86-90.
196. Fallone CA. Epidemiology of the antibiotic resistance of Helicobacter pylori in Canada. Can J Gastroenterol. 2000;14(10):879-82.
197. Luther J, Dave M, Higgins PD, Kao JY. Association between Helicobacter pylori infection and inflammatory bowel disease: A meta-analysis and systematic review of the literature. Inflamm Bowel Dis. 2010;16(6):1077-84.
198. Jackson L, Britton J, Lewis SA, et al. A population-based epidemiologic study of Helicobacter pylori and its association with sistemic inflammation. Helicobacter. 2009;14(5):108-13.
199. Zhu J, Katz RJ, Quyyumi AA, et al. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with coronary calcification levels: suggestion of pathogen-triggered autoimmunity in early atherosclerosis. Circulation. 2004;109:36–41.
200. Sawayama Y, Ariyama I, Hamada M, et al. Association between chronic Helicobacter pylori infection and acute ischemic stroke: Fukuoka Harasanhin Atherosclerosis Trial (FHAT). Atherosclerosis. 2005;178:303–309.
201. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, et al. Relation of Helicobacter pylori infection and coronary heart disease. Br Heart J. 1994;71:43-79.
202. Danesh J, Wong Y, Ward M, Muir J. Chronic infection with Helicobacter pylori, Chlamydia pneumoniae, or cytomegalovirus: population based study of coronary heart disease. Heart. 1999;81:245-7.
203. Pellicano R, Mazzarello MG, Morelloni S, et al. Acute myocardial infarction and Helicobacter pylori seropositivity. Int J Clin Lab Res. 1999;29:141-4.
204. Danesh J, Youngman L, Clark S, Parish S, Peto R, Collins R. Helicobacter pylori infection and early onset myocardial infarction: case control and sibling pairs study. BMJ. 1999;319:1157-62.
205. Kahan T, Lundman P, Olsson G, Wendt M. Greater than normal prevalence of seropositivity for Helicobacter pylori among patients who have suffered myocardial infarction. Coron Artery Dis. 2000;11:62-64.
206. Fraser AG, Scragg RK, Cox B, Jackson RT. Helicobacter pylori, Chlamydia pneumoniae and myocardial infarction. Intern Med J. 2003;33:267-72.
207. Alkout AM, Ramsay EJ, Mackenzie DA, Weir DM, et al. Quantitative assessment of IgG antibodies to Helicobacter pylori and outcome of ischaemic heart disease. FEMS Immunol Med Microbiol. 2000;29:271-4.
208. Pellicano R, Mazzarello MG, Morelloni S, Ferrari M, et al. Helicobacter pylori

