



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**ATEROSKLEROTİK KORONER ARTER
HASTALIĞINDA SİRKÜLASYONDAKİ SALUSİN- α ,
SALUSİN- β ve HEREGULİN- β 1 DÜZEYLERİNİN ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

UZM. ÖĞR. DR. ABDULHAKİM ARKAN

DANIŞMAN: PROF. DR. HAFİZE UZUN

İSTANBUL - 2017



Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Proje No: 55665

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde emekleri olan Anabilim Dalı başkanımız ve tez danışmanım değerli hocam sayın Prof. Dr. Hafize Uzun'a, Fikret Biyal Merkez Laboratuvarı yöneticisi sayın Prof. Dr. Dildar Konukoğlu'na, Fikret Biyal Merkez Laboratuvarı yönetici yardımcısı ve Acil Biyokimya Laboratuvarı yöneticisi sayın Prof. Dr. Murat Bolayırli'ya, sayın Prof. Dr. Remise Gelişgen'e ve Anabilim dalımızın diğer öğretim üyelerine;

Tezimin klinik kısmında yardımlarını esirgemeyen Kardiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Zeki Öngen'e, Prof. Dr. Bilgehan Karadağ'a, Doç. Dr. Barış İkitimur'a ve Doç. Dr. Burçak Kılıçkıran Avcı'ya ve koroner anjiyografi ünitesinin diğer çalışanlarına;

Asistanlık hayatım süresince beraber olduğum için kendimi şanslı hissettiğim, zorlukları beraber göğüslediğimiz değerli asistan arkadaşlarıma;

Anabilim dalımızın değerli sekreterleri Tülay Eken ve Gülsevim Kuru'ya;

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Fikret Biyal Merkez Laboratuvarı ve Acil Biyokimya Laboratuvarı'nın diğer çalışanlarına

ve hayatım boyunca desteklerini benden hiç esirgemeyen aileme

Sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
KISALTMALAR	viii
ÖZET	xi
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kardiyovasküler hastalıklar (KVH)	3
2.2. Koroner arter hastalığı.....	3
2.3. Ateroskleroz	3
2.3.1. Tanımı	3
2.3.2. Normal arter duvarı.....	4
2.3.3. Aterogenezde rol alan hücreler	5
2.3.4. Aterosklerozun patogenezi	6
2.3.5. Aterosklerozun histopatolojik sınıflaması	9
2.3.6. Aterosklerotik kalp hastalıkları için risk faktörleri.....	11
2.3.7. İnflamasyon ve ateroskleroz	15
2.4. Yüksek duyarlılıklı CRP (hsCRP).....	17
2.5. Salusinler.....	20
2.6. Heregulin-β1	26
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
3.1. Gereçler	29

3.2.	Hasta seçimi ve grupların oluşturulması	29
3.3.	Gensini skoru ve koroner arter hastalığının yaygınlığı	30
3.4.	Kan örneklerinin alınması ve analizi.....	32
3.4.1.	Salusin- α 'nın analizi	32
3.4.2.	Salusin- β 'nin analizi	33
3.4.3.	Heregulin- β 1'in analizi	35
3.4.4.	HsCRP'nin analizi	37
3.5.	İstatistiksel yöntemler	38
4.	BULGULAR.....	39
4.1.	Başlangıç klinik ve laboratuvar değerleri	39
4.2.	Serum salusin- α , salusin- β , heregulin- β 1, hsCRP düzeyleri ve Gensini skoru	41
4.3.	Korelasyon analizi.....	47
4.4.	ROC eğrileri.....	47
5.	TARTIŞMA.....	49
6.	KAYNAKLAR	58

ŞEKİLLER

Şekil 1: Aterosklerozun patogenezi	7
Şekil 2: Aterosklerozda sitokinlerin rolü.	18
Şekil 3: Salusin- α 'nın aminoasit dizilimi	21
Şekil 4: Salusin- β 'nın aminoasit dizilimi.....	21
Şekil 5: Salusinlerin ACAT-1 üzerinden köpük hücre oluşumuna katkısı ve düz kas hücreleri üzerine etkileri	23
Şekil 6: Salusinlerin vasküler inflamasyona ve ateroskleroza etkisi	24
Şekil 7: Gensini darlık yüzdesi ve çarpım katsayısı	31
Şekil 8: Gensini tutulan damar, lezyonun yeri ve çarpım katsayısı.....	31
Şekil 9: Salusin- α standart eğrisi	33
Şekil 10: Salusin- β standart eğrisi	35
Şekil 11: Heregulin- β 1 standart eğrisi	36
Şekil 12: hsCRP standart eğrisi	38
Şekil 13: Serum hsCRP.....	42
Şekil 14: Serum salusin- β	42
Şekil 15: Serum heregulin- β 1	43
Şekil 16: Serum salusin- α	44
Şekil 17: Gensini skoru.....	44
Şekil 18: Serum hsCRP.....	45
Şekil 19: Serum salusin- β	45
Şekil 20: Serum heregulin- β 1	46
Şekil 21: Serum salusin- α	46
Şekil 22: Salusin- α ve salusin- β 'nın korelasyon grafiği	47
Şekil 23: Salusin- β ve hsCRP için ROC eğrisi.....	48

TABLÖLAR

Tablo 1: Heregulin- β 1'in makrofaj ve vasküler hücrelerdeki etkileri	28
Tablo2: Hastaların başlangıç klinik özellikleri ve laboratuvar değerleri.....	40
Tablo 3: Serum salusin- α , salusin- β , heregulin- β 1 düzeyleri ve Gensini skoru	41
Tablo 4: Seçilen eşikdeğerlerinde salusin- β ve hsCRP için sensitivite, spesifite, PPD ve NPD yüzdeleri.....	48



KISALTMALAR

ABCA1	: ATP bağlayıcı kaset transporter A1
ACAT-1	: Açıl-KoA açıl transferaz 1
ADAM-17	: A disintegrin and metalloprotease 17
AHA	: Amerikan Kalp Birliği
AKS	: Akut koroner sendrom
ARIC	: Atherosclerosis Risk in Communities
ApoE(-/-)	: ApoE knockout
CD36	: Cluster of differentiation 36
COX-2	: Siklooksijenaz 2
CPHS	: Caerphilly Prospective Heart Study
CRP	: C reaktif protein
DM	: Diabetes Mellitus
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
GM-CSF	: Granülosit monosit koloni stimulan faktör
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HHS	: Helsinki Heart Study
HRP	: Horseradish peroksidaz
HsCRP	: Yüksek duyarlıklı C reaktif protein
HUVEC	: İnsan umbilikal ven endotel hücresi
ICAM-1	: İnterselüler adezyon molekülü 1
IFN- γ	: İnterferon γ
I κ B- α	: İnhibitiör κ B- α
IL-2	: İnterlökin 2
IL-6	: İnterlökin 6
IRMA	: İmmünoradiometrik assay

JNK	: cJun N-terminal kinaz
KAG	: Koroner anjiyografi
KAH	: Koroner arter hastalığı
KVH	: Kardiyovasküler hastalıklar
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LDLR(-/-)	: LDL reseptör knockout
LOX-1	: Lektin benzeri okside LDL reseptörü 1
LPS	: Lipopolisakkarid
MAPK	: Mitogen-activated protein kinaz
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein 1
M-CSF	: Makrofaj koloni stimulan faktör
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MONICA	: Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease
MRFIT	: Multiple Risk Factor Intervention Trial
NF- κ B	: Nükleer faktör κ B
NO	: Nitrik oksit
NOX-2	: NADPH oksidaz 2
OxLDL	: Okside LDL
PAI-1	: Plazminojen aktivator inhibitörü 1
PDGF	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
PECAM-1	: Platelet endotelyal adezyon molekülü 1
PPAR- γ	: Peroksizom proliferatif aktive faktör γ
ROC	: Receiver operating characteristic
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SR-A	: Çöpçü reseptör A
TGF- β 1	: Transforming growth faktör β 1

TLR	: Toll like reseptör
TMB	: Tetrametilbenzidin
TNF- α	: Tümör nekrotizan faktör α
TOR2A	: Torsin family 2A
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü 1
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi
VSMC	: Vasküler düz kas hücresi
WHS	: Women's Health Study

ÖZET

Amaç: Aterosklerotik koroner arter hastalığı (KAH) dünya genelinde en sık mortalite nedenidir. Çalışmamızda, dolaşımdaki salusin- α , salusin- β , heregulin- β 1 ve yüksek duyarlıklı C-reaktif proteinin (hsCRP) düzeyleri ile KAH'nın şiddeti arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya koroner arter anjiyografisi yapılan 168 gönüllü alındı. Anjiyografisi normal olan 55 kişi ile kontrol grubu oluşturuldu. Koroner arter darlığı %50'nin altında olan 35 gönüllü 'non-kritik darlık'; bir arterinde %50'nin üzerinde darlık olan 37 kişi 'tek damar' ve birden fazla arterinde %50'nin üzerinde darlık saptanan 41 gönüllü 'çok damar' grubunu oluşturdu. Ayrıca hasta gruplarındaki 113 kişi ile de KAH grubu oluşturuldu. Serum salusin- α , salusin- β , heregulin- β 1 ve hsCRP düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü.

Bulgular: Salusin- α düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi. Salusin- β ve hsCRP düzeyleri kontrol grubunda, diğer gruplara ve KAH grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Diğer grupların ikili karşılaştırmalarında heregulin- β 1 hariç anlamlı farklılık saptanmadı. 'Non-kritik darlık' ve 'çok damar' gruplarında heregulin- β 1 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu. 'Tek damar' grubunun heregulin- β 1 düzeyleri ise kontrol grubu, 'non-kritik darlık' ve 'çok damar' gruplarından anlamlı yüksek bulundu. Salusin- α ile salusin- β arasında orta derecede, salusin- β ile hsCRP ve salusin- α ile heregulin- β 1 arasında ise zayıf pozitif korelasyon saptandı.

