

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
PERFÜZYON TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**AÇIK KALP AMELİYATI OLAN HASTALARIN
PERİKARD SIVISINDA VE PLAZMASINDA ÜÇ
BİLİNMEYENLİ DENKLEM: İNTERLÖKİN 33
(IL 33), FETUİN A ve SİTOKERATİN 18 İLİŞKİSİ**

Reşat DİKME

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN

ŞANLIURFA

2021

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
PERFÜZYON TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**AÇIK KALP AMELİYATI OLAN HASTALARIN
PERİKARD SIVISINDA VE PLAZMASINDA ÜÇ
BİLİNMEYENLİ DENKLEM: İNTERLÖKİN 33
(IL 33), FETUİN A ve SİTOKERATİN 18 İLİŞKİSİ**

Reşat DİKME

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 17009 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2021

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında destek ve yardımlarını esirgemeyen Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışman hocam olan Doç. Dr. Mehmet Salih AYDIN'a;

Doktora eğitimi süresince problemlere yaklaşım ve çözüm yollarıyla ufkumu açan, tez çalışmamda destek olan Prof. Dr. Mustafa GÖZ'e;

Doktora eğitimi ve tez çalışmam süresince katkı ve yardımlarını esirgemeyen hocam Dr. Öğr. Üyesi Nazım KANKILIÇ'a;

Çalışmama 17009 nolu proje ile maddi destek ve olanak sağlayan Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü ve çalışanlarına;

Akademik hayatıma öncü olan, yön veren, bilgi ve deneyimlerini sürekli aktaran değerli hocam ve mesai arkadaşım Doç. Dr. Nebiye YENTÜR DONİ'ye;

Tez çalışmam süresince malzeme temini ve laboratuvar çalışmasında sınırsız destek veren Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'ya;

Tez çalışmasının yürütülmesi sırasında gerek malzeme gerekse çalışma açısından katkı ve yardımlarını esirgemeyen aynı zamanda sınıf ve mesai arkadaşım Öğr. Gör. Dr. Ebru TEMİZ'e;

Çalışma için hasta numunelerini toplama konusunda yardımcı olan değerli öğrencim Perfüzyonist Gafure ARSLAN'a;

Doktora eğitimi süresince arkadaşlık, samimiyet ve yardımlarını esirgemeyen Yasemin HACANLI ve Uzm. Perfüzyonist Ezhar ERSÖZ'e;

İyi ve kötü günlerde beraber olduğumuz arkadaşlarım Abdullah TAŞKIN, Mahmut PADAK ve Ömer GÖÇ'e;

Geçmişte eğitimime katkı veren değerli öğretmen ve hocalarıma;

Biyokimya, Mikrobiyoloji ve Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalındaki tüm çalışan ve öğrenci olan arkadaşlarıma;

Sağlık Bilimleri Enstitüsü yönetimi ve tüm enstitü çalışanlarına;

Hak ettiği zamanı kendilerine ayıramadığım kızlarım Zeynep Erva ve Zümra ile eşim Tuğba'ya;

Bugünlere gelmeme vesile olan, beni yetiştiren ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	i
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	vii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Koroner Arter Hastalığı (KAH)	4
2.1.1. KAH Prevalansı.....	4
2.1.2. KAH'ta Genel Risk Faktörleri.....	5
2.1.3. Akut Koroner Sendrom ve Miyokard İnfarktüsü	5
2.1.4. KAH'ta Semptomlar / Klinik Özellikler	6
2.1.5. KAH'ta Teşhis.....	7
2.1.6. KAH'ta Patofizyolojik Mekanizmalar	8
2.1.7. Normal Damarın Endotel Yapısı ve Fonksiyonları	10
2.1.8. Endotel Disfonksiyonu	11
2.1.9. Ateroskleroz İçin Risk Faktörleri	11
2.1.10. KAH'ta Toplam Riskin Hesaplanması.....	13
2.1.11. KAH'ta Yeni Risk Faktörleri	14
2.1.12. KAH'ta Tedavi Prensipleri.....	14
2.2. Perkütan Koroner Girişim, Koroner Arter Bypass Greft ve Kardiyopulmoner Bypass	14
2.3. Perikard (Perikardiyum)	15
2.3.1. Perikardiyal Sinüsler ve Sinirler.....	18
2.3.2. Perikardın Gelişmesi	18
2.3.3. Perikardiyal Boşluk, Perikardiyal Sıvı ve İçeriği	19
2.3.4. Perikard ile PS'nin Önemli Fonksiyonları ve Fizyolojisi	20
2.3.5. Hastalık Halinde Perikardın Değişimleri.....	21
2.3.6. Perikardiyal Hidrodinamik ve Lenf Drenajı.....	23
2.3.7. Perikardiyal Basınç.....	23

2.3.8. Perikardiyal Efüzyon	24
2.3.9. Kalp Tamponadı	24
2.3.10. Perikardiyal Sıvıda Yapılan İncelemeler	25
2.3.11. Perikard Tedavilerinin Geleceği	25
2.4. İnterlökinler (IL).....	26
2.4.1. IL 33	28
2.4.2. Kardiyovasküler Hastalıklarda IL 33 Rolü ve Etki Mekanizması	29
2. 4. 3. IL 33’ün KAH Üzerine Çelişen Eylemleri	35
2.5. Fetuin A	37
2. 5. 1. Fetuin A’nın KAH Üzerine Çelişen Eylemleri	39
2.6. Sitokeratin 18 (CK 18)	39
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	42
3.1. Çalışma Yapılan Hastalar	42
3.2. Perikardiyal Sıvının Eldesi	42
3.3. Kan Plazmasının Eldesi	42
3.4. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyon Çalışma Aşamaları.....	43
3.4.1. PS ve Plazmada Total RNA (mRNA) İzolasyonu.....	43
3.4.2. PS ve Plazmada mRNA’dan cDNA Eldesi	44
3.4.3. PS ve Plazmada Elde Edilen cDNA’ların Kalite ve Miktar Tayini.....	45
3.4.4. PS ve Plazmada mRNA- cDNA Preamplifikasyonu.....	45
3.4.5. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyonu İçin PCR Protokolü.....	45
3.4.6. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyon İçin Real-Time PCR (qRT-PCR) Yöntemi	46
3.4.7. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Ekspresyon Düzeyi İçin Primer Seçimi	47
3.5. PS ve Plazmada ELISA ile IL 33, Fetuin A ve CK 18 Miktar Tayini	47
3.5.1. IL 33 Miktarı İçin ELISA Çalışması	47
3.5.2. Fetuin A Miktarı İçin ELISA Çalışması.....	48
3.5.3. CK 18 Miktarı İçin ELISA Çalışması	49
3.6. İstatistiksel Analiz	50
4. BULGULAR.....	51
4.1. Çalışma Grubuna Ait Demografik Veriler	51
4.2. PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18’in ELISA Sonuçları.....	51

4.3. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyon Sonuçları	54
4.4. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A'nın ELISA ve Gen Ekspresyon Sonuçlarının İstatistiksel Analizi	59
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	70
KAYNAKLAR	72
EKLER.....	89



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. KAH ve AKS gelişimi.....	9
Şekil 2. 2. Perikard anatomisi.	16
Şekil 2. 3. Perikardiyum tabakaları.....	17
Şekil 2. 4. Transvers ve oblik perikardiyal sinüsler.....	18
Şekil 2. 5. IL 33/ST2L sinyali ile aktive olan hücre içi yolakları	31
Şekil 2. 6. IL 33'ün aterosklerozda birbiriyle çelişen eylemleri	36
Şekil 4. 1. IL 33 standart doğrulama grafiği	51
Şekil 4. 2. Fetuin A standart doğrulama grafiği.....	52
Şekil 4. 3. CK 18 standart doğrulama grafiği	52
Şekil 4. 4. PS ve Plazmada IL 33'ün ELISA sonuçlarının ortalama değerleri	53
Şekil 4. 5. PS ve Plazmada Fetuin A'nın ELISA sonuçlarının ortalama değerleri.....	53
Şekil 4. 6. PS ve Plazmada CK 18'in ELISA sonuçlarının ortalama değerleri	53
Şekil 4. 7. PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18' e ait ELISA sonuçları	54
Şekil 4. 8. IL 33 ve Fetuin A qRT-PCR döngü değerleri	55
Şekil 4. 9. PS ve Plazmada IL 33 (ct) değerleri	57
Şekil 4. 10. PS ve Plazmada Fetuin A (ct) değerleri.....	57
Şekil 4. 11. PS ve Plazmada IL 33 (fold change) değerleri	58
Şekil 4. 12. PS ve Plazmada Fetuin A (fold change) değerleri.....	58
Şekil 4. 13. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A ‘ct’ ve ‘fold change’ sonuçları	59

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2. 1. IL-1 Familya Üyeleri	27
Tablo 3. 1. mRNA'dan cDNA eldesi için Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımı	44
Tablo 3. 2. mRNA'dan cDNA eldesi için reaksiyon karışımı.....	45
Tablo 3. 3. Primer pool karışımı.....	45
Tablo 3. 4. IL 33 ve Fetuin A ekspresyon düzeyi için rutin PCR protokolü.....	46
Tablo 3. 5. IL 33 ve Fetuin A ekspresyon düzeyi için qRT-PCR bileşenleri.....	48
Tablo 3. 6. IL 33 ve Fetuin A için qRT-PCR ayarları.....	48
Tablo 3. 7. IL 33, Fetuin A ve Beta Actin forward ile reverse primerleri.....	48
Tablo 4. 1. Çalışmaya alınan hastalara ait demografik özellikler	51
Tablo 4. 2. PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18'e ait ELISA sonuçları.....	52
Tablo 4. 3. PS ve Plazma örneklerinde numunelere ait RNA ölçümleri.....	55
Tablo 4. 4. PS'de numunelere ait Beta Actin, IL 33 ve Fetuin A'nın Ct değerleri	56
Tablo 4. 5. Plazmada numunelere ait Beta Actin, IL 33 ve Fetuin A'nın Ct değerleri ..	56
Tablo 4. 6. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A'ya ait gen ekspresyon sonuçları.....	57
Tablo 4. 7. PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18'in ELISA ve gen ekspresyon sonuçlarının korelasyonu	61

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ACCF: American College of Cardiology-Amerikan Kardiyoloji Koleji Vakfı

AHA: American Heart Association-Amerikan Kalp Derneği

AKS: Akut Koroner Sendrom

AMI: Acute Myocardial Infarction-Akut Miyokard Enfarktüsü

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

BSA: Body Surface Area-Vücut Yüzey Alanı

CABG: Coronary Artery Bypass Graft-Koroner Arter Bypass Grefti

CAD: Coronary Artery Disease-Koroner Arter Hastalığı

CAM: Cell Adhesion Molecule-Hücre Adezyon Molekülleri

cDNA: Complementary DNA-Tamamlayıcı DNA Komplementer DNA

CK: Sitokeratin

Cp: Crossing Points- Algılama Eşiğindeki Döngü Sayısı

CPB: Cardiopulmonary Bypass-Kardiyopulmoner Bypass

Ct: Cycle Threshold-Döngü Eşiği

cTn I: Cardiac Troponin-Kardiyak Troponin I

DNA: Deoksiribonükleik Asit

EKG: Elektrokardiogram

EKO: Ekokardiyografi

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assays- Enzim Bağlı İmmünosorbent Testleri

ESC: European Society of Cardiology-Avrupa Kardiyoloji Derneği

FGF: Fibroblast Growth Factor- Fibroblast Büyüme Faktörü

GDF-15: Growth Differentiation Factor 15- Büyüme Farklılaşma Faktörü 15

ICAM-I: Intercellular Adhesion Molecule 1-Hücreler Arası Yapışma Molekül 1

IL 33: İnterlökin 33

IL1RL1: Interleukin 1 Receptor Like 1- İnterlökin 1 Reseptör Like 1

IL-1β: İnterlökin 1 Beta

IL-6: İnterlökin 6

ITA: Internal Thoracic Artery-İç Torasik Arter

KABG: Koroner Arter Bypass Graft Cerrahisi

KAH: Koroner Arter Hastalığı

KVH: Kardiyovasküler Hastalıklar

LDH: Laktat Dehidrojenaz

Lp a: Lipoprotein a

MCP 1: Monocyte Chemoattractant Protein-1-Monosit Kemotaksis Protein 1

MI: Myocardial Infarction-Miyokard İnfarktüsü

miRNA: MikroRNA

NF-HEV: Nuclear Factor From High Endotelial Venules- Yüksek Endotel Venüllerinden Kaynaklanan Nükleer Faktör

NK: Natural Killer- Doğal Öldürücü Hücre

NSTEMI: Non ST Segment Elevation Myocardial Infarction- ST Segment Elevasyonu Olmayan Miyokard Enfarktüsü

OD: Optik Dansite

PCI: Percutaneous Coronary Interventions- Perkütan Koroner Müdahale

PKG: Perkütan Koroner Girişim

PS: Perikardiyal Sıvı

qRT-PCR: Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction- Gerçek zamanlı PCR

ST2: Suppression of Tumorigenicity-2- Interleukin 1 Receptor Like 1-IL1RL1

STEMI: ST Segment Elevation Myocardial Infarction-ST Segment Elevasyonu Olan Miyokard Enfarktüsü

TEKHARF: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri

Th2: T Helper 2

TNF: Tümör Nekroz Faktör

UA: Unstable Angina- Kararsız Angina

VCAM-I: Vascular Cell Adhesion Protein 1-Vasküler Hücre Yapışma Proteini 1

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor-Vasküler Endotel Büyüme Faktörü

VSMC: Vascular Smooth Muscle Cells-Vasküler Düz Kas Hücreleri

ÖZET

AÇIK KALP AMELİYATI OLAN HASTALARIN PERİKARD SIVISINDA VE PLAZMASINDA ÜÇ BİLİNMEYENLİ DENKLEM: İNTERLÖKİN 33 (IL33), FETUİN A ve SİTOKERATİN 18 İLİŞKİSİ

Reşat DİKME

Perfüzyon Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Koroner arter hastalığında İnterlökün 33, Fetuin A ve Sitokeratin 18 gibi biyobelirteçler hastalığın tanı ve tedavisinde yeni ve etkin olan faktörler arasındadır. Bu biyobelirteçler insan plazmasında araştırılmasına rağmen, perikardiyal sıvıda araştırılmamıştır. Bu çalışma koroner arter hastalarının perikardiyal sıvısına ve sistemik dolaşımına geçen İnterlökün 33, Fetuin A ve Sitokeratin 18 düzeylerinin karşılaştırılması, aralarındaki bilinmeyen ilişkinin çözülmesi ve hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasına katkı sağlamak amacıyla yapılmıştır.

Çalışmaya koroner arter bypass ameliyatı olan 40 hasta dâhil edilmiş olup bu hastalardan perikardiyal sıvı ve venöz kan örnekleri elde edilmiştir. Daha sonra perikardiyal sıvı ve plazmada ELISA ve qRT-PCR yöntemleriyle İnterlökün 33, Fetuin A ve Sitokeratin 18'in protein ve gen ekspresyon seviyeleri tespit edilerek veriler değerlendirilmiştir.

ELISA sonuçlarına göre İnterlökün 33 düzeyi perikardiyal sıvıda 57,09 ng/L, plazmada 50,15 ng/L çıkarken, Fetuin A düzeyi perikardiyal sıvıda 1060,53 mg/L, plazmada 725,85 mg/L çıkmıştır. Sitokeratin 18 düzeyi ise perikardiyal sıvıda 1046,42 ng/ml çıkarken plazmada 1025,31 ng/ml çıkmıştır. Gen ekspresyonu sonuçlarına göre İnterlökün 33 (ct) değeri; perikardiyal sıvıda 8,30 çıkarken, plazmada 18,25 çıkmış, Fetuin A (ct) değeri ise perikardiyal sıvıda 14,55 çıkarken, plazmada 21,02 çıkmıştır.

ELISA çalışmasına göre İnterlökün 33 ve Fetuin A değerlerinde anlamlı ($p<0,05$), Sitokeratin 18 değerinde ise anlamlı olmayan ($p>0,05$) sonuç çıkmıştır. Gen ekspresyonu

alışmasına göre ise İnterlökin 33 ve Fetuin A değerlerinde anlamlı ($p<0,05$) sonuç çıkmıştır. Yapılan korelasyon analizinde plazmada Fetuin A protein seviyesi ile Fetuin A gen ekspresyonu arasında negatif yönde ($r=-0,463$; $p=0,015$), Fetuin A protein seviyesi ile İnterlökin 33 gen ifadesi arasında negatif yönde ($r=-0,650$; $p=0,000$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Bu durum bize plazmada IL 33 ve Fetuin A gen ekspresyonlarının paralel değişmesine rağmen, Fetuin A protein seviyesinin anti paralel değiştiğini göstermektedir. Plazmada Sitokeratin 18'in İnterlökin 33 ile Fetuin A arasında anlamlı bir korelasyonu olmadığı saptanmıştır. Perikardiyal sıvıda IL 33, Fetuin A ve Sitokeratin 18 arasında korelasyon saptanmamıştır.

Yaptığımız çalışmada gerek ELISA gerekse gen ekspresyonu sonuçlarına göre perikardiyal sıvıdaki İnterlökin 33, Fetuin A ve Sitokeratin 18 değerleri plazmaya göre daha yüksek çıkmıştır. Bu durum bize perikardiyal sıvının kalpteki fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri yansıtabildiğini, dolayısıyla tanıs ve tedavi amaçlı olarak perikardiyal sıvının kullanılabileceğini göstermektedir.

İnterlökin 33 seviyesinin perikardiyal sıvı ve plazmada düşük çıkması koroner arter hastalarında İnterlökin 33 seviyesinin azaldığını göstermektedir. Plazmada orta seviyeli Fetuin A değerleri koroner arter hastalarında Fetuin A'nın azaldığını göstermektedir. Ayrıca perikardiyal sıvı ve plazmada Sitokeratin 18 değerinin yüksek çıkması bize koroner arter hastalarında nekroz ve apoptozun yüksek olduğu hakkında bir ipucu vermektedir.

Perikardiyal sıvıda İnterlökin 33, Fetuin A ve Sitokeratin 18 gibi koroner arter hastalığı ile ilişkili parametrelerin anlamlı düzeyde tespit edilmesi bu parametrelerin kalp hastalıklarında güçlü bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği fikrini desteklemektedir. Ayrıca perikardiyal boşluğun artmış miyokardiyal alım ve azaltılmış sistemik toksisitelere sahip olması nedeniyle gelecekte bu yapının önemli bir ilaç verme rezervuarı olacağını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Perikardiyal sıvı, İnterperikardiyal ila uygulamaları, İnterlökin 33, Fetuin A, Sitokeratin 18

ABSTRACT

THREE UNKNOWN EQUATIONS IN PERICARD LIQUID AND PLASMA OF PATIENTS WITH OPEN HEART SURGERY: THE RELATIONSHIP OF INTERLEUKIN 33 (IL33), FETUIN A and CYTOKERATIN 18

Reşat DİKME

Department of Perfusion Technology, PhD Thesis

Biomarkers such as Interleukin 33, Fetuin A and Cytokeratin 18 in coronary artery disease are among the new and effective factors in the diagnosis and treatment of the disease. Although these biomarkers have been investigated in human plasma, they have not been investigated in pericardial fluid. This study was conducted to compare the levels of Interleukin 33, Fetuin A and Cytokeratin 18, which pass into the pericardial fluid and systemic circulation of coronary artery patients, to resolve the unknown relationship between them and to contribute to the understanding of the pathophysiology of the disease.

Forty patients who had coronary artery bypass surgery were included in the study, and pericardial fluid and venous blood samples were obtained from these patients. Then, the protein and gene expression levels of Interleukin 33, Fetuin A and Cytokeratin 18 were determined in pericardial fluid and plasma by ELISA and qRT-PCR methods and the data were evaluated.

According to ELISA results, Interleukin 33 level was 57.09 ng/L in pericardial fluid and 50.15 ng/L in plasma, while Fetuin A level was 1060.53 mg/L in pericardial fluid and 725.85 mg/L in plasma. Cytokeratin 18 level was 1046.42 ng/ml in pericardial fluid and 1025.31 ng/ml in plasma. Interleukin 33 (ct) value according to gene expression results; While 8.30 in pericardial fluid, 18.25 in plasma, Fetuin A (ct) value was 14.55 in pericardial fluid and 21.02 in plasma.

According to the ELISA study, significant ($p<0.05$) results were found in Interleukin 33 and Fetuin A values, and insignificant ($p>0.05$) in Cytokeratin 18 values. According to the gene expression study, significant ($p<0.05$) results were found in Interleukin 33 and Fetuin A values. In the correlation analysis, a negative correlation was

found between Fetuin A protein level and Fetuin A gene expression in plasma ($r=-0,463$; $p=0,015$), and a negative significant correlation between Fetuin A protein level and Interleukin 33 gene expression ($r=-0,650$; $p=0,000$). This shows us that although Interleukin 33 and Fetuin A gene expressions in plasma change in parallel, Fetuin A protein level changes in antiparallel. It was determined that there was no significant correlation between Cytokeratin 18 in plasma and IL 33 and Fetuin A. No correlation was found between Interleukin 33, Fetuin A and Cytokeratin 18 in pericardial fluid.

In our study, according to both ELISA and gene expression results, IL 33, Fetuin A and Cytokeratin 18 values in pericardial fluid were found to be higher than in plasma. This situation shows us that the pericardial fluid can reflect the physiological and biochemical changes in the heart, therefore it can be used for diagnostic and therapeutic purposes.

The low level of Interleukin 33 in pericardial fluid and plasma indicates that the level of Interleukin 33 is decreased in coronary artery patients. Moderate levels of Fetuin A in plasma show that Fetuin A is decreased in coronary artery patients. In addition, the high level of Cytokeratin 18 in pericardial fluid and plasma gives us a clue that necrosis and apoptosis are high in coronary artery patients.

The significant detection of coronary artery disease-related parameters such as Interleukin 33, Fetuin A and Cytokeratin 18 in the pericardial fluid supports the idea that these parameters can be used as a strong biomarker in heart diseases. It also indicates that this structure will be an important drug delivery reservoir in the future, as the pericardial space has increased myocardial uptake and reduced systemic toxicities.

Keywords: Pericardial fluid, Intrapericardial drug administration, Interleukin 33, Fetuin A, Cytokeratin 18

1. GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH); erken ölümlerin ve artan sağlık maliyetlerinin önemli bir nedeni olmaya devam etmektedir. KVH tedavisinde devam eden gelişmelere rağmen bu hastalıklar ölüm nedeni olarak halen birinci sırada yer almaktadır (1). KVH'nin başlıca etmenleri arasında kalıtım, kardiyometabolik durum, davranışsal, çevresel ve sosyal risk faktörleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalara göre toplam KVH vakaları 1990-2019 yılları arasında 271 milyondan 523 milyona, KVH'a bağlı ölümlerin sayısı ise 12,1 milyondan 18,6 milyona ulaşmıştır. Koroner arter hastalığı (KAH) ve inme başta olmak üzere kalp damar hastalıklarından ölümlerin 2030 yılında 23 milyona ulaşması tahmin edilmektedir (2). Bu sonuçlar bize KVH'a bağlı olumsuzların istikrarlı bir şekilde arttığını göstermektedir (3). Kardiyovasküler hastalıkların en önemli kısmını oluşturan KAH tüm dünyadaki mortalite ve morbiditenin önemli sebeplerinden biri olup, bu hastalığın görülme insidansı hızla artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütüne göre KAH'ye bağlı ölümler önümüzdeki yirmi yılda kadınlarda % 120, erkeklerde % 137 artacaktır. Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) yatan hastaların tedavi giderlerinin dörtte birini 71.2 milyar dolarla KAH oluşturmaktadır. Tüm bu sebeplerden dolayı KVH'ın önlenmesi ve tedavisi için moleküler patogenezin anlaşılması, yeni biyobelirteçlerin (biyomarker) ortaya çıkması ve hastalığı önleyici maddelerin tanımlanıp kullanılması gerekir (4).

Son dönemlerde yapılan araştırmalarda KAH oluşmasında veya engellenmesinde İnterlökin 33 (IL 33) ve Fetuin A'nın önemli olduğu tespit edilmiştir (5, 6). IL 33; kardiyak fonksiyon regülasyonunda ve akut koroner sendromun ilerlemesine karşı koruyucu rol oynamakta, kardiyak hipertrofiyi ve fibrosizi engellemekte, endotelial hücrelerde biyomekanik yüklenmeyi sistemik inflamatuvar yanıtına çevirmekte, kardiyomiyosit apoptozu ve miyokardiyal infarktı azaltmakta, kardiyak fonksiyonları iyileştirmekte ve yaşama şansını arttırmaktadır (7). Şu ana kadar keşfedilmiş birçok önemli etkisi olan IL 33'ün biyolojisi ile ilgili önemli sorular bulunmaktadır. Doku hasarı ve inflamasyonunun erken dönemlerinde doku onarımında önemli bir rol oynamasına rağmen IL 33 bazı durumlarda aşırı akut inflamasyona ve doku hasarına olumsuz katkı yapabilmektedir.

Fetuin A; koroner kalp hastalığında bir distrofik kalsifikasyon inhibitörü olarak fonksiyon göstermektedir. Kardiyomiyositlerde iskemiye karşı koruyucu etkisi bulunan

Fetuin A'nın düşük konsantrasyonları miyokardiyal fonksiyonlar üzerine kötüleştirici etkiye sahiptir (8). Şu ana kadar elde edilen bulgulara göre Fetuin A'nın KAH üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etki gösterdiği tespit edilmiştir. Fetuin A'nın olumlu etkileri arasında koroner arter kalsifikasyonunu inhibe edebilmesi, KAH ve aterosklerozun diğer belirtilerinde anahtar rol oynayan proinflamatuvar sitokin tümör nekroz faktörünün (TNF) üretimini inhibe ederek anti inflamatuvar etkilere sahip olması gibi durumlar bulunmaktadır. Bununla birlikte Fetuin A'nın olumsuz etkisi ise; tirozin kinaz seviyesinde insülin direncini indükleyerek KAH gelişimini teşvik edebilmesidir. Fetuin A'nın KAH üzerindeki etkisi, farklı durumlar veya koşullarda çeşitli faktörlerin kombinasyonuna bağlıdır. Fetuin A seviyesinin İnterlökin 1 Beta (IL-1 β), İnterlökin 6 (IL-6) ve TNF- α kan düzeyleri ile ters yönlü ilişkili olduğunu gösterilmesine rağmen IL 33 ile ilişkisi hakkında yapılan çalışmalar yetersizdir. Fetuin A ile IL 33 arasındaki ilişkinin bilinmesine katkı sağlaması açısından yapılan bu çalışmamız önemlidir.

Sitokeratinler (CK) ise intermediat filament protein ailesinden olup apoptotik veya proliferasyon halindeki hücrelerden salgılanabilmekte ve kan, idrar, kist sıvısı, asit sıvısı, plevral mayide ve beyin omurilik sıvısında (BOS) saptanabilmektedir. CK ailesinden olan CK 18'in kardiyak mikrovasküler endotelial hücrelerinde bulunması bu sitokeratinin KAH'ta önemli bir etmen olduğunu göstermektedir. Ek olarak, bu sitokeratin aterosklerotik plaklarla ilişkili vasküler düz kas hücrelerinde (VSMC) eksprese edilmektedir. Normal VSMC'lerde bulunmayan Sitokeratinler aterosklerotik lezyonların gelişimi sırasındaki hücre iskeleti kompozisyonlarında ve fenotiplerinde değişikliklere uğramaktadır. Eksprese edilen Sitokeratinler ayrıca Deoksiribonükleik Asit (DNA) fragmentasyonu ve apoptoz ile ilişkili görünen koroner arter lezyonlarında karakteristik fosforilasyon modelleri sergilemektedir (9).

KAH riskini belirlemek amacıyla kullanılan birçok yöntem, materyal ve biyobelirteçler olsa da gerçek riski belirlemede bazen bunlar yetersiz kalmaktadır. Bir hastalıkta sadece dolaşımdaki bir parametreyi incelemek o dokunun veya organın durumu hakkında yeterli bilgiyi verememektedir. Bir dokuya yakın bölgeden alınan sıvı veya biyopsi örneği o bölge için daha iyi bilgi verir. Bunun sebeple KAH'ı değerlendirmek için hasta gruplarının iyi irdelendiği, örneklem sayısının fazla olduğu çalışmaların yanında ayrıca kalp dokusuyla direkt ilişkili Perikardiyal Sıvı (PS) çalışmalarının yapılmasına ihtiyaç vardır.

Kapalı bir fibroseröz kese olan Perikard (Perikardiyum); kalbin tamamını, kalbe gelen ve kalpten çıkan damarların kökünü saran çift duvarlı bir kesedir. Çift duvarlı kese arasında Perikardiyal boşluk içerisinde fizyolojik olan ve dinamik değişiklikler gösteren 15-50 ml PS bulunur (10). Kalp ve mezotel hücreleri tarafından kandan filtre edilen, fizyolojik bir plazma ultrafiltratı olan PS; miyokardiyal interstisyel sıvı ve lenf drenajından oluşmaktadır. Laktat dehidrojenaz (LDH), protein, fosfolipid vb bileşenler ihtiva eden PS'nin elektrolit içeriği plazmaya yakın olup protein içeriği plazmanın 1/3'ü kadardır (11). Bununla birlikte PS'nin normal bileşimi hakkında referans olarak bilgi veren çalışmalar yeterli değildir (11). Küçük moleküllerin yanında bazı büyük moleküllere de geçirgen olan PS; serum ile serbest sıvı-elektrolit değişiminin olduğu dinamik bir denge halindedir. Perikard; immünolojik, parakrin, vazomotor ve fibrinolitik aktiviteye de sahiptir. Perikard mezotelyumu metabolik olarak aktif olup eikozanoidler ve prostoglandinler sentezler. Bu sayede mezotel hücreleri kalp hücrelerinin fonksiyonunu ve gen ekspresyonunu etkilemektedir. Tüm dünyada birinci ölüm sebebini oluşturan KVH'ta bazı maddelerin PS konsantrasyonları birçok patofizyolojik mekanizmanın anlaşılmasını sağladığından dolayı bu hastalıkların teşhisinde kan ve kalp dokusunun yanı sıra PS kullanılabilmesi önemlidir.

Şu ana kadar PS'de IL 33, Fetuin A ve CK'ler araştırılmamış olup aralarındaki ilişki saptanmamıştır. Bu çalışmanın denkleminde IL 33, Fetuin A ve CK 18 arasındaki ilişki hipotez kurularak irdelenmiştir. Bu araştırmanın temel amacı; açık kalp ameliyatına alınan koroner arter hastalarının PS ve sistemik dolaşıma geçen IL 33, Fetuin A ve CK 18 miktarının tespit edilmesi, bu bileşenlerin PS ile plazmadaki düzeylerinin karşılaştırılması, aralarındaki bilinmeyen ilişkinin çözülmesi ve hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasına katkı sağlamaktır.

Yapılan bu çalışma KAH açısından kritik IL 33 ve Fetuin A değerlerini ve bu iki parametrenin apoptoz üzerine etkisinin ortaya çıkmasına katkı sağlayabilecektir. Sonraki aşamalarda çalışmamız tedavi amaçlı IL 33 ve Fetuin A'nın kullanımının araştırılması üzerine olacaktır. IL 33 ve Fetuin A'nın artış ve azalış mekanizmasının net olarak bilinmemesi, PS'de IL 33, Fetuin A ve CK çalışmasının olmaması, IL 33 yolağıyla ilgili cevaplanmamış sorular bulunması bu çalışmasının önemli dönemeçlerini oluşturmaktadır. Bu kapsamda yapmayı planladığımız çalışmanın özgün değeri bulunmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koroner Arter Hastalığı (KAH)

Kalp kaynaklı göğüste oluşan ağrı için "Angina Pectoris" ifadesi ilk defa William Heberden tarafından kullanılmış ve bu terim 1768'de tanımlanmıştır. 1910 yılında akut miyokard infarktüsü patogenezi hakkında önemli açıklamalarda bulunan William Osler'den sonra koroner arter hastalığının (KAH, CAD-Coronary artery disease) tanı ve tedavisi üzerinde ciddi şekilde gelişmeler kaydedilmiştir (12).

Son zamanlarda bütün dünyada olduğu gibi, Türkiyede'de mortalite ve morbiditenin başlıca nedeni olan KAH; bir veya daha fazla koroner damarın duvarlarında patolojik değişiklikler veya arteroskleroz varlığını içerir (13). Günümüzde birçok Avrupa ülkesi ve ABD'de KAH tedavisinde artış olmasına karşın bu hastalığa bağlı ölümlerin sayısında bir azalma maalesef olmamıştır (14, 15). Bu epidemiyolojik değişime sebep olarak beklenen yaşam sürelerinin uzaması, kişinin yaşam tarzındaki değişiklikler ve özellikle tıp alanında olan teknolojik gelişmeler gösterilmektedir. Son yıllarda medikal tedavi ve müdahale (bypass cerrahisi ve perkütan koroner girişim) daha iyi sonuçlar vermiş olup bu durum hastalığın akut gelişiminden daha fazla hastanın hayatta kalmasını sağlamıştır (13).

KAH; kararlı ve kararsız angina pectoris, sessiz iskemiler, akut miyokard infarktüsü (MI), kalp yetersizliği, ritim ileti bozuklukları ve ani ölüm olmak üzere kendisini 7 değişik şekilde göstermektedir.

2.1.1. KAH Prevalansı

En yaygın halk hastalıklarından biri olan KAH'ın prevalansı dünya genelinde giderek artmaktadır. KAH'ta bildirilen bu yaygınlık hem kadınlarda hem de erkeklerde yaşla birlikte artmaktadır. Dünya genelinde 35 yaş üzerindeki birey ölümlerinin yaklaşık üçte birinden KAH sorumlu tutulmaktadır (16, 17). Kalp hastalığı mortalitesi ABD ile ekonomik ve sağlık bakım sistemlerinin nispeten gelişmiş olduğu bölgelerde azalmasına rağmen bu durum dünya genelinde birbirinden farklıdır (18).