seropositivity in patients with unstable angina. J Cardiovasc Surg. 2003;44:605-9.
209. Fischbacher CM, Blackwell CC, Bhopal R, Ingram R, et al. Serological evidence of Helicobacter pylori infection in UK South Asian and European populations: implications for gastric cancer and coronary heart disease. J Infect. 2004;48:168-74.
210. Basili S, Vieri M, Di Lecce VN, Maccioni D, Marmifero M, et al. Association between histological diagnosis of Helicobacter pylori and coronary heart disease: results of a retrospective study. Clin Ter. 1998;149:413-7.
211. Bielanski W. Epidemiological study on Helicobacter pylori infection and extragastroduodenal disorders in Polish population. J physiol Pharmacol. 1999;50:723-33.
212. Quinn MJ, Foley JB, Mulvihill NT, Lee J, et al. Helicobacter pylori serology in patients with angiographically documented coronary artery disease. Am J cardiol. 1999;83:1664-6.
213. Tsai CJ, Huang TY. Relation of Helicobacter pylori infection and angiographically demonstrated coronary artery disease. Dig Dis Sci. 2000;45:1227-32.
214. Carlsson J, Miketic S, Brom J, Ross R, Bachmann H, Tebbe U. Prior Cytomegalovirus, Chlamydia pneumoniae or Helicobacter pylori infection and risk of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. Int J cardiol. 2000;73:165-71.
215. Stollberger C, Molzer G, Finsterer J. Seroprevalence of antibodies to microorganisms known to cause arterial and myocardial damage in patients with or without coronary stenosis. Clin Diagn Lab Immunol. 2001;8:997-1002.
216. Pasceri V, Patti G, Cammarota G, et al. Virulent strains of Helicobacter pylori and vascular diseases: a meta-analysis. Am Heart J. 2006;151:1215–1222.
217. Zhang S, Guo Y, Ma Y, Teng Y. Relationship between the cytotoxic-associated gene-A status of H. pylori strains and cerebral infarction in European Caucasuans and Chinese Han: a meta-analysis. World J Gastroenterol. 2008;14(8):1286–1292.
218. Cremonini F, Gabrielli M, Gasbarrini G, et al. The relationship between chronic H. pylori infection, CagA seropositivity and stroke: meta-analysis. Atherosclerosis. 2004;173:253–259.
219. Mayr M, Kiechl S, Mendall MA, et al. Increased risk of atherosclerosis is confined to CagA-positive Helicobacter pylori strains: prospective results from the Bruneck study. Stroke. 2003;34:610–615.
220. Preusch MR, Grau AJ, Buggle F, et al. Association between cerebral ischaemia and cytotoxin associated gene A bearing strains of Helicobacter pylori. Stroke. 2004;35:1800–1804.
221. Gabrielli M, Santoliquido A, Cremonini F, et al. CagA positive cytotoxic H. pylori strains as a link between plaque instability and atherosclerotic stroke. Eur Heart J. 2004;25:64–68.
222. Diomedi M, Pietroiusti A, Silvestrini M, et al. CagA positive Helicobacter pylori strains may influence the natural history of atherosclerotic stroke. Neurology. 2004;63:800–804.
223. Diomedi M, Stanzione P, Sallustio F, Leone G, et al. Cytotoxin-associated Gene-A-positive Helicobacter pylori strains infection increases the risk of recurrent atherosclerotic stroke. Helicobacter. 2008;13(6):525-31.
224. Manolakis A, Kapsoritakis AN, Potamianos SP. A review of the postulated mechanisms concerning the association of Helicobacter pylori with ischemic heart disease. Helicobacter. 2007;12:287–297.
225. George J, Harats D, Shoenfeld Y. Autoimmunity in atherosclerosis: the role of autoantigens. Clin Rev Allergy Immunol. 2000;18:73–86.
226. George J, Afek A, Gilburd B, et al. Autoimmunity in atherosclerosis: lessons from experimental models. Lupus. 2000;9:223–227.
227. Franceschi F, Sepulveda AR, Gasbarrini A, et al. Crossreactivity of anti-CagA antibodies with vascular wall antigens: possible pathogenic link between Helicobacter pylori infection and atherosclerosis. Circulation. 2002;106(4):430–434.
228. Franceschi F, Niccoli G, Ferrante G, Gasbarrini A, et al. CagA antigen of Helicobacter pylori and coronary instability: insight from a clinico-pathological study and a meta-analysis of 4,241 cases. Atherosclerosis. 2008;202:535–542.
229. Demarin V, Lovrencic-Huzjan A. Neurosonologija. 2009. Školska knjiga, Zagreb.