Sonuç: Salusin- α düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermese de, salusin- β ve heregulin- β 1 ile ilişkisi bu peptidlerin aterosklerotik KAH için biyobelirteç olabileceklerini ve aterosklerotik hastalıklar için terapötik yaklaşımlar sunabileceklerini düşündürmektedir. Gelecekte KAH'ta hsCRP'nin yanında salusin- α , salusin- β ve heregulin- β 1'in de rutin laboratuvarların analiz kapsamına girebileceği görüşündeyiz.

SUMMARY

Purpose: Atherosclerotic coronary artery disease (CAD) is the most frequent mortality cause all around the world. In this study, the relationship between the severity of CAD and circulating levels of salusin- α , salusin- β and heregulin- β 1 has been investigated. In addition, the relationship with these peptides and high sensitive C-reactive protein (hsCRP) has been investigated.

Material and Methods: 168 volunteers undergone coronary angiography has been included in the study. 55 volunteers who had normal coronary angiography images has formed the control group. 35 volunteers who had coronary artery occlusion under 50% has been included in 'non-critical occlusion' group. 37 volunteers who had more than 50% occlusion in only one single artery has been included in 'single artery occlusion' group and 41 volunteers who had more than 50% occlusion in multiple arteries had been included in the 'multiple artery occlusion'. In addition, 113 volunteers from the last 3 groups has been included to CAD group. Salusin- α , salusin- β , heregulin- β 1 and hsCRP levels has been studied with ELISA method.

Findings: There was no statistically significant difference between serum salusin- α levels between groups. Serum salusin- β ve hsCRP levels were significantly lower in control group compared to other groups and CAD group. There was no statistically significant difference in other peptide levels in reciprocal comparison of other groups other than heregulin- β 1 levels. Heregulin- β 1 levels were significantly lower in 'non-critical occlusion' and 'multiple artery occlusion' groups compared to control group. Heregulin- β 1 levels in 'single artery occlusion' group were significantly higher than control, 'non-critical occlusion' and 'multiple artery occlusion' groups. In the meantime, there was moderate positive correlation between salusin- α and salusin- β levels, whereas weak correlation was present between salusin- β and hsCRP and salusin- α and heregulin- β 1 levels.

Conclusion: Salusin- α levels does not indicate any significant differences between any groups in our study however the relationship of salusin- α with salusin- β and heregulin- β 1 levels drives to cogitate that these peptides can be used as biomarkers and therapeutic approaches in cardiovascular diseases. We think that these peptides will be used in laboratories routinely in future in addition to hsCRP for CAD.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp damar hastalıkları dünya genelinde en sık mortalite nedenidir. Kalp damar hastalıklarının çoğunun temelinde ateroskleroza bağlı komplikasyonlar yatar. Ateroskleroz, arterlerde endotel hasarı, intima tabakasında kolesterol birikimi, makrofaj, nötrofil gibi inflamatuvar hücrelerin intima tabakasına göçü ve inflamasyonu ağırlaştırması, vasküler düz kas hücrelerinin de intima tabakasına göç ederek proliferasyonu ve kollajen sentezlemesi ile karakterize patolojik bir durumdur. İleri yaş, erkek cinsiyet, ailede erken yaşta ateroskleroz, diabetes mellitus, hipertansiyon, sigara, hiperkolesterolemi, obezite aterosklerozun başlıca risk faktörleridir. Ancak bu risk faktörleri olmadan da ateroskleroz gelişebilir. Homosistein, hsCRP, lipoprotein(a), klamidy enfeksiyonu gibi etkenlerinde ateroskleroz ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bunların dışında halen çok sayıda molekül üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

Aterosklerozun başlama ve ilerlemesinde inflamasyon merkezi konumdadır. CRP inflamasyonun nonspesifik belirteçidir. Kan CRP düzeyleri inflamatuvar olaylarda ve travmalarda hızla yükselir. Sağlıklı kişilerde normal kabul edilen CRP değerleri daha hassas bir şekilde hsCRP olarak ölçülebilir. Yapılan çalışmalar hsCRP yüksekliğinin aterosklerozdaki subklinik inflamasyonun bir göstergesi olduğunu ve ateroskleroz için bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir.

Salusin- α , ve salusin- β , prosalusin adlı öncül proteinden sentezlenen, hemodinamik ve mitojenik aktiviteleri olan, 28 ve 20 amino asit dizisinden oluşan peptitlerdir. Salusinler kan damarları, merkezi sinir sistemi ve böbrekler de dahil olmak üzere insan ve fare dokularında bol miktarda ekspres ve sentez edilirler. Salusinler ayrıca insan plazma ve idrarında da tespit edilebilmektedirler. Aterosklerozun patogeneğinde yer alan endotel, damar düz kas ve makrofaj hücreleri salusinlerle yakından ilişkilidirler. Salusinlerin ateroskleroz ve ilişkili hastalıklarda rolü olduğuna dair çeşitli çalışmalar mevcuttur. Salusinlerin vasküler inflamasyon, damar düz kas proliferasyonu, makrofaj köpük hücresi oluşumu, lipid dengesi ve hipertansiyona üzerine önemli etkileri vardır. Salusinlerin spesifik reseptörleri henüz tanımlanamamıştır.

Heregulin- β 1, neuregulin gen ailesinden bir büyüme faktörü olup, erbB3 ve erbB4 reseptörleri için bir ligandır. Neuregulinlerin büyüme, diferansiyasyon ve neoangiogenezi rolleri vardır. Meme epitel hücreleri, glial hücreler, kardiyomyositler ve endotel hücrelerinde tespit edilmişlerdir.

Aterosklerotik hayvan modellerinde (ApoE knockout fare) salusin- α ve heregulin- β 1 infüzyonu ile ateroskleroz oluşumu ve damar duvarında makrofaj birikiminde azalma gözlenirken; salusin- β infüzyonu ile ateroskleroz oluşumu ve makrofaj birikiminde artma saptanmıştır. Ayrıca anti-salusin- β infüzyonu ile ateroskleroz oluşumu azalmış, anti-heregulin- β 1 infüzyonu ile ateroskleroz oluşumu artmıştır. Salusin- α infüzyonu total kolesterol düzeyini düşürmüş ve HDL kolesterol düzeyini yükseltmiştir. Makrofaj hücre kültürlerinde yapılan araştırmalar salusin- β 'nin aterosklerotik lezyonlarda bol miktarda bulunan köpük hücrelerinin oluşumunu arttırmış (makrofajda kolesterol esteri birikimi); salusin- α ve heregulin- β 1'in ise köpük hücre oluşumunu azalttığı belirlenmiştir.

Ateroskleroz ile bu peptidlerin ilişkisinin araştırıldığı çalışmaların sonuçlarında salusin- α ve heregulin- β 1'in antiaterojenik, salusin- β 'nin ise proaterojenik olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda, dolaşımdaki salusin- α , salusin- β ve heregulin- β 1 düzeyleri ile KAH yaygınlığı ve şiddeti arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı. Ayrıca söz konusu peptidlerle ateroskleroz için bir biyobelirteç olan hsCRP ilişkisi de araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Kardiyovasküler hastalıklar (KVH)

Kardiyovasküler hastalıklar dünya genelindeki ölümlerin en sık nedenidir. 2012 yılında dünyadaki tüm ölümlerin %31'inin KVH (17.5 milyon) nedeniyle meydana geldiği tahmin ediliyor. Bu ölümlerin tahminen 7.4 milyonu koroner kalp hastalığı ve 6.7 milyonu ise serebrovasküler hastalığa bağlıdır (1). KVH Avrupa'da tüm ölümlerin %49'undan sorumludur(2). ABD'de ise tüm ölümlerin %40'ından fazlasının sorumlusudur (3). Türkiye'de de durum farklı değildir. Türkiye İstatistik Kurumunun (TÜİK) verilerine göre kardiyovasküler hastalıklar 2009'da yüzde 40, 2013'te %39.6 ve 2014 yılında %40.4 ile tüm ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almıştır. Meydana gelen bu ölümlerin %39.6'sı iskemik kalp hastalığı, %24.7'si serebrovasküler hastalık, %18.8'i diğer kalp hastalığı ve %11.6'sı hipertansif hastalık kaynaklıdır (4). Bu durum hem bilim adamları hem de sağlık endüstrisinin, kardiyovasküler hastalıklara ilgisini artırmakta ve her gün bu hastalıkların tanısı ve tedavisine yönelik yeni gelişmeler kaydedilmektedir.

Kardiyovasküler hastalıkların büyük bir kısmı ateroskleroz kaynaklıdır. Aterosklerotik KVH'lerin üç büyük klinik şekli KAH, inme ve periferik damar hastalığıdır (5).

2.2.Koroner arter hastalığı

Koroner arter hastalığı, koroner damarlarda oluşan anatomik ve fizyopatolojik lezyonların özelliklerine göre, dinlenme halinde veya efor sırasındakoroner akımın azalması ile karakterize bir hastalıktır. Bu lezyonların oluşmasının sebebi çoğunlukla aterosklerozdur (6).

2.3.Ateroskleroz

2.3.1. Tanımı

Lipidler, fibroblastlar, makrofajlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri değişik oranlarda içeren intimal plaklar nedeniyle arterlerin esnekliğini kaybedip kalınlaşması sonucunda progresif arteriyel darlık ve tıkanmaların oluşması, arterlerin elastikiyetinin ve antitrombotik özelliklerinin bozulmasıyla karakterize kronik sistemik

inflatuvar hastalığa ateroskleroz denir (7). Koroner arterler, internal karotis arterler ve abdominal aorta aterosklerozdan en sık etkilenen arterlerdir (8).

