

Correlation of Brachial Flow Mediated Dilation with Severity of Coronary Artery Disease

Erwin Mulia, Ismoyo Sunu, Andang H. Joesoef, Ganesja M. Harimurti

Department of Cardiology and Vascular Medicine, Faculty of Medicine, University of Indonesia and National Cardiovascular Center Harapan Kita, Jakarta

Background. Endothelial dysfunction precedes the development of morphological changes and contributes to atherosclerotic lesion development and progression. Evaluation using non invasive method such as brachial FMD (flow mediated dilation) has given inconsistent information for extension and coronary atherosclerotic severity regarding endothelial dysfunction. This research will evaluate the correlation between brachial FMD and severity of coronary artery disease (CAD) stenosis.

Methods. It was a cross sectional study. Evaluations were performed in 85 patients who had followed elective coronary angiography and fulfilled inclusion criteria in National Cardiovascular Center Harapan Kita since January until October of 2012. Correlation between brachial FMD and severity of CAD stenosis (Gensini score) was evaluated using linear regression analysis.

Results. Brachial FMD had negative correlation with Gensini score ($R = -0,227$; $P = 0,037$). Hypertension had negative correlation with brachial FMD ($R = -0,235$; $P = 0,032$). Male gender had positive correlation with brachial FMD ($R = 0,220$; $P = 0,040$).

Conclusion. There was weak negative correlation between brachial FMD and Gensini score.

(J Kardiol Indones. 2013;34:71-8)

Keywords: Flow mediated dilation, brachial artery, endothelial dysfunction, coronary artery disease

Korelasi Flow Mediated Dilation Brakial dengan Beratnya Stenosis Penyakit Arteri Koroner

Erwin Mulia, Ismoyo Sunu, Andang H. Joesoef, Ganesja M. Harimurti

Latar belakang. Perubahan fungsi endotel mendahului proses perubahan morfologi dan berkontribusi terhadap perkembangan lesi aterosklerosis dan progresinya. Evaluasi dengan menggunakan metode non invasif FMD (*flow mediated dilation*) brakial memberikan informasi inkonsisten mengenai ekstensi dan beratnya aterosklerosis koroner terkait disfungsi endotel. Penelitian ini akan melihat korelasi nilai FMD brakial dengan derajat beratnya stenosis arteri koroner.

Metode. Penelitian ini merupakan suatu penelitian potong lintang. Evaluasi dilakukan pada 85 pasien yang menjalani angiografi koroner elektif di Pusat Jantung Nasional Harapan Kita dan memenuhi kriteria inklusi sejak Januari hingga Oktober 2012. Korelasi nilai FMD brakial dengan beratnya stenosis penyakit arteri koroner (PAK) menggunakan Skor Gensini dinilai dengan analisis regresi linier.

Hasil. FMD brakial memiliki korelasi negatif dengan Skor Gensini ($R = -0,227$; $P = 0,037$). Hipertensi memiliki korelasi negatif dengan nilai FMD brakial ($R = -0,235$; $P = 0,032$). Jenis kelamin laki-laki memiliki korelasi positif dengan nilai FMD brakial ($R = 0,220$; $P = 0,040$).

Kesimpulan. Nilai FMD brakial memiliki korelasi negatif yang lemah dengan Skor Gensini.

(J Kardiologi Indones. 2013;34:71-8)

Kata kunci: *Flow mediated dilation*, arteri brakialis, disfungsi endotel, penyakit arteri koroner

Pendahuluan

Berkembangnya pengertian terhadap mekanisme biologi vaskular pada proses aterosklerosis telah merombak manajemen klinis terhadap proses tersebut.¹ Proses aterosklerosis bermula sejak kecil dan berkembang selama beberapa tahun hingga munculnya manifestasi klinis, misalnya infark miokardium dan stroke (Gambar 1.).^{1,2} Jaringan endotel

pembuluh darah, memegang peran utama dalam proses ini, karena berfungsi sebagai signal transduksi antara sistem sirkulasi dengan dinding pembuluh dan memproduksi berbagai faktor yang mengatur tonus pembuluh, sifat adhesi sel, pertumbuhan vaskular, dan koagulasi.¹

