

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

AKUT MİYOKARD İNFARKTÜSLÜ HASTALARDA
SİSTATİN C DÜZEYİ VE KARDİYAK OLAYLAR
ÜZERİNDE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Beğenç Taşcanov

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. ÖZCAN YILMAZ

SAMSUN 2008

TEŞEKKÜR

Bugünümün mimarları olan başta sevgili anneme ve babama, sabrı, fedakarlığı ile desteğini hep yanımda hissettiğim sevgili eşime, tez çalışmalarım sırasındaki katkı ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Özcan Yılmaz' a, yetişmemde emeği geçen, Prof. Dr. Mahmut Şahin, Prof. Dr. Osman Yeşildağ, Prof.Dr. Cahit Kocakak, Yrd. Doç.Dr. Mustafa Yazıcı, Yrd. Doç. Dr. Kenan Durna, Yrd. Doç. Dr. Okan Gülel, Yard. Doç.Dr.Murat Meriç'e ve asistanlık eğitimim boyunca, hem bir ağabey hem de hoca olarak desteğini hep yanımda hissettiğim, Yrd. Doç. Dr. Sabri Demircan' a, çalışma kanlarının saklanması ve çalışılmasında desteklerini esirgemeyen biyokimya bölümünde çalışan personel ve asistan arkadaşlar'a, beraber çalışmaktan onur duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, kardiyoloji servisi, poliklinik ve koroner anjiyografi ünitesinin tüm çalışanlarına, bu tez vesilesiyle, minnet duyguları içinde sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

	Sayfa No
Kapak	I
Teşekkür	II
İçindekiler	III
Tablo Dizini	IV
Şekil Dizini	V
Özet	VI
1. GİRİŞ	1
2. GENELBİLGİLER	3
2.1. ATEROSKLEROZUN FİZYOPATOGENEZİ VE KLİNİK ORTAYA ÇIKIŞ ŞEKİLLERİ	3
2.1.1. Aterosklerozun Tanımı	3
2.1.2. Normal Arter Duvarı	3
2.1.3 Aterogeneizde Hasara Tepki Hipotezi	4
2.1.4 Ateroskleroz Patogenezi	4
2.1.5 Düz Kas Hücreleri	4
2.1.6 Fibröz Başlık (Fibrous Cap)	6
2.1.7 Plağın Yapısı ve Oluşturdukları Klinik Tablo Arasındaki ilişki	8
2.1.8 Koroner arter Hastalığının Klinikte Karşılaşılan Formları ile Ateroskleroz Lezyonlarının ilişkisi	11
2.2. LİZOZOMAL SİSTEİN PROTEAZLARI VE SİSTATİN C	12
2.2.1. Aterosklerozda Ekstraselüler Matriks Yapım-Yıkım Dengesi	12
2.2.2. Lizozomal Sistein Proteazları Ve Onların Potent inhibitörü Sistatin C	13
2.2.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar	13
2.2.4 Klinik Çalışmalar	17
3. AMAÇ	19
4. ARAŞTIRMA MATERYALİVE YÖNTEM	20
4.1. Çalışma Populasyonu	20
4.2 Sistatin C Ölçüm Yöntemi	20
4.3 İstatiksel Analiz	21

5. BULGULAR	21
5.1. Sistatin C Düzeyleri Ve Diğer Laboratuvar Değerleri	23
5.2. Korelasyon Analizleri	23
6. TARTIŞMA	23
7. SONUÇ	29
8. KAYNAKLAR	30

TABLO DİZİNİ

Sayfa no

Tablo 1: Endotel fonksiyonları üzerine etkili faktörler	4
Tablo 2: Çeşitli sitokinlerin ve anjiogenik faktörlerin katepsin S ve sistatin C ekspresyonu ve sekresyonu üzerine olan etkileri gösterilmiştir.	17
Tablo 3: Hastane içi gelişen komplikasyonlar	22
Tablo 4: Hastaların bazal karakteristikleri	22
Tablo 5: Sistatin C düzeyleri ve Diğer Laboratuvar Değerleri	23
Tablo 6: Sistatin C ile laboratuvar ve klinik değişkenlerin korelasyonu	23

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1: Normal arter duvarının yapısı	3
Şekil 2: Ateroskleroz oluşumundaki erken olaylar	5
Şekil 3: Fibroateromun yapısı	6
Şekil 4: Plak komplikasyonlarında rol oynayan hücre ve maddeler	7
Şekil 5: Aterosklerotik plağın arter duvarında oluşturduğu yeniden biçimlenme (remodelling)	8
Şekil 6: Kararlı plağın yapısı. Kalın ve düz kas hücrelerinden zengin fibröz kılıf, küçük bir lipid çekirdek ve az sayıda inflamasyon hücresi	9
Şekil 7: Kararsız plağın yapısı. ince bir fibröz başlık, büyük bir lipid çekirdek ve çok sayıda inflamasyon hücresi	10
Şekil 8: AHA aterosklerotik lezyon sınıflaması	12
Şekil 9: Sistein proteazı katepsinlerin aterogenezdeki potansiyel rolleri	15
Şekil 10 : Normal arterlerden, aterosklerotik plaklardan ve aortik anevrizmalardan elde edilen protein ekstratlarının "imminoblotting" yöntemiyle işlenmesi	16

ÖZET

Amaç

Aterosklerotik lezyonlarda sistatin C düzeylerinin düşük olduğu immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak plazma sistatin C seviyeleri ile aterosklerotik kalp hastalığı ilişkisi net olarak ortaya konamamıştır. Bu çalışmanın amacı aterosklerotik plak içinde düşük olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiş olan ve bu azalmaya bağlı olarak katepsinlerin artmış proteolitik etkileri sonucu, akut plak komplikasyonlarında rolü muhtemel gözükken, sistatin proteaz inhibitörü sistatin C'nin, akut koroner sendromlu (STEMI ve NSTEMI) hastalarda plazma düzeyini araştırmak, hastane içi ve sonrasında kardiyak olaylarla ilişkisini değerlendirmektir.

Metod

Hastanemize akut koroner sendrom (AKS) kliniği ile başvuran akut miyokard infarktüsülü (STEMI ve NSTEMI)85 hasta alındı. Kan örnekleri AMİ' li hastalarından olayın ilk 12 saati içinde ve taburcu olmadan 5.veya 7.gün de alındı ve plazma sistatin C düzeyleri ölçüldü. İlk kan örneği koroner anjiyografi (KAG) öncesinde alınarak , EDTA sız tüp ile ve plazması ayrıldıktan sonra -70 derecede donduruldu.

Bilinen sistemik hastalığı, kanser tanısı veya aktif enfeksiyonu olan, kreatinin düzeyi 1.3 mg/dl den yüksek olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Yine aortik anevrizmalı hastalarda sistatin C düşüklüğü beklendiği için, bilinen aortik anevrizması olan hastalar çalışmadan hariç bırakıldı.

Bulgular

Çalışmaya 14 ü kadın ve 71 i erkek hasta olmak üzere toplam 85 hasta dahil edildi. Hastaların 22(%25.9) sını ST elevasyonsuz myokard infarktüsü (NSTEMI) ,63 (%84) ST elevasyonlu myokard infarktüsü oluşturmaktaydı.15(%17.6) hastada DM tipII, 37 hastada (%43.5) HT vardı. Sigara kullanan hasta sayısı 55(%64.7), kullanmayan hasta sayısı ise 30(%35.3) dı.2 hastada atriyal fibrilasyon(AF) saptandı. STEMI li hastaların 28'ne (%32.9) primer girişim uygulanırken 21(%24.7) tanesine trombolitik tedavi uygulandı. Standart antiskemik tedavi tüm hastalara verildi. Koroner anjiyografide 2 (%2.4) sol ana koroner arter darlığı(LMCA),55(%64.7) sol ön inen arter,44 (%51.8) sirkumflex arter, 53(%62.4) sağ koroner arter darlığı bulundu.33(%38.8) hastada 3 damar,17 (%20)hastada 2 damar, 21(%24.7) hastada tek damar hastalığı mevcuttu. Çalışmaya alınan 85 hastanın 27'sinde sistatin C1(hastaneye gelişinde alınan ilk kan

örneği) düzeyi 1.3mg/L nin, sistatin C28 (hastaneden taburcu olmadan önce alınan kan örneği) düzeyi ise 19 hastada 1.3 mg/L nin altında izlendi.26 hastada hastane içi kardiyak olay görüldü. Kardiyak olay gelişen hastaların hepsinde sistatin C1 düzeyi 1.3mg/L nin üzerindeydi. Fakat kardiyak olay gelişen ve gelişmeyen hastaların sistatin C1 düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamadı.($p>0.98$) .Tutulan damar sayısı ile sistatin C1 ve sistatin C2 açısından istatistiksel olarak ilişki mevcut değildi.18±6ay takip edilen 80 hastadan 10 hastada restenoz ve 5 hastada ölüm gelişti. Bu hastaların systatin C1 ve systatin C2 düzeyi 1.3mg/L nin üzerindeydi. Restenoz ve ölüm gelişen hasta grubu ile gelişmeyen hastalar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.Sistatin C2 düzeyi sistatin C1' e göre anlamlı olarak yüksekti. ($p<0.015$)

Sonuç

Sonuç olarak bizim çalışmamızda hastaların sistatin C1 ve C2 düzeyi ortalaması yüksek saptandı. Benzer şekilde komplikasyon gelişen hastalarında sistatin C düzeyleri yüksek bulundu. Sistatin C1 düzeyinin yüksek olması akut faz reaktan olabileceğini düşündürmektedir. Doku düzeyindeki çalışmalar aterosklerotik plaklarda katepsinlerin ve onların inhibitörü sistatin C arasında artmış proteoliz lehine bozulmuş bir dengenin olduğunu ve bu moleküller ve aralarındaki dengenin aterosklerotik sürecin başlamasından nihayetinde komplikasyonlara yol açmasına kadarki her süreçte etkin rol oynadıklarını düşündürmektedir. Ne var ki lokal düzeyde gerçekleşen bu olaylar sistemik dolaşıma yansımıyor olabilir.

1.GİRİŞ

Aterosklerotik kalp hastalığı(ASKH) günümüzün en önemli morbidite ve mortalitenedenlerindedir. ASKH'ı 20. yüzyılın başlarında tüm ölümlerin %10'undan daha azını oluştururken, bu yüzyılın sonlarına doğru bu oran gelişmiş ülkelerde %50'lere, gelişmekte olan ülkelerde ise %25'lere çıkmıştır. Veriler 2020 yılına gelindiğinde ASKH'ın yılda 25 milyon ölüme neden olacağını ve her üç ölümden birinin ASKH'na bağlı olacağını göstermektedir (1-2). Ülkemiz açısından olaya bakıldığında TEKHARF çalışması verilerine göre ülkemizde 60-69 yaş grubunda koroner arter hastalığının (KAH) prevalansı %14'ü aşmaktadır (3). Türk kardiyoloji derneğinin 2000 yılında yayınladığı rapora göre ise, aterosklerozun neden olduğu koroner arter hastalıkları ve inmeden kaynaklanan ölümlerin, tüm ölüm nedenlerinin %43'ünü oluşturduğu tahmin edilmektedir (4). Bu nedenle ASKH'ın patofizyolojisinin anlaşılması ve bu sayede önleyici tedbirler alınması halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Yakın zamana kadar giderek büyüyen aterosklerozun, kitlesel etkisi ile damar lümeninidaraltarak klinik bozukluklara yol açtığı ve lümeni tam tıkcayncada akut değişiklikleroluşturduğuna inanılırdı. Ancak akut miyokard infarktüsü (AMİ) sonrası yapılananjiyografik çalışmalar olguların çoğunda olaya sebep olan aterosklerotik plağın lümenikritik derecede daraltmadığını ortaya koymuştur. Yine AMİ öncesinde ve sırasında yapılananjiyografilerin incelenmesi, akut tromboza yol açarak damarı tıkcayan lezyonların büyükçoğunluğunun daha önce anjiyografik olarak kritik darlığa yol açmayan aterosklerotik plakları olduğunu göstermiştir (5-8). Bu bulgular ve moleküler biyolojideki gelişmeler ışığında kararlı ve kararsız (hassas, vulnerable) plak kavramları ortaya atılmıştır ve artık günümüzde aterosklerotik olayların (akut koroner sendromlar, inme, ani ölüm) hassas plakların yırtılarak içerisindeki protrombotik materyal ile kanın teması sonucu oluşan akut tromboz nedeniyle oluştuğu fikri kabul görmüştür. Günümüzde artık koroner arter hastalığının tedavi stratejileri koroner darlıklarının“perkutan girişimler ile mekanik tedavisi yanında aterosklerozu önleyici yada geriletilici, akut plak komplikasyonlarının önüne geçmeyi hedefleyen tedavi stratejilerine de ağırlıkvermektedir. Bu bağlamda aterosklerotik olayları önlemedeki etkinlikleri büyük klinikçalışmalarla ispatlanmış anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve statinler koroner arter hastalığının tedavisinde kılavuzlardaki yerlerini almışlardır. Kompleks bir gelişim yapısına sahip aterosklerozun fizyopatogenezinin anlaşılmasına yönelik araştırmalar halen devam etmektedir. Bu bağlamda aterosklerozun gelişimi ve komplikasyonlara yol açmasında rol oynadığı saptanan yeni moleküllerin ileride aterosklerozla ilgili hastalıklarıönlemede birer tedavi hedefi olması muhtemeldir. Ateroskleroz birçok sitokin ve inflamatuvar mediyatörün birlikte rol

oynadığı dinamik bir süreçtir. Plak komplikasyonları inflamasyonun belirgin olduğu aterosklerotik plaklarının fibröz kapsülünün yırtılması sonucu oluşmaktadır. Aterosklerotik plağı kararlı hale getiren önemli faktörlerden biri fibröz kapsülünün dayanıklı olmasıdır. Fibröz kapsül başlıca kollajen ve elastinden zengin ekstrasellüler matriks ve bu matriks içerisinde bulunan düz kas hücrelerinden oluşmaktadır ve bu fibriler yapıların miktarı kapsüle dayanıklılık özelliklerini sağlamaktadır. Kararsız plakların yaralanmaya en açık bölgeleri, “omuz” bölgeleri diye nitelendirilen, fibröz başlığın damar duvarı ile birleştiği bölgedir. İnflamasyon hücreleri en yoğun olarak buralarda birikmiştir. Bu hücreler tarafından salgılanan proteolitik enzimler, fibröz başlığın kollajen matriksini parçalarlar. Katepsinler güçlü kollajenolitik aktiviteleri olan, moleküler çalışmalarla plak içerisindeki artmış miktarları gösterilmiş proteolitik enzimlerdir. Sistatin C, katepsinlerin vücutta bulunan en önemli inhibitörüdür. Yapılan immünohistokimyasal çalışmalar aterosklerotik plaklar içerisinde azalmış sistatin C düzeylerini net olarak ortaya koymakla birlikte; plazma sistatin C düzeyleri ile koroner arter hastalığı ve akut koroner olayların ilişkisini araştıran klinik çalışmaların sayısı azdır ve çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Bu bağlamda koroner arter hastalığı ile plazma sistatin C düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

2. GENEL BİLGİLER

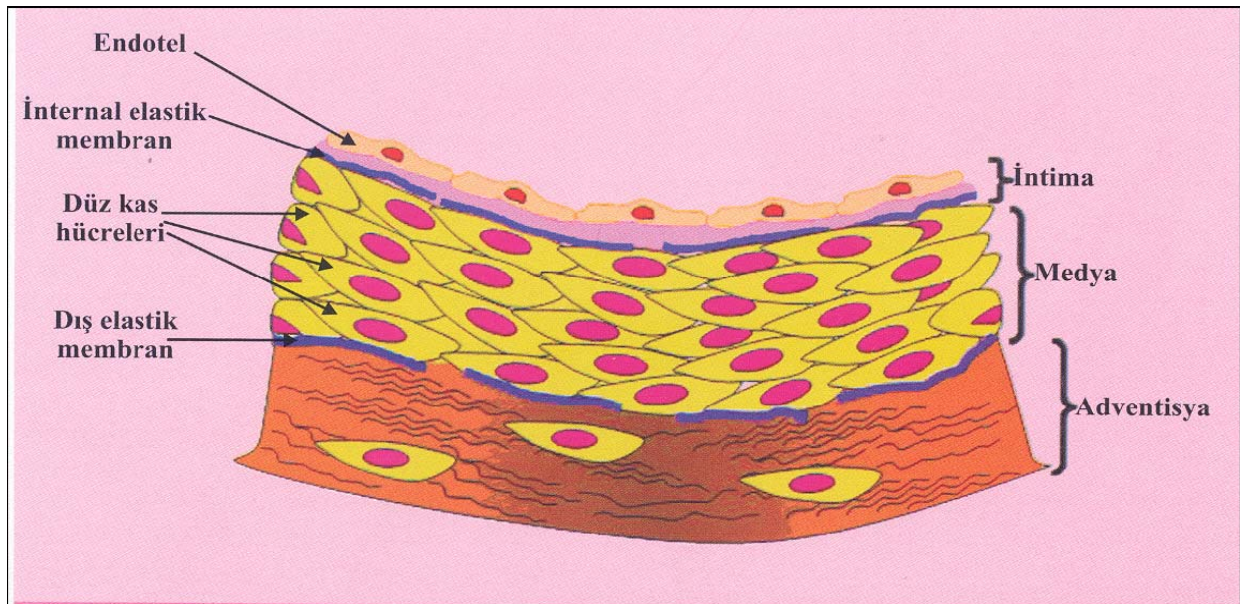
2.1. ATEROSKLEROZUN FİZYOPATOGENEZİ VE KLİNİK ORTAYA ÇIKIŞ ŞEKİLLERİ

2.1.1. Aterosklerozun Tanımı

Ateroskleroz, farklı damar yataklarının büyük ve orta boyuttaki arterlerinin, temel olarak intima tabakasını tutan, damar duvarı içerisinde yağ ve inflamatuvar hücrelerin birikimi ile seyreden, yaygın ve ilerleyici bir süreçtir. Nedeni henüz bilinmese de, aterosklerozun koroner arterleri, karotisleri, özellikle karın aortunu, böbrek arterlerini ve alt ekstremitelerdeki arterlerini daha çok tuttuğu bilinmektedir.

2.1.2. Normal Arter Duvarı

Normal arter duvarı üç tabakadan oluşur. En içteki lümeni çevreleyen tabaka intima'dır. Tek sıra biçiminde dizilmiş endotel hücreleri, bunları destekleyen subendotelyal matriks, bazal membran ve insan intimasına özel olarak az sayıda düz kas hücrelerinden (DKH) oluşur. İntimadan internal elastik membran ile ayrılan orta tabakaya medya adı verilir. Kollajen, elastik lifler ve glikozaminoglikanlardan oluşan bir matriks içinde konsantrik olarak dizilmiş düz kas hücrelerinden oluşur. Adventisyadan eksternal elastik membran ile ayrılır. En dış tabaka ise adventisyadır. Gevşek bir bağ dokusu yapısındaki bu tabaka, boyuna dizilmiş kollajen liflerden, vaza vazorumlardan ve sinir uçlarından oluşur. Normal arter duvarının şematik anlatımı şekil-1'de gösterilmiştir.



Şekil-1 : Normal arter duvarının yapısı (10)

2.1.3 Aterogenezde Hasara Tepki Hipotezi

Bugün hala aterosklerotik sürecin nasıl başladığı tam olarak anlaşılamamıştır. Bu anlamda en fazla kabul gören görüş Ross tarafından ortaya atılan hasara tepki (response to injury) hipotezidir (9). Bu hipotezde anahtar olay endotel hasarıdır. Herhangi bir nedenle ortaya çıkan endotel hasarı, endotel disfonksiyonuna; bu da endotelin doğal koruyucu özelliğinin bozulması sonucu bir dizi inflamatuvar ve proliferatif olaylar zincirini tetiklenmesine neden olur. Bilinen risk faktörlerinin hemen hepsi (sigara, hipertansiyon, diyabet, hiperkolesterolemi, okside LDL kolesterol) endotelde işlevsel bozukluğu yolaçabilir. Bunun dışında aterosklerotik plakta rastlanan Herpesvirüs, Chlamydia ve Helicobacter gibi mikroorganizmalarında endotel hasarının bir nedeni olabileceği düşünülmüştür. Endotel fonksiyonları üzerine etkili olan faktörler tablo-1’de özetlenmiştir.

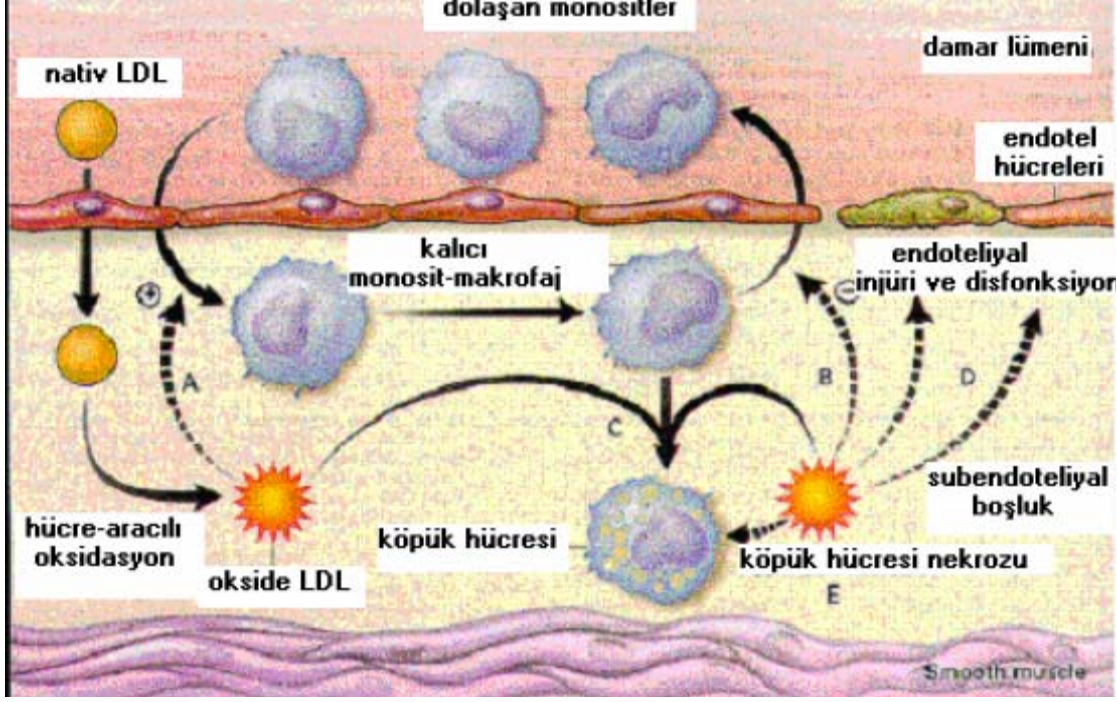
Endotel Fonksiyonlarını Bozan Faktörler	Endotel Fonksiyonlarını Düzeltten Faktörler
<ul style="list-style-type: none">• Yaşın artması• Erkek cinsiyet• Ailede KAH öyküsü olması• Sigara içmek• Yüksek serum kolesterolü• Düşük serum HDL-kolesterolü• Hipertansiyon• Diabetes mellitus• Yüksek serum homosistein düzeyleri• Obezite• Yağlı beslenme	<ul style="list-style-type: none">• L-arginin (NO artışı)• Estrojen• Antioksidanlar• Sigarayı bırakma• Kolesterolün düşürülmesi (statinler)• ACE inhibitörleri• Egzersiz• Homosisteinin düşürülmesi

Tablo 1: Endotel fonksiyonları üzerine etkili faktörler

2.1.4 Ateroskleroz Patogenezi

Aterosklerozu başlatan temel olay fonksiyonu bozulmuş endotel hücreleri tarafından dolaşımdaki düşük dansiteli lipoprotein (LDL) partiküllerinin subendotel aralığa alınmasıdır. Burada endotel hücreleri tarafından okside LDL formuna dönüştürülen LDL partikülleri makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Okside LDL partiküllerini fagosite eden makrofajlar içi kolesterol esterleri ile dolu köpük hücrelerine dönüşürler. Köpük hücrelerinin apoptozu sonucu depolanmış olan kolesterol esterlerinin açığa çıkması ile aterom plakının lipid çekirdeği oluşur. Sonuçta oluşan bu lipid çekirdek, intima tabakasının bağ dokusu yapısı içinde kolesterol ve hücre yıkım ürünleri ile dolu boşluklardır. Bu

aşamada lipid çekirdeğin üzerinde henüz bir fibrotik tabaka yoktur. Ateroskleroz gelişiminin erken dönemindeki olayların şematik anlatımı şekil-2’de ifade edilmiştir (10).



Şekil-2: Ateroskleroz oluşumundaki erken olaylar: Nativ düşük dansiteli lipoprotein (low density lipoprotein, LDL) damar lümeninden subendokardiyal aralığa alınır ve orada makrofajlar, endotelial hücreler ve düz kas hücreleri tarafından okside LDL formuna dönüştürülür. Okside olmuş LDL makrofaj kemotaksisini stimüle (A, +) etmesinin yanında monositlerin damar lümenine geri dönüşünü inhibe eder (B, -). Monositler okside LDL moleküllerini fagosite ederek köpük hücrelerine dönüştürürler (foam cell, C). Okside LDL ayrıca lizozomal enzimlerin salınımıyla köpük hücrelerinin nekroze olmasına ve endotelial injüri ve disfonksiyona yol açar (Şeklin alındığı kaynak : Diaz MN, Frei B, et al. N Eng J Med 1997; 337:408).

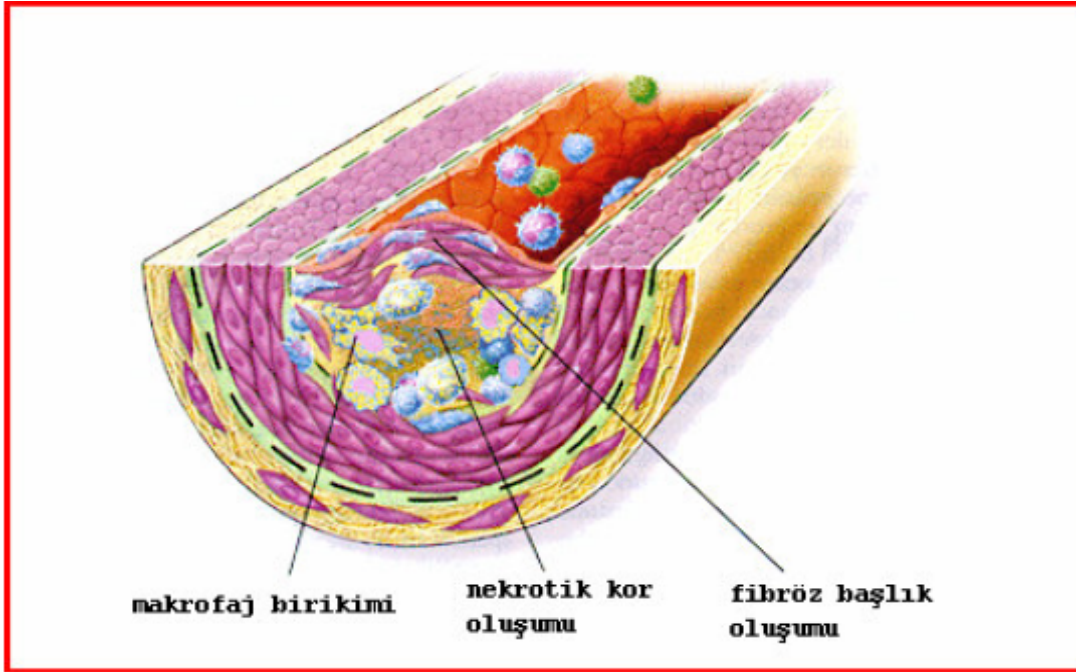
2.1.5 Düz Kas Hücreleri

Normal arter duvarının medya tabakasında yer alan düz kas hücrelerinin esas görevi arter tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın oluşumu sırasında medyadan intimaya geçenden bu hücreler, lezyonun fibroproliferatif sürecinde rol alırlar. Bu yüzden düz kas hücrelerinin intimada birikmesi ilerlemiş lezyonun göstergesi kabul edilir. Düz kas hücre kültürlerinde iki ayrı fenotip tanımlanmıştır (10). Birinci grup yoğun miyofibriller içeren kontraktıl fenotiptir. Bunlar medya tabakasında yerleşiktirler, endotelin, katekolamin, anjiyotensin-II gibi vazokonstriktörlere ve prostoglandin E, prostosiklin, NO gibi vazodilatörlere yanıt verirler. Bununla beraber örneğin platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi mitojenlere kayıtsızdırlar.

Kontraktıl fenotip, hasarlanma, büyüme faktörleri (PDGF, FGF, TGF-B), aktifleşmiş makrofajlardan ve endotel den salgılanan sitokinlerle uyarıldığında, kontraktıl elemanların azalması, granüllü endoplazmik retikulum ve Golgi cisimciklerinde gelişme ile sentetik fenotipe dönüşür. Bu fenotip aterosklerotik lezyonlarda bulunan gruptur ve kontraktıl fenotipin aksine vazoaktif maddelere yanıtız kalırken, PDGF gibi mitojenler tarafından uyarılarak lezyonun proliferatif aşamasında aktif rol alır (11). Aterosklerotik plak, hücresel elemanlar ve matriksten oluşur. Matriksi oluşturan glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar, kollajen, elastin, fibronektin, laminin, vitronektin ve trombospondin gibi maddelerin ve bir takım büyüme faktörlerinin sentezinden büyük oranda bu düz kas hücreleri sorumludur (12). Düz kas hücreleri ayrıca makrofajlar gibi lipoproteinleri fagosite edip kolesterol esterleri şeklinde depolayarak köpük hücre oluşumuna katkıda bulunurlar.

2.1.6 Fibröz Başlık (Fibrous Cap)

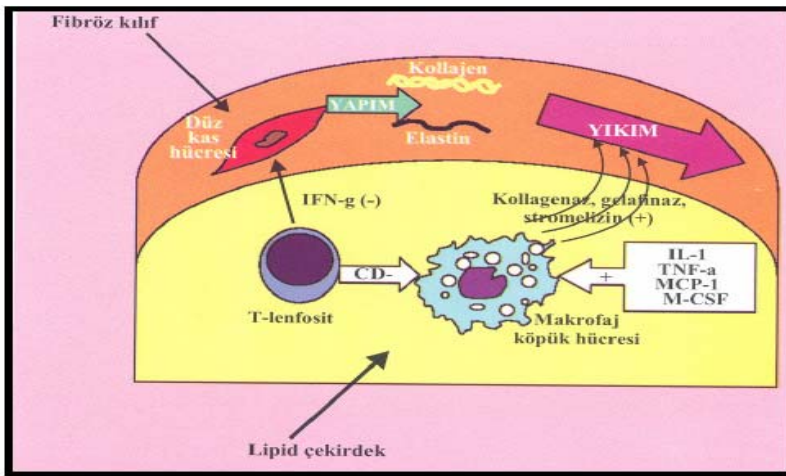
Olgunlaşmış bir aterom plağında lipid çekirdeğin üstü fibröz bir başlıkla örtülüdür. Lipid çekirdek ve etrafındaki fibröz başlıktan oluşan ilerlemiş lezyona “fibroaterom” denilir.



Sekil-3 : Fibroateromun yapısı (Şeklin alındığı kaynak Ross R., N Engl J Med 1999;340:115)
Fibröz başlık yoğunlukla düz kas hücreleri ve onların ürettiği bağ dokusundan oluşur. Lezyonun yaşı ilerledikçe düz kas hücrelerinin sayısı da artar. Düz kas hücrelerinin medyan göçü ve proliferasyonu, PDGF, FGF gibi büyüme faktörlerinin uyarısı ile gerçekleşir. Bu

faktörler aterogenezde rol alan hemen her hücre tarafından üretilebilir. Aynı faktörler, bu hücrelerin bağ dokusu proteinlerini üretmesini de uyarırlar. Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) endotel hücreleri, trombositler, bağ dokusu hücreleri vemaakrofajlardan salınır. Düşük dozlarda düz kas hücrelerinin sekresyon ve proliferasyonunu uyarır. Yüksek dozlarda ise güçlü bir hücre proliferasyon inhibitörüdür. Ayrıca, TGF- β kollajen, proteoglikan ve elastik lif proteinleri gibi bağ dokusu yapılarının sentezini uyaran bugüne kadar tanımlanmış en güçlü ajandır. Tümör nekrosis faktör β (TNF- β)’da güçlü bir bağ dokusu yapımı uyarıcısı olmasına karşın, bu güne dek bulunan en güçlü DKH proliferasyon inhibitörüdür. Uyarıcı ve baskılayıcı bu maddeler arasındaki etkileşim, DKH’nin proliferatif cevabını belirler (10).

Bugün artık fibröz başlığın dinamik bir yapı olduğu bilinmektedir. Bir yandan DKH tarafından kollajen yapımı sürerken, diğer yandan interlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekrosis faktör β (TNF- β) gibi sitokinlerle aktive edilen makrofajlar tarafından salgılanan proteazlar aracılığıyla sürekli bağ dokusu yıkımı olmaktadır. Lipid çekirdek ve fibröz tabakanın lezyondaki miktarı, plağın zedelenebilirliğini (vulnerabilitesini), bir başka deyişle komplikasyon gelişimine ne kadar açık olduğunu belirleyen esas etkindir (13). Fibröz başlık ne kadar kalınsa plak o kadar stabil, fibröz başlık ne kadar inceyse, yırtılmaya o kadar yatkın ve dolayısıyla plak da komplikasyona okadar açıktır. Aterom plağının komplike olmasında rol oynayan hücre ve maddelerin şematik anlatımı şekil-4’de ifade edilmektedir.



Şekil-4: Plak komplikasyonlarında rol oynayan hücre ve maddeler (10)

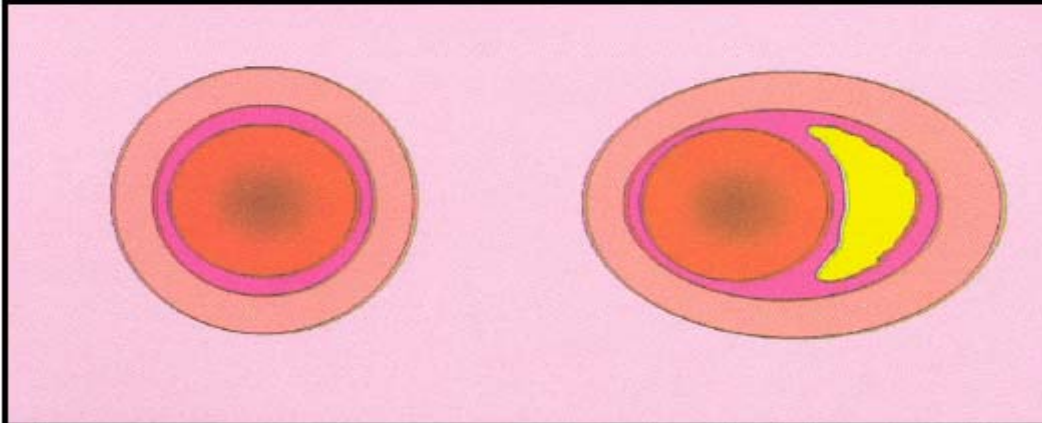
2.1.7 Plağın Yapısı ve Oluşturdukları Klinik Tablo Arasındaki İlişki

Kararlı (stabil) Aterosklerotik Plak

Bir aterom plağının kararlı diye nitelendirilmesi, komplike olma riskinin düşük olduğunuanlatır. Bir plağı kararlı kılan yapısal özellikler şunlardır:

- Kalın bir fibröz başlık. Fibröz başlığın kalınlığı plağın her bölgesinde eşit düzeydedir. Bu yapısal özellik plağa mekanik travmalara direnme yeteneği kazandırır. Plaktaki çevresel gerilme stresini azaltır.
- Fibröz başlık, DKH ve kollajen bakımından zengindir.
- Lipid çekirdek plağın toplam hacminin %40'ından azdır.
- Lezyondaki inflamasyon (makrofaj ve Tlenfosit) hücrelerinin sayısı azdır.

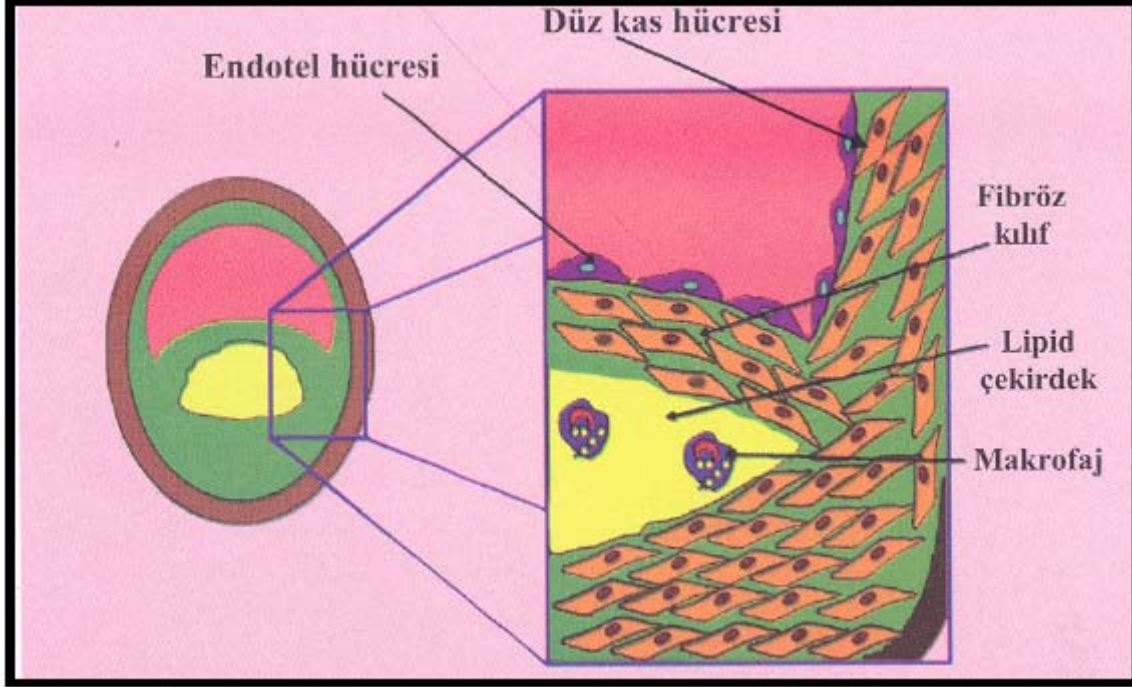
Bu özellikleri taşıyan bir aterom plağı lümeninde kritik düzeyde daralma yapacak kadar büyür ise oluşturacağı klinik tablo kararlı anjina pektoristir. Ancak büyüme her zaman lümeneye doğru olmaz. Duvardaki yeniden biçimlenme ile damar dış çapını artırır. Bu durumda büyüme dışa doğrudur ve lümeni etkilemez. Hacim olarak büyük bir aterom plağı olsa bile, bu şekilde oluşan bir aterom plağını anjyografik olarak tanımak olanaklı olmayabilir. Koroner içi ultrasonografik inceleme (IVUS) yöntemlerinin gelişmesi sonucunda bu olay daha da anlaşılır olmuştur (14). Aslında sadece lümeni gösteren anjiyografide, normal kabul edilen bazı damar bölümlerinde, IVUS aracılığıyla aterosklerotik sürecin başladığını göstermek olanaklı olmuştur. (şekil-5)



Şekil-5: Aterosklerotik plağın arter duvarında oluşturduğu yeniden biçimlenme (remodelling). Plak lümen yerine medya ve adventisyaya doğru büyüyerek damar kesitini oval bir biçime dönüştürmektedir. Lümen çapında daralma yoktur (10).

Plağa kararlı olma özelliğini veren kalın fibröz başlığın temel elemanı düz kashücreleridir. Düz kas hücreleri, plağın mekanik gücünü artırmakla kalmayıp, proliferasyon olarak ve kollajen

salgılayarak yaralanmış plağın onarılmasını da sağlarlar (15). Kararlı yapıya sahip bir plağın özellikleri şekil-6'da ifade edilmiştir.



Şekil - 6: Kararlı plağın yapısı. Kalın ve düz kas hücrelerinden zengin fibröz kılıf, küçük bir lipid çekirdek ve az sayıda inflamasyon hücresi (10).

Kararsız (anstable, vulnerable) Aterosklerotik Plak

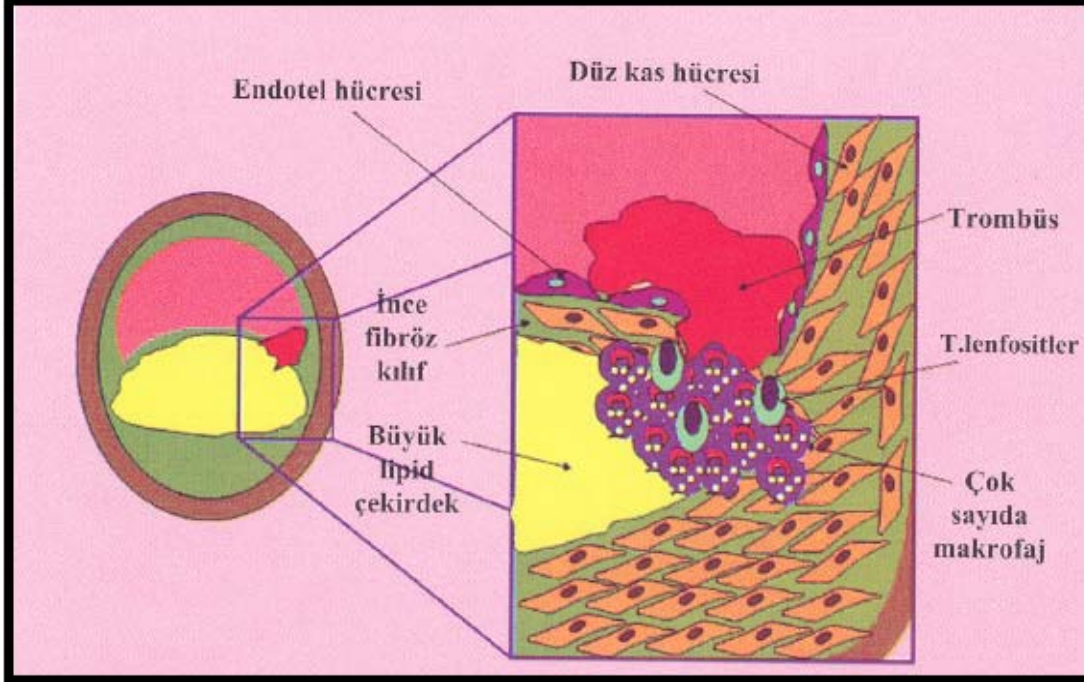
Kararlı plağın aksine kolay hasar görebilecek, bir başka deyişle komplikasyon riski yüksek plaklar kararsız plaklar olarak nitelendirilirler.

Kararsız bir plağın ortak özellikleri şunlardır:

- Plağın toplam hacminin %40'ından daha büyük bir lipid çekirdek.
- Inflamasyon hücrelerinin (makrofaj ve T-lenfosit) çok olması
- DKH ve kollajen içeriği azalmış ince bir fibröz başlık.
- Fibröz başlık üzerindeki çevresel duvar stresinde artma

Kararsız plak özelliklerine sahip bir plağın şematik anlatımı şekil-7'de ifade edilmiştir.

Kararsız plaklar bütün aterosklerotik plakların %10-20'sini oluştururken, akut koroner sendromlardan sorumlu olanların %80-90 oranında bunlar olduğuna inanılmaktadır. Bir plak komplike olduğu zaman akut koroner sendromlara sebep olacağı gibi tamamen sessizde kalabilir. İleri derecede koroner damar daralmasına neden olan lezyonların %70'inin komplike olup onarılmış lezyonlar oldukları saptanmıştır.(10)



Sekil-7: Kararsız plağın yapısı. İnce bir fibröz başlık, büyük bir lipid çekirdek ve çok sayıda inflamasyonhücresi (10).

Kararsız plakların yaralanmaya en açık bölgeleri, “omuz” bölgeleri diye nitelendirilen, fibröz başlığın damar duvarı ile birleştiği bölgelerdir. İnflamasyon hücreleri en yoğun olarak buralarda birikmiştir. Proinflamatuvar sitokinler, lipidler, antijenler ve mikroorganizmalar inflamatuvar hücreleri aktifleştirir. Bir yandan matriks metalloproteinazları fibröz başlığı parçalarlarken, öte yandan sitokinler (interferon- β ve TNF- β) düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve sentezini inhibe ettiğinden plağın onarım mekanizmasında bozulmuş olur (16,17). Neticede zayıflayan fibröz başlık mekanik streslere (kan pulsasyonu gibi) karşı dirençsiz hale gelir. Fibröz başlığın hasarlanması sonucunda subendotel dokudaki adeziv ve prokoagulan maddeler, kan elemanları ve pıhtılaşma faktörleri ile karşılaşp trombüs oluşumunu tetiklerler (18). Bu da akut koroner olayların gelişmesine yol açar. Bir aterom plağının komplike olması için koroner arteri kritik düzeyde daraltması gerekmez. Miyokard iskemisine neden olmayacak kadar küçük plaklarda, eğer kararsız özelliklere sahiplerse, zedelenecek akut koroner sendromlara yol açabilirler (6,19).

2.1.8 Koroner arter Hastalığının Klinikte Karşılaşılan Formları ile Ateroskleroz lezyonlarının İlişkisi

Amerikan Kalp Birliđi (AHA), ateroskleroz lezyonlarını, ilerleme tipini klinik sonuçlarlaeşleştirerek altı tipe ve beş evreye ayırmıştır (20).

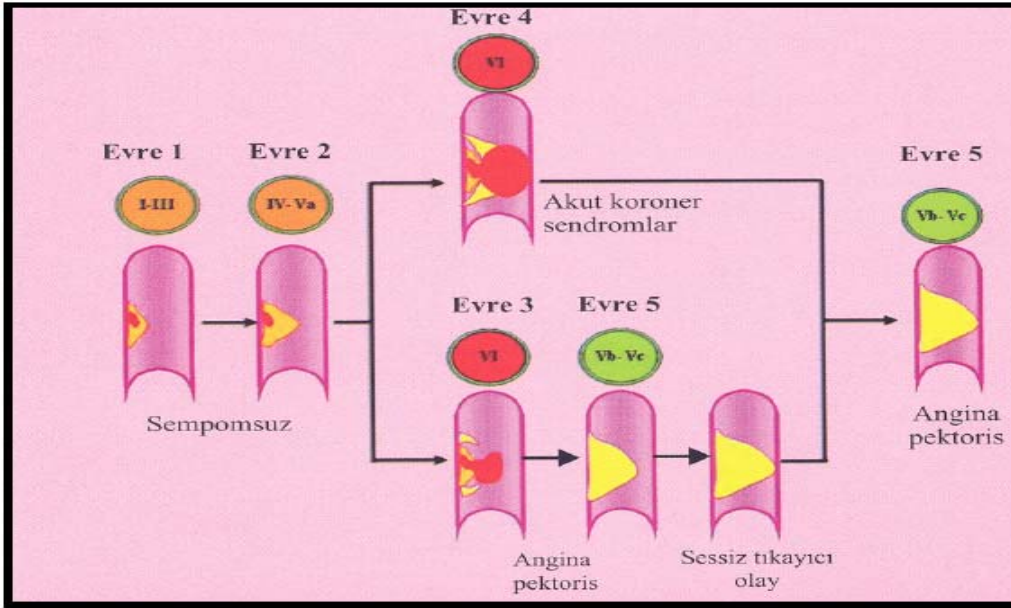
Evre 1: Küçük bir lezyondur ve genellikle 30 yaşı n altında görülür ve klinik bulgu vermezler. Tip I-III lezyonlar bu evreye girerler. Tip I lezyon en erken lezyondur, yeni doğanların %45'inde saptanabilir. Az miktarda yağ birikimi ve seyrek makrofaj köpük hücreleri ile karakterizedir. Tip II lezyonda makrofaj sayısı artmıştır, ek olarak az sayıda T hücresi, mast hücresi ve yağ yüklü DKH de bulunur.Bu iki lezyonda hücre dışında lipid birikintisi,matriks ve intima yapısında değisiklik yoktur. Tip IIa lezyonlar, intimal kalınlaşmanın olduğu ateroskleroza yatkın yerlerde (damar çatallanma yerleri) bulunan ilerleyici alt gruptur. Tip IIb lezyonlar ise ilerlemezler. Tip III lezyonlar, klasik patolojide aterom diye nitelendirilen ilk lezyon tipidir ve ileride oluşacak klinik hastalığın bir göstergesi olarak kabul edilir. Tip II'den ayrılan en önemli özellik hücre dışı yağ birikintisi olmasıdır. Bu birikintiler derinlere doğru uzanarak intimanın bütünlüğünü de bozarlar.

Evre 2: Bu evrede semptom olmamasına karşın artık bir aterom plağı oluşmuştur. TipIV ve Va lezyonları içerir. Tip IV lezyonların özelliği hücre barındırmayan yağ havuzcuklarının görülmesidir. Bu havuzun etrafı DKH, inflamasyon hücreleri ve bağ dokusu ile sarılmıştır. Plak içinde damarlanma başlamıştır. Bu lezyonlara yeniden biçimlenme eşlik ettiğinden koroner anjografi ile saptanamaz, ancak IVUS, MRI gibi tekniklerle görülebilirler. Tip Va lezyonun temel özelliği lipid çekirdek üzerinde ince bir fibröz başlık varlığıdır. Fibroza DKH'lerinin salgıladığı bağ dokusu hücreleri neden olur. Damarlanma daha belirgindir. Lezyon bu aşamada yeniden biçimlenme ile kompanse edilemeyecek kadar büyük olduğundan, anjiografi ile düzgün yüzeyli plaklar olarak görülebilir. Evre 2 lezyonlar komplike olmaya açıktır.

Evre 3: Tip VI lezyonları içerir. Tip VI lezyonlar evre 2 lezyonların rüptürü, fissürlenmesi, erozyonu, ülserasyonu yada çok daha seyrek olarak yeni gelişen kapillerlerden kanama sonucu oluşur. Hasarlı plak üzerine trombüs oturur. Trombüs damarı tıkarsa evre 4 lezyon oluşur. Tıkayıcı boyutta değilse, bu kez, damar çapındaki bu hızlı daralma anjina pektorisine neden olur.

Evre 4: Bu evrede de akut komplike olmuş tip VI lezyonlar vardır. Bu lezyonların evre 3'tekilerden farkı duvardaki trombüsün büyüklüğüdür. Tıkayıcı bir trombüstür ve akut koroner sendromlara neden olur.

Evre 5: Evre 3 ve 4'teki lezyonlarda hasarın onarımı ve duvarda oturan trombüsün organize olması sonucunda plağın boyutu büyür ve fibrotik tıkaçıcı lezyon türleri olan tip Vb ya da Vc lezyonlar oluşur. Tip Vb ve Vc lezyonlar damar lümeninde kritik düzeyde daralma oluşturdukları için anjina pektoris neden olurlar. Ancak bu lezyonlar ortaya çıkmadan önceki iskemik dönemde etkili bir kollateral dolaşım oluştu ise klinik bulgu vermeden sesiz olarak kalabilirler. Tip V lezyonların daha ileri evresinde yağ birikintileri medyaya kadar uzanarak DKH'nin dizilimini bozabilir. Adventisyada ise lenfositler, makrofajlar hatta köpük hücreleri bile görülebilir. AHA'nın bu sınıflamasına 2003 yılında iki tip daha eklenmiştir (21). Ellili yaşlardan sonra plakların mineral içeriğinin artmaya başladığı gösterilmiştir. Kalsiyumun başı çektiği mineraller, plak kesit alanının yarısı ya da daha fazlasını kaplıyorsa bu tip VII lezyon olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca bu lezyonların bir çok kez tekrarlayan hasar onarım süreci nedeniyle, bağ dokusu içeriği de çok artmıştır. Lipid çekirdeğin olmadığı ancak intimanın, zaman zaman hiyalinize olan düzensiz yapıdaki onarıcı nitelikli fibröz bağ dokusu ile kalınlaştığı duruma Tip VIII lezyon adı verilmektedir. Lezyon içinde yer yer kalsiyum kümeleşmeleride görülür.



Sekil-8: AHA aterosklerotik lezyon sınıflaması (10).

2.2. LİZOMAL SİSTEİN PROTEAZLARI VE SİSTATİN C

2.2.1. Aterosklerozda Ekstraselüler Matriks Yapım-Yıkım Dengesi

Damar duvarının ekstraselüler matriksi büyük oranda elastin ve kollagen içermektedir ve damarın bütünlüğü için önemli görevler üstlenmektedir. Bu

makromoleküller endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin tutunabileceği bir yapıtaşı görevi görmelerinin yanı sıra damarın dayanıklılığı, esnekliği ve yapısal bütünlüğünü sağlarlar, damar duvarı hücrelerine yaşamsal sinyalleri iletirler, lipoproteinlere bağlanarak onları alıkoyarlar, büyüme faktörleri için bir rezervuar teşkil ederler (22,23). Normal dokularda ESM'in yapımı ve yıkımı arasında sıkı bir denge vardır. Bununla birlikte romatoid artrit (24), malign tümörler (25), aortik anevrizmalar (26,27), ve ateroskleroz (28,29) gibi hastalıklarda ESM yıkımı ve yeniden şekillenmesi ("remodeling" kavramı) bu hastalıkların oluşumu, ilerlemesi, ve klinik görünümünün oluşmasına katkıda bulunur.

Ateroskleroz arteriel vasküler yatağı tutan, yoğun ekstraselüler matriks yıkımı ve vasküler duvar yeniden-şekillenmesi ile seyreden inflamatuvar bir hastalıktır. Vasküler duvar yeniden şekillenmesi dışa doğru olduğunda anevrizmal damar hastalıkları; içe doğru olduğunda ise tıkaçıcı damar hastalıkları gelişmektedir. Miyokardiyal infarktüs ve inme gibi kardiyovasküler olaylar aterosklerotik plağın remodelingi ve rüptürü sonucu oluşurlar.

Kompleks bir gelişim yapısına sahip aterosklerozda başlıca üç ana evre vardır: başlangıç, ilerleme, komplikasyon (29). Tüm bu aşamalar boyunca mononükleer lökositlerin bazal membran arasından vasküler lümeninden subendoteliyuma başlangıç translokasyonunun; düz kas hücrelerinin elastik laminalar arasından mediadan intimaya progresif göçünün; ve final olarak anevrizmal hastalıklarda dışa doğru atero-oklüsiv hastalıklarda ise içeriye doğru arteriyel duvar harabiyetinin dâhil olduğu bir takım patolojik olaylarda proteolizis önemli yer teşkil etmektedir. Birçok çalışmada aterosklerotik lezyon içerisindeki artmış elastase, kollagenaz ve gelatinaz aktivitesi gösterilmiştir. Sorumlu proteolitik enzimler içerisinde matriks metalloproteinazları (MMP) ve serin proteazlarının bulunduğunu gösteren çalışmaların yanı sıra (30- 40) son zamanlarda lizozomal sistein proteazlarının (başlıca katepsin K ve S'nin) özellikle önemli rolleri olduklarını gösteren çalışmalar yapılmıştır.

2.2.2. Lizozomal Sistein Proteazları Ve Onların Potent inhibitörü Sistatin C

Katepsinler esas olarak hücre lizozomları ve endozomlarında faaliyet gösteren, Lizozomal Sistein Proteazları denilen bir proteaz ailesine mensup enzimlerdir. Son yıllarda moleküler biyolojideki gelişmelere paralel olarak bir çok katepsin tipi tanımlanmıştır ve bunların çoğunun varlığı insan ve hayvanlarda gösterilmiştir. Her ne kadar lizozom ve endozomlar bu enzimlerin esas buldukları ve faaliyetleri için optimum pH'ya sahip

yerlerse de günümüzde çok çarpıcı bir şekilde katepsinlerin bu organeller dışında faaliyet gösterebildikleri saptanmıştır (41). Bu enzimlerin sekretuar özellikleri yoktur ve hücrenin kontakt zonu içinde fokal bir asidik ortam teşekkülüyle hücre dışı faaliyet göstermektedirler. DKH, endotel hücresi ve makrofajların kültür ortamlarında aktif katepsinlerin gösterilmesi bu enzimlerin hücre dışı faaliyetlerinin iyi bir delili olmuştur ve arteriyel patobiyolojideki önemlerinin anlaşılmasına yol açmıştır (42). Bu düşünceleri destekler nitelikte, genetik olarak modifiye edilmiş LDL-reseptörü olmayan ateroskleroza eğimli farelerde katepsin S eksikliğinin ateroskleroza azalttığı gösterilmiştir (43).

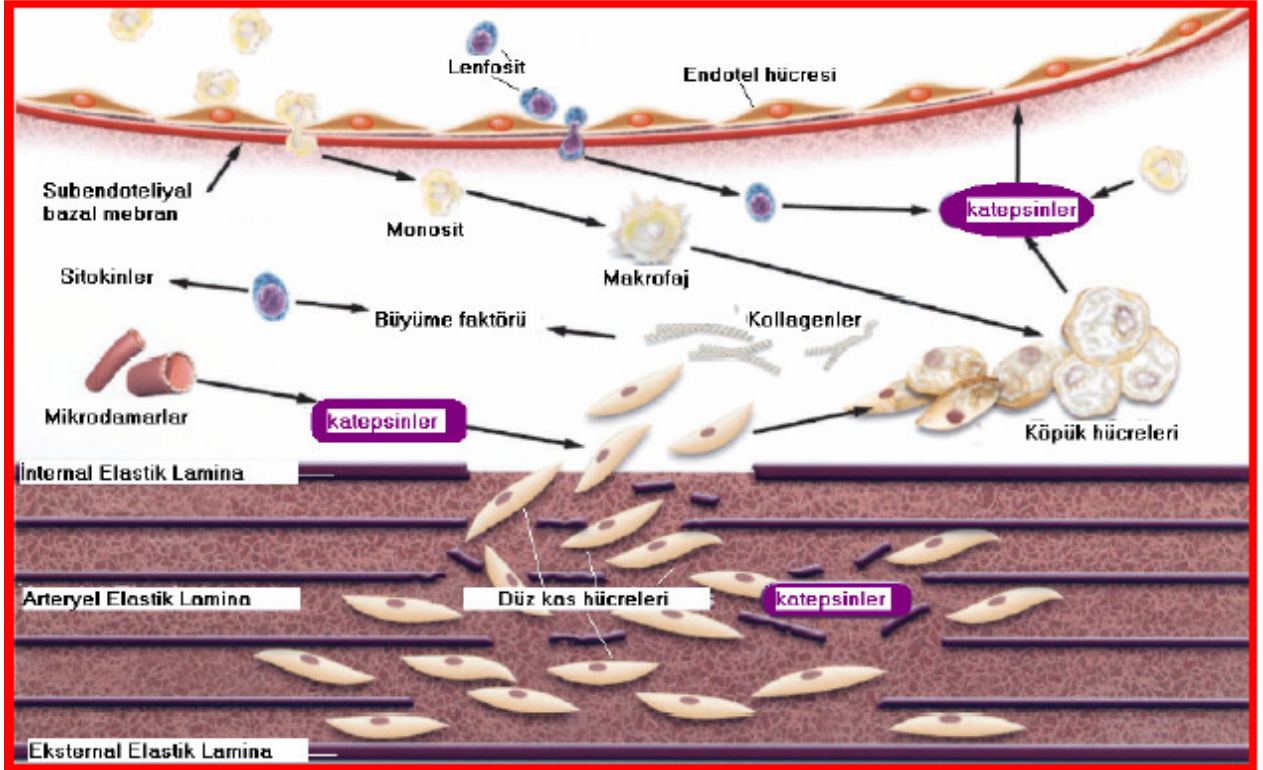
Sistatin C sistein proteaz inhibitörleri sistatin süperailisinin bir üyesidir. Bu ailenin 11 üyesi vardır ve sistatin C endojen sistein proteazlarının fizyolojik olarak en önemli inhibitörü olarak kabul edilmektedir. (44-45).

Sistatin C 13kDa ağırlığında vücuttaki tüm çekirdekli hücrelerden stabil olarak sabit hızda üretilen ve dolaşıma salınan düşük molekül ağırlıklı bir proteindir. Düşük molekül ağırlığı ve katyonik yükü sebebiyle glomerüllerden serbest olarak filtre olur ve proksimal tubul hücreleri tarafından reabsorbe edilerek burada tamamen metabolize edilir. Sistatin C glomerüllerden süzöldükten sonra dolaşıma tekrar reabsorbe olmaması sebebiyle glomerül filtrasyon hızını (GFR) göstermede ideal bir belirteç olma özelliğini taşımaktadır (46,47). Son zamanlarda yapılan bir çok çalışmada GFR'ı göstermede kreatinden daha iyi bir molekül olduğu gösterilmiştir (48).

2.2.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar

Sukhova GK, Shi GP ve ark.'ı tarafından yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda insanların aterosklerotik plaklarının bol miktarda katepsin K ve S içermelerine karşın normal arter duvarında katepsin K ve S'nin çok az miktarda olduğu ya da hiç olmadığı gösterilmiştir (49,50). Bu çalışmalarda katepsin K ve S'nin başlıca aterosklerotik plakların omuz bölgesindeki makrofajlarda, fibröz kapsül düz kas hücrelerinde ve internal elastik lamina fragmentasyon yerlerinde buldukları gösterilmiştir. Bu bulgular bu enzimlerin damar duvarının elastik laminasının harabiyeti ile düz kas hücre göçünde ve aterosklerotik plakların fibröz kapsülündeki kollajenin yıkımıyla da plakların destabilizasyonunda rol oynadıklarını düşündürmektedir. Ayrıca damar lümenini döşeyen endotel hücreleri ve plak içindeki mikrodamarların endotel hücreleri katepsin S salgırlar, bu da bu proteazların plak büyümesi ve komplikasyonlarında rol oynayan neovaskülarizasyon sürecinde aktif rol

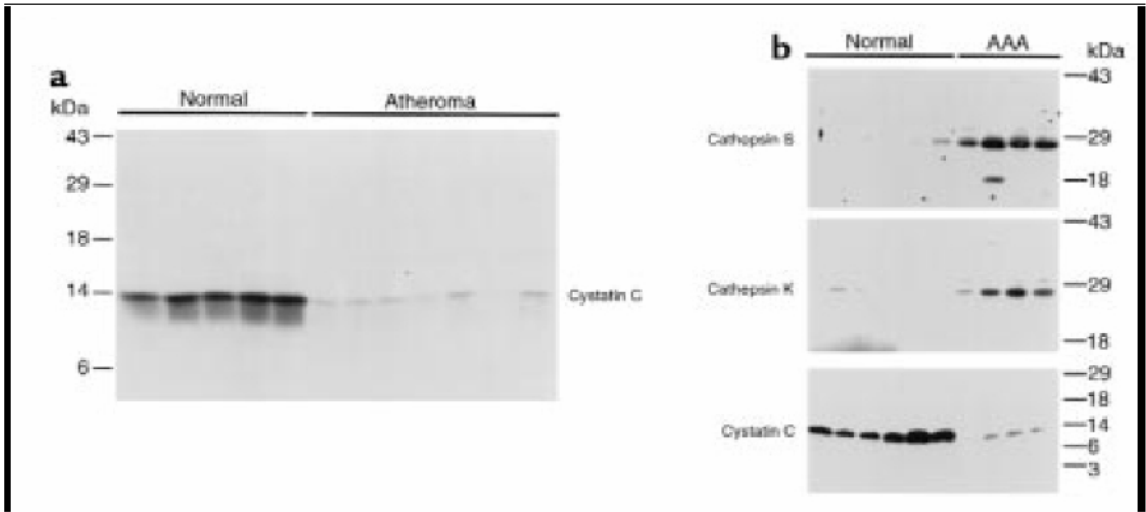
aldıklarını düşündürmektedir (42). Şekil-9'da sistein proteazı katepsinlerin aterogenezdeki olası rolleri anlatılmıştır.



Şekil-9: Sistein proteazı katepsinlerin aterogenezdeki potansiyel rolleri: immünohistolojik analizler sistein proteaz katepsinlerin; subendoteliumda (kan-kaynaklı lökositlerin transmigrasyonun kontrol edilmesi), fibröz kapsülün düz kas hücrelerinde (plak stabilitesi üzerine etkileri), internal elastik lamina fragmentasyon bölgelerinde (düz kas hücre göçünün kontrolü), lipid çekirdekdeki makrofajlar ve köpük hücrelerinde (matriks proteinlerinin yıkımı ve hücre apoptozu üzerine etkileri), damar duvarı ve mikrodamarların endotel hücrelerinde (neovaskülarizasyon üzerine etkileri) lokalize olduklarını göstermiştir. Damarı infiltre eden lenfositlerden salınan sitokinler, kollajenin yıkımından kaynaklanan büyüme faktörleri ve hatta okside LDL'nin kendisi aterogenez sırasındaki katepsin ekspresyonunu kontrol eder. Hem makrofajlar hem de endotel hücreleri modifiye olmuş LDL'yi fagosite ederek köpük hücrelerine dönüşürler ve ikisi birlikte lipid çekirdeğin majör komponentini oluştururlar (42)

Bu araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda; normal koşullarda, kültüre insan DKH'nin katepsin K ve S içermemeleri ve elastolitik aktivite göstermemelerine rağmen, ateroma ilişkili sitokinlerden IL-1 β ve IFN- γ ile sitümlü edildiklerinde aktif katepsin S salgıladıkları ve önemli miktarlarda elastin parçaladıkları ve katepsin S'nin selektif bir inhibitörünün bu elastolitik aktivitenin %80'ninden fazlasını durdurduğu gösterilmiştir (49). Yine aynı araştırmacılar immünohistokimyasal çalışmalarda normal arter duvarının bol miktarda sistatin C içermesine rağmen insan aterosklerotik plakları ve abdominal aort

anevrizmaarından alınan örnekleri çok az miktarda sistatin C içerdiklerini (şekil-10)(50) göstermişlerdir. Bu araştırmacılar deneylerinde insan DKH kültürlerinin INF- γ ile stimüle edilmeleriyle meydana gelen katepsin-S'e bağımlı elastolitik aktivitenin %75'inden fazlasının ortama rekombinant cystatin C ilavesi ile durdurulduğunu ve aterosklerozda plazmada düzeylerinin azaldığı gösterilmiş bir stokin olan TGF- β 1 ile stimüle edildiklerinde DKH kültürlerinde ortamdaki cystatin C miktarlarının arttığını ve bununla uyumlu olarak artama TGF- β 1 ilavesinin INF- γ ile stimüle edilmiş düz kas hücrelerindeki elastolitik aktivitenin tamamına yakını durdurduğunu gözlemlemişlerdir (49-50). Tablo-2'de çeşitli sitokinlerin ve anjiyogenik faktörlerin katepsin S ve sistatin C ekspresyonu ve sekresyonu üzerine olan etkileri gösterilmiştir



Şekil-10: Normal arterlerden, aterosklerotik plaklardan ve aortik anevrizmalardan elde edilen protein kstrelerinin "imminoblotting" yöntemiyle işlenmesi. Hem aterosklerotik plaklar (a) hem de aortik anevrizmalar (b) belirgin derecede azalmış sistatin C antijeni göstermesine karşın, anevrizmal aortalarda (b) katepsin S ve K'ın arttığı görülmektedir (50).

Tablo-2: Çeşitli sitokinlerin ve anjiogenik faktörlerin katepsin S ve sistatin C ekspresyonu ve sekresyonu üzerine olan etkileri

	Katepsin S		Sistatin C	
	Expresyon	Sekresyon	Expresyon	Sekresyon
IFN- γ	↑(DKH,EH)	↑(DKH,EH,MK)	—	—
IL-1 β	↑(DKH,EH)	↑(DKH,EH)	—	—
TNF- α	↑(DKH,EH)	↑(DKH,EH,MK)	↑(EH)	↓(EH)
TGF- β 1	—	—	—	↑(DKH)
VEGF	↑(EH)	↑(EH)	—	—
bFGF	↑(EH)	↑(EH)	↓(EH)	↓(EH)

(↑: artma, ↓: azalma, —:etki yok. EH;endotel hücresi, MK;makrofaj. 42)

Genetik olarak ateroskleroza eğilimli Apo-E defisitli farelerdeki aterosklerotik lezyonlarda katepsin S, L, ve B ekspresyonunda benzer bir artış göstermiştir. Nonaterosklerotik lezyonlarında tanımlandığı gibi katepsin S başlıca intimal düz kas hücreleri ve makrofajlar ile medial düz kas hücrelerinde saptanmıştır. Nonaterosklerotik arterlerde katepsin S ekspresyonuna rastlanılmamıştır (51). Saptanan bu bulgular aterosklerotik damar yapısında katepsinler ile sistatin C arasındaki dengenin artmış proteoliz lehine bozulduğunu ve bu durumun bir takım sitokinler ile modüle edildiğini bizlere göstermektedir. Ancak MMP ve onların vücuttaki inhibitörü TIMP-1 açısından durum böyle değildir, insan aterosklerotik lezyonlarında TIMP ekspresyonunun normal arterlerdekine eşit yada daha fazla düzeyde olduğu gösterilmiştir (52,53). Farelerde ki aterosklerotik lezyon gelişiminde benzer ekspresyon paterni göstermiştir; Apo-E defisitli farelerin aterosklerotik lezyonlarında artmış MMP-9 ekspresyonuna artmış TIMP-1 seviyelerinin eşlik ettiği görülmüştür. Bu durum aterosklerotik lezyonlarda sistatin proteazları ile onların potent inhibitörü sistatin C arasında görülen ilişkinin tam tersi bir durumdur (51).

Bu çalışmaların ışığında aterosklerotik bir plağın oluşumundan ilerlemesine ve en nihayetinde rüptüre olup aterotrombotik olaya yol açmasına kadar geçen süreçte sistatin proteazları ile onların potent inhibitörü sistatin C arasındaki dengenin önemi anlaşılmıştır (42).

2.2.4 Klinik Çalışmalar

İmmünohistokimyasal çalışmalarla aterosklerotik lezyonlarda sistatin C eksikliğinin gösterilmesi klinik aterosklerotik olaylar ile plazma sistatin C seviyeleri

arasındaki ilişkinin araştırılmasına yol açmıştır.

Anevrizmal aortik dokulardaki düşük sistatin C seviyeleri aortik anevrizması olan hastalarda plazma sistatin C düzeylerinin araştırılmasına yol açmıştır. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda düşük plazma sistatin C seviyeleri ile aortik anevrizma gelişimi arasındaki ilişki ortaya çıkarılmıştır.

Yapılan bir çalışmada, araştırmacılar 122 hastayı ultrasonografi ile taramışlar ve abdominal aort dilatasyonu ile plazma cystatin C düzeylerinin negatif koreleasyon gösterdiğini saptamışlardır. Bu 122 hastanın 8'inin aort çapı 2,5 cm'in üzerinde bulunmuş ve bu hastalarda sistatin C düzeyleri anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (50). Yine küçük abdominal aort anevrizması (AAA) (>3cm) olan 151 hastanın yaklaşık 3 yıl takip edildiği bir klinik çalışmada sistatin C düzeylerinin AAA boyutu ve ekspansiyon hızı ile negatif koreleasyon gösterdiği ve bu hastaların ileride anevrizma operasyonu geçirmelerini göstermede sistatin C'nin anlamlı bir klinik prediktör olduğu saptanmıştır (54).

Sistatin C eksikliği ile kardiyak klinik olaylar arasındaki ilişkisi gösteren Perk Erikson ve ark yaptığı bir çalışmada (55), 1105 hastada (237'si ilk infarktüsü sonrası hayatta kalan hasta, 229'u bu hastaların yaş ve cinsiyet uyumlu kontrol grubu ve 639'u Stockholm'den rastgele seçilen 50 yaş üstü sağlıklı beyaz erkek bireyler) sistatin C için genotipleme yapılmış ve 7 farklı polimorfizm saptanmıştır. Tüm gruplarda benzer şekilde mutant haplotipi taşıyanlarda sistatin C düşük saptanmıştır. Miyokardial infarktüs geçirmiş 237 hastada plazma sistatin C düzeylerinin, 229 sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır. ($0.79 \pm 0.14 \mu\text{g/mL}$ 'ye karşı $0.84 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$; $P < 0.0001$). infarktüs geçiren hastalarda, plazma sistatin C düzeyi düşüklüğü ile koroner arter hastalığının anjiyografik şiddeti arasında anlamlı ilişki bulunduğunu gösterir şekilde, mutant haplotipi taşıyanlarda koroner arter segmenti başına düşen ortalama stenoz sayısı daha fazla saptanmıştır (55).

Davide Noto ve ark'ın yaptığı bir diğer çalışmada; 61 AMİ 61 kararsız angina hastası ve 61 kontrol grubunda (toplam 183 kişi) plazma sistatin C düzeylerine bakılmış ve AMİ hastalarında sistatin C'nin daha düşük olduğu saptanmıştır. AMİ hastalarında sistatin C düzeylerinin olaydan 7 gün sonra normal seviyelere döndüğü görülmüş ve sistatin C seviyelerinde ki bu geçici düşüşün plak rüptürüne ve AMİ 'ne neden olabileceği düşünülmüştür (56).

Plazma sistatin C düşüklüğü ile koroner arter hastalığı arasında bir ilişkinin var olduğunu destekleyen bu çalışmaların yanı sıra plazma sistatin C düzeyleri ile aterosklerotik

hastalık gelişimi arasında bir ilişkinin saptanmadığı çalışmalar da vardır. Michelle A. Albert ve ark tarafından yapılan, aspirin ve beta-karotenin kanser ve kardiyovasküler hastalıklardan primer korunmadaki etkilerini araştıran plasebo kontrollü bir çalışmada 22.071 sağlıklı denekte 60 aylık takipte periferik arter hastalığı gelişen 133 hasta ve eşit sayıda kontrol grubunda bazal sistatin C kan düzeylerine bakılmış ve arada istatistiksel anlamlılıkta fark saptanmamıştır. Araştırmacılar hipotez olarak aterosklerozun erken dönemlerinde sistatin C seviyelerinin normal olduğunu ancak sistatin C nin bir geç belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (57). 10.600 sağlıklı gönüllü erkek üzerinde 5 yıl boyunca risk faktorlerinin koroner kalp hastalığı gelişimi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı gözlemsel bir çalışmada izlemde ilk koroner olaylarını geçiren 313 hasta ile 616 kontrolünün bazal sistatin C düzeylerine bakılmış ve koroner olay geçirenlerin bazal sistatin C seviyeleri kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır. Araştırmacılar bu farkın böbrek fonksiyonlarındaki bir farklılıktan kaynaklanmadığını göstermiştir ve koroner olay gelişen hastalarda yüksek sistatin C düzeyleri saptanmasına hipotez olarak arteriyel duvar dışındaki hücrelerden azalmış arteriyel ekspresyonu dengelemek için sistatin C'nin over-eksprese edildiğini ileri sürmüşlerdir. Tabi ki bu hipotezleri kanıtlanmamış olarak durmaktadır (58).

Jian Liu ve ark tarafından yapılan bir araştırmada üç ayrı populasyon incelenmiş; klinik ateroskleroza olan hastalar (n:107) ve ateroskleroza olmayan diabetlilerde (n:103) kontrol grubuna (n:30) göre serum katepsin S ve sistatin C seviyelerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Serum kreatin değerlerine göre düzenleme yapıldığında sistatin C düzeyleri kontrol grubuna göre diabetiklerde halen yüksek kalırken ateroskleroza olan hastalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlılıkta fark saptanmamıştır. Araştırmacılar aterosklorozlu hastalarda düşük sistatin C seviyeleri bulmayı beklerken tersi bir durumla karşılaşmışlardır (59).

Sonuç olarak literatürde plazma sistatin C düzeyleri ile klinik aterosklerotik olaylar arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar içerisinde, koroner arter hastalığında plazma sistatin C düşüklüğünün gösterildiği çalışmaların yanında böyle bir ilişkinin saptanmadığı çalışmalarda bulunmaktadır. Ancak literatürde akut myokard infarktüsü (STEMI ve NSTEMI)hastalarda hastane yatışında ve taburcu olmadan önce alınan serum sistatin C düzeyinin prognozistik değerini karşılaştıran çalışma yoktur.

3. AMAÇ

Aterosklerotik lezyonlarda sistatin C düzeylerinin düşük olduğu immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak plazma sistatin C seviyeleri ile aterosklerotik kalp hastalıkları ilişkisi net olarak ortaya konamamıştır. Bu çalışmanın amacı aterosklerotik plaklardaki düşüklüğü gösterilmiş olan ve bu düşüklüğünün yol açtığı katepsinlere bağı artmış proteolitik etki sonucu, akut plak komplikasyonlarında rol oynaması muhtemel gözüken sistatin proteaz inhibitörü sistatin C'nin akut koroner sendromlu(STEMI ve NSTEMI)hastalarda plazma düzeylerine, hastane içi ve sonrasında kardiyak olaylarla ilişkisinin olup olmadığını ortaya koymaktır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Çalışma Populasyonu

Çalışmaya ocak-2006 ve ocak-2007 tarihleri arasında toplam AKS' li 85 hasta dahil edildi. Hastalar 18 ± 6 ay takip edildi.

Hastanemize akut koroner sendrom (AKS) kliniği ile başvuran akut miyokard infarktüsülü (STEMI ve NSTEMI) hastalar alındı. Sistatin C için plazma örnekleri AMİ' li hastalardan olayın ilk 12 saati içinde ve taburcu olmadan 5.veya 7.gün de alındı. İlk kan örneği koroner anjiyografi (KAG) öncesinde alındı. Sistatin C için kanlar EDTA sız tüplere alındı ve plazması ayrıldıktan sonra -70 derecede donduruldu.

Bilinen sistemik hastalığı, kanser tanısı veya aktif enfeksiyonu olan, kreatin düzeyi 1.3 mg/dl den yüksek olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Yine aortik anevrizmalı hastalarda sistatin C düşüklüğü beklendiği için, bilinen aortik anevrizması olan hastalarda çalışmadan dışı bırakıldı.

4.2 Sistatin C Ölçüm Yöntemi

Plazma sistatin C ölçümleri hızlı, güvenilir ve otomatize bir yöntem olan immünonefelometrik yöntemle ticari kit kullanılarak (Dade Behring N Latex Cistatin C) Behring BN ProSpec II. (Dade Behring Diagnostics) cihazında yapıldı. "Dade behring N Latex systatin C assay" FDA tarafından onay almış (47) ve güvenilirliği bir çok çalışma ile kanıtlanmış bir yöntemdir (60- 62).

İmmünonefelometrik yöntemle sistatin C'nin ölçümü için serum yada EDTA'lı plazma örnekleri kullanılmaktadır. Bu yöntemle sistatin C ölçümü, insan sistatin C'sine spesifik antikorlar ile kaplı polistiren partiküllerin sistatin C içeren örnekle karşılaştığı zaman agregat olmasına ve bu agregattan geçen ışığın sistatin C konsantrasyonu ile orantılı olarak ışık demetini dağıtması prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla reaktif olarak tavşandan elde edilmiş anti-insan sistatin C'si içeren antikorlarla kaplı polistiren partikül süspansiyonu kullanılır. Örnekteki sistatin C ile birleşen partiküller üzerine ikinci bir reaktif olan tavşan immünglobülini eklenerek agregasyon sağlanır. Systatin C >1.3 mg/L olanlar yüksek kabul edildi.

4.3 İstatiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen veriler kodlandıktan sonra SPSS 13.0 paket programında bilgisayara aktarılmış ve analiz edilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma olarak, nonparametrik verileri ise yüzde ile ifade

edilmiştir. Nonparametrik verilerinin karşılaştırılmasında Ki-kare, sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında ise normal dağılıma uymadığı için nonparametrik yöntemler Mann Withney U, Kruskall-Wallis spearman korelasyonu kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında, $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

5. BULGULAR

Çalışmaya 14 ü kadın ve 71 i erkek hasta olmak üzere toplam 85 hasta dahil edildi. Hastaların 22(%25.9) sını ST elevasyonsuz myokard infarktüsü (NSTEMI), 63 (%84) ST elevasyonlu myokard infarktüsü oluşturmaktaydı.15(%17.6) hastada DM tipII, 37 hastada (%43.5) HT vardı. Sigara kullanan hasta sayısı 55(% 64.7), kullanmayan 30 (%35.3) hastavardı.2 hastada atriyal fibrilasyon (AF) saptandı. STEMI lü 28 hasta (%32.9) primer girişim için anjio labarotuarına alındı.21(%24.7) hastaya trombolitik tedavi uygulanmıştır. Standart antiskemik tedavi tüm hastalara uygulandı. Koroner anjiografi uygulanan hastalarda 2 (%2.4) sol ana koroner arter darlığı (LMCA), 55 (%64.7) sol ön inen arter,44 (%51.8) sirkumflex arter,53(%62.4) sağ koroner arter darlığı bulundu. Çalışmaya alınan 85 hastanın 27'sinde sistatin C1 düzeyi 1.3mg/L nin, sistatin C2 düzeyi 19 hastada 1.3 mg/Lnin altında izlendi. 26 hastada hastane içi kardiyak olay görüldü kardiyak olay gelişen hastaların hepsinde systatin C 1 düzeyi 1.3mg/L üzerindeydi. Fakat kardiyak olay gelişen ve gelişmeyen hastaların sistatin C1 düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamadı.(p>0.98) . Üç hastamızda mekanik komplikasyon gelişti. Komplikasyon gelişen hastalar genel olarak istatistiksel değerlendirmeye alınmıştır. Hastalarda görülen komplikasyonlar tablo-3'de özetlenmiştir. Tutulan damar sayısı sistatin C1 ve sistatin C2 düzeyi açısından istatistiksel olarak ilişki mevcut değildi. 18±6ay takip edilen 80 hastadan 10 hastada restenoz ve 5 hastada ölüm gelişti. Bu hastaların systatin C1 ve systatin C2 düzeyleri 1.3 mg/L nin üzerindeydi. Restenoz ve ölüm gelişen hasta grubu ile gelişmeyen hastalar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Ölüm gelişen hastalardan birisi akciğer kanserinden ölmüştür. Restenoz gelişen 10 hastadan 3 hastaya KABG uygulanmıştır. Systatin C2 düzeyi sistatin C1'e göre anlamlı olarak yüksekti. (p<0.015) . Hastaların bazal karekteristikleri tablo-4'de özetlenmiştir.

Tablo -3 Hastane içi gelişen komplikasyonlar

Elektriki komplikasyonlar	Hasta sayısı	Mekanik komplikasyonlar	Hasta sayısı
Ventikülüler fibrilasyon	5	Post Mİ VSR	1
Ventikülüler taşikardi	4	Serbest duvar rüptürü	1
3.derece AV blok	5	Perikardit	1
Atriyal fibrilasyon	2	Sol ventikül anevrizması	1
Sinüs bradikardisi	3	Ölüm	3

Tablo -4 Hastaların bazal karekteristikleri

Bazal değişkenler	
Yaş (ortalama+SD)(yıl)	58±13
Cinsiyet (erkek-%)	71(%83.5)
BKI(kg/m ² medyan)(min-max)	26 (21-45)
DM(%)	%17.6
HT(%)	%43.5
Sigara(%)	%64.7
HL(%)	%18.8
Primer PTCA(%)	%32.9
KABG(n)	20(%23)
LAD(n)	55
CX(n)	44
RCA(n)	33
LMCA(n)	2

5.1. Sistatin C düzeyleri ve Diğer Laboratuvar Değerleri

Çalışmaya alınan hastaların serum kreatinin seviyeleri, plazma sistatin C düzeyleri, CRP düzeyleri ve lipid profili özellikleri tablo-5'te özetlenmiştir.

Tablo-5 : Sistatin C düzeyleri ve Diğer Laboratuvar Değerleri

Laboratuvar değerleri	ortalama±SD	Min –max
Serum kreatinin mg/l	0,94±0,22	0,60-1,2
Sistatin C1(mg/l)	1.5±0.44	0.62-2.88
Sistatin C2(mg/l)	1.68±0.55	0.60-3.52
BK	12.4±3.9	5800-25000
CRP(mg/l)	15(medyan)	3-204
LDL(mg/dl)	119±43	
HDL(mg/dl)	43±10	
TG(mg/dl)	144±78	
Sedimentasyon hızı	14 (medyan)	2-104

5.2 Korelasyon Analizleri

Çalışmada ayrıca sistatin C 1düzeylerinin bazı laboratuvar ve klinik değişkenler ile korelasyonuna da bakıldı. Bu analizlerde plazma sistatin C düzeylerinin, serum kreatinin sedimentasyon hızı, yaş ve CRP ile orta düzeyde korelasyon gösterdikleri görüldü. BK ve serum lipid değerleri ile sistatin C arasındaysa herhangi bir korelasyon saptanmadı. Bu analizler topluca tablo-6'da gösterilmiştir.

Tablo- 6 : Sistatin C ile laboratuvar ve klinik değişkenlerin korelasyonu

Değişken	R değeri	P değeri
Yaş	0,44	<0,001
Serum kreatinin	0,37	<0,001
LDL	0,059	0,19
HDL	-0,14	0,22
TG	0,026	0,019
BK	0,023	0,034
CRP	0,26	<0,001
SEDİMENTASYON	0,39	<0,001

6. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı aterosklerotik plaklardaki düşüklüğü gösterilmiş olan ve bu düşüklüğünün yol açtığı katepsinlere bağlı artmış proteolitik etki sonucu, akut plak komplikasyonlarında rol oynaması muhtemel gözükten sistatin protez inhibitörü sistatin C'nin plazma düzeylerinin, akut koroner sendromlu(STEMI ve NSTEMI) hastalarda daha düşük olup olmadığını, hastane içi ve sonrasında kardiyak olay açısından değerlendirmektir. Bu çalışmanın sonucunda görüldü ki; başlangıç hipotezimizin aksine, arada istatistiksel anlamlılıkta bir fark olmasa da, çalışmamızın STEMI VE NSTEMI hastalarda hem sistatin C1 hemde sistatin C2 düzeyi yüksek çıktı. Sistatin C 2 düzeyleri ise sistatin C1'e göre anlamlı olarak yüksekti .(sırasıyla mean \pm SD1.5 \pm 0.44, 1.6 \pm 0.66 p<0.015)

Bizim bu bulgularımız Perk Erikson ve ark. (55) ile Davide Noto ve ark'nın (56) bulguları ile çelişmektedir. Perk Erikson ve ark. ları miyokardiyal infarktüs geçirmiş 267 hastada plazma sistatin C düzeylerinin, 229 sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak daha düşük olduğunu saptamışlardır (0.79 \pm 0.14 μ g/mg' ye karşı 0.84 \pm 0.11 μ g/mg, P<0.005

Bizim çalışmamızda kreatinin değerleri 1,3'ün altında ve ortalama sistatin C1 ve C2 değerleri sırasıyla mean \pm SD 1.5 \pm 0.44, 1.6 \pm 0.66 idi. Görüldüğü gibi her iki degerde bahsedilen çalışmadaki sistatin C değerlerinden yüksektir. Bu farklılık renal mekanizmalarda ya da, kullanılan kitin farklılığı ile veya analiz metodundaki farklılıklarla açıklanamaz.

Bu çalışmalarda sistatin C plazma düzeylerinin bazı gen polimorfizimlerinden etkilendiğini gösterilmiştir ve Türk toplumunda bu polimorfizimlerin görülme sıklığına dair bir veri elimizde mevcut değildir. Diğer bir olası neden de yaş faktörü olabilir. Bizim çalışmamızda sistatin C düzeyleri ile yaş arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü. Literatürde de belirtildiği gibi 50 yaş üzerinde sistatin C için referans değer aralıkları daha yüksektir.(70,71) Bahsi geçen çalışmaya 50 yaşın altındaki bireyler alınmıştır, Bizim çalışmamızda ise yaş ortalaması 58 \pm 13 civarındadır. Bunun yanında bahsi geçen çalışma ile bizim çalışmamız arasında metodoloji bakımından da bir takım farklılıklar vardır. Adı geçen çalışmada plazma sistatin C düzeylerine infarktüs geçirdikten üç ay sonra bakılmıştır. Kontrol grubunu ise aterosklerotik lezyonun olup olmadığı gösterilmemiş sağlıklı olan yaş ve cinsiyet uyumlu eşleştirilmiş kontrol grubu oluşturmaktadır.

Davide Noto ve ark.'ın(56) yaptıkları çalışmada ise; 61 AMİ, 61 kararsız angina hastasının plazma sistatin C düzeyleri, 61 kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve istatistiksel

olarak anlamlı olmasa da AMİ hastalarında sistatin C'nin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla sistatin C değerleri $0,85 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$, $0,97 \pm 0,27 \mu\text{g/mL}$ ve $0,90 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$). Bir önceki çalışmadan farklı olarak AMİ hastalarından kan örnekleri, bizim çalışmamızdaki gibi olayın ilk 12 saati içinde alınmıştır. Yine bizim çalışmamıza benzer olarak bu çalışmada da araştırmacılar kreatinin değeri 1,3'ün üzerinde olan hastaları analize dahil etmemişlerdir. AMİ geçirenlere bakıldığında bizim sistatin C değerlerimiz bahsi geçen çalışmadakilerden daha yüksektir. Bu çalışma ile bizim çalışmamızda alınan hasta grubu benzer olmasına rağmen, bizim AMİ'li hasta grubunda sistatin C düzeylerinin daha yüksek olmasının izahı tam olarak yapılamamıştır.

Ne var ki Sukhova GK, Shi GP ve ark.'nın insanların aterosklerotik damarları ile normal arter duvarından elde ettikleri spesimenlerde yaptıkları immünohistokimyasal çalışmalar aterosklerotik plaklarda normal arterlere göre katepsinlerin çok daha fazla, sistatin C'nin ise çok daha az bulunduğunu net bir şekilde ortaya koymuştur (49,50). Lezyon içerisinde sistatin C düzeyleri bu kadar belirgin düşük iken bizim çalışmamızda plazma sistatin C düzeylerinin yüksek olmasının nedeni açık değildir. Bunun bir açıklaması periferik kandan alınan örneklerinin tüm vucuda ait sistatin C düzeylerini yansıtması ve koroner dolaşımdaki düzeylerden etkilenmemesi olabilir. Sistatin C tüm çekirdekli hücrelerden sentezlenebilen ve sentezlendikten sonra dolaşıma kısa sürede salınan bir molekül olduğu için bu molekülün aterosklerotik lezyonlardaki düşük üretimi vücudun geri kalan hücreleri tarafından telafi ediliyor olabilir. Bu faktörü ortadan kaldırmak için direkt koroner sinüsten örnekleme yapılması daha uygun bir yöntem olabilir.

Aterosklerotik kalp-damar hastalıkları ile plazma sistatin C düzeyleri arasında bir ilişkinin saptanmadığı iki çalışma daha vardır. Bu çalışmaların birinde Michelle A Albert ve ark. sağlıklı denekten 60 aylık takipte periferik arter hastalığı (PAH) gelişen 133 hasta ve eşit sayıda kontrol grubunda bazal sistatin C kan düzeylerine bakmışlar ve PAH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında istatistiksel anlamlılıkta fark saptamamışlardır (57). Diğer çalışmada ise Luc G ve ark.(42) 10,600 sağlıklı gönüllü erkekten 5 yıllık izlemde ilk koroner olaylarını geçiren 313 hasta ile 616 kontrolünün bazal sistatin C düzeylerine bakmışlar ve koroner olay geçirenlerin bazal sistatin C seviyelerini kontrol grubuna göre daha yüksek saptamışlardır (58). Araştırmacılar bu farkın böbrek fonksiyonlarında ki bir farklılıktan kaynaklanmadığını göstermişler ve koroner olay geliştiren hastalarda yüksek sistatin C düzeyleri saptanmasına hipotez olarak arteriyel duvar dışındaki hücrelerden azalmış arteriyel ekspresyonu dengelemek için sistatin C'nin "over-eksprese" edildiğini ileri

sürmüşlerdir. Tabii ki bu hipotezleri kanıtlanmamış olarak durmaktadır (39). Ne var ki aterosklerotik hastalık gelişimi ile plazma sistatin C düzeyleri arasında bir ilişkinin saptanmadığı ve izlem süresi 5 yıl gibi uzun bir zaman olan bu iki çalışmada plazma sistatin C düzeylerine olay gelişiminden uzun bir zaman önce bakılmıştır ve hastalığın ortaya çıktığı zamanki sistatin C düzeyleri hakkında yorum yapmak güçtür. Bununla birlikte Luc G ve ark. çalışmalarında kan örneğinin alınması ile koroner olayın oluştuğu tarih arasındaki zaman aralığını dikkate alarak analizlerini tekrarladıklarında, kan örneğinin alınımından 3 ila 12 ay sonra koroner olay geçirenlerin plazma sistatin C düzeylerinin, bu tarihlerden sonra koroner olay geçirenler ile benzer olduğunu göstermişlerdir. Sonuç olarak bu iki çalışmayı yorumlarken akılda tutulması gereken bir nokta aterosklerotik hastalıkların daha henüz klinik bulgular ortaya çıkmadan önce uzun yıllar asemptomatik kalabildikleri ve izlemde klinik aterosklerotik hastalık geliştirenlerin kan örneğinin alındığı tarihte de aterosklerotik lezyonlara sahip olabilecekleridir. Bir diğeri de bu hastaların kontrol gruplarında henüz klinik bulgu vermemiş aterosklerozun olmadığını söylemenin güç olduğudur.

Öte yandan plazma sistatin C düzeyleri ile aortik anevrizma gelişimi arasındaki ilişki daha net bir şekilde ortaya konulmuştur. Sukhova GK, Shi GP ve ark.'nın aortik anevrizmalardan alınan doku örneklerinde abondan sistatin C eksikliğini göstermeleri (50) ve Lindholt J.S ve ark.'nın abdominal aort anevrizması olan olgularda anevrizma boyutu ve genişleme hızı ile sistatin C eksikliği arasındaki ilişkiyi göstermeleri (54) bu yöndeki güçlü kanıtlardır.

Aterosklerotik kalp hastalıkları ile plazma sistatin C düzeyleri arasında dikkatlerin çekildiği bir başka konu da sistatin C'nin akut koroner sendromlu hastalarda bir mortalite prediktörü olabileceği görüşüdür. Bu görüş, sistatin C'nin renal fonksiyonların hassas bir göstergesi olmasından kaynaklanmaktadır. Günümüzde hafif-orta derecedeki renal yetersizliğin bağımsız bir kardiyovasküler mortalite ve morbitide prediktörü olduğu görüşü ağırlık kazanmıştır (63- 65). Serum kreatinin değerlerinin yaş, cinsiyet, kas kitlesi, fiziksel aktivite ve diyet gibi bir takım faktörlerden etkilenmesi ve glomerül filtrasyon hızı ile kreatinin konsantrasyonu arasındaki ilişkinin doğrusal olmaması nedeniyle, renal fonksiyonları göstermede dış faktörlerden etkilenmeyen ve GFR'deki küçük değişikliklere daha duyarlı endojen bir molekül aranmıştır. Sistatin C bu yönde en çok araştırılmış ve oldukça umut vaat eden bir molekül olmuştur (48). Bu yöndeki

bulgulara dayanarak Tomas Jernberg ve ark. 726 ST yükselmesiz akut koroner sendrom olgusunun bazal sistatin C düzeylerinin mortalite ve miyokardial infarktüs gelişimi üzerine etkisini incelemişlerdir (66). Araştırmacılar hastaları bazal sistatin C değerlerine göre dört gruba ayırmışlardır. Bazal sistatin C düzeyleri en yüksek olan grubun (1,25 mg/L), en düşük olan gruba göre (<0,83 mg/L) mortalite riskinin 11,7 kat (%95 CI, 4,7- 29,3) daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bazal sistatin C düzeyleri en yüksek olan gruptaki hastaların tahmini GFR'ı 58ml/dk'nın altında saptanmış ve diğer gruplara göre daha çok risk faktörüne sahip daha yaşlı hastalardan oluştuğu görülmüştür. Bu çalışmada sistatin C düzeyleri ile ileride AMİ görülmesi arasında bir ilişki saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonuçlarının sistatin C'nin ateroskleroz ile olan ilişkisi üzerinden mortaliteyi artırdığı şeklinde değil de, renal fonksiyonlar ile olan ilişkisi nedeniyle böbrek fonksiyonları bozuk olan koroner olaylar açısından yüksek riskli hastaları saptaması şeklinde yorumlamak daha doğru olacaktır. Bizim çalışmamızda da hastane içi ve sonrasındaki takiplerimizde gelişen ölüm ve diğer komplikasyonların geliştiği hastalarda sistatin C1 ve C2 düzeyleri yüksekti. Sistatin C2 düzeyinin anlamlı olarak yüksek olmasının bir açıklamasıda hastalardan alınan kan düzeyi koroner anjiyografi yapıldıktan sonra alınmasıdır. Anjiyografida verilen kontrast maddeye bağlı renal fonksiyonlarının etkilendiği günümüzde bilinmektedir. Bu da sistatin C2 düzeyini yüksekliğini açıklayabilir.

Amerika Birleşik Devletleri'nden 4 ayrı bölgeden toplanan topluma dayalı bir kohortta ("Cardiovascular Health Study"); araştırmacılar başlangıçta kronik böbrek hastalığı olmayan (tahmini glomerul filtrasyon hızı > 60 ml/dk olan) 4663 yaşlı birey üzerinde, sistatin C seviyelerinin ileride ölüm, kardiyovasküler hastalık ve kalıcı kronik böbrek hastalığı gelişmesini öngörmeye prognostik bir biyobelirteç olup olmadığını incelemişlerdir (67). Bu araştırmacılar, sistatin C düzeyinin 1 mg/L'nin üzerinde olmasının, bu değer altında olmasına göre 4 yıllık takip sonunda kronik böbrek hastalığına ilerlemede 4 kat risk artışına sebep olduğunu ve bazal sistatin C düzeylerinin ileride ölüm dahil istenmeyen kardiyovasküler olayları göstermede anlamlı bir biyobelirteç olduğunu saptamışlardır. Bu bulgular sistatin C düzeylerinin bariz böbrek hastalığının klinik ve laboratuvar bulguları daha henüz ortaya çıkmadan böbrek fonksiyonlarındaki hafif azalmayı gösterebileceği ve ileride kronik böbrek hastalığının oluşması ile ivmelenen istenmeyen kardiyovasküler olayları öngördürebileceği yönündeki görüşlerin artmasına yol açmıştır (68).

Çalışmamızda ayrıca sistatin C ile bazı laboratuvar ve klinik değişkenlerin korelasyonuna da bakıldı. Literatürle uyumlu olarak sistatin C, serum kreatinin, sedimentasyon hızı, yaş ve CRP ile orta düzeyde korelasyon gösterdikleri görüldü. Serum sistatin C düzeyleri üzerine, renal fonksiyon dışında etki eden faktörlerin araştırıldığı Knight E.L ve ark tarafından Hollanda'nın Groningen kentinden populasyona dayalı örnekleme yöntemi ile seçilen 8,592 olguluk bir çalışmada yaşın, erkek cinsiyetin, kilonun, boyun, aktif sigara içiminin ve yüksek serum CRP değerlerinin daha yüksek sistatin C değerleri ile bağımsız olarak ilişkili oldukları gösterilmiştir (69). Araştırmacılar serum sistatin C ile CRP arasındaki ilişkinin diğer faktörlere göre (obezite ve sigara içimi gibi) ayarlama yapıldıktan sonra da devam ettiğini görmüşler ve sistatin C'nin ayrıca bir inflamasyon belirteci de olabileceği görüşünü ortaya atmışlardır. Her ne kadar bahsi geçen çalışma kadar büyük ölçekli bir çalışma olmasa da, biz çalışmamızda sistatin C ile CRP arasında bir korelasyon saptadık. CRP ile sistatin C arasında korelasyonun saptandığı bir diğer çalışmada, Johnston N ve ark. görünürde sağlıklı olan 408 yaşlı (medyan yaşı 65) birey üzerinde sistatin C ile ilişkili faktörleri araştırmışlar ve sistatin C'nin yaş, BK ve CRP ile bağımsız olarak pozitif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır (70). CRP dışında, bahsi geçen araştırmacıların bulguları ile uyumsuz olarak, biz BK ile sistatin C arasında da bir korelasyon saptamadık. Plazma sistatin C düzeyleri ile koroner arter hastalığı ilişkisinin araştırıldığı bazı çalışmalarda, serum HDL değerlerinin sistatin C ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (56,58). Çalışmamızda serum lipid değerleri ile sistatin C arasında böyle bir korelasyon saptamadık.

Komplikasyon gelişen hastaların azlığı nedeniyle subgrup analizi yapılamamıştır.

Doku düzeyindeki çalışmalar aterosklerotik plaklarda katepsinlerin ve onların inhibitörü sistatin C arasında artmış proteoliz lehine bozulmuş bir denge olduğu ve bu bozulmuş denge aterosklerotik sürecin başlamasında ve komplikasyonların oluşumunda rol oynadıklarını düşündürmektedir. Artmış katepsin seviyesine bağlı reaktif olarak sistatin C yapımının artmış olabileceği bunun ise plazma sistatin C düzeylerinin yüksekliğini açıklayabilecek bir mekanizma olduğu düşünülebilir.

7. SONUÇ

Bizim çalışmamızda hastaların sistatin C1 ve C2 düzeyi ortalaması yüksek saptandı . Benzer komplikasyon gelişen hastalarında sistatin C düzeyleri yüksek bulundu. Sistatin C düzeyinin yüksek olması akut faz reaktan olabileceğini düşündürmektedir. Ne var ki lokal düzeyde gerçekleşen bu olaylar sistemik dolaşıma yansımıyor olabilir. Artmış katepsin seviyesine bağlı reaktif olarak sistatin C yapımının artmış olabileceği bunun ise plazma sistatin C düzeylerinin yüksekliğini açıklayabilecek bir mekanizma olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı hasta sayısının az olması ve kontrol grubu ile karşılaştıramamasıdır.

8.KAYNAKLAR

- 1-World Health Report 1999:Making a Difference. Geneva, World Health Organization,1999.
- 2-Murray cJL, lopez AD: The global Borden of Disease. Cambridge, MA, Harvard school of Public Health, 1996
- 3- Onat A. Eriřkinlerimizde kalp hastalıkları prevalansı, yeni koroner olaylar ve kalpten ölüm sıklığı. Onat A. İstanbul: TEKHARF Ohan matbaacılık; 2000.p.16-23
- 4-Türk halkında kalp kökenli ölümler. Türkiye kalp raporu. Yenilik Basımevi; 2000p.11- 5
- 5-Hackett D, Davies G, maseri A. Pre-existing coronary stenoses in patients with first myocardial infarction are not necessaerly severe. Eur Heart J. 1988;9: 1317-1323
- 6-Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, Hjemdahl-Monsen CE, Leavy J, Weiss M, Borrico S, Gorlin R, Fuster V. Anjiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. J Am Coll Cardiol. 1988;12:56- 62.
- 7-Nobuyoshi M, Tanaka M, Nosaka H, Kimura T, Yokoi H, Hamasaki N, Kim K, Shindo T, Kimura K. Progression of coronary atherosclerosis: is coronary spasm related to progrestion? J Am Coll Cardiol. 1991;18: 904-910.
- 8-Giroud D, Li JMM, Urban P, Meier B, Rutishauer W. Relation of the site of acute myocardial infarction to the most severe coronary arterial stenosis at prior angiography. Am J Cardiol. 1992;69: 729-732.
- 9-Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. Nature 1993;362: 314-488.
- 10-Klinik Kardiyoloji. Editör Prof.Dr. Çetin Erol. 2004 MN Medikal & Nobel.
- 11-Rivard A, Andres V. Vascular smooth cell proliferation in the pathogenesis of atherosclerotic cardiovasculer disease. Histol Histopatol 2000;15:557-71
- 12-Libby P, Warner SJ, Saloman RN, Brinyi LK. Production of platelet-derived growth factor like mitogen by smooth muscle cells from human atheroma. NEJM 1988;318:1493-8
- 13-Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, Katz DR, Mann J. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: Role of extracellular lipid, macrophage end smooth muscle cell content. BHJ 1993;69:377-381.
- 14-Lo Sordo DW, RoSenfield K, Kaufman J, et al.fokal compensatory enlargement of human arterie in response to progressive atherosclerosis. Circulation 1994; 89:2570-77
- 15-Raines EW, Ross R. Smooth muscle cells and pathogenesis of the lesions of atherosclorosis. BHJ 1993;69:30-37.
- 16-Krinstensen SD, Ravn HB, Falk E. Insights into the pathophysiology of unstable coronary artery disease . Am J Cardiol 1997;80:5E-9E

- 17-Lendon CL, Davies MJ, Born GVR, et al. Atherosclerotic plaque caps are locally weakened then macrophage density increased. *Atherosclerosis* 1991;87:87-90
- 18-Davies MJ. Acute coronary thrombosis- the role of plaque disruption and its initiation and prevention. *Eur Heart J* 1995;16(Suppl):3-7
- 19-Little WC, et al. Can coronary angiography predict the site of subsequent myocardial infarction in patients with mild to moderate coronary artery disease. *Circulation* 1988;12:56-62.
- 20-Stary HC, Chandler AB et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of Council on Atherosclerosis, American Heart Association, *Circulation* 1995;95:1355-74
- 21-Stary HC. Atlas of Atherosclerosis progression and regression. Second ed. New York: the Parheonon Publishing Group;2003.p.13-5.
- 22-Libby P, Lee RT. Matrix matters. *Circulation*. 2000;102:1874-1876.
- 23-Parks WC. Who are the proteolytic culprits in vascular disease. *J Clin Invest*. 1999;104:1167-1168.
- 24-Weber AJ, De Bandt M. Angiogenesis: general mechanisms and implications for rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2000;67:366-383.
- 25-Ohtani H. Stromal reaction in cancer tissue: pathophysiologic significance of the expression of matrix-degrading enzymes in relation to matrix turnover and immune/inflammatory reactions. *Pathol Int*. 1998;48:1-9.
- 26-Halloran BG. Pathogenesis of aneurysms. *Semin Vasc Surg*. 1995;8:85-92.
- 27-MacSweeney STR. Pathogenesis of abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg* 1994;81:935-941.
- 28-Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*.1995;91:2844- 2850.
- 29-Libby P. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med*. 2000;247:349-358.
- 30-Galis ZS, et al. Cytokine-stimulated human vascular smooth muscle cells synthesize a complement of enzymes required for extracellular matrix digestion. *Circ Res*. 1994;75:181-189.
- 31-Newby AC, et al. Extracellular matrix degrading metalloproteinases in the pathogenesis of atherosclerosis. *Basic Res Cardiol Suppl*. 1994;89: 59-70.
- 32-Galis ZS, et al. increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*. 1994;94: 2493-2530.
- 33-Halpert I, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture

- in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93: 9748-9753.
- 34-Ye S, et al. Preliminary report: genetic variation in the human stromelysin promoter is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Br Heart J.* 1995;73: 209-215.
- 35-Steins MB, et al. Overexpression of tissue-type plasminogen activator in atherosclerotic human coronary arteries. *Atherosclerosis.*1999;145: 173-180.
- 36-Kienast J, et al. Relation of urokinase-type plasminogen activator expression to presence and severity of atherosclerotic lesions in human coronary arteries. *Thromb Haemost.* 1998;79: 579-586.
- 37-Carmeliet P, et al. Urokinase-generated plasmin activated matrix metalloproteinases during aneurism formation . *Nat Genet.* 1997;17:439-444.
- 38-Falkenberg M, et al. Increased expression of urokinase during atherosclerotic lesion development causes arterial constriction and lumen loss, and accelerates lesion growth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99: 10665-10670.
- 39-Xiao Q, et at. Plasmonogen deficiency accelerates vessel wall disease in mice predisposed to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:10335-10340.
- 40-Dollery CM, et al. Neutrophil elastase in human atherosclerotic plaques: Production by macrophages. *Circulation.* 2003;107: 2829-2836.
- 41-Punturieri A, Filippov S, Allen E, Caras I, Murray R, Reddy V, Weiss SJ. Regulation of elastolytic cysteine proteinase activity in normal and cathepsin K deficient human macrophages. *J Exp Med.* 2000;192: 789-799.
- 42-Jian Liu, Galina K. Sukhova, Jiu-Song Sun. Lysosomal Cysteine Proteases in Atherosclerosis *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24: 1359-1366
- 43-Sukhova GK, et al. Deficiency of cathepsin S reduces atherosclerosis in LDL receptor deficient mice. *J Clin Invest.* 2003;111: 897-90
- 44-Abrahamson M. human cysteine proteinase inhibitors. Isolation, physiological importance, inhibitory mechanism, gene structure and relation to hereditary cerebral hemorrhage. *Scand J Clin Lab Invest.*1988;48: 21-31
- 45-Rawlings ND, Barret AJ. Evolution of proteins of the cystatin superfamily. *J Mol Evol* 1990; 30: 60 -71
- 46-David J Newman. Cystatin C. *Annals of Clinical Biochemistry;* Mar 2002;39:89-104
- 47-Guido Filler, et al. Cystatin C as a marker of GFR; history, indications, and future research. *clinical Biochemistry;*38 (2005): 1-8

- 48-Dharnidharka VR, et al. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2002 Aug;40(2): 221-6
- 49-Sukhova GK, Shi GP, et al. Expression of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1998;102:576-583.
- 50-Shi GP, et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms. *J Clin Invest.* 1999;104:1191-1197.
- 51-Jormsjo S, Wuttge DM, Sirsjo A, Whatling C, Hamsten A, Stemme S, Eriksson P. Differential expression of cysteine and aspartic proteases during progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Pathol.* 2002;161:939-945.
- 52-Fabunmi RP, Sukhova GK, Sugiyama S, Libby P. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 in human atheroma and regulation in lesion-associated cells: a potential protective mechanism in plaque stability. *Circ Res.* 1998;83:270-278.
- 53- Fabunmi RP, Baker HH, Murray EJ, Booth RF, Newby AC. Divergent regulation by growth factors and cytokines of 95 kDa and 72 kDa gelatinases and tissue inhibitors or metalloproteinases-1, -2, and -3 in rabbit aortic smooth muscle cells. *Biochem J.* 1996;315:335-342.
- 54-J.S.Lindholt, et al. Cystatin C deficiency is associated with the progression of small abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg* 2001;88(11):1472-5
- 55-Per Eriksson, et al. Human Evidence That the Cystatin C Gene Is Implicated in Focal Progression of Coronary Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:551- 557
- 56-Davide Noto, et al. Cystatin C levels are decreased in acute myocardial infarction Effect of cystatin C G73A gene polymorphism on plasma level. *Int J Cardiol.* 2005 May 25;101(2):213-7.
- 57-Albert MA, et al. Plasma levels of cystatin-C and mannose binding protein are not associated with risk of developing systemic atherosclerosis. *Vasc Med* 2001;6:145-9.
- 58-Luc G, Bard JM, et al. Plasma cystatin C development coronary heart disease: The PRIME Study. *Atherosclerosis* 2005 Jul 23 [Epub ahead of print]16046222
- 59-Jian Liu, Gio-Ping Shi. Increased serum cathepsin S in patients with atherosclerosis and diabetes. *Atherosclerosis.* 2006 Jun;186(2):411-9
- 60-Hazel Finney, et al. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clinical Chemistry* 1997;43(6):1016-1022
- 61-Tetsuo Hayashi, et al. The serum cystatin C concentration measured by particle-enhanced immunonephelometry is well correlated with inulin clearance in patients with various types

- glomerulonephritic. *Nephron* 1999;82:90-92
- 62-Frans J. Hoek, et al A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18: 2024-2031.
- 63-Al Suwaidi J, Reddan DN, Williams K, et al. Prognostic implications of abnormalities in renal function in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2002;106:974 -980.
- 64-Santopinto JJ, Fox KA, Goldberg RJ, et al. Creatinine clearance and adverse hospital outcomes in patients with acute coronary syndromes: findings from the Global registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Heart*. 2003;89: 1003- 1008.
- 65-Colin Baigent, Kate Burbury, David Wheeler. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet* 2000; 356:147- 52
- 66-Jernberg T, Lindahl B, et al. Statin C a Novel Predictor of Outcome in Suspected or Confirmed Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndrome. *Circulation*. 2004;110:2342- 2348.)
- 67-Shlipak MG, Katz MJ, Sarnak MJ, Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 2006 Aug 15;145(4):237- 46.
- 68-Bokenkamp A, Herget-Rosenthal S, Bokenkamp A. Cystatin C, kidney function and cardiovascular disease. *Pediatr Nephrol*. 2006 Sep;21(9):1223- 30.
- 69-Eric L. Knight, Jacobien C, et.al. Factors influencing serum statinC levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney International*, Vol. 65 (2004), pp.1416- 21
- 70-Nina Johnston, Tomas Jernberg, et al. Biochemical indicators of cardiac and renal function in a healthy elderly population. *clinical Biochemistry* 37 (2004) 210- 216
- 71-Mares J, Stejskal D, Vavrovskova J, et al. Use of cystatin C determination in clinical diagnostics. *Biomed Pub Fac Med Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2003 Dec;147(2):177-80