2.3.2. Normal arter duvarı

Arter duvarı, en içte bulunan ve lümeni çevreleyen intima, düz kas hücrelerinden oluşan media ve bağ dokusu tabakası olan adventisya olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır.

2.3.2.1. İntima tabakası

En içte bulunan bu tabaka, ince bir ekstraselüler matriks katmanı ve onu örten tek katlı endotel hücrelerinden oluşur. Endotel hücreleri kanın normal akışını (antitrombotik), dolaşımdaki monosit/makrofajların damar duvarına geçişinin engellenmesini (antiadezyon/migrasyon) ve düz kas hücrelerinin fonksiyonlarının düzenlenmesini (gevşetici/büyüme karşıtı) sağlarlar. Media tabakasından internal elastik membran ile ayrılır (9, 10).

2.3.2.2. Media tabakası

Vasküler düz kas hücrelerinden oluşan media tabakasının genişliği ve içeriği arter tipine göre değişir. Media tabakası çok küçük olan arteriyollerde tek tabaka damar düz kasından oluşurken, küçük arterler daha kalın düz kas tabakasına sahiptir. Bu kaslar kasılarak damar duvarının tonusunu düzenlerler. Media tabakasındaki düz kas hücreleri dışındaki ekstraselüler matriks veya fibriller (elastin, kollajen, proteoglikan) destek yapısı olarak fonksiyon görürler. Media tabakası adventisya tabakasından eksternal elastik membran ile ayrılır (9).

2.3.2.3. Adventisya tabakası

Bağ dokusu yapısında olan bu tabaka, arter duvarının en dış kısmındadır. İç kısmı fibröz olup kollajen ve elastinden meydana gelir. Media tabakasından uzaklaştıkça, bunların yerini gevşek bağ dokusu almaktadır. Adventisya tabakası, ayrıca fibroblastlar, mast hücreleri, adipositler ve sempatik sinir uçlarını da barındırır. Media tabakasına kadar giren kan ve lenf damarları da adventisya tabakasından yer alır. Normal arterde media katmanının iç kısmı ve tüm intima avaskülerdir. Ancak, ateroskleroz durumunda, anjiyojenik faktörler intima kadar yayılan neovaskülarizasyona neden olurlar (9).

2.3.3. Aterogeneizde rol alan hücreler

2.3.3.1. Endotel hücreleri

Endotel hücreleri antikoagulan ve antiinflamatuvar özellikleri ile damar sağlığının düzenlenmesinde merkezi rol oynar. Bu özelliklerin çoğu nitrik oksit (NO) aracılığıyla olur. NO endotelde bulunan güçlü bir antiagregasyon, antiadezyon ve antimigrasyon molekülüdür. NO intima lipit girişini azaltabilir. Aterosklerozda NO salınımı azalmıştır. Ayrıca P-Selektin, interelüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonu artar. Bu moleküller inflamatuvar hücrelerin tutulup subendotelial alana alınmasını sağlarlar. Sigara, hiperlipidemi, hipertansiyon gibi faktörler endotel disfonksiyonuna yol açar. Bu durumda endotelin normal homeostatik dengesi bozulur, endotel inflamatuvar hücreler ve trombosit için daha adeziv olur, antikoagulan özelliğini kaybeder. Bu disfonksiyon statinler, anjiyotensin konverting enzim inhibitörleri gibi ajanlarla iyileştirilebilir (11).

2.3.3.2. Monosit ve makrofajlar

Monosit veya makrofajların aterosklerozun hem başlaması, hem de ilerlemesinde önemli görevleri vardır. Aterosklerozun erken döneminde arter duvarında monositler toplanmaya başlar. İntimadaki monositler, inflamasyonun önemli mediyatörleri olan makrofajlara dönüşür. Makrofajlar, lokal inflamatuvar yanıt sitokinler, serbest oksijen radikalleri, proteazlar ve kompleman faktörlerini sentezleyerek katkıda bulunur. Makrofajların modifiye düşük dansiteli lipoprotein (LDL) hücre içine almasıyla birlikte ateroskleroz için karakteristik olan köpük hücreleri meydana gelir. Ayrıca makrofajlar, matriks metalloproteinazları sentezleyerek plak yırtılmasına yol açabilirler (12).

2.3.3.3. Düz kas hücreleri

Düz kas hücreleri hem normal damar onarımı hem de ateroskleroz gibi patolojik süreçlerde rol alırlar. Stabil hücreler olup uyarıldıklarında çoğalma kapasitesine sahiptirler. Ayrıca ekstraselüler matriks için kollajen, elastin ve proteoglikan sentezleyip, büyüme faktörü ve sitokin salınımı yapabilirler. Media tabakasının ana hücresel elemanı olan düz kas hücreleri, fizyolojik ve farmakolojik uyarılarla yanıt olarak damar tonusunu düzenlerler (13).

2.3.4. Aterosklerozun patogenezi

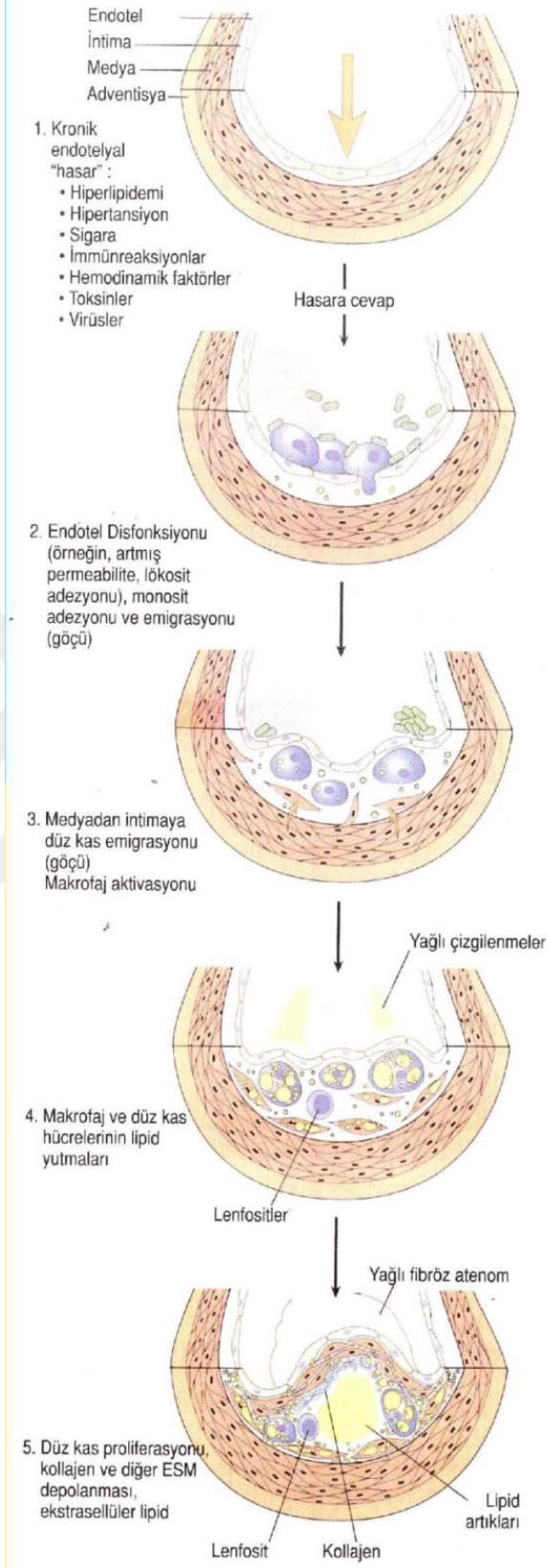
Günümüzde aterogenez zedelenmeye yanıt hipotezi ile açıklanmaktadır. Bu hipoteze göre ateroskleroz, arter duvarının endotel hasarına verdiği kronik inflamatuvar bir cevaptır. Aterosklerotik lezyonun büyümesi modifiye lipoproteinler, makrofajlar, lenfositler ile arter duvarındaki hücresel elemanların etkileşimleri sonucunda olur. Bu hipotezin temel prensipleri şöyledir:

1. Kronik endotel zedelenmesi sonucu meydana gelen endotel disfonksiyonu sebebiyle oluşan permeabilite artışı, lökosit adezyonu ve trombozis
2. Lipoproteinlerin damar duvarında birikimi
3. Monositlerin endotele adezyonu, sonrasında ise intimaya göç ederek makrofaj ve köpük hücrelerine dönüşmeleri
4. Trombosit adezyonu
5. Düz kas hücrelerinin makrofajlar, trombositler ve damar duvarı hücreleri tarafından uyarılması
6. Düz kas hücrelerinin çoğalıp ekstraselüler matriks üretimi
7. Hem hücre dışı hem de hücre içi lipid birikimi

İntima katmanında lipid içeren makrofaj birikimi 'yağlı çizgilenme'lere yol çar. Hastalığın progresyonu sonucu çoğalmış düz kas hücreleri, köpük hücreleri, ekstraselüler lipid ve matriksten oluşan fibro-yağlı aterom meydana gelir (**Şekil 1**) (13).