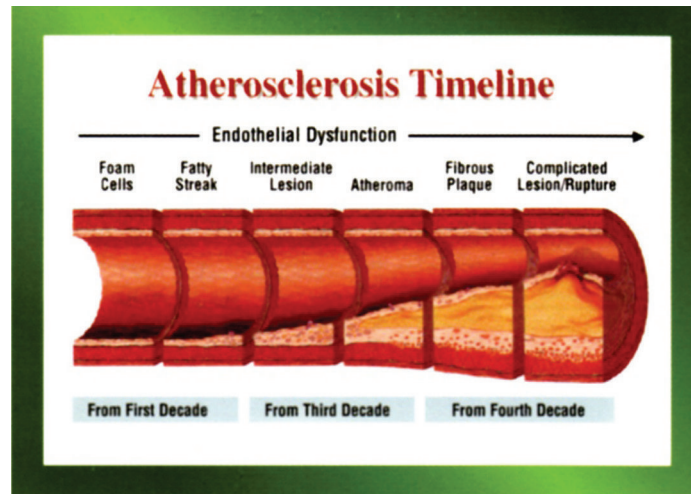
Perubahan fungsi endotel, mendahului proses perubahan morfologi dan berkontribusi terhadap perkembangan lesi aterosklerosis.³⁻⁶ Perubahan ini juga memberi andil terhadap proses inflamasi pada arteri dengan aterosklerosis, dimana akan terjadi destabilisasi plak yang berakibat dengan tingginya kejadian vaskular (Gambar 2. dan 3.).^{2,7} Pemahaman ini, mendukung pengembangan metode non invasif dalam rangka evaluasi fungsi endotel.⁸

Alamat Korespondensi

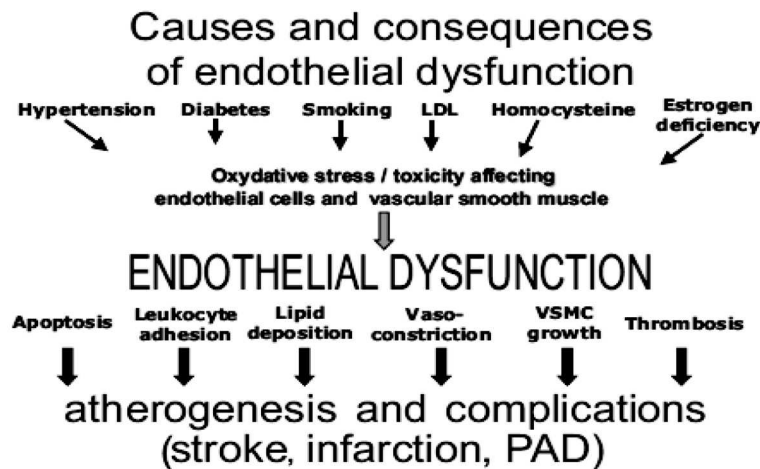
dr. Erwin Mulia, SpJP. Divisi Aritmia, Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskular, FKUI dan Pusat Jantung Nasional Harapan Kita. Jln S Parman Kav 87 Jakarta I 1420. E-mail: erwin.mulia@gmail.com

Nomenclature and main histology	Sequences in progression	Main growth mechanism	Earliest onset	Clinical correlation
Type I (initial) lesion isolated macrophage foam cells		growth mainly by lipid accumulation	from first decade	clinically silent
Type II (fatty streak) lesion mainly intracellular lipid accumulation			from third decade	
Type III (intermediate) lesion Type II changes & small extracellular lipid pools				
Type IV (atheroma) lesion Type II changes & core of extracellular lipid		accelerated smooth muscle and collagen increase	from fourth decade	clinically silent or overt
Type V (fibroatheroma) lesion lipid core & fibrotic layer, or multiple lipid cores & fibrotic layers, or mainly calcific, or mainly fibrotic				
Type VI (complicated) lesion surface defect, hematoma-hemorrhage, thrombus		thrombosis, hematoma		

Gambar 1. Proses Aterosklerosis
Dikutip dari (2)



Gambar 2. Mekanisme Aterosklerosis Terkait Disfungsi Endotel
Dikutip dari (2)



Gambar 3. Peran Disfungsi Endotel terhadap Proses Aterosklerosis
Dikutip dari (7)

Peran endotel vaskular dalam regulasi homeostasis vaskular dipengaruhi oleh nitrogen monoksida (NO). Apabila terjadi disfungsi endotel maka peran NO dalam homeostasis vaskular akan terganggu sehingga fungsi endotel dapat digambarkan oleh NO.¹

Metode non invasif termasuk pemeriksaan *flow mediated dilation* (FMD) brakial dalam rangka evaluasi fungsi endotel. Metode ini menggambarkan NO di dalam sistem vaskular. Metode ini, diperkirakan dapat memperlihatkan risiko kumulatif kardiovaskular dan atau respon terhadap suatu terapi pada masing-masing individu. FMD juga dapat memberi informasi ekstensi dan beratnya aterosklerosis koroner terkait disfungsi endotel serta prognosinya yang serupa dengan informasi yang didapat secara invasif pada sirkulasi koroner.⁹⁻¹³

Beratnya stenosis arteri koroner dapat dinilai menggunakan Skor Gensini. Skor Gensini adalah sistem kuantifikasi beratnya stenosis arteri koroner yang sering digunakan dan dapat menggambarkan jumlah arteri koroner yang terlibat dan beratnya stenosis.¹⁴ Skor Gensini dapat memberi informasi prognosis pada populasi dengan PAK.¹⁵

Berdasarkan pengamatan tersebut, dilakukan penelitian untuk melihat korelasi disfungsi endotel dengan metode FMD brakial dengan beratnya stenosis arteri koroner menggunakan Skor Gensini.

Metodologi

Subyek

Penelitian ini merupakan suatu penelitian potong lintang. Subyek penelitian adalah pasien-pasien yang menjalani angiografi koroner elektif yang memenuhi kriteria inklusi di Pusat Jantung Nasional Harapan Kita sejak Januari 2012 sampai dengan Oktober 2012. Kriteria Inklusi adalah sebagai berikut: Pasien dengan angina pectoris stabil, atau pasien dengan uji beban latihan positif, atau pasien pasca infark miokardium yang menjalani pemeriksaan FMD brakial dan angiografi arteri koroner elektif. Kriteria Eksklusi adalah sebagai berikut: Pasien dengan sindrom koroner akut, pasien yang menjalani angiografi arteri koroner segera (Intervensi Koroner Perkutan/IKP primer, *Early* IKP, dan *Rescue* IKP).

Cara Kerja

Dilakukan pengambilan data dasar pada pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan akan menjalani angiografi koroner elektif. Pasien yang akan menjalani pemeriksaan

angiografi arteri koroner elektif akan dilakukan pemeriksaan FMD brakial di ruang persiapan/poliklinik vaskular. Pasien posisi terlentang setelah istirahat minimal 10 menit. Pengukuran diameter awal arteri brakialis yang terletak proksimal dari fossa antecubiti. Potongan longitudinal arteri brakialis diambil dengan posisi lengan yang nyaman dan stabil. Diameter arteri brakialis diambil pada akhir diastol. Manset diletakkan pada lengan bagian bawah (1-2 cm distal dari fossa antecubiti) kemudian dikembangkan hingga minimal 50 mmHg diatas tekanan darah sistolik pasien. Pengembangan manset dipertahankan selama 5 menit kemudian dikempiskan. Diameter maksimal diukur pada menit pertama setelah manset dikempiskan.

Analisis Statistik

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS versi 17.0. Semua data dinyatakan dengan rerata \pm deviasi standar (SD). Analisis korelasi antara faktor risiko potensial dengan FMD brakial dilakukan dengan teknik regresi standar. Korelasi nilai FMD brakial dengan beratnya stenosis penyakit arteri koroner (Skor Gensini) dinilai dengan analisis regresi linier.

Hasil Penelitian

Karakteristik Populasi Penelitian

Dari angiografi koroner yang dikerjakan pada 94 subyek yang memenuhi kriteria inklusi penelitian didapatkan 85 subyek yang menjadi subyek penelitian. Rerata usia subyek penelitian adalah $58,5 \pm 9,0$ tahun. Mayoritas subyek pada penelitian ini adalah laki-laki (80%), mempunyai beberapa faktor risiko seperti obesitas, hipertensi, dan dislipidemia. Sebagian besar subyek penelitian telah mendapat terapi dengan golongan penyekat *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) atau penyekat reseptor angiotensin (52,9%), penyekat beta (64,7%), nitrat (62,4%), dan statin (80,0%). Rerata diameter awal arteri brakialis $4,9 \pm 0,8$ mm dan rerata nilai FMD brakial $8,2 \pm 4,9$ %. Rerata Skor Gensini pada subyek penelitian adalah $45,0 \pm 41,0$ (Tabel 1).

Korelasi Faktor Risiko PAK dengan FMD Brakial

Pada Tabel 2. masing-masing faktor risiko PAK

Tabel 1. Data Karakteristik

Variabel	Deskripsi (N=85)
Demografi	
Usia	58,5 ± 9,0
Laki-laki	68 (80,0%)
Klinis	
Obesitas	50 (58,8%)
Diabetes Melitus	42 (49,4%)
Hipertensi	59 (69,4%)
Dislipidemia	52 (61,2%)
Riwayat Keluarga	18 (21,2%)
Merokok	40 (47,1%)
Riwayat Infark Miokardium	35 (41,2%)
Terapi	
Penyekat ACE/ Reseptor Angiotensin	45 (52,9%)
Penyekat Beta	55 (64,7%)
Nitrat	53 (62,4%)
Statin	68 (80,0%)
Penyekat Kanal Kalsium	26 (30,6%)
Antidiabetes	32 (37,6%)
Diameter awal arteri brakialis	4,9 ± 0,8
Nilai FMD	8,2 ± 4,9
Skor Gensini	45,0 ± 41,0

dihubungkan dengan nilai FMD brakial. Faktor risiko hipertensi memiliki korelasi negatif dengan nilai FMD brakial ($R = -0,235$; $P = 0,032$). Jenis kelamin laki-laki memiliki korelasi positif dengan nilai FMD brakial ($R = 0,220$; $P = 0,040$).

Evaluasi korelasi pemberian terapi terhadap nilai FMD brakial tidak menunjukkan korelasi yang bermakna pada pemberian penyekat ACE/reseptor angiotensin ($R = -0,083$; $P = 0,452$) dan pemberian statin ($R = -0,050$; $P = 0,647$).

Korelasi FMD Brakial dengan Beratnya Stenosis Penyakit Arteri Koroner

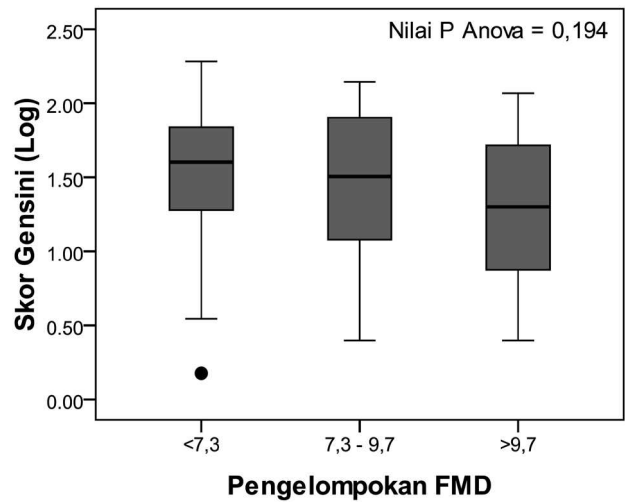
Perbandingan Skor Gensini berdasarkan pengelom-

Tabel 2. Korelasi Faktor Risiko PAK dengan FMD Brakial

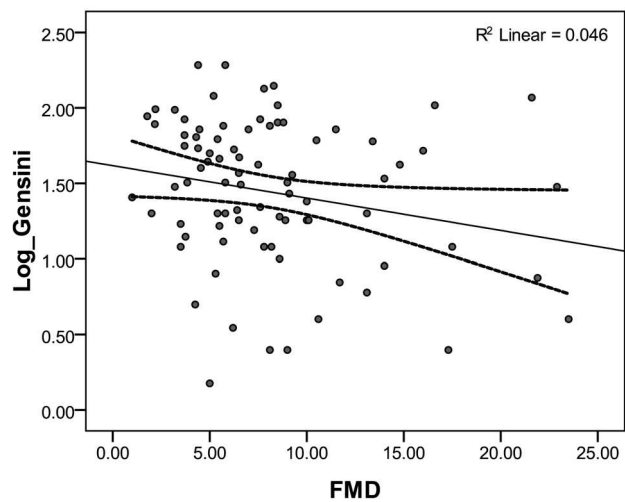
Variabel	R	Nilai P
Usia	-0,134	0,220
Jenis Kelamin (Laki-laki)	0,220	0,040*
Obesitas	0,027	0,804
Diabetes Melitus	-0,031	0,777
Hipertensi	-0,235	0,032*
Dislipidemia	0,099	0,365
Riwayat Keluarga	0,065	0,556
Merokok	-0,112	0,310

pokan persentil FMD brakial digambarkan pada Gambar 4. Pada gambar ini terdapat kecenderungan penurunan Skor Gensini dari persentil pertama hingga persentil ketiga FMD brakial walaupun tidak didapatkan perbedaan bermakna antara masing-masing kelompok FMD brakial.