230. De Bray JM, Glatt B. Quantification of atheromatous stenosis in the extracranial internal carotid artery. Cerebrovasc Dis. 1995;5:414–426.
231. Brkljačić B. Dopler karotidnih i vertebralnih arterija i transkranijski dopler. U: Brkljačić B. Dopler krvnih žila. 1. izdanje. Zagreb, Hrvatska: Medicinska naklada; 2000:79-84.
232. Lovrenčić-Huzjan A, Bosnar-Puretić M, Vuković V, Malić M, Thaller N, Demarin V. Correlation of carotid doppler and angiographic findings in patients with symptomatic carotid artery stenosis. Acta Clin Croat. 2000;39:215–220.
233. Nicoletti A, Caligiuri G, Hansson GK. Immunomodulation of atherosclerosis: myth and reality. J Int Med. 2000;247:397–405.
234. Stehbens WE. Epidemiological risk factors of coronary heart disease are not causal in atherosclerosis. Clin Exp Hypertens. 2000;22:445–453.
235. Heller RF, Chinn S, Pedone HD, et al. How well can we predict coronary heart disease? Findings in the United Kingdom Heart Disease Prevention Project. BMJ. 1984;288:1409–1411.
236. Wald NJ, Law M, Watt HC, et al. Apolipoproteins and ischaemic heart disease: implications for screening. Lancet. 1994;343:75–79
237. Lindsberg PJ, Grau AJ. Inflamation and infections as risk factors for ischemic stroke. Stroke. 2003;34:2518–2532.
238. Palm F, Urbanek C, Grau A. Infection, its treatment and the risk for stroke. Curr Vasc Pharmacol. 2009; 7(2):146-52.
239. Graham KS, Graham DY. Contemporary diagnosis and management of H. pylori – associated gastrointestinal diseases. Newtown; Pennsylvania, USA, 1998.
240. Broutet N, Gisbert P, Pajares JM. Epidemiology. The year in Helicobacter pylori 1999. Current opinion in gastroenterology. 1999;15(suppl. 1):S43-S47.
241. Azevedo NF, Huntington J, Goodman KJ. The epidemiology of Helicobacter pylori and public health implications. Helicobacter. 2009;14(suppl. 1):1-7.
242. Strnad M, Presečki V, Babuš V, et al. Epidemiologija infekcije Helicobacterom pylori. Liječ Vjesn 2002;124(supl. 1):5-9.
243. Miyazaki M, Babazono A, Kadowaki K, Kato M, Takata T, Une H. Is Helicobacter pylori infection a risk factor for acute coronary syndromes? J Infect. 2006;52(2):86-91.
244. Bastiani R, Gabrielli M, Ubaldi E, Benedetto E, et al. High prevalence of CagA positive H. pylori strains in ischemic stroke: a primary care multicenter study. Helicobacter. 2008;13(4):274-277.
245. Torres J, Camorlinga-Ponce M, Perez-Perez G, Munoz L, Munoz O. Specific serum immunoglobulin G response to urease and CagA antigens of Helicobacter pylori in infected children and adults in a country with high prevalence of infection. Clin Diagn Lab Immunol. 2002;9(1):97-100.
246. Danesh J. Coronary heart disease, Helicobacter pylori, dental disease, Chlamydia pneumoniae, and cytomegalovirus: meta-analyses of prospective studies. Am Heart J. 1999;138:434-437.
247. Tamer GS, Tengiz I, Ercan E, Duman C, et al. Helicobacter pylori seropositivity in patients with acute coronary syndromes. Dig Dis Sci. 2009;54(6):1253-6.
248. Yasunori S, Maki H, Shigeru O, et al. Chronic Helicobacter pylori infection is associates with peripheral arterial disease. J Infect Chemother. 2008;14:250-254.
249. Markus HS, Mendal MA. Helicobacter pylori infection: a risk factor for ischemic cerebrovascular disease and carotid atheroma. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1998;64:104-107.
250. Grau AJ, Buggle F, Lichy C, et al. Helicobacter pylori infection as an indipendent risk factor for cerebral ischemia of atherotrombotic origin. J Neurol Sci. 2001;186:1-5.
251. Ponzetto A, Marchet A, Pellicano R, Lovera N, et al. Association of Helicobacter pylori infection with ischemic stroke of non-cardiac origin: the BAT.MA.N. Project Study. Hepatogastroenterology. 2002;49(45):631-634.
252. Pietroiusti A, Diomedi M, Silvestrini M, et al. Cytotoxin-associated gene-A positive Helicobacter pylori strains are associated with atherosclerotic stroke. Circulation. 2002;106-