2.3.4.1. Endotel disfonksiyonu

Hipertansiyon, DM, dislipidemi, sigara gibi risk faktörleri varlığında endotel kökenli konstrüktif ve gevşetici faktörler arasındaki denge bozulur ve endotel disfonksiyonuile sonuçlanır. Endotelyal hasar genellikle yüksek gerilme stresi ve oksidatifstresten kaynaklanır ve oksidatif stres düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonuna yol açar.Bu durum, inflamasyon vekoagülasyonu arttıran araçların salıverilmesine sebep olur. İnflamatuvar hücreler oksideLDL ile reaksiyon göstererek köpük hücreleri oluştururlar. Bu da endotelyal hücre ölümüve/veya disfonksiyonu, hücre dışı matriks sindirimi ve vasküler düz kas proliferasyonuna sebepolur. Endotelyal disfonksiyon genellikleaterosklerotik hastalıktan önce olduğundan bu durumun erken



Şekil 1: Aterosklerozun patogenezi

dönemde belirlenmesi ateroskleroz için yüksek riskli hastalara dahaerken tanı konmasını sağlayabilir (14).

2.3.4.2. Lipoprotein birikimi

Dislipoproteinemiler artmış LDL kolesterol, azalmış HDL kolesterol ve artmış lipoprotein(a)'yı kapsar. Kronik hiperkolesterolemi, lokal reaktif oksijen türevlerini üreterek endotel fonksiyonunu bozabilir. Serbest oksijen radikalleri direkt etkilerine ek olarak, NO'nun yok olmasını hızlandırarak vazodilatatör etkiyi azaltır, böylece lokal gerilme stresi artar. İntimada biriken lipoproteinler makrofaj ve endotelin oluşturduğu serbest oksijen radikallerinin etkisiyle okside olur. Bu LDL, çöpçü reseptör aracılığıyla makrofaja alınarak köpük hücre oluşumuna sebep olur. Makrofaj ve endotelden büyüme faktörleri, sitokin ve kemokinlerin salınmasını uyarır. Ayrıca okside LDL endotel ve düz kas hücrelerine sitotoksik etki yapar ve endotel disfonksiyonuna yol açar. Okside LDL'nin aterogenezdaki önemi, plak oluşumunun tüm evrelerinde makrofajlarda birikimi ile ortaya konmaktadır (13).

2.3.4.3. Monositlerin intimaya göçü ve köpük hücre oluşumu

Endotel hasarı ve disfonksiyonu sonucu hücre yüzeyinde ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adezyon molekülleri belirir. Bu moleküller aracılığıyla monositler hücre duvarına yapışır ve daha sonra monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) etkisiyle subendotelyal alana göç eder (3). Subendotelyal alanda makrofaj koloni stimülan faktör (M-CSF) gibi kemokinlerin etkisiyle makrofajlara dönüşür. M-CSF ve peroksizom proliferatif aktive faktör- γ (PPAR- γ) reseptörü aracılığıyla, makrofajlarda çöpçü reseptörlerinin ekspresyonu artar ve köpük hücreleri oluşur. Makrofaj köpük hücreleri plak gelişiminde çeşitli proinflamatuvar ve büyüme faktörlerini uyarır. Bu faktörlerin etkisi ile damar düz kas hücreleri intimaya göç eder ve fenotip değiştirerek hücre dışı matriks ve fibröz başlığın oluşumunu sağlarlar. Yüksek apoptoz hızına sahip bu makrofajların ölümü ile lipid içeriği hücre dışına salınmış olur. Ayrıca apoptotik hücreler, pıhtılaşma kaskadının güçlü uyarıcısı olan doku faktörünü yüksek düzeyde içerirler ve trombositlerle karşılaşılırlarsa tromboza neden olurlar (11).

2.3.4.4. Düz kas hücrelerinin uyarılması ve ekstraselüler matriks oluşumu

Sağlıklı erişkinlerde düz kas hücreleri media tabakasında bulunup damar tonusunu düzenlerler. Aterosklerozda bu hücreler aktive makrofaj ve endotel hücreleri tarafından sentezlenen sitokinler nedeniyle intimaya göç ederler. Bu düz kas hücrelerinin fenotipi değişir. Kontraktil proteinleri azalırken, sentetik organelleri belirgin artış gösterir. Bu hücreler damar tamiri için gerekli olan glikozaminoglikan, elastin ve tip1 ve tip 3 kollajen sentezleyerek lipidden zengin çekirdeğin etrafını fibröz kapsül ile sararlar. Böylece aterosklerotik lezyonun yapısal stabilitesini sağlarlar (11). Ancak ateromdaki aktive inflamatuvar hücreler düz kas hücrelerinde apoptozise neden olabilirler ve aynı zamanda labil plak oluşumu ile sonuçlanan ekstraselüler matriks katabolizmasını da artırır (13).

2.3.4.5. Trombosit adezyonu

Trombositler aterosklerotik plaktaki önemli hücreler olup, granüllerinde, koagulasyonda rolü olan potent moleküller içerirler. Plakın hasar görmesi, lezyon içindeki bileşenler ile kanın temasına yol açar. En yüksek trombojeniteyi, lipid merkez gösterir. Öbür bileşenler ile karşılaştırıldığında doku faktörünün en fazla burada biriktiği görülür. Doku faktörü biyolojik olarak aktif makrofajlardan ziyade, LDL ile dolu, apoptoz sonucu ölmüş makrofajlarda bulunur. Doku faktörü Faktör VII/VIIa ile birleşerek pıhtılaşma kaskadını başlatır. Ayrıca yüksek LDL, sigara ve hiperglisemi gibi sistemik faktörler de trombojenite artışı ile ilişkilidirler (15).

2.3.5. Aterosklerozun histopatolojik sınıflaması

- a- Yağlı çizgi: On yaşın altında bile karşılaşılabilen bu lezyonlar az miktarda lipidin hücre içinde birikmesi ile oluşur ve makroskopik olarak kan akımına paralel sarı çizgiler şeklinde görülür. Temel olarak intimada birikmiş yağ damlacıklarıyla yüklü makrofajlardan oluşur. Bu çizgilerin bir kısmı aynı kalır veya gerilerken, bazıları uygun koşullar oluştuğunda ileri evre lezyonlara dönüşürler.
- b- Yaygın intimal kalınlaşma: Tunika intimadaki bağ dokuda yer alan çok sayıdaki düz kas hücrelerinden meydana gelir. Makrofajlar, T lenfositleri ve hücre dışı lipid yapıları diğer bileşenleridir.

- c- Fibröz plak: Beyaz renkli ve genellikle damar yüzeyinden kabarık olmaları makroskopik özellikleridir. Lümeni kritik seviyede daralttığına klinik bulgular açığa çıkar. İntimal matrikste düz kas hücreleri, makrofaj ve T lenfositleri ile intraselüler ve ekstraselüler lipid materyalinden oluşur. Fibröz plak tipik olarak, bol miktarda bağ dokusundan meydana gelen bir fibröz başlık ile örtülüdür. Bu lezyon kanama, tromboz veya kalsifikasyon biçiminde komplike olabilir (16).

Amerikan Kalp Birliği Damar Lezyonları Komitesi aterosklerotik lezyonun ilerleme sürecini 8 farklı safhaya ayıran bir sınıflama öne sürmüştür.

Tip-I lezyon, az miktarda lipid birikimi ve nadir makrofaj köpük hücreleri ile karakterize olan bu lezyon doğumdan hemen sonra bebeklerin %45'inde mevcuttur.

Tip-II lezyonda ise makrofaj köpük hücreleri daha fazladır ve tipik olarak yağlı çizgilenmeler olarak tanımlanabilirler. Daha az sayıda T lenfosit hücreleri, mast hücreleri, lipid ve düz kas hücreleri de bu lezyonda bulunabilir.

Tip-III lezyon, Tip-II lezyondan ayrılan en önemli özelliği hücre dışı küçük lipid birikimleri olan bu lezyon klasik olarak aterosklerotik plak veya aterom şeklinde tanımlanabilir. Bu lipid birikimi makrofajlar ve T hücrelerinin altında, lezyonun en derininde yer alarak intimanın hücresel yapısını bozar. Bu tipteki lezyonların varlığı ileride klinik hastalığın meydana gelebileceğine işaretir.

Tip-IV lezyonlarda hücre dışı lipid miktarı artmış ve hücreden fakir bir kolesterol depozit havuzu meydana gelmiştir. Bu lipid depozitinin kaynağı dejenere olmuş köpük hücrelerinin yanı sıra lipoprotein lipidlerinin doğrudan birikimi de olabilir. Lipid çekirdek ince bir düz kas hücre katmanı, inflamatuvar hücreler ve bağ dokusu tarafından kaplanmıştır. Adventisyadaki vasa vasorumlardan gelen kapiller damarlar plağın daha derin bölümlerine doğru ilerler. Bu aşamada arterde lümen çapını korumak için yeniden biçimlenmeye başlar. Bu lezyonların henüz koroner anjiyografi ile farkedilmesi güçtür. Tip-IV lezyonlar klinik olarak asemptomatikler, ancak semptom oluşturan yırtılmalara yol açma potansiyelleri vardır.

Tip-V lezyonların temel özelliği lipid çekirdeği kaplayan fibröz doku artışıdır. Düz kas hücreleri prolifer olup, kollajen ve proteoglikanlar gibi hücre dışı matriks proteinleri sentezleyerek bu fibrozisi meydana getirir. Plak hacminin çoğunu kollajen oluşturur. Bu lezyonlar damarda yeniden biçimlenme ile kompase edilemeyecek kadar büyüktürler. Sonunda lümen daralır ve anjiyografik olarak tespit edilebilir. Tip-V

lezyonlar Tip-IV lezyonlara oranla daha çok fibröz doku barındırmasına karşın, yırtılmalar bu lezyonlarda çok daha fazla gerçekleşir.

Tip-VI lezyonlar tromboz veya kanama ile karakterize komplike plaklardır. Bu lezyon oluşumunun esas sebebi plak yırtılmasıdır ve endotel altındaki fibröz dokuda sıklıkla fissürler, erozyonlar ve ülserasyonlar görülür. Birkaç istisna dışında akut miyokard infarktüsü (AMI) ve kararsız angina pectoris gibi klinik olaylar Tip-VI lezyon sonucunda oluşur.

Tip-VII ve Tip-VIII lezyonların lipid içeriği azdır, kalsiyum içeren (Tip-VII lezyonlar) veya ön planda kollajenden oluşan (Tip-VIII lezyonlar) ileri aşamalarındaki lezyonlardır. Bu lezyonlar hastalığın son aşamasını işaret ederler (17, 18).

2.3.6. Aterosklerotik kalp hastalıkları için risk faktörleri

Bireylerde ateroskleroz ve iskemik kalp hastalığı yaygınlık ve şiddeti birçok risk faktörü ile ilişkilidir. Cinsiyet, yaş ve aile öyküsü gibi denetlenemeyen risklerin yanı sıra sigara, hiperlipidemi, hipertansiyon gibi kazanılmış ya da davranışlar ile ilişkili ve kontrol edilebilir risk faktörleri de mevcuttur (13).

Günümüzde koroner kalp hastalığı için kabul edilen önemli risk faktörleri şunlardır (19):

1. Yaş (erkeklerde ≥ 45 , kadınlarda ≥ 55 veya erken menopoz)
2. Aile öyküsü (birinci derece akrabalarından erkekte 55, kadında 65 yaşından önce koroner arter hastalığı bulunması)
3. Sigara içmek
4. Hipertansiyon (kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg veya antihipertansif tedavi görüyor olmak)
5. Hiperkolesterolemi (total kolesterol ≥ 200 mg/dl, LDL-kolesterol ≥ 130 mg/dl)
6. Düşük HDL kolesterol değeri (< 40 mg/dl)
7. Diabetes mellitus (DM)

Bahsedilen bu majör ve bağımsız risk faktörlerinin yanısıra bazı diğer etkenler ve yeni tanımlanan risk faktörleri de kişinin riskini etkiler. Bu etkenler arasında obezite, fiziksel aktivite azlığı, aterojenik diyet, subklinik aterosklerotik hastalık, lipoprotein(a)

yüksekliği, hiperhomosisteinemi, protrombotik ve proinflamatuvar risk faktörleri sayılabilir. Aterosklerozun günümüzde kronik bir düşük düzeyli inflamasyonun sonucu olduğu düşünülmektedir ve inflamasyon plak başlaması, ilerlemesi ve trombozunun önemli bir unsurudur. Bu hipotez deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarla desteklenmiştir. CRP düşük düzeyli inflamasyonun biyolojik göstergeleri arasında klinik bakımdan en faydalı olanıdır. HsCRP mevcut inflamatuvar göstergeler arasında en güçlü olanıdır (19).

2.3.6.1. Dislipidemi

Yüksek serum total kolesterol ve LDL kolesterol ile düşük serum HDLkolesterol düzeyleri KAH için başlıca bağımsız major risk faktörleridir. Hiperkolesterolemi gibi proaterojenik uyarılara maruz kalan deney hayvanlarında ilk saptanan değişiklikler, subendotelyal intimada kan kaynaklı lipidlerin ve endotel yüzeyinde lökosit adezyon moleküllerinin görülmesidir. Plazmada LDL düzeyi arttığında çok miktarda LDLendotelyumdan geçerek intimaya gider. Transendotelyal geçirgenliğin artmış olduğu arteriyal ağacın dallanma bölgelerinde bu süreç hızlanır. LDL'nin intimadan eliminasyonu sınırlıdır, çünkü bu bölgede mikrodamar sistemi eksiktir. Bu nedenle LDL ekstrasellüler matriks içinde tutulur (20). Bunun dışında plazmada yüksek LDL kolesterol seviyeleri, LDL partiküllerinin arter duvarında oksidasyonuna ve çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin sekresyonuna neden olur. Bu olayların sonucunda okside LDL tarafından endotel hücre fonksiyonları bozulmaktadır ve sonuçta NO üretimi azalmaktadır (21). KAH için düşük HDL kolesterol seviyelerinin (40 mg/dl altı) bir risk faktörü, buna karşılık HDL kolesterol seviyelerinin yüksek (60 mg/dl üstü) ise koruyucu bir faktör olduğu kılavuzlarda vurgulanmıştır (22).

2.3.6.2. Hipertansiyon

Hipertansiyon dünya genelinde erken ölümlerin en önemli önlenebilir nedenlerinden biridir ve kardiyovasküler hastalıkların yaklaşık yarısına katkıda bulunur (2). Kan basıncı yükseldiğinde endotelde çeşitli değişikliklere neden olarak ateroskleroza katkıda bulunur. Bunlar salgılanan vazodilatatörlerin azalması, lipoproteinlere geçirgenliğin artması ve lökositlerin daha kolay adezyonu gibi etkilere. Hipertansiyonda düz kas hücrelerinde meydana gelen fenotipik değişiklikler bunların proliferere olma yeteneklerinde ve büyüme faktörlerine verdikleri cevapta artışa yol

açabilir (3, 15). Diyastolik kan basıncında her 10 mmHg'lik veya sistolik kan basıncında her 20mmHg'lik artış kardiyovasküler hastalıkları iki katına çıkarır. Tuz alımı düşük, fiziksel aktivitesi yüksek olan ve obez olmayan bireyler dışında, kan basıncı genellikle yaşla beraber artar. Beslenme ve yaşam tarzı değişikliği girişimlerine rağmen sistolik kan basıncı ≥ 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 90 mmHg olan bireylerde ilaç tedavisi gerekir (2).

2.3.6.3. Sigara

Sigara kullanımı hem kardiyovasküler hastalığa bağlı hem de kardiyovasküler hastalık dışı nedenlere bağlı mortalite ve morbidite için baskın bir risk faktörüdür. Sigara içenlerin sayısının 2025 yılında 1.6 milyar olması ve 2030 yılında mortalite oranının 10 milyon olması beklenmektedir. Bu nedenle sigara kullanımı hastalık ve erken ölümün hala önlenemez en önemli nedenidir. Sigara kullanımı kalp atım hızı ve kan basıncını artırarak, trombositleri aktive ederek, endotelial disfonksiyona neden olarak ve LDL kolesterolü yükseltip HDL kolesterolü azaltarak damar duvarında inflamatuvar süreçlere ve trombotik olaylara neden olur. Bu etkiler bir günde içilen sigara miktarı ve süresi ile ilişkilidir. Sigarayı bırakma, kalp hastalıkları için tüm koruyucu önlemlerin en etkilisidir. Asemptomatik sigara içiciler sigarayı bıraktıktan 10 yıl sonra sigara içmeyenlerin risk seviyesine ulaşırlar (2).

2.3.6.4. Diabetes mellitus

Diyabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları mevcuttur. Makrovasküler komplikasyonlar primer olarak ateroskleroz ile ilişkilidir (23). Diğer faktörler eşitlendiğinde miyokard infarktüsü insidansı diyabetlilerde diyabeti olmayanlara göre iki kat daha fazladır. Ayrıca inme ve ateroskleroz ilişkili gangrene de artmış risk mevcuttur (13). Kronik hiperglisemide glikozillenmiş proteinler ve çeşitli büyüme faktörleri aterosklerotik plaktaki fibromusküler dokuların proliferasyonunu uyarırlar. Bu hastalarda LDL gibi lipoproteinlerin düzeyi normal olsa bile glikozillenebilirler ve fonksiyonları bozulabilir. Hipertrigliseridemi mevcuttur ve bunun sonucunda trigliseridden zengin lipoprotein metabolizması bozulur. Sonuçta LDL'nin yapısı değişir ve oldukça aterojen olan küçük yoğun LDL partikülleri oluşur. Tip-2 diyabette lipid bozukluklarının düzeltilmesi kalp damar hastalıkları riskini azaltır. Egzersiz ve kilo verme insülin direncini düzeltir, trigliserid seviyelerini düşürür. LDL

partikülleri daha büyük ve az yoğun hale gelir. HDL düzeyinde ve kan basıncında düzelme görülür. Anjiyotensin konverting enzim inhibitörleri diyabet hastalarında ilerleyici böbrek hasarını ve kardiyovasküler olayları azaltır (3, 15).

2.3.6.5. Yaş

Ateroskleroz ilerleyici bir süreç olmakla beraber, lezyonları genellikle kritik bir eşiğe ulaşana kadar klinik bir bulgu vermezler. Organ hasarı orta yaş veya daha ileri dönemlerde başlar. Bu nedenle muhtemelen altta yatan aterosklerotik lezyon daha önceden başlamış olmasına rağmen erkeklerde 40-60 yaş arasında miyokard infarktüsü insidansı beş kat artar (13).

2.3.6.6. Cinsiyet

Diğer faktörler eşit iken, premenopozal kadınlar aynı yaştaki erkeklerle kıyaslandığında ateroskleroz ve sonuçlarına karşı görece korunmuşlardır (13). Kadınlarda toplamda mutlak kardiyovasküler hastalık riskinin çok daha düşük olması sebebiyle, diyabet haricindeki belli bir risk etkeninin eklenmesiyle oluşan sonuç risk seviyesi bile, erkeklerdeki yaşa özel mutlak riskten daha düşük olmaktadır. Eğer diyabet var ise kalp hastalığı açısından göreceli ve toplanmış risk düzeyi kadınlarda daha yüksektir (3). 65 yaş altında, akut miyokard infarktüsü gelişme sıklığı erkeklerde kadınlara göre yaklaşık dört kat daha fazladır. Mortalite ve morbiditede gözlenen farklar yaşla birlikte azalmasına rağmen 75-85 yaşları arasında bile erkeklerde insidans yaklaşık iki kat daha fazladır (2).

2.3.6.7. Aile öyküsü

Aile öyküsü, özellikle ailesinde erken yaşta koroner kalp hastalığı olan genç bireylerde, bağımsız bir risk faktörüdür. Ailesinde birinci derece erkek akrabaların birinde 55 yaşından önce veya birinci derece kadın akrabaların 65 yaşından önce kardiyovasküler hastalık gelişmiş olması, o kişide ateroskleroz gelişim riskini belirgin bir şekilde artırmaktadır (24).

2.3.6.8. Obezite ve sedanter yaşam tarzı

Obezite özellikle gençlerde KVH için önemli bir risk faktörüdür. Vücut kitle indeksi (VKİ) 24.9 kg/m² üzerine çıktıkça, KAH riski artar. Obezite nedeniyle, DM, hipertansiyon da ortaya çıkabilir. Ayrıca insülin direnci, dislipidemi ve abdominal

obeziteyle karakterize metabolik sendrom tablosu da, KAH için belirgin risk oluşturmaktadır. Bel çevresinin kadında 88, erkekte 94 cm. altında olması istenir (25). Fiziksel aktivite, yağ dokusunu ve kan basıncını azaltırken, glukoz toleransını, kardiyovasküler ve pulmoner kapasiteyi artırmaktadır (26).

2.3.7. İnflamasyon ve ateroskleroz

Ateroskleroz önceleri arter duvarında pasif bir lipid birikimi olarak kabul edilirken artık inflamatuvar bir hastalık olduğu biliniyor. Aslında ‘yağlı çizgi’ denilen ve küçük çocuklarda bile görülen, lezyonun en erken tipi bile makrofaj ve T lenfosit hücrelerini içeren inflamatuvar bir lezyondur (27). Günümüzde ateroskleroz, lezyonun başlamasından ilerlemesine ve komplike (plak yırtılması ve tromboz) olmasına kadar kronik inflamasyonun yer aldığı ve mevcut her risk faktörünün bu inflamatuvar süreçte katkıda bulunduğu multifaktöriyel bir hastalık olarak kabul ediliyor (28).

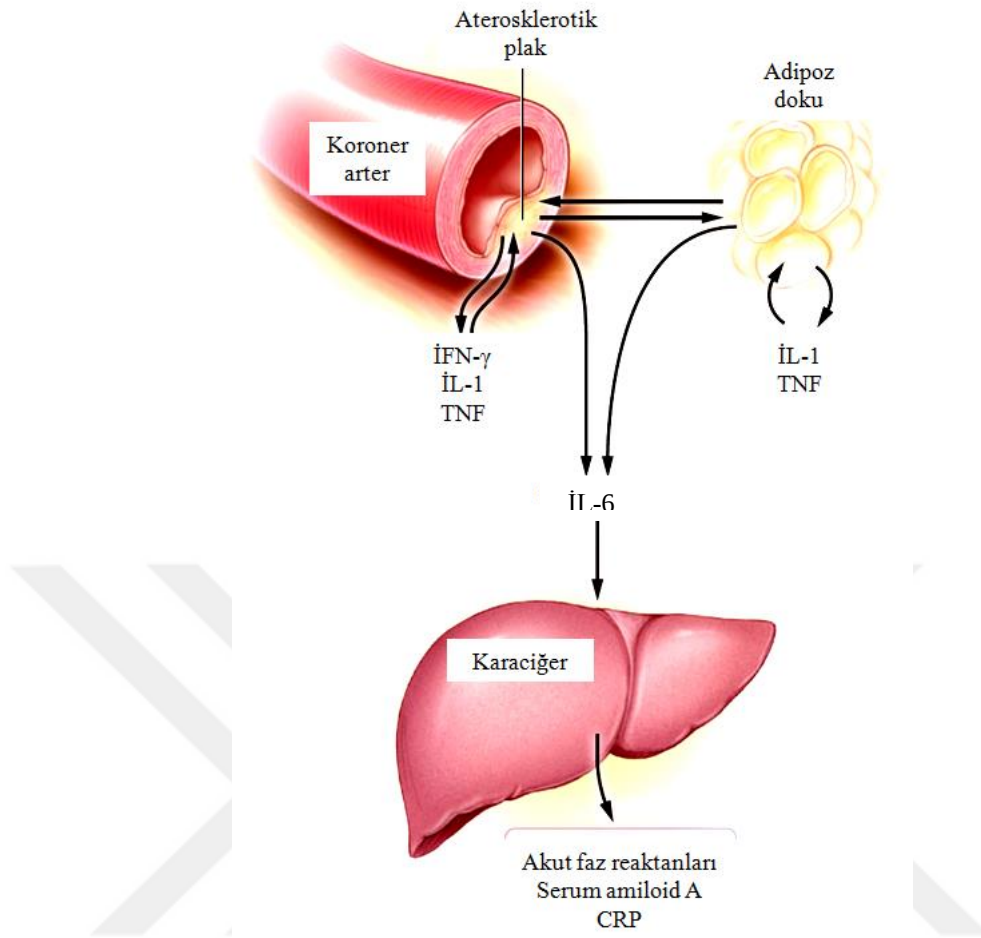
Aterosklerozun erken aşamasında sigara, kolesterol, hipertansiyon gibi risk faktörleri genel inflamatuvar bir yanıt başlatarak hem endotelden bir sinyal trafiği oluşturur hem de akut faz reaktanlarını aktive ederler. Bu aşamada endotel başat rol oynar (28). NO, prostasiklin, endotelin, gibi mediatörler aracılığıyla endotelin permeabilitesi lipoproteinler ve diğer plazma bileşenlerine karşı artar. Ayrıca endotel, monosit ve T hücrelerinin yüzeyinde, bu inflamatuvar hücrelerin adezyon, migrasyon ve akümüasyonu için çeşitli moleküller belirir. L-selektin, integrinler ve platelet endotelyal adezyon molekülü-1 (PECAM-1) gibi lökosit adezyon moleküllerinin upregülasyonu ve E-selektin, P-selektin, ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adezyon moleküllerinin up-regülasyonu ile bu hücrelerin endotele adezyonu sağlanır (27). Yüksek kolesterol diyetiyle beslenen hayvanlarla yapılan çalışmalarda, endotel birkaç hafta içinde bozulup yapışkan hale gelmiş ve adezyon molekülü ekspres etmeye başlamıştır (28). Lökositlerin subendotele migrasyonu, MCP-1, interlökin-8 (IL-8), okside LDL, osteopontin ve M-CSF gibi kemoatraktan moleküllerle gerçekleşir (27). Transgenik olarak MCP-1 ekspres edemeyen hayvan modellerinde subendotelyal lipid birikiminin neredeyse hiç olmadığı gözlemlenmiştir (28). Bir tarafta endotelde lokal inflamasyon sürerken diğer tarafta okside LDL gibi proinflamatuvar faktörler interlökin-1 (IL-1) ve TNF- α gibi primer sistemik inflamatuvar sitokinleri uyarırlar. Bunlar da IL-6’yı aktive ederek karaciğerden CRP gibi akut faz reaktanlarının salınmasına yol açarlar (28).

Ateroskleroz gelişiminde hem doğal hem de adaptif immünitinin rolü vardır (27, 29). Monositlerin lezyona girişi ve çoğalmasının devam etmesi M-CSF ve granüosit makrofaj koloni stimulan faktöre (GM-CSF) bağlı iken lenfositler için interlökin-2 (IL-2) gereklidir (27). Ayrıca M-CSF etkisiyle monositler makrofaja dönüşür ve bu hücrelerin yüzeyinde doğal immün sistemin bileşenleri olan çöpçü ve Toll-like reseptörler (TLR) belirir. Çöpçü reseptörler aracılığıyla alınan okside LDL partikülleri damlacıklar halinde sitozolde birikerek köpük hücrelerini oluşturur. Bakteriyel toksinler, ısı şok proteinleri gibi etkenler tarafından TLR uyarılır ve bunun sonucunda makrofajda inflamatuvar sitokinler, proteazlar, sitotoksik oksijen ve nitrojen radikalleri üretimi başlar. ApoE knockout (ApoE^{-/-}) farelerde TLR sinyal yolağının susturulması ateroskleroza inhibe etmiştir (30). Aktive makrofajlar aldıkları ısı şok proteinleri, okside LDL ve enfeksiyöz ajanları CD4⁺ T hücrelerine (Th) sunarak adaptif immüniteyi aktive ederler (27, 28). Aterosklerotik lezyonlarda Th2 yanıtından ziyade Th1 yanıtı olur. Th1 vasıtasıyla bol miktarda interferon- γ (IFN- γ) salgınır ve bu da TNF α ve IL-1 sentezini uyararak inflamasyonu sinerjik etki ile daha da ağırlaştırır. Bu durum deneysel olarak ApoE^{-/-} farelerde IFN- γ veya reseptörünün yokluğunda aterosklerozun inhibe olmasıyla da gösterilmiştir (30).

İnflamasyon plağın başlangıç ve ilerleme aşamasının yanı sıra, kararsız ve rüptüre olmasında da rol oynar. Akut koroner sendromlar genelde en kritik darlık oluşturan plaklarda değil, en hassas olan plaklarda meydana gelir (28). İlerlemiş kararlı lezyonların genellikle yoğun düzenli bir fibröz başlığı vardır. Potansiyel tehlikeli lezyonlar sıklıkla tıkayıcı değildirler. Plak rüptürü veya erozyonu, daha çok, fibröz başlığın incelendiği yerde olur (27). Bu bölgedeki aktive makrofajlar, T hücreleri ve mast hücreleri sitokinler, proteazlar, radikaller ve koagülasyon faktörleri gibi moleküller sentezleyerek lezyonu destabilize ederler (30). Nitekim otopsilerde plak rüptürünün olduğu alanlardayolun makrofaj birikiminin olduğu gösterilmiştir (27). Aktive T lenfositleri makrofajları uyararak matriks metalloproteinaz (MMP) ve sistein proteaz gibi matriks yıkımına neden olan çeşitli enzimlerin salgınımını sağlarlar. Ayrıca makrofajlarda yer alan doku faktörünün de katkısıyla trombüs oluşumu kolaylaştırır (28, 30).

2.4.Yüksek duyarlıklı CRP (hsCRP)

CRP ilk defa 1930 yılında Tillet ve Frances tarafından akut streptokok pnömoni pnömonisi olan hastalarda, bu bakterinin polisakkarit C kısmıyla presipitat yapmış şekilde tespit edilmiştir. Sonrasında bu durumun bu bakteriye özel bir şey olmadığı ve çeşitli inflamatuvar ve infeksiyöz durumlarda CRP'nin yükseldiği görülmüştür (31). İnsanın doğal immün yanıtında önemli rolü olan pentraksin ailesinin dolaşımdaki bir üyesi olan CRP, beş tane 23 kD'lik altbirimden meydana gelir (32). Esasen karaciğerde üretilenbu protein aynı zamanda nöronlar, monositler, lenfositler ve aterosklerotik plaklarda da sentezlenmektedir. CRP inflamasyonun spesifik olmayan bir belirticidir (33). İnflamasyon aterosklerozun tüm fazlarında, lezyonun oluşumundan ilerlemesine ve plak rüptürüne kadar her aşamada rol oynar (31). Aterosklerotik plakta yer alan aktive immün sistem hücreleri IFN- γ , IL-1 ve TNF- α aracılığıyla bol miktarda IL-6 salgılamasına neden olurlar; IL-6 da karaciğerden CRP, fibrinojen ve serum amiloid A gibi proteinlerin üretimini sağlar (**Şekil 2**) (30). Ateroskleroz ile inflamasyon arasındaki ilişkinin gösterilmesi, dolaşımda yer alan bu proteinlerin kardiyovasküler olayriskini belirlemede yol gösterici olup olamayacağı sorusunu gündeme getirmiştir (33). CRP fonksiyonel olarak da hastalığı progrese etmektedir. CRP lokal adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, plazminojen aktivatör inhibitörü 1'in (PAI-1) üretimini artırır ve endotel NO biyoaktivitesini azaltır (31, 32). Okside LDL (oxLDL) ve parsiyel yıkıma uğramış LDL'ye bağlanarak kompleman aktivasyonu yapar; LDL'nin makrofaj tarafından alımını kolaylaştırır (33).



Şekil 2: Aterosklerozda sitokinlerin rolü.

Aterosklerozun düşük dereceli bir inflamasyon olması ve önceden normal kabul edilen sınırlardaki CRP konsantrasyonlarının sağlıklı veya aterosklerotik hastalığı olan bireylerde gelecekte kardiyovasküler bir olay geçirmelerini öngörmesi ile, bu subklinik inflamasyonu tesbit edebilecek hassasiyette CRP ölçümü yapabilen metodlara ihtiyaç duyuldu. Günümüzde hsCRP ölçümü yapabilmek için immünoradiometrik assay (IRMA), immünotürbidimetrik ve immünonefelometrik metodlar geliştirilmiştir ve bunların klinik duyarlılık ve etkinliği benzerdir (34). Geleneksel CRP saptama limiti 5 mg/L iken, hsCRP’de bu sınır 1 mg/L’nin çok altındadır ve ölçüm aralığı da genellikle 0-10 mg/L’dir. HsCRP ile KVH risk sınıflaması yapılırken genellikle 1 mg/L’nin altındaki değerler düşük risk, 1-3 mg/L orta risk ve 3 mg/L’nin üzeri değerler yüksek risk olarak gruplandırılır. 10 mg/L ve üzeri değerler aktif bir inflamasyon, infeksiyon veya otoimmün hastalık gibi durumları düşündürür (35). CRP sitokinler gibi belirgin

diürnal veya fibrinojen gibi belirgin mevsimsel varyasyon göstermez (31, 35). Cinsiyetler veya ırklar arası farklılık olup olmadığı tartışmalıdır (31, 35). Yaşla birlikte düzeyleri yükselir (33).

İnflamatuvar olayların yanı sıra birçok kardiyovasküler risk faktörleri CRP düzeylerinde hafif artışa yol açar. Yüksek kan basıncı, diabetes mellitus, dislipidemi, obezite, metabolik sendrom, sigara ve sedanter yaşam hsCRP düzeylerinde yükselmeye sebep olurken (33); sigaranın bırakılması, egzersiz, diyet ve kilo verme hem hsCRP seviyelerini hem de kardiyak riski düşürür (32). Yapılan geniş, randomize, prospektif çalışmalar bazal hsCRP değerlerinin gelecekte meydana gelecek kardiyovasküler olayları belirlemede rolü olabileceğini gösteriyor. Bazal hsCRP değerleri kardiyovasküler ölüm, miyokard infarktüsü, ani ölüm, inme ve periferik arter hastalığını, yani global vasküler riski öngörmeye önemli bir belirleyicidir. Genellikle bu çalışmalarda hsCRP değerlerine göre üç, dört veya beş grup oluşturulmuş ve en düşük hsCRP grubu ile en yüksek hsCRP grubu karşılaştırılmıştır (33). Örneğin Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) çalışmasında 17 yıllık takipte sigara içenlerde CRP düzeyi yüksek olan dörtte birlik grubun düşük olan dörtte birlik gruba göre KAH ölüm oranı 4.3 kat daha yüksek olduğu görülmüştür (31). Prospektif Women's Health Study (WHS) çalışmasında, kardiyovasküler olay gelişen kadınlarda bazal hsCRP düzeyleri kardiyovasküler olay gelişmeyenlere göre daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla 4.2 mg/L ve 2.8 mg/L). Bu araştırmada, yüksek dörtte birlik dilimde yer alan kadınlarda, düşük dörtte birlik dilimde yer alanlara göre miyokard infarktüsü ve inme gelişme riski 5 kat daha yüksek bulunmuştur. Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease (MONICA) çalışmasında sağlıklı erkeklerde 7 yıllık takipte miyokard infarktüsü gelişme riski düşük beşte birlik dilimde yer alanlarda %1 ve yüksek beşte birlik dilimde %2.75 olarak tespit edilmiştir. Helsinki Heart Study (HHS) çalışmasında da hsCRP düzeyi yüksek kişilerde miyokard infarktüsü riskinin arttığı gösterilmiştir (33). Hastalık kliniği olmayan ortayaşlı 22 bin erkekle yapılan bir çalışmada, en yüksek dörtte birlik bazal hsCRP dilimindeki kişilerde inme ve periferik arter hastalığı riski 2 kat, miyokard infarktüsü riski ise 3 kat yüksek gözlenmiştir. Bu riski diğer lipid ve lipid olmayan diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak artırmıştır (36). 18 binden fazla kişi ile yapılan Reykjavik çalışmasında diğer risk faktörlerine göre düzeltilme yapıldıktan sonra hsCRP değerleri yüksek üçte birlik dilimin koroner arter

hastalığı riski düşük üçte birlik dilimden 1.45 kat yüksek olduğu görülmüştür (33). Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) çalışmasında da 12819 sağlıklı kişi ile 6 yıllık takipte diğer risk faktörlerine düzeltme yapıldıktan sonra (yaş, cinsiyet, ırk, sigara, sistolik kan basıncı, LDL kolesterol, HDL kolesterol ve diyabetes mellitus) hsCRP değerlerine göre yüksek risk grubuna (>3 mg/L) dahil olanlarda koroner olay gelişme riski 1.76 kat daha fazla hesaplanmıştır (37). Ancak hsCRP'nin kardiyovasküler olayları öngörmede yerinin yetersiz olduğuna dair çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Caerphilly Prospective Heart Study (CPHS) çalışmasında 5 yıl boyunca takip edilen orta yaş sağlıklı erkeklerde hsCRP diğer kardiyovasküler hastalık risk faktörleri (VKİ, sigara, obezite, yaş vb) ile ilişkili bulunmasına rağmen, bu risk faktörlerine göre düzeltme yapıldığında hsCRP'nin kardiyovasküler olayları belirlemede yerinin kalmadığı tespit edilmiştir (33).

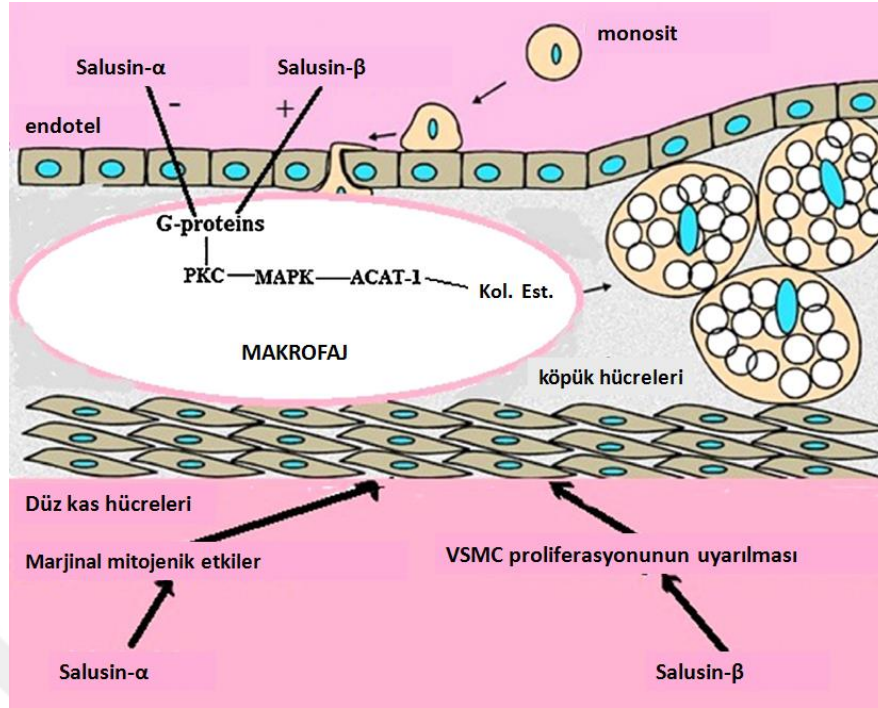
HsCRP'nin klinik uygulamada kullanımı için Amerikan Kalp Birliği ve Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi kılavuzlarında öneride bulunmuşlardır. Tercihen 2 hafta arayla en az iki ölçüm yapılması önerilmiştir (31). HsCRP değerlerinin 3 mg/L'den yüksek, 1-3 mg/L arasında ve 1 mg/L'nin altında olması sırası ile yüksek, orta ve düşük risk olarak tanımlanmıştır. HsCRP taraması global risk değerlendirilmesinin bir parçası olarak hekimin takdirine bırakılmıştır (32). Her ne kadar hsCRP tüm toplumda riski öngörse de, Framingham risk skorlamasında 'orta risk' grubunda olan bireylere (10 yıllık risk %10-20) en büyük faydayı sağlamaktadır ve CRP'nin kullanımının en mantıklı yolunun bu bireylerde kullanımı olduğu saptanmıştır (31, 32). Çünkü bu risk grubundaki bireylerde hekim ileri inceleme ve tedavinin düzenlenmesine katkı sağlaması için ek risk göstergelerine ihtiyaç duyabilmekte ve hsCRP karar vermede yardımcı olabilmektedir. Framingham risk skorlamasında 'düşük risk' grubunda olanlara ileri inceleme önerilmezken, 'yüksek risk' grubundakiler ise zaten koroner arter hastaları gibi takip ve tedavi edilmektedirler. Kılavuz hsCRP'nin ana risk faktörleri yerine geçebilecek bir risk belirteci olmadığını da vurgulamaktadır (33).

2.5.Salusinler

Shichiri ve ark. (38) tarafından 2003 yılında keşfedilen salusin- α , ve salusin- β 'nin biyosentezi Torsin Family 2A (TOR2A) geninin 'alternative splicing'i ile oluşan preprosalusin isimli prekürsörden meydana gelir. 242 amino asite sahip preprosalusin N-terminalindeki 26 amino asitlik sinyal peptidinin ayrılmasıyla 216 amino asitli

Salusinler kan damarları, merkezi sinir sistemi ve böbrekler de dahil olmak üzere insan ve fare dokularında bol miktarda eksprese ve sentez edilirler (38, 40, 41). Salusinler ayrıca insan plazma ve idrarında da tespit edilebilmektedirler (42, 43). Aterosklerozun patogeneğinde yeri olan endotel, damar düz kas ve makrofaj hücreleri salusinlerle yakından ilişkilidirler. İnsan damar düz kas hücrelerinde (VSMC) ve endotel hücrelerinde preprosalusin ekspresyonu yüksek düzeydedir (38). Ayrıca insan monosit hücre dizilerinde de preprosalusin ekspresyonu mevcuttur (44). Salusinlerin ateroskleroz ve ilişkili hastalıklarda rolü olduğuna dair çeşitli çalışma mevcuttur. Salusinlerin vasküler inflamasyon (45, 46), damar düz kas proliferasyonu (47), makrofaj köpük hücresi oluşumu (48, 49), lipid dengesi (50-52) ve hipertansiyon (47, 53) üzerine önemli etkileri vardır.

Aterosklerozda makrofaj köpük hücrelerinin oluşumu karakteristiktir. Salusin- α makrofaj hücre kültüründe açıl-KoA açıltransferaz 1 (ACAT-1) mRNA ve protein ekspresyonunu baskılayıp hücre içi kolesterol ester birikimini azaltarak köpük hücre oluşumunu azaltırken, salusin- β tersine ACAT-1 mRNA ve protein ekspresyonunu uyarıp hücre içi kolesterol ester birikimini artırarak köpük hücre oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Salusinlerin ACAT-1 üzerine etkileri G-protein / cSrc / protein kinaz C (PKC) / Mitogen-activated protein kinase (MAPK) sinyal yolağı ile olmaktadır (48). Salusinlerin ACAT-1 enzimi üzerine etkisi **Şekil 5**'te gösterilmiştir (54). Kronik salusin- α infüzyonu ApoE (-/-) fare ateroskleroz modelinde peritoneal makrofajlarda ACAT-1 enzimini downregüle edip köpük hücre oluşumunu azaltırken; kronik salusin- β infüzyonu bu makrofajlarda 'cluster of differentiation 36' (CD36), çöpçü reseptör A(SR-A) reseptörleri ve ACAT-1'in protein ekspresyonunu ve köpük hücre oluşumunu artırmaktadır (50). İnsan monosit hücre kültüründe salusin- β salgılanmakta ve bu salgı monositlerin makrofajlara uyarılması ile daha da artmaktadır. Bu hücrelerin TNF- α ve lipopolisakkarid (LPS) ile stimülasyonu preprosalusin mRNA ekspresyonunu indüklemeyen salusin- β sekresyonunu artırmaktadır. Bu da makrofajlardaki salusin- β sekresyonu artışının prosalusin'in intraselüler işlenmesi sonucunda meydana geldiğini göstermektedir. Bu bilgilerden köpük hücre oluşumunu artıran salusin- β 'nin makrofajlardan olgun hali ile sekrete edildiği sonucu çıkarılabilir (55).



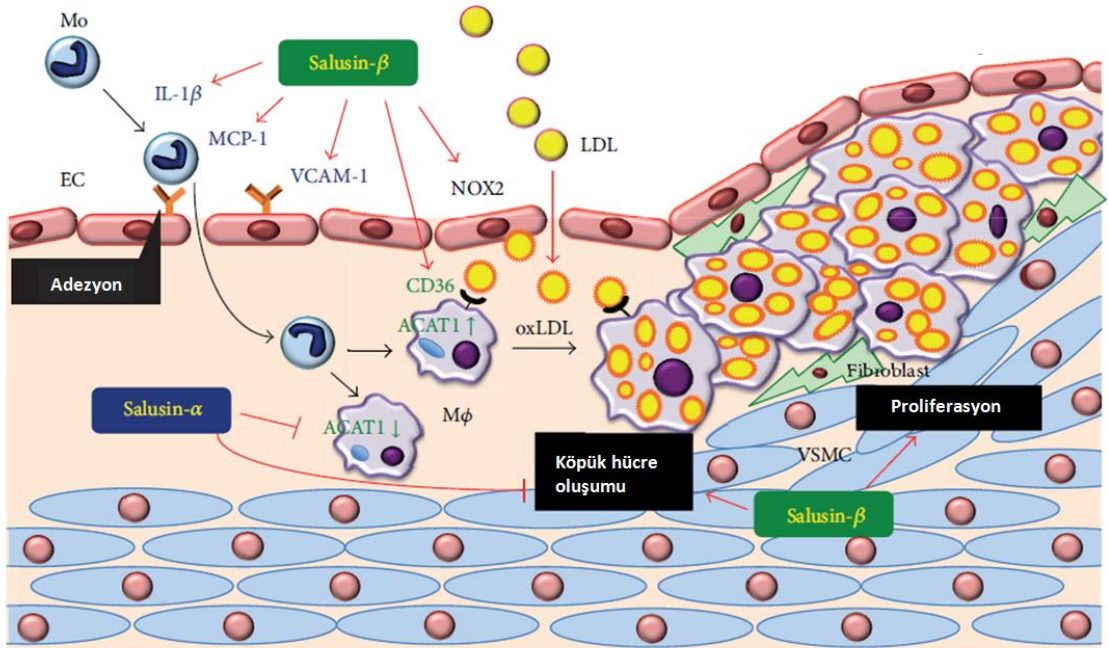
Şekil 5: Salusinlerin ACAT-1 üzerinden köpük hücre oluşumuna katkısı ve düz kas hücreleri üzerine etkileri

Salusin-β'nın vitro insan VSMC'de ACAT-1 ve VCAM-1 ekspresyonunu artırarak bu hücrelerin köpük hücrelerine dönüşümü ve bu hücrelere monosit adezyonunu uyardığı, bu etkilerini ise miR155/ NADPH oksidaz 2 (NOX2) / nükleer faktör κB (NF-κB) sinyal yolağı ile yaptığı belirtilmektedir (49).

Fare ateroskleroz modellerinde kronik salusin-β infüzyonu, aterosklerotik lezyonları belirgin agreve edip(50, 52) bu lezyonlarda VCAM-1 ve MCP-1 ekspresyonunu artırmakta, NF-κB'nin nükleer translokasyonu ve inhibitör κB-α (IκB-α)'nın degradasyonunu hızlandırmakta; ilave olarak plazma TNF-α ve IL-6 düzeylerini yükseltmektedir (52). Bu farelerde anti-salusin-β antikorunu infüzyonu ile endojen salusin-β nötralizasyonu ise ateroskleroz gelişimini önlemekte (50), ayrıca aortik endotel hücrelerinde VCAM-1, MCP-1, IL-1β indüksiyonunu ve NF-κB'nin nükleer translokasyonunu azaltmakta; böylece endotele monosit adezyonunu önlemektedir (45). Aynı modellerde kronik salusin-α infüzyonunda aterosklerotik lezyonlar belirgin azalmakta (50, 52); bu lezyonlarda VCAM-1 ve MCP-1 ekspresyonunda, NF-κB'nin nükleer translokasyonu ve IