

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**PERİFERİK ARTER HASTALIKLARINDA ENDOTEL
DİSFONKSİYONUNUN VE KLİNİK ÖNEMİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Muzaffer AKKOCA

**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Uğur BENGİSUN**

**ANKARA
2009**

TUTANAK

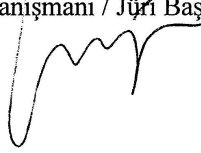
İlgi: 11.05.2009 tarih ve 10819 sayılı yazınız.

Dr. Muzaffer Akkoca'nın tez değerlendirme jürisi 14.05.2009 Perşembe günü Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda toplandı. Adayın tezi incelendi ve sözlü savunması alındı.

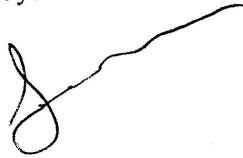
Sonuç olarak Dr. Muzaffer Akkoca'nın "Periferik Arter Hastalıklarında Endotel Dis Fonksiyonunun ve Klinik Öneminin Araştırılması" isimli çalışması uzmanlık tezi olarak başarılı bulunmuştur.

Gereğini bilgilerinize arz ederiz.
Saygılarımızla,

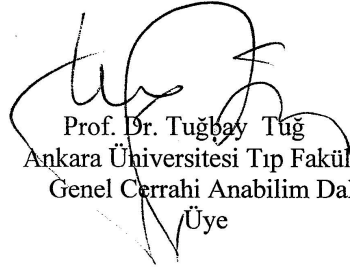
Prof. Dr. Uğur Bengisun
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Tez Danışmanı / Jüri Başkanı



Prof. Dr. Salim Demirci
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Üye



Prof. Dr. Tuğbay Tuğ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Üye



ÖNSÖZ

Asistanlık dönemimin sonuna geldiğim bu günlerde zor ve yorucu ama bir o kadar da keyifli ve yararlı bir ihtisas dönemi geçirmenin mutluluk ve onurunu yaşıyorum. Beş senelik yoğun bir çalışma döneminden sonra çocukluğumdan beri hedefim olan hekimlik mesleği ve sonrasında da idealim olan Ankara Üniversitesi Genel Cerrahi Kliniği gibi köklü bir kurumdan yetişmiş olmak beni ayrıca gururlandırıyor.

Tez konumun seçilmesinden yazımına kadar geçen süreçte benden hiçbir yardımı esirgemeyen, bilimsel çalışma ahlakı ve prensiplerini öğreten, bir akademisyen olarak her zaman örnek aldığım tüm değerli hocalarıma, damar laboratuvar çalışanlarına ve diğer yardımı olan çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca ihtisas hayatım öncesinde ve ihtisas hayatım boyunca her türlü sıkıntımı paylaşan ve her konuda dayanağım olan ailem ve eşime de sonsuz şükranlarımı sunar ve tezimin sonuçlarıyla bilim dünyasına katkıda bulunmasını temenni ederim.

Dr. Muzaffer AKKOCA
Ankara / 2009

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Kısaltmalar Dizini	v
Tablolar Dizini	vi
Şekiller Dizini	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Endotel ve Fonksiyonları	2
2.1.1. Vazomotor Regülasyon	3
2.1.2. Dolaşan Hücre Fonksiyonlarının Düzenlenmesi	6
2.1.3. Prokoagulan, Antikoagulan ve Fibrinolitik Özellikler	8
2.2. Endotel Disfonksiyonu	9
2.2.1. Endotel Disfonksiyonunda Risk Faktörleri	10
2.2.2. Endotel Disfonksiyonunda Risk Faktörlerinin Eliminasyonu	13
2.2.3. Endotel Disfonksiyonunun Belirlenmesi	14
2.3. Periferik Arter Hastalıklarında Endotel Disfonksiyonu	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Kontrol ve Hasta Grupları	22
3.2. Veri Toplama ve Değerlendirme Yöntemleri	23
3.3. Endotel Fonksiyonunun Değerlendirilmesi	23
3.4. Takip	25

3.5. İstatistiksel Analiz	26
4. BULGULAR	27
4.1. Demografik ve Klinik Özellikler	27
4.2. Grupların Endotelyal Fonksiyonlar Açısından Karşılaştırılması	29
4.3. Kronik İskemi Evresi Yönünden Karşılaştırma	30
4.4. Kötü Olaylar Yönünden Karşılaştırma	33
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇ	39
ÖZET	40
SUMMARY	41
KAYNAKLAR	42

KISALTMALAR DİZİNİ

NO	: Nitrik Oksit
ABI	: Ayak bileği kol basınç indeksi
K ⁺	: Potasyum
Ca ⁺⁺	: Kalsiyum
ET	: Endotelin
c-AMP	: Siklik adenozin monofosfat
ASO	: Aterosklerozis Obliterans
TAO	: Tromboanjitis Obliterans
LDI	: Lazer dopler iyontoforez
FMD	: Akım aracılıklı dilatasyon
GTP	: Guanozin 5-trifosfat
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
BH ₄	: Tetrahidrobiopterin
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
FMN	: Flavin mononükleotid
e-NOS	: Endotelyal nitrik oksit sentetaz
PAF	: Platelet aktive edici faktör
ach	: Asetilkolin
LDL	: Düşük molekül ağırlıklı lipoprotein
EDHF	: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
DM	: Diyabetes mellitus
ACE-I	: Anjiotensin konverting enzim inhibitörü
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
tPA	: Doku plazminojen aktivatörü
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör-1
ICAM	: İntraselüler adezyon molekülü
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü
PECAM	: Platelet endotelyal hücre adezyon molekülü
vWf	: von Willebrand faktörü
ADMA	: Asimetrik dimetil arjinin
PGI ₂	: Prostatiklin
ET-1	: Endotelin 1
Ang-2	: Anjiotensin 2
TXA ₂	: Tromboxan A ₂
Snp	: Nitroprussid

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo-2.1. Normal endotel fonksiyonları ve aracı mediatörler	2
Tablo 2.2. Endotel disfonksiyonunun iyileştirilmesi için kullanılan bazı tedavi şekilleri	14
Tablo 2.3. Endotel disfonksiyonunun serum belirteçleri	19
Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikleri ve risk faktörlerine ait veriler	27
Tablo 4.2. Hastaların çalışma anındaki klinik özellikleri	28
Tablo 4.3. Aterosklerotik periferik arter hastalığı olan hastalarda iskemi kategorisi ile endotel bağımlı gevşeme cevabı arasındaki ilişki.	32
Tablo 4.4. Aterosklerotik periferik arter hastalığı olan hastalarda iskemi kategorisi ile nitroprusside bağı endotel bağımsız gevşeme cevabı arasındaki ilişki	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. NO sentez ve fonksiyonu	4
Şekil 2.2. DM ve endotel disfonksiyonu arasındaki ilişki.....	10
Şekil 2.3. FMD'nin uygulanışı	16
Şekil 3.1. Lazer doppler iyontoforez yapılan bir hastanın görünümü	24
Şekil 3.2. Bilgisayar ortamına aktarılmış lazer doppler görünümü	25
Şekil 4.1. Etyoloji temelinde ach'e bağlı vazodilatasyon cevabı	29
Şekil 4.2. Etyoloji temelinde nitroprusside bağlı vazodilatasyon.....	30
Şekil 4.3. Kronik iskemi kategorilerinde Ach'e vazodilatasyon cevabı	31
Şekil 4.4. Kronik iskemi kategorilerinde nitroprusside vazodilatasyon cevabı	31
Şekil 4.5. Amputasyonda ach cevabı.....	34
Şekil 4.6. Kötü prognoz durumlarında ach cevabı	34

1. GİRİŞ

Endotelial disfonksiyon genel anlamda vasküler sistemde vazodilatasyon ile vazokonstriksiyon arasındaki dengenin vazokonstriksiyon lehine bozulmasıdır¹. Endotel fonksiyon bozukluğu kardiyovasküler hastalıklarda yapısal değişikliklerin oluşmasına ve klinik belirtilerin ortaya çıkmasına öncülük eden çok önemli kritik bir role sahiptir. Bu nedenle özellikle son yıllarda araştırmalar endotel fonksiyon bozukluğunun erkenden belirlenmesine odaklanmıştır.

Genel olarak endotel fonksiyon bozukluğu kardiyovasküler hastalıkların erken evrelerinden itibaren oluşur ve endotel fonksiyonunun değerlendirilmesi bu hastalıklar için risk bulduran bireylerin araştırılmasında çok önemli bir yöntemdir².

Tüm bu bilgiler ışığında etyoloji ve klinik evre açısından farklı periferik arter hastalarının o an buldukları klinik evre ile endotel fonksiyonu arasında bir ilişki mevcut olabileceği düşünüldü. Ayrıca periferik arter hastalarında sistemik ve lokal risk tahmini açısından endotel fonksiyonunun araştırılmasının çok değerli bir yöntem olabileceği bizi bu çalışmayı yapmaya iten diğer bir nedendi.

Çalışmamızda bu hipotezlerden yola çıkılarak periferik arter hastalıklarında etyoloji ve semptomlar ile endotel fonksiyonları arasındaki ilişkinin ve endotelial fonksiyon değerlendirilmesinin prognostik öneminin açıklığa kavuşturulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endotel ve Fonksiyonları:

Tanımlandığı dönemlerde, kan damarlarının içini döşeyip su ve diğer moleküllerin değişimini sağlayan basit bir katman olarak bilinen endotel tek katlı yassı epitelle döşeli yaklaşık 1 kilogram ağırlığındadır. Ayrıca endotel dokusu 1-7 metrekare yüzey alanına sahip olup³, kan ve dokular arasında düzenleyici, sentez fonksiyonu olan ve vücut homeostazisinin sağlanmasında aktif rol oynayan bir dokudur.

Endotel dokusu salgıladığı mediatörler sayesinde damarların vazomotor düzenlemesini, lökositlerin adezyonunun ve inflamasyonun kontrolünü ve trombozisle fibrinolizis arasındaki dengeyi sağlar⁴ (tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Normal endotel fonksiyonları ve aracı mediatörler.

ENDOTEL FONKSİYONU	ARACI MEDIATÖRLER
Vazomotor Düzenleme	NO,EKHF,PGI ₂ ,ET-1,Ang-2,TXA ₂
Koagulasyon	Trombomodulin,PGI ₂ ,TXA ₂ ,vWf,tPA
İnflamasyon	ICAM,VCAM,E ve P Selektin
Fibrinolizis	tPA,PAI-1
Anjiogenezis	VEGF,PDGF,TGF- β
Eritrosit Yapışması	İntegrinler
Geçirgenlik	İleri glikozillenme ürünleri için reseptör

2.1.1. Vazomotor Düzenleme:

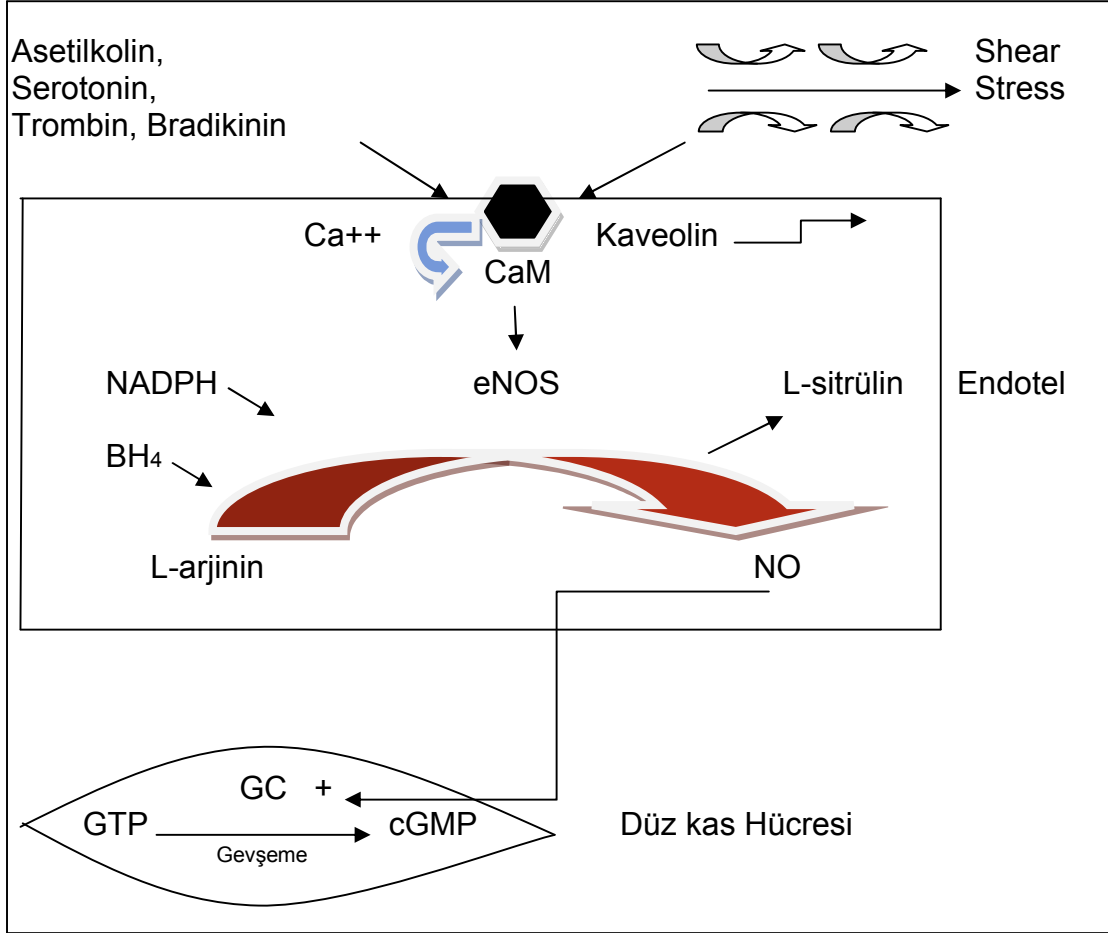
Fonksiyonel bir endotel dokusu çeşitli durumlarda vasküler yatakta direnç değişikliği meydana getirerek dokulara giden kan akımını d zenler^{5,6}. Bu durum birçok kompleks fonksiyonlarının yanısıra NO (Nitrik oksit) ve PGI₂ (Prostasiklin) gibi vazodilatatör ajanlarla ET (Endotelin) ve PAF (Platelet aktive edici faktör) gibi vazokonstriktör mediatörlerin salgılanıp damar düz kasının kasılma ve gevşemesi arasındaki dengenin düzenlenmesiyle sağlanır.

Bu denge bütünlüğü sağlam ve fonksiyonel bir endotel dokusunun mevcudiyetinde söz konusu olup tersi durumda damar düz kasında bulunan reseptörler sayesinde vazokonstriksiyon lehine bozulacaktır⁷. Vazomotor regülasyonda endotelden salınan ve vasküler düz kas genişlemesinde en fazla rolü olan mediatör NO'dur.

NO: Daha  nce EDRF (endotel kaynaklı gevşetici faktör) olarak da bilinen NO; ilk kez Furchgott ve Zawadski tarafından 1980 yılında sağlam endotel varlığında ach'e (asetilkolin) yanıt olarak tavşan aortunun genişlediğinin gösterilmesi ile ortaya konulmuřtur⁸. Daha sonra 1987 yılında Palmer ve arkadaşları bu endotel kaynaklı gevşetici faktörü NO olarak adlandırmıřlardır⁹.

NO, depolanmayan ve yüksüz olduğu için etki bölgesine serbestçe difüze olan kovalent bağla bağlı 2 atomlu bir gazdır. Yarılanma süresi sadece 20-30 saniyedir. NO, kosubstrat olarak NADPH'ı (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) ve koenzim olarak da BH₄ (Tetrahidrobiopterin), FAD (Flavinadenin dinükleotid), FMN (Flavin mononükleotid), indirgenmiş tiyol grubu ve Hem grubunu kullanarak e-NOS (Endotelyal nitrik oksit sentetaz) enzim aktivitesi ile L-Arjinin'den sentezlenir. Tepkime sonunda oluşan moleküller NO ve L-Sitrülin'dir. Vazodilatatör agonist veya "Shear stress" 'e (kan akımının yarattığı mekanik kuvvet) yanıt olarak artan intrasellüler kalsiyum kaveolini kalmodulinden ayırarak e-NOS'un uyarılmasına yol açar.

Kaveolin, kalmoduline (CaM) bağlanarak e-NOS aktivitesini inhibe eden bir proteindir (şekil 2.1.).



Şekil 2.1. NO sentez ve fonksiyonu

NO, endotelden sentezlendikten sonra vasküler düz kas tabakasına difüze olur. Burada guanilat siklazın hem içeriğine bağlanarak bu enzimi aktif hale getirir. Aktif hale gelmiş guanilat siklaz, guanozin 5-trifosfattan (GTP) siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşmasını katalizler. cGMP hücre içi kalsiyum miktarını düşürerek vasküler düz kasın gevşemesine (vazodilatasyona) neden olur.

NO, endotel bağımlı vazodilatasyonun ana mediatörü olup, trombosit adezyon ve agregasyonunu, lökosit adezyonunu, infiltrasyonunu ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu engeller. Ayrıca LDL'nin (düşük

molekül ağırlıklı lipoprotein) oksidasyonunu önleyerek ateroskleroz gelişiminin önlenmesine katkıda bulunur¹⁰. Tüm bu fonksiyonların yanında, NO üretimi veya aktivitesindeki bozukluğun endotel disfonksiyonunun ana mekanizması olduğu ve bu sürecin de aterosklerozu tetiklediği düşünülmektedir¹¹.

Endotel Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF): Meydana geldiği yapısal bileşikler henüz tam olarak aydınlığa kavuşturulamamış olan EDHF'nin çeşitli damar duvarlarında farklı etkilere sahip olması nedeniyle birden fazla yapısal molekülden oluştuğu düşünülmektedir¹². Bu moleküller arasında en çok söz edilen 11,12-epoksieikozatenoik asittir¹³. Ayrıca H₂O₂'nin endoteli soyulmuş dokuda hiperpolarizasyonla vazodilatasyon yaptığı¹⁴ ve anandamit molekülüyle potasyum iyonunun EDHF etkilerinin gösterilmesiyle bu durum daha da geçerlilik kazanmıştır.

EDHF'nin vazodilatasyon fonksiyonu, düz kaslardaki K⁺ kanallarının açılmasıyla hücrenin hiperpolarize olması ve bunun sonucunda da voltaj bağımlı Ca⁺⁺ kanallarının kapanması ile hücre içine Ca⁺⁺ akışının durması sonucu meydana gelmektedir. EDHF'nin küçük damarlar üzerine olan etkisi NO'nun tersine büyük damarlar üzerine olan etkisinden daha belirgindir¹⁵.

Prostasiklin (PGI₂): Endotel hücreleri birçok çeşit prostoglandin molekülü üretebilir. Hangi prostoglandin molekülünün üretileceği endotelin bulunduğu dokuya bağlı olup Prostasiklin (PGI₂) ve tromboksan A₂ (TXA₂) endotelin ürettiği başlıca prostaglandinlerdir. İskelet kaslarındaki kan akımı ve metabolik fonksiyonlarda daha aktif rol oynayan PGI₂ hedef hücre yüzeyindeki spesifik reseptörüne bağlanarak c-AMP (siklik adenosin monofosfat) düzeylerini artırır ve böylece vazodilatasyona yol açar¹⁶. Ek olarak PGI₂ trombosit agregasyonunun potent bir inhibitörüdür. TXA₂ tam tersi olarak vazokonstriktör ve trombosit agregasyonunu kolaylaştırıcı etkiye sahiptir. Normal fizyolojik koşullarda prostasiklinin etkisi hakimdir. Bu fizyolojik durum bozulduğunda vazokonstriktör prostanoidler daha ön plana geçmektedir.

Adenozin: Adenin nükleozit (adenozin) ve nükleotidler (ATP ve ADP) akım artışı veya trombüs gibi uyarılarla endotelial dokudan salgılanırlar. Adenozinin düz kaslardaki P1 reseptörlerine bağlanması c-AMP üretimiyle sonuçlanır ve vazodilatasyon oluşur. Adenozinin hem endotel hücresinde hem de düz kas hücresinde P2 reseptörü vardır. Endoteldeki P2 reseptörünün uyarılması prostasiklin üretimi ve vazodilatasyon, düz kastaki P2 reseptörün uyarılması ise vazokonstriksiyon ile sonuçlanır¹¹.

Endotelin (ET): Endotelinler (ET) parakrin aktiviteleri ve potent vazokonstriktör özellikleri olan bir grup moleküldür. Şimdiye kadar ET-1, ET-2, ET-3 ve ET-4 tariflenmiştir. ET-1 bilinen en kuvvetli vazokonstriktördür¹⁷ ve bu grubun en önemli izoformudur. ET-1 başlıca endotel olmak üzere lökosit, makrofaj, düz kas hücreleri tarafından üretilmekte olup¹⁸, ayrıca santral sinir sisteminde nöronlar ve astrositlerden, endometriyal hücrelerden, hepatositlerden, böbrek mezangiyal hücrelerinden, sertoli hücrelerinden ve meme epitel hücrelerinden sentezlenir¹⁹.

Endotelinin öncelikli etkisi vazokonstriksiyondur. Normal fizyolojide kardiyovasküler homeostaz (bazal koroner arter tonusunun sağlanması ve koroner kollateral kan akımının regülasyonu), tuz ve su dengesi ve pulmoner gelişimi içeren gelişimsel ve düzenleyici rolü bulunmaktadır^{20,21}. Aynı zamanda endotelin mitogenez, fibrozis, vasküler hipertrofi ve inflamasyonu içeren bazı süreçlerde de yer alır.

2.1.2. Dolaşan Hücre Fonksiyonlarının Düzenlenmesi:

Endotelial hücreler lokal olarak aktif moleküller sentez ederek veya dolaşan hücrelere uygun yüzey reseptörleri üreterek dolaşan hücrelerin fonksiyonlarını da kontrol eder. Sağlıklı bir arterde lökositler, eritrositler ve trombositler endotele yapışmaz veya dokulara göç etmez. Normal fonksiyonel bir endotel, doku hasarının olduğu bölgelere olan inflamatuvar hücre göçünü de düzenler. Fakat bu mekanizmanın bozulmuş, yanlış işleyen durumları aterosklerozun erken lezyonlarından da sorumlu olabilir²⁰.

Hücre adezyonu 3 ana hücre adezyon molekül ailesi arasındaki ilişkilere bağlıdır. Bu moleküller:

1- Selektinler (P-selektin, L-selektin, E-selektin),

2- β 2 integrinler (CD11/CD18),

3- İmmunglobulin süper ailesi (interseleüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), platelet endotel hücre adezyon molekülünden (PECAM-1) oluşur.

Selektinler hücreler arasındaki ilişkinin erken döneminde rol alırlar. Aralarında en önemlisinin P-selektin olduğu düşünülmektedir. Trombositlerin alfa granüllerinde ve endotel hücrelerinin Weibel-Palade cisimciklerinin içinde bulunur. Endotel aktivasyonla hücre yüzeyinde hemen eksprese olur ve dolaşan nötrofil ve trombositlerin yüzeyindeki karşılığı olan reseptörlere bağlanır. Bu bağlanma zayıf bir reaksiyondur ve hücre yuvarlanmasına yol açar.

Daha sonraki aşamada dolaşan hücrelerin yüzeyindeki β 2 integrinler, endotel hücre yüzeyindeki immunglobulin grubundaki adezyon moleküllerine bağlanarak daha güçlü bir bağlantı meydana getirir. Tümör nekrotizan faktör, interlökin-1 ve interlökin-4 gibi sitokinler endotel hücreleri üzerine etki eder ve onları proadeziv hale getirirler²². NO'nun da in-vitro olarak endotel hücre yüzeyindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir.

Adezyon molekülleri endotel hücreleri tarafından dolaşıma salınır ve endotel hücre hasarı ile giden durumlarda bu moleküllerin kandaki miktarı artar. Giderek artan epidemiyolojik bilgilerle adezyon molekülleri ve bunların ekspresyonunu indükleyen sitokinlerin sağlıklı insanların dolaşımında artmış olarak saptanmasının kardiyovasküler riski öngörmek için kullanılabileceği düşüncesi oluşmuştur²¹.

Hücre adezyonunun endotel tarafından düzenlenmesi gibi, dolaşan hücreler de salgıladıkları mediyatörlerle endotel fonksiyonlarını

düzenleyebilirler. Trombositlerden salınan vazodilatatör maddeler olan ADP, serotonin ve tromboksan A₂, endotel hücreleri tarafından yine vazodilatatör özelliği olan prostasikline çevirilebilir. Trombosit agregasyonu sırasında da trombositler endotelin-1, von Willebrand faktörü (vWf) gibi prokoagülan ve vazokonstriktör maddelerin salınımı için endoteli uyarırlar.

NO trombosit aktivasyonu ve agregasyonunu, trombosit yüzeyinde P-selektin oluşumunu, fibrinojen çapraz bağlanması için gerekli olan α 2 integrin proteini ve glikoprotein IIb-IIIa konformasyonel değişimini inhibe edebilir. Sağlıklı endotelde NO ve prostasiklin trombosit aktivasyonunu inhibe edebilir ve bu özellik endotelin NO üretiminin azaldığı ateroskleroz gibi durumlarda klinik önem kazanır²³.

2.1.3. Prokoagulan, Antikoagulan ve Fibrinolitik Özellikler:

Normal fizyolojide endotel baskın olarak antiagregan, antikoagülan ve fibrinolitik özelliklere sahiptir²⁴. Trombüs oluşumu çok basamaklı bir olaydır ve dolaşan kandaki trombotik ve fibrinolitik faktörler arasındaki dengeye bağlıdır. İlk olarak oluşan trombosit agregasyonu daha sonra trombin ve fibrin oluşumu ile sonuçlanan bir dizi olayı başlatır.

Bu olaylar sırasında endotel tabakasının birçok yerde düzenleyici rolü bulunmaktadır. Endotel hücreleri vWf, fibronektin ve trombospondin gibi molekülleri de sentezlerler. vWf trombositleri subendotelyal matrikse ve diğer trombositlere bağlayan yapıştırıcı görevi görür. Fibronektin fibrin monomerleri arasındaki çapraz bağları oluşturur ve trombospondin de lokal fibrinolizisi azaltarak platelet agregasyonunu kolaylaştırır. Sağlıklı endotel esas olarak antikoagülan bir bariyer olarak iş görür.

Fibrinojenin fibrine dönüşümünde anahtar molekül trombindir ve endotel de trombin ve koagülasyon kaskadındaki diğer enzimlerin aktivitesinin başlıca düzenleyicisidir. Bu enzimlerin birçoğu serin proteazlardır ve endotel de bir serin proteaz olan antitrombin (daha önceden antitrombin III

olarak bilinen) üretir. Bu rölatif olarak zayıf bir moleküldür, fakat yine endotel yüzeyinden salgılanan heparin benzeri moleküllerle aktivitesi artar.

Bir diğer endotel antikoagulan sistem de protein C sistemidir. Trombin endotel hücre yüzeyindeki trombomodulin reseptörüne bağlanınca protein C aktive olur ve koagülasyon kofaktörlerinin parçalanmasını ve PAI-1'in (plazminojen aktivatör inhibitör-1) inaktivasyonunu sağlar.

Fibrinolitik sistem fibrini parçalar ve pıhtı oluşumunu azaltır. Doku tipi plazminojen aktivatörü/tPA ve PAI-1 arasındaki denge kanın fibrinolitik aktivitesini belirler. Endotel tarafından sürekli olarak salınan bazal bir tPA aktivitesi ve çabuk aktive olabilecek sekretuar bir depo da bulunmaktadır. Normal koşullarda endotel hücrelerinin PAI-1 üretimi kısıtlıdır²⁵.

2.2. Endotel Disfonksiyonu:

Normal vasküler tonus, endotelden salınan vazokonstriktör ve vazodilatör mediatörler arasındaki dengeye bağlı olup endotel disfonksiyonu terimi daha çok endotel bağımlı vazodilatasyondaki bozulmayı ifade etmek için kullanılır. Ayrıca endotel disfonksiyonu terimi lökosit, trombosit ve düzenleyici maddelerle endotel arasında olan ilişkilerdeki anormalliklerle, normal dışı endotel aktivasyonuna yol açan durumları da kapsar⁴. Sonuç olarak fonksiyonelliğini yitirmiş bir endotelde denge vazokonstriksiyon, inflamasyon ve tromboz lehine kayacaktır²⁶.

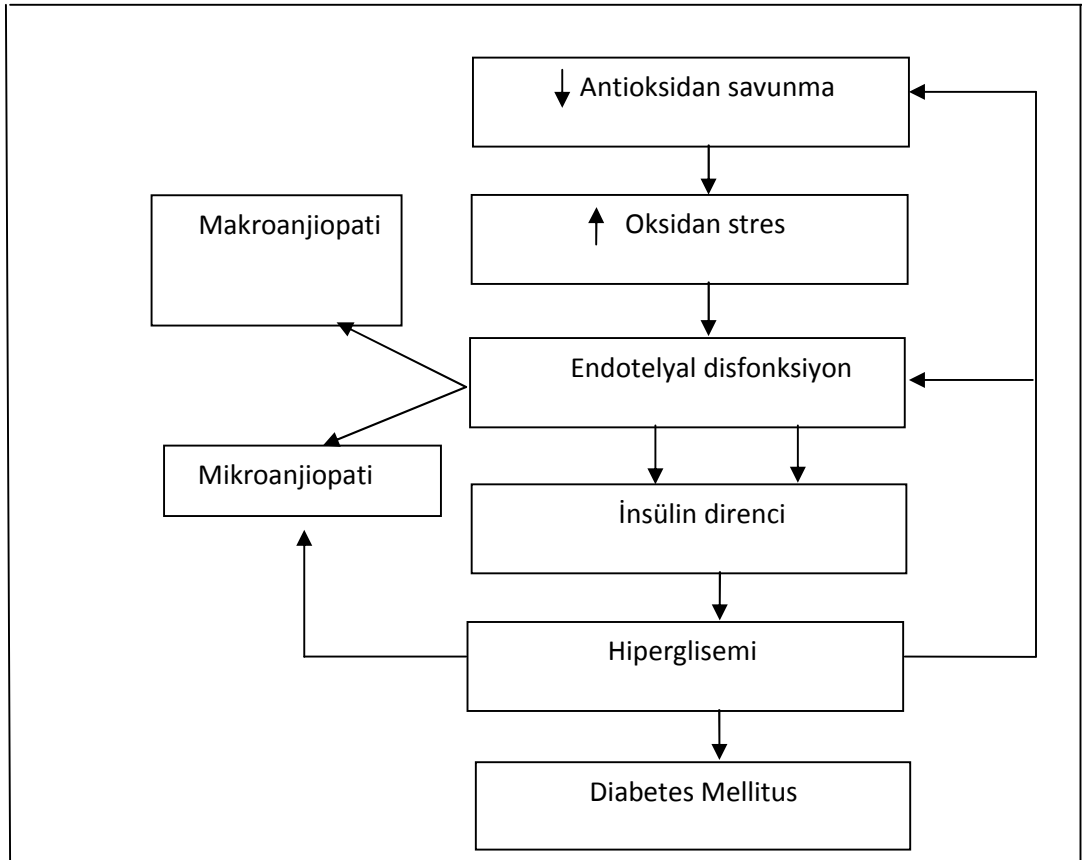
Endotelial disfonksiyon, vazodilatör maddelerin biyoyararlanımındaki azalma ile karakterize olup; en belirgin olanı NO azalmasıdır. Sağlıklı endotelde endotele bağımlı NO salınımı sayesinde asetilkoline yanıt vasodilatasyondur. Endotel fonksiyon bozukluğunda karşılıksız kalan muskarinik düz kas aktivasyonu vazokonstriksiyona yol açar.

Anormal endotel fizyolojisi hem aterosklerozun erken dönemi ve oluşumunda, hem de geç dönemde dinamik plak kontrolünde rol oynamaktadır²⁷. Endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz arasındaki bu ilişki

düşünüldüğünde, endotelial disfonksiyonun varlığı istenmeyen kardiyovasküler olayların öngörücüsü olabilmektedir.

2.2.1. Endotel Disfonksiyonunda Risk Faktörleri:

Diabetes Mellitus (DM): DM'lu hastalardaki endotel disfonksiyonunun ana mekanizması; bu hastalarda mevcut antioksidan savunma mekanizmalarının zayıflayarak oksidan stresin artması, ileri glikozillenme ürünlerinin artarak NO'nun etkisiz hale gelip LDL'nin oksidasyona duyarlılığının artması ve insülin direnci sonucunda insülinin NO üzerinden meydana getirdiği koruyucu etkinin ortadan kaybolması olarak görülmektedir^{28,29} (şekil 2.2.).



Şekil-2.2. DM ve endotel disfonksiyonu arasındaki ilişki

Hipertansiyon: Hipertansiyonda; endotel hasarı sonucu ortaya çıkan mediatörlere bağlı olarak periferik damar tonusu artmaktadır. Ancak hipertansif olgularda endotel fonksiyon bozukluğu ile damar kas tonusunun

bozulmasında hangi mediatörün daha önemli role sahip olduğu henüz kesin olarak belli değildir. Antihipertansif ilaçlarla endotel fonksiyonlarının düzelmesi endotel fonksiyon bozukluğunun yüksek kan basıncı sonucu olduğunu düşündürmektedir. Hipertansif hastalarda endotel fonksiyon bozukluğunda rol oynayan mekanizmalar;

- 1-) Nitrik oksit üretiminin azalması
- 2-) Vasküler düz kasların endotele bağlı vazodilatörlere karşı cevabının azalması
- 3-) Vazokonstriktörlere hassasiyet ve endotelyuma bağlı vazokonstriktörlerin üretiminin artması
- 4-) “Shear stress” (kan akımının damarlara yaptığı mekanik kuvvet) sonucu endotel hasarı

Ancak endotel fonksiyon bozukluğunda periferik damar direncinin ve dolayısıyla kan basıncının artması bu kısır döngüdeki hipertansiyonun nedensel rolünü sorgulamaktadır. Hipertansiyonun kendisi endotelial disfonksiyona yol açabilmektedir. Ancak bu bozulmanın primer veya sekonder olduğu tartışmalıdır.

Hiperlipidemi: Hiperkolesterolemi vasküler homeostazda birçok değişikliğe yol açar. NO biyoaktivitesini azaltır, superoksit üretimini artırır ve endotelin reaktivitesini artırır. Ayrıca adezyon moleküllerinde artışa ve endotel bağımlı vazodilatasyonda azalmaya neden olduğu da gösterilmiştir³⁰.

Kolesterolün indüklediği endotel disfonksiyonunun sadece LDL konsantrasyonuna bağlı olmayıp, esas olarak LDL oksidasyonu ile ilgili olduğu anlaşılmıştır. Serbest yağ asitleri ve trigliseritlerin kan düzeylerinin akut yükselişi (post prandiyal durumda olduğu gibi) uzun saatler boyunca vazodilatatör yanıtı baskılayabilmektedir. Okside LDL, NO sentetazın aktivitesini bozarak endotel disfonksiyonunun en önemli nedenini oluşturur.

Endotelin aterosklerotik damar hastalıklarında aktive olur. Hiperlipidemide endotelin reseptörlerinin ekspresyonu azalırken, endotelinin endotel hücrelerindeki üretimi artırılır. Artmış endotelin üretiminin en olası uyarıcısı da LDL'dir.

Obezite: İnsülin direnci ve dolaşımdaki nonesterifiye yağ asitleri veya yağ hücreleri kaynaklı sitokinlerin mevcudiyeti obez hastalarda endotel disfonksiyonu meydana getirecek patogenetik durumlar arasında sayılabilmektedir.

Obezite koagulatif ve fibrinolitik süreçlerde birçok faktörün konsantrasyonu ve aktivitesini değiştirerek tromboza zemin hazırlar. Ayrıca obezite, hepsi kombine olarak endotel fonksiyonunu değiştiren artmış hipertansiyon düzeyleri, okside LDL'de artış ve serbest yağ asiti düzeylerinde artış ile karakterizedir.

Sigara: Sigara dumanı büyük miktarda serbest radikal, peroksinitrit, fenoller, epoksitler ve nitrozaminler gibi prooksidan maddeler içermektedir. Çeşitli çalışmalarda kronik sigara içiminin endotel fonksiyonu üzerine olumsuz etkisi ve koroner arter hastalığı ilerlemesini hızlandırdığı gösterilmiştir^{31,32}.

Sigara dumanında bulunan birçok kimyasal madde arasında bulunan serbest radikallerin ve aromatik hidrokarbonların sigara içimine bağlı endotel disfonksiyonunun oluşmasında ana rol oynadıkları düşünülmektedir. Sigara içenlerde endotel fonksiyonlarının düzeltilmesi için uygulanan L-arjinin ve tetrahidrobiopterin tedavilerinin etkinliği NO sentezinde de bozukluk olabileceği yönünde yorumlanmıştır.

İleri Yaş: Bilinen kardiyovasküler risk faktörlerinin olmadığı sağlıklı insanlarda 30 gibi erken bir yaşta bile endotel disfonksiyonu tesbit edilebilir. Bunun endotel hücresinin doğal yaşam süresine bağlı olduğu düşünülmektedir. Yani endotelin yaşlanması ve daha az fonksiyonel bir

endotele dönüşmesi yaş ile ilgili endotel fonksiyonunun mekanizması olabilir³³.

Diğer bir mekanizma da siklooksijenaz yolu tarafından üretilen superoksit radikallerinin de dahil olduğu endotel kaynaklı vazokonstriktör faktörlerin üretiminde artmadır. Ek olarak yaş ile birlikte NO sentez genlerinin ekspresyonunda da değişiklik olabileceği öne sürülmüştür^{34,35}.

2.2.2. Endotel Disfonksiyonunda Risk Faktörlerinin Eliminasyonu:

Antihiperlipidemik tedavi, antihipertansif tedavi, sigaranın bırakılması, postmenopozal kadınlarda hormon replasman tedavisi, folik asit replasmanı, fiziksel egzersiz gibi klasik ve nonklasik kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altına alınmasının endotel disfonksiyonunu düzelttiği bilinen bir gerçektir. Bu durum endotel disfonksiyonunun tedavi edilebilir ve geri dönüşümlü bir bozukluk olduğunu da ortaya koyar⁴.

Yüksek kolesterol seviyelerinin düşürülmesi endotel fonksiyonlarında iyileşme sağlamaktadır³⁶. Kullanılan tedavi yönteminden bağımsız olmakla birlikte, statinler bu etki konusunda en başarılı ajanlar olarak gözükmektedir. Statinlerin endotel disfonksiyonlarını düzeltmedeki etkisi kolesterol değerlerini düşürmedeki etkisinden bağımsızdır. Statinlerin bu endotel koruyucu etkisi, antioksidan özellikleri, anti-enflamatuar etkileri ve NO biyoyararlanımını düzeltmeleri ile alakalıdır.

Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri (ACEİ), NO biyoyararlanımını anjiotensin II sentezini azaltarak ve bradikinin yıkılmasını engelleyerek arttırırlar. Ayrıca ACEİ'leri "endotel kaynaklı hiperpolarizan faktörün" etkisini arttırırlar. Kısa ve uzun vadeli ACEİ tedavisi ile koroner ve periferik arterlerde endotel fonksiyonlarında düzelme görülmektedir³⁷.

Daha önce de belirtildiği üzere endotel disfonksiyonunun temelinde oksidatif stres yatmaktadır. Dolayısı ile glutasyon, N-asetil sistein, Vitamin-C gibi antioksidanların kullanılması aterosklerotik bireylerde koroner ve periferik

arterlerdeki endotel disfonksiyonunun düzeltilmesine katkıda bulunmaktadır (tablo 2.2.).

Tablo 2.2. Endotel disfonksiyonunun iyileştirilmesi için kullanılan bazı tedavi şekilleri.

Erken dönem tedavi	Uzun dönem tedavi
LDL ferezis, fibratlar	Statinler ile LDL düşürülmesi
ACE inhibisyonu	Reçine ile LDL düşürülmesi
Antioksidanlar (Vitamin E, C)	ACE inhibisyonu
Östrojen	Antioksidanlar
L-arginin, d-arginin	Östrojen
Tetrahidrobiopterin, Metiltetrahidrofolat	Östrojen+Progesteron
Deferoksamin	L-arginin
Glutatyon	Egzersiz
Kalsiyum Kanal Blokerleri	Folik asit
Anjiyotensin reseptör blokerleri	Anjiyotensin reseptör blokeri
HDL Metformin	
TNF- α blokajı	
ET-1 blokajı	

2.2.3. Endotel Disfonksiyonunun Belirlenmesi:

Endotel fonksiyon bozukluğu kardiyovasküler hastalıklarda yapısal değişikliklerin oluşmasına ve klinik belirtilerin ortaya çıkmasına öncülük eden çok önemli kritik bir role sahiptir. Bu nedenle özellikle son yıllarda araştırmalar endotel fonksiyon bozukluğunun erkenden belirlenmesine odaklanmıştır.

Genel olarak endotel fonksiyon bozukluğu kardiyovasküler hastalıkların erken evrelerinden itibaren oluşur ve endotel fonksiyonunun

değerlendirilmesi bu hastalıklar için risk bulunduran bireylerin incelenmesinde çok önemli bir araştırma yöntemidir².

Günümüzde endotelyal disfonksiyonu belirlemede birçok invaziv ve noninvaziv test ile çeşitli plazma belirleyicileri kullanılmaktadır. İdeal olarak endotel fonksiyonunu tesbit edecek olan testin güvenilir, invaziv olmayan, kolayca ulaşılabilecek, subklinik ateroskerozu tesbit edebilen, riski belirleyebilen ve tedaviye cevap verebilen özelliklerde olması gerekir.

İnvaziv Koroner Testler: İnsanlarda koroner endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi ilk kez Ludmer ve arkadaşlarının yaptığı testlerle gösterilmiştir³⁸. Bu çalışmada intrakoroner astetilkolin enjeksiyonu öncesi ve sonrasında anjiyografik olarak koroner arter çapları değerlendirilmiştir. Daha sonra bu test endotelden bağımsız bir vazodilatatörün (nitroprussid) ilavesi ve koroner akımların direkt olarak dopler kateterleri ölçümüyle geliştirilmiştir³⁹.

İnvaziv Ön Kol Pletismografi Metodu: Bu yöntem ön kol arteryel dolaşımına endotel bağımlı ve endotelden bağımsız vazodilatatör madde enjeksiyonu ve daha sonra venöz oklüzyon pletismografi teknikleri ile ön kol akımının değerlendirilmesine dayanır³⁰. Sonuçlar deneysel elde edilen sonuçlar ve ön kol akım sonuçları oranlanarak bulunur.

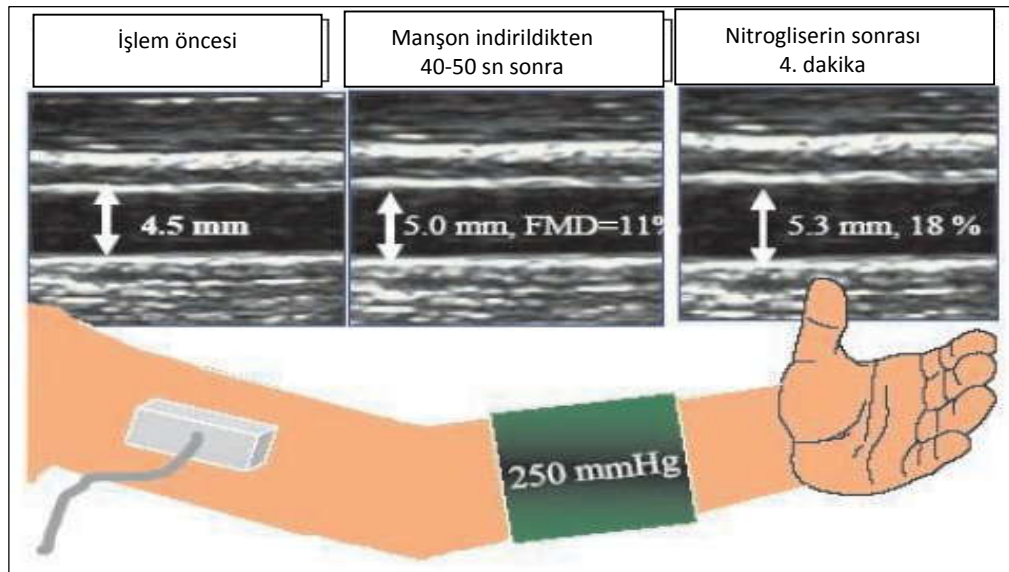
İnvaziv ön kol pletismografi yönteminin bazal endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi, agonistin veya antagonist ajanın doz yanıt ilişkisinin gösterilebilmesi ve koroner anjiyografiye göre daha az invaziv olması gibi avantajları vardır. Brakial arter kanülasyonu ile ilgili komplikasyonlar ise yöntemin dezavantajıdır.

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) ile Koroner Akımın Değerlendirilmesi: PET myokard kan akımının invaziv olmayan yollarla kantitatif değerlendirilmesine olanak veren bir yöntemdir. Kan akımının istirahatte ve dipridamol veya adenozin gibi farmakolojik bir ajanla stimülasyonundan sonra değerlendirilmesi ile koroner akım rezervi

hesaplanabilir. Yüksek maliyet ve radyasyon maruziyeti PET'in majör dezavantajlarıdır.

Akım Aracılıklı Dilatasyon (FMD): FMD yöntemi antekübital çukurun 5-10 santimetre üzerinden brakial arteri uzunlamasına görüntülemek için yüksek çözünürlüklü ultrason kullanılarak uygulanır (şekil 2.3). Brakial arter çapı başlangıçta ölçülür ve daha sonra ön kol üzerinde tansiyon aleti manşonu şişirilerek 5 dakika beklenir. Oklüzyon sonrası ölçüm manşon indirildikten 1 dakika sonra ve diyastolün sonunda yapılır ve akıma bağlı dilatasyon hesaplanır.

Normal olarak sağlıklı genç bireylerde vazodilatasyon üst kolda ölçüldüğünde $>10\%$, alt koldan ölçüldüğünde $>6\%$ 'dir⁴⁰. Akıma bağımlı vazodilatasyon damar çapı ile ters orantılıdır. Akıma bağımlı vazodilatasyonu değerlendirdikten sonra endotelden bağımsız vazodilatasyonu değerlendirmek için nitrogliserin kullanılır.



Şekil 2.3. FMD'nin uygulanışı

Bu yöntemin en büyük avantajları invaziv olmayışı ve güvenilirliğidir. Semptomsuz kişilere de tarama amaçlı uygulanabilmektedir. Bu yöntemle yapılan çalışmalar çocukluk çağı ve genç erişkinlerde erken ateroskleroz için

çeşitli risk faktörleri hakkında bilgi sağlamıştır. Testin dezavantajları ise uygulama güçlüğü ve ultrasonografiyi yapan kişinin deneyimine bağlı olmasıdır.

İyontoforez yöntemi ile lazer dopler görüntüleme metodu: Bu yöntem deride iyontoforez ile uygulanan ilaçların oluşturduğu endotel bağımlı ve bağımsız vazodilatasyonun lazer dopler görüntüleme ile değerlendirilmesi prensibine göre çalışmaktadır. Bu yöntemle endotel bağımlı gevşeme yapan asetilkolin ile endotel bağımsız gevşeme yapan sodyum nitroprussid iyontoforez ile artan sürelerle deriye uygulanarak doz-cevap eğrisi elde edilebilmektedir.

LDI (lazer dopler iyontoforez) cilt üzerinde, monokromatik lazer görüntüleri alarak çalışır. Doppler prensibine göre hareket eden eritrositlerden geri yansıyan ışık eritrositlerin oransal hızlarına göre frekanslarında değişiklik meydana getirir. Birçok lazer Doppler setinde Helium-neon lazer kullanılır ve 1-1,5 milimetre derinlikte beyaz cilt dermisinde arteriol, venül ve kapillerler üstüne ölçüm yapılır. Bu teknik büyük arterlerden ziyade mikrosirkülasyonda endotelial fonksiyonun gösterilmesi için klinik bir gösterge olarak artan sıklıkta kullanılmaktadır⁴¹. Bu durum kardiyovasküler hastalarda endotelial hasarın ilk olduğu bölge olması nedeniyle kullanışlıdır.

İyontoforez lazer dopler tekniği ile artmış kan akımının ölçüldüğü ve zayıf bir akım kullanarak vazodilatör ajanların ciltten geçirildiği bir tekniktir. İyontoforez direkt elektrik akımı aracılığı ile çözünür tuzların vücut dokularına geçişini sağlar. İyontoforezin temel prensibi; solüsyon içindeki ilaçların pozitif veya negatif yüklenmesi ve oluşturulan direkt akım aracılığı ile aynı kutupların birbirini itmesi kuralı ile cilt içinden migre olmasıdır.

İyontoforez için kullanılan aparat yüzük şeklinde elektrodun içinde ve içi vazoaaktif ilaç ile doludur ve iyontoforez kontrolörüne bağlıdır. İyontoforeze bağlı olan referans elektrod hastaya da bağlanır ve böylelikle vazoaaktif

madde için devre ve polarite tamamlanır. (Ach için çember +, nitroprussid için çember -). İlaç miktarı uygulanan akımın miktarı ve süresine bağlıdır.

Yöntem noninvaziv olup, özellikle kapiller yatağa yani mikrodolaşıma ait güvenilir bilgi vermektedir⁴². Endotel agonist ve antagonistlerin kolay kullanımı ile çok daha güvenilir doz ve cevap eğrisi elde edilir. Bunun yanında bazal endotel fonksiyonunun da değerlendirilmesi mümkündür.

Endotel fonksiyonunun dolaşımdaki belirteçleri: Endotel, damar tonusunun belirlenmesinin yanında salgıladığı birçok mediatörle homeostazda da rol oynamaktadır. Bunlardan başlıcaları Von Willebrand faktör (vWf), tPA (doku plasminojen aktivatörü), PAI-1 (Plasminojen aktivatör inhibitörü-1), ADMA (asimetrik dimetil arjinin) ve adhezyon molekülleridir (tablo 2.3.).

vWF endotelden üretilen glikoprotein olup başlıca koagulasyonda rol oynamaktadır. Endotel aktif hale geldiğinde veya endotel fonksiyonlarında bozulma meydana geldiğinde vWF miktarı kanda yükselmektedir⁴³.

tPA ve PAI-1 endotelden sentezlenen proteinler olup fibrinolitik sistemde görev almaktadırlar. tPA, plazminojeni fibrin yıkımında görev alan plazmine dönüştürmektir. PAI-1 ise tPA'yı inhibe etmektedir. İntima-media kalınlığının değerlendirildiği ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) çalışmasında subklinik karotid aterosklerozda tPA ve PAI-1'in arttığı ortaya konulmuştur⁴⁴.

ADMA, NO sentazın endojen yarışmalı bir inhibitörüdür. Hiperkolesterolemisi olan hasalarda, karotis arterlerinde aterosklerozu olan ve endotele bağlı vazodilatasyonu bozulmuş olan hastalarda plazma asimetrik dimetilarjinin (ADMA) seviyeleri yüksek bulunmuş olup bu durumun nedeni olarak ADMA parçalayıcı enzim aktivitesindeki azalma sorumlu tutulmaktadır⁴⁵.

Dolaşan lökositler ve vasküler endotel arasındaki ilişkileri düzenleyen adezyon molekülleri de endotel disfonksiyonu tanısı için kullanılabilir. Çalışmalar en çok VCAM-1, ICAM-1, E-selektin ve P-selektin üzerinde yapılmıştır.

Tablo 2.3. Endotel disfonksiyonunun serum belirteçleri

Endotelin – 1	Vazokonstriktör sentezinde azalma
Trombomodulin	Antikoagulan aktivitede azalma
Doku tipi plazminojen aktivatörü (t-PA)	Profibrinolitik aktivitede azalma
Plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI-1)	
E-Selektin, P-Selektin	Lökositlere geçirgenlikte artma, inflamatuvar aktivasyon
ICAM, VCAM	
Hücre sel fibronektin	Ekstraselüler matriks sentezinde değişiklik
Tip 4 kollajen	
Asimetrik dimetilarginin (ADMA)	Vazodilatasyonda azalma

2.3. Periferik Arter Hastalıklarında Endotel Disfonksiyonu:

Genel olarak ateroskleroz ve tromboanjitis obliterans (TAO=Buerger Hastalığı) sonucu gelişen periferik arter hastalıkları ekstremitelerde lokal iskemik semptomlar ve hastalığın sistemik etkilerine bağlı olarak bazen ölümlü sonuçlanabilen daha ciddi uzak organ tutulumları açısından büyük önem taşırlar. Bu hastalıklara yaklaşımdaki en önemli sorun lokal ve sistemik komplikasyonlar için prognostik faktörleri tam olarak belirleyebilmektir. Son yıllardaki çalışmalar endotel fonksiyonlarının hastalıklardaki sistemik patolojiyi değerlendirmek için kullanılabilir bir yöntem olduğunu düşündürmektedir.

Periferik arter hastalıkları örneğin alt yada üst ekstremiteye giden arterlerin tıkanıklıklarında periferik vasküler yatağın geniş yüzeyi nedeni ile

uzak alanlarda da endotel fonksiyonunu bozacak şekilde bir çok inflamatuvar ve vazoaaktif mediatörlerin salınımı gerçekleşebilmektedir. Bu yüzden çoğu kez eşlik eden koroner ve serebrovasküler hastalıklar nedeni ile endotel fonksiyon bozukluğunun sistemik etkileri tek başına koroner arter hastalığına göre daha büyük önem taşımaktadır.

Periferik arter hastalarında gerek endotel fonksiyonlarının plazma belirteçleri, gerekse endotel aracılıklı vasküler reaktivite testleri anormaldir. Bu anormalliğin nitrik oksitte azalma, oksidatif stres, inflamasyon ve ateroskleroz için eşlik eden risk faktörlerine bağlı olduğu düşünülmektedir⁴⁶.

Endotelyal fonksiyonların belirlenmesi altta yatan vasküler sağlığın güvenilir bir ölçütü olarak kabul edilmekte olup, periferik arter hastalarında kardiyovasküler olayları tahminde kullanılabilen bir araç haline gelmiştir. Genel olarak arter hastalarında endotel fonksiyonu bozuldukça prognoz olumsuz yönde etkilenmektedir.

Endotel fonksiyonunun brakial arterde akım aracılıklı dilatasyon (FMD) yöntemi ile değerlendirilmesi, aralarında periferik arter hastalığının da bulunduğu bir çok kardiyovasküler patolojide prognostik öneme sahiptir. 131 periferik arter hastasını akut kardiyovasküler olaylar yönünden 23 ay izledikleri bir çalışmada Brevetti ve ark. akut kardiyovasküler olay geçiren hastaların başlangıç FMD değerlerinin daha düşük olduğunu belirlemişlerdir^{46,47}.

Aynı çalışmada periferik arter hastalarında FMD ile beraber ABI'nın birlikte kullanıldığında prognoz tahmininde güvenilirliğin arttığı gösterilmiştir. Benzer bir diğer çalışmada 199 periferik arter hastası (bu grup alt ekstremite periferik arter hastaları yanında karotis ve aorta anevrizması hastalarını da içeren heterojen bir topluluktur) FMD ölçümü sonrası 1.2 yıl izlenmiş ve kardiyovasküler olay (MI, unstable anjina ve inme) geçiren 35 hastanın ilk FMD değerlerinin anlamlı ölçüde düşük olduğu belirlenmiştir⁴⁸.

Endotel fonksiyonun değerlendirilmesinin periferik arter hastalarında kötü prognozun tahmininde önemli bir araç olabileceği düşünölmektedir. Gokce ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada vasköler cerrahi sonrası 30 gün içinde myokard infarktüsü, inme, unstable anjina gibi kardiyovasköler olaylar geçiren hastaların preoperatif brakial arter endotel-bağımlı akım aracılıklı dilatasyon değerleri bu tür olayları geçirmeyen hastalara göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuřtur⁴⁹.

Özellikle aterosklerotik periferik arter hastalıkları için endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi prognostik önem taşıdığı gösterilmiş olmakla beraber TAO için böyle bir sonuç bildirilmemiştir. Ayrıca aterosklerotik periferik arter hastalıklarında endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi büyük oranda myokard infarktüsü ve inme gibi sistemik olaylar yönünden prognostik önem taşıdığı bilinmesine rağmen periferik arter hastalığının lokal prognozu açısından önemi tam olarak incelenmemiřtir⁵⁰. Bu nedenle periferik arter hastalarında sistemik ve lokal risk tahmini açısından endotel fonksiyonunun değerlendirilmesi çok değerli bir yöntem olabilir.

Periferik arter hastalıklarında hastalığın klinik evresi ile endotel disfonksiyonunun şiddeti arasında bir uyum tam olarak ortaya konulmamıştır. Buna karşın periferik arter hastalarında akım aracılıklı dilatasyon değeri normal kişilerden düşük bulunmuş olması, hastalığın şiddeti ile endotelin durumu arasında bir bağlantı olabileceğini düşöndürmektedir^{51,52}.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kontrol ve Hasta Grupları

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na periferik arter hastalığı belirtileri ile başvuran 113 hasta ve 30 adet kontrol grubu sağlıklı birey üzerinde prospektif olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma grupları sağlıklı kontrol bireyleri (n: 30), değişik klinik evrelerdeki Buerger hastaları (n:46), ateroskleroza bağlı alt ekstremitelerde periferik arter hastaları (n:67) şeklindedir.

Çalışmaya alma kriterleri:

- Gönüllü onam formunun hasta tarafından imzalanması,
- Daha önce periferik arter hastalığı nedeni ile major arter cerrahisi yapılmamış olması
- Daha önce prostaglandin tedavisinin yapılmamış olması

Çalışmaya almama kriterleri:

- Gönüllü onam formunun hasta tarafından imzalanmaması
- Sepsis veya major enfeksiyon bulunması
- Kardiyovasküler hastalıklar dışında major bir hastalık olması (kanser, otoimmün hastalık, romatizmal hastalıklar)
- Vaskülitler
- Geçirilmiş major vasküler cerrahi durumu
- Gebelik

3.2. Veri Toplama ve Değerlendirme Yöntemleri

Başvuran hastalar semptom ve fizik muayene bulguları açısından değerlendirilmiş, eşlik eden hastalıkları ve risk faktörleri kaydedilmiş ve periferik arter hastalığının tanısı için ayak bileği brakial basınç indeksi (ABI) ölçülmüştür. Periferik arter hastalığının morfolojik tutulumu renkli Doppler ultrasonografi, gereğinde manyetik rezonans anjiyografi, bilgisayarlı tomografik anjiyografi ve konvansiyonel anjiyografi ile değerlendirilmiştir.

Buerger hastalığı tanısında Shionoya Kriterleri⁵³ kullanılmış olup bunlar: sigara öyküsü, 50 yaşından önce semptomların başlaması, infrapopliteal arteriyel oklüzyonların bulunması, üst eskerimide arteriyel tutulum, flebitis migrans ve sigara dışında aterosklerotik risk faktörlerinin olmayışını içermektedir.

Gerek aterosklerotik gerekse Buerger hastalarında lezyonlar, Klinik Kronik İskemi Kategorisi'ne göre⁵⁴ kronik iske mi açısından sınıflandırılmıştır. Bu sınıflamada asemptomatik bireyler kategori 0, hafif kladikasyo kategori 1, orta derece kladikasyo kategori 2, şiddetli kladikasyo kategori 3, iskemik istirahat ağrısı kategori 4, minör doku kaybına neden olan iske mi kategori 5 ve majör doku kaybına neden olan iske mi ise kategori 6 olarak değerlendirilmiştir. Bu aşamadan sonra hastalar çalışmaya alınmaları açısından değerlendirilmiş ve uygun olanlar çalışmaya katılmaya davet edilmişlerdir.

3.3. Endotel Fonksiyonunun Değerlendirilmesi

Mikrodolaşımın endotel fonksiyonları, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ahmet Yayıcıoğlu Damar Laboratuvarı'nda; iyontoforetik asetilkolin ve nitroprussid uygulaması ile endotel bağımlı ve bağımsız gevşeme cevabının lazer dopler ile görüntülenmesi yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Asetilkolin endotel bağımlı, nitroprussid ise endotel bağımsız vazodilatasyon oluşturmaktadır. Ancak bu etki iyontoforez ile ciltten

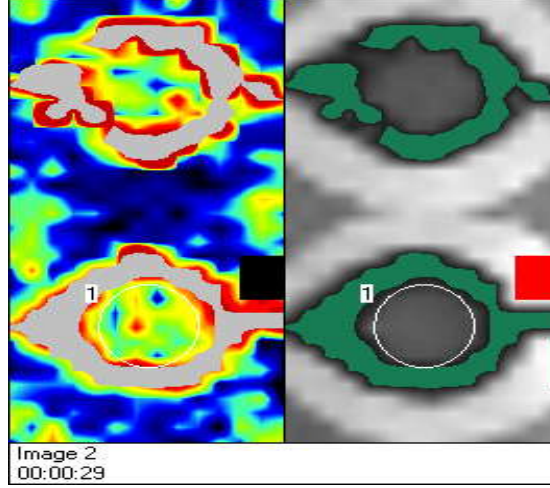
penetre edildiğinde ve lazer dopler ile vazodilatasyon değerlendirildiğinde gözlenebilmektedir.

Lazer Dopler İyontoforezi için aç gelen hastalar 22 derece sabit ısı olan odada en az 30 dakika istirahat ettikten sonra sol kol iç yüzüne 1 cm çaplı iki ilaç uygulama elektrodu (PF 384; Perimed, Jarfalla, İsveç) birbirine 2 santimetre mesafe olacak şekilde kendinden yapışkanlı bantlarla tutturulmuştur (şekil 3.1.). Elektrodların birine 0.5 mililitre %1 asetilkolin (Acetylcholine chloride 99%, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, AÜTF Farmakoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır) diğerine 0.5 mililitre %1 sodyum nitroprussid (Nipruss® 60 miligram, 5 mililitre ampul, Adeka) konulmuştur. Daha sonra elektrodlar elektrik uygulayacak olan iyontoforez jeneratörüne (PF 382, Perimed, Jarfalla, İsveç) bağlanmıştır.



Şekil 3.1. Lazer dopler iyontoforez yapılan bir hastanın görünümü

Lazer dopler görüntüleme cihazı (PIM II, Perimed Jarfalla, İsveç) elektrodların 20 santimetre üzerine getirilerek her iki elektrodu içerecek şekilde 34x15 piksellik alanı 30 saniyede tarayacak şekilde ayarlanmıştır. Her hangi bir uygulama yapılmadan her biri 30 saniye süren 4 tarama ile başlangıç ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra 5, 10, 20,40 ve 80 saniye süreyle 0.1 miliamper elektrik akımı uygulanmış ve her bir uygulamadan sonra 30 saniye süren 8 ölçüm yapılmıştır (şekil 3.2).



Şekil 3.2. Bilgisayar ortamına aktarılmış lazer dopler görünümü

Elde edilen görüntülerin özel bir yazılım (LDPI win 2.6 Jarfalla, İsveç) ile analizi sonucu 0.5, 1, 2, 4, ve 8 mC akım uygulaması ile asetilkolin ve nitroprusside ait doz cevap eğrisi elde edilmiştir.

3.4.Takip

Bu değerlendirme sonrasında gerektiğinde sorumlu hekimin uygun gördüğü tedavi uygulanarak hastalar iki yıl süre ile periferik arter hastalığının komplikasyonları ve kardiyovasküler olaylar açısından takip edilmiştir.

Periferik arter hastalığı aralıklı yapılan ayak bileği/kol basınç indeksi, kladikasyonu olan hastalarda yürüme bandında yürüme mesafesi, iskemik lezyonların durumu, geçirilen cerrahi işlemler, amputasyonlar ve doku kaybı yönünden değerlendirilmiştir. Takip sırasında ayrıca ölüm ve kardiyovasküler olaylar aterotrombotik inme, akut koroner sendrom (kararsız anjina pectoris, Q dalgasız akut myokard infarktüsü, Q dalgalı akut myokard infarktüsü) yönünden hastalar değerlendirilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analiz

Hastaların endotel fonksiyonlarının durumu ile başlangıçtaki hastalığın etyolojisi, evresi ve takip süresince karşılaşacakları kardiyovasküler olaylar (myokard enfarktüsü, serebrovasküler olaylar, ekstremitedeki iskemik lezyonlarda ilerleme ya da gerileme, v.b.) arasındaki ilişki araştırılmış ve çalışmadaki tüm nümerik değerler ortalama ve standart hata şeklinde verilmiştir. Kategorik olan değişkenler chi-square, nümerik olanlar ise student-t test kullanılarak analiz edilmiştir. P değeri 0.05'den küçük olan değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Demografik ve klinik özellikler

Çalışmaya toplam 143 birey gönüllü olarak katıldı. Bunların 30'u benzer yaş grubunda sağlıklı bireylerdi. Hasta gruplarının 67'si aterosklerotik periferik arter hastalığı ve 46'sı ise Buerger hastalarından oluşuyordu (tablo 4.1). Buna göre ateroskleroz grubunda çok daha fazla **diyabet** ve **koroner cerrahi** öyküsü varken Buerger hastalarında **sigara** daha yaygın bir risk faktörü idi (her biri için $p < 0,05$).

Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikleri ve risk faktörlerine ait veriler

Hasta	Kontrol	%	Ateroskleroz	%	Buerger	%	P
Toplam	30		67		46		
Erkek	29	96	62	92	46	100	1,14
Diyabet	1	3,3	30	48	8	17,3	0,001
Sigara							
-Hiç kullanmamış	16	53,3	19	28,3	4	8,6	0,001
-Şimdi değil ama son 10 yılda kullanmış	5	16,6	23	34,3	27	58,6	
-Şimdi ve son 1 yıldır kullanıyor	3	10	12	17,9	9	19,5	
-Şimdi aktif	6	20	6	13	13	19,4	
Obezite	5	16,6	5	7,4	6	13	0,36
Geçirilmiş koroner cerrahi	0	0	15	22	2	4	0,001

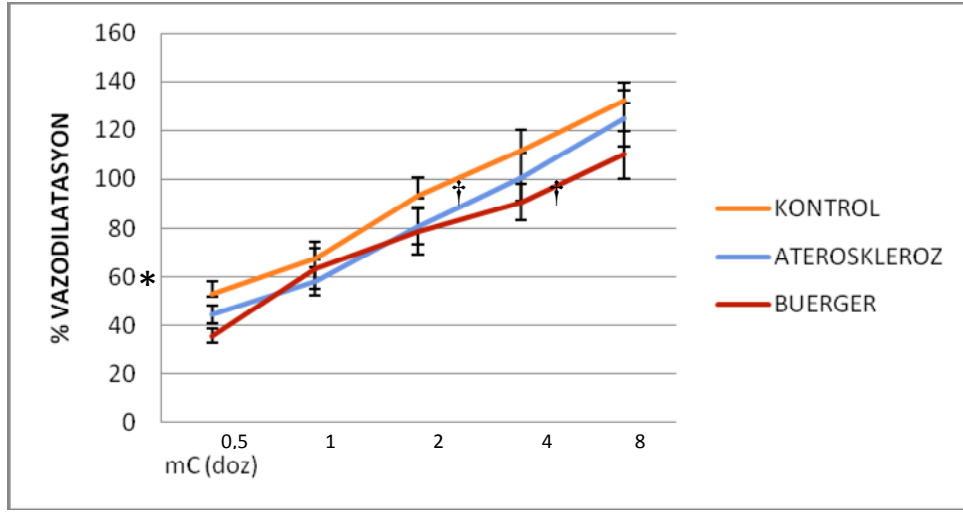
Periferik arter hastalığına yönelik detaylı değerlendirme yapıldığında Buerger hastalarının büyük çoğunluğu kronik iskemi açısından daha ileri düzeyde yer almaktaydı. Benzer şekilde Buerger'li hastaların üçte birinden fazlası daha önceden minör ya da major bir amputasyon geçirmiş idi (tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Hastaların çalışma anındaki klinik özellikleri

KRONİK İSKEMİ KATEGORİSİ	KONTROL	%	ATEROSKLEROZ	%	BUERGER	%
Kategori 0	30	100	0	0	0	0
Kategori 1	0	0	10	14,9	7	15,2
Kategori 2	0	0	21	31,3	14	30,4
Kategori 3	0	0	12	17,9	6	13
Kategori 4	0	0	8	11,9	3	6,5
Kategori 5	0	0	13	19,4	14	30,4
Kategori 6	0	0	3	4,4	2	4,3
Sağ bacak ABI	1,12 (±0,02)		0,63(±0,03)		0,60(±0,04)	
Sol bacak ABI	1,14(±0,03)		0,66(±0,03)		0,56(±0,04)	
Geçirilmiş Amputasyon						
minör	0		6	8,9	14	30,4
majör	0		0		2	4,3
İskemik ülser						
Sağ	0		2	3	2	4,3
Sol	0		2	3	4	8,7
Gangren						
Sağ	0		12	17,9	7	15,5
Sol	0		7	10,4	5	11,1

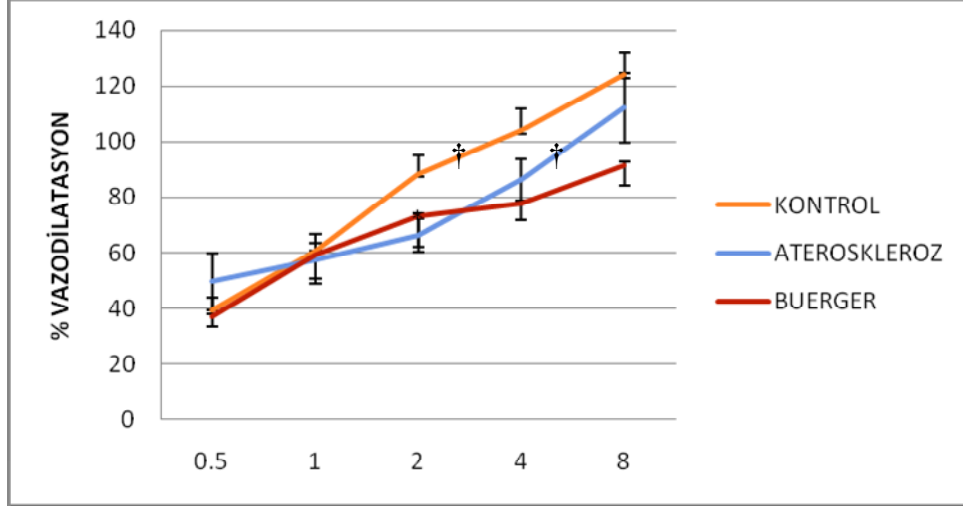
4.2. Grupların endotelial fonksiyonlar açısından karşılaştırılması

Asetilkoline bağlı doz cevap eğrisi yönünden etyoloji temelinde oluşturulmuş olan gruplar karşılaştırıldığında her ne kadar ateroskleroz grubunda kontrole göre vazodilatasyon cevabında bir azalma trendi olmasına karşın istatistiksel açıdan fark saptanmadı. Buna karşın Buerger grubunda 0.5, 1 ve 2 mC ölçüm noktalarında kontrole göre vazodilatasyon cevabında azalma belirlendi (* $p < 0.01$, † $p < 0.05$) (şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Etyoloji temelinde Ach'e bağlı vazodilatasyon cevabı

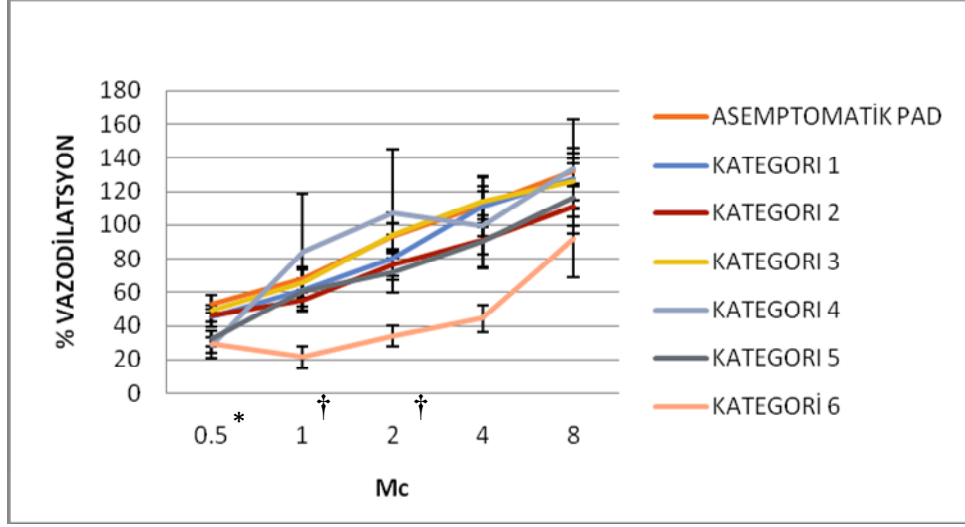
Nitroprusside bağlı doz cevap eğrisi yönünden gruplar karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha iyi vazodilatasyon trendi vardı. Ateroskleroz grubunda kontrole göre vazodilatasyon cevabında genelde bir azalma trendi olmasına karşın istatistiksel açıdan fark sadece 2 mC dozunda saptandı (* $p < 0.05$). Buerger grubunda 4 ve 8 mC ölçüm noktalarında kontrole göre vazodilatasyon cevabında azalma belirlendi († $p < 0.01$) (şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Etiyoloji temelinde nitroprusside bağlı vazodilatasyon

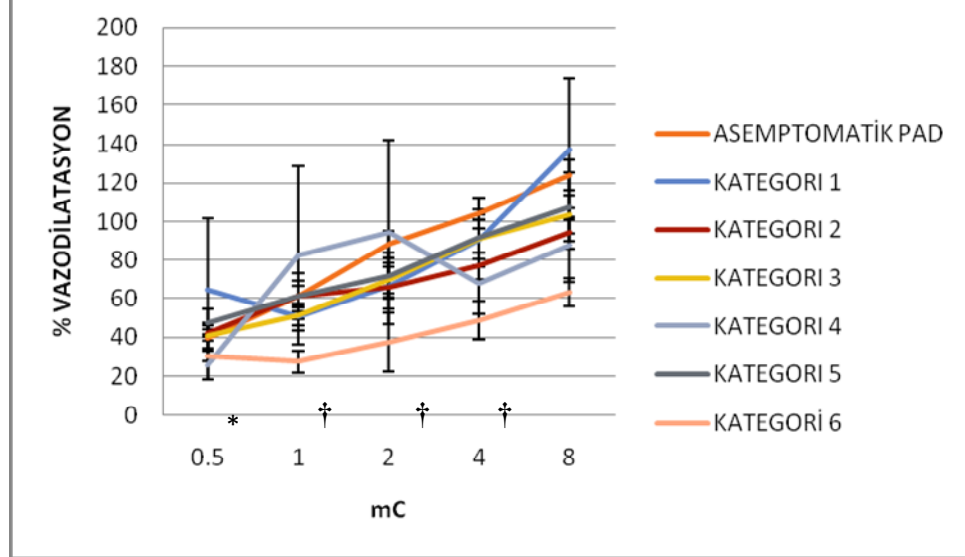
4.3. Kronik iskemi evresi yönünden karşılaştırma:

Asetilkolin ve nitropurusside ait vazodilatasyon cevabı periferik arter hastalığına neden olan patoloji yanında, patolojiden bağımsız olarak periferik arter hastalığının klinik evresine göre de karşılaştırıldı. Gerek Buerger gerekse aterosklerotik nedenlere bağlı oluşan periferik arter hastalıkları bir bütün olarak kronik iskemi evrelerine ayrılarak değerlendirildi. Bu değerlendirmede asetilkolin cevabı için asemptomatik periferik arter hastalığı ile erken evre periferik arter hastalığı arasında trend olmasına karşın istatistiksel fark bulunmadı. Ancak ileri evreler ile asemptomatik ve erken evreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi. Diğer bir ifade ile periferik arter hastalığının şiddeti arttığında asetilkolin gevşeme cevapları bozuluyor idi (* $p < 0.01$, † $p < 0.05$) (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Kronik iskemi kategorilerinde Ach'e vazodilatasyon cevabı

Periferik arter hastalığının evresine göre karşılaştırma nitroprussid cevabı için de yapıldı. İleri evreler ile asemptomatik ve erken evreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi (şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Kronik iskemi kategorilerinde nitroprusside vazodilatasyon cevabı

Tüm grupları içeren bu değerlendirme yanında periferik arter hastalığını oluşturan alt gruplar için de değerlendirme yapıldı. Ateroskleroz grubunda iskeminin ilk evreleri ile kontrol grubu arasında endotel bağımlı gevşeme cevabı yönünden belirgin bir fark bulunmamıştır. Bununla beraber

iskeminin ileri evreleri ile kontrol grubu ve hafif iskemi grupları arasında belirgin farklılık vardı (tablo 4.3).

Tablo 4.3. Aterosklerotik periferik arter hastalığı olan hastalarda iskemi kategorisi ile endotel bağımlı gevşeme cevabı arasındaki ilişki.
*p<0.01, ‡p<0.05

KRONİK ISKEMİ KATEGORİ	N	bazal ach	ach5 %	ach10 %	ach20%	ach40%	ach80%
KONTROL	34	0,33±0,01	50,8±4,8	65,5±5,8	90,7±6,9	109,1±7,8	127,5±7,0
KATEGORİ 1	9	0,50±0,06	56,1±7,7	63,6±8,9	100,4±18,7	144,2±25,4	156,9±25,7
KATEGORİ 2	21	0,61±0,05	50,4±5,0	54,4±6,5	75,6±10,3	93,4±13,6	119,7±16,9
KATEGORİ 3	13	0,43±0,03	46,5±12,6	59,9±13,3	69,9±8,9‡	99,4±19,1	24,4±23,7
KATEGORİ 4	7	0,67±0,13	25,8±5,8*	46,4±11,1	63,3±18,0	66,8±20,2‡	80,1±15,2‡
KATEGORİ 5	12	0,51±0,07	32,6±5,6*	44,4±8,8‡	78,4±21,3	100,0±29,6	116,0±34,6
KATEGORİ 6	4	0,63±0,16	46,1±21,6*	28,5±12,8*	32,7±7,7*	43,6±11,1*	75,2±16,8*

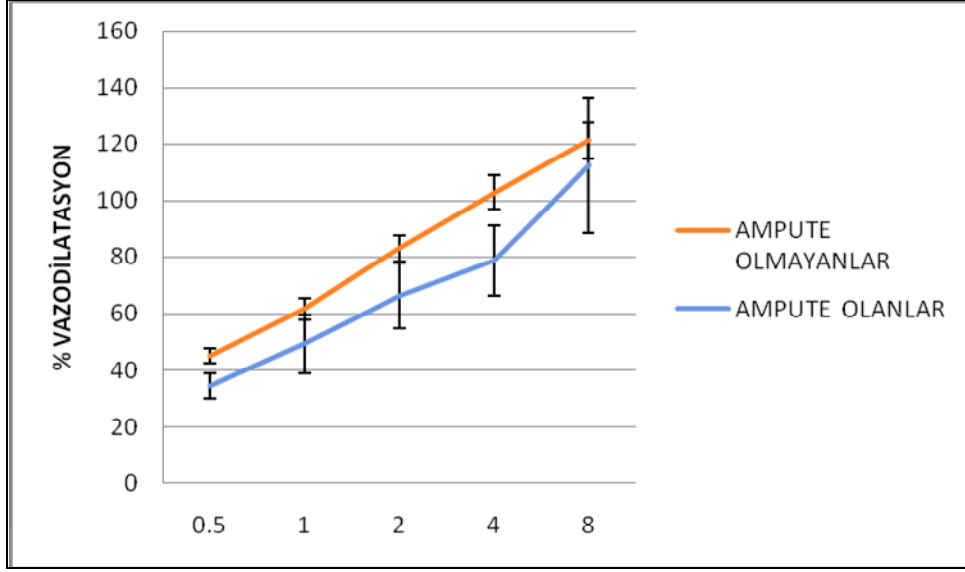
Ateroskleroz grubunda iskeminin ilk evreleri ile kontrol arasında endotel bağımsız gevşeme cevabı yönünden belirgin bir fark bulunmamıştır. Bununla beraber iskeminin ileri evreleri ile kontrol grubu ve hafif iskemi grupları arasında bazı gruplarda farklılık vardı (tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Aterosklerotik periferik arter hastalığı olan hastalarda iskemi kategorisi ile nitroprusside bağlı endotel bağımsız gevşeme cevabı arasındaki ilişki *p<0.01, ‡p<0.05

kronik iskemi kategori	n	bazal snp	snp5%	snp10%	snp20%	snp40%	snp80%
Control	34	0,34±,01	37,3±4,3	58,9±5,2	85,1±6,4	101,7±7,2	121,0±7,4
kategori 1	9	0,53±0,03	98,6±64,8	55,9±11,3	81,3±18,4	108,1±20,0	182,2±60,7
kategori 2	21	0,61±0,05	47,0±5,4	72,5±11,7	69,4±6,8	82,7±9,3	103,4±11,2
kategori 3	13	0,45±,03	39,7±9,3	49,1±7,0	59,5±8,6	82,0±12,1	98,6±13,8
kategori 4	7	0,70±0,1	18,4±3,6	34,2±8,1	42,1±11,5	47,6±11,8	60,4±10,8
kategori 5	12	0,46±,0,0	47,0±11,8	61,4±21,3	72,0±19,8	101,4±27,4	112,8±33,9
kategori 6	4	0,5±0,1	35,0±13,2	28,6±6,9	40,2±18,6‡	52,0±12,4‡	69,7±7,4*

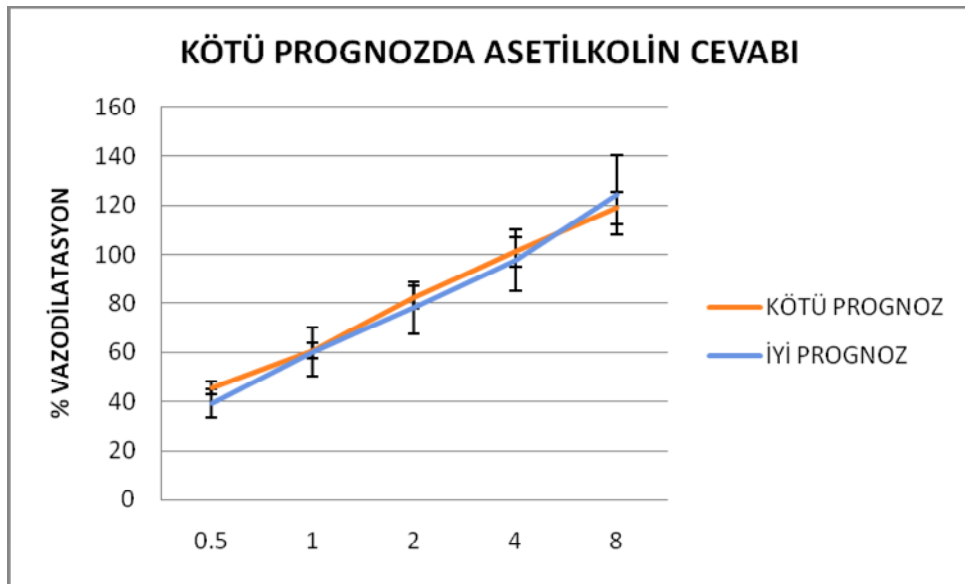
4.4. Kötü olaylar yönünden karşılaştırma

Hastalar çalışmaya alındıktan sonra kardiyovasküler olaylar, amputasyon ve mortalite açısından izlendiler. Takip süresince yapılan tedaviye bakılmaksızın 15 hastada çeşitli düzeylerde amputasyon yapıldı. Bu hastalar ile diğer hastaların başlangıç asetilkolin ve nitroprussid yanıtları karşılaştırıldığında her ne kadar bir trend olmasına karşın istatistiksel fark saptanamadı (şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Amputasyonda Ach cevabı

Takip süresince kardiyovasküler olaylar (inme, MI), amputasyon, bacağın kötüleşmesi ve ölüm gibi kötü olaylar hep bir arada değerlendirildiğinde, toplam 34 hastada kötü olay gelişti. Bu hastaların başlangıçtaki asetilkolin ve nitroprussid yanıtları kötü olay yaşamayan diğer hastalarla karşılaştırıldığında her ne kadar bir trend olmasına karşın istatistiksel fark saptanamadı (şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Kötü prognoz durumlarında Ach cevabı

5. TARTIŞMA

Periferik arter hastalıklarının oluşumu ve ilerlemesinin, sistemik olarak endotel fonksiyonlarında bozulma ile beraber olduğu öne sürülmektedir. Asetilkolin ve nitroprussid kullanılarak elde edilen vazodilatasyon cevabına dayanan endotel fonksiyonunun değerlendirildiği bu çalışmada, periferik arter hastalığı sağlıklı bireylere göre endotel fonksiyonunu olumsuz yönde etkilediği, bu etkilenmenin hastalığın evresi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu açıdan ileri evre periferik arter hastalığı daha kötü endotel fonksiyonu ile birlikte dir.

Endotel fonksiyon bozukluğu kardiyovasküler hastalıklarda yapısal değişikliklerin oluşmasına ve klinik belirtilerin ortaya çıkmasına öncülük eden çok önemli kritik bir role sahiptir. Bu nedenle özellikle son yıllarda araştırmalar endotel fonksiyon bozukluğunun erkenden belirlenmesine odaklanmıştır. Tipik olarak endotel fonksiyon bozukluğu; endotelden salınan çeşitli aktif vazodilatatörlerin (örneğin nitrik oksit, prostosiklin) azalması, buna karşın endotel kaynaklı vazokonstriktörlerin (örneğin endotelin-1) artması sonucunda vasküler sistemde vazodilatasyon ile vazokonstrüksiyon arasındaki dengenin vazokonstrüksiyon lehine bozulmasıdır¹.

Periferik arter hastalarında gerek endotel fonksiyonlarının plazma belirteçleri, gerekse bu çalışmada da ortaya çıktığı üzere endotel aracılıklı vasküler reaktivite testleri anormaldir. Bu anormalliğin nitrik oksitte azalma, oksidatif stres, inflamasyon ve ateroskleroz için eşlik eden risk faktörlerine bağlı olduğu düşünülmektedir^{2,55}. Bunun yanısıra periferik arter hastalıkları örneğin alt yada üst ekstremiteye giden arterlerin tıkanıklıklarında periferik vasküler yatağın geniş yüzeyi nedeni ile uzak alanlarda da endotel fonksiyonunu bozacak şekilde bir çok inflamatuvar ve vazoaktif mediatörlerin salınımı gerçekleşebilmektedir. Bu yüzden çoğu kez eşlik eden koroner ve serebrovasküler hastalıklar nedeni ile endotel fonksiyon bozukluğunun

sistemik etkileri tek başına koroner arter hastalığına göre daha büyük önem taşımaktadır⁽²⁾.

Endotel fonksiyon bozukluğu başlayınca sadece vazokonstrüksiyon ile sınırlı kalmaz ve proinflamatuvar, proliferatif ve prokoagülatör mekanizmalarda aktive olarak kardiyovasküler hastalıkların bütün evrelerinin gelişimine katkıda bulunur. Genel olarak endotel fonksiyon bozukluğu kardiyovasküler hastalıkların erken evrelerinden itibaren oluşur ve endotel fonksiyonunun değerlendirilmesi bu hastalıklar için risk bulunduran bireylerin incelenmesinde çok önemli bir araştırma yöntemidir⁽²⁾. Diğer bir ifade ile endotel fonksiyonunun değerlendirilmesi kardiyovasküler hastalıkların başlaması, ilerlemesi ve klinik belirtilerinin oluşumu altında yatanın anlaşılmasını sağlayabilmektedir.

Periferik arter hastalıklarının etkenlerine göre endotel fonksiyonlarının incelendiği çalışmalar çok yetersizdir. Özellikle ülkemiz için en sık karşılaşılan iki neden olan ateroskleroz ve Buerger hastalığı arasındaki fark endotel gevşeme cevapları yönünden hiç değerlendirilmemiştir. Bu çalışmada her iki grupta da endotel fonksiyonlarında bir bozulma olmasına karşın, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark Buerger grubunda ortaya çıkmıştır. Her ne kadar Buerger grubunda daha kötü bir gevşeme cevabına yönelik eğilim olsa da ateroskleroz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu bulgu olgu sayısı arttıkça değişebilir.

Endotel fonksiyonunun brakial arterde akım aracılıklı dilatasyon (FMD) yöntemi ile değerlendirilmesinin aralarında periferik arter hastalığında bulunduğu birçok kardiyovasküler patolojide prognostik bir öneme sahip ölçüt olduğu gösterilmiştir. 131 periferik arter hastasını akut kardiyovasküler olaylar yönünden 23 ay izledikleri bir çalışmada Brevetti ve ark. akut kardiyovasküler olay geçiren hastaların başlangıç FMD değerlerinin daha düşük olduğunu belirlemişlerdir^{47,55}. Aynı çalışmada periferik arter hastalarında FMD ile beraber ABI'nın birlikte kullanıldığında prognoz

tahmininde güvenilirliğin arttığı gösterilmiştir. Benzer bir diğer çalışmada 199 periferik arter hastası (bu grup alt ekstremite periferik arter hastaları yanında karotis ve aorta anevrizması hastalarını da içeren heterojen bir topluluktur) FMD ölçümü sonrası 1.2 yıl izlenmiş ve kardiyovasküler olay (MI, unstable anjina ve inme) geçiren 35 hastanın ilk FMD değerlerinin anlamlı ölçüde düşük olduğu belirlenmiştir⁵.

Bununla beraber periferik arter hastalığında endotel fonksiyonunun genel kardiyovasküler sağlık açısından prognostik önemini araştıran sadece altı çalışma vardır. Bunların tamamı az sayıda ve heterojen hasta popülasyonunu içermektedir. Yanlızca iki çalışmada aynı popülasyon için takip süresi 30 gün ve 1 yıldır. Bu çalışmalarda kardiyovasküler olayların tanımında standardizasyon yoktur. Bizim çalışmamızda ise endotel fonksiyon bozukluğu ile kötü prognoz arasında bir ilişki gösterilememiştir. Bu durum takip süresinin kısalığı nedeni ile yeterince amputasyon, myokard enfarktüsü, serebrovasküler olay ve bunların sonucunda da ölüm görülmemesine bağlı olabilir. Benzer bir şekilde gerek ateroskleroz gerekse Buerger grubunda hasta sayısı böyle detaylı bir sorunun cevabını araştırmaya yeterli değildir. Çalışma devam edip, yeni hastalar alındıkça ve hasta takibi devam ettikçe yapılacak olan değerlendirmeler bu konuya ışık tutacaktır.

Bütün çalışmalarda endotel fonksiyon bozukluğunun kardiyovasküler morbiditeyi artırdığı bildirilmiş olmasına karşın, ekstremite korunmasına yada amputasyon oranlarına, yapılan cerrahi girişimlerin sonuçlarına ait bilgi bulunmamaktadır⁵⁶⁻⁶¹. Yapmış olduğumuz çalışma sadece iki ana patolojiye bağlı periferik arter hastalarını içermektedir. He ne kadar çalışmamızda mikrovasküler fonksiyon bozukluğunun prognozla ilgisi tam olarak belirlenememiş olmakla beraber, bu durum takip süresinin kısa olmasına ve hasta sayısındaki yetersizliğe bağlı olabilir. Bu nedenle çalışmaya hasta alımı ve hastaların kardiyovasküler olaylar açısından takibi devam etmektedir.

Bazı istisnalar dışında çalışmamızdaki bulgular periferik arter hastalığının şiddeti arttıkça, mikrovasküler fonksiyon bozukluğunun daha da derinleştiğine işaret etmektedir. Ancak daha önceki çalışmalarda periferik arter hastalığının evresi ile endotel fonksiyonu arasında bir ilişkinin olabileceği gösterilememiştir.

Sağlıklı kontrol, kladikasyo ve kritik ekstremite iskemisi gruplarını içeren bir çalışmada FMD yönünden kontrol ile periferik arter hastalığı grupları arasında fark olmasına karşın, periferik arter hastalığını oluşturan kritik iske mi ve kladikasyo grupları arasında fark belirlenememiştir⁵⁶. Temel olarak doğal seyri birbirinden farklı olan kritik ekstremite iskemisi ve kladikasyo açısından bu bulgu çelişkilidir. Kritik ekstremite iskemisi tanımlayan hastalarda gerek iskemik ekstremitenin gerekse genel kardiyovasküler sağlık yönünden bireylerin akıbetinin kladikasyo hastalarına kıyasla daha kötü olduğu bilinirken endotel fonksiyonunun da farklı olması beklenirdi. Bu çalışma gerek kontrol grubunun kardiyovasküler risk faktörlerini bulundurmaması, gerekse periferik arter hasta grubunun Klinik Kronik İske mi Kategori Sınıflaması yerine sadece kladikasyo ve kritik iske mi gibi kaba alt gruplara ayrılmış olması yönünden eleştirilebilir.

Çalışmamızda Buerger hastalığında da mikrovasküler fonksiyonun bozulduğu belirlenmiştir. Buerger hastalığında endotel fonksiyonu ile ilgili çalışmalar çok kısıtlıdır. Ancak yapılmış bir kaç çalışmada Buerger hastalarının kontrol bireylerine göre endotel bağımlı gevşeme cevabının bozulması ile karakterize endotel fonksiyonunda bozulma olduğu saptanmıştır^{61,62}.

6. SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçlarına göre periferik arter hastalıklarının etyolojisi yönünden endotel fonksiyonu açısından fark bulunmamıştır. Bununla beraber aterosklerotik periferik arter hastalığı ve Buerger hastalığı kontrol grubuna göre mikrovasküler fonksiyon bozukluğu ile birlikte dir.

Ayrıca kronik iskemi kategorisine göre yapılan sınıflamayla hastalar gruplandırıldığında hastalığın evresi ilerledikçe mikrovasküler fonksiyonların daha da bozulduğu görülmüştür.

Çalışmamızda endotel disfonksiyonunun şiddeti ile periferik arter hastalığının prognozu ve kardiyovasküler olayların tahmini açısından net bir ilişki gösterilememiştir. Bu durum takip süresinin kısalığı nedeni ile yeterince amputasyon, myokard enfarktüsü, serebrovasküler olay ve bunların sonucunda da ölüm görülmemesine bağlı olabilir.

Çalışmaya devam edip, yeni hastalar alındıkça ve hasta takibi devam ettikçe yapılacak olan değerlendirmeler bu konuya ışık tutabilir.

ÖZET

Periferik Arter Hastalıklarında Endotel Disfonksiyonunun ve Klinik Öneminin Araştırılması

Genel olarak ateroskleroz ve tromboanjitis obliterans (TAO=Buerger Hastalığı) sonucu gelişen periferik arter hastalıkları ekstremitelerde lokal iskemik semptomlar ve hastalığın sistemik etkilerine bağlı olarak bazen ölümlü sonuçlanabilen daha ciddi uzak organ tutulumları açısından büyük önem taşırlar. Bu hastalıklara yaklaşımdaki en önemli sorun lokal ve sistemik komplikasyonlar için prognostik faktörleri tam olarak belirleyebilmektir. Son yıllardaki çalışmalar endotel fonksiyonlarının hastalıklardaki sistemik patolojiyi değerlendirmek için kullanılabilir bir yöntem olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışma periferik arter hastalıklarında etyoloji ve semptomlar ile endotel fonksiyonları arasındaki ilişkinin araştırılması ve endotel fonksiyonunun değerlendirilmesinin prognostik öneminin ortaya konulması amacıyla yapılmıştır. Çalışmamız 113 'ü periferik arter hastası, 30'u kontrol grubu olmak üzere toplam 143 birey üzerinde prospektif olarak gerçekleştirilmiştir. Hastalarda endotel fonksiyonunun belirlenmesi amacıyla lazer dopler iyontoforez yöntemi kullanılmıştır. Tüm hastalar periferik arter hastalığının lokal iskemik komplikasyonları ve kardiyovasküler olaylar açısından takip edilmiştir.

Sonuç olarak periferik arter hastalıklarının etyolojisi yönünden endotel fonksiyonu açısından fark bulunmamıştır. Bununla beraber aterosklerotik periferik arter hastalığı ve Buerger hastalığı kontrol grubuna göre mikrovasküler fonksiyon bozukluğu ile birlikte dir. Ayrıca kronik iskemi kategorisine göre yapılan sınıflamayla hastalar gruplandırıldığında hastalığın evresi ilerledikçe mikrovasküler fonksiyonların daha da bozulduğu görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Ateroskleroz, endotelial disfonksiyon, iyontoforez, lazer dopler

SUMMARY

Investigation of Endothelial Dysfunction and Clinical Significance in The Peripheral Arterial Disease

Generally peripheral artery diseases developing as a result of atherosclerosis and Thromboangiitis Obliterans have great clinical importance due to their local ischemic symptoms and distant organ involvement (due to systemic effects) which may even result in death. The most important problem while dealing with these diseases is the difficulty in identifying the prognostic factors. Recent studies suggest that endothelial functions can be used to assess the systemic pathology of disease.

This study was conducted to evaluate the relationship between etiology/symptoms and endothelial functions and to determine the prognostic functions and their clinical importance. The study was conducted prospectively on 143 subjects, whom 113 were patients of peripheral arterial disease and 30 were healthy control subjects. Laser Doppler iontophoresis method was used to determine the endothelial function. All subjects were followed up for local ischemic and cardiovascular complications.

As a result, no difference could be detected in regard to the etiology of peripheral arterial diseases. However, atherosclerotic peripheral arterial disease and Buerger's disease were found to be associated with microvascular dysfunction when compared to the control group. Also, when the patients were categorized according to chronic ischemia, microvascular function was seen to deteriorate as the stage of the disease progress.

Key Words: Atherosclerosis, endothelial dysfunction, iontophoresis, laser doppler

KAYNAKLAR

1. Turner J, Belch JJF, Khan F. Current Concepts in Assessment of Microvascular Endothelial Function Using Laser Doppler Imaging and Iontophoresis. *Trends Cardiovasc Med* 2008; 18: 109–116
2. Brevetti G, Schiano V, Chiariello M. Endothelial dysfunction: a key to the pathophysiology and natural history of peripheral arterial disease? *Atherosclerosis*. 2008;197(1):1-1
3. Fishman Ap. Endothelium. A distributed organ of diverse capabilities. *Ann NY Acad Sci* 1982; 401:1-8
4. Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J Am Coll Cardiol*. 1999; 34: 631-638
5. Griffith TM. Modulation of blood flow and tissue perfusion by endothelium derived relaxing factor. *Exp Physiol* 1994; 79:873-913
6. Kooler A, Kaley G. Shear stress dependent regulation of vascular resistance in health and disease: role of endothelium. *Endothelium* 1996; 4:247-272
7. RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cell in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholin. *Nature*. 1980; 228:376-376
8. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by asetilcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6
9. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-6
10. Rubbo H, Trostchansky A, Botti H, et al. Interactions of nitric oxide and peroxynitrite with low-density lipoprotein. *Biol Chem*. 2002; 383:547–552.
11. Hurst's the Heart ,9 th edition 1998; Chapter: 4 page 132
12. Meetha Medhora et al. Identifying endothelial- derived hyperpolarizing factors Recent approach to assay the role of epoxyeicosatrienoic acide. *Jpn. J. Pharmacol*. 2001; 86:369-375

13. Wiliam B.C. David R. Harder. Endothelial- derived hyperpolarizing factors and vascular cytocrom P450 metabolites of arachidonic acid in the regulation of tone. *Circ. Res.* 1999; 84:484-488
14. Matoba T. et al.. Hydrogen peroxide is an endothelial derived hyperpolarizing factor in mice *J. Clin. Invest* 2000; 106,1521-1530
15. Shimokawa H. et al. The importance of the hyperpolarizing mechanism increases as the vessel size decreases in endothelium dependent relaxation in rat mesenteric circulation. *J Card. Pharmacol .* 1996; 28: 703-711
16. Coleman RA, Smith WL, Narumiya S. International union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol Rev* 1994; 46:205-29
17. Herrmann J, Lerman A. The endothelium: Dysfunciton and beyond. *J Nuc Cardiol* 2001; 8:197-206
18. Lüscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists. *Circulation* 2000; 102:24-34
19. Levin ER. Endothelins. *N Eng J Med* 1995; 333:356-63
20. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996; 32:743-751
21. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M et al. Elevation of tumor necrosis factor alpha and increased risk of recurrrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000; 101:2149, 2153
22. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfield T et al. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation* 1998; 98:1164-71
23. Diodati JG, Dakak N, Gilligan DM et al. Effect of atherosclerosis on endothelium dependent inhibition of platelet activation in humans. *Circulation* 1998; 98:17-24

24. Thogersen AM, Jansson JH, Boman K et al. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998; 98:2241-7
25. Stein CM, Brown N, Vaughan DE et al. Regulation of local tissue type plasminogen activator release by endothelium dependent and endothelium independent agonists in human vasculature. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:117- 22
26. Khrbanda RK, Deanfield J. Functions of the healthy endothelium. *Coroner Artery Disease* 2001; 12:485-91
27. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature* 1993; 362:801-9
28. Watts GF, Playford DA. Dyslipoproteinemia and hyperoxidative stress in the pathogenesis of endothelial dysfunction in non-insulin dependent diabetes mellitus: an hypothesis. *Atherosclerosis* 1998; 141:17-30
29. Bucala R, Makita Z, Koschinsky T et al. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:6434-8
30. Creager MA, Cooke JP, Mendelson ME et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86:228-34
31. Zeiher AM, Schachinger V, Minners J. Long term cigarette smoking impairs endothelium dependent coronary arterial vasodilator function. *Circulation* 1995; 92:1094-100
32. Campisi R, Czernin J, Schoder H, et al. L-arginine normalizes coronary vasomotion in long term smokers. *Circulation* 1999; 99:491-7
33. Tedgui A., Mallat Z., Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. *Circ Res* 2001; 88:877-887.
34. Shimokawa H. Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31:23-37
35. Barton M, Cosentino F, Brandes RP, et al. Anatomic heterogeneity of vascular aging: role of nitric oxide and endothelin. *Hypertension* 1997; 30:817-24

36. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, et al. The effect of cholesterol lowering and antioxidant therapy on endothelium dependent coronary vasomotion. *N Eng J Med* 1995; 332:488-93
37. Sudhir K, MacGregor JS, Gupta M, et al. Effect of selective angiotensin II antagonism and angiotensin converting enzyme inhibition on the coronary vasculature in vivo: intravascular two dimensional and doppler ultrasound studies. *Circulation* 1993; 87:931-8
38. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315:1046–1051.
39. Drexler H, Zeiher AM. Endothelial function in human coronary arteries in vivo. *Hypertension* 1991; 18:90-9
40. Vogel RA, Coretti MC, Plotnick GD. A comparison of brachial artery flow mediated vasodilation using upper and lower arm arterial occlusion in subjects with or without coronary risk factors. *Clin Cardiol* 2000; 23:571-75
41. Kubli, S. et al. Reproducibility of laser Doppler imaging of skin blood flow as a tool to assess endothelial function. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2000; 36:640–648
42. Joannides, R. et al. Clinical methods for the evaluation of endothelial function – a focus on resistance arteries. *Fundam. Clin. Pharmacol* 2006; 20:311–320
43. Jansson JH, Nilsson TK, Johnson O. Von Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death. *Br Heart J* 1991; 1991:351-5
44. Raitakari OT, Celermajer DS. Testing for endothelial dysfunction. *Ann Med* 2000; 32(5):293-304
45. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, et al. Novel mechanism for endothelial dysfunction. Dysregulation of dimethylarginin dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999; 99:3092-5
46. Brevetti G, Silvestro A, Giacomo SD, Bucur R, DiDonato AM, Schiano V, Scopacasa F. Endothelial dysfunction in peripheral arterial disease is related to increase in plasma markers of inflammation and severity of peripheral circulatory impairment but not to classic risk factors and atherosclerotic burden. *J Vasc Surg* 2003; 38:374-9

47. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease: additive value of flow-mediated dilation to ankle-brachial pressure index. *Circulation*. 2003; 108(17):2093-8
48. Gokce N, Keaney JF Jr, Hunter LM, Watkins MT, Nedeljkovic ZS, Menzoian JO, Vita JA. Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41(10):1769-75
49. Gokce N, Keaney JF, Hunter LM ve ark. Risk stratification for postoperative cardiovascular events via noninvasive assessment of endothelial function. A prospective study. *Circulation* 2002; 105:1567-1572
50. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K ve ark. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:2673-78
51. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, ve ark. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation* 2001; 104:191-196
52. Felmeden DC, Spencer CGC, Belgore FM ve ark. Endothelial damage and angiogenesis in hypertensive patients: Relationship to cardiovascular risk factors and risk factor management. *Am J Hypertens* 2003; 16:11-20
53. Shionoya S. Diagnostic criteria of Buerger's disease. *Int J Cardiol* 1998; 66:243–245
54. R.B. Rutherford, J.D. Baker, C. Ernst, K.W. Johnston, J.M. Porter and S. Ahn *et al.*, Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version, *J Vasc Surg* 26 (1997); 3:517–538
55. Brevetti G, Silvestro A, Giacomo SD, Bucur R, DiDonato AM, Schiano V, Scopacasa F. Endothelial dysfunction in peripheral arterial disease is related to increase in plasma markers of inflammation and severity of peripheral circulatory impairment but not to classic risk factors and atherosclerotic burden. *J Vasc Surg* 2003; 38:374-9

56. Medina F, De Haro J, Martinez-Aguilar E, Florez A, March J, Acin F. Relationship Between Noninvasively Measured Endothelial Function and Peripheral Arterial Disease. *Angiology*. 2008 Dec 2. [Epub ahead of print]
57. Blann AD, McCollum CN. Circulating endothelial cell/leukocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 1994; 72:151–4
58. Blann AD, McCollum CN. vonWillebrand factor and soluble thrombomodulin as predictors of adverse events among subjects with peripheral or coronary atherosclerosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999; 10:375–80
59. Silvestro A, Brevetti G, Schiano V, Scopacasa F, Chiariello M. Adhesion molecules and cardiovascular risk in peripheral arterial disease. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 improves risk stratification. *Thromb Haemost* 2005; 93:559–63
60. Huang AL, Silver AE, Shvenke E, et al. Predictive value of reactive hyperemia for cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease undergoing vascular surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:2113–9
61. Makita S, Nakamura M, Murakami H, Komoda K, Kawazoe K, Hiramori K. Impaired endothelium-dependent vasorelaxation in peripheral vasculature of patients with thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *Circulation*. 1996; 94(9 Suppl):II211-5
62. Joras M, Poredos P, Fras Z. Endothelial dysfunction in Buerger's disease and its relation to markers of inflammation. *Eur J Clin Invest*. 2006; 36(6):376-82