580-584.
253. Corrado E, Rizzo M, Tantillo R, et al. Markers of inflammation and infection infulence the outcome of patients with baseline asymptomatic carotid lesions: a 5-year follow-up study. Stroke. 2006;37:482-486.
254. Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, Bickel C, Kopp H, et al. Are morphological or functional changes in the carotid artery wall associated with Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, Cytomegalovirus, or Herpes simplex virus infection? Stroke. 2000;31:2127-2133.
255. Smieja M, Gnarpe J, Lonn Eva, Gnarpe H, Olsson G, et al. Multiple infections and subsequent cardiovascular events in the heart outcomes prevention evaluation (HOPE) study. Circulation. 2003;107:251-257.
256. Schimke K, Chubb SA, Davis WA, Davis TM. Helicobacter pylori cytotoxin-associated gene-A antibodies do not predict complications or death in type 2 diabetes: the Fremantle Diabetes Study. Atherosclerosis. 2010;212(1):321-6.
257. Hagiwara N, Toyoda K, Inoue T, et al. Lack of association between infectious burden and carotid atherosclerosis in japanese patients. Journal of Stroke and Cerebrovascular Disease. 2007;16:145-152.
258. Pasceri V, Patti G, Cammarota G, et al. Virulent strains of Helicobacter pylori and vascular diseases: a meta-analysis. Am Heart J. 2006;151:1215-1222.
259. Pasceri V, Cammarota G, Patti G, et al. Association of virulent Helicobacter pylori strains with ischemic heart disease. Circulation. 1998;97(15):1675-9.
260. Gunn M, Stephens JC, Thompson JR, et al. Significant association of cagA positive Helicobacter pylori strains with risk of premature myocardial infarction. Heart. 2000;84:267-271.
261. Huang B, Chen Y, Xie Q, Lin G, Wu Y, Feng Y, et al. CagA-positive Helicobacter pylori strains enhanced coronary atherosclerosis by increasing serum OxLDL and HsCRP in patients with coronary heart disease. Dig Dis Sci. 2011;56(1):109-14.
262. Niccoli G, Franceschi F, Cosentino N, Giupponi B, et al. Coronary atherosclerotic burden in patients with infection by CagA-positive strains of Helicobacter pylori. Coron Artery Dis. 2010;21(4):217-21.
263. Laurila A, Bloigu A, Nayha S, Hassi J, et al. Association of Helicobacter pylori infection with elevated serum lipids. Atherosclerosis. 1999;142:207-210.
264. Hoffmeister A, Rothenbacher D, Bode G, Persson K, et al. Current infection with Helicobacter pylori , but not seropositivity to Chlamydia pneumoniae or cytomegalovirus, is associated with atherogenic, modified lipid profile. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001;21:427-32.
265. Kucukazman M, Yavuz M, Sacikara M, et al. The relationship between Updated Sydney System Score and LDL cholesterol levels in patients infected with Helicobycter pylori. Dig Dis Sci. 2009;54(3):604-7.
266. Majka J, Rog T, Konturek PC, et al. Influence of chronic Helicobacter pylori infection on ischemic cerebral stroke risk factors. Med Sci Monit. 2002;8:CR675-84.
267. Scharnagl H, Kist M, Grawitz AB, et al. Effect of Helicobacter pylori eradication on high density lipoprotein cholesterol. Am J Cardiol. 2004;93:219-220.
268. Kanbay M, Gur G, Yucel M, et al. Does eradication of Helicobacter pylori infection help normalize serum lipid and CRP levels? Dig Dis Sci. 2005;50:1228-31.
269. Wald NJ, Law MR, Morris JK, Bagnall AM. Helicobacter pylori infection and mortality from ischaemic heart disease: negative result from a large prospective study. BMJ. 1997;315:1199-201.
270. Danesh J, Peto R. Risk factors for coronary heart disease and infection with Helicobacter pylori: meta-analysis of 18 studies. BMJ. 1998;316:1130-2.
271. Katagiri M, Asaka M, Kobayashi M et al. Increased cytokine production by gastric mucosa in patients with Helicobacter pylori infection. J Clin Gastroenterol. 1997;25(Suppl. 1):S211-4.
272. Kowalski M. Helicobacter pylori infection in coronary artery disease: influence of H. pylori

eradication on coronary artery lumen after percutaneous transluminal coronary angioplasty. The detection of H. pylori specific DNA in human coronary atherosclerotic plaque. J Physiol Pharmacol. 2001;52(suppl. 1):S3-31.
273. Consolazio A, Borgia MC, Ferro D, et al. Increased thrombin generation circulating levels of tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic Helicobacter pylori-positive gastritis. Aliment Pharmacol Ther. 2004;20:289-294.
274. Pieniazek P, Karczewska E, Duda A, et al. Association of Helicobacter pylori infection with coronary heart disease. J Physiol Pharmacol. 1999;50:743-51.
275. Kanbay M, Gur G, Yucel M, et al. Does eradication of Helicobacter pylori infection help normalize serum lipid and CRP levels? Dig Dis Sci. 2005;50:1228-31.
276. Brenner H, Berg G, Frohlich M, et al. Chronic infection with Helicobacter pylori does not provoke major systemic inflammation in healthy adults: results from a large population-based study. Atherosclerosis. 1999;147:399-403.
277. Delsnghe JR, Langlois MR, De Bacquer D, et al. Discriminative value of serum amyloid A and other acute-phase proteins for coronary heart disease. Atherosclerosis. 2002;160:471-6.
278. Basili S, Vieri M, Paradiso M, et al. Helicobacter pylori and coagulation in patients without coronary heart disease. Atherosclerosis. 1999;145(Suppl. 1):S22.
279. Yusuf SW, Mishra RM. Effect of Helicobacter pylori infection on fibrinogen level in elderly patients with ischaemic heart disease. Acta Cardiol. 2002;57:317-22.
280. Elizalde JI, Gomez J, Panes J, et al. Platelet activation in mice and human Helicobacter pylori infection. J Clin Invest. 1997;100:996-1005.
281. Aguejouf O, Mayo K, Monteiro L, et al. Increase of arterial thrombosis parameters in chronic Helicobacter pylori infection in mice. Thromb Res. 2002;108:245-8.
282. Ossei-Gerning N, Moayyedi P, Smith S, et al. Helicobacter pylori infection is related to atheroma in patients undergoing coronary angiography. Cardiovasc Res. 1997;35:120-4.
283. Tamura A, Fuijoka T, Nasu M. Relation of Helicobacter pylori infection to plasma vitamin B12, folic acid, and homocysteine levels in patients who underwent diagnostic coronary arteriography. Am J Gastroenterol. 2002;97:861-6.
284. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J Jr, et al. Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. Ann Intern Med. 1999;131:363-75.
285. Kutluana U, Simsek I, Akarsu M, et al. Is there a possible relation between atrophic gastritis and premeture atherosclerosis? Helicobacter. 2005;10:623-629.
286. Yoshino N, Adachi K, et al. Helicobacter pylori infection does not affect the serum level of homocysteine. Am J Gastrenterol. 2002;97:2927-8.
287. Farsak B, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori DNA in human atherosclerotic plaques by PCR. J Clin Microbiol. 2000:38:4408-11.
288. Kaklikkaya I, Kaklikkaya N, Buruk K, et al. Investigation of Chlamydia pneumoniae DNA, chlamydial lipopolisaccharide antigens, and Helicobacter pylori DNA in atherosclerotic plaques of patients aortoiliac occlusive disease. Cardiovasc Pathol. 2006;15:105-9.
289. Hagiwara N, Toyoda K, Inoue T, et al. Lack of association between infectious burden and carotid atherosclerosis in japanese patients. Journal of Stroke and Cerebrovascular Disease. 2007;16:145-152.
290. Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization. Stroke. 2006;37:1923–1932.
291. Benagiano M, Amadei A, Azzurri A, et al. Human 60-kDa heat shock protein is a target autoantigen of T cells from atherosclerotic plaques. J Immunol. 2005;174:6509–6517.
292. Binder CJ, Horkko S, Dewan A, et al. Pneumococcal vaccination decreases atherosclerotic lesion formation: molecular mimicry between Streptococcus pneumoniae and oxidized LDL. Nat Med. 2003;9(6):736–743.
293. Ayada K, Yokota K, Kobayashi K, et al. Chronic infection and atherosclerosis. Ann NY Acad Sci. 2007;1108:594–602.
294. Van Eden W, Koets A, van Kooten P, et al. Immunopotentiating heat shock proteins: negotiators between innate danger and control of autoimmunity. Vaccine. 2003;21:897-901.
295. Ford P, Gemmell E, Walker P, et al. Characterization of heat shock protein-specific T cells

in atherosclerosis. Clin Diagn Lab Immunol. 2005;12:259-267.
296. Kawahara Y, Yokota K, Mizuno M, et al. Antibodies to human gastric epithelial cells and heat shock protein 60 in Helicobacter pylori positive mucosa associated lymphoid tissue lymphoma. Gut. 1999;45:20-23.
297. D Elios MM, Maghetti M, Almerigogna F, et al. Different cytokine profile and antigen-specificity repertoire in Helicobacter pylori-specific T cells clones from the antrum of chronic gastritis patients with and without peptic ulcer. Eur J Immunol. 1997;27:1751-1755.
298. Benagiano M, Azzurri A, Ciervo A, et al. T helper type 1 lymphocytes drive inflammation in human atherosclerotic lesions. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100:6658-6636.
299. Xu Q, Kiechl S, Mayr M, et al. Association of serum antibodies to heat shock protein 65 with carotid atherosclerosis: clinical significance determined in a follow up study. Circulation. 1999;100:1169-74.
300. Zhu J, Quyyumi AA, Rott D, et al. Antibodies to human heat-shock protein 60 are associated with the presence and sevirity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. Circulation. 2001;103:1071-5.
301. Mayr M, Kiechl S, Willeit J, et al. Infections, immunity, and atherosclerosis: associations of antibodies to Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, and citomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis. Circulation. 2000;102:833-9.
302. Zhu J, Katz RJ, et al. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with coronary calcification levels: suggestion of patjogen-triggered autoimmunity in early atherosclerosis. Circulation. 2004;109:36-41.
303. Okada T, Ayada K, Usui S, et al. Antibodies against heat shock protein 60 derived from Helicobacter pylori: Diagnostic implications in cardiovascular disease. Journal of Autoimmunity. 2007;29:106-115.
304. Rothenbacher D, Hoffmeister A, Bode G, et al. Helicobacter pylori heat shock protein 60 and risk of coronary heart disease: a case-control study with focus on markers of systemic inflammation and lipids. Atherosclerosis. 2001;156:193-9.
305. Schumacher H, Kaiser E, Schnabel PA, et al. Immunophenotypic characterisation of carotid plaque: increased amount of inflammatory cells as an independent predictor for ischaemic symptoms. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2001;21:494–501.
306. Spagnoli LG, Mauriello A, et al. Extracranial thrombotically active carotid plaque as a risk factor for ischemic stroke. JAMA. 2004;292:1845–1852.
307. Fisher M, Paganini-Hill A, Martin A, et al. Carotid plaque pathology: thrombosis, ulceration and stroke pathogenesis. Stroke. 2005;36:253–257.
308. Sitzer M, Muller W, Siebler M, Hort W, et al. Plaque ulceration and lumen thrombus are the main sources of cerebral microemboli in high-grade internal carotid artery stenosis. Stroke. 1995;25:1231-1233.
309. Spagnoli LG, Mauriello A, Sangiorgi G, Fratoni S, et al. Extracranial trombotically active carotid plaque as a risk factor for ishemic stroke. JAMA. 2004;292:1845-1852.
310. Fisher M, Paganini-Hill A, Martin A, Cosgrove M, Toole JF, Barnett HJ, Norris J. Carotid plaque pathology: thrombosis, ulceration, and stroke pathogenesis. Stroke. 2005;36:253-257.
311. Jander S, Sitzer M, Schumann R, et al. Inflammation in high-grade carotid stenosis: a possible role for macrophages and T cells in plaque destabilization. Stroke. 1998;29:625–630.
312. Demarin V, Lovrenčić-Huzjan A, Bašić S, Bašić-Kes V, Bielen I, et al. Recommendations for the management of patients with carotid stenosis. Acta Clin Croat. 2010;49:101–118.
313. Nadareishvili ZG, Koziol DE, Szekely B, et al. Increased CD8 plus T cells associated with Chlamydia pneumoniae in symptomatic carotid plaque. Stroke. 2001;32:1966–1972.
314. Bago-Rožanković P, Lovrenčić-Huzjan A, Čupić H, Jajić-Benčić I, Bašić S, Demarin V. Influence of CagA-positive strains on atherosclerotic carotid disease. J Neurol. 2011;258(5):753-61.

12. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Zagrebu, 25. travnja 1979. godine. Srednjoškolsko obrazovanje u jezičnoj gimnaziji „Lucijan Vranjanin“ završila sam 1997. godine u Zagrebu. Diplomirala sam na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2003. godine. Stručni ispit za doktore medicine položila sam 2004. godine. Kao znanstveni novak radila sam na Zavodu za hepatogastroenterologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničke bolnice „Sveti Duh“ od 2005. do 2006. godine kada sam započela specijalizaciju iz neurologije. Specijalistički ispit iz neurologije položila sam 2010. godine. Od tada sam zaposlena kao specijalist neurolog na Zavodu za neurologiju Kliničke bolnice Dubrava. Znanstveni poslijediplomski doktorski studij iz područja biomedicine i zdravstva završila sam akademske godine 2010/11. na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Godine 2007. završila sam poslijediplomske tečajeve trajne izobrazbe I. kategorje „Obojeni dopler ekstrakranijske moždane cirkulacije“, „Dopler sonografija intrakranijske cirkulacije“, a 2008. godine i tečaj „Novosti u neurosonološkoj dijagnostici“. Članica sam Hrvatskog liječničkog zbora, Hrvatske liječničke komore, Hrvatskog neurološkog društva. Aktivno sam sudjelovala u više znanstvenih istraživanja te objavila više znanstvenih i stručnih radova u stručnim časopisima.

13. PRILOZI

Prilog 1 Obavijest o istraživanju za zdravog ispitanika

Prilog 2 Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju zdravog ispitanika

Prilog 3 Obavijest o istraživanju za ispitanika

Prilog 4 Suglasnost za sudjelovanje u istraživanju ispitanika

Prilog 5 Test lista ispitanika

Naziv znanstvenog istraživanja: „Utjecaj CagA antigena bakterije Helicobacter pylori u razvoju aterosklerotske karotidne bolesti“

Trajanje istraživanja: jedna godina

Istraživanje će se provesti u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“ u Zagrebu.

Obavijest za zdravog ispitanika

Štovani gospodine, gospođo,

Pozivamo Vas da sudjelujete u znanstvenom istraživanju pod nazivom „Utjecaj CagA antigena bakterije Helicobacter pylori u razvoju aterosklerotske karotidne bolesti“ koje se provodi u sklopu planirane istoimene doktorske disertacije Petre Bago Rožanković, dr.med., pod mentorstvom prof.dr.sc. Arijana Lovrenčić Huzjan. Ova obavijest će Vam pružiti podatke čija je svrha pomoći Vam odlučiti da li želite sudjelovati u ovom znanstvenom istraživanju. Prije nego što odlučite, želimo da shvatite zašto se to istraživanje provodi i što ono uključuje. Zato Vas molimo da pažljivo pročitate ovu obavijest. Ukoliko u ovoj obavijesti ne razumijete neke riječi, izvolite pitati liječnike koji sudjeluju u ovom znanstvenom istraživanju.

U ovom istraživanju radi se o ispitivanju nastanka ateroskleroze, bolesti koja uzrokuje suženje krvnih žila. Prema dosadašnjim kliničkim i istraživačkim opažanjima, kronična upala ima važnu ulogu u razvoju aterosklerotskih lezija. Helicobacter pylori, bakterija koja uzrokuje smetnje u probavnom sustavu, mogla bi imati ulogu u nastanku bolesti krvnih žila, prvenstveno ishemijske bolesti srca i moždanog udara. Aktivacijom imunološkog sustava u čovjeka stvaraju se protutijela koja reagiraju na antigene same bakterije, ali mogu slično djelovati na krvne žile. Postoji mogućnost da tada ti upalno-imunološki procesi dovode do nestabilnosti plaka i uzrokuju moždane simptome u sklopu karotidne bolesti. Od velike je važnosti otkriti nove čimbenike rizika i mehanizme njihovog djelovanja i time u budućnosti omogućiti pravodobno djelovanje u suzbijanju cerebrovaskularnih oboljenja.

Hipoteza ovog istraživanja je da pojačan imunološki odgovor protiv CagA pozitivnih sojeva bakterije Helicobacter pylori ima važnu ulogu u aterosklerotskoj karotidnoj bolesti međudjelovanjem CagA antigena i proteina unutar karotidnog plaka.

Cilj ove studije je ispitati autoimuni mehanizam u patogenezi Helicobacter pylori

infekcije i aterosklerotske karotidne bolesti (interakciju CagA antigena i antigena unutar aterosklerotskog plaka karotidne arterije).

U studiju će osim bolesnika koji imaju značajnu stenozu karotidne arterije i kod kojih je predviđen operativni zahvat karotidne endarterektomije u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“ biti

uključeni i zdravi ispitanici, tj. ispitanici bez manifestne vaskularne bolesti. Očekuje se da će u nju biti uključeno ukupno 100 bolesnika. Predviđeno trajanje istraživanja je godina dana.

Ako pristanete sudjelovati u ovoj studiji, odvijat će se sljedeće. Uzet će se uzorak krvi za analizu prisutnosti protutijela na bakteriju Helicobacter pylori i njezin antigen CagA.

Ne postoji jamstvo da ćete Vi imati koristi od sudjelovanja u istraživanju. Ipak dobit ćemo informacije o postojanju infekcije Helicobacter pylori u Vašem organizmu i njezinoj virulentnosti. Među koristi ubraja se i mogućnost da Vi i ovo istraživanje pomognete u potvrdi postojanja dodatnog čimbenika rizika i mehanizmu njegovog djelovanja u nastanku aterosklerotske karotidne bolesti. Rizici ovog istraživanja svedeni su na najmanju moguću mjeru pravilnim izvođenjem pretrage.

Na Vama je da odlučite želite li sudjelovati ili ne. Ako odlučite sudjelovati dobit ćete na potpis ovu obavijest (jedan primjerak zadržite). Vaše sudjelovanje je dobrovoljno i možete se slobodno i bez ikakvih posljedica povući u bilo koje vrijeme, bez navađanja razloga. Nastavit ćete se dalje liječiti na način koji je uobičajen za Vašu bolest. Ako odlučite prekinuti sudjelovanje, molimo da o tome na vrijeme obavijestite glavnog istraživača i njegove suradnike.

Vaši će se osobni podaci obrađivati elektronički, a glavni istraživač i njegovi suradnici pridržavat će se interne procedure za zaštitu osobnih podataka. U bazu podataka bit ćete uneseni pomoću koda i prema inicijalima. Vašu medicinsku dokumentaciju će pregledavati glavni istraživač i njegovi suradnici. Vaše ime nikada neće biti otkriveno. Pristup dokumentaciji mogu imati predstavnici Etičkog povjerenstva u Ustanovi u kojoj se liječite (Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice „Sestre milosrdnice“) i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta.

Podaci iz ovog znanstvenog istraživanja mogu biti od praktične koristi (djelovanje infekcije na karotidnu bolest), ali i znanstvene. Stoga će se objavljivati u znanstvenim publikacijama. Vaš identitet će ostati anoniman.

Ovo ispitivanje pregledalo je Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice „Sestre milosrdnice“ i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, koja su nakon uvida u određenu dokumentaciju odobrila istraživanje.

Ispitivanje se provodi u skladu sa svim primjenljivim smjernicama, čiji je cilj osigurati pravilno provođenje i sigurnost osoba koje sudjeluju u ovom znanstvenom istraživanju, uključujući ***Osnove dobre kliničke prakse i Helsinšku deklaraciju***.

Podaci dobiveni u ovom istraživanju koristit će se za planiranu doktorsku disertaciju Petre Bago Rožanković, dr.med, te u znanstvenim radovima koji će proizaći iz navedene disertacije.

Istraživanje organizira Petra Bago Rožanković, dr.med., pod vodstvom mentora prof.dr.sc. Arijane Lovrenčić Huzjan. Istraživanje će se provoditi u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“.

Ako trebate dodatne podatke, slobodno se obratite glavnom istraživaču ili njegovim suradnicima:

Ime i prezime glavnog istraživača: Petra Bago Rožanković

Adresa: KB Dubrava, Zavod za neurologiju

Broj telefona: 091 5279903

Ime i prezime suradnika: Arijana Lovrenčić Huzjan

Adresa: KB Sestre milosrdnice, Klinika za neurologiju

Broj telefona: 091 5032501

Vaš obiteljski liječnik bit će obaviješten o Vašem sudjelovanju u ovom znanstvenom istraživanju.

Presliku dokumenta (potpisne stranice) koji ćete potpisati ako želite sudjelovati u istraživanju, dobit ćete Vi i glavni istraživač. Originalni primjerak dokumenta će zadržati i čuvati glavni istraživač.

Hvala što ste pročitali ovaj dokument i razmotrili sudjelovanje u ovom znanstvenom istraživanju.

Ova obavijest je sastavljena u skladu sa Zakonom o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 121/03) i Zakonom o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04