Koroner damar hastalıkları kalp damar hastalığına bağlı ölümlerin % 42'sinden sorumludur (19). Ülkemizde gerçekleştirilen Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasına göre ülkemizde yaklaşık 3.5 milyon koroner kalp hastası bulunmakta, yaşlanmayla birlikte koroner kalp hastası yılda % 4 artmakta ve yılda

210 bin kişi koroner kalp hastalığından dolayı hayatını kaybetmektedir (20). Önümüzdeki yıllarda ABD’deki orta yaşlı erkeklerin yaklaşık yarısında, orta yaşlı kadınların ise üçte birinde KAH bulguları çıkacağı tahmin edilmektedir. Alınan tedbirler sayesinde bulaşıcı hastalıklarına bağlı ölümler ve anne çocuk ölümleri giderek azalırken, kardiyovasküler hastalıklar ölüm nedeni arasında lider olmaya devam etmektedir (21). WHO’nun elindeki verilerine göre KAH’ye bağlı ölümler yirmi yılda kadınlarda % 120, erkeklerde % 137 artacaktır (22). ABD’de yatan hasta tedavi giderlerinin dörtte birini KAH’a bağlı hastalıklar oluşturmakta olup bu durumun yıllık 71.2 milyar Dolara mal olmaktadır (23). Avrupa Birliğinde yaşayan insanlarda ise kalp yetmezliği tedavisi yıllık 200 milyar Euro’yu açmakta olup bu masrafın % 70’ini yatan hastalara oluşturmaktadır. KAH çok önemli olduğundan dolayı dünyadaki uluslararası liderler, gelişmekte olan ölkelerdeki tahmini küresel salgın iskemik kalp hastalığının önlenmesi için eylem planları çağrısında bulunmaktadırlar (24).

2.1.2. KAH’ta Genel Risk Faktörleri

KAH; arteriyel sertleşme veya arteroskleroz olarak adlandırılan koroner arterlerden birinin duvarında patolojik değişikliklerin oluşmasını iğerip, akut miyokard enfarktüsü (AMI) veya kararsız angina pectoris gibi akut koroner olayların en yaygın nedenini oluşturmaktadır (25).

Yaşlılık, erkek cinsiyet, kalıtsal faktörler, fiziksel hareketsizlik, sigara kullanımı, yüksek tansiyon, kan dolaşımı bozuklukları, kilo / şişmanlık ve şeker hastalığı gibi risk faktörleri KAH’ın gelişme riskini artırmaktadır (25). Birçok kişide benzer oranda geleneksel risk faktörleri olsa da hastalığın ciddiyeti ve seyri farklıdır. Ortada var olan bu durum bize geleneksel risk faktörlerin dışında KAH’ta yeni risk faktörlerinin olduğunu göstermektedir. Yeni keşfedilen bu risk faktörleri arasında örneğin MikroRNA’lar (miRNA), suppression of tumorigenicity-2 (ST2, interleukin 1 receptor like 1-IL1RL1), Growth differentiation factor 15 (GDF-15), Homosistein, IL 33, Fetuin A, Lipoprotein a (Lp a), genetik mutasyonlar, hemostatik veya trombojenik gibi risk faktörleri ile kan dolaşımındaki antioksidan düşüklüğü gibi birçok faktör bulunmaktadır.

2.1.3. Akut Koroner Sendrom ve Miyokard İnfarktüsü

Akut koroner sendrom (AKS) terimi miyokardiyal iskemi şüphesi bulunan hastalar için kullanılmaktadır. Üç tip AKS vardır: Bunlar; ST yükselmesi olan miyokard infarktüsü (STEMI), ST yükselmesi olmayan miyokard infarktüsü (NSTEMI) ve kararsız

anginadır (unstable angina-UA). STEMI ve NSTEMI'de miyokardiyal iskemide tipik bir artış ve/veya miyosit hasarının biyolojik belirteçlerinde değişimler bulunur. 2007'de Avrupa Kardiyoloji Derneği, Amerikan Kardiyoloji Koleji Vakfı, Amerikan Kalp Derneği ve Dünya Sağlık Federasyonundan (ESC / ACCF / AHA / WHF) oluşan ortak görev gücü 2000 yılındaki kriterlerini revize ederek akut MI'yi miyokardit veya travma gibi diğer etiyolojilerin aksine klinik bir olay olarak tanımlamıştır. Bu tanıma göre; MI iskemi nedeniyle ortaya çıkan kalp miyositlerinin (miyokardiyal nekroz) ölümünden sonra ortaya çıkmaktadır (26).

MI'ı tanımlamak için kullanılan kriterler hastanın klinik durumuna bağlı olarak farklılık göstermektedir. Buna göre gösterge olarak akut MI şüphesi olanlar arasında koroner arter bypass greft cerrahisi geçiren veya perkütan müdahale uygulanan hastalar veya ani beklenmedik ölüm olsun ya da olmasın kalp krizi geçiren kişiler bulunmaktadır (26). Günümüzde revaskülarizasyon geçiren, kardiyak arrest veya ölümle sonuçlanan hastalarda MI teşhisi için kriterler tablolar halinde ayrıntılı olarak verilmektedir.

2.1.4. KAH'ta Semptomlar / Klinik Özellikler

Akut koroner arter hastalığında baskın olan belirti genellikle merkezi göğüs ağrısı olup bu durum hem kararsız angina hem de AMI içermektedir. Angina pectoris; miyokardiyal iskeminin neden olduğu göğüs veya bitişik bölgelerde bir rahatsızlık olup genellikle miyokardiyal nekroz olmaksızın harekete geçen ve miyokard işlevinde bozulma ile birlikte seyreden hastalıktır. "Heberden"ın anjina hakkındaki "boğulma ve kaygı" duygusunu aktardığı ilk açıklaması hala oldukça ilgi çekici olup; bu sıkıntıyı tanımlamak için sıkça kullanılan diğer sıfatlar; gözenek, daralma, boğucu olma, ezilme, ağırlık ve sıkma şeklindedir. Bununla birlikte angina pectoris; başlangıçta genellikle nefes darlığı, mide bulantısı veya diğer ağrı biçimleri gibi daha spesifik olmayan semptomlar gösterir. Arterlerin daralmasından kaynaklı olan anjina pectoris belirgin kötüleşme belirtileri göstermeden en az birkaç hafta önce semptomlar halinde kendini gösterirse bu durum kararlı anjina (Stabil angina) pectoris olarak tanımlanmaktadır. Anginanın ayrıca Efor Anjina ve Varyant (spazm) anjina gibi farklı türleri de bulunmaktadır. Efor Anjina; egzersiz durduktan sonra hızla kesilen fiziksel veya zihinsel stres tarafından indüklenen anjinadır. Varyant (spazm) anjina ise kalp kasının belirti üreterek oksijen yetersizliğine maruz kaldığı kadar uzun süren ve bir arterin daralmasıyla indüklenen bir anjin olarak kabul edilir. Varyant angina dinlenme sırasında ortaya çıkabilmektedir (27).

Stabil anginalı bireylerin prognozu günümüzde nispeten iyi olup, bununla birlikte çoğu durumda acil hastane bakımı gerektiren ve hızlı bir kötüleşme ile karakterize olan angina'nın destabilizasyonuna karşı dikkatli olunması önemlidir (28). Çoğu bireyde akut KAH nedenleri arasında koroner arterde aterosklerotik plak fissürü veya rüptürü bulunmaktadır (29). KAH'ta semptom nedenlerinden bir diğeri olan iskemi; kan sağlayan arterin kısmen veya tamamen kapandığı, oksijenin ve besin maddelerinin alınmasına engel durumlarında oluşur. Bir arterde kan akışı engellendiğinde, iskemi derecesine ve ne kadar süreceğine bağlı olarak kardiyak hücre ölümüne doğru kademeli bir değişim meydana gelmektedir (29).

Miyokard infarktüsü sonrasında kalpte oluşan yapısal değişiklikler enfarkt bölgesi ile sınırlı olmayıp aynı zamanda hasar gören bölgede fonksiyon kaybını telafi etmek zorunda olan sağlıklı miyokarda'da yayılmaktadır. Yani hasar yan dokulara da kaymaktadır. Bazı durumlarda bu sebeplerden dolayı kalpte hipertrofi oluşmaktadır. Kalp kası hipertrofisi ve kollajenin sağlıklı bölgede depolanması daha zayıf enerji dengesine sahip daha sert bir kalbin oluşmasına neden olmaktadır (30).

2.1.5. KAH'ta Teşhis

KAH'ta durum değerlendirilmesi genellikle EKG testi ile birlikte klinik muayene, egzersiz testi, diğer non invaziv testler ile invaziv anjiyografi kullanılarak gerçekleştirilir. Yapılan değerlendirmeler ve işlemler sonucunda hastanın risk faktörlerine, ağrının tanımına ve ilişkili semptomlara dayalı olarak sıklıkla bir tanı şekli ortaya çıkmaktadır (31).

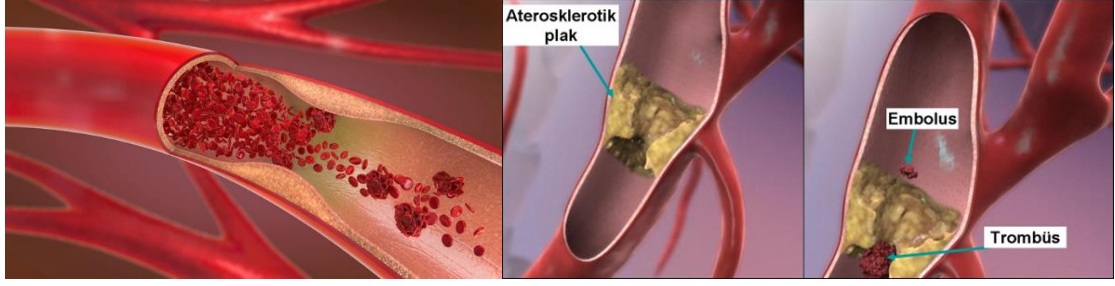
AKS'li hastalar artmış ölüm ve ölümcül olmayan kardiyak olay riskine sahip olduklarından, klinisyenler değerlendirme ve tedavi planlarını formüle etmek için prognozu bireysel olarak değerlendirmektedir. Teşhis ve prognozun değerlendirilmesi, tedavinin başlangıcına paralel olarak mümkün olduğunca erken başlatılmalıdır. Kişide akut KAH şüphesi varsa hasta hastanede yatırılmalı ve mümkün olduğunca kısa sürede perkütan koroner girişim (percutaneous coronary interventions-PCI-PKG) ile tedavi edilmelidir (32). Tüm iskemik atakların % 75'ini oluşturduğu düşünülen sessiz iskemi (silent ischemia) egzersiz testi, ambulator 24 saatlik elektrokardiyografik kayıt (ambulatory 24 hour electrocardiographic recording) veya periyodik rutin EKG ile aydınlatılabilmektedir.

2.1.6. KAH'ta Patofizyolojik Mekanizmalar

Hücresel Seviyedeki Mekanizma: Angina; miyokardiyal oksijen talebinin oksijen kaynağını aştığı durumda ortaya çıkan, miyokardiyal iskemiden kaynaklanan bir durumdur. Trombotik koroner oklüzyon sonrasında bölgesel perfüzyonun ani kesilmesi aerobik metabolizmanın durmasına, kreatin fosfatın tükenmesine ve anaerobik glikolizin başlamasına yol açar. Bunu takiben kalp dokusunda laktat birikimi, ATP seviyelerinde aşamalı azalma ve adenin nükleotid havuzu dâhil olmak üzere katabolitlerin birikimi gibi durumlar olur. İskemi devam ederken, doku asidozu gelişir ve ekstraselüler alana potasyum akışı oluşur. Sonuç olarak; ATP seviyeleri, kritik membran fonksiyonunu sürdürmek için gerekli olan enerji seviyesinin altında kalır ve nihayetinde kardiyomiyosit ölümünün başlangıcı gerçekleşir (33).

Geri dönüşsüz yaralanma, alt endokardiyada (subendocardium) başlar ve alt endokardiyal tabakalardan alt epikardiyal tabakalara kadar zamanla dalga cephesi olarak ilerler. Bu durum subendokartta yüksek oksijen tüketimini ve düşük koroner basınçtaki akışın sıkıştırıcı belirleyicileri tarafından kalbin dış katmanlarına kollateral akışın yeniden dağıtılmasını yansıtır. Miyokard oksijen tüketimini (örneğin; taşikardi) arttıran veya oksijenlendirmeyi (örneğin; Anemi, arteriyel hipotansiyonu) düşüren faktörler geri dönüşsüz hasarın ilerlemesini hızlandırır. Aksine oklüzyon öncesinde tekrarlayan reversibl iskemi veya angina, önkoşullamayla (preconditioning) geri döndürülemez yaralanmayı azaltabilir (34).

Anatomik Düzeydeki Mekanizma: Geleneksel olarak KAH; anatomik olarak epikardiyal koroner arterleri içeren obstrüktif ateroskleroz olarak tanımlanmıştır. KAH'ın ilerlemesine neden olan bir diğer sebep ise kararsız aterosklerotik plak rüptürü ve lezyonun üzerine gelen trombosit zengin trombus ile ciddi daralmanın olmasıdır (35) (Şekil 2.1). Daralmadan dolayı kan dolaşımındaki ani düşüş genellikle göğüs ağrısı ve iskemi göstergesi olan EKG değişikliklerine neden olur. Var olan bu durum uzarsa miyokardiyal nekroz ve enzim yükselmesi oluşur. ST yükselmesiz miyokard enfarktüsü (NSTEMI), miyokardiyal talebin miyokardiyal arzı aştığı benzer bir klinik tabloya neden olan hastalıklardan kaynaklanır.



Şekil 2. 1. KAH ve AKS gelişimi (35).

Ateroskleroz Patogenezi-Koroner Arter Kalsifikasyonu: Koroner arter kalsifikasyonu (KAK) koroner arterlerin kalsifiye olması (ateroskleroz) demektir. Ateroskleroz akut KAH'ın baskın nedenidir. Genellikle orta çaplı arterlerde olmak üzere, bütün kan damarlarını etkileyen ateroskleroz sistemik arteriyal bir hastalıktır. Kemik oluşumunu ve büyümeyi etkileyen kalsiyum düzenleyici mekanizmalar KAK'ı da etkiler. Alkalen fosfataz erken kalsiyum birikimi için merkezi bir durum olup vasküler kalsifikasyonun bir moleküler markeri olarak ön plandadır (36). Vasküler düz kas hücreleri (VSMC), vasküler intima ve ortamdaki mineralizasyonu düzenleyen diğer etmenler matris veziküllerini üretir. Bunun yanında diğer hücre tipleri (örneğin mikrovasküler perisitler ve adventif myofibroblastlar) de mineralize matris üretme potansiyeline sahip olup, osteoblastik farklılaşmaya uğrayarak kalsifiye tortular oluşturmaktadır (36).

Genellikle erken yaşlarda yağlı çizgilenmelerin oluşmasıyla başlayan aterosklerozun klinik bulguları orta ve ileri yaşlarda görülmektedir. Ateroskleroz kronik ve ilerleyici bir süreç olup endotel disfonksiyonu ile yakından ilişkilidir. Aterosklerotik ve medial arter kalsifikasyonu şeklinde iki tip olan KAK'ta aterosklerotik kalsifikasyon esas olarak intima'da görülür (36). Ateroskleroz öncelikli olarak endotel hücrelerinden oluşan ve arter duvarının en derin katmanı olan intima'ya saldırılmaktadır. Hastalık başlangıçta kan lipidlerinin depolanması; inflamatuvar hücrelerin, makrofajların ve emilen yağların bulunduğu yer olan endotel hücreleri arasında oluşmaktadır. Bu süreçte intimal düz kas hücrelerinde birikim ve proliferasyon olmakta, T lenfosit ve makrofajların infiltrasyonu gerçekleşmektedir. Aterosklerozda elastin, kollajen, fibronektin ile proteoglikanlardan zengin bağ dokusu matriksi meydana gelmekte ayrıca hücreler içinde ve çevresindeki bağ dokusunda lipid depolanması (serbest kolesterol, kolesterol esterleri şeklinde) olmaktadır. Ateroskleroz sürecinde makrofajlar patlayıp "köpük hücreler" haline gelene kadar lipidleri sindirmektedir. Daha sonra köpük hücrenin etrafında elyafı

bir kütle gelişmekte ve plak oluşmaktadır. Bu süreçte oluşan ateroplağın içeriği değişkenlik göstermektedir. Bu durum lezyonların heterojenik yapısında olmasından kaynaklanmaktadır. Ateroskleroz sürecinde arterin intima tabakası dışında media ve adventetisya tabakasında da sekonder değişimler görülebilmektedir (37).

Oluşan aterosklerotik plaklar tüm damara saldırmayıp bölge bölge yamalar şeklinde görünmektedir. Hastalıkta arteryel dal noktalarının etrafındaki alan özellikle hassastır. Zaman geçtikçe gelişen aterosklerotik plaklar arterlerde darlıklara neden olarak farklı klinik durumların oluşmasına neden olmaktadır. Bu oluşan önemli durumlardan birisi plakların yırtılması, diğeri ise plak fissürüne (çatlak) veya erozyonuna bağlı olarak gelişen aterotromboz durumudur.

KAK; vasküler kompliyansın azalması, anormal vazomotor yanıtlar ve bozulmuş miyokard perfüzyonu ile sonuçlanır (38). KAK'ın varlığı genel popülasyonunda ve revaskülarizasyon yapılan hastalarda daha kötü bir şekilde sonuçlanmıştır. KAK prevalansı yaş ve cinsiyete bağlı olarak erkeklerin % 90'ında ve 70 yaşın üzerindeki kadınların % 67'sinde ortaya çıkmaktadır. KAK'ın derecesi, ateroskleroz derecesi ve gelecekteki kardiyak olayların görölme oranı ile kuvvetli bir korelasyona sahiptir (38).

2.1.7. Normal Damarın Endotel Yapısı ve Fonksiyonları

Bütün damarların düz kaslarında bulunan endotel tabakası; ince bir epitel tabaka şeklinde damar duvarını kaplamaktadır. Vasküler fonksiyonların normal şekilde yürümesinde önemli rol oynayan endotel vücuttaki en büyük endokrin organdır. Vücuttaki ortalama endotel hücre sayısı 1 trilyon civarında olup, yaklaşık olarak toplam ağırlığı 1800 gr'dır (39). Normal kan akışına karşı tromborezistan yüzey görevi üstlenen endotel ayrıca morfolojik yapısından ve stratejik anatomik pozisyonundan dolayı bariyer görevi görmektedir. Endotelin oluşturduğu bariyer yapı selektif geçirgen yapı şeklinde olup, damarın düz kas hücreleri ile kan dolaşımının komponentleri arasında bulunmaktadır. Bu sebepten dolayı normal endotel hücrelerinin lüminal yüzeyleri nonadhezif bir yapıdadır. Birçok önemli görevinin yanında endotel hücreleri ayrıca; koagölasyon, damar tonusunun düzenlenmesinde, lökosit migrasyonunda, düz kas hücre proliferasyonu ile migrasyonunun önlenmesi ve stimulasyonu gibi birçok çeşitli olaylarda rol oynamaktadır (40). Endotelden salınan vazodilatörler arasında nitrik oksit (NO), prostasiklin ve bradikinin bulunmakta olup bunlar periferik vasküler direncini denetlemektedir. Endotelin ve angiotensin II gibi vazokonstriktör maddeleri de üreten endotel ayrıca; damar içi akım hızı ve basıncını da iyon kanallarıyla düzenlemektedir.

Akım hızındaki artışa karşı kalsiyum, potasyum ve sodyum gibi iyon kanallarını etkileyerek nitrik oksit sentaz enzimini aktive eden endotel hücreleri bu sayede NO sentezini uyarmaktadır (41).

2.1.8. Endotel Disfonksiyonu

Endotel bağımlı vazodilatasyondaki bozulma olarak nitelendirilen endotel disfonksiyonunda antikoagülan özellik kaybolmakta ve hücresel adezyon moleküllerinde ise ekspresyon seviyesi artmaktadır. Bu olayların sonucunda endotel fonksiyon özelliği kaybolmaktadır. Endotel fonksiyonunun kaybolmasıyla lökosit, trombosit ve çeşitli düzenleyici maddeler ile damar duvarı arasındaki ilişkide anormallikler olmaktadır (42). Endotel disfonksiyonunun ilk başlarında vazodilatasyon bozulmaktadır. Endoteldeki NO üretimi veya aktivitesinde oluşan bozukluk KAH, kalp yetmezliği, hipertansiyon, şeker (DM), böbrek, obezite ve metabolik sendrom gibi birçok hastalığa zemin hazırlamaktadır. Kardiyovasküler sistemi hedef alan bu olaylar neticesinde ise ateroskleroz hızlanmaktadır (43).

2.1.9. Ateroskleroz İçin Risk Faktörleri

Aterosklerozun oluşmasında sigara, fiziksel durgunluk, fazla kilo, lipid bozukluğu, HT, DM, insülin rezistansı, yaş, ailesel genetik yatkınlık, cinsiyet, Lp a, homosistein, trombotik ve inflamatuvar faktörler önemli rol oynamaktadır. Bu faktörlerden fiziksel durgunluk, sigara ve obezite yaşam tarzı değişiklikleri ile modifiye edilebilirken; lipid bozuklukları, HT, DM ve insülin rezistansı yaşam tarzında yapılacak değişikliklerle ve/veya ilaçlarla modifiye edilebilmektedir. Aterosklerozun sebepleri arasında olan fakat modifiye edilemeyen faktörler arasında ise yaş, ailesel genetik yatkınlık ve cinsiyet gibi durumlar bulunurken; Lp a, homosistein, trombotik ve inflamatuvar faktörler ise aterosklerozda yeni risk faktörlerini oluşturmaktadır. Risk faktörlerinin hepsi aterosklerozun başlangıcında ve ilerlemesinde önemli roller üstlenmektedir (44, 45).

Yaş ve Cinsiyet: Ateroskleroz oluşumunda en güçlü risk belirtecinden birisi yaş olup bu durum AKS gelişimini de tetiklemektedir. Erkekler arasında yaşın ilerlemesi ile risk artışı tetiklenmektedir. Premenapozal dönemdeki kadınlar ile erkekler karşılaştırıldığında erkekler KAH'la yaklaşık 10 yaş daha erken karşılaşmaktadır. Kadınlarda ise postmenapozal dönemde risk artmasına rağmen yaş grupları arasında değerlendirmeye bakıldığında risk oranı erkeklere göre daha düşük kalmaktadır (45).

Sigara: Sempatik sinir sistemini uyarmanın yanı sıra kan basıncını artıran ve miyokard oksijen sunumunu azaltan sigaranın ayrıca aterotromboz üzerine de birçok etkisi bulunmaktadır. Düşük dansite lipoprotein (LDL) oksidasyonunu artıran sigara ayrıca; endotel bağımlı vazodilatasyonu bozmakta, C reaktif proteininde (CRP), adezyon moleküllerinde (intersellüler), fibrinojen ile homosistein seviyelerinde ise artışa sebep olmaktadır. KAH riskini 23 kat artıran sigara aynı zamanda; diğer risk faktörleri ile etkileşerek KAH ile ilgili olumsuz durumun artışına neden olmaktadır. Sigara içen kişilerde yapılan araştırmaya göre miyokard infarktüsü ve kalp hastalıklarından ölüm riski sigara içmeyenlere göre erkek bireylerde 2.7, kadın bireylerde ise 4.7 kat daha fazla bulunmuştur. Yapılan birçok araştırmaya göre sigaranın bırakılması ile KAH'a bağlı olumsuz olaylarda düşüş gözlenmiştir (46).

Lipidlerin Rolü: Yapılan araştırmalara göre plazmada total kolesterol, LDL ile çok düşük dansite lipoprotein (VLDL) seviyelerindeki artış ateroskleroz ile ilişkili bulunmuştur. Benzer araştırmalara göre bahsedilen bu lipoproteinlerin plazmadaki seviyeleri düşürüldüğü takdirde buna bağlı olarak aterosklerozunda azaldığı tespit edilmiştir. LDL kolesterol seviyesindeki yükseklik endotel hasarı ile damar çeperindeki inflamatuvar yanıtın artışıyla ilişkili bulunmuştur. Oluşan inflamatuvar süreç intima tabakasına trigliseridden zengin lipoproteinlerin geçmesiyle hızlanmaktadır. Oluşan bu olaylar sonucunda düz kas hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimi gerçekleşir (45). Yapılan araştırmalara göre kan plazmasındaki total kolesterol seviyesinin % 10'luk azalması 5 yıllık KAH insidansını % 25'lik aşağıya çekmektedir. LDL kolesterol seviyesinde ise 40 mg/dL azalma kardiyovasküler olayların % 20 oranında daha az görülmesini sağlamaktadır (47). İyi huylu lipoprotein olarak adlandırılan HDL kolesterol ise arter duvarında bulunan kolesterolü toplayarak katabolizmasını hızlandırmakta ve plak oluşumunu engelleyerek ateroskleroza karşı koruyucu etkiye sahip olmaktadır (48).

Metabolik Sendrom: Metabolik sendrom anormal yağ depolanmasına ve işlevine eşlik eden insülin direncinden kaynaklanan çoklayıcı bir risk faktörüdür. Koroner kalp hastalığının yanı sıra diyabet, yağlı karaciğer ve çeşitli kanserler için bir risk faktörü kombinasyonu olarak tanımlanan metabolik sendrom ile ilgili yapılan bir çok çalışmada metabolik sendrom varlığında MI riskinin en az 2 kat arttığı belirlenmiştir (45).

Diyabet ve insülin direnci: Diyabette sürekli olarak oluşan hiperglisemi glikolize son ürün üretiminde artışa yol açmakta ve böylece arteriyal inflamasyonu tetiklemekte,

endotel ve düz kasta hücre fonksiyon bozukluğu meydana gelmektedir. Diyabet hastalarında ayrıca lökositlerin endotele yapışması, trombosit agregasyonu ve koagülasyon sisteminde aktivite artışı gözlenmektedir. Diyabette oluşan insülin direnci, hastalığın ilk aşamalarında bile ciddi anlamda ateroskleroza belirgin bir şekilde katkı sağlamaktadır. İnsülin duyarlılığını bozan adipoz doku ise sitokinleri salgılayarak sistemik inflamatuvar yanıtına yol açmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklara bağlı ölüm riski diyabetli hastalarda 2 ile 6 kat artmaktadır (45, 49).

Hipertansiyon: Tek başına ateroskleroza bağlı kardiyovasküler olayların % 35'inden sorumlu olan hipertansiyon kan basıncında yükselmeye yol açarak endotel fonksiyonlarda bozulmaya neden olmakta ve ateroskleroz patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır.

Ailesel yatkınlık-genetik değerlendirme: Genetik etkiye bağlı olarak gelişen KAH genellikle poligenik olup, çok az bir hasta grubunda ise tek gen mutasyonu şeklinde gözlenmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar üzerine genlerin etkisi üzerine yapılan çalışmalar çok komplike olduğundan dolayı genetik ile kalp damar hastalık ilişkisi çok güçlü bir şekilde gösterilememiştir (50, 51). Kalp damar hastalıklarında hastanın aile hikâyesi hem genetik şüpheyi ortaya koymakta hem de kültürel, çevresel ve davranışsal faktörler arasında olan ilişkiyi yansıtmaktadır. Birinci derece erkek akrabada 55 yaşından önce, kadın akrabada ise 65 yaşından önce KAH'ın olması ilgili kişide ateroskleroz riskini yaklaşık olarak 2 kat arttırmaktadır. Birinci derece iki veya daha fazla akrabada var olan KAH ise bu riski 36 kat arttırmaktadır (50). Bir kişinin KAH'a sahip yakın akraba sayısının artması veya ailesinde olan KAH'a yakalanma yaşının azalması kritik değeri arttırmaktadır (50-52).

2.1.10. KAH'ta Toplam Riskin Hesaplanması

Tanımlanmış olan klasik risk faktörlerinin ışığında, risk grupları düşük, orta ve yüksek risk grupları şeklinde sınıflandırılmaktadır (53, 54). Düşük risk grubunun içinde; on yılda KAH gelişme ihtimali % 10'un altında olan kişiler bulunmaktadır. Risk faktörü olmayan kişiler ile en fazla 2 risk faktörüne sahip olan bireyler bu grupta bulunmaktadır. Orta risk grubunun içinde; on yılda KAH gelişme ihtimali % 10-20 arasında olan gruptur. Bu grubun içerisine, henüz koroner kalp hastalığı gelişmemiş kişiler ile 3 veya 3 üzeri risk faktörüne sahip bireyler girmektedir. Yüksek risk grubu ise on yılda KAH gelişme ihtimali % 20 ve üzeri olan gruptur.

2.1.11. KAH'ta Yeni Risk Faktörleri

IL 33, Fetuin A, CK, Homosistein, Follistatin-like 1 (FSTL1), GDF-15, Lpa, miRNA, sST2, inflamatuvar ve trombotik faktörler gibi son zamanlarda ortaya çıkan yeni risk faktörleri koroner arter hastalığı oluşumunda son derece önemli olup bu durum çeşitli araştırma ve meta analizlerde ortaya çıkmıştır. Bu faktörler aterosklerozun başlangıcında ve ilerlemesinde önemli roller üstlenmektedir (5, 6, 55).

2.1.12. KAH'ta Tedavi Prensipleri

Semptom başlangıcından sonra mümkün olan en kısa sürede başlatılması gereken akut KAH'ın tedavisi; anti-iskemik, antihipertansif ve kan lipid düşürücü ilaçlar, reperfüzyon tedavisi ve/veya antitrombotik tedavi seçenekleri, cerrahi ve kateter temelli koroner arter girişimleri ile PCI-PKG gibi yöntemler bulunmakta olup bazı durumlarında koroner arter bypass greft cerrahisi (KABG-CABG) kullanılmaktadır.

2.2. Perkütan Koroner Girişim, Koroner Arter Bypass Greft ve Kardiyopulmoner Bypass

Koroner arterlerin tıkanma derecesi, farmakolojik veya cerrahi olmak üzere gerekli iki tedavi metodunu belirler. Günümüzde bu tedavi PCI ile CABG arasında değişebilmektedir (56, 57). Koroner anjiyoplasti olarak da bilinen perkütan koroner girişim; kararsız angina, AMI ve multidamar koroner arter hastalığı gibi obstrüktif koroner arter hastalığının tedavisinde kullanılan bir tekniktir. Daralmış veya bloke olmuş koroner arterlerin açılması için uygulanan PCI tipleri arasında balon anjiyoplasti ve stent kullanımı vardır. Perkütan koroner girişim kasık veya koldan bir atardamarın içine kateter ile girilerek koroner arterlere ulaşılmasıyla gerçekleştirilir. Bu kateterin ön ucunda, balon, stent veya kesici aletler gibi çeşitli cihazlar (arterektomi cihazı) kullanılabilir. Kateter ve cihazlar arterin içinden koroner arter daralması veya tıkanıklığı alanına uzatılır. Tıkanıklık ya balon ya da stent ile açılmaya çalışılır. Eğer hastalar için perkütan koroner girişim tedaviyi sağlayamıyorsa hasta için CABG gündeme gelmektedir.

CABG'nin amacı; 1 mm'den daha büyük çaplı tüm şiddetli stenotik epikardiyal koroner arterlerin tam revaskülarizasyonunu sağlayarak koroner arterlerdeki kan arzını arttırmaktır (58). CABG; kalp üzerinde yapılan en yaygın cerrahi prosedür olup, dünya çapında her yıl milyonlarca sayıda gerçekleştirilmektedir. Son otuz yıldır multidamar KAH'lı hastalar için 'altın standart' tedavi olarak kalan CABG son yıllara kadar uzanan takip verileri ile en kapsamlı cerrahi prosedürdür (59). İskemik kalp rahatsızlığı

semptomlarının hafifletilmesinde son derece etkili olan CABG daha şiddetli KAH'ı olan ve sol ventrikül fonksiyonları bozulmuş olan hastalarda yaşam beklentisini üst seviyelere çıkarmaktadır.

Çeşitli sebeplerden dolayı tıkanan koroner arterin cerrahi tedavisi olan CABG'de kanı koroner arter alanına yani tıkanmanın distaline yönlendirmek için greft (vasküler kanallar) amacıyla hastanın başka bölgelerindeki arterler veya venler alınarak kullanılabilir (60). Bu prosedürün amacı; sağkalımı iyileştirmek ve semptomları hafifletmektir (61). Bu müdahalenin ana kaygısı, kullanılan greftin tekrar tıkanma süresi ve işlevselliğidir. Bunu başarmak için, revaskülarizasyonun (yeniden kanlandırma) geçirgen kalacak kanallar kullanılarak tamamlanması gereklidir (57). CABG için çok çeşitli vasküler kanallar mevcut olup iç torasik arter (ITA), safenöz ven (SV), radial arter (RA), sağ gastroepiploik arter (RGEA), ulnar arter (UA), splenik arter ve inferior epigastrik arterler CABG için en sık olarak kullanılan greftlerdir (56). Bu türden seçenek çeşitliliği tartışmalara yol açmakta olup hangisinin daha iyi olduğu konusunda fikir birliğine varılamamıştır (62). CABG için greft seçimi hasta sağ kalımında en önemli faktördür (56, 63). Bu seçim cerrahın tercihine, tecrübesine ve her hastanenin oluşturduğu cerrahi protokollere dayanmaktadır.

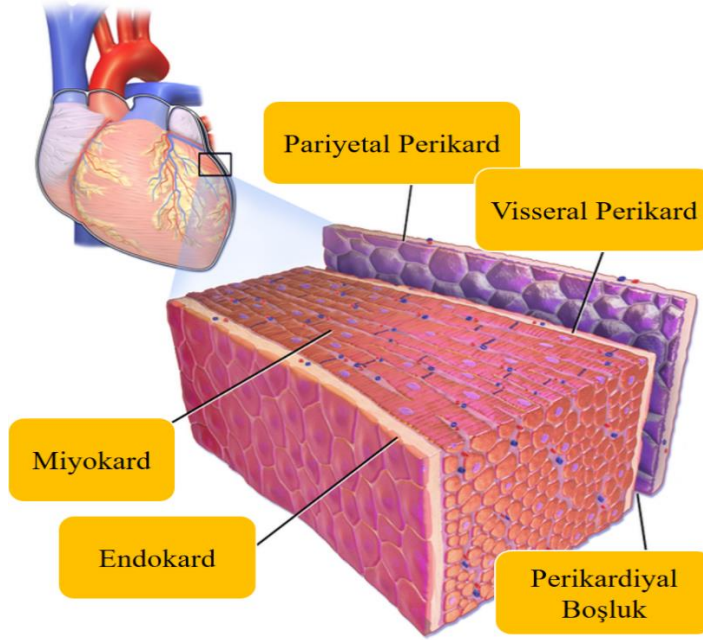
CABG'de cerrahi olarak Kardiyopulmoner bypass (KPB, CPB, On pump bypass), pompa dışı CABG (Of pump bypass), minimal invaziv doğrudan koroner arter cerrahisi (Minimally invasive direct coronary artery surgery) ve robotik cerrahi yöntemleri kullanılmaktadır (64).

Kardiyovasküler cerrahide hastanın ve cerrahi işlemin durumuna göre vücut dışı dolaşımın (ekstrakorporal sirkülasyon) sağlandığı KPB yöntemi kullanılmaktadır. KPB; kalp ve büyük damarlarda ameliyatı kolaylaştırmak için dolaşım ve solunum desteğine sahip bir ekstrakorporal dolaşım şeklidir. Kalp ve akciğerleri köprüleyerek kansız bir alanda ameliyat yapılmasına izin veren ve yapay bir dolaşım sağlayan KPB yöntemi insanda ilk kez 1952 yılında ilk atriyal septal defektin onarımı için John Gibbon tarafından yapılmıştır (65).

2.3. Perikard (Perikardiyum)

Perikard veya perikardiyum kapalı bir fibroseröz yapı şeklinde kalbin tamamını saran, kalbe gelen ve kalpten çıkan büyük damarların (aort, vena kaval, pulmoner damarlar vs.) giriş-çıkış kökünü (proksimal uçlarını) çevreleyen çift duvarlı kesedir (Şekil 2.2) (10, 66). Büyük damarların çevresindeki perikardiyal uzantılar perikardı üstten

tutmaktadır. Kalınlığı değişen perikardın tutunma yerleri olumna vertebralis, diyafragma, processus xiphoideus ve manibrium sternidir (67, 68). Kalbe ve perikard boşluğuna bağlı olarak orantılı şekilde artan perikard kalınlığı insanda 1-3.5 mm, koyunda 0.32 ± 0.01 mm, domuzda 0.20 ± 0.01 mm'dir (69).

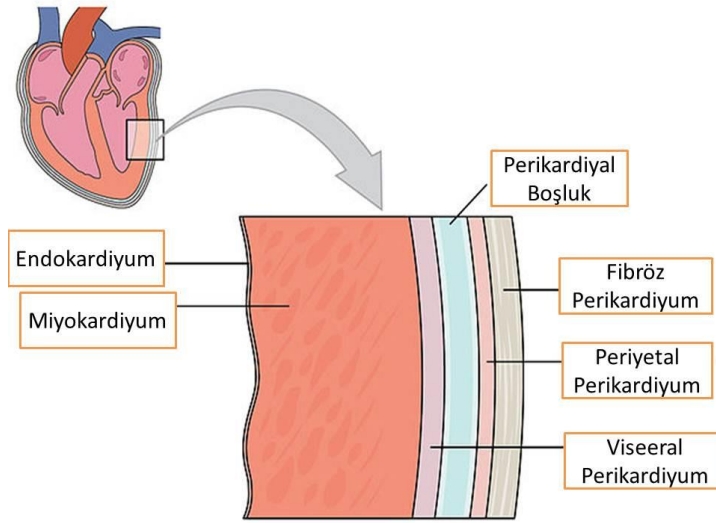


şekil 2. 2. Perikard anatomisi

Perikardın en önemli mekanik özelliğinden birisi kalbin boşluklarının hacimlerini belli bir seviyede tutarak onları sınırlandırmasıdır (70). Kalp hacimlerini belli seviyede kısıtlayıcı olarak ayarlayan perikardın bu mekanik özelliği aslında silginin gerilme gücüne benzemektedir (71). Sempatik ve parasempatik uyarıya sahip olan perikarda kanın taşınması torasik aortun küçük dalları, sağ ve sol perikardiyofrenik arterden- Internal mamarian arter (IMA) ve muskulofrenik arterlerle olmaktadır. Venöz drenaj ise azigos vene drene olan venae perikardiyallerden gerçekleştirilir (72).

Perikardiyum; fibröz perikardiyum ve seröz perikardiyum olmak üzere iki yapıdan oluşmaktadır (şekil 2.3). Fibröz perikardiyum dışta kollajen liflerinden, seröz perikardiyum ise iç kısımda mezotel hücrelerinden oluşur. Fibröz perikardiyum kalbi dışardan izole eder (73). Seröz perikardiyum ise fibröz perikardiyum ile miyokard arasındaki kısımdır. Seröz perikardiyum kendi içinde pariyetal perikardiyum ve visseral perikardiyum diye iki tabakaya ayrılır. Pariyetal perikardiyum; ince bir tabaka olup fibröz perikardiyumla birleşmiştir. Pariyetal perikardiyum elastik ve kollajen liflerden zengin olan aselüler yapıya sahiptir. Kollajen lifler, perikardın sertliğinden sorumlu yapılardır. Normal sağlıklı kişilerde perikard gerilimi azdır ve dalga şeklinde yerleşiklerdir.

Gerilimin arttığı durumlarda kollajen lifler düzgün bir şekil alırlar ve dokunun sertliğini sağlarlar (74). İnce ve saydam bir zar olan visseral perikardiyum (epikard) ise, miyokardiyumun üstündeki tabaka olup miyokard üzerine sıkıca yapışık tek katmanlı bir epitel tabakasından oluşmaktadır (75). Visseral perikardiyum kalbin gevşeme ve kasılma hareketlerine göre düzleşmekte veya küp biçimini almaktadır. Visseral perikardiyum bol miktarda esnek lif içeren bağ dokusundan oluşmuştur. Epikard ve kalp kası arasında kalp kasının bağ doku stromasıyla bağlantılı olan başka bir bağ dokusu katmanı daha vardır. Bu katmanın içinde kalbin yüzeyinden köken alan damarlar, sinirler, koroner damar oluğu ve koroner damarlar düzeyindeki yağ dokusu yer almaktadır.

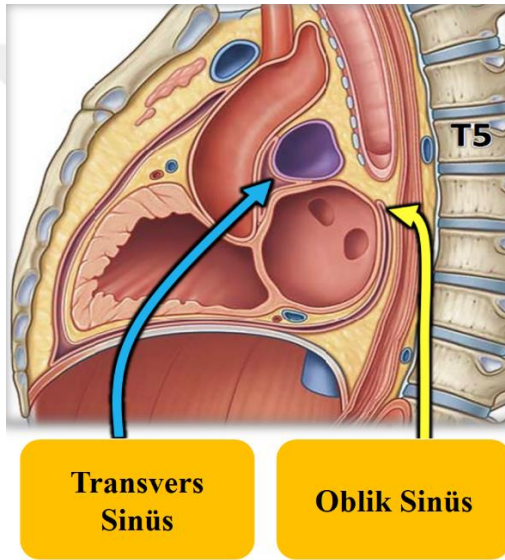


Şekil 2. 3. Perikardiyum tabakaları (76).

Hem pariyetal hem de visseral perikardtaki birçok çalışma (insan, köpek, domuz) aynı mekanik özellikleri göstermiş olup aralarında sadece niceliksel farklılıklar ortaya çıkmıştır. Köpek pariyetal perikardındaki invitro çalışmalar viskoelastik tepkinin varlığını göstermekte olup, esasen bu durum elastik ve kollajen liflerin mevcudiyeti ve düzenlenmesini göstermektedir (77, 78). Pariyetal perikard ventriküler hacim modülasyonuna katılım, intraventriküler etkileşim ve ventriküler diyastolik basınç/hacim oranlarına katılımdan sorumludur (79). İnsan ve domuzlarda yapılan invitro epikardiyal çalışmalar bağ dokusunun bileşimi ve yönelimine atfedilen elastik özelliklerin varlığını kanıtlamıştır. Özellikle insan epikardiyumunun miyokardın pasif mekanik özelliklerine katkıda bulunduğu dair kanıtlar bulunmaktadır (80). Bu şekilde epikardın ventriküler end-diyastolik hacim kontrolüne katıldığı ispatlanmaktadır (81).

2.3.1. Perikardiyal Sinüsler ve Sinirler

Pariyetal perikard; büyük damarların başlangıç kısımlarını sardıktan sonra visseral perikard şeklinde devam eder. Aslında visseral perikard pariyetal perikardın iç tabakasını oluşturarak devamlılık sağlar. Bu bölgelerde perikardiyal sinüsler (cepler) oluşur. Perikardın anatomisinde oblik ve transvers perikardiyal sinüsler denilen iki sinüs vardır (Şekil 2.4). Transvers sinüs asandan aort ve ana pulmoner arterin arkasında bulunur. Transvers sinüs kalbin arkasındaki venöz uç (sol atriyum ve üst vena kava) ile önündeki arteriyel uç (aort ve pulmoner gövde) arasındaki geçiştir. Oblik sinüs ise kör boşluk şeklinde olup kalbin sağ omuza doğru kaldırılmasıyla görülmektedir. Oblik sinüsün sağ tarafında inferior vena kava vardır.



Şekil 2. 4. Transvers ve oblik perikardiyal sinüsler (82).

Kalp odacıkları içinde sadece sol atriyum ekstraparikardiyal bir odacıktır. Oldukça iyi innerve olan perikard ayrıca mekanoreseptör, kemoreseptör ile frenik sinirleri de taşımaktadır. Perikard iki frenik sinir tarafından sinirlenir ve her bir sinir bir afferent dal (perikardiyal dal) verir (83, 84). Bu yapılar perikard iritasyonundan kaynaklandığı düşünülen reflekslerin oluşumunda ve perikarda ağrı uyarılarının taşınmasında rol almaktadır.

2.3.2. Perikardın Gelişmesi

İntrauterin dönemde oluşan perikard; plöroperikardiyal membran ile diyaframı oluşturacak yapı olan septum transversumdan gelişmektedir. Bu dönemde meydana gelen gelişim hataları perikardın kısmi oluşmasına veya hiç oluşmamasına neden olmaktadır.

Perikardın gelişim hatalarında perikardın hiç olmaması durumu daha çok görülmektedir. Konjenital olarak perikard defektli doğan olguların bir kısmında ayrıca başka organlarda da anomaliler görülebilmektedir (85).

2.3.3. Perikardiyal Boşluk, Perikardiyal Sıvı ve İçeriği

Seröz perikardiyumu oluşturan pariyetal ve visseral perikardiyum arasındaki boşluğa perikardiyal boşluk denir. Perikardiyal boşluk içerisinde dinamik değişiklikler gösteren ve fizyolojik olan seröz PS bulunmaktadır. PS miktarı birçok kaynakta farklı miktarlarda tespit edilmiştir. Hacimsel çalışmalar, PS hacminin hayvan boyutuna doğrudan bağlı olduğunu göstermiştir. Örneğin tavşanlarda 0.4-1.9 mL, köpeklerde 0.5-2.5 mL PS var iken yetişkin insanlarda yaklaşık 20-60 mL (ortalama 15-35 mL) bulunmuştur (11, 86). Yapılan araştırmalara göre en büyük PS miktarının özellikle de sırtüstü pozisyonda atriyoventriküler ve intraventriküler sulkus yani superior ve transversal sinusta olduğu tespit edilmiştir (67).

PS miktarı ve içeriğiyle ilgili yapılan renklendirme çalışmalarına göre; perikardiyal boşluk içindeki sıvı dağılımı heterojen çıkmıştır. PS'nin heterojen yapısına rağmen yine de PS'nin sürekli olarak karıştırıldığını gösteren bazı farmakokinetik çalışmalar vardır. Bu çalışmalar PS bileşiminin pozisyona bakılmaksızın aynı olduğunu söylemektedir (87).

Normal insan PS'sinin bileşimini tanımlamak zor olup (88), mevcut veriler kardiyotorasik cerrahi hastalarından veya hayvanlardan elde edilmiştir. PS tıpkı plevra sıvısı gibi spesifik özelliklere sahip bir sıvıdır (89, 90). Hücre popülasyonu ile ilgili olarak yapılan araştırmalarda normal PS'de heterojen bir hücre popülasyonunun varlığını göstermiştir. PS içeriğinde mezotelyal hücreler, lenfositler (% 53), granulositler (% 31), makrofajlar (% 12), eozinofiller (% 1.7) ve bazofiller (% 1.2) vardır. Bu duruma göre PS'de "lenfositoz" durumu daima kritik öneme sahip olup lenfosit sayısı tüm hücre popülasyonunun % 60'ını aştığı zaman patolojik olarak karakterize edilmektedir (91, 92). PS, diğer serozal boşluk sıvıları gibi bir plazma ultrafiltrasyon ürünü olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda PS'deki Na^+ (150.5 ± 0.72), Cl^- (123.2 ± 0.71), Ca^{2+} (1.92 ± 0.04) ve Mg^{2+} (0.85 ± 0.09) konsantrasyonlarının ($\text{mmol kgr H}_2\text{O}^{-1}$) plazmadakinden daha az olduğu tespit edilmiştir. Aksine sistol sırasında PS'deki K^+ (3.81 ± 0.07) konsantrasyonun plazmadan daha fazla olduğu, bunun sebebinin sistolde miyokardiyal interstisyumdan perikardiyal boşluğa K^+ sızıntısından kaynaklandığı belirlenmiştir (11, 88). Plazmaya göre ozmolarite ve protein konsantrasyonu da düşük

olan PS'de yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru albümin, globulinler, makroglobulinler ve fibrinojen bulunmaktadır. Net filtrasyon gradyanları göz önüne alındığında normal PS'nin bir transuda olduğu tespit edilmiştir (11, 88, 90, 93).

Yapılan başka bir araştırmaya göre PS'nin elektrolit içeriği plazmaya yakın bulunmuş olup (pH=7.57, Na=138 mM, Cl=109 mM, K= 4,5 mM) protein içeriği (total protein 3.1 g/dL) olarak tespit edilmiştir (94). Dinamik değişiklik gösteren PS içinde yapılan diğer araştırmalara göre sitokinler, hücreler, glukoz, kolesterol, Laktat dehidrogenaz (LDH), natriüretik faktörler, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), Fibroblast growth factors (FGF), hücre adezyon molekülleri (ICAM), prostaglandinler ve kayganlaştırıcı maddeler bulunmaktadır (95, 96). PS'de ayrıca çeşitli yollarla buraya girmiş olan bakteri ve virüslerde bulunabilmektedir (97).

2.3.4. Perikard ile PS'nin Önemli Fonksiyonları ve Fizyolojisi

Perikard kalbin etrafındaki yapılara yumuşak ve seröz bir kese ortamı sağlar. Kalbin rahatça hareket edebileceği bir ortam oluşturarak kalbin kasılması sırasında kayganlığı sağlayan PS kalbin çalışmasını kolaylaştırır (88). PS'nin bunun dışında aşağıda belirtilen birçok önemli görevi bulunmaktadır:

- PS'nin ana fizyolojik rollerinden biri her atımda kalbin sürekli hareketini mümkün kılan epikardiyal yüzeyi yağlayarak perikard içinde uygun bir sürtünmeyi sağlamaktır (88, 98).
- Yerçekimi kuvvetinin kalp üzerinde eşit olarak dağılımını sağlayan perikard; miyokardın dayanıklılığını arttırarak kalbin üzerinde koruyucu bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar perikardı olmayan kalpte intrakardiyak basıncın 1 atmosfere çıkarılması ile miyokard rüptüre olurken; perikardı sağlam olan kalpte bu değerin 1.75 atmosfer olduğunu göstermiştir (99). Böylece perikardın miyokard dayanıklılığını artırdığına dair önemli bir kanıt ortaya çıkmıştır.
- Kalbin orta mediastende sabit kalmasını sağlayan perikardta bağlayıcı ligamanlar kalbin torsiyonunu ve yer değiştirmesini engelleyerek vücut pozisyonundaki değişiklikler esnasında aşırı hareket etmesini önler (88).
- Ventriküller üzerinde hemodinamik etkiye sahip olan perikard kalp odacıklarının distansiyonunu sınırlar. Perikard yüksek end-diastolik ventriküler basınç sırasında ventriküloatriyal kan retrogresyonunu (geri gitmesini) önler (88).

- Perikard kalbi bitişik anatomik yapılardan izole ederek hem yapışıklık oluşumunu önler hem de kalbin çevresinde bulunan yapılardaki enfeksiyonun kalbe yayılmasını önler. Örneğin akciğer, mediasten, özefagus ve plevra gibi komşu organ enfeksiyonları, inflamatuvar ve neoplastik durumlar PS'nin oluşturduğu fizyolojik bariyer sayesinde kalbe ulaşamaz (88).
- Sağ kalp boşlukları gibi ince duvarlı olan bölgeler için önemli olan aşırı dilatasyonu önler. Sol ventrikülün aşırı yüklenmesi durumunda sağ ventrikül impulsunu azaltır (88).
- Hidrostatik basınçların dağılımını dengeler. Negatif basınç sayesinde ventrikül sistolü esnasında intraperikardiyal basıncı düşürerek atriyalara kan akışını kolaylaştırır (71).
- Perikard mezotel hücrelerinden eikozanoidler ve prostoglandinler salgılanır. Böylece mezotel hücreleri miyosit yapısı, işlevi ve gen ekspresyonunu etkilemektedir (100).
- Ventriküller arasındaki diyastolik coupling'i (bağlantı) sağlayarak, ventriküllerin diyastolik doluş esnasında birbirleriyle etkileşmesine neden olmaktadır.
- Sinir uyarımı tepkisi sayesinde kardiyak frekans ve arteryal kan basıncının düzenlenmesine yardımcı olur.
- Diyastol sonu (end-diyastolik) basıncının tüm hidrostatik seviyelerde aynı kalmasını sağlayan bir hidrostatik kompanzasyon sistemi oluşturulmasını ve Frank Starling mekanizmasının fonksiyonel olmasını sağlar (90, 101).
- Bu fonksiyonlara ek olarak perikardın immünolojik, vazomotor ve fibrinolitik aktivitesi de vardır.

2.3.5. Hastalık Halinde Perikardın Değişimleri

Perikard hem kardiyak hastalıklarda hem de sistemik bir hastalıkta karşımıza bir hastalık bulgusu olarak çıkabilmektedir. Kardiyak ve sistemik bir hastalıkta perikardın vereceği cevap akut inflamasyon ve/veya PS miktarındaki artış şeklinde olmaktadır (102). Aslında PS yıllarca hidrostatik basınç farkı ve ozmotik konsantrasyon gradiyenti ile üretildiği düşünülmüştür (103). Bununla birlikte, tavşanlarda ve köpeklerde yapılan çalışmalar, PS'nin içeriğini ve kompozisyonunun daha da fazla analizini sağlayarak bu basit görüşü genişletmiştir (91). İnsanlar üzerinde yapılan ilk geniş kapsamlı araştırmalardan birisinde elektif açık kalp ameliyatı geçiren 30 hastanın PS

kompozisyonu ile ilgili ayrıntılı bilgi edinmiş ve küçük moleküllerin (üre, ürik asit, glikoz ve elektrolitler gibi) konsantrasyonlarının plazmada ve PS'de birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir (11).

PS'nin üretilmesi sadece filtrasyon işlemlerini değil aynı zamanda aktif mekanizmaları da içermektedir. Örneğin miyokard tarafından üretilen çeşitli biyolojik maddeler perikard boşluğuna salınmakta ve PS içeriğini oluşturmaktadır. Yapılan birçok çalışmada PS içinde biriken maddeler arasında endotelinler (104), adenin nükleozidleri (105) ve anjiyotensin (106) tespit edilmiştir. Bu maddelerin plazma ile karşılaştırılması sonucunda PS'de daha yüksek konsantrasyonda olduğu ortaya çıkmıştır.

PS ve serumda bulunan kardiyak markerleri kıyaslamak amacıyla yapılan bir çalışmada; açık kalp ameliyatına alınan 30 hastadan ameliyat sırasında median sternotomi insizyonundan sonra ve ameliyat bittikten 24 saat sonra göğüs tüpüne drene olan PS ve venöz kan alınarak her ikisinde de kardiyak troponin (cTn I), CK, CK-MB ve myoglobin seviyeleri incelenmiştir. Yapılan çalışmada CK kolorimetrik metodla ölçülürken, cTn I, CK-MB ve myoglobin ise enzim immünoassay tekniği ile ölçülmüştür. Yapılan değerlendirme sonucunda perikardiyal cTnI'nin seruma göre daha yüksek, CK, CK-MB ve myoglobin ise seruma göre daha düşük olduğu tespit edilmiş olup preoperatif PS'de biriken cTnI miktarının subklinik hasarı yansıtabildiği sonucuna varılmıştır (107).

Çeşitli kalp hastalıklarında bazı maddelerin PS'deki konsantrasyonları pek çok patofizyolojik mekanizmanın anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Örneğin yapılan bir çalışmada kalp yetersizliğinde atriyal natriüretik faktör ve brain natriüretik faktörün PS'de yaklaşık 12 kat fazla bulunması bu faktörlerin kalp yetersizliğinde otokrin ya da parakrin bir faktör olarak patofizyolojik bir rol oynadığını düşündürmektedir (108, 109). Kararsız anginada Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-I), Vascular cell adhesion protein 1 (VCAM-I), e-selektin gibi adezyon moleküllerinin ve İnterlökin 6 ve 8 gibi proinflamatuar sitokinlerin PS'deki yüksek düzeyleri KAH ile inflamasyon ilişkisini desteklemektedir. Yine bu hastalarda PS'de noradrenalin yüksekliği iskemik kalp kasında hasarlanma ve aritmilerin gelişiminden norepinefrinin sorumlu olduğu savını desteklemektedir. Sol ventrikül hipertrofisi ve remodeling oluşumundan sorumlu olduğu düşünülen angiotensin-II düzeylerinin bu hastaların PS'sinde düşük düzeyde bulunması kardiyomiyosit hipertrofisinden angiotensin-II'nin direkt sorumlu olmadığını düşündürmektedir. İskemik kalp hastalıklarında kollateral damar gelişimini uyardıkları bilinen asit ve basic FGF, VEGF, hepatositik growth faktör gibi çeşitli anjiojenik

faktörlerin perikardiyal konsantrasyonları anlamlı düzeyde artmış olması perikardi önemli kılmaktadır (152, 153).

2.3.6. Perikardiyal Hidrodinamik ve Lenf Drenajı

PS oluşumunda ayrıca perikardiyal boşlukta miyokardiyal interstisyel sıvı ve lenf drenajı önemli kaynaktır. PS'nin boşalması pariyetal perikard aracılığıyla torasik duktusa, sağ plevral aralıktan da sağ lenfatik duktusa drene olması sayesinde olmaktadır (110). PS'nin hacmi, üretim ile drenaj arasındaki denge ile belirlenir. PS'nin plazma ultrafiltrasyonu ile epikardiyal kılcal damarlardan (muhtemelen pariyetal perikardiyumdan) ve az miktarda miyokardtan interstisyel sıvı şeklinde türetildiğine dair güçlü kanıtlar vardır (111). Perikardiyal boşluğa akışkan drenajı esas olarak pariyetal perikard lenfatik kılcal yatak yoluyla olmaktadır (112). Koyunlarda yapılan çalışmaya göre PS'nin tümünün lenfatik kılcal yataktan 5-7 saatte bir drene olduğu belirlenmiştir (112). Bununla birlikte normal prosedürler ve koşullar altında PS dinamiğini inceleme zorluğu nedeniyle konu tam olarak aydınlatılamamıştır (113). Esasen perikardiyal tabakalar içerisindeki sıvı hareketi mikrovasküler yapı ile boşluk arasındaki hidrostatik/ozmotik basınç dengesine bağlıdır (112).

PS hem küçük hem de bazı büyük moleküllere geçirgen olup, PS'de dinamik bir denge halinde olan serum ile serbest sıvı-elektrolit değişimi vardır (114). Yapılan bazı çalışmalarda kalp hastalıkları sırasında PS içerisinde bulunan maddelerin değişen konsantrasyonu bildirilmiştir (115). Buna ek olarak PS kompozisyonu çeşitli kalp hastalıklarında (116) ve kardiyak hipertrofide (117) değişmektedir.

2.3.7. Perikardiyal Basınç

İntraperikardiyal basınç solunum siklusu boyunca -5 ile +5 mmHg arasında değişmektedir. Plevral basınca yakın olan intraperikardiyal basınç solunumla birlikte siklik değişiklikler göstererek inspirasyon sonunda yaklaşık -6 mmHg, ekspirasyon sonunda ise yaklaşık -3 mmHg olmaktadır. Sağ ve sol ventrikül diyastolik basınçlarından daha düşük olan intraperikardiyal basınç perikardiyal boşlukta toplanan sıvının volümüne, sıvının toplanma hızına ve perikardın fiziksel özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Santral venöz basınç intraperikardiyal basınçtan hafif derecede yüksek olup bu durum venlerden kalbe kan akımını sürdürmektedir.

2.3.8. Perikardiyal Efüzyon

Perikardiyal efüzyon; perikardiyal boşlukta sıvı birikiminin komplikasyonudur. Perikardiyal boşlukta normalden daha fazla sıvının birikmesinde bir çok sebep olabilmektedir. PS üretimi ve drenajıyla ilişki oluşan patolojiler sıvının normalden daha farklı olmasına neden olmaktadır. Örneğin; hidroperikardiyum sağ atrium basıncının artması, perikardın venöz ve lenfatik drenajının azalması sonucu meydana gelir. Perikardiyal efüzyon kalp yetmezliği, kalp kapak hastalığı ve miyokard infarktüsünde görülebilmektedir. PS'nin intraperikardiyal basınca etkisi sıvının volümüne, toplanma hızına ve perikardın gerilme derecesine bağlıdır. Perikardın katılığı (stiffness) sıvının birikim hızı ile parietal perikardın esneme kabiliyeti arasındaki etkileşim belirlemektedir. Sıvının yavaş toplandığı durumlarda 2 litreye kadar toplanan sıvı intraperikardiyal basıncı arttırmazken, sıvının hızlı toplandığı durumlarda toplanan 150-200 mL sıvı bile intraperikardiyal basıncı hızla arttırmakta ve sonuçta kalp tamponadına neden olabilmektedir. Böylece PS'nin birikme hızı klinik olarak verilen cevabı belirlemektedir (118).

Çoğunlukla perikardiyal efüzyonda inflamasyonlu perikardın geçirgenliği bozulmakta ve visseral perikarddan perikardiyal boşluğa fazla miktarda sıvı akımı olmaktadır. İrritatif ve inflamatuvar efüzyonlarda interlökinler, sitokinler ve tümör nekrozis faktör gibi bazı maddeler lokal olarak üretilmektedir. Perikard'ta geri emilimin bozulmasında büyük moleküllerin ve proteinöz materyalin eksudasyonu ile intraperikardiyal trombüsün erimesi de rol oynamaktadır. Bu durum ise daha fazla sıvının birikimine neden olmaktadır (114). Geniş efüzyonlar çoğunlukla epikardta venöz ve lenfatik tıkanmadan sonra oluşmaktadır. Perikardiyal efüzyon asemptomatik durumdan, kardiyak tamponada kadarolan spekturumu çok geniş klinik bir durumdur.

2.3.9. Kalp Tamponadı

Perikardiyal aralıkta sıvı birikimine bağlı olarak ortaya çıkan intraperikardiyal basınç artışının ventriküllerin diyastolik doluşunu kısıtlaması ve kalp debisinin düşmesi ile sonuçlanan klinik durumdur. Kardiyak tamponad; intrakardiyak basınçlarda artma, ventriküllerin diyastolik doluşunda, atım hacminde ve kardiyak outputta azalma ile karakterizedir (119). Kalp tamponadında önce sağ sonra sağ ventrikül doluşları engellenir. İntraperikardiyal basınç sol ventrikül diyastolik basıncına eşitlenince veya geçince bu durum ventrikül hacminde azalmaya, atım volümü ve kardiyak debide

düşmeye sebep olur. Bu durum başlangıçta refleks taşikardi ile kompanse edilmeye çalışılır. Kalp tamponadının sebepleri arasında; enfeksiyon (viral, bakteriyel), malignite, travma, konnektif doku hastalıkları, üremi, MI sonrası kalp rüptürü, aort diseksiyonu, aort anevrizma rüptürü, antikoagülan tedavi, cerrahi işlemler, kateter komplikasyonları ve radyasyon gibi önemli etmenler bulunmaktadır. Tüm perikardit çeşitleri tamponad oluşturabilir (120). Kalp tamponadı hayatı tehdit eden, hızlı tanı ve acil tedavi gerektiren bir durumdur (121).

2.3.10. Perikardiyal Sıvıda Yapılan İncelemeler

PS'de makroskobik ve mikroskobik incelemeler, hücre sayım, biyokimyasal tetkikler, sitolojik, mikrobiyolojik-kültürel, inflamatuvar, patolojik, immünolojik, malignite ve moleküler (PCR, proteomiks vb) incelemeler yapılabilmektedir (122).

Perikardiyosentez sayesinde alınan sıvı örnekleri tetkik edilerek etiyolojik açıdan tanısal bir yaklaşım sergilenir. Perikardiyosentezde hasta yarı oturur pozisyona getirilerek perikardiyal efüzyonun ön ve alt kısmında birikmesi sağlanır. Bu yöntemde sol kosta yayı ile ksifoid çıkıntı arasından horizontal, frontal ve sagittal planlarda 45 derece açı ile sol omuza doğru ponksiyon yapılır. Perikardiyal ponksiyon işleminin floroskopi veya iki boyutlu ekokardiyografi (EKO) aracılığıyla yapılması gerekir (123). Floroskopi ve EKO sayesinde elektrokardiyografik ve hemodinamik kontrol sağlanmış olur. Ponksiyon sırasında iğnenin ventrikül duvarına değmesi ile EKG'de ST segment yükselmesi gerçekleşerek ventriküler prematüre atımlar gözlenir. Eğer PS kesenin ön ve serbest boşluğunda ise kolaylıkla çekilir. Bir hastada uzun süreli drenaj gerekiyorsa o zaman perikard boşluğuna pigtail kateter adı verilen bir katater yerleştirilebilir. Pigtail kateter takıldıktan sonra kişide günlük drenaj 50 cc'nin altına düşerse bu durumda kateter geri çekilebilir (124). Floroskopi altında yapıldığında kontrast madde enjeksiyonu ile kardiyak boşluklara girilip girilmediği kontrol edilebilir. Aspirasyon sıvısı hemorajik ise pıhtılaşmış pıhtılaşmadığı kontrol edilir.

2.3.11. Perikard Tedavilerinin Geleceği

Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre perikard yeni tedavi yöntemlerinin uygulama alanı haline gelmiştir. Özellikle perkütan girişim veya cerrahi revaskülarizasyonun yapılamadığı hastalarda tıkalı damarlarda kollateral gelişimi uyarmak için perikardiyal boşluğa verilen intraperikardiyal "basic fibroblast growth

factor" uygulamaları perikardı yeni tedavi girişim yeri ve metodu haline getirmektedir (125, 126).

Miyokardiyal iskeminin tedavisinde yeni bir yaklaşım olan Terapötik Anjiyogenez; risk altındaki miyokardiyumu beslemek amacıyla yeni kan damarlarının büyümesini indüklemek için proanjiyojenik büyüme faktörlerinin kullanımına dayanan bir yöntemdir. Bu yöntem ilk olarak 2000 yılında denenmiş olup, ilgili çalışmada kronik miyokardiyal iskeminin oluşturulduğu bir domuz modelinde temel FGF-2 domuza intraperikardiyal enjeksiyon ile verilmiştir. FGF-2'nin tek bir intraperikardiyal enjeksiyonu sonucunda domuzda herhangi bir olumsuz sonuç olmaksızın fonksiyonel olarak miyokardiyal anjiyogenez gerçekleşmiştir. Bu şekilde FGF-2 uygulama modu, iskemik kalp hastalığı olan hastaların tedavisi için faydalı bir terapötik strateji olduğunu kanıtlayabilir (127).

İskemik kalp hastalığının tedavisinde büyüme faktörünün tetiklediği anjiyogenez uzun zamandır araştırılmaktadır. Bu tür ilaçların uygulanması açısından en kolay yol intrakoroner ve intravenöz uygulamadır. Ancak düşük miyokardiyal alım ve büyük olan sistemik resirkülasyon ilacın etkinliğini azaltmaktadır. Perikardiyal boşluk, artmış miyokardiyal alım ve azaltılmış sistemik toksisitelere sahip bir ilaç verme rezervuarı görevi görebilir. 2003 yılında yapılan ve 2000 yılındaki çalışmaya benzer olan bir çalışmada normal ve kronik iskemik domuzlarda temel FGF-2 intraperikardiyal uygulamasından sonra perikard ve miyokard dokusunda bu ilacın tutulumu ile bunların ilaca karşı gösterdiği tepki araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda FGF-2'nin intraperikardiyal verilmesiyle, intrakoroner veya intravenöz uygulamaya göre belirgin şekilde daha yüksek miyokardiyal birikim ve tutulma sağlandığı, ilacın çok daha düşük seviyelerde sistemik dolaşıma katıldığı ve bu sayede anjiyogenezin daha iyi tetiklendiği tespit edilmiştir (128).

2.4. İnterlökinler (IL)

İlk kez beyaz kan hücreleri olan lökositlerden ekspresse edilen İnterlökinler gizli sinyalleme molekülleridir. Sitokinlerin bir grubu olan interlökinlerin isimlendirmesi hücrelerarası haberleşme kapasitelerinden dolayı haberleşme anlamında "inter" kelimesinden ve lökositlerin "lökin" kelimesinden gelmektedir. "İnterlökin" adı, farklı araştırma grupları tarafından İnterlökin 1 ve İnterlökin 2'yi belirlemek için kullanılan çeşitli farklı isimlerin yerine 1979'da seçilmiştir. Bu karar, İsviçre'deki ikinci uluslararası lenfokin çalıştay sırasında alınmıştır (129, 130).

İnterlökinler; kan hücreleri dışında çeşitli vücut hücrelerinde de üretilmektedir. Bağışıklık sisteminin geniş kısmını oluşturan interlökinler bazı nadir bulunan hastalıklarda bile tanımlanmıştır. Kardiyak yeniden modelleme (remodeling) oluşumunda etkin olan İnterlökinler proinflamatuar süreçte kardiyomiyosit ve fibroblastlar arasında sinyal molekülleri olarak görev alarak kardiyoprotektif etki göstermektedir. Şu ana kadar tanımlanmış 17 İnterlökin familyası bulunmaktadır. İnsan genomu 50'den fazla interlökin ve ilgili proteinleri kodlamaktadır (131).

17 familya içerisindeki önemli bir üye olan İnterlökin-1 ailesi, enfeksiyonlara veya steril hakaretlere karşı bağışıklık ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. İnterlökin-1 ailesinin (IL-1F) sitokinleri ve reseptörleri doğal inflamatuvar yanıtlarda mediyatör görevi üstlenerek hem pro-inflamatuvar hem de anti-inflamatuvar işlev görürler (132, 133). Bu protein molekülleri hücrelerdeki fiziki hasara ve invaziv patojenik mikroorganizmalara karşı savunmanın ilk hattında yer almaktadır. IL-1 ailesindeki sitokinlerin proinflamatuar sitokinler olarak nitelendirilmesinin sebebi inflamatuvar ve immünolojik hastalıklarda gen ekspresyonlarını hızlı uyardığı içindir. IL-1 aile üyelerinin sitokin isimleri, bağlandıkları reseptörler ve ko-reseptörleri ve immün cevapta oynadıkları rollere göre özellikleri Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2. 1. IL-1 Familya Üyeleri

Sitokin	Aile adı	Reseptör	Ko-Reseptör	Özellik
IL-1α	IL-1F1	IL-1RI	IL-1RAcp	Proinflamatuar
IL-1β	IL-1F2	IL-1RI	IL-1RAcp	Proinflamatuar
IL-1Ra	IL-1F3	IL-1RI		IL-1 α , IL-1 β için antagonist
IL-18	IL-1F4	IL-18Ra	IL-1R β	Proinflamatuar
IL-36Ra	IL-1F5	IL-36R		IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ için antagonist
IL-36α	IL-1F6	IL-36R	IL-1RAcp	Proinflamatuar
IL-37	IL-1F7	IL-18Ra		Anti-inflamatuvar, Transkripsiyon düzenleyici faktör
IL-36β	IL-1F8	IL-36R	IL-1RAcp	Proinflamatuar
IL-36γ	IL-1F9	IL-36R	IL-1RAcp	Proinflamatuar
IL-38	IL-1F10	IL-36R		IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ için antagonist
IL-33	IL-1F11	ST2	IL-1RAcp	Proinflamatuar, Transkripsiyon düzenleyici faktör

11 sitokin grubuna sahip olan IL-1 ailesiyle ilişkili olarak birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar vücut ısısının yükselmesi ile enfeksiyon veya inflamasyonun arasındaki bağın aydınlatmasına yardımcı olmuştur. IL-1 ailesinin geniş

fizyolojik rolü arasında hücrelerin stimülasyonu ve inhibisyonu vardır. Özellikle IL-1 familyasının tanımlanan 11. üyesi olan IL 33'ün sitokin ve transkripsiyonel özellikli nükleer faktör olarak davranabilmesi hücreler arasında sinyal oluşturmakta ve kalbi korumaya yardımcı olmaktadır (134, 135).

2.4.1. IL 33

IL 33 (IL-1F11) ilk kez 1999 yılında köpeklerin vazospastik serebral arterlerinde subkranoid kanamadan sonra klonlanmış olup endotelial venüllerde upregüle olarak bulunmuş, orjinal olarak DVS27 gen proteini ve NF-HEV (nükleer faktör from high endotelial venüles) olarak tanımlanmıştır (136, 137, 138). IL-33 geni, ilk kez 2005 yılında Schmitz ve ark. tarafından IL-1 ailesi üyelerinin hesaplamalarından elde edilen bir veri tabanı araştırması sonrası DVS27 proteinin IL-18'e aminoasit homolojisi gösterdiği ve β sheet tabakalarının IL-1 familyasına benzer olduğu tespit edilmiştir (136). DVS27 proteini "Orphan Reseptör" olan ST2'nin IL1-RL1 familyasından olmasından dolayı IL 33 olarak isimlendirilmiştir (139). IL 33 dahil olduğu IL-1 familyası üyeleri gibi enfeksiyon, inflamatuvar veya immünolojik durumlara karşı konak yanıtını düzenlemektedir. IL 33 geni insanda 9. (9p24.1) kromozomda bulunup 270 amino asitten oluşmaktadır (140). İnsanda Moleküler ağırlığı 30759 dalton (30 kD) olan IL 33 geni; 6.215.149-6.257.983 bazları arasında 42.835 baz içermekte olup toplamda 11 ekzon barındırmaktadır (141).

IL 33 biyolojik olarak aktif olmayan öncüler şeklinde sentezlenir ve proinflamatuvar koşullarda kaspaz-1 parçalanmasıyla aktif duruma geçer. 30 kDa'lık pro-IL 33 olarak üretilen IL 33 kaspaz-1 enzimi tarafından parçalanarak 18 kDa'lık olgun forma dönüştürülmektedir (140). IL 33'ün kaspazlar tarafından kesilmesi farklı olaylarda değişmektedir. Örneğin nekroz sırasında IL 33 kesilmezken, apoptoz sırasında IL 33 kesilir ve proinflamatuvar özelliği inaktive olur (142).

IL 33'ün biyolojisi ile güncel olarak yapılan çalışmalarda bu molekülün heterokromatin ilişkili nükleer transkripsiyon faktörü olduğunu ortaya çıkarmıştır. IL 33 dinamik olarak organeller arasındaki trafikte rol almakta ve biyomekanik yüklenme olduğunda salınmaktadır. IL 33'ün doku hasarı, nekroz ve stres sırasında veya sonrasında tehlike sinyali olarak salgılanıp immün sistemi harekete geçiren alarm molekül olduğu düşünülmektedir (136, 143). IL 33'ün mekanik stres, fiziksel deformasyon ve normal hücrelerdeki davranışı ile ilgili bilgiler giderek artmakta ve bu bilgiler daha net olarak anlaşılmaktadır. Bu bilgi ve çalışmalar sayesinde IL 33'ün nükleer eksport sekansının

olmadığı ve mekanik-sensitive parakrin faktör olduğu anlaşılmıştır (144). IL 33; hücre tipine, uyarılma biçimine, subselüler lokalizasyonu veya salgılanma biçimine bağlı olarak farklı şekilde davranabilmektedir. Rahul Kakkar tarafından yapılan çalışmaya göre IL 33'ün hücrelerde mekanik stresten sonra multi kompartman ortamda, organeller arasında ve ekstraselüler ortamda mekanik olarak stres yüklenmiş hücrelerden salınan multi organel protein olduğu tanımlanmıştır (144).

IL 33; HEV dışında koroner arter düz kas hücreleri, koroner arter endotelyumu, non HEV endotelial hücrelerde, adipositlerde, T helper 2 (Th2) lenfosit-mast hücreleri-bazofiller ve kardiyak fibroblastlarda da eksprese edilmektedir (136). IL 33; mast hücreleri, bazofiller, eozinofiller ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin aktivasyonunda rol oynar. Diğer IL1 familya üyelerinin aksine IL 33 öncelikle Th2 için kemo atraktant görevi görebilmekte ve Th2 hücrelerin mobilizasyonunda önemli rol oynayarak Th2 yanıtını tetiklemektedir (136). IL 33, çeşitli immün hücrelere etki ederek geniş bir yelpazede hastalıkları etkileme potansiyeline sahip olup (145), Th2 ile beraber bazı otoimmün, inflamatuvar hastalıklar gibi süreçlere katılmaktadır.

IL 33; astım, romatolojik hastalıklar, kanser, obezite, tip II diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi hastalık sürecinin oluşumu ve engellenmesinde önemli rollere sahiptir. Hastalık oluşumundaki etkisinin yanında IL 33; ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıklar, obezite, Tip II diyabet ve kardiyak remodeling gibi durumlarda koruyucu etkiye sahiptir (146). Kardiyovasküler hücrelerde IL 33'ün bulunması bu yapının kalp damar hastalıklarında rol oynayabileceğini gündeme getirmiştir (136). Yapılan ileri çalışmalarda IL 33'ün kardiyak fonksiyon regülasyonunda da rol oynadığı tespit edilmiştir (139).

2.4.2. Kardiyovasküler Hastalıklarda IL 33 Rolü ve Etki Mekanizması

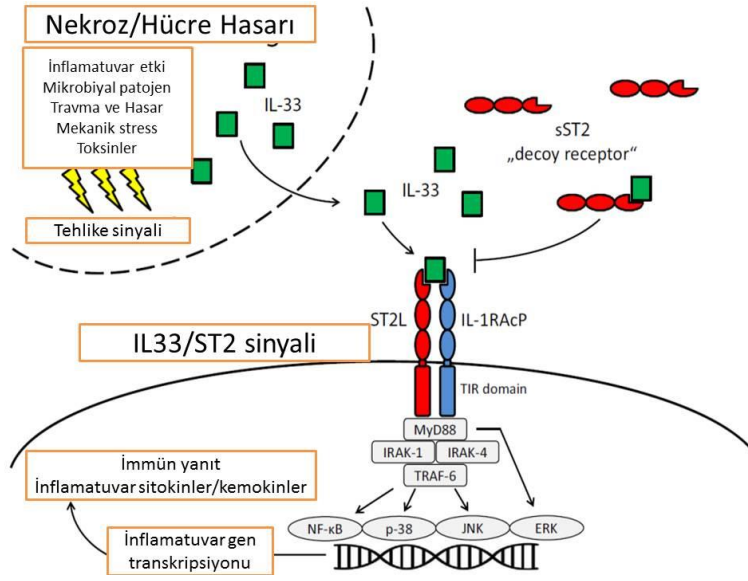
Kalp kapak hastalıkları, hipertansiyon, KAH ve MI neticesinde kardiyomiyosit hipertrofisi ve kardiyak fibrosiz gibi patofizyolojik süreçler olmaktadır. Bu süreçlerin hepsi mekanik yüklenmeye cevap olarak verilmekte ve duvar stresi bu şekilde normal sınırlara çekilmeye çalışılmaktadır. Bu cevaplar verilirken çoğu zaman ölümcül durumlar ortaya çıkmaktadır.

IL 33; kalpte mekanik yüklenme olduğunda kardiyak miyositler ve fibroblastlar arasında parakrin etki göstermektedir (134). Bu sitokin esas olarak kalpte fibroblastlar tarafından üretilse de aynı zamanda hücre nekrozu sırasında miyositler tarafından üretilmektedir (134, 147). TNF- α ve IL-1 β tarafından gen ekspresyonu teşvik edilen IL

33, pro hipertrofik etmenlere karşı hipertrofi oluşumunu engellemektedir (148). Farelerde yapılan çalışmalarda IL 33'ün kardiyovasküler yüklenmenin olduğu zamanlarda kalp hipertrofisi ve fibrozisi azalttığı bulunmuştur. Kalbi koruyucu bu bilgilere benzer şekilde hücre kültürü ortamındaki fibroblastlara uygulanan IL 33 ile aynı sonuçlar alınmıştır (149). IL 33'ün başlattığı süreçte ST2 önemli roller oynar (150).

Hücrel stres sırasında salınan IL 33; ST2'ye bağlanarak etki göstermektedir. 1989 yılında keşfedilen ST2; IL1 reseptör protein ailesinin bir üyesi olup immün yanıt ve inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde merkezi rol oynar (151). ST2 iki önemli izoforma sahip olup bu izoformlar membrana bağlı-ST2L (membrane bound form-mST2) ve çözünür halde (soluble) sST2'dir. Membran reseptör olan ST2L ayrıca IL1RL1-Beta olarak bilinmekte, soluble reseptör olan sST2 ise IL1RL1-Alfa olarak bilinmektedir (135). ST2L ve sST2'nin ligandı IL 33'tür (152). ST2 işlevi tam olarak anlaşılamamış olup IL 33 etkisi ile ilişkilidir.

Çift fonksiyonlu olan IL 33; hem geleneksel bir sitokin olarak ST2L reseptör kompleksiyle beraber hareket eder hem de hücre içi transkripsiyonel düzenleyici özelliklere sahip nükleer faktör olarak davranır (144). IL 33; ST2L'ye bağlanarak inflamatuvar gen transkripsiyonuna neden olur ve sonuçta sitokinlerin/kemokinlerin üretimi tetiklenerek immün cevap oluşur. IL 33; ST2L reseptörüne IL1RAcP aksesuar protein aracılığıyla bağlanır. IL1RAcP aksesuar proteini IL 33'ün ST2L'ye bağlanma afinitesini artırmaktadır (153). IL 33 ve ST2L – 1L-1RAcP ile beraber heterodimerik form oluşturur. Bu bağlanmadan sonra IL1-RAcP'inin domaini olan TIR ile sinyal oluşumu başlatılır. Sinyal başlamasından sonra myeloid farklılaşma birincil yanıt proteini 88 (MyD88) sinyali devam eder. Daha sonra NF-kB (nuclear factor kappa B) gibi transkripsiyon faktörleri aktive olur. Sonrasında IRAF6, IL-1R bağımlı kinaz 1 ve 4 reseptör kompleksi (IRAK-1/4), p38, JNK (jun N-terminal kinase), ERK (extracellular signal-regulated kinases) ve MAPK sinyal yolları aktive edilerek (Şekil 2.5) hücre içinde uyarı silsilesi meydana gelir (154) ve sonuçta inflamatuvar mediyatörler üretilir (142).



Şekil 2. 5. IL 33/ST2L sinyali ile aktive olan hücre içi yolları (155).

ST2L'nin IL 33'e bağlanması kardiyoprotektif sinyal kaskadını tetikleyip etki gösterirken (kardiyak hasarın düşmesi, apoptozun önlenmesi, inflamatuvar etkinin düşmesi, hipertrofi ve fibrozisin düşmesi, mekanik uyarı ve hasara karşı koruma), sST2'nin IL 33'e bağlanması bu olumlu etkilerin ortadan kalkmasına neden olur (134, 156). sST2 bir tuzak reseptörü (decoy receptor) gibi davranarak, IL 33'ün pozitif etkilerini azaltır (134). sST2 IL 33'ü bağlayarak sarkolemmal (kas lifinin hücre zarı) reseptör ile etkileşim içine girerek IL 33'ün kullanılabilirliğini azaltır. Bu nedenle sST2'de bir artış kardiyak hücreler üzerinde IL 33'ün kardiyoprotektif etkisini azaltabilmekte ve genel kardiyovasküler risk profili üzerinde negatif bir prognostik etki yaratabilmektedir (134).

Kakkar ve ark. yaşayan hücrelerin mekanik gerilmesinde sitoplazmik veziküllerden IL 33 salımını artırdığını göstermiştir (154). Yapılan başka bir çalışmada biyomekanik stres altında kardiyomiyositler ve kardiyak fibroblastlarda hem ST2L hem de sST2'nin paralel artmış salımını tespit edilmiştir (157).

Başka bir çalışmada ise ventriküllerin basınçla yüklenmesi modellerinde IL 33 ile tedavi hipertrofiyi önlemiş, hipoksi durumunda ise IL 33 kardiyomiyositleri apoptozdan kurtarmıştır. Yapılan çalışmada iskemi reperfüzyon MI durumunda IL 33 tedavisi sayesinde infarkt boyutu azalmış, ventriküler dilatasyon düzelmiş, kaspaz 3 baskılanmış ve apoptoz inhibitörleri artmıştır (158). IL 33 bu tür olumlu etkileri ST2L aracılığıyla yapabilmektedir. ST2L'nin anti ST2L ile bloklanması sonucunda IL 33'ün anti hipertrofik ve anti apoptotik etkisi ortadan kalkmıştır. Aynı durum sST2 eklenmesi ile IL 33'ün olumlu etkisi kaldırılarak ta görülmüştür.

IL 33; ateroskleroz gelişimini azaltmakta, fibroblast-kardiyomiyosit etkileşimini artırarak kalp yetmezliğinde yararlı rol almaktadır (140). Tümör dokusunda ve iyileşmeyen yaralarda endotel hücrelerinde IL 33 nükleer ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Anjiyogenik veya inflamatuvar uyaranlarla IL 33 ekspresyonunun azalması, IL-33'ün endotel hücre aktivasyonunda ve anjiyogenezde olası rolünü işaret etmektedir.

IL 33 ayrıca insan adipositlerinde de üretilmekte ve TNF- α tarafından üretimi artırılmaktadır. TNF- α düzeyinin obezitede yüksek düzeyde olması, IL 33'ün olası rolünü düşündürmektedir (140). Farelerde yapılan başka bir çalışmada; IL 33 ile IL 5, IL 10 ve IL 13 üretiminin uyarıldığı ve adipogenik gen ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Obez diyabetik farelere rekombinant IL 33 verilmesi ile açlık glukoz düzeyinde ve şişmanlıkta azalma, glukoz ve insülin toleransında iyileşme izlenmiştir (140).

Hamad Al Shahi ve ark. tarafından yapılan çalışmada KAH ve AKS hastalığına yakalanan bireylerin periferik kan mononükleer (PBMCs) hücrelerinde inflamatuvar sitokinler ve kemokinler değerlendirilmiştir. Bu çalışmada IL 33'ün ekspresyon seviyesi AKS hastalarına göre KAH hastalarında yüksek çıkmış ve özellikle AMI hastalarında bu seviye belirgin şekilde yüksek ve anlamlı bulunmuştur ($p < 0,005$). Bu çalışma sonucunda IL 33'ün AKS'nin ilerlemesine karşı koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır (159).

2007 yılında yapılan bir çalışmada IL 33'ün patolojik basınç yüklenmesi altında kardiyak hipertrofiyi ve fibrozisi engellediği tespit edilmiştir (160). İn vitro ortamda kardiyak fibroblastlarda siklik gerilme durumunda anlamlı olarak yüksek bulunan IL 33 hipertrofik stimülasyon sırasında miyosit aminoasitlerin birleşmesini önlemektedir (144). Bu çalışmaların hepsi IL 33'ün mekanik yüklenmeye karşı kalbi koruduğunu ortaya çıkarsa da IL 33'ün fibrozisi azaltma mekanizması halen net değildir. Kardiyak fibrozis büyük oranda kardiyak fibroblast ekstraselüler matriks (ECM) üretimindeki artıştan kaynaklanmasına rağmen IL 33'ün ECM üretimine etkisi de tam olarak belirlenmemiştir. Jinyu Zhu tarafında ratlardan izole edilen kardiyak fibroblast üzerinde yapılan çalışmada IL 33'ün fibroblastlardaki ekstraselüler matriks proteinleri, proinflamatuvar sitokin/kemokin ve fibroblast aktiviteleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda IL 33'ün direkt olarak kollajen I ve III üretimine etki etmediği fakat IL 6 ve monosit kemotaksis protein 1 (MCP 1) üzerine artırıcı etkisi tespit edilmiştir. Ayrıca fibroblastlara IL 33 verildiğinde fibroblastların migrasyonunu zayıflattığı ve ileri araştırmalar sonucunda IL 33'ün hızlı bir şekilde p38, c-junk ve NF-KB gibi sinyal yollarını aktive ettiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada IL 33'ün sinyal yolları üzerindeki etkisini tespit etmek amacıyla farmakolojik inhibitörler kullanılmış ve bunun

sonucunda IL 33'ün p38 ve ekstraselüler sinyal kinazlar aracılığıyla oluşan IL 6 ve MCP 1 oluşumunda önemli olduğu bulunmuştur. Sonuçta bulunan bu değerler IL 33'ün fibroblast fonksiyonunu ve gen ekspresyonu üzerine önemli etkileri olduğunu göstermektedir.

Wei-Yu Chen tarafından yapılan araştırmaya göre dolaşım sistemine oranla lokal olarak yüksek seviyede bulunan IL 33/ST2 birlikteliğinin aşırı basınca karşı kalbin verdiği cevabın düzenlenmesine yardımcı olduğu rapor edilmektedir. IL 33'ün endotelial hücrelerden eksprese edilmesi sonucunda (160) anjiyogenezisin indüklenmesi sağlanmakta, ayrıca adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve inflamatuvar aktivasyon artmaktadır. Wei-Yu Chen tarafından yapılan çalışmada IL 33/ST2 yolağını aydınlatmak için fareler delesyona uğratılmıştır. Bu çalışma sonucunda IL 33'ün miyokardiyal basıncın sistemik inflamatuvara dönüşmesinde çok önemli olduğu, endotelial hücrelerin biyomekanik yüklenmeyi sistemik inflamatuvar yanıtına çevirdiği belirlenmiştir (160).

Aterosklerozda Th1'in immünolojik yanıtı ateroskleroza hızlandırırken, Th2 yanıtı ise aterosklerozun ilerlemesini düşürmektedir (134,161). IL 33 aterosklerozda Th1 yanıtını Th2 yanıtına çevirmekte ve düzenleyici T hücrelerinin sayısını arttırmaktadır. Ateroskleroz durumunda Th1 ve Th2 immün yanıtın oluşmasını etkileyerek bu durumun oluşumunu azaltan IL 33; farelerde yapılan çalışmalarda aortik sinüste aterosklerotik lezyon boyutunu düşürmüş, makrofajların ve CD3 T hücrelerinin plak içinde birikimini azaltmıştır (136). Hücre bazlı deneylerde IL 33'ün makrofajların olduğu köpük hücrelerine karşı potansiyel etki göstererek anti aterosklerotik etkiye sahip olduğu ortaya çıkmıştır (136). Bu sonuçlar beraber değerlendirildiğinde IL 33/ST2 sinyalinin aterosklerozda protektif etkiye sahip olduğu söylenebilmektedir. Sonuç itibarıyla IL 33 LDL moleküllerine karşı (oksidize LDL=ox LDL) koruyucu (136) olduğu tespit edilmiştir.

Son çalışmalar disintegrin ve metalloproteinazların thrombospondin motif (ADAMTS-a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs family) ailesinin aterosklerozda potansiyel rollere sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. ADAMTS familyası üyeleri proteazlar salgılayarak ECM komponentleri olan prokollagen, aggregan, versikan, kartilaje oligomerik matriks protein, biglykan, decorin ve fibromodulin gibi komponentlerle etkileşime girer ve bunları degrade eder. Yapılan çalışmalarda bahsi geçen ECM komponentlerinin ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklarda önemli roller üstlendiği ortaya çıkmıştır. ADAMTS -1,-4,-5'in ekspresyonu makrofaj-monosit farklılaşması döneminde indüklenmektedir. Ateroskleroz; sitokinlerin

etkisiyle oluşan bir hastalık olduğundan sitokinlerin ADAMTS familyası üyeleri üzerine olan etkisinin tam olarak anlaşılması önemlidir. ADAMTS -1, -4, -5 'in ekspresyonu ve insan makrofajlarında IL 33'ün etkisini araştırmak amacıyla Tim G. Ashlin ve ark. tarafından yapılan çalışma sonucunda IL 33'ün ADAMTS-1, 4, 5 in ekspresyonunu STL reseptörü ile beraber azalttığı tespit edilmiştir (162).

Diyet ile ateroskleroz oluşturulmuş fare modellerinde eksojen olarak verilen IL 33; Th1 ile Th2 yanıtına etki ederek apolipoprotein E (apo E^{-/-}) plak formasyonlarını değiştirmiş ve buna benzer çalışmalarda aterosklerozdaki IL 33 / ST2 aksinin koruyucu rolü ortaya çıkmıştır (163). IL 33 ayrıca asetile ve oksidize LDL alımını düşürerek aterosklerotik plak içindeki makrofaj köpük hücre oluşumunu azaltır, birikimini önler ve intraselüler total ve ester kolesterol oluşumunu düşürerek (146, 164) kolesterolün akışını artırır. Bu değişimlerin hepsi IL 33'ün LDL ve kolesterol ilişkili genlerde yaptığı ekspresyon değişiminden kaynaklanmaktadır. IL 33 ilgili genlere etki ederek CD36 alımını azaltır ve eş zamanlı olarak apoE dahil kolesterol akışını arttıran genlere etki ederek kolesterol akışını düzenler. ST2^{-/-} farelerin kemik iliğinden elde edilen makrofajlarda yapılan çalışmalarda ST2 reseptörünün IL 33 ile beraber makrofaj köpük oluşumuna etki ettiği gösterilmiştir. İn vivo olarak apoE^{-/-} farelerinde olan IL 5 ve LDL yönünden ağır yağ diyetinde IL 33 anlamlı olarak aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı azaltmıştır.

Fare TAC (transaortik constriction) modellerinde "wild type" fareler ile ST2 "knock out" fareler arasında yapılan karşılaştırmada "wild type" farelerde IL 33 verilmesi ile makrofaj infiltrasyonunda, ANP ve BNP'de azalma, NFK β aktivasyonunda ise artma olmuştur. Fakat aynı deney ST2 "knock out" TAC farelerde yapılmış ama bu durumlar olmamıştır. Aynı grupta yapılan araştırmada IL 33'ün miyokardiyal infarkt'ta (MI) ve miyokardiyal yüklenmede miyosit hipertrofisini ve apoptozunu düşürdüğü ortaya çıkmıştır (139).

Tao Rui ve Qizhu Tang tarafından yapılan bir çalışmada IL 33'ün PKC β /JNK sinyal yolağıyla oluşan apoptozise etkisi araştırılmıştır. Çalışma için normal fare (wild type) ve JNK 1^{-/-} olan farelerden elde edilen kardiyomiyositlerde anoxia/reoxygenation (A/R) sırasında IL 33 kullanarak ve kullanmayarak apoptozis değerlendirilmiştir. Çalışmanın amacı; injury sırasında oluşan A/R durumunda IL 33'ün kardiyomiyositleri koruyup koruyamayacağı ve bu sıradaki koruyucu mekanizmasının anlaşılması olmuştur. Çalışma sonucunda IL 33'ün invitro ortamda hipoksi ile indüklenen kardiyomiyosit apoptozunu önlediği ve invivo ortamda iskemi-reperfüzyondan sonra miyokardiyal

infarktını azalttığı, kardiyak fonksiyonları iyileştirdiği ve yaşama şansını arttırdığı rapor edilmiştir (165). Yine daha önce Tao Rui ve Qizhu Tang tarafından yapılan bir çalışmada diyabet hastalarında düşük miyokardiyal IL 33 seviyesi olduğunda miyokardın iskemi reperfüzyona bağlı olan hasara karşı çok hassas ve savunmasız olduğu rapor edilmiştir (165).

Şu ana kadar yapılan IL 33/ST2 çalışmalarının büyük çoğunluğu hücre bazda ve dolaşımda IL 33 ile ST2 seviyesinin ölçümü veya IL 33/ST2 aksisinin etkilediği diğer etmenlerin ekspresyonunun değişiminin ölçümü şeklinde olmuştur. Tek başına IL 33 ve ST2 veya beraber IL 33/ST2 sinyal yolağı kardiyovasküler hastalıklar açısından önemli olmasına rağmen IL 33/ST2 genindeki yapısal değişikliklerin oluşturduğu riskler hakkında yapılan çalışmalar yeterli seviyede değildir.

IL 33/ST2 sinyali ile ilgili biyolojik ve prognostik datalar olmasına rağmen KAH'ta IL 33/ST2 genetik varyantlarla ilgili bilinenler azdır. Son zamanlarda Tpasaki ve ark. tarafından yapılan araştırmada KAH hastalarında ST2'nin distal promotorlarında 2 polimorfizm tespit edilmiştir. Buna ek olarak bu gendeki polimorfizmlerin IL 33/ST2 yolağında da olduğu ve ciddi inflamatuvar ve immün sistem hastalıklarıyla ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır (142). Bu sebeple KAH'taki inflamasyon dikkate alınarak bu polimorfizmlerin (IL 33/ST2 polimorfizm) KAH riskiyle ilişkili olduğu hipotezi ortaya atılmıştır. Bu hipotezi test etmek için IL 33/ST2 genetik analizi ve KAH riski "Han Chinese" popülasyonunda araştırılmıştır. Fangqin Wu tarafından yapılan araştırmada IL 33, ST2 ve IL1RAcP'nin arasındaki ilişki ve KAH'ta oluşturduğu etmenler araştırılmıştır. Yapılan çalışmaya 1146 KAH hastası ve 1146 kontrol alınmıştır. Tagman assay ve sequenon massarray ile IL 33, ST2 ve IL1RAcP genlerinde 28 single nükleotid polimorfizm (SNP) genotiplendirilmesi yapılmıştır. IL1RAcP de SNP rs4624606 KAH açısından nominal (sözde) bulunmuştur. AA genotiplendirme TT genotiplendirme ile karşılaştırılmış ve AA genotiplendirme KAH ile 1,85 kat artmış riskli olarak bulunmuştur. Yeni analizler neticesinde AA taşıyıcılar TT+TA taşıyıcılarından daha yüksek KAH riski taşıdığı ortaya çıkmıştır. Buna karşın IL 33/ST2 geni ile KAH riski açısından anlamlı durum tespit edilememiştir (142).

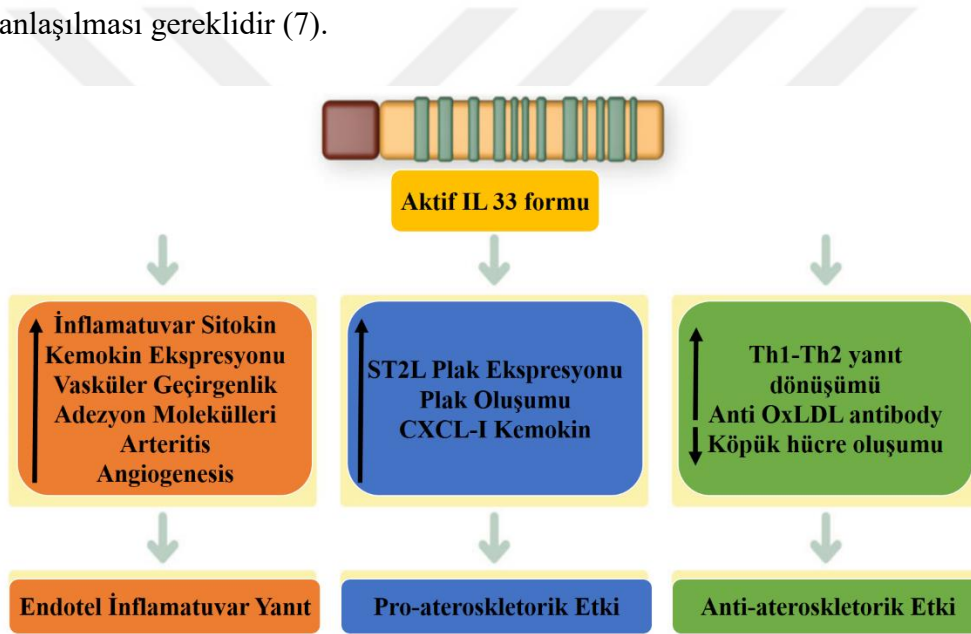
2.4.3. IL 33'ün KAH Üzerine Çelişen Eylemleri

IL 33'ün aterosklerozda birbiriyle çelişen eylemleri vardır (Şekil 2.6). Kalp yetmezliğinde de önemli etkileri saptanan IL 33'ün (139) faydalı etkilerine zıt olarak insan endotelial hücrelerinde adezyon moleküllerini ve sitokinleri tetikleyerek damar

duvarlarında aterosklerotik lezyonu arttırdığını gösteren çalışmalarda vardır (142). Buradaki çelişkili sonuçların ortaya çıkmasından IL 33 ile ilgili bilinenlerin yetersiz olmasından kaynaklanan bir durum vardır.

Yapılan çalışmalarla birlikte nükleer IL-33'ün özel transkripsiyonel hedefleri ve biyolojik etkileri tam olarak belirlenemiştir. Patolojisi önemli olmasına rağmen IL 33'ün biyolojisi ile ilgili belli başlı önemli sorular bulunmaktadır (144).

Örneğin IL 33; iltihaplanma ve ateroskleroza teşvik eden endotelial ve bağışıklık hücreleri üzerinde bir dizi etkiye sahip iken, buna karşılık IL 33'ün plak gelişimini ve ilerlemesini hafifletmek için T hücreleri, makrofajlar ve B hücreleri üzerinde etkili olabileceğini gösteren kanıtlar da bulunmaktadır. IL 33'ün aterosklerozdaki karşıt eylemlerini engellemek için zamansal ve uzamsal / hücrel faktörlerin daha iyi anlaşılması gereklidir (7).



Şekil 2. 6. IL 33'ün aterosklerozda birbiriyle çelişen eylemleri (7).

Bir hastalıkla ilgili klinik koşulların kötüleşen bulgularını erken tespit edebilen yeni biyolojik belirteçlerin tanımlanması, hastalığın olumsuz sonuçlarının durdurabilmesi veya azaltabilmesi klinik tanı gelişiminde temel bir adımdır. Dahası yeni belirteçler tedavilerin yararlarını erken teşhis etmek ve hastalığın prognozunu saptamak için kullanılabilir (166, 167). Son dönemlerde KVH için kullanılan yeni belirteçler arasında Fetuin A bulunmaktadır.

2.5. Fetuin A

Son yıllarda KAH, diyabetes mellitus, kronik renal yetersizlik ve obezite gibi kardiyovasküler komplikasyonlara neden olabilecek hastalıkların etiyolojisinde karaciğerden salınan negatif akut faz reaktanı ve sistemik kalsifikasyon inhibitörü olan Fetuin A'nın (α 2-Heremans Schmid glikoprotein) etkisinin olduğu saptanmıştır (168, 169). Başlıca sistemik kalsifikasyonun inhibisyonunda ve valvüler kalsifikasyonda rol oynayan, multifonksiyonel özelliğe sahip bir glikoprotein olan Fetuin A; kalsiyum (Ca) x fosfor (P) çökmesinin inhibisyonunda rol üstlenerek (170, 171) hidroksiapatit kristallerini stabilize eder ve bunların dolaşımdan temizlenmesini sağlar.

60 kDa ağırlığında çok fonksiyonlu bir serum glikoproteini olan Fetuin A; karaciğer orijinli olup serum konsantrasyonu 0,4 ile 1,0 g/L seviyelerindedir. Genleri 3. kromozomda (3q27) olan Fetuin A; embriyonik gelişimde önemli rol oynar. Embriyogenez sırasında Fetuin A; karaciğer dışında ayrıca kalp, böbrek ve sinir sistemi gibi organlarda sentezlenir (172). Akut inflamasyon göstergesi olan Fetuin A; proinflamator sitokin sentezi sırasında katyonik inhibitörlerin hücre alımını artırarak vücudun kendisine karşı inflamatuvar cevabın artışını engeller. Fetuin A'nın serum konsantrasyonu yaralanma, enfeksiyon, inflamasyon, malignensi, travma, multiple myelom, romatoid artrit, akut alkolik hepatit, hepatosteatoz, siroz, crohn hastalığında azalır (173).

Fetuin A'nın iskelet sistemi, kardiyovasküler sistem, metabolizma, sinir sistemi üzerine birçok etkisi vardır (174). Stabil hemodiyalize giren kronik renal yetmezlikli hastalarda düşük saptanan Fetuin A düzeyinin, bir inflamasyon göstergesi olan CRP düzeyi ile zıt ilişkili olduğunu saptanmış olup tüm hastalıklara ve kardiyovasküler nedenlere bağlı mortalitede inflamasyonun öncüsü olarak görülmüştür (168-171, 174, 175). Diyaliz hastalarında bu proteinin serum düzeyi ile tüm nedenli ölüm ve kardiyovasküler ölüm oranları arasında ters yönlü ilişki vardır (176). KAH'ı olan, diyalize girmeyen diyabetik nefropatili hastalarda koroner kalsiyum skorlaması ile serum Fetuin A arasında pozitif ilişki bulunmuştur.

Fetuin A'dan yoksun fare kalplerinde kardiyak fibrozis ve kalsifikasyonun arttığı, özellikle diyastolik fonksiyonların ve iskemiye toleransın bozulduğu, katekolamin resistansının olduğu tespit edilmiştir (177). Bu durum kalpte diyastolik ve sistolik fonksiyonların bozulmasına neden olur. ST elevasyonu olan ve miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda yapılan bir çalışmada Fetuin A konsantrasyonunun miyokard enfarktüsü

geçiren kişilerde ve sol ventrikül EF'si düşük olanlarda anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır (178).

Kalp yetersizliği ve remodeling durumlarında immün sistem ile ilgili genlerin rolünü araştıran bir çalışmada stres altındaki kalpte Fetuin A mRNA ekspresyonunun arttığı ve Fetuin A'nın üretildiği izlenmiştir (179). ST yükselmeli miyokard enfarktüsünde Fetuin-A'nın kardiyomiyositlerde iskemiye karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Düşük Fetuin A konsantrasyonu miyokardiyal fonksiyonlar üzerine direkt kötüleştirici etkiye sahiptir. KAH olan ve renal hastalığı olmayan hastalarda Fetuin A düşüklüğü ile mitral ve aort kapak kalsifikasyonu arasında ilişki saptanması Fetuin A'nın KAH'I olanlarda bir distrofik kalsifikasyon inhibitörü olarak görev yaptığını göstermektedir (180).

Yapılan çalışmalarda genel popülasyonda koroner arter kalsifikasyonunun büyüklüğü ile miyokardiyal enfarktüs, anjina pectoris gibi kardiyovasküler olaylarla ve felç ile güçlü ilişkili bulunmuştur (181, 182). Serum Fetuin A ile ateroskleroz arasındaki ilişki birçok çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca Fetuin A düzeyi ile iskemik inme ve miyokard infarktüsü arasında da ilişki tespit edilmiştir (183). Diyabetik ve böbrek hastalığı olmayan koroner arter hastalarında üç damar hastalığı veya koroner kalsifikasyonu olanlar ile Fetuin A arasında negatif ilişki görülmüştür (184). Ancak koroner arter hastalıklarında Fetuin A'nın rolü hakkında, diyaliz hastalarında vasküler kalsifikasyon durumunda ve normal böbrek fonksiyonlu kişilerde erken evre ateroskleroz durumu hariç çelişkili bulgular mevcuttur (184). Bu bulgular diyabet ve üremi varlığında Fetuin A ve kardiyovasküler hastalık arasında çelişkili durumu göstermektedir.

Westenfeld ve ark. yaptıkları çalışmada, Fetuin A düzeylerinin koroner arter kalsifikasyonu ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, normal şahıslarda da Fetuin A düzeylerinin periferik vasküler kalsifikasyonla pozitif korelasyon gösterdiği anlaşılmıştır. Bu sonuçlar Fetuin-A'nın diyabetik ve aterosklerotik hastalığın erken dönemlerindeki vasküler kalsifikasyona karşı savunma fonksiyonu gösterdiği ve bununla beraber dislipidemi veya hiperinsülineminde Fetuin A seviyelerini artırdığı şeklinde yorumlanmaktadır. Bu yorumlar bütün vasküler alanlarda oluşmuş kalsifikasyon ile güçlü Fetuin A birikiminin immünohistokimyasal gösterimi ile desteklenmiştir (185). Renal fonksiyonları bozulmamış koroner arter hastası kişiler üzerinde yapılan bir çalışmada, Fetuin A düzeyleri yüksek olanlarda hiperlipidemi ve metabolik sendrom özellikleri görülmüştür (185, 186).

Ritting ve ark. yaptıkları çalışmalarında serum Fetuin A düzeylerinin aterosklerozun derecesi ile korele olduğunu bildirmişlerdir (187). Weikert ve ark. diyabetten bağımsız olarak yüksek serum Fetuin A düzeyleri ve artmış kardiyovasküler risk arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (183). Yüksek Fetuin A düzeyleri insülin direncini modüle etmenin yanı sıra ateroskleroz oluşumunu da kolaylaştırabilmektedir (187). Düşük Fetuin A düzeylerinin inflamatuvar süreci artırdığı ve tümör nekrozis faktör gibi kardiyotoksik sitokinlerin aşırı üretimine sebep olduğu ileri sürülmektedir (188, 189).

Stabil ve akut koroner sendrom açısından, plazma Fetuin A ve KAH riski arasındaki ilişki değişkenlik göstermiştir. Stabil KAH olan 1049 hastayla yapılan bir prospektif çalışmada uzun süreli takip sonrasında başlangıç serum Fetuin A düzeyi ile ikincil KVH riski arasında bir ilişki bulamamıştır (8).

2.5.1. Fetuin A'nın KAH Üzerine Çelişen Eylemleri

Şu ana kadar elde edilen bulgulara göre Fetuin A; KAH üzerinde iki olumlu ve bir olumsuz olmak üzere üç önemli etki göstermektedir. Fetuin A'nın olumlu ve koruyucu işlevinden ilki; Fetuin A, kalsiyum ve fosforun kandaki çözünürlüğünü artırarak ve vaskülatürde kendiliğinden mineral çökmesini önleyerek koroner arter kalsifikasyonunu inhibe edebilir. Fetuin A'nın olumlu ve koruyucu işlevinden ikincisi ise; KAH ve aterosklerozun diğer belirtilerinde anahtar rol oynayan proinflamatuvar sitokin tümör nekroz faktörünün üretimini inhibe ederek anti-inflamatuvar etkilere sahip olmasıdır. Bununla birlikte Fetuin A'nın olumsuz etkisi ise; tirozin kinaz seviyesinde insülin direncini indükleyerek KAH gelişimini teşvik edebilmesidir. Bu nedenle Fetuin A'nın KAH üzerindeki etkisi, farklı durumlar veya koşullarda çeşitli faktörlerin kombinasyonuna bağlıdır (8).

2.6. Sitokeratin 18 (CK 18)

IL 33'ün kardiyomiyosit apoptozunu düşürdüğü, miyokardiyal infarktı azalttığı ve ventriküler fonksiyonu iyileştirdiği gibi önemli bilgiler bulunmaktadır. IL 33 bu etkilerini kaspaz-3 aktivitesini baskılayarak ve apoptoz inhibitörlerinin ekspresyonunu artırarak yapabilmektedir (136, 190). Bu konuda var olan bilgilere katkı yapmak amacıyla PS'de apoptoz belirteçlerin durumunun tespit edilmesi zaruridir. Son zamanlarda apoptozun durumunu saptamak için Sitokeratin 18 (CK 18) kullanılmaktadır. IL 33, Fetuin A ve CK

18 üçlüsünün ilişkisi 3 bilinmeyenli denklemin merkezinde oturmuş ve çözülmeyi beklemektedir. Bu sebeple çalışmamızda CK 18 belirtecinin tespit edilmesi önemlidir.

Sitokeratinler; intermediat filament protein ailesindendir. CK 18 hücre ölümü yolağında rol oynayan önemli bir hücre ölüm belirtecidir (191). CK'lerin salgılanması apoptotik veya proliferasyon halindeki hücrelerden gerçekleşir. Bilinen 20'den fazla CK var olup bunlar tip I ve tip II olarak ayrılır. Tip I; sitokeratin 9-20'i içermekte olup, asidik proteinlerden oluşmakta ve 40-56 kDa ağırlığındadır. Tip II ise sitokeratin 1-8'i içermekte olup, bazik proteinlerden oluşmakta ve 53-68 kDa ağırlığındadır (192). CK'ler tanısal metodlardan önce hastalığın durumu hakkında doğru bilgi veren, basit, noninvazif, ucuz ve güvenilir biyobelirteçlerdir. Hücre iskeletinde CK'ler çok düşük çözünürlük gösterirler. Normalde CK'lerin dolaşıma çıkabilmeleri için yıkılmaları gerekmektedir (193). Çözünür CK parçalarının dolaşıma salınım işlemi tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak ölen hücrelerde çözünür CK'lerin proteolitik yıkımında, anormal mitozda, proliferasyondaki hücrelerden, apoptoziste ve neovaskülarizasyon gibi durumlarda salındığı varsayılmaktadır. CK 18'in çözünür fraksiyonu ile ilgili hücre içi içeriğinin hem in vitro hem de in vivo hücre ölümü sırasında hücre dışı boşluğa salındığı gösterilmiştir (191).

Sitokeratinler normalde yetişkin VSMC'lerde bulunmaz. Ancak aterosklerotik lezyonların gelişimi sırasında VSMC'ler hücre iskeleti kompozisyonlarında ve fenotiplerinde değişikliklere uğrayarak CK 18 ekspresyon paterni gösterir. Ayrıca, eksprese edilen sitokeratinler, DNA fragmentasyonu ve apoptoz ile ilişkili görünen, koroner arter lezyonlarında karakteristik fosforilasyon modelleri sergiler (9).

Total CK 18, proliferasyon halindeki hücrelerde fazla miktarda üretilip nekroz sırasında membran bütünlüğü bozulunca dolaşıma salgılanır. Kırılmış CK 18 ise yalnızca apoptozisle ölen hücrelerde, total CK 18'in kaspazlarla kırılması sonucunda oluşur. CK proteinlerinin kaspazlarla parçalanması apoptotik cisimciklerin oluşumunu kolaylaştırır ve apoptotik sinyalleri artırır. İn vitro çalışmalarda kırılmış CK 18'in apoptozis sürecinde kaspaz sindirimi sonucunda ekstrasellüler sahaya salındığı gösterilmiştir (194). Apoptozis sırasında oluşan apoptotik cisimcikler, komşu hücreler ve makrofajlar tarafından fagosit edilirler (195).

Yakın zamanda yapılan bir çalışma, CK 18'in, bir geribildirim düzenleme döngüsü (feedback regulation) aracılığıyla NF- κ B yolağında ve bazı apoptoz yolaklarında bir dizi genin transkripsiyonunun ve alternatif splicing düzenlenmesinde rol oynadığını göstermiştir (196).

Apoptozda görülen ilk olay, sitoplazma içine nükleozomların salınmasını takip eden DNA fragmentasyonudur. ELISA ile gerek kültürü yapılmış hücre populasyonlarında, gerekse insan plazmasında DNA fragmentasyonunu tespit etmek mümkündür. M30 ve M65 plazma veya serumdan apoptotik epitelyal hücreler tarafından salgılanan sitokeratin-18'in değişik formlarını tespit etmede kullanılan nispeten yeni tanımlanmış ELISA testleridir (197). M30 sadece kaspazların aktivasyonu ile parçalanmış sitokeratin-18 fragmanlarını ölçer ve apoptotik hücre ölümünün seçici bir belirteci olarak kabul edilmektedir (198, 199). M30 imünoreaktivitesi apoptotik epitel hücrelerinin sitoplazması ile sınırlıdır ve erken apoptoz sırasında ekspresyon edilir (199, 200). M65 ise total CK 18 düzeyini gösteren ve apoptozun belirlenmesinde kullanılan farklı bir testtir. Böylece monoklonal M30 ve M65 antikorları apoptotik sürecin belirteçleri olarak kullanılabilir (201, 202). Apoptozis sırasında CK 18, kaspazlarla aspartat 238 ve aspartat 396 noktasında bölünüp, ortaya CK 18 Asp396 neoepitopu (M30 antijeni) çıkmasına sebep olur. Buna karşı geliştirilen monoklonal M30 belirteci özellikle CK 18'in aspartat 396'da bölünmüş fragmanını tanır ve ölçülmesine yardımcı olur. Bununla beraber monoklonal M65 belirteci hem sağlam CK 18'i hem de bölünmüş CK 18'i ölçmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda ayrıca KAH'ta çeşitli hücre iskeleti proteinlerine karşı dolaşan otoantikorlar tespit edilmiştir. Bu otoantikorların çoğunluğu aktin, desmin, vimentin ve CK 18'e karşı oluşmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Yapılan Hastalar

Bu çalışmaya Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi ameliyathanesinde kardiyopulmoner bypass (KPB) yöntemi ile koroner arter bypass ameliyatı olan 40 hasta dâhil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalardan PS ve venöz kan örnekleri elde edildi. Çalışma yapılmadan önce Harran Üniversitesi Etik Kurulundan 05.01.2017 tarihli 1. oturumda 17/01/23 sayılı karar ile onay alındı.

3.2. Perikardiyal Sıvının Eldesi

Çalışmamızda rutin olarak cerrahisi planlanmış hastanın sağlık problemine yönelik yapılan cerrahi işlem sırasında rutin olarak alınan PS kullanıldı. KPB yöntemi ile koroner bypass cerrahisine alınan hastalarda standard kardiyopulmoner bypass prosedürleri ile median sternotomi yapıldıktan sonra perikardiyum açıldı ve steril enjektör ile PS aspire edildi. Normalde perikardiyum kesildikten sonra perikardiyal boşlukta bulunan sıvı aspire edilmekte ve bu sıvı atık kabına atılmaktadır. Çalışmamız için hastaya ekstra bir girişimde bulunulmamış olup, atıl duruma gelen PS kullanılmıştır. Aspire edilen PS (2-25 ml) daha sonra antikoagülansız steril tüplere alınarak, steril tüp hemen buz dolu kabın içine aktarıldı. Daha sonra buz dolu kapla beraber laboratuvara ulaştırılan steril tüp içerisindeki PS +4°C'de 5000 rpm'de 5 dk santrifüj aşamasından geçirilerek hücrelerden arındırıldı. Santrifüj aşamasından sonra süpernatant kısım alınarak hücre debrisleri ve diğer mikropartiküllerinden ayırtırmak için ikinci sefer 4°C'de 5000 rpm'de 5 dk santrifüj aşamasından geçirildi. Daha sonra süpernatant kısım RNase-free tüpe (ependorf tüp) alınarak çalışılmak üzere -80 °C'de saklandı. Çalışma için yeterli hastadan numune toplandıktan sonra ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays) ve qRT-PCR (Quantitative Real Time PCR-gerçek zamanlı PCR) çalışmaları gerçekleştirildi.

3.3. Kan Plazmasının Eldesi

KPB yöntemi ile koroner bypass cerrahisine alınan hastalarda kardiyopulmoner bypass öncesinde kan alınarak antikoagülanlı (heparinli) steril tüplere konuldu. Kan alınan tüp hemen buz dolu kabın içine aktarılarak laboratuvara ulaştırıldı. Daha sonra steril tüp 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj aşamasından sonra süpernatant kısım olan plazma RNase-free tüpe (ependorf tüp) alınarak çalışılmak üzere -80 de saklandı.

Çalışma için yeterli hastadan kan plazması toplandıktan sonra ELISA ve qRT-PCR çalışmaları gerçekleştirildi.

Çalışmamız 2 aşamada gerçekleştirildi. 1. aşamada perikardiyal sıvı ve plazmada IL 33 ve Fetuin A gen ekspresyon düzeyi Quantitative Real Time PCR ölçüldü. 2. Aşamada ise PS ve Plazmada ELISA ile IL 33, Fetuin A ve CK 18 düzeyine düzeylerine bakıldı ve daha sonra istatistiksel analiz yapıldı.

3.4. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyon Çalışma Aşamaları

3.4.1. PS ve Plazmada Total RNA (mRNA) İzolasyonu

PS ve Plazmada mRNA izolasyonu için üretici firmanın çalışma prosedürü takip edilmiş olup aşağıdaki sıraya göre işlemler gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada ticari adı Qiagen (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) miRNeasy Serum/Plasma Kit (Cat No./ID: 217184) olan izolasyon kiti kullanılmıştır. Kit seti içerisinde 50 RNeasy MinElute Spin Columns, Collection Tubes (1,5-2 ml), QIAzol Lysis Reagent, RNase-free Reagents ve Buffers bulunmaktadır. Kitin iş akış şemasına göre prosedür aşağıdaki gibidir.

1. -80'den alınan PS ve plazma örnekleri oda ısısında çözündü.
2. Örneğimizin 5 katı kadar QIAzol Lysis Reagent eklendi (200 µl örnek için 1ml QIAzol Lysis Reagent eklenir). Elde edilen karışım vortekslendi.
3. Karışım oda sıcaklığında (15°C- 25°C) 5 dakika homojenize olması için inkübe edildi.
4. 3.5µl miRNeasy Serum/Plazma spike kontrol (1.6x10⁸'e dilüe edilerek kullanılır) eklendi.
5. Örneğin başlangıç hacmi kadar kloroform eklenip (örn. 200 µl örnek için 200 µl kloroform eklenir). 15 sn. iyice vortekslendi.
6. Oda sıcaklığında 2-3 dk. inkübe edilip, 15 dk. 12,000 x g'de 4°C'de santrifüj edildi.
7. Santrifüj sonrası oluşan üç fazdan en üstteki faz pipetle alınarak yeni bir tüpe aktarıldı.
8. Alınan üst fazın 1,5 katı kadar % 100 etanol (600 µl üst faz için 900 µl %100 etanol eklenir) eklenip iyice pipetaj yapıldı.
9. 700 µl örnek 2 ml'lik spin kolona aktarılarak, kapağı kapalı bir şekilde 8000 x g'de 15 sn. ve oda sıcaklığında santrifüj edildi. Toplama tüpteki sıvı dökülerek bu işlem örnek bitene kadar tekrarlandı.

10. Örneğin tamamını spin kolondan geçirdikten sonra alt kısım yine döküldü. 700 µl RWT buffer spin kolona eklenerek, kapağı kapalı bir şekilde 8000 x g'de 15 sn. ve oda sıcaklığında santrifüj edildi.
11. 500 µl RPE buffer spin kolona eklenerek, kapağı kapalı bir şekilde 8000 x g'de 15 sn. ve oda sıcaklığında santrifüj edildi.
12. 500 µl % 80 etanol spin kolona eklenerek, kapağı kapalı bir şekilde 8000 x g'de 2 dk. ve oda sıcaklığında santrifüj edildi.
13. Yıkama işlemi bittikten sonra 2 ml'lik toplama tüpü değiştirilerek ağzı açık bir şekilde en yüksek hızda santrifüj edildi.
14. 2ml'lik toplama tüpü atılarak filtre 1.5 ml'lik eppendorf tüplere alındı ve filtre üzerine 14 µl RNase-free su eklendi. Kapağı kapalı bir şekilde en yüksek hızda ve oda sıcaklığında 1 dk. santrifüj edildi.
15. Filtre atılıp, eppendorf tüplerin kapakları kapatılarak çalışma zamanına kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

3.4.2. PS ve Plazmada mRNA'dan cDNA Eldesi

Elde edilen total RNA içindeki mRNA'yı cDNA'ya çevirmek için RT² First strand kit (RT² HT First Strand Kit, Qiagen, GmbH, Hilden, Almanya, Cat No./ID: 330411) kullanıldı. mRNA'dan cDNA elde etmek için uygulanan Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımının içerikleri Tablo 3.1'de belirtilen şekilde hazırlandı.

Tablo 3. 1. mRNA'dan cDNA eldesi için Revers Transkriptaz PCR reaksiyon karışımı

Bileşenler	Miktar
RNA	500 ng/µl
Buffer GE (genomik DNA'nın uzaklaştırılması)	2 µl
RNase-free water	Total 10µl olacak şekilde ayarlandı.

Kitin iş akış şemasına göre ilgili prosedür takip edildi.

1. Ön karışım dikkatlice karıştırılarak 42 °C'de 5 dk inkübe edildi. Ardından 1 dk soğuk blok üzerinde tutularak Tablo 3.2'de belirtilen karışım hazırlanarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.

Tablo 3. 2. mRNA'dan cDNA eldesi için reaksiyon karışımı

Bileşenler	Miktar
Revers Transkriptaz	6 µl
RNase-free water	4 µl

2. Bir önceki basamakta elde edilen karışım üzerine ikinci basamak için hazırlanan karışım (her bir örnek için 10 µl) eklenerek homojen hale getirildi.
3. 42°C'de 15 dk ve 95°C'de 5 dk olacak şekilde RT-PCR yapılarak total cDNA elde edildi. Sonra elde edilen cDNA -20 °C'de saklandı.

3.4.3. PS ve Plazmada Elde Edilen cDNA'ların Kalite ve Miktar Tayini

Ekspresyon analizi deneyleri öncesi elde edilen cDNA örneklerinin miktarlarını ve kalitesini belirlenmek, tüm örnekleri aynı yoğunlukta reaksiyona tabi tutmak amacıyla spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Kalite ve miktar tayini Thermo Scientific Multiskan Spectrophotometer System (Waltham, Massachusetts, ABD) cihazı kullanılarak yapıldı. İfade analizi deneyleri öncesi örneklerden elde edilen cDNA miktarları mRNA cDNA'sı için 50 ng/µl'e ayarlandı.

3.4.4. PS ve Plazmada mRNA- cDNA Preamplifikasyonu

Primer pool: 40 µl (20 µl F (10 pmol/µl) + 20 µl R (10 pmol/µl)) primer kullanıldı. Her primer başına 210 µl su eklenmiş olup ilgili içerik Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3. 3. Primer pool karışımı

1 örnek için	
5x miscript master mix	12,5 µl
Taq polimeraz	0,5 µl (250 unit)
Primer pool	7,5 pmol/µl
Total mix: 20,5µl	

Total mix'e 5µl cDNA eklenerek reaksiyon 25,5 µl'de gerçekleştirildi.

3.4.5. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyonu İçin PCR

Protokolü

IL 33 ve Fetuin A ekspresyon düzeyi için PS ve Plazmada PCR protokolü için Tablo 3.4'e göre rutin PCR prosedürü uygulandı.

Tablo 3. 4. IL 33 ve Fetuin A ekspresyon düzeyi için rutin PCR protokolü

Sıcaklık (°C)	Zaman	
95	10 dk	
94	15 sn	} 12 döngü
60	2 dk	
+4		

PCR sonrasında elde edilen ürün 91 µl su ile dilüe edilerek, Real time PCR için 5 µl kullanıldı.

3.4.6. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyon İçin Real-Time PCR (qRT-PCR) Yöntemi

Eş zamanlı PCR reaksiyonu için Rotor Gene 6000 Real-Time PCR Machine (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) cihazı ve QuantiTect SYBR Green PCR Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya, Cat No./ID: 204143) kullanıldı. Eş zamanlı PCR reaksiyonu DNA bağlayan boyaların kullanımı ile amplifikasyonun eş zamanlı olarak takibi sağlanır. Çift iplikli DNA molekülüne bağlanarak floresan ışımaya veren SYBR Green bu amaçla sıklıkla kullanılan boyalardan biridir. Primerin bağlanmasını takiben gerçekleştirilen uzama aşamasında, hedef DNA'nın çift sarmal hale gelmesiyle DNA'ya bağlanan SYBR Green miktarı artmakta ve buna bağlı olarak yayılan floresans miktarında artış olmaktadır. SYBR Green boyasından alınan ışımanın sınır değeri aştığı noktaya Ct (cycle threshold) veya Cp (Crossing points) değeri adı verilmektedir. Ct veya Cp noktasında DNA amplifiye olmuş ve DNA'ya bağlanan boyanın verdiği ışımaya sınır değeri aşmıştır. Işımanın sınır değeri aştığı anda amplifikasyondan emin olunur ancak doğru amplikonun takibinin yapıldığının belirlenebilmesi için erime eğrisinin incelenmesi gerekmektedir.

qPCR karışımı: qRT-PCR için Tablo 3.5'e göre bileşen ve hacim kullanıldı.

Tablo 3. 5. IL 33 ve Fetuin A ekspresyon düzeyi için qRT-PCR bileşenleri

Bileşenler	Hacim
RT ² SYBR Green Mastermix	5 µl
F Primer (10 pmol/µl)	0.3 µl
R Primer (10 pmol/µl)	0.3 µl
RNaz/DNaz içermeyen su	3.9 µl
cDNA (50 ng/µl)	0,5 µl
Total	10 µl

Hazırlanan karışım 9.5 µl olacak şekilde uygun tüplere dağıtılarak, her örneğe ait 0.5 µl cDNA, eş zamanlı PCR ön karışımı içeren her tüpe eklendi ve aşağıdaki Tablo.3.6’da belirtilen qRT-PCR koşullarında çalışma gerçekleştirildi.

Tablo 3. 6. IL 33 ve Fetuin A için qRT-PCR ayarları

	Sıcaklık (°C)	Süre	
Enzim aktivasyonu	95	10 dk	
Denatürasyon	95	15 sn	} 40 döngü
Primer bağlanması/uzama	60	60 sn	

3.4.7. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Ekspresyon Düzeyi İçin Primer Seçimi

Çalışmada IL 33 ve Fetuin A primerleri (metabion international AG / metabion GmbH, Germany) ile housekeeping bir gen olan Beta Actin kullanılmıştır. IL 33 ve Fetuin A primerleri, NCBI veri tabanında yer alan “Gene” arayüzü (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primerblast/>) kullanılarak tasarlandı. Kullanılan IL 33, Fetuin A ve Beta Actin primerlerinin ileri ve geri primer dizilimleri Tablo 3.7’de gösterilmiştir.

Tablo 3. 7. IL 33, Fetuin A ve Beta Actin forward ile reverse primerleri

	Forward primer	Reverse primer
IL 33	TTGGGTGTTGGGGTATTTTGC	GCTCTTTCCTCAGTGGCCTT
Fetuin A	CAACCGAACTGCGATGATCC	TTGGAACACCATGCAGGTCAC
Beta Actin	CGTACCACAGGCATTGTGATG	TTTGATGTCACGCACGATTTC

3.5. PS ve Plazmada ELISA ile IL 33, Fetuin A ve CK 18 Miktar Tayini

Çalışmaya dâhil edilen hastaların perikardiyal sıvısı ve plazmasında IL 33, Fetuin A ve CK 18 tayini için piyasada ticari olarak satılan uygun kitler kullanılarak “Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA)” yöntemiyle düzeylerine bakıldı.

3.5.1. IL 33 Miktarı İçin ELISA Çalışması

IL 33 ELISA testi için Human (IL 33) ELISA Kit (Sunred Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, Cat. No: 201-12-0045) kullanıldı. Kullanılan bu kit,

biyolojik materyallerde IL 33 seviyesini test etmek için çift antikorlu sandviç enzim bağlantılı immünosorbans analizine göre çalışmaktadır. Kitin duyarlılığı (sensitivity) 0.573 ng/L olup, tahlil aralığı (assay range) 0.6-180 ng/L'dir.

Bu kitte bulunan mikro ELISA plakası, IL-33'e özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun mikro ELISA plaka kuyularına eklenince spesifik antikor ile bağlanır. İnkübasyondan sonra biyotin ile etiketlenmiş IL-33 antikorları eklenir ve immün kompleks oluşturmak için streptavidin-HRP ile birleştirilir. Tekrar inkübasyondan sonra birleştirilen enzimi kaldırmak için yıkama yapılır. Sonrasında chromogen A, B solüsyonları eklenince likit rengi maviye değişir. Asidin etkisi ile renk sonunda sarı olur. Oluşan rengin koruması ve madde konsantrasyonu örnekteki IL 33 ile pozitif korelasyona sahiptir.

Kitin çalışma prosedürü;

Çalışmaya hazırlık için reaktif, örnek ve standartlar hazırlanır.

Hazırlanmış örnekler ve standartlar, enzim ile etiketlenmiş antikorlar ile 37 °C'de 60 dakika reaksiyona sokulur.

Plaka (plate) beş kez yıkandıktan sonra üzerine kromojen çözeltisi A ve B ilave edilir ve 37 °C'de 10 dakika reaksiyona sokulur.

Üzerine stop solüsyonu eklenir.

10 dakika içinde 450 nm'de optik dansite (OD) değerini ölçülür. Standart curve eğrisine göre hesaplama yapılarak sonuç belirlenir.

3.5.2. Fetuin A Miktarı İçin ELISA Çalışması

Fetuin A için Human Fetuin A ELISA Kit (Sunred Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, Cat. No: 201-12-1387) kullanıldı. Kullanılan bu kit, biyolojik materyallerde Fetuin A seviyesini test etmek için çift antikorlu sandviç enzim bağlantılı immünosorbans analizine göre çalışmaktadır. Kitin duyarlılığı (sensitivity) 7,115 mg/L olup, tahlil aralığı (assay range) 8-2000 mg/L'dir.

Bu kitte bulunan mikro ELISA plakası, Fetuin A'ya özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun mikro ELISA plaka kuyularına eklenince spesifik antikor ile bağlanır. İnkübasyondan sonra biyotin ile etiketlenmiş Fetuin A antikorları eklenir ve immün kompleks oluşturmak için streptavidin-HRP ile birleştirilir. Tekrar inkübasyondan sonra birleştirilen enzimi kaldırmak için yıkama yapılır. Sonrasında chromogen A, B solüsyonları eklenince likit rengi maviye değişir.

Asidin etkisi ile renk sonunda sarı olur. Oluşan rengin koroması ve madde konsantrasyonu örnekteki Fetuin A ile pozitif korelasyona sahiptir.

Kitin çalışma prosedürü;

Çalışmaya hazırlık için reaktif, örnek ve standartlar hazırlanır.

Hazırlanmış örnekler ve standartlar, enzim ile etiketlenmiş antikorlar ile 37 C'de 60 dakika reaksiyona sokulur.

Plaka (plate) beş kez yıkandıktan sonra üzerine kromojen çözeltisi A ve B ilave edilir ve 37 ° C'de 10 dakika reaksiyona sokulur.

Üzerine stop solüsyonu eklenir.

10 dakika içinde 450 nm'de OD değerini ölçülür. Standart curve eğrisine göre hesaplama yapılarak sonuç belirlenir.

3.5.3. CK 18 Miktarı İçin ELISA Çalışması

CK 18 ELISA testi için Human (CK 18) ELISA Kit (Sunred Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, Cat. No: 201-12-1716) kullanıldı. Kullanılan bu kit, biyolojik materyallerde CK 18 seviyesini test etmek için çift antikorlu sandviç enzim bağlantılı immünosorbans analizine göre çalışmaktadır. Kitin duyarlılığı (sensitivity) 9,158 ng/ml olup, tahlil aralığı (assay range) 10-3000 ng/ml'dir.

Bu kitte bulunan mikro ELISA plakası, CK 18'e özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun mikro ELISA plaka kuyularına eklenince spesifik antikor ile bağlanır. İnkübasyondan sonra biyotin ile etiketlenmiş CK 18 antikorları eklenir ve immün kompleks oluşturmak için streptavidin-HRP ile birleştirilir. Tekrar inkübasyondan sonra birleştirilen enzimi kaldırmak için yıkama yapılır. Sonrasında chromogen A, B solüsyonları eklenince likit rengi maviye değişir. Asidin etkisi ile renk sonunda sarı olur. Oluşan rengin koroması ve madde konsantrasyonu örnekteki CK 18 ile pozitif korelasyona sahiptir.

Kitin çalışma prosedürü;

Çalışmaya hazırlık için reaktif, örnek ve standartlar hazırlanır.

Hazırlanmış örnekler ve standartlar, enzim ile etiketlenmiş antikorlar ile 37 C'de 60 dakika reaksiyona sokulur.

Plaka (plate) beş kez yıkandıktan sonra üzerine kromojen çözeltisi A ve B ilave edilir ve 37 ° C'de 10 dakika reaksiyona sokulur.

Üzerine stop solüsyonu eklenir.

10 dakika içinde 450 nm’de OD değerini ölçülür. Standart curve eğrisine göre hesaplama yapılarak sonuç belirlenir.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS 25 (SPSS, Inc, Chicago, USA) kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen koroner hastalıklardan dolayı açık kalp ameliyatı olmuş hastaların perikard sıvısı ve plazmasında IL 33, Fetuin A ve CK 18 değişkenlerinin etkisi incelendi. Öncelikle verilerin normal dağılımlı olup olmadığı incelendi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk yöntemi ile test edildi. Toplam örneklem sayısı 50’nin altında olduğundan Shapiro-Wilk yöntemi dikkate alındı. Buna göre, tüm gruplarda $p<0,05$ ’den küçük olduğu için normal dağılıma uygunluk göstermediği tespit edildi. Normal dağılım göstermeyen ($p<0,05$) bağımsız iki grup kıyaslandığında Mann Whitney U testi yapılarak gruplar arası anlamlılık araştırıldı. Korelasyon analizinde ise Spearman's testi kullanılarak $p<0,05$ değerler anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubuna Ait Demografik Veriler

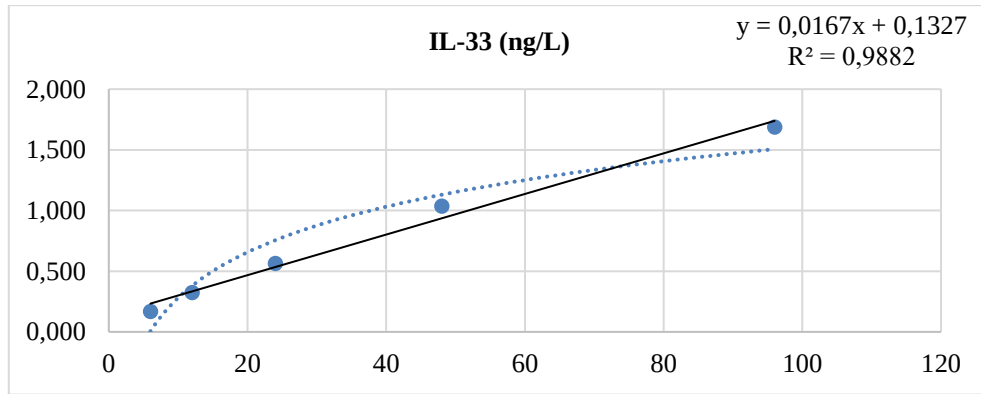
Çalışmaya dahil edilen hastaların 13'ü kadın, 27'si erkek olup, yaş ortalaması 60 (yıl), boy 163,11 (cm), kilo 76,35 (kg) ve vücut yüzey alanı (BSA) ise 1,793 (m²) olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 40 hastaya ait demografik özellikler Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4. 1. Çalışmaya alınan hastalara ait demografik özellikler

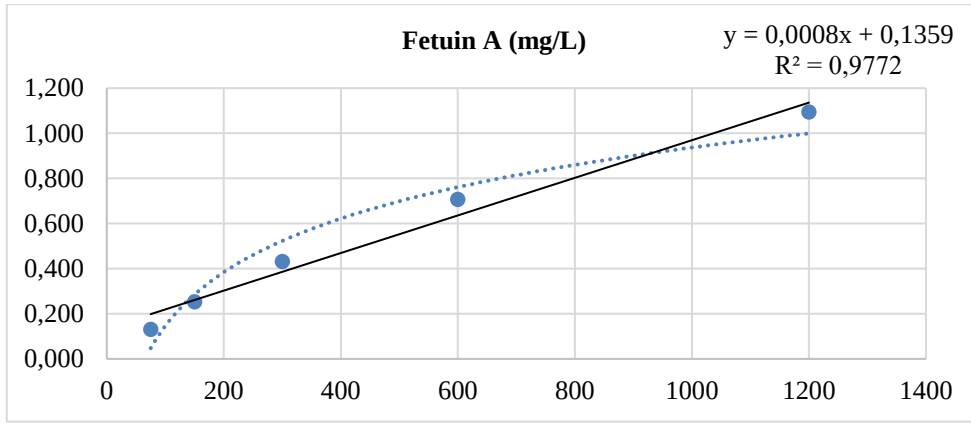
Değişken	Hastalar (n=40)
Cinsiyet (Kadın/Erkek) %	13/27 (% 32,5 / % 67,5)
Yaş (yıl)	60 ± 8,44
Boy (cm)	163,11 ± 7,23
Kilo (kg)	76,35 ± 19,40
BSA (Vücut yüzey alanı) (m ²)	1,793 ± 0,13

4.2. PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18'in ELISA Sonuçları

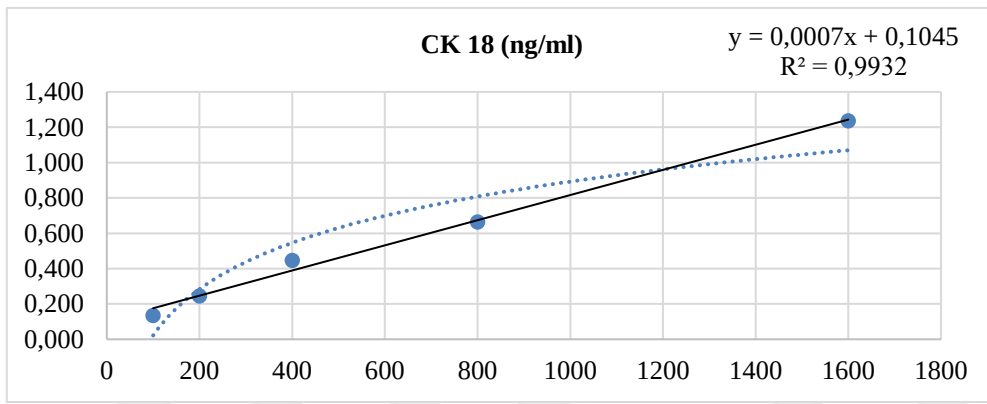
ELISA yöntemi ile PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18'in düzey tayini için ticari kitler kullanılarak optik yoğunluğun 450 nm'de okutulması sonucunda elde edilen veriler değerlendirilerek IL 33 (Şekil 4.1), Fetuin A (Şekil 4.2), ve CK 18 (Şekil 4.3) için standart doğrulama grafiği elde edildi.



Şekil 4. 1. IL 33 standart doğrulama grafiği



Şekil 4. 2. Fetuin A standart doğrulama grafiği



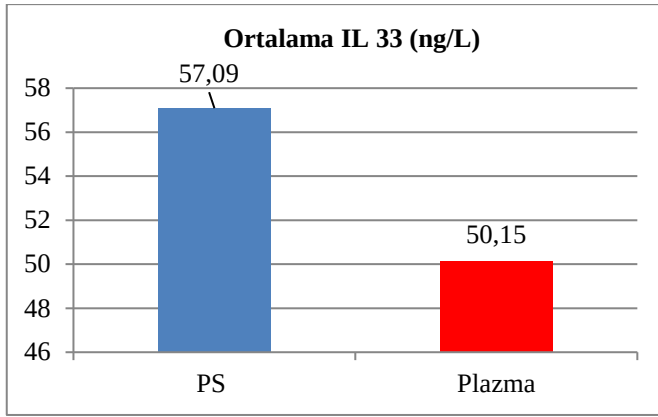
Şekil 4. 3. CK 18 standart doğrulama grafiği

Çalışma sonunda PS ve plazmada elde edilen IL 33, Fetuin A ve CK 18'e ait ELISA sonuçları Tablo 4.2.'de verilmiştir.

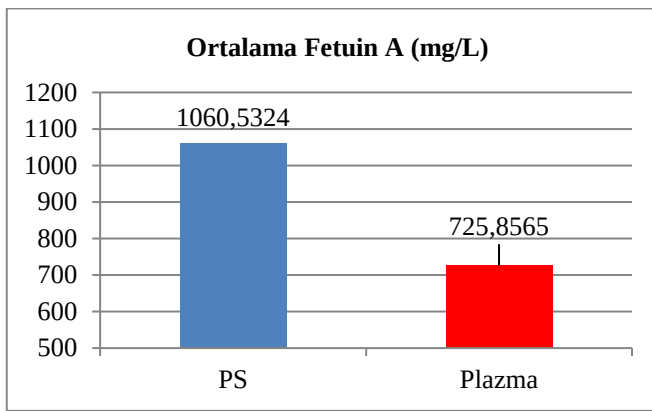
Tablo 4. 2. PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18'e ait ELISA sonuçları

Parametreler ve Birim	Ortalama Sonuç	Std. Sapma
PS-IL33 (ng/L)	57,09	10,80
PLAS-IL33 (ng/L)	50,15	10,79
PS-Fetuin A (mg/L)	1060,53	481,44
PLAS- Fetuin A (mg/L)	725,85	599,42
PS-CK 18 (ng/ml)	1046,42	431,36
PLAS- CK 18 (ng/ml)	1025,31	448,55

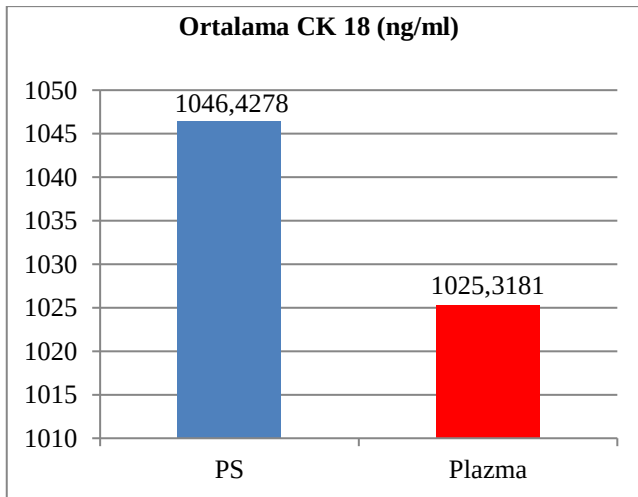
ELISA sonuçlarına göre ortalama IL 33 düzeyi; PS'de 57,09 ng/L çıkarken, plazmada 50,15 ng/L çıkmıştır (Şekil 4.4). Ortalama Fetuin A düzeyi; PS'de 1060,53 mg/L çıkarken plazmada 725,85 mg/L çıkmıştır (Şekil 4.5). Ortalama CK 18 düzeyi; PS'de 1046,42 ng/ml çıkarken plazmada 1025,31 ng/ml çıkmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4. 4. PS ve Plazmada IL 33'ün ELISA sonuçlarının ortalama değerleri

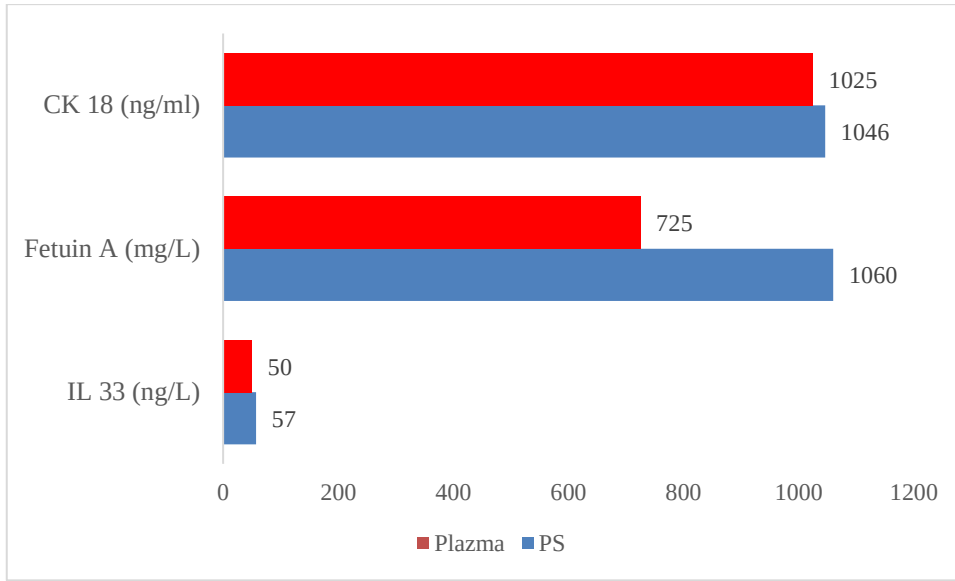


Şekil 4. 5. PS ve Plazmada Fetuin A'nın ELISA sonuçlarının ortalama değerleri



Şekil 4. 6. PS ve Plazmada CK 18'in ELISA sonuçlarının ortalama değerleri

PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18' e ait ELISA sonuçlarının ortalama değerleri toplu olarak Şekil 4. 7'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 7. PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18' e ait ELISA sonuçları

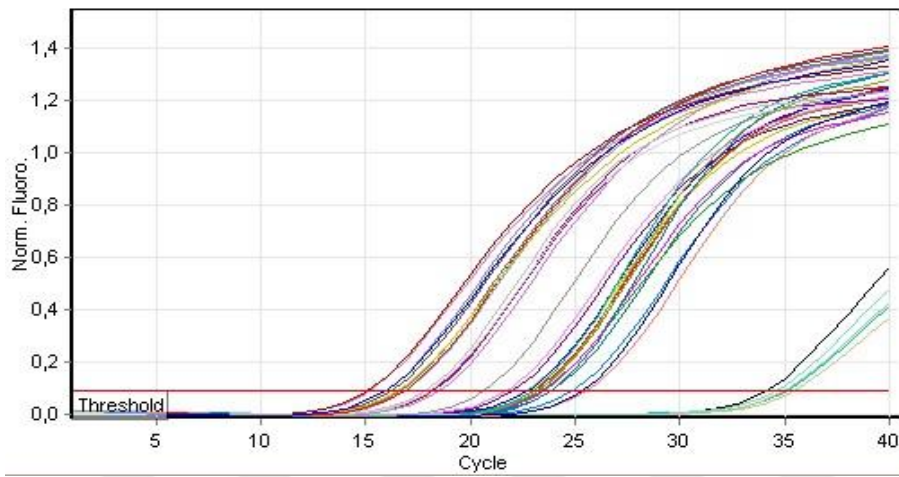
4.3. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyon Sonuçları

Öncelikle IL33 ve Fetuin A gen ekspresyon düzeyi için PS ve plazmada total RNA (mRNA) izolasyonu yapılarak elde edilen RNA'ların miktarı ölçülmüş olup bu değerler Tablo 4. 3'te belirtilmiştir.

Tablo 4. 3. PS ve Plazma örneklerinde numunelere ait RNA ölçümleri

Numune	PS RNA (µg/ml)	Plazma RNA (µg/ml)
1	1,019	1,097
2	1,241	1,082
3	1,266	1,086
4	1,372	1,059
5	1,215	1,134
6	1,263	0,9710
7	1,225	1,151
8	1,196	1,019
9	1,740	1,143
10	1,175	1,076
11	1,211	0,7996
12	1,405	1,029
13	1,266	1,163
14	1,254	1,067
15	1,220	1,170
16	1,222	1,077
17	1,190	0,9660
18	0,9100	0,8749
19	1,164	1,036
20	1,336	0,9954

PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A gen ekspresyonunun normalizasyonu yapılırken housekeeping gen olarak Beta Actin kullanılmış olup, çalışmadaki qRT-PCR döngü değerleri Şekil 4. 8’de verilmiştir.



Şekil 4. 8. IL 33 ve Fetuin A qRT-PCR döngü değerleri

Çalışmamızda PS ve Plazmada Beta Actin, IL 33 ve Fetuin A Gen Ekspresyon analizinde numunelere ait elde edilen Ct değerleri Tablo 4.4 ve Tablo 4.5’te verilmiştir.

Tablo 4. 4. PS’de numunelere ait Beta Actin, IL 33 ve Fetuin A’nın Ct değerleri

Numune	Beta Actin	IL33	Fetuin A
1	13,4	13,65	14,25
2	13,09	14,65	14,16
3	12,43	14	14,15
4	13,37	14,79	14,64
5	12,2	5,86	14,65
6	12,4	5,6	14,84
7	12,48	5,45	14,92
8	13,35	5,66	15,05
9	12,93	5,81	14,85
10	12,97	5,57	14,77
11	12,43	9,69	14,58
12	12,7	5,67	14,68
13	12,32	5,66	14,34
14	13,03	5,72	15,52
15	11,73	9,4	14,52
16	11,91	9,51	14,69
17	12,11	5,03	15,23
18	12,59	9,74	15,29
19	12,41	8,67	14,34
20	12,03	9,4	14,55

Tablo 4. 5. Plazmada numunelere ait Beta Actin, IL 33 ve Fetuin A'nın Ct değerleri

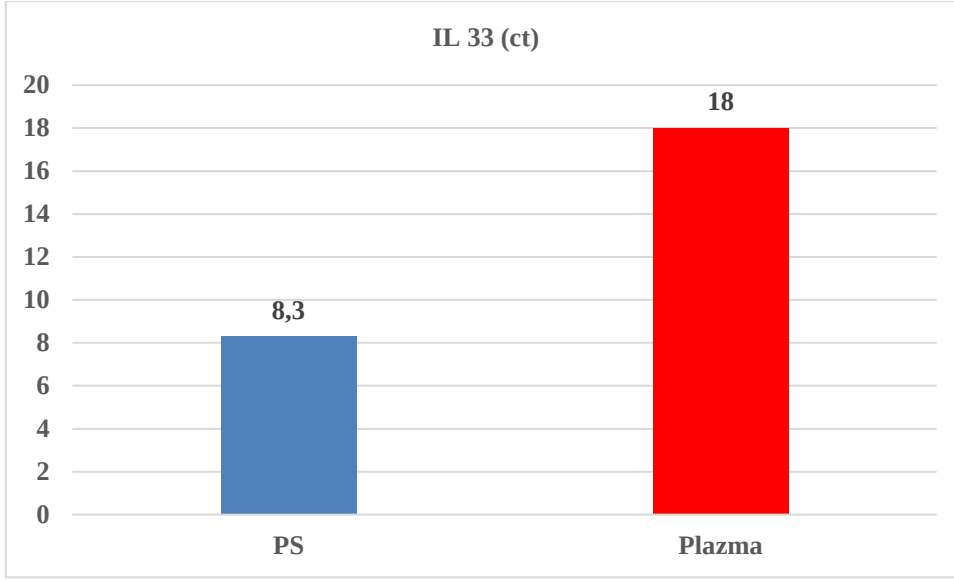
Numune	Beta Actin	IL33	Fetuin A
1	13,4	13,43	20,19
2	13,09	19,7	10,38
3	12,43	14,9	17,69
4	13,37	11,04	17,39
5	12,2	17,59	21,42
6	12,4	19,5	17,63
7	12,48	20,3	23,44
8	13,35	23,67	23,44
9	12,93	14,04	20,91
10	12,97	13,9	19,89
11	12,43	11,94	18,06
12	12,7	20,3	14,87
13	12,32	12,35	18,13
14	13,03	20,3	25,01
15	11,73	20,3	14,34
16	11,91	20,3	18,39
17	12,11	20,3	26,03
18	12,59	20,3	24,01
19	12,41	24,15	23,44
20	12,03	16,61	23,66

Çalışma sonunda PS ve plazmadan elde edilen IL 33 ve Fetuin A'ya ait gen ekspresyonun ortalama sonuçları Tablo 4. 6.'da verilmiştir.

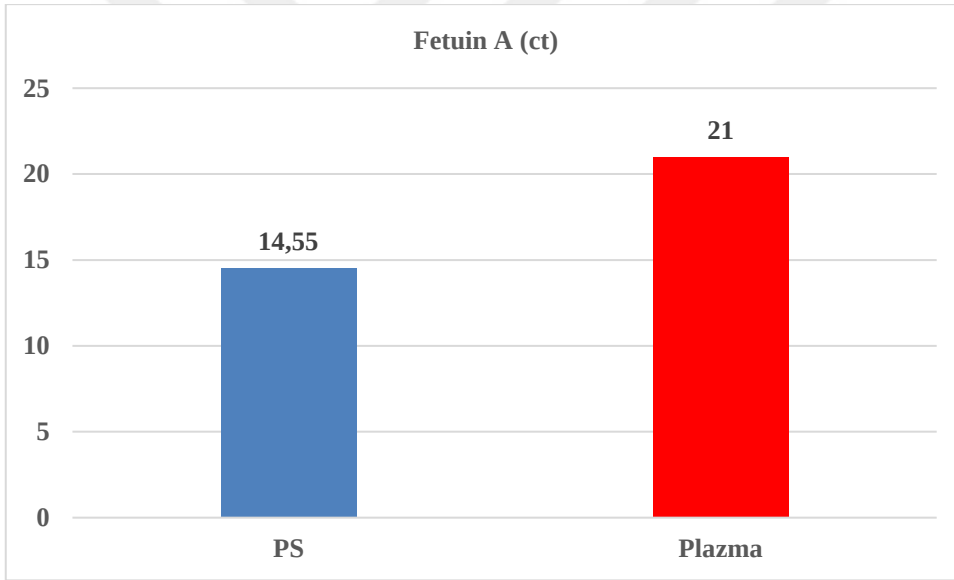
Tablo 4. 6. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A'ya ait gen ekspresyon sonuçları

Parametreler ve Birim	Ortalama Sonuç	Std. Sapma
PS-IL33 (ct)	8,30	3,09
PLAS-IL33 (ct)	18,25	3,57
PS-Fetuin A (ct)	14,55	,48
PLAS-Fetuin A (ct)	21,02	3,97
PS-IL33 (fold change)	65,71	70,27
PLAS-IL33 (fold change)	36,74	76,22
PS- Fetuin A (fold change)	0,2721	0,1211
PLAS-Fetuin A (fold change)	3,93	9,342

Gen ekspresyonu sonuçlarına göre ortalama IL 33 (ct) değeri; PS'de 8,30 çıkarken, plazmada 18,25 ıkmıştır (şekil 4. 9). Ortalama Fetuin A (ct) değeri; PS'de 14,55 çıkarken, plazmada 21,02 ıkmıştır (şekil 4. 10).

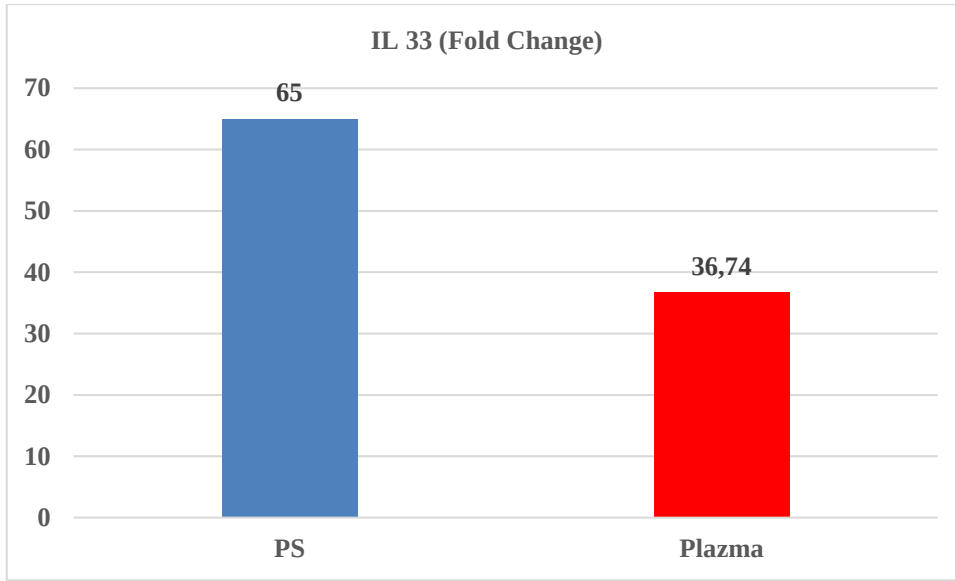


Şekil 4. 9. PS ve Plazmada IL 33 (ct) değerleri

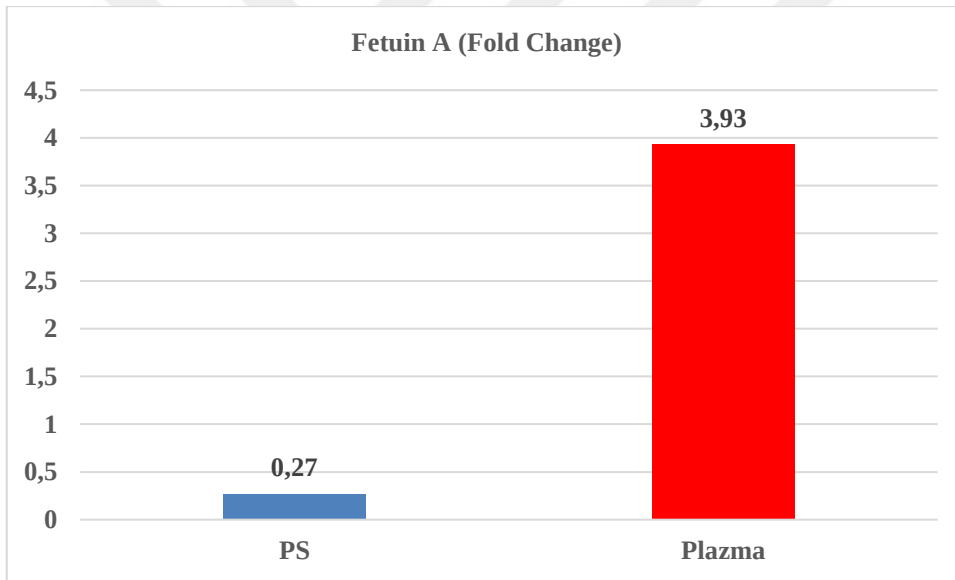


Şekil 4. 10. PS ve Plazmada Fetuin A (ct) değerleri

Ortalama IL33 (fold change) değeri; PS’de 65,71 çıkarken, plazmada 36,74 çıkmıştır (Şekil 4. 11). Ortalama Fetuin A (fold change) değeri; PS’de 0,2721 çıkarken, plazmada 3.93 çıkmıştır (Şekil 4. 12).

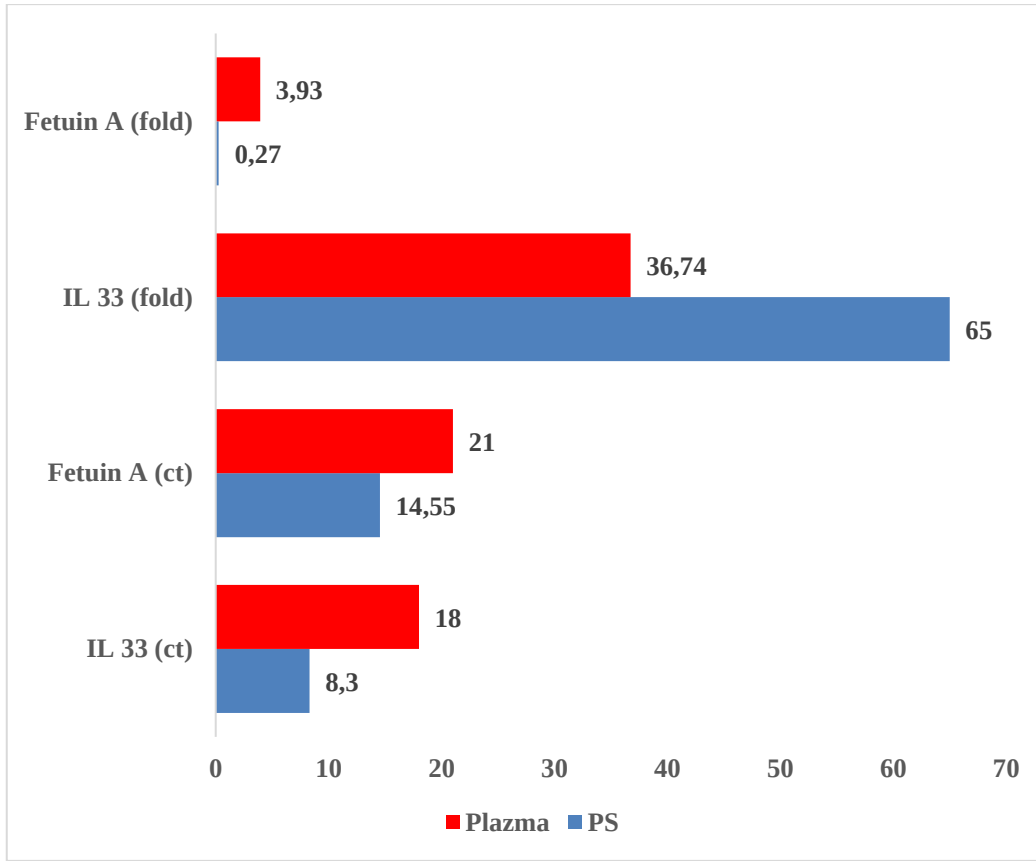


Şekil 4. 11. PS ve Plazmada IL 33 (fold change) değerleri



Şekil 4. 12. PS ve Plazmada Fetuin A (fold change) değerleri

PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A'a ait 'ct' ve 'fold change' sonuçları Şekil 4. 13'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 13. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A'a ait "ct" ve "fold change" sonuçları

4.4. PS ve Plazmada IL 33 ve Fetuin A'nın ELISA ve Gen Ekspresyon Sonuçlarının İstatistiksel Analizi

Öncelikle verilerin normal dağılımlı olup olmadığı incelendi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk yöntemi ile test edildi. Toplam örneklem sayısı 50'nin altında olduğundan Shapiro-Wilk yöntemi dikkate alındı. Buna göre, tüm gruplarda $p < 0,05$ 'den küçük olduğu için normal dağılıma uygunluk göstermediği tespit edildi.

Normal dağılım göstermeyen ($p < 0,05$) bağımsız iki grubun kıyaslamasında Mann Whitney U testi yapılarak gruplar arası anlamlılık araştırıldı. Mann Whitney U testine göre yapılan gruplar arası anlamlılık araştırılmasında ELISA çalışmasına göre IL33 (ng/L) ve Fetuin A (mg/L) değerlerinde anlamlı ($p < 0,05$), CK18 (ng/ml) değerinde ise anlamlı olmayan ($p > 0,05$) sonuç çıkmıştır. Gen ekspresyonu çalışmasına göre ise IL33 (ct), Fetuin A (ct) ve IL33 (fold) değerlerinde anlamlı ($p < 0,05$), Fetuin A (fold) değerlerinde ise anlamlı olmayan ($p > 0,05$) sonuç çıkmıştır.

Gruplar ve parametreler arasındaki korelasyon analizinde Spearman's testi kullanılarak PS ve plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18'in ELISA ve gen ekspresyon sonuçlarının korelasyonu Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4. 7. PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18'in ELISA ve gen ekspresyon sonuçlarının korelasyonu

Grup			IL33 (ng/L)	Fetuin A (mg/L)	CK18 (ng/ml)	IL33 (ct)	Fetuin A (ct)	IL33 (fold)	Fetuin A (fold)
PS	IL33 (ng/L)	r	1,000	,318	,127	-,061	-,198	,102	-,080
		p	.	,107	,527	,762	,322	,613	,693
	Fetuin A (mg/L)	r	,318	1,000	,096	,100	-,242	-,012	-,109
		p	,107	.	,632	,618	,224	,952	,588
	CK18 (ng/ml)	r	,127	,096	1,000	,250	-,219	-,223	,131
		p	,527	,632	.	,209	,272	,262	,515
	IL33 (ct)	r	-,061	,100	,250	1,000	-,094	-,903**	,160
		p	,762	,618	,209	.	,642	,000	,425
	Fetuin A (ct)	r	-,198	-,242	-,219	-,094	1,000	,221	-,087
		p	,322	,224	,272	,642	.	,268	,665
	IL33 (fold)	r	,102	-,012	-,223	-,903**	,221	1,000	-,047
		p	,613	,952	,262	,000	,268	.	,818
Fetuin A (fold)	r	-,080	-,109	,131	,160	-,087	-,047	1,000	
	p	,693	,588	,515	,425	,665	,818	.	
Plasma	IL33 (ng/L)	r	1,000	,268	,012	,106	-,039	-,111	,034
		p	.	,177	,952	,598	,846	,580	,868
	Fetuin A (mg/L)	r	,268	1,000	-,227	-,650**	-,463*	,307	,361
		p	,177	.	,256	,000	,015	,119	,064
	CK18 (ng/ml)	r	,012	-,227	1,000	,237	-,019	-,189	,138
		p	,952	,256	.	,235	,923	,344	,493
	IL33 (ct)	r	,106	-,650**	,237	1,000	,405*	-,692**	-,370
		p	,598	,000	,235	.	,036	,000	,058
	Fetuin A (ct)	r	-,039	-,463*	-,019	,405*	1,000	,121	-,624**
		p	,846	,015	,923	,036	.	,549	,001
	IL33 (fold)	r	-,111	,307	-,189	-,692**	,121	1,000	,353
		p	,580	,119	,344	,000	,549	.	,071
Fetuin A (fold)	r	,034	,361	,138	-,370	-,624**	,353	1,000	
	p	,868	,064	,493	,058	,001	,071	.	
**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).									
*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).									

Yapılan korelasyon analizinde PS'de ELISA sonuçlarına göre gruplar ve parametreler arasında ilişki saptanmamıştır. PS'de sadece gen ekspresyonunda IL33 (ct)

gen ifadesi ile IL33 (fold change) değeri arasında güçlü ve negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($r=-0,903$; $p=0,000$).

Plazmada ise Fetuin A (mg/L) protein seviyesi ile IL 33 (ct) gen ekspresyonu arasında güçlü ve negatif yönde ($r=-0,650$; $p=0,000$), Fetuin A (mg/L) protein seviyesi ile Fetuin A (ct) gen ekspresyonu arasında orta düzeyde ve negatif yönde ($r=-0,463$; $p=0,015$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir.

Plazmada ayrıca IL 33 (ct) gen ekspresyonu ile Fetuin A (ct) gen ekspresyonu arasında orta, pozitif yönde ($r=0,405$; $p=0,036$), IL 33 (ct) gen ekspresyonu ile IL 33 (fold change) değeri arasında güçlü, negatif yönde ($r=-,692$; $p=0,000$), Fetuin A (ct) gen ekspresyonu ile Fetuin A (fold change) değeri arasında güçlü, negatif yönde ($r=-,624$; $p=0,001$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Diğer değişkenler arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

5. TARTIŞMA

KAH oluşum mekanizmasında önemli etmenlerin belirlenmesi ve hastalığa karşı tedavi seçeneklerinin hızlıca ortaya çıkması gerekmektedir. Bu nedenle korunma ve tedavi için etkili yolların bulunması ve hedefe yönelik moleküllerin keşfedilmesi çalışmalarına büyük ihtiyaç duyulmaktadır. Genel popülasyonda KAH riski için bir dizi faktörler bilinmektedir. Ancak risk taşıyan hastaların daha iyi tanımlanması için yeni belirteçlerin tanımlanması gereklidir. Bu durum özellikle egzersiz kapasitelerinin azalması nedeniyle kardiyak iskemi semptomlarını ortaya çıkaramayan veya kas-iskelet sistemi nedenlerinden dolayı semptomları yanlış bir şekilde ortaya çıkan kişiler için önemlidir (9).

KAH'ta teşhis ve prognozda kullanılan optimum biyolojik bir belirtecin öncelikle diğer faktörlerden bağımsız olması gerekir. Bu sebeple kullanılan bir belirtecin başka koşullarla ilişkisinin olmaması ve kan konsantrasyonlarını etkileyebilecek karıştırıcı faktörlerden etkilenmemesi gerekir. Tam da bu sebeple KAH için IL 33, Fetuin A ve CK 18 gibi biyobelirteçler hastalığın tanı ve tedavisinde etkin olan yeni faktörler arasındadır.

Yapılan bu çalışmada IL 33, Fetuin A ve CK 18 sinyal ağının mevcut bilgileri gözden geçirilmekte ve koroner arter hastalığındaki patofizyolojik ve translasyonel etkileri tartışılmaktadır.

IL 33 hem doğuştan hem de uyarlanabilir bağışıklıkta önemli bir oyuncudur. Sağlıklı insan dokularında IL 33 esas olarak endotel ve epitel hücreleri ve özel fibroblastlar dahil olmak üzere stromal hücreler tarafından eksprese edilir. IL 33 ayrıca kardiyak fibroblastların, kardiyak endotelyal hücrelerin, kardiyomiyositlerin ve koroner arter düz kas hücrelerinin çekirdeklerinde yapısal olarak bulunur ve stres veya nekroz sırasında salınır. IL 33, hücre hasarı ve yaralanmaya yanıt olarak doku koruma ve onarımında önemli bir rol oynamaktadır. Hücresel ve zamansal ekspresyona büyük ölçüde değişebilen IL-33'ün patofizyolojik önemini yapılan çalışmalarla gün yüzüne çıkmaktadır.

Yapılan çalışmalara göre koroner arter hastalığı ve miyokard enfarktüsünde IL 33'ün biyobelirteç olarak kullanılabileceği tespit edilmiş olup IL 33'ün KAH ciddiyetinin ölçülmesinde faydalı olabileceği ortaya çıkmıştır. Çalışma sonuçlarına göre artan KVH'nın şiddeti ile IL 33'ün serum seviyelerinin düştüğü sonucunu desteklemektedir (159, 203, 204). Dolaşımdaki IL 33 seviyelerinin KAH'ın artan şiddeti ile zıt bir değişim modeli

sergilediği gözlemlendiğinden dolayı, IL 33'ün kardiyovasküler aktivitesinin arttırılmasının kardiyovasküler olayların sınırlandırılmasında faydalı olabileceği fikrini oluşturmuştur (7).

206 hasta ile yapılan bir çalışmada akut iskemik inme geçiren hastalarda serum IL 33 seviyeleri yüksek bulunmuş, bununla birlikte daha yüksek inme şiddeti ve büyük enfarktüs hacmi ile ilişkili olarak IL 33 seviyeleri düşük bulunmuştur. Yapılan çalışmada sonuç olarak IL 33 seviyeleri, fonksiyonel sonuç için bağımsız bir belirleyici olarak kabul edilmiştir (205). Aterosklerozlu hastalarda yapılan bir çalışmada ise IL 33'ün insan endotel hücrelerinde ve insan aterosklerotik plaklarında adezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve inflamatuvar aktivasyonu indüklediği, plaklarda artan ifadenin endotelial hücrelere lökosit yapışmasını teşvik ettiği tespit edilmiştir (206). Yapılan başka çalışmalar özellikle inflamasyon bağlamında IL 33'ün in vitro ve in vivo olarak anjiyogenez ve vasküler geçirgenliği teşvik ettiğini göstermiştir (207). 2015 yılında KAH ve AKS olan hastalarında yapılan başka bir çalışmada KAH grubuna göre AKS grubunda IL 33 ekspresyonu önemli ölçüde daha düşük bulunmuş ve IL 33 dahil olmak üzere pro-/anti-inflamatuvar sitokinlerin dolaşımdaki seviyeleri AKS hastalarında ateroskleroz patogenezi ile ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak KAH hastalarında IL 33'ün AKS'nin ilerlemesine karşı koruyucu bir role sahip olduğu fikri çıkmıştır (159).

IL 33'ün kardiyak onarım, kardiyovasküler yeniden şekillenme, ateroprotektif özellik göstermesi ve lipid metabolizmasını düzenleyerek obezite ve tip 2 diyabeti önleyebilmesi gibi etkileri olmasına rağmen aynı zamanda endotelial inflamasyonu tetiklemesi gibi etkileri de bulunmaktadır (7). IL 33'ün ayrıca aterosklerozda birbiriyle çelişen eylemleri vardır. Örneğin IL 33; iltihaplanma ve aterosklerozu teşvik eden endotelial ve bağışıklık hücreleri üzerinde bir dizi etkiye sahip iken, buna karşılık plak gelişimini ve ilerlemesini hafifletmek için T hücreleri, makrofajlar ve B hücreleri üzerinde etkili olabileceğini gösteren kanıtlar da bulunmaktadır. IL 33'ün başka bir karmaşık rolü ise hangi hücre tipinin devreye girdiğine bağlı olarak hem pro inflamatuvar hem de anti inflamatuvar etkilere sahip olabilmesidir (7). Doku hasarı ve inflamasyonunun erken dönemlerinde doku onarımında önemli bir rol oynayan IL 33 bazı durumlarda IL 33 aşırı akut inflamasyona ve doku hasarına katkıda bulunabilmektedir. IL 33'ün patofizyolojik öneminin, hücresel ve zamansal ifadeye büyük ölçüde bağlı olduğu giderek artan bir şekilde belli olmaktadır IL 33'ün aterosklerozdaki karşıt eylemlerini engellemek için zamansal ve uzamsal/hücresel faktörlerin daha iyi anlaşılması gereklidir.

IL 33'ün hangi hastalıklarda neye göre yüksek veya düşük çıktığı tam belirlenememiştir. Elde edilen bu gözlemler IL 33'ün KAH'ta karmaşık düzenleyici bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir. Yaptığımız bu çalışma bu soruna bir nebze de olsa katkı sağlayacaktır. Ancak IL 33'ün insan serumunda doğru bir şekilde değerlendirilmesi, mevcut ELISA testlerinin duyarlılık ve özgüllüğünün farklı durumlara göre değişmesi, sST2'nin varlığıyla etkileşim ve sertifikalı olmayan kitlerin kullanılması gibi bir dizi nedenden dolayı zordur. Bu nedenle biz çalışmamızda ekstradan gen ekspresyon analizi yaparak IL 33 hakkında bilinenlere katkı sağlamaya çalıştık.

2017 yılında yapılan "kardiyak cerrahi geçiren hastaların perikardiyal sıvısında IL 33 seviyesinin araştırılması" çalışmasında hastaların PS ve plazmasında ELISA yöntemiyle IL 33 seviyelerine bakılmıştır. Bu çalışmada plazma IL seviyesi 32.31 pg/ml (ng/L), PS IL 33 seviyesi ise 51.44 pg/ml (ng/L) çıkmıştır (208).

2018 yılında 300 hastada yapılan bir çalışmaya göre ortalama IL 33 serum konsantrasyonu sağlıklı kontrol grubunda (61.85 ± 7.67 pg/ml), AMI'de (103.33 ± 19.29 pg/ml), stabil anjina hastalarında (157.60 ± 33.43 pg/ml) ve unstabil anjina hastalarında ise (122.21 ± 22.26 pg/ml) olarak ölçülmüştür. Elde edilen bu sonuçlara göre kontrol grubuna kıyasla iskemik kalp hastalarında IL 33'ün daha yüksek serum konsantrasyonu olduğu tespit edilmiştir (209). 2013 yılında Xin Tu ve ark. tarafından KAH olan 440 kişide yapılan araştırmada hastaların % 51.6'sında plazma IL 33 konsantrasyonunun tespit edilmiş olup ortalama 233.67 pg/ml çıkmıştır (5).

Bizim yaptığımız çalışmada ise hastaların hepsinde IL 33 ölçülmüş olup, ELISA yöntemiyle ortalama IL 33 düzeyi PS'de 57,09 ng/L (57 pg/ml) çıkarken plazmada 50,15 ng/L (50 pg/ml) çıkmıştır. Yani bizim çalışmadaki IL 33 değerleri daha önce 2017 yılında yapılan çalışmaya göre bir nebze olsa daha yüksek, 2018 yılında yapılan çalışmaya göre ise çok daha düşük çıkmıştır. Yaptığımız çalışmada plazmaya göre PS'deki IL 33 değeri daha yüksek çıkmıştır. Elde ettiğimiz IL 33 değerleri daha önce yapılan çalışmalara göre farklı çıkmıştır. Bu durum bize KAH hastalarında IL 33 seviyesinin değişebildiğini ama genel olarak azaldığını göstermektedir.

IL 33 gen ekspresyonu ile ilgili yaptığımız çalışma sonuçlarına göre ortalama IL 33 (ct) değeri; PS'de 8,30 çıkarken, plazmada 18,25 çıkmıştır. Bu sonuçlara göre IL 33'ün PS'deki gen ekspresyonu plazmadaki gen ekspresyonundan fazla çıkmıştır. Elde ettiğimiz veriler IL 33 ELISA sonuçları ile gen ekspresyonu sonuçlarının doğru orantılı olduğunu göstermekte ve PS'de daha fazla IL 33 proteini ile mRNA seviyesinin olduğunu işaret etmektedir. Bu durum bize PS'nin kalpteki fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri

yansıtabildiğini, plazmanın yanında tanısal ve tedavi amaçlı olarak PS'nin kullanılabileceğini göstermektedir.

Şu ana kadar elde edilen bulgulara göre Fetuin A'nın KAH üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etki gösterdiği tespit edilmiştir. Fetuin A'nın olumlu ve koruyucu işlevinden ilki; kalsiyum ve fosforun kandaki çözünürlüğünü artırarak ve vaskülatürde kendiliğinden mineral çökmesini önleyerek koroner arter kalsifikasyonunu inhibe edebilmesidir. Fetuin A'nın diğer olumlu özelliği ise; KAH ve aterosklerozun belirtilerinde anahtar rol oynayan proinflamatuvar sitokin olan TNF'nin üretimini inhibe ederek anti inflamatuvar etkilere sahip olmasıdır. Bununla birlikte Fetuin A'nın olumsuz etkisi ise; tirozin kinaz seviyesinde insülin direncini indükleyerek KAH gelişimini teşvik edebilmesidir. Bu nedenle Fetuin A'nın KAH üzerindeki etkisi, farklı durumlar veya koşullarda çeşitli faktörlerin kombinasyonuna bağlıdır (8).

Xuechen Chen ve ark. tarafından yapılan ve 1620 hastayı kapsayan bir çalışmada düşük plazma Fetuin A seviyeleri, geleneksel KVH risk faktörlerinden bağımsız olarak koroner arter hastalığı olan hastalarda artmış tüm nedenlere bağlı risk ve KVH mortalitesi ile ilişkili bulunmuştur (8). Yapılan bu çalışmada hastalar Plazma Fetuin A seviyelerine göre üç gruba ayrılmıştır (düşük seviyeli ≤ 0.64 g/L; orta seviyeli $= 0.65-0.86$ g/L; yüksek seviyeli $= 0.87-2.17$ g/L). Bu çalışmaya göre genç hastaların daha yüksek plazma Fetuin A seviyelerine ($0.87-2.17$ g / L) sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ek olarak koroner anjiyografi sonucuna göre daha yüksek plazma Fetuin A düzeylerine sahip hastalarda koroner arterin daha az daraldığı tespit edilmiştir (8). Yapılan başka bir çalışmada ise Fetuin A'nın serum konsantrasyonu 0,4 ile 1,0 g/L seviyelerinde olduğu tespit edilmiştir (172).

Bizim yaptığımız ELISA çalışmasında ortalama Fetuin A düzeyi PS'de 1060,53 mg/L (1,06 g/L) çıkarken plazmada 725,85 mg/L (0,72 g/L) çıkmıştır. Elde ettiğimiz Fetuin A değerlerinin daha önce yapılan çalışmalarla kıyasladığımızda hastalarımızın PS'sinde yüksek seviyeli Fetuin A, Plazmasında ise orta seviyeli Fetuin A değerleri çıkmıştır. Fetuin A ile ilgili yaptığımız gen ekspresyonu çalışmasında ise ortalama Fetuin A (ct) değeri; PS'de 14,55 çıkarken, plazmada 21,02 çıkmıştır. Bu sonuçlara göre hem ELISA hem de gen ekspresyonu çalışmamızda Fetuin A'nın PS'de daha yüksek çıktığı görülmektedir. Elde ettiğimiz veriler Fetuin A ELISA sonuçlarımızın gen ekspresyonu sonuçlarıyla doğru orantılı olduğunu göstermektedir. Bu durum bize PS'de daha fazla Fetuin A proteini ile mRNA seviyesinin olduğunu göstermektedir. Çalışma sonucumuza göre gerek PS'de gerekse dolaşımdaki Fetuin A seviyelerinin muhtemelen bir

kalsifikasyon inhibitörü olarak daha etkili bir rol oynayarak KAH olan hastalarda mortalite riskini azalttığını varsaydık. Çünkü daha düşük seviyelerdeki Fetuin A değerleri hem KAH durumunu hem de mortaliteyi artırmaktadır.

Yaptığımız çalışmada Plazmada Fetuin A protein seviyesi ile IL 33 gen ekspresyonu arasında negatif korelasyon, Fetuin A gen ekspresyonu ile IL 33 gen ekspresyonu arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Bu durum bize IL 33 ve Fetuin A gen ekspresyonlarının paralel değişmesine rağmen Fetuin A protein seviyesinin anti paralel değiştiğini göstermektedir. Bu durumun böyle olmasında gen ekspresyonu sonucunda oluşan Fetuin A'ya ait olan mRNA'ların çeşitli sebeplerden dolayı proteine dönüşmemesinden kaynaklanabilir.

Bununla birlikte, insan vücudunun Fetuin A'nın zıt yollarını nasıl düzenlediği ve Fetuin A'nın keşfedilmemiş diğer işlevlerinin KAH'a dahil olup olmadığı bilinmemektedir. Bu sebeple Fetuin A'nın KAH üzerindeki etkisini açıklamak için daha fazla temel ve klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

Kardiyometabolik bozukluklarda ayırt edici özellik olarak endoplazmik retikulum stres ve oksidatif stres gibi anormal hücrel stresler olmaktadır (210). Bu gibi önemli stres durumlarında ve KVH ile bağlantılı inflamatuvar yanıt neticesinde miyokarda bulunan mikrotübül ve ara filament ağı bozulabilmektedir. Bu durumda hücreler doku bütünlüğüne zararı en aza indirmek için hücreyi ölüm yolağına sokabilmektedir. Hücre ölümü (apoptoz, nekroz, otofaji) hasarlı hücrelerden kurtulmaya ve hücre bütünlüğünü korumaya yardımcı olmaktadır. Hücre ölüm yolağında rol oynayan CK 18 önemli bir hücre ölüm belirteçidir (211). Eldeki verilere göre CK 18 kardiyak mikrovaskülatürün (cardiac microvasculature) bazı endotelial hücrelerinde de bulunmuştur. Ek olarak, CK 18'in aterosklerotik plaklarla ilişkili vasküler düz kas hücrelerinde (VSMC'ler) eksprese olduğu tespit edilmiştir (212). Serum CK 18 seviyeleri ile kardiyometabolik bozukluk riski arasındaki güçlü korelasyon, hücre ölümünün indüksiyonu sırasında beslenme fazlası (nutritional surplus), inflamasyon, doğal bağışıklık sistemi ve bağırsak mikrobiyotası tarafından aktive edilen çeşitli metabolik stres indükleyicileri arasındaki etkileşimlerle açıklanabilmektedir (191).

2019 yılında Lingling Qian tarafından 588 kişi üzerinde yapılan çalışmaya göre CK 18'in serum yüksekliği, kardiyometabolik bozuklukların bağımsız bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (191). Yapılan çalışmada CK 18 değeri tüm çalışmadaki katılımcılarda ortalama 137.54 U/L (76.51–254.39 aralığında), kardiyometabolik hastalığı olmayan kişilerde 83.85 U/L (52.80–153.75 aralığında) kardiyometabolik

hastalığı olan kişilerde ise 197.36 U/L (121.13–354.50 aralığında) çıkmıştır. 2017 yılında yapılan başka bir çalışmaya göre total CK 18; 262.9 ± 130.0 U/L olarak ölçülürken CK 18 fragmenti; 145.1 ± 69.6 U/L olarak ölçülmüştür. Kontrol grubunda ise total CK 18; 158.7 ± 44.5 U/L olarak ölçülürken, CK 18 fragmenti; 81.6 ± 15.2 U/L olarak ölçülmüştür (212). Yapılan bu çalışmalara göre kardiyovasküler problemi olan kişilerde CK 18 düzeyi yükselmektedir. Bununla birlikte KAH'ta CK 18 ile ilgili çalışmalar hem yetersizdir, hem de yapılan çalışmalar genellikle kan serumunda ya da plazmada yapılmıştır.

2019 yılında yapılan bir araştırmada ise bizim kullanmış olduğumuz CK 18 ELISA kit tercih edilmiş olup, çalışma sonucunda sağlıklı bireylerde CK 18'in serum konsantrasyonu 203.95 ± 83.57 ng/mL bulunmuştur (213).

Bizim yaptığımız çalışmada CK 18 düzeyine hem plazmada hem de PS'de bakılmış olup bu konuda ilk olunmuştur. ELISA sonuçlarına göre ortalama CK 18 düzeyi; PS'de 1046,42 ng/ml çıkarken plazmada 1025,31 ng/ml çıkmıştır. Hem PS'de hem de Plazmada CK 18 değerinin yüksek çıkması bize KAH hastalarında nekroz veya apoptozun yüksek olduğu hakkında bir ipucu vermektedir. Ancak yaptığımız çalışmada hem PS'de hem de Plazmada IL 33 ile CK 18 arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. IL 33; kardiyomiyosit apoptozu düşürmesi, miyokardiyal infarktı azaltması ve ventriküler fonksiyonu iyileştirmesi gibi önemli etkilerini kaspaz-3 aktivitesini baskılayarak ve apoptoz inhibitörlerinin ekspresyonunu artırarak yapabilmektedir (136, 190). Bu konuda var olan bilgilere katkı yapmak amacıyla PS'de apoptoz belirteçlerin durumunun tespit edilmesi zaruri olmuştur. Her ne kadar apoptozun durumunu saptamak için CK 18 kullanılsa da, aslında IL 33'ün kardiyomiyosit apoptozunu düşürüp düşürmediğini öğrenmek için IL 33 ile kaspaz-3 aktivitesi ve apoptoz inhibitörlerinin ekspresyonunu arasındaki ilişkinin araştırılması gerekir. Belki IL 33'ün direkt olarak CK 18 durumuna bir etkisi bulunmamaktadır.

Geçmişten günümüze kardiyovasküler hastalıkların sebepleri ve sistemik tedavilerinde genellikle hastalık etmenleri için serum konsantrasyonlarına odaklanılmıştır. Ancak kalp çevresindeki yerel ortamı daha fazla yansıtabilen PS'nin elde edilmesinin zor olması ve ancak invazif yöntemlerle mümkün olması nedeniyle bileşimi yeterli seviyelerde değerlendirilmemiştir. Yapılan bazı çalışmalarda kalp hastalıkları sırasında PS içerisinde bulunan maddelerin değişen konsantrasyonu bildirilmiştir (115, 116). PS ile Plazmanın karşılaştırılması sırasında hastalık durumlarına göre içeriklerin birbirinden çok farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu maddelerin plazma ile karşılaştırılması sonucunda PS'de daha yüksek veya düşük konsantrasyonda olabileceği belirlenmiştir.

İskemik kalp hastalıklarında kollateral damar gelişimini uyardıkları bilinen asit ve basic fibroblast growth faktörler, vasküler endotelial growth faktör, hepatositik growth faktör gibi çeşitli anjiyogenik faktörlerin perikardiyal konsantrasyonları anlamlı düzeyde artmış olması Perikardı önemli kılmaktadır (152, 153).

Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre perikard yeni tedavi yöntemlerinin uygulama alanı haline gelmiştir. Özellikle perkütan girişim veya cerrahi revaskularizasyonun yapılamadığı hastalarda tıkalı damarlarda kollateral gelişimi uyarmak için yapılan uygulamalar perikardı yeni tedavi girişim yeri ve metodu haline getirmektedir (125, 126). Miyokardiyal iskeminin tedavisinde yeni bir yaklaşım olan terapötik anjiyogenez; risk altındaki miyokardiyumu beslemek amacıyla yeni kan damarlarının büyümesini indüklemek için proanjiyogenik büyüme faktörlerinin kullanımına dayanan bir yöntemdir. Bu yöntem ilk olarak 2000 yılında daha sonra da 2003 yılında denenmiş olup, ilgili çalışmada kronik miyokardiyal iskeminin oluşturulduğu bir domuz modelinde temel fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast Growth Factor 2-FGF-2) domuza intraperikardiyal enjeksiyon ile verilmiştir. FGF-2'nin tek bir intraperikardiyal enjeksiyonu sonucunda domuzda herhangi bir olumsuz sonuç olmaksızın fonksiyonel olarak intraperikardiyal ilaç verilmesiyle, intrakoronar veya intravenöz uygulamaya göre belirgin şekilde daha yüksek miyokardiyal birikim ve tutulma sağlandığı, ilacın çok daha düşük seviyelerde sistemik dolaşıma katıldığı ve bu sayede anjiyogenezin daha iyi tetiklendiği tespit edilmiştir. Bu şekilde FGF-2 uygulama modu, iskemik kalp hastalığı olan hastaların tedavisi için faydalı bir terapötik strateji olduğunu kanıtlayabilir (127, 128).

İskemik koroner kalp hastalığının tedavisinde büyüme faktörünün intrakoronar ve intravenöz uygulamadan ziyade perikardiyal boşluğa uygulama konusu daha geniş katılımlı çalışmalarla araştırılabilir. Çünkü artmış miyokardiyal alım ve azaltılmış sistemik toksisitelere sahip olmasından dolayı intraperikardiyal boşluk gelecekte önemli bir ilaç verme rezervuarı olacağını göstermektedir. Örneğin KAH tedavisine yönelik olarak günümüzde IL 33 ve Fetuin A'nın yapay muadilleri sentezlenerek yeni yöntemler geliştirmeye çalışılmaktadır. Bazı çalışmalar IL 33 takviyesinin ateroprotektif etkiye sahip olduğunu ve MI ile iskemik felç gibi hastalıkların tedavisinde faydalı olabileceğini göstermektedir. Hatta günümüzde IL 33'ün olumsuz sinyali bloke etmeyi amaçlayan çeşitli stratejiler hastalarda uygulanabilir seviyeye gelmiştir. Halen birkaç ilaç şirketi, esas olarak astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı için anti-IL 33 mAb, anti-ST2 veya sST2 geliştirmeye devam etmektedir (7).

Sonuç olarak doku hasarını sınırlama, onarma, teşvik etme ve hasarı yansıtma gibi karmaşık bir etkileri olan IL 33, Fetuin A ve CK 18'in doku hasarı veya metabolik bozukluklar ile fizyolojik yanıt arasında önemli bir yerel bağlantı görevi gördüğü aşıkardır. KAH veya diğer kalp damar hastalıklarında IL 33, Fetuin A ve CK 18 seviyelerinin takibine göre birçok faydalı tedavi stratejileri geliştirilebilir. Bu stratejilerin belirlenmesinde Perikard boşluğu ve PS hem tanısl hem de tedavi amacıyla kullanılabilecek önemli bir unsurdur.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan araştırmalara göre IL 33, Fetuin A ve CK 18 insan plazmasında tespit edilmesine rağmen, bunların PS’de varlığını araştıran hiçbir çalışma olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada ilk kez IL 33, Fetuin A ve CK 18 arasındaki ilişki plazma dışında PS’de araştırılmıştır.

Yaptığımız çalışmada PS’de IL 33, Fetuin A ve CK 18 gibi KAH ile ilişkili parametrelerin hem ELISA hem de gen ekspresyonu yöntemiyle anlamlı düzeyde tespit edilmesi bu parametrelerin kalp hastalıklarında bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği fikrini desteklemektedir. Elde ettiğimiz ileriye dönük verilerimiz, PS ve Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18’in aynı anda düzeylerinin ölçülmesi, geleneksel KVV risk faktörlerinden bağımsız olarak KAH’a ilişkin risklerle ilişkili olduğunu ortaya koyan önemli bir veriyi oluşturmuştur.

Yaptığımız çalışmada gerek ELISA gerekse gen ekspresyonu sonuçlarına göre PS’deki IL 33, Fetuin A ve CK 18 değerleri Plazmaya göre daha yüksek çıkmıştır. Burada dikkat etmemiz gereken farklı bir durum daha vardır. Plazmada IL 33, Fetuin A ve CK 18 değerlerini tüm organlar etkilerken, PS’deki bu değerleri sadece kalp etkilemektedir. PS’ye IL 33, Fetuin A ve CK 18 gibi biyobelirteçlerin yegâne geçişi sadece kalp tarafından sağlanmaktadır. Bu durum bize PS’deki biyobelirteçlerin ölçülmesinin kalp hakkında daha değerli bilgiler verdiğini göstermektedir.

Elde ettiğimiz IL 33, Fetuin A ve CK 18 değerlerini daha önce yapılan çalışmalarla kıyaslandığında;

1. Hem PS hem de Plazmada IL 33 değeri daha düşük çıkmış olup, bu durum bize genel anlamda KAH hastalarında IL 33 seviyesinin azaldığını göstermektedir.

2. Hastalarımızın PS’sinde yüksek seviyeli Fetuin A, Plazmasında ise orta seviyeli Fetuin A değerleri çıkmıştır. Bu durum bize KAH hastalarında plazmada Fetuin A’nın orta seviyede azaldığını göstermektedir.

3. PS ve Plazmada CK 18 değerinin yüksek çıkması bize KAH hastalarında nekroz ve apoptozun yüksek olduğu hakkında bir ipucu vermektedir.

4. PS’de IL 33, Fetuin A ve CK 18 arasında anlamlı korelasyon olmadığı saptanmıştır.

5. Plazmada Fetuin A protein seviyesi ile IL 33 gen ekspresyonu arasında negatif korelasyon, Fetuin A gen ekspresyonu ile IL 33 gen ekspresyonu arasında pozitif

korelasyon tespit edilmiştir. Bu durum bize Plazmada IL 33 ve Fetuin A gen ekspresyonlarının paralel değişmesine rağmen, IL 33 gen ekspresyonu ile Fetuin A protein seviyesinin anti paralel değiştiğini göstermektedir.

6. Plazmada CK 18'in IL 33 ile Fetuin A arasında anlamlı bir korelasyonu olmadığı saptanmıştır.

7. Her ne kadar apoptozun durumunu saptamak için CK 18 kullanılsa da, aslında IL 33'ün kardiyomiyosit apoptozunu düşürüp düşürmediğini öğrenmek için IL 33 ile kaspaz-3 aktivitesi ve apoptoz inhibitörlerinin ekspresyonunu arasındaki ilişkinin araştırılması gerekir.

Bu çalışmanın güçlü yönleri; ileriye dönük tasarımı, ilk kez plazma dışında ekstradan PS çalışılması, nispeten birbirleriyle ilişkili olan üç önemli parametrenin beraber çalışılması, aynı anda hem ELISA hem de gen ekspresyon çalışmasının olması, IL33 ve Fetuin A gibi farklı sonuçlar elde edilebilen parametrelerin bulunması, çalışma sonucunda elde edilen verilerin klinikle uyumlu olması gibi durumların bulunmasıdır.

Bu çalışmanın güçlü yönleri yanında bazı sınırlılıkları vardır. Birincisi; KAH olan hastaların tümünün KPB yöntemiyle ameliyat olan kişilerden seçilmesi ve bundan dolayı seçim yanlılığının olması. İkincisi; çalışmamızda IL 33, Fetuin A ve CK 18 seviyeleri ile KAH gelişimi ile ilişkili diğer potansiyel karıştırıcı faktörlerin tamamen dikkate alınamaması. Üçüncüsü; sağlıklı bireylerden PS'nin alınıp analiz edilememesi. Dördüncüsü; hastaların yaş ortalamasının yüksek olması; bu nedenle, sonuçların daha genç yetişkinlerde doğrulanması gerekir. Bu çalışmanın bir diğer kısıtlılığı ise çalışmanın sadece KAH hastalarında olması ve nispeten küçük örneklem boyutudur. Bu durum IL 33, Fetuin A ve CK 18 seviyeleri arasındaki neden-sonuç ilişkisini ele almayı zorlaştırmıştır. Ayrıca CK 18 seviyeleri vücuttaki hücre ölümü durumu hakkında sınırlı bilgi sağlamıştır.

Bu nedenle mevcut bulguları doğrulamak için ileriye dönük çalışmalara ihtiyaç vardır. KAH'ın biyobelirteci veya terapötik hedefi olarak IL 33, Fetuin-A ve CK 18'in rolü gelecekte yapılacak farklı ve büyük ölçekli çalışmalarla daha çok aydınlanacaktır.

KAYNAKLAR

1. Vos T, Lim SS, Abbafati C, Abbas KM, Abbasi M, Abbasifard M, et al. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* 2020;396:1204–22.
2. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva World Health Organization. 2011.
3. Mensah GA, Roth GA, Fuster V. The global burden of cardiovascular diseases and risk factors: 2020 and beyond. *J Am Coll Cardiol* 2019;74: 2529–32.
4. Özkan Arat A. Akut koroner sendromlar: Epidemiyoloji, Türk Kardiyol Dern Arş-Arch Turk Soc Cardiology 2013;41 Suppl 1:1-3.
5. Tu X, Nie S, Liao Y, Zhang H, Fan Q, Xu C, et al. The IL-33-ST2L Pathway Is Associated with Coronary Artery Disease in a Chinese Han Population. *Am J Hum Genet* 2013 Oct 3; 93(4): 652–660.
6. Laughlin GA, Cummins K, Wassel CL, Daniels LB, Ix JH. The association of Fetuin-A with cardiovascular disease mortality in older community-dwelling adults: the rancho bernardo study. *J Am Coll Cardiol*. 2012 May 8; 59(19): 1688–1696.
7. Altara R, Ghali R, Mallat Z, Cataliotti A, Booz GW, Zouein FA. Conflicting vascular and metabolic impact of the IL-33/sST2 axis. *Cardiovascular Research* (2018) 114, 1578–1594.
8. Chen X, Zhang Y, Chen Q, Li Q, Li Y, Ling W. Lower Plasma Fetuin-A Levels Are Associated With a Higher Mortality Risk in Patients With Coronary Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37: 2213-2219.
9. Matthey DL, Dawes PT, Nixon NB, Goh L, Banks MJ, Kitas GD. Increased levels of antibodies to cytokeratin 18 in patients with rheumatoid arthritis and ischaemic heart disease. *Ann Rheum Dis* 2004;63:420–425.
10. Phelan D, Collier P, Grimm RA. "Pericardial Disease". The Cleveland Clinic Foundation. 2016.
11. Ben-Horin S, Shinfeld A, Kachel E, Chetrit A, Livneh A. The composition of normal pericardial fluid and its implications for diagnosing pericardial effusions. *The American Journal of Medicine*. 2005 Jun;118 (6): 636–40.
12. White PD. Angina pectoris: Historical Background In: Paul O. Angina pectoris, New York: Medcom Press, 1974:1-11.

13. Agneta S, Åsa C. Coronary artery disease/ physicalactivity in the prevention and treatment of disease, <http://fyss.se/wp-content/uploads/2011/06/21.-Coronary-artery-disease.pdf>. Erişim Tarihi: 03 Aralık 2021.
14. White HD, Chew DP. Acute myocardial infarction. *Lancet* 2008;372(9638):570- 84.
15. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104(3):365-72.
16. Rosamond W, Flegal K, Furie K. Heart disease and stroke statistics 2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2008; 117:e25.
17. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM. Executive summary: heart disease and stroke statistics-2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2010; 121:948.
18. Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet* 2006; 367:1747.
19. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva World Health Organization. 2011.
20. Onat A. TEKHARF 2017 Tıp Dünyasının Kronik Hastalıklara Yaklaşımına Öncülük. 2017.
21. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006; 3(11):e442.
22. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation* 2001; 104:2746.
23. Özkan Arat A. Akut koroner sendromlar: Epidemiyoloji, Türk Kardiyol Dern Arş-Arch Turk Soc Cardiology 2013;41 Suppl 1:1-3.
24. Beaglehole R, Reddy S, Leeder SR. Poverty and human development: the global implications of cardiovascular disease. *Circulation* 2007; 116:1871.
25. Libby P, Bonow RO, Zipes, DP, Mann DL. Braunwald's Heart Disease. London: Saunders; 2007.
26. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007; 28:2525.
27. Lanza GA. Cardiac syndrome X. A critical overview and future perspectives. *Heart* 2007;93:159-66.

28. Wallentin L. Akut kranskärslssjukdom. [Acute Coronary Artery Disease] Stockholm: Liber; 2005.
29. Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, Casey DE, Ganiats TG, Holmes DR, et al. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndromes: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014 September 23 130 (25): e344–e426.
30. Goodacre S, Pett P, Arnold J, Chawla A, Hollingsworth J, Roe D, Crowder S, Mann C, Pitcher D, Brett C. Clinical diagnosis of acute coronary syndrome in patients with chest pain and a normal or non-diagnostic electrocardiogram. *Emergency Medicine Journal* 2009 November 26 (12): 866–870.
31. Lakshmanadoss U. Novel Strategies in Ischemic Heart Disease, Overview of Coronary Artery Disease, <http://www.intechopen.com/books/novel-strategies-in-ischemicheart-disease>, February 2012. Erişim tarihi: 19 Ocak 2018.
32. Libby P, Bonow R, Braunwald E, Zipes D. Pathophysiology of heart failure. Amsterdam: Elsevier; 2004.
33. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: Stunning, preconditioning, and their clinical implications: Part 1. *Circulation* 2001; 104:2981.
34. Downey JM, Cohen MV. Reducing infarct size in the setting of acute myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis.* 2006; 48:363.
35. Abbate R, Cioni G, Ricci I, Miranda M, Gori AM. Thrombosis and acute coronary syndrome. *Thromb Res.* 2012 Mar;129(3):235-40.
36. Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation* 2008;117:2938–48.
37. Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications. *Circ Res* 2006;99: 1044–59.
38. Kalra SS, Shanahan CM. Vascular calcification and hypertension: cause and effect. *Ann Med* 2012;44 (Suppl) 1:S85–92.
39. Zoghi M, Nalbantgil I. Hypertension and endothelial dysfunction. *Anadolu Kardiyol Derg* 2002;2(2):142-7.
40. Kinlay S, Libby P, Ganz P. Endothelial function and coronary artery disease. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12(4):383-9.

41. Zengin E, Chalajour F, Gehling UM, Ito WD, Treede H, Lauke H. Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis. *Development* 2006;133(8):1543-51.
42. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(8):1983-92.
43. Landmesser U, Drexler H. The clinical significance of endothelial dysfunction. *Curr Opin Cardiol.* 2005;20(6):547-51.
44. Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndromes: diagnosis and management, part I. *Mayo Clin Proc.* 2009;84(10):917-38.
45. Hamm CW, Möllmann, H, Bassand JP, Van de Werf F. Acute Coronary Syndrom. In: Camm AJ, Lüscher TF, Serruys PW., *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine.* 2nd ed. New York: Oxford University Press; 2009. P535-97.
46. Bazzano LA, He J, Muntner P, Vupputuri S, Whelton PK. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med.* 2003;138(11):891-7.
47. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet.* 2005;366(9493):1267-78.
48. Brewer HB, Jr. Increasing HDL Cholesterol Levels. *N Engl J Med.* 2004;350(15):1491-4.
49. Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GV, Parving HH, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2003;348(5):383-93.
50. Scheuner MT. Genetic evaluation for coronary artery disease. *Genet Med* 2003;5(4):269-85.
51. Lusis AJ, Fogelman AM, Fonarow GC. Genetic basis of atherosclerosis: part I: new genes and pathways. *Circulation.* 2004;110(13):1868-73.
52. Lusis AJ, Fogelman AM, Fonarow GC. Genetic basis of atherosclerosis: part II: clinical implications. *Circulation.* 2004;110(14):2066-71.
53. Graham IM. The importance of total cardiovascular risk assessment in clinical practice. *Eur J Gen Pract.* 2006;12(4):148-55.
54. Güleç S. Kalp damar hastalıklarında global risk ve hedefler. *Türk Kardiyol Dern Arş.* 2009;37(Suppl. 2):1-10.

55. Tavlı T, Pekel N. Koroner Arter Hastalığında Risk Faktörleri. *Türkiye Klinikleri J Cardiol-Special Topics*. 2011;4(2):16-20.
56. Elizondo Omaña RE, García Rodríguez M de los Ángeles, Morales Gómez JA. Vascular conduits used in the operation of myocardial revascularization *Med Univer* 2005; 7: 222-5.
57. Hinojosa Amaya JM, Villarreal Silva EE, Elizondo Omaña RE. Conduits for myocardial revascularization grafts: The importance of morphology and imaging. *Med Univ* 2010; 12: 115-9.
58. Kırallı K, Saçlı H. Coronary Artery Bypass Surgery, Coronary Artery Disease Assessment, Surgery, Prevention, Chapter 6, p.150-161, <http://www.intechopen.com/books/coronary-artery-diseaseassessment-surgery-prevention>. Erişim Tarihi: 17 Ocak 2018.
59. Di Bartolomeo R., Savini C. Coronary artery bypass grafting remains the gold standard for left main coronary disease, *G Ital Cardiol (Rome)*. 2009 Feb;10(2):108-12.
60. Diodato M, Chedrawy EG. Coronary artery bypass graft surgery: the past, present, and future of myocardial revascularisation. *Surg Res Pract* 2014; 2014: 6.
61. Hillis LD, Smith PK, Anderson JL. Special articles: 2011 ACCF/AHA guideline for coronary artery bypass graft surgery: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Anesth Analg*. 2012; 114: 11-45
62. Gou-Wei H. Considerations in the choice of arterial grafts. In: Gou-Wei H, editor. *Arterial grafting for coronary artery bypass surgery*. 2nd ed. Berlin, Heidelberg: Springer, 2006; p 81–6.
63. Mohr FW, Morice MC, Kappetein AP. Coronary artery bypass graft surgery versus percutaneous coronary intervention in patients with three-vessel disease and left main coronary disease: 5-year follow-up of the randomised, clinical SYNTAX trial. *Lancet* 2013; 381: 629-38.
64. Abu-Omar Y, Taggart DP. Coronary artery bypass surgery, *Revascularization, medicine journal*, August 2010. Volume 38, Issue 8, Pages 446–449.
65. Gravlee GP, Davis RF, Kurusz M, Utley JR. *Historical Development of Cardiopulmonary Bypass: Cardiopulmonary Bypass Principles and Practice*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 5.

66. Florida spinal cord injury resource center. <http://www.flspinalcord.us/layers-of-the-pericardium/layers-of-the-pericardium-heart-anatomy-size-location-coverings-and-layers-anatomy/#s> Erişim tarihi: 24 Aralık 2019.
67. Gabella G. The pericardium. In: Standring S, ed. Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice. 39th ed. St. Louis: Elsevier; 2005. p.995-6.
68. Dorland's. Dorland's Illustrated Medical Dictionary (32nd ed.). Elsevier Saunders. 2012. p. 1412. ISBN 978-1-4160-6257-8.
69. D'Avila A. Pericardial anatomy for the interventional electrophysiologists. J. Cardiovasc. Electrophysiol. 2003;14, 422–430.
70. LeWinter MM, Myhre EESP, Slinker BK. Influence of the pericardium and ventricular interaction on diastolic function. In: Gaasch WH, LeWinter MM. Heart Failure and Left Ventricular Diastolic Function, Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p.103-17.
71. LeWinter MM. Pericardial Diseases. In: Libby P, Bonow RO, Mann DL, Zipes DP. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. 8th ed. Philadelphia: Elsevier, Saunders; 2007. p.1829-52.
72. Chinchoy E. Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology and Devices. Totowa, NJ:Humana Press Inc 2005 101–110.
73. Tortora GJ, Nielsen MT. Principles of Human Anatomy. 11th ed. John Wiley & Sons. 2009 84–5.
74. Polat Canbolat İ, Başkurt M. Perikardın Yapısı, Fonksiyonları ve Hastalık Halindeki Değişimleri. Türkiye Klinikleri J Cardiol-Special Topics. 2015;8(4).
75. Laizzo PA. Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology, and Devices 2nd ed. Humana Press. 2009. pp. 125–8.
76. Christopher XW, Ganesan A, Selvanayagam J. <https://www.semanticscholar.org/paper/Epicardial-fat-and-atrial-fibrillation%3A-current-and-Wong-Ganesan/7233b45c8598f5398288f531c8b4ae680e370df1>. Erişim Tarihi: 24 Nisan 2021.
77. Lee JM, Boughner DR. Tissue mechanics of canine pericardium in differenttest environments. Evidence for time-dependent accommodation, absence of plasticity, and new roles for collagen and elastin. Circ. Res. 1981;49,533–544.
78. Lee JM, Boughner DR. Mechanical properties of human pericardium. Differences in viscoelastic response when compared with canine pericardium. Circ. Res. 1985; 57, 475–481.

79. Gibbons Kroeker CA, Shrive NG, Belenkie I, Tyberg JV. Pericardium modulates left and right ventricular stroke volumes to compensate for sudden changes in atrial volume. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003;284, 2247–2254.
80. Lorenz CH, Pastorek JS, Bundy JM. Delineation of normal human left ventricular twist throughout systole by tagged cine magnetic resonance imaging. *J. Cardiovasc. Magn. Reson.* 2000; 2, 97–108.
81. Jöbsis PD, Ashikaga H, Wen H, Rothstein EC, Horvath KA, McVeigh ER. The visceral pericardium: macromolecular structure and contribution to passive mechanical properties of the left ventricle. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007;293, 3379–3387.
82. Middle+Mediastinum. <https://memorang.com/flashcards/61551/GS+G22+Middle+Mediastinum>. Erişim Tarihi: 24 Nisan 2021.
83. Randall WC, Ardell JL. Selective parasympathectomy of automatic and conductile tissues of the canine heart. *Am. J. Physiol.* 1985; 248, 61–68.
84. Chiou CW, Eble JN, Zipes DP. Efferent vagal innervation of the canine atria and sinüs and atrioventricular nodes. The third fatpad. *Circulation.* 1997;95,2573–2584.
85. Yakut N, Kırallı K, Dağlar B. Konjenital Komplet Perikardiyal Agenezis. *Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* 1999; 7:339-340.
86. Vesely TM, Cahill DR. Cross-sectional anatomy of the pericardial sinuses, recesses and adjacent structures. *Surg. Radiol. Anat.* 1986;8, 221–227.
87. Chinchoy E. *Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology and Devices*. Totowa, NJ: Humana Press Inc. 2005;101–110.
88. Vogiatzidis KG, Zarogiannis S, Aidonidis I, I. Solenov E, Adam Molyvdas P, I. Gourgoulisanis K, Hatzoglou C. Physiology of pericardial fluid production and drainage. *Frontiers in Physiology.* 2015 (6):62.
89. Mauer FW, Warren MF, Drinker CK. The composition of mammalian pericardial and peritoneal fluids. *Am. J. Physiol.* 1940; 129, 635–644.
90. Holt JP. The normal pericardium. *Am. J. Cardiol.* 1970; 26, 455–465.
91. Gibson AT, Segal MB. A study of the composition of pericardial fluid, with special reference to the probable mechanism of fluid formation. *J. Physiol.* 1978a; 277, 367–377.
92. Benhaïem-Sigaux N, Mina E, Sigaux F, Lambre CR, Valensi F, Allegret C. Characterization of human pericardial macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 1985; 38, 709–721.
93. Gibson AT, Segal MB. A study of the routes by which protein passes from the pericardial cavity to the blood in rabbits. *J. Physiol.* 1978b; 280, 423–433.

94. Hutchin P, Nino HV, Suberman R. Electrolyte and acid-base composition of pericardial fluid in man. *Archives of surgery*. 1971; 102(1):28–30.
95. Miyazaki T, Pride HP, Zipes DP. Prostaglandins in the pericardial fluid modulate neural regulation of cardiac electrophysiological properties. *Circ Res* 1990;66(1):163-75.
96. Kabbani SS, Le Winter M. Pericardial disease. Crawford MH, Di MarcoJP. *Cardiology*. London: Mosby International; 2001. p.5.15.1-8.
97. Pankuweit S, Ristić AD, Seferović PM, Maisch B. Bacterial pericarditis: diagnosis and management. *Am J Cardiovasc Drugs* 2005;5(2): 103-12.
98. Baue AE, Blakemore WS. The pericardium. *The Annals of thoracic surgery*. 1972; 14(1):81–106.
99. Rubin L, Hudson P. Epicardial versus parietal pericardial defibrillation, *The American Journal of Emergency Medicine*, Volume 3, Issue 2, March 1985, P: 160-164.
100. Ömeroğlu SN, Ömeroğlu A, Ardal H. Epicardial Mesothelial Cyst Located Over Left Anterior Descending Artery, *Texas Heart Institute Journal*. 2004; 31:313-315.
101. Cinca J, Rodriguez-Sinovas A. Cardiovascular reflex responses induced by epicardial chemoreceptor stimulation. *Cardiovasc. Res*. 2000,45,163–171.
102. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Professional Edition. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2009. p. 581-3.
103. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol*. 1986; 57(6):450–8.
104. Horkay F, Laine M, Szokodi I, Leppaluoto J, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Human pericardial fluid contains the highest amount of endothelin-1 of all mammalian biologic fluids thus far tested. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1995; 26 Suppl 3:S502–4.
105. Fazekas L, Horkay F, Kekesi V, Huszar E, Barat E, Fazekas R. Enhanced accumulation of pericardial fluid adenosine and inosine in patients with coronary artery disease. *Life Sci*. 1999; 65 (10):1005–12.
106. Gomes RA, Teodoro LG, Lopes IC, Bersanetti PA, Carmona AK, Hial V. Angiotensin-converting enzyme in pericardial fluid: comparative study with serum activity. *Arq Bras Cardiol*. 2008; 91(3):156– 61, 72–8.
107. Angel L, Ferná'ndez A, Jose' B., Garc'ia-Bengocheaa, Julia'n A, Jose' R, Gonza'lez J. Biochemical markers of myocardial injury in the pericardial fluid of patients undergoing heart surgery. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 7. 2008;373–377.

108. Troughton RW, Asher CR, Klein AL. Pericarditis. *Lancet* 2004; 363:717-27.
109. Fujita M, Komeda M, Hasegawa K, Kihara Y, Nohara R, Sasayama S. Pericardial fluid
110. Spodick DH. Physiology of the normal pericardium: Functions of the pericardium. *The pericardium. A Comprehensive Textbook*. New York. Marcel Decker. 1997.p.15-26.
111. Stewart RH, Rohn A, Allen SJ, Laine GA. Basic determinants of epicardial transudation. *Am. J. Physiol.* 1997;273, 1408–1414.
112. Yuan Z, Boulanger B, Flessner M, Johnston M. Relationship between pericardial pressure and lymphatic pericardial fluid transport in sheep. *Microvasc. Res.* 2000;60, 28–36.
113. Shabetai R. *The Pericardium (Developments in Cardiovascular Medicine)*, Boston, MA: Kluwer Academic Publishers. Simionescu D, Simionescu A, Deac R. (1993). Mapping of glutaraldehyde- treated bovine pericardium and tissue selection for bioprosthetic heart valves. *J. Biomed. Mater. Res.* 2003;27, 697–704.
114. Spodick DH: Pericardial diseases. Braunwald E, Zipes DP, Libby P. *Heart Disease*. Philadelphia, WB Saunders, 2001;1838-48.
115. Horkay F, Szokodi I, Selmei L, Merkely B, Kekesi V, Vecsey T. Presence of immunoreactive endothelin-1 and atrial natriuretic peptide in human pericardial fluid. *Life sciences.* 1998; 62(3):267–74.
116. Namiki A, Kubota T, Fukazawa M, Ishikawa M, Moroi M, Aikawa J. Endothelin-1 concentrations in pericardial fluid are more elevated in patients with ischemic heart disease than in patients with nonischemic heart disease. *Japanese heart journal.* 2003; 44(5):633–44.
117. Shah AM, MacCarthy PA. Paracrine and autocrine effects of nitric oxide on myocardial function. *Pharmacol Ther.* 2000; 86(1):49–86.
118. Shabetai R. The effects of pericardial effusion on respiratory variations in hemodynamic and ventricular function. *J Am Coll Cardiol* 1991; 17:249-250.
119. Malouf JF, Alam S, Gharzeddine W, Stefadouros MA. The role of anticoagulation in the development of pericardial effusion and late tamponade after cardiac surgery. *Eur Heart J* 1993; 14:1451-1457.
120. Adler Y, Finkelstein Y, Guindo J. Colchicine treatment for recurrent pericarditis: A decade of experience. *Circulation* 1998; 97(21):2183-2185.

121. Okum EA, DeAnda AJr. Pericardial disease. In: Yuh DD, Vricella LA, Baumgartner WA. The Johns Hopkins Manual of Cardiothoracic Surgery. Baltimore: The McGraw-Hill Companies, Inc, 2007:1049-1056.
122. Spodick D. Macrophysiology, microphysiology, and anatomy of the pericardium: A synopsis. *Am Heart J* 1992; 124:1046-1051.
123. Ziskind AA, Palacios IF. Percutaneous balloon pericardiotomy for patients with pericardial effusion and tamponade. In Topol EJ (ed). *Textbook of Interventional Cardiology*, 3rd ed., New York: Saunders, 1999: 869-877.
124. Spodick DH. Acute cardiac tamponade. *N Engl J Med* 2003;349:684-90.
125. Türk Kardiyol Dern Arş 2004; 32: 581-590)3,36.
126. Landau C1, Jacobs AK, Haudenschild CC. Intrapericardial basic fibroblast growth factor induces myocardial angiogenesis in a rabbit model of chronic ischemia. *Am Heart J*. 1995; May;129(5):924-31.
127. Laham RJ, Rezaee M, Post M, Novicki D, Sellke FW, Pearlman JD, et al. Intrapericardial Delivery of Fibroblast Growth Factor-2 Induces Neovascularization in a Porcine Model of Chronic Myocardial Ischemia. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2000; 292 (2) 795-802;
128. Laham RJ, Rezaee M, Post M, Xu X, Sellke FW. Intrapericardial administration of basic fibroblast growth factor: myocardial and tissue distribution and comparison with intracoronary and intravenous administration. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2003 Mar;58(3):375-81.
129. di Giovine FS, Duff GW. Interleukin 1: the first interleukin. *Immunology Today*. 1990; 11 (1): 13–20.
130. Schindler R, Dinarello CA. Interleukin 1. In Habenicht A (ed.). *Growth Factors, Differentiation Factors, and Cytokines*. Berlin, Heidelberg: Springer. 1990 pp. 85–102.
131. Brocker C, Thompson D, Matsumoto A, Nebert DW, Vasiliou V. Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. *Human Genomics*. 2010; 5 (1): 30–55.
132. Ballak DB, Stienstra R, Tack CJ, Dinarello CA, van Diepen JA. IL-1 family members in the pathogenesis and treatment of metabolic disease: Focus on adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Cytokine* 2015; 75(2): 280-290.
133. Özgür MY, Buğdaycı G. IL-1 Family and Its Related Diseases. *Abant Medical Journal*. Review 2019; 8: 1.

134. Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreiter ER, McKenzie AN, Lee RT. IL33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J Clin Invest.*2007;117:1538–1549.
135. Chiara C. Inflammation in cardiac disease: focus on Interleukin-33/ST2 pathway. *Inflammation and Cell Signaling.* 2014;1:e149.
136. Ashley MM. Role of IL-33 in inflammation and disease. *Miller Journal of Inflammation*, 2011;8:22.
137. Onda H, Kasuya H, Takakura K, Hori T, Imaizumi T, Takeuchi T, et al. Identification of genes differentially expressed in canine vasospastic cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage, *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999; 19:1279-1288.
138. Baekkevold ES, Roussigne M, Yamanaka T, Johansen FE, Jahnsen FL, Amalric F, et al. Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. *Am J Pathol* 2003; 163:69-79.
139. Jinyu Z, Wayne C. Effects of Interleukin-33 on Cardiac Fibroblast Gene Expression and Activity, *Cytokine* 2012 June 58(3): 368–379.
140. Deniz F. Behçet Hastalığında Serum Il-33 Düzeyi ve Il-33 Gen Polimorfizmleri, *Uzmanlık Tezi*, Elazığ. 2011.
141. IL33 Gene (Protein Coding), Interleukin 33. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL33#proteins>. Erişim tarihi: 10 Nisan 2021.
142. Chackerian AA, Oldham ER, Murphy EE, Schmitz J, Pflanz S, Kastelein RA. IL-1 receptor accessory protein and ST2 comprise the IL-33 receptor complex. *J Immunol* 2007;179:2551-2555.
143. Carriere V, Roussel L, Ortega N, Lacorre DA, Americh L, Aguilar L, et al. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2007;104, 282–287.
144. Haraldsen G, Balogh J, Pollheimer J, Sponheim J, Kuchler A.M. Interleukin-33 - cytokine of dual function or novel alarmin. *Trends Immunol* 2009; 30, 227–233.
145. Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS, Doguc D. The significance of serum nitric oxide levels in Behcet's disease and recurrent aphthous stomatitis. *J Dermatol* 2004;31: 983-988.
146. Kakkar R, Lee RT. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7: 827–840.
147. Demyanets S, Kaun C, Pentz R, Krychtiuk KA, Rauscher S, Pfaffenberger S. Components of the interleukin-33/ST2 system are differentially expressed and regulated

in human cardiac cells and in cells of the cardiac vasculature. *J Mol Cell Cardiol* 2012;60:16–26.

148. Weinberg EO, Shimp M, De Keulenaer GW, Mac Gillivray C, Tominaga S, Solomon SD. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation* 2002;106:2961.

149. Zhu J, Carver W. Effects of interleukin-33 on cardiac fibroblast gene expression and activity. *Cytokine* 2012;58:368–379.

150. Janika V, Claudia B, Ariana F, Thomas T. Regulatory RNAs and paracrine networks in the heart, European Society of Cardiology. *Cardiovascular Research* 2014;102, 290–301.

151. Gene Table, IL1RL1 interleukin 1 receptor like 1 (Homo sapiens (human)). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9173?report=gene_table. Erişim Tarihi. 10.05.2018.

152. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E. IL33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005;23: 479–490.

153. Liu X, Hammel M, He Y, Tainer JA, Jeng US, Zhang L. Structural insights into the interaction of IL33 with its receptors. *Proc Natl Acad Sci* 2013;110:14918–23.

154. Kakkar R, Hei H, Dobner S, Lee R.T. Interleukin 33 as a mechanically responsive cytokine secreted by living cells. *J. Biol. Chem* 2012; 287, 6941–6948.

155. Dieplinger B, Mueller T. Soluble ST2 in heart failure. *Clinica Chimica Acta* 2015;443, 57–70.

156. Seki K, Sanada S, Kudinova AY. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling. *Circ Heart Fail* 2009;2:684–91.

157. Matteo Ciccone M, Cortese F, Gesualdo M, Riccardi R, Di Nunzio D, Moncelli M, Iacoviello M and Scicchitano P. A Novel Cardiac Bio-Marker: ST2: *Molecules* 2013;18, 15314-15328.

158. Domingo A, Figal P, MD James L, Januzzi MD. The Biology of ST2: The International ST2 Consensus Panel. *AmJ Cardiol* 2015;115[suppl]:3Be7B.

159. Hamad AS, Kazunori S, Katsumi M, Takuma Y, Eiryu S, Tomoyuki S, et al. Elevated Circulating Levels of Inflammatory Markers in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Int J Vasc Med* 2015;2015:805375.

160. Wei-Yu C, Jaewoo H, Joseph G, Rahul K, Richard TL. Myocardial pressure overload induces systemic inflammation through endothelial cell IL-33. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015 June 9;112(23):7249-54
161. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis, *Nat Immunol* 2011;12:204-212.
162. Ashlin TG, Kwan APL, Ramji DP. Regulation of ADAMTS-1, -4 and -5 expression in human macrophages: Differential regulation by key cytokines implicated in atherosclerosis and novel synergism between TL1A and IL-17. *Cytokine* 2013;64:234–42.
163. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury, *N Engl J Med* 2007;357: 1121–1135.
164. Wasserman A, Ben-Shoshan J, Entin-Meer M, Maysel Auslender S, Guzner Gur H, Keren G. Interleukin-33 augments Treg cell levels: a flaw mechanism in atherosclerosis, *The Israel Medical Association Journal* 2012;14(10):620–623.
165. Tao R, Qizhu T. ‘IL-33 Attenuates Anoxia/Reoxygenation-Induced Cardiomyocyte Apoptosis by Inhibition of PKC β /JNK Pathway, *Plosone* 2013 February 1; 8(2): e56089.
166. Weinberg EO. ST2 protein in heart disease: From discovery to mechanisms and prognostic value. *Biomark Med* 2009; 3:495–511.
167. Chen LQ, de Lemos JA, Das SR, Ayers CR, Rohatgi A. Soluble ST2 is associated with all-cause and cardiovascular mortality in a population-based cohort: The Dallas Heart Study. *Clin. Chem* 2013; 59, 536–546.
168. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis a cross-sectional study, *Lancet* 2003;361:827-33.
169. Stenvinkel P, Wang K, Qureshi AR. Low fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: impact of variations in the gene encoding fetuin, *Kidney Int* 2005. 67:2383-92.
170. Tütüncü A, Kuştarıcı T, Özbek C, Aydınlar A, Yesilbursa D. Fetuin-A Düzeylerinin Aort Darlığı Üzerine Etkisi, *J Clin Anal Med* 2016;7(4): 445-8.
171. Mutluay R, Değer SM, Derici Ü. Vascular calcification in chronic renal failure and calcification inhibitors, *Türkiye Klinikleri, J Med Sci* 2010;30(1):323-32.
172. Yang F, Chen ZI, Bergeron JM. Human alpha 2-HS glycoprotein/ bovine fetuin homologue in mice: identification and developmental regulation of the gene, *Biochim. Biophys Acta* 1992;1130:149-56.

173. Kalabay L, Cseh K, Jakab L. Diagnostic value of the determination of serum alpha2-HS-glycoprotein, *Orv Hetil* 1992;133:1553-4;9-60.
174. Mori K, Emoto M, Inaba M. Fetuin-A: a multifunctional protein, *Recent Pat Endocr Metab, Immune Drug Discov* 2011;5(2):124-46.
175. Ketteler M. Fetuin-A and extraosseous calcification in uremia, *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005;14:337-42.
176. Hermans MMH, Brandenburg V, Ketteler M. Association of serum fetuin-A levels with mortality in dialysis patients, *Kidney Int* 2005;67:2295-304.
177. Merx MW, Schafer C, Westenfeld R. Myocardial stiffness, cardiac remodeling, and diastolic dysfunction in calcification-prone fetuin-A-deficient mice, *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3357-64.
178. Lim P, Collet JP, Moutereau S. Fetuin-A is an independent predictor of death after ST-elevation myocardial infarction, *Clin Chem* 2007;53:1835-40.
179. Akavia UD, Benayahu D. Meta-analysis and profiling of cardiac expression modules, *Physiol Genomics* 2008;35:305-15.
180. Ix JH, Chertow GM, Shlipak MG. Association of fetuin-A with mitral annular calcification and aortic stenosis among persons with coronary heart disease, *Circulation* 2007;115:2533-9.
181. Ashlin TG, Kwan APL, Ramji DP. Regulation of ADAMTS-1, -4 and -5 expression in human macrophages: Differential regulation by key cytokines implicated in atherosclerosis and novel synergism between TL1A and IL-17. *Cytokine* 2013;64:234–42.
182. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury, *N Engl J Med* 2007;357:1121–1135.
183. Weikert C, Stefan N, Schulze MB. Plasma fetuin-a levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke, *Circulation* 2008;118:2555-62.
184. Mori K, Ikari Y, Jono S. Fetuin-A is associated with calcified coronary artery disease, *Coron Artery Dis* 2010;21:281-5.
185. Westenfeld R, Jahnke-Dechent W, Ketteler M. Vascular calcification and fetuin-A deficiency in chronic kidney disease, *Trends Cardiovasc Med* 2007;17(4):124-8.
186. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnen AH, Böhm R. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study, *Lancet* 2003;361(9360):827- 33.

187. Rittig K, Thamer C, Haupt A, Machann J, Peter A, Balletshofer B. High plasma fetuin-A is associated with increased carotid intima-media thickness in a middle-aged population, *Atherosclerosis* 2009;207(2):341-2.
188. Ombrellino M, Wang H, Yang H, Zhang M, Vishnubhakat J, Frazier A. Fetuin A negative acute phase protein, attenuates TNF synthesis and the innate inflammatory response to carrageenan, *Shock* 2001;15(3): 181-5.
189. Kelly RA, Smith TW. Cytokines and cardiac contractile function. *Circulation* 1997;95:778-81.
190. Ueno T, Toi M, Biven K, Bando H, Ogawa T, Linder S. Measurement of an apoptotic product in the sera of breast cancer patient, *Eur J Cancer* 2003;39:769-74.
191. Qian L, Zhang L, Wu L, Zhang J, Fang Q, Hou X, et al. Elevated Serum Level of Cytokeratin 18 M65ED Is an Independent Indicator of Cardiometabolic Disorders. *J Diabetes Res.* 2020; 2020: 5198359.
192. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells, *Cell* 1982;31:11-24.
193. Rylander L, Ziegler E, Bergman T. Molecular characterization of a tissue polypeptide-specific-antigen epitope and its relationship to human cytokeratin 18, *Eur J Biochem* 1996;241:309-14.
194. Ku NO, Omary MB. Effect of mutation and phosphorylation of type I keratins on their caspase-mediated degradation, *J Biol Chem* 2001;276:26792-8.
195. Güleş Ö, Eren Ü. Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler, *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008;2: 73-8.
196. Cheng Y, Qin K, Huang N, Zhou Z, Xiong H, Zhao J, et al. Cytokeratin 18 regulates the transcription and alternative splicing of apoptotic-related genes and pathways in HeLa cells, *Oncol Rep* 2019 Jul; 42(1): 301–312.
197. Kramer G, Erdal H, Mertens HJ. Differentiation between cell death modes using measurements of different soluble forms of extracellular cytokeratin 18. *Cancer Res*, 2004;64:1751-2.
198. Leers MP, Kolgen W, Bjorklund V. Immunocytochemical detection and mapping of a cytokeratin 18 neo-epitope exposed during early apoptosis, *J Pathol* 1999;187:567–72.
199. Pirinççi F. Açıklanamayan Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olgularında M30, M65 Düzeylerinin Sitokin ve Oksidatif Stres Markırları İle Korelasyonu, *Uzmanlık Tezi*, 2014 Şanlıurfa.

200. Schutte B, Henfling M, Kolgen W. Keratin 8/18 breakdown and reorganization during apoptosis, *Exp Cell Res* 2004;297:11–26.
201. Ueno T, Toi M, Biven K, Bando H, Ogawa T, Linder S. Measurement of an apoptotic product in the sera of breast cancer patient, *Eur J Cancer* 2003;39:769-74.
202. M30 Apoptosense ELISA. Product no. 10011. <http://www.peviva.se/m30-apoptosense-m65elisa.aspx>. Son erişim tarihi: 10 Mart 2020.
203. Liu CL, Shen DL, Zhu K, Tang JN, Hai QM, Zhang JY. Levels of interleukin-33 and interleukin-6 in patients with acute coronary syndrome or stable angina. *Clin Invest Med* 2013;36:E234–2E241.
204. Liu CL, Shen DL, Zhu K, Tang JN, Wang XF, Zhang L, et al. Characterization of interleukin-33 and matrix metalloproteinase-28 in serum and their association with disease severity in patients with coronary heart disease. *Coron Artery Dis* 2014;25: 498–504.
205. Qian L, Yuanshao L, Wensi H, Yulei Z, Xiaoli C, Brian W, et al. Serum IL-33 is a novel diagnostic and prognostic biomarker in acute ischemic stroke. *Aging Dis* 2016;7: 614–622.
206. Demyanets S, Konya V, Kastl SP, Kaun C, Rauscher S, Niessner A, et al. Interleukin-33 induces expression of adhesion molecules and inflammatory activation in human endothelial cells and in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:2080–2089.
207. Shan S, Li Y, Wang J, Lv Z, Yi D, Huang Q, et al. Nasal administration of interleukin-33 induces airways angiogenesis and expression of multiple angiogenic factors in a murine asthma surrogate. *Immunology* 2016;148:83–91.
208. Göç Ö. Kardiyak Cerrahi Geçiren Hastaların Perikardiyal Sıvısında İnterlökin 33 (IL33) Seviyesinin Araştırılması. Yüksek lisans tezi. 2017. Şanlıurfa.
209. Jafarinia M, Firuzsalari FG, Zaringol M, Khalili M. Serum levels of interleukin (IL)-33 in patients with ischemic heart disease. *MOJ Immunol.* 2018;6(2):29–32.
210. Ozcan L, Tabas I. Role of endoplasmic reticulum stress in metabolic disease and other disorders, *Annual Review of Medicine* 2012;63 (1):317–328.
211. Twayana KS, Ramanan, P. Eukaryotic cell survival mechanisms: disease relevance and therapeutic intervention, *Life Sciences* 2018;205:73–90.
212. Yang H, Sun L, Sheng L, Wang X, Xu H, Du S, et al. Serum cytokeratin-18 is a non-invasive biomarker for evaluating disease severity in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Transl Cancer Res* 2017;6(6):1345-1350.

213. Shalby MM, Ibrahim SA, Behairy OG, Behiry EG. Diagnostic value of serum cytokeratin-18 in children with chronic liver disease. *Journal of Paediatrics and Child Health* 2020 (56);41-6.



EK 3. Orijinallik Raporu ve Beyan Formu 2

Bu belge güvenli elektronik imza ile onaylanmıştır.

perfusion

ORJİNALLİK RAPORU

%13 BENZERLİK ENDEKSİ

%7 İNTERNET KAYNAKLARI

%3 YAYINLAR

%8 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%5
2	www.bayrakol.org İnternet Kaynağı	%1
3	old.tkd.org.tr İnternet Kaynağı	%1
4	Submitted to Cumhuriyet University Öğrenci Ödevi	%1
5	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
7	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
8	Submitted to Kahramanmaraş Sütçü İmam University Öğrenci Ödevi	<%1
9	Xianli Yuan, Xiao Peng, Yan Li, Mingcai Li. "Role of IL-38 and Its Related Cytokines in	<%1

Evrak Tarih ve Sayısı: 11.08.2021-44875