Hasil analisa regresi linier menunjukkan korelasi negatif antara nilai FMD brakial dengan Skor Gensini ($R = -0,227$; $P = 0,037$) demikian pula pada korelasi nilai FMD brakial dengan Skor Gensini (logaritma/ log) (Gambar 5.). Semakin besar nilai FMD brakial semakin rendah Skor Gensini (log). Analisis tambahan



Gambar 4. Skor Gensini (log) Berdasarkan Kelompok FMD Brakial



Gambar 5. Regresi Linier FMD Brakial dengan Skor Gensini (log)

menunjukkan bahwa diameter awal arteri brakialis memiliki korelasi negatif dengan nilai FMD brakial ($R = -0,362$; $P = 0,001$).

Diskusi

Korelasi Faktor Risiko PAK dengan FMD Brakial

Proses aterosklerosis adalah suatu fenomena yang kompleks walaupun beberapa faktor predisposisi proses ini sudah kita ketahui, namun interaksi dan aksi pada masing-masing individu sangat kompleks bahkan tidak dapat diprediksi.⁹ Disfungsi endotel merupakan fenomena sistemik dan FMD dapat memberikan informasi tidak langsung mengenai fungsi endotel.^{16,17}

Pada Tabel 2. didapatkan faktor risiko tradisional PAK yang memiliki korelasi bermakna dengan nilai FMD brakial, yaitu hipertensi. Hipertensi memiliki korelasi negatif dengan nilai FMD brakial, hal ini sejalan dengan yang ditemukan oleh Taddei dkk.^{18,19} Peneliti ini menemukan bahwa pada pasien dengan hipertensi didapatkan gangguan pada FMD yang menggambarkan disfungsi endotel.

Forstermann dkk mengemukakan hipotesis bahwa jalur protein kinase C terkait dengan stres oksidatif. Hasil penelitian ini mendukung hipotesis bahwa pada hipertensi terjadi aktivasi protein kinase C yang menyebabkan stres oksidatif dan inaktivasi dari eNOS.²⁰ Penelitian lebih lanjut tentu diperlukan untuk membuktikan hipotesis tersebut. Pada penelitian ini juga menunjukkan jenis kelamin memiliki korelasi bermakna dengan nilai FMD brakial, hal ini dapat dijelaskan oleh karena mayoritas subyek penelitian adalah laki-laki (80%).

Korelasi FMD Brakial dengan Skor Gensini

Pada Gambar 4. terlihat adanya kecenderungan bahwa semakin tinggi nilai FMD brakial (fungsi endotel semakin baik) didapatkan Skor Gensini yang lebih rendah (beratnya stenosis arteri koroner yang lebih rendah) dan sebaliknya. Hasil penelitian ini mendukung hasil temuan Gori dkk seperti yang digambarkan pada Gambar 6.⁹

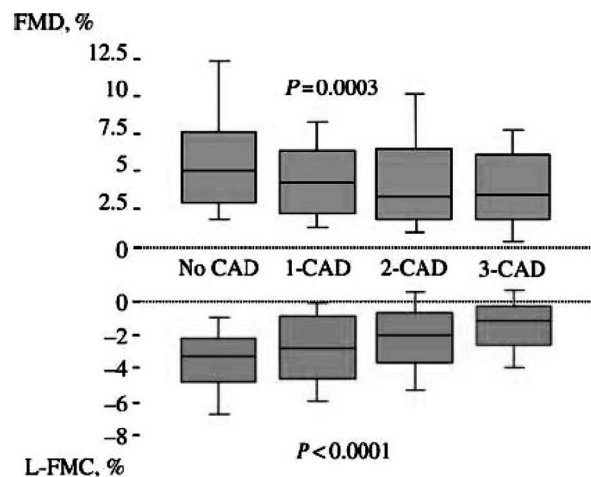
Temuan mengenai korelasi FMD brakial dengan beratnya penyakit arteri koroner hingga saat ini tidak seragam. Hasil penelitian ini (Gambar 5.) menyanggah

hasil penelitian oleh Corretti dkk, Rohani dkk, dan Frick dkk yang tidak menemukan korelasi antara nilai FMD brakial dengan beratnya penyakit arteri koroner.²¹⁻²³ Hasil ini mendukung hasil penelitian beberapa peneliti sebelumnya (Neunteuff dkk, Spiro dkk, Schroeder dkk, dan Matsushima dkk) yang menemukan korelasi nilai FMD brakial dengan beratnya penyakit arteri koroner.^{10,24-26} Hasil penelitian ini juga mendukung hasil penelitian Kylintireas dkk yang membandingkan nilai FMD brakial dengan Skor Gensini.²⁷ Hasil ini mendukung hipotesa awal Sary dkk bahwa disfungsi endotel berkorelasi dengan beratnya stenosis penyakit arteri koroner (Gambar 2.).²

Diameter awal arteri brakialis telah diketahui merupakan penentu utama nilai FMD brakial. Diameter awal arteri brakialis merupakan denominator nilai FMD brakial.²⁸ Hasil penelitian ini juga mendukung hasil penelitian dari Charakida dan Gori dkk.^{1,9}

Perlu difahami bahwa fungsi dan disfungsi endotel merupakan fisiologi yang kompleks dan tidak dapat dijabarkan dengan hanya menggunakan parameter tunggal seperti FMD brakial. Pemahaman yang belum tuntas mengenai mekanisme kompleks endotel mungkin dapat menjelaskan ketidakteraturan hasil penelitian-penelitian tersebut di atas, hal ini selayaknya mendorong pengembangan alat guna menyempurnakan pemahaman kita mengenai fungsi dan disfungsi endotel.⁹

Banyak peneliti mengembangkan metode baru dalam rangka memperbaiki metode evaluasi fungsi



Gambar 6. Nilai FMD Brakial Berdasarkan Kelompok PAK Dikutip dari (9)

endotel seperti EndoPAT yang dapat memberikan data yang lebih baik dibanding FMD brakial. Kombinasi beberapa metode dalam evaluasi fungsi endotel akan memberikan hasil yang lebih baik.⁷

Metode baru juga dikembangkan dalam hal analisa hasil FMD brakial yaitu menggunakan persamaan baru dalam perhitungan FMD. Persamaan ini (Diameter maksimal/Diameter awal^{0,89}) berhasil mengurangi pengaruh diameter awal arteri brakialis terhadap nilai FMD brakial seperti yang ditunjukkan pada hasil penelitian.²⁹

Keterbatasan Penelitian

Variabilitas intra dan inter-operator yang melakukan evaluasi FMD brakial tidak dinilai oleh karena berdasarkan studi populasi ternyata kontribusi hal ini terhadap variabilitas FMD relatif kecil.³⁰⁻³²

Kesimpulan

Penelitian ini menemukan korelasi negatif yang lemah antara disfungsi endotel yang dinilai dengan FMD brakial dengan beratnya stenosis PAK yang dinilai dengan Skor Gensini. Penelitian yang menguji keandalan dari metode pemeriksaan FMD brakial dan Skor Gensini kami sarankan.

Daftar Pustaka

- Charakida M, Masi S, Luscher TF, Kastelein JJ, Deanfield JE. Assessment of atherosclerosis: the role of flow-mediated dilatation. *Eur Heart J* 2010;31:2854-61.
- Sary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;92:1355-74.
- Juonala M, Viikari JS, Laitinen T, et al. Interrelations between brachial endothelial function and carotid intima-media thickness in young adults: the cardiovascular risk in young Finns study. *Circulation* 2004;110:2918-23.
- Halcox JP, Donald AE, Ellins E, et al. Endothelial function predicts progression of carotid intima-media thickness. *Circulation* 2009;119:1005-12.
- Glowinska-Olszewska B, Tolwinska J, Urban M. Relationship between endothelial dysfunction, carotid artery intima media thickness and circulating markers of vascular inflammation in obese hypertensive children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2007;20:1125-36.
- Kobayashi K, Akishita M, Yu W, Hashimoto M, Ohni M, Toba K. Interrelationship between non-invasive measurements of atherosclerosis: flow-mediated dilation of brachial artery, carotid intima-media thickness and pulse wave velocity. *Atherosclerosis* 2004;173:13-8.
- Arrebola-Moreno AL, Laclaustra M, Kaski JC. Noninvasive assessment of endothelial function in clinical practice. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2012;65:80-90.
- Halcox JP, Deanfield JE. Endothelial cell function testing: how does the method help us in evaluating vascular status? *Acta Paediatr Suppl* 2004;93:48-54.
- Gori T, Muxel S, Damaske A, et al. Endothelial function assessment: flow-mediated dilation and constriction provide different and complementary information on the presence of coronary artery disease. *Eur Heart J* 2012;33:363-71.
- Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A, et al. Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1997;129:111-8.
- Teragawa H, Ueda K, Matsuda K, et al. Relationship between endothelial function in the coronary and brachial arteries. *Clin Cardiol* 2005;28:460-6.
- Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1235-41.
- Takase B, Hamabe A, Satomura K, et al. Comparable prognostic value of vasodilator response to acetylcholine in brachial and coronary arteries for predicting long-term cardiovascular events in suspected coronary artery disease. *Circ J* 2006;70:49-56.
- Neeland IJ, Patel RS, Eshthardi P, et al. Coronary angiographic scoring systems: an evaluation of their equivalence and validity. *Am Heart J* 2012;164:547-52 e1.
- Lillpopp L, Tzikas S, Ojeda F, et al. Prognostic information of glycogen phosphorylase isoenzyme BB in patients with suspected acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2012;110:1225-30.
- Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation* 2003;108:2054-9.
- Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:1149-60.
- Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Salvetti A. Endothelial dysfunction in hypertension. *J Nephrol* 2000;13:205-10.
- Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Salvetti A. Vascular effects of endothelin-1 in essential hypertension: relationship with cyclooxygenase-derived endothelium-dependent contracting factors and nitric oxide. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;35:S37-40.
- Forstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* 2012;33:829-37, 37a-37d.

21. Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. Correlation of cold pressor and flow-mediated brachial artery diameter responses with the presence of coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995;75:783-7.
22. Rohani M, Jogestrand T, Kallner G, Jussila R, Agewall S. Morphological changes rather than flow-mediated dilatation in the brachial artery are better indicators of the extent and severity of coronary artery disease. *J Hypertens* 2005;23:1397-402.
23. Frick M, Schwarzacher SP, Alber HF, et al. Morphologic rather than functional or mechanical sonographic parameters of the brachial artery are related to angiographically evident coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1825-30.
24. Spiro JR, Digby JE, Ghimire G, et al. Brachial artery low-flow-mediated constriction is increased early after coronary intervention and reduces during recovery after acute coronary syndrome: characterization of a recently described index of vascular function. *Eur Heart J* 2011;32:856-66.
25. Schroeder S, Enderle MD, Ossen R, et al. Noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilation as a screening test for coronary artery disease: pilot study to assess the predictive value in comparison with angina pectoris, exercise electrocardiography, and myocardial perfusion imaging. *Am Heart J* 1999;138:731-9.
26. Matsushima Y, Takase B, Uehata A, et al. Comparative predictive and diagnostic value of flow-mediated vasodilation in the brachial artery and intima media thickness of the carotid artery for assessment of coronary artery disease severity. *Int J Cardiol* 2007;117:165-72.
27. Kyliantreas I, Shirodaria C, Lee JM, et al. Multimodal cardiovascular magnetic resonance quantifies regional variation in vascular structure and function in patients with coronary artery disease: relationships with coronary disease severity. *J Cardiovasc Magn Reson* 2011;13:61.
28. Bots ML, Westerink J, Rabelink TJ, de Koning EJ. Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *Eur Heart J* 2005;26:363-8.
29. Atkinson G, Batterham AM, Thijssen DH, Green DJ. A new approach to improve the specificity of flow-mediated dilation for indicating endothelial function in cardiovascular research. *J Hypertens* 2013;31:287-91.
30. Donald AE, Charakida M, Falaschetti E, et al. Determinants of vascular phenotype in a large childhood population: the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *Eur Heart J* 2010;31:1502-10.
31. Ghiadoni L, Fatta F, Salvetti M, et al. Assessment of flow-mediated dilation reproducibility: a nationwide multicenter study. *J Hypertens* 2012;30:1399-405.
32. Donald AE, Halcox JP, Charakida M, et al. Methodological approaches to optimize reproducibility and power in clinical studies of flow-mediated dilation. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1959-64.