Flow mediated dilation – její úloha a význam ve screeningu rizika kardiovaskulárních chorob

MUDr. Vladislav Biel¹, MUDr. Jan Novák¹, MUDr. Luděk Pluháček, Ph.D.², doc. MUDr. Jiří Špác, CSc.¹

¹II. interní klinika FN u svaté Anny, Brno

²Interní oddělení, Nemocnice Boskovice

Endotel je bariérou mezi krevním a cévním kompartmentem, který má řadu unikátních funkcí. Zajišťuje mechanickou ochranu, transport řady molekul napříč cévní stěnou, optimalizuje průtok krve tkáněmi, zásadně ovlivňuje imunitní děje a jiné. Jeho dysfunkce má proto dramatický vliv další prognózu pacienta. Flow mediated dilation (FMD) je jednoduchý test založený na stanovení míry vazodilatace vybrané tepny (nejčastěji arteria brachialis) vyvolané zvýšeným krevním průtokem. Řada studií prokázala, že vztah kardiovaskulárního rizika a FMD má inverzní charakter. Kromě svojí jednoduchosti má ovšem i řadu nevýhod, např. přesnost a zejména nedostatečný referenční soubor. Po jejich překonání je pravděpodobné, že test FMD lze použít k upřesnění kardiovaskulárního rizika.

Klíčová slova: flow mediated dilation, endotelová dysfunkce, kardiovaskulární riziko.

Flow mediated dilation – its role and importance in screening of cardiovascular disease risk.

Endotel is a barrier between blood and vascular compartments, which has a number of unique functions. It provides mechanical protection, the transport of a number of molecules across the vessel wall, optimizes the flow of blood through tissues, fundamentally affects immune processes and others. Its dysfunction therefore has a dramatic effect on the patient's further prognosis. Flow mediated dilation (FMD) is a simple test based on determining the vasodilatation rate of the selected artery (most commonly the arteria brachialis) caused by increased blood flow. Many studies have shown that the relationship between cardiovascular risk and FMD is inverse. Apart from its simplicity, it has a number of disadvantages, such as accuracy and, in particular, insufficient reference file. Once overcome, it is likely that the FMD test can be used to clarify cardiovascular risk.

Key words: flow mediated dilation, endothelial dysfunction, cardiovascular risk.

Úvod

Až do poměrně nedávné doby panoval obecně názor, že endotel je „pouhou“ mechanickou bariérou, která odděluje krev od hlubších vrstev cévní stěny. Začátkem 80. let se další výzkum zaměřil na sekreční funkci endotelu a postupně bylo prokázáno, že endotelové buňky jsou metabolicky i endokrinně aktivní a mají řadu dalších funkcí. Mezi fyziologické funkce endotelu patří zajištění selektivní propustnosti buněčných i nebuněčných krevních elementů mezi krevním kompartmentem a okolními strukturami, která je zajištěna celou řadou transportních i adhezivních molekul

(ICAM-1, VCAM-1). Další úlohou je zajištění optimálního průtoku krve tkáněmi, který je dosažen přítomností ideálního poměru vazokonstričních a vazodilatačních substancí produkovaných endotelem. Nejdůležitější z nich je vazodilatační oxid dusnatý (NO), jehož tvorba je zprostředkována enzymem NO-syntázou (NOS). Právě aktivita NOS je styčným bodem působení většiny ostatních vazomotorických endoteliálních substancí, kdy lze velmi zjednodušeně říct, že hlavním nebo vedlejším efektem vazodilatátorů produkovaných endotelem (prostaglandiny P_{GH2} a P_{GI2}, perivaskulární relaxační faktor, omentin, sulfan a řada dalších) je

aktivace NOS, a naopak, vazokonstriční substance (endotelin-1 a angiotenzin II a další) aktivitu NOS a účinek vzniklého NO na periferní tkáň snižují. Mezi další faktory, které mohou zvyšovat aktivitu NOS, patří zvýšení shear stressu a hypoxie (1). Další funkcí endotelu je zajištění nesráčivého vnitřního povrchu cévy, který působí proti agregaci krevních elementů, zejména trombocytů. Obecně lze říct, že neporušený endotel působí antikoagulačně, vazodilatačně a protizánětlivě, tedy vykazuje vlastnosti nutné k zachování dokonalé perfuze všech tkání (2). V případě morfoloického nebo funkčního poškození endotelu vzniká nerovnováha této křehké

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: MUDr. Vladislav Biel, ladabiel@gmail.com

II. interní klinika FN u svaté Anny

Pekařská 53, 656 91 Brno

Cit. zkr: Interní Med. 2019; 21(2): 92–96

Článek přijat redakcí: 4. 10. 2018

Článek přijat k publikaci: 11. 12. 2018

Obr. 1. Algoritmus přípravy a průběhu testu FMD

Vysvětlivky:

FMD – flow mediated dilation

Dab – průměr arteria brachialis

V mean – střední rychlost krevního toku v arteria brachialis

NSAID – nesteroidní antiflogistika

a složité homeostázy, která se označuje termínem endotelová dysfunkce. Při ní se zvyšuje permeabilita cévních stěn, proliferuje hladké svalstvo, zvyšuje se adhezivita leukocytů a obecně převažuje prokoagulace, vazokonstrikce a vzniká zánětlivý stav. Vše jmenované se podílí na progresi aterosklerózy a vzniku ischemické choroby srdeční, cévních mozkových příhod, diabetes mellitus, hypertenze, preeklampsie a mnoha dalších, a zásadním způsobem tak ovlivňuje morbiditu a mortalitu v celé populaci. Nabízí se proto otázka, jak endotelovou dysfunkci odhalit popřípadě změřit.

Tab. 1. Výsledky klinických studií – normální hodnoty

Studie	Průměrný věk	FMD %	Pozn.
Corretti et al., 2002 [7]	neuvedeno	7–10	Guidelines
Black et al., 2009 [11]	26 let	7,1	U podskupiny mladších jedinců se sedavým způsobem života a podskupiny starších sportujících jedinců byla hodnota FMD stejná.
	57 let	6,1	
Parket et al., 2006 [10]	22 let	12,2	V testovaném souboru byly pouze ženy.
	70 let	7,7	
Hopkins et al., 2015 [9]	12 let (muži)	7,62	Studie zaměřená na děti a adolescenty.
	12 let (ženy)	8,31	
Dalli et al., 2002 [12]	59 let	4,6	

Jak měřit endotelovou dysfunkci

Míru endotelové dysfunkce lze stanovit dvěma způsoby. Prvním z nich je kvantifikace následků určitého stimulu vedoucímu k předem známé anatomické nebo funkční změně cévy, ke které dochází v důsledku reakce endotelu na tento stimulus. Tyto změny se nejčastěji stanovují v oblasti arteria brachialis nebo v koronárním řečišti. Základní princip je stále stejný: zdravá tepna reaguje na popisované stimuly uvolněním NO a ostatních vazodilatačních substancí s její následnou dilatací. Při endotelální dysfunkci je tato vazodilatace snižena nebo zcela chybí. V případě testu FMD (flow media-

ted dilation) je vazodilatačním stimulem reaktivní hyperemie po dočasné okluzi nejčastěji brachiální arterie, v případě koronárního řečiště se stanovuje změna velikosti epikardiálních tepen, popř. změna průtoku rezistentním arteriolárním řečištěm po injekci vazodilatačních látek (např. acetylcholin, bradykinin, serotonin). Druhým způsobem stanovení endotelální dysfunkce je přímé měření koncentrace jednotlivých endotelálních substancí. Výhodou tohoto postupu je možnost soustředění na jednu nebo několik „culprit“ substancí, nevýhodou pak absence komplexního pohledu na funkci endotelu, který lze stanovit pouze měřením funkčních změn (3).

Co je FMD a jak ji provést

V roce 1989 byla v časopisu Circulation publikována studie, která prokázala, že po dočasné okluzi arteria brachialis dochází v téže tepně k reflexnímu zvýšení průtoku a signifikantní vazodilataci (4). FMD je od té doby často používána ke stanovení odhadu globální funkce endotelu, která je v tomto případě kvantifikována mírou vazodilatace po přechodné zástavě průtoku tepnou. Nutná je striktní standardizace vyšetřujících protokolů. Většina guidelines provedení FMD se shoduje, že tři dny před vlastním testem je nutné vysadit kyselinu acetylsalicylovou a vitaminové doplňky, jeden den před vyšetřením i ostatní NSAID a posledních 12 hodin je třeba se vyva-

rovat větší tělesné zátěže, kouření, konzumace kávy a vyšetřovaný může jíst pouze lehká netučná jídla. U žen je vhodné časovat provedení FMD do fáze menstruace, aby nedošlo k ovlivnění výsledku testu hladinou estrogenu a progesteronu (5–8). Vyšetřované místo musí být klidné o standardizované teplotě (22–24 °C). Po příchodu je vyšetřovaný jedinec uložen na lůžko, pravá ruka je abdukována do úhlu cca 80°, položena na polštář a následně těsně pod mediální epikondyl humeru na předloktí naložena tlaková manžeta tak, aby s ní nic dalšího nebylo v kontaktu. Poloha musí být pro vyšetřovaného příjemná. Následně se na hrudník ve standardní pozici připevní 3svodové EKG a poté je vyšetřovaný ponechán v klidu po dobu 20 minut k dosažení hemodynamické stabilizace. Po tomto intervalu se přistoupí k vlastnímu vyšetření v klidovém stavu. Lineární sondou o frekvenci nejméně 11 MHz je identifikována arteria brachialis v sulku bicepsu a v podélné projekci zobrazen úsek cca 2–10 cm nad kubitální jamkou. Je důležité, aby byly osa sondu i cévy rovnoběžné. Poté je pozice sondy aretována ve stereotaktickém držáku. V případě, že tento není k dispozici, je přípustné se orientovat podle největšího příčného rozměru cévy v určitém daném místě, které lze označit na kůži vyšetřovaného. Samozřejmostí je optimalizace ultrazvukového obrazu (ideální hodnota škály šedi, nastavení co nejvyšší frekvence, minimalizace hloubky k dosažení co nejvyšší vzorkovací frekvence apod.). Následně je nutné nahrát nejméně 30 sekund záznamu v B módu a poté 30 sekund záznamu v PW s úpravou osy vzorkovacího objemu tak, aby byla rovnoběžná s osou cévy. Ze získaného záznamu je třeba stanovit příčný rozměr tepny (vzdálenost obou hranic intima-krev) a z PW obrazu průměrnou maximální rychlost z celé délky záznamu. Jelikož je v systole rozměr tepny větší než v diastole, je nutné provádět měření vždy v jeden (libovolný, ale předem daný) okamžik srdečního cyklu (8). Po akvizici klidového záznamu je nutné přistoupit k inflaci manžety na tlak 250 mm Hg k okluzi arteria brachialis na dobu 5 minut, po jejímž uplynutí je manžeta uvolněna. Analýza závislosti vazodilatace na délce okluze prokázala, že míra vazodilatace postupně roste od délky okluze 30 sekund k 5 minutám a poté již zůstává stacionární. Je proto lepší zvolit 5minutovou délku okluze, která je pro pacienta již sama o sobě poměrně náročná a jakékoliv její další prodlužování

Obr. 3. Časová závislost FMD a shear rate. Po uvolnění tlakové manžety dochází k nárůstu shear rate, který je považován za hlavní stimulátor vazodilatace (odtud název flow mediated vasodilation)

Obr. 2. FMD zdravé 22leté ženy. Klidový průměr arteria brachialis je 33 mm, po uvolnění manžety dochází k její vazodilataci na 38 mm, tedy FMD = 15,1 %

je ze strany pacienta hůře tolerováno. Následuje určitý časový interval, po kterém se zahájí akvizice dat při reaktivní hyperemii stejných jako při klidovém záznamu (obr. 1). Právě délka tohoto intervalu je problematická. Lze předpokládat, že časový interval mezi zrušením okluze tepny

a dosažením její maximální dilatace je variabilní i interindividuálně a podobně se v tomto ohledu liší i protokoly dosud provedených studií, kde jeho délka široce kolísá od 30 sekund do 5 minut a obecně lze říct, že po 10 minutách se stav vrací do bazálních hodnot (5–10). Jelikož je

Tab. 2. Výsledky klinických studií zaměřených na prognózu

Autoři	Rok	Žurnál	Počet subjektů	Endpoint
Kajikawa et al. [34]	2016	Hyp	402	CM, AMI, CMP, PCI, CABG
Matsuzawa et al. [35]	2015	JAHA	17280	Kardiovaskulární příhody blíže nespecifikované.
Ras et al. [36]	2013	AJC	14753	Kardiovaskulární příhody blíže nespecifikované.
Carreri et al. [31]	2013	AJC	60 (s NSTEMI)	Kardiovaskulární příhody blíže nespecifikované.
Takishima et al. [33]	2012		245 (HF + FMD < 5,5)	CM, HF
Yeboah et al. [30]	2012	JAMA	1330	CM, AMI, AP, CMP, CABG, PCI
Garcia et al. [32]	2011	CD	120 (po CMP)	CM, AMI, CMP, PCI, CABG
Hirsch et al. [29]	2011	IJC	268	ACM, AMI, HF, AP, CMP, CABG, PCI
Shechter et al. [14]	2009	IJC	435	ACM, AMI, HF, AP, CMP, CABG, PCI
Kitta et al. [15]	2009	JACC	251	CM, AMI, AP, CMP, CABG, PCI
Yeboah et al. [16]	2009	Circ	3026	ACM, AMI, AP, CMP, CABG, PCI
Rossi et al. [17]	2008	JACC	2264	CM, AMI, CMP, CABG, PCI
Yeboah et al. [18]	2007	Circ	2792 (věk 72 - 98 let)	Kardiovaskulární příhody blíže nespecifikované.
Shimbo et al. [19]	2007	Athero	842	CM, AMI, CMP
Suessenbacher et al. [20]	2006	VM	68 (po PCI)	Kardiovaskulární příhody blíže nespecifikované.
Karatzis et al. [21]	2006	AJC	98 (se STEMI)	CM, AMI, CMP, NAP
Patti et al. [22]	2005	Circ	136 (po PCI)	In-stent restenóza
Meyer et al. [23]	2005	JACC	75 (HFREF s EF LK < 30 %)	CM
Frick et al. [24]	2005	JACC	398	Kardiovaskulární příhody blíže nespecifikované.
Fischer et al. [25]	2005	EHJ	67 (HF)	CM, HF, HT
Fichtlscherer et al. [26]	2004	Circ	198 (ACS)	CM, AMI, CMP
Gocke et al. [27]	2003	JACC	199	CM, AMI, CMP, NAP
Brevetti et al. [28]	2003	Circ	133	AMI, CMP, PCI

Zkratky: ACM – celková mortalita, ACS – akutní koronární syndrom, AMI – akutní infarkt myokardu, AP – angina pectoris, CABG – aortokoronární bypass, CM – kardiovaskulární mortalita, CMP – iktus, EF LK – ejekční frakce levé komory, HF – srdeční selhání, HFREF – srdeční selhání se sníženou ejekční frakcí levé komory, HT – transplantace srdce, NAP – nestabilní angina pectoris, NSTEMI – infarkt myokardu bez ST elevací, PCI – perkutánní angioplastika koronárních tepen.

Žurnály: AJC – American Journal of Cardiology, Athero – Atherosclerosis, CD – Cerebrovascular Disease, Circ – Circulation, EHJ – European Heart Journal, Hyp – Hypertension, IJC Internal Journal of Cardiology, JACC – Journal of American College of Cardiology, JAHA – Journal of American Heart Association, JAMA – Journal of American Medical Association, VM – Vascular Medicine

cílem testu FMD zachycení maximální vazodilatace, není pravděpodobně chybou hodnocení rozměru tepny v delším časovém intervalu se snahou o identifikaci okamžiku dosažení jejího maxima. Na pracovišti autora se provádí kontinuální akvizice dat v intervalu 2 až 5 minut po uvolnění manžety a zaznamená se maximální dosažená vazodilatace. Je otázkou (a dosud ani nebyly provedeny žádné studie), zda má nějaký prognostický význam i rychlost dosažení tohoto maxima (obr. 2). Ze získaných dat lze stanovit:

- Flow mediated dilation (FMD) jako změna průměru tepny v období reaktivní hyperemie oproti klidovému stavu (obr. 3):

$$FMD = \frac{D_{\max} - D_{\text{baz}}}{D_{\text{baz}}} \times 100$$

- Shear rate jako síla působící na intimu a iniciující FMD, která je produktem viskozity krve a rychlosti krevního proudu. Lze ji odvodit podle vzorce:

$$(s^{-1}) = \frac{s \times MVF}{D}$$

- $D_{\max}$ – maximální průměr tepny (cm), D_{baz} – klidový průměr tepny (cm), MVF – střední rychlost krevního proudu (cm/s)

Po získání údajů z fáze maximální hyperemie je možná ještě potenciace vazodilatace podáním nitroglycerinu (tedy nyní již na endotelu nezávislé) s opakováním měření a stanovením dalšího zvětšení rozměru tepny. Fyziologické hodnoty zmíněných veličin jsou velmi variabilní zejména v závislosti na věku, pohlaví a životním stylu vyšetřované osoby (tabulka 1). Obecně lze říct, že FMD klesá s věkem a je celkově nižší u mužů a osob se sedavým způsobem života. Normálním nálezem je FMD 7–10 % a shear rate 43–50 s⁻¹ (5, 9, 10).

...a k čemu je to dobré?

Vzhledem k zásadní úloze endotelové dysfunkce v patofyziologii aterosklerózy a s ní souvisejících kardiovaskulárních onemocnění se nabízí otázka, zda má FMD význam v předpovědi morbidit a mortality z kardiovaskulárních příčin. Od jejího objevu se na tuto otázku snažila najít odpověď řada studií. Přehled nejvýznamnějších a jejich výsledky shrnuje tabulka 2. Velmi obecně

lze jejich výsledky shrnout tak, že vztah hodnoty FMD a kardiovaskulárního rizika má inverzní charakter (jinými slovy, s rostoucí hodnotou FMD klesá kardiovaskulární riziko).

...má to nějaké nevýhody?

V této chvíli se FMD jeví jako velmi výhodná metoda pro svoji jednoduchost, přístrojovou nenáročnost a šetrnost vůči vyšetřovanému. Má ale i své nevýhody. Pravděpodobně největší z nich je její přesnost, která je dána fyzikálními limity ultrazvuku. Pro rozlišovací schopnost ultrazvuku je rozhodující jeho vlnová délka (λ) a velmi obecně lze konstatovat, že nepřesahuje 1–2 násobek λ . Pro průměrnou vaskulární sondu o frekvenci 11 MHz platí, že její $\lambda = 0,14$ mm a rozlišovací schopnost je tedy 0,14–0,28 mm. Průměrný příčný rozměr arteria brachialis je 4 mm (13) a změny jejího průměru o 0,2–0,4 mm. Možná chyba měření daná těmito limity je tedy 3,5–7 % ve stanovení průměru tepny, ale až 70 % při stanovení jeho změn, což je již velmi signifikantní. Další nevýhodou je obtížná reprodukovatelnost výsledků, protože céva má pro vyšetřovaného tu „nepříjemnou“

vlastnost, že reaguje vazodilatací nebo vazokonstrikcí na celou plejádu různých podnětů. Těmito proměnnými, které mohou výrazně ovlivnit výsledek, jsou např. momentální psychický stav, kouření cigaret, okolní teplota, předchozí tělesná zátěž, dieta, farmakoterapie (např. nesteroidní antiflogistika), u žen fáze cyklu, věk vyšetřovaného a řada dalších parametrů. Jinými slovy, vyšetření nelze provést akutně, pacient musí být řádně připraven a podcenění jakéhokoli aspektu této přípravy povede k zavádějícím výsledkům. V tento okamžik je tedy opět třeba zdůraznit nutnost striktního dodržení algoritmu přípravy na test.

LITERATURA

1. Biel V, Novak J, Pluhacek L, Spac J. Funkce endotelu, její vztah k arteriální hypertenzi a možnosti její modulační. *Vnitř Lék*. 2018; 7-8.
2. Karásek D, Vavřková H, Halenka M. Endoteliální dysfunkce, možnosti její detekce a využití v klinické praxi. *Interní Med*. 2004; 6(9): 450-453.
3. Flammer A J, Anderson T, Celermajer D S, Creager M A, Deanfield J, Ganz P, Hamburg N, Lüscher T F, Shechter M, Taddei S, Vita J A, Lerman A. The Assessment of Endothelial Function – From Research into Clinical Practice. *Circulation*. 2012; 126: 753-767.
4. Anderson E A, Mark A L. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation*. 1989; 79, 93-100.
5. Rodriguez-Miguel P, Seigler N, Harris R A. Ultrasound Assessment of Endothelial Function: A Technical Guideline of the Flow-mediated Dilation Test. *J Vis Exp*. 2016; 110
6. Harris R, Nishiyama S, Wray D, Richardson R. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension*. 2010; 55, 1075-1085.
7. Corretti M, Anderson T, Benjamin E, Celermajer D, Charbonneau F, Creager M, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2002; 39, 257-265.
8. Thijssen D, Black M, Pyke K, Padilla J, Atkinson G, Harris R, Parker B, Widlansky M, Tschakovsky M, Green D. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2011; 300.
9. Hopkins M, Dengel D, Stratton G, Kelly A, Steinberger J, Zavala H, Marlatt K, Perry D, Naylor L, Green D. Age and sex relationship with flow-mediated dilation in healthy children and adolescents. *J Appl Physiol*. 2015; 119, 926-933.
10. Parker B, Ridout S, Proctor D. Age and flow-mediated dilation: a comparison of dilatory responsiveness in the brachial and popliteal arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2006; 291.
11. Black M, Cable N, Thijssen D, Green D. Impact of age, sex, and exercise on brachial artery flow-mediated dilatation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2009; 297, 1109-1116.
12. Dalli E, Segarra L, Ruvira J, Esteban E, Cabrera A, Lliso R, López E, Llopis E, Sotillo J. Brachial Artery Flow-Mediated Dilation in Healthy Men, Men with Risk Factors, and Men with Acute Myocardial Infarction. Importance of Occlusion-Cuff Position. *Rev Esp Cardiol*. 2002; 55, 928-935.
13. Tomiyama Y, Yoshinaga K, Fujii S, Ochi N, Inoue M, Nishida M, Aziki K, Horie T, Katoh C, Tamaki N. Accurate quantitative measurements of brachial artery cross-sectional vascular area and vascular volume elastic modulus using automated

Závěr

FMD je velmi jednoduchá a elegantní metoda, která má ovšem řadu limitací. Mezi největší z nich patří náročná příprava, kterou je nutné striktně dodržet. Limity přesnosti dané fyzikálními zákony a rozlišovací schopností ultrazvuku ovšem obejít nelze, a tato oblast tak dává prostor dalšímu výzkumu ve snaze zvýšit přesnost stanovení změn průměru tepny. Ve hře je vývoj sondy o vyšší frekvenci (nízká penetrance, ale vyšší rozlišovací schopnost), oscilometrická metoda (13) nebo angiografické měření, kde ale již odpadá výhoda jednoduchosti ultrazvukové metody. Obrovskou rezervou zatím zůstává nedostatek

observačních studií s dostatečným množstvím probandů, které by stanovily referenční hodnoty FMD pro různé subpopulace (v závislosti na věku, BMI, pohlaví, kouření apod.). Pokud budou uvedené problémy vyřešeny, lze předpokládat, že se FMD stane mocným nástrojem při časné detekci rizika kardiovaskulárních onemocnění, což dá lékařům i pacientům prostor pro jeho snížení ještě před vznikem závažných kardiovaskulárních komplikací.

Poděkování:

Podpořeno Specifickým výzkumem

MUNI/A/1221/2017

- oscillometric measurements: comparison with brachial artery ultrasound. *Hypertens Res*. 2015; 38, 478-484.
14. Shechter M, Issachar A, Marai I, Koren-Morag N, Freinark D, Shahar Y, Shechter A, Feinberg M. Long-term association of brachial artery flow-mediated vasodilation and cardiovascular events in middle-aged subjects with no apparent heart disease. *Int. J. Cardiol*. 2009; 134, 52-58.
15. Kitta Y, Obata J, Nakamura T, Hirano M, Kodama Y, Fujioka D, Saito Y, Kawabata K, Sano K, Kobayashi T, Yano T, Nakamura K, Kugiyama K. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2009; 53, 323-330.
16. Yeboah J, Folsom A, Burke G, Johnson C, Polak J, Post W, Lima J, Crouse J, Herrington D. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009; 120, 502-509.
17. Rossi R, Nuzzo A, Origliani G, Modena M. Prognostic role of flow-mediated dilation and cardiac risk factors in post-menopausal women. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2008; 51, 997-1002.
18. Yeboah J, Crouse J, Hsu F, Burke G, Herrington D. Brachial flow-mediated dilation predicts incident cardiovascular events in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2007; 115, 2390-2397.
19. Shimbo D, Grahame-Clarke C, Miyake Y, Rodriguez C, Sciacca R, Di Tullio M, Boden-Albala B, Sacco R, Homma S. The association between endothelial dysfunction and cardiovascular outcomes in a population-based multi-ethnic cohort. *Atherosclerosis*. 2007; 192, 197-203.
20. Suessenbacher A, Frick M, Alber H, Barbieri V, Pachinger O, Weidinger F. Association of improvement of brachial artery flow-mediated vasodilation with cardiovascular events. *Vasc Med*. 2006; 11, 239-244.
21. Karatzis E, Ikononidis I, Vamvakou G, Papaioannou T, Proterogou A, Andreadou I, Voidonikola P, Karatzi K, Papamichael C, Lekakis J. Long-term prognostic role of flow-mediated dilatation of the brachial artery after acute coronary syndromes without ST elevation. *Am. J. Cardiol*. 2006; 98, 1424-1428.
22. Patti G, Pasceri V, Melfi R, Goffredo C, Chello M, D'Ambrosio A, Montesanti R, Di Sciascio G. Impaired flow-mediated dilation and risk of restenosis in patients undergoing coronary stent implantation. *Circulation*. 2005; 111, 70-75.
23. Meyer B, Mörtl D, Strecker K, Hülsmann M, Kulemann V, Neunteufl T, Pacher R, Berger R. Flow-mediated vasodilation predicts outcome in patients with chronic heart failure: comparison with B-type natriuretic peptide. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2005; 46, 1011-1018.
24. Frick M, Alber H, Hügel H, Schwarzwacher S, Pachinger O, Weidinger F. Short- and long-term changes of flow-mediated vasodilation in patients under statin therapy. *Clinical Cardio-*

- logy. 2002; 25, 291-294.
25. Fischer D, Rossa S, Landmesser U, Spiekermann S, Engberding N, Hornig B, Drexler H. Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation, or death. *Eur. Heart J*. 2005; 26, 65-69.
26. Fichtlscherer S, Breuer S, Zeiher A. Prognostic value of systemic endothelial dysfunction in patients with acute coronary syndromes: further evidence for the existence of the „vulnerable“ patient. *Circulation*. 2004; 110, 1926-1932.
27. Gokce N, Keaney J, Hunter L, Watkins M, Nedeljkovic Z, Menzoian J, Vita J. Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2003; 41, 1769-1775.
28. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease: additive value of flow-mediated dilation to ankle-brachial pressure index. *Circulation*. 2003; 108, 2093-2098.
29. Hirsch L, Shechter A, Feinberg M, Koren-Morag N, Shechter M. The impact of early compared to late morning hours on brachial endothelial function and long-term cardiovascular events in healthy subjects with no apparent coronary heart disease. *Int. J. Cardiol*. 2011; 151, 342-347.
30. Yeboah J, McClelland R, Polonsky T, Burke G, Sibley C, O'Leary D, Carr J, Goff D, Greenland P, Herrington D. Comparison of Novel Risk Markers for Improvement in Cardiovascular Risk Assessment in Intermediate Risk Individuals. The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *JAMA*. 2012; 308, 788-795.
31. Careri G, Nerla R, Di Monaco A, Russo G, Stazi A, Villano A, Sestito A, Lanza G, Crea F. Clinical correlates and prognostic value of flow mediated dilation in patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes. *Am. J. Cardiol*. 2013; 111, 51-57.
32. Santos-García D, Blanco M, Serena J, Rodríguez-Yáñez M, Leira R, Castillo J. Impaired brachial flow-mediated dilation is a predictor of a new-onset vascular event after stroke. *Cerebrovasc. Dis*. 2011; 32, 155-162.
33. Takishima I, Nakamura T, Hirano M, Kitta Y, Kobayashi T, Fujioka D, Saito Y, Watanabe K, Watanabe Y, Mishina H, Obata J, Kawabata K, Tamaru S, Kugiyama K. Predictive value of serial assessment of endothelial function in chronic heart failure. *Int. J. Cardiol*. 2012; 158, 417-422.
34. Kajikawa M, Maruhashi T, Hida E, Iwamoto Y, Matsumoto T, Iwamoto A, Oda N, Kishimoto S, Matsui S, Hidaka T, Kihara Y, Chayama K, Goto C, Aibara Y, Nakashima A, Noma K, Higashi Y. Combination of Flow-Mediated Vasodilation and Nitroglycerine-Induced Vasodilation Is More Effective for Prediction of Cardiovascular Events. *Hypertension*. 2016; 67, 1045-1052.
35. Matsuzawa Y, Kwon T, Lennon R, Lerman L, Lerman A. Prognostic Value of Flow Mediated Vasodilation in Brachial

Artery and Fingertip Artery for Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta Analysis. J Am Heart Assoc, 2015; 4

36. Ras R, Streppel M, Draijer R, Zock P. Flow-mediated dilation and cardiovascular risk prediction: a systematic review with meta-analysis. Int. J. Cardiol. 2013; 168, 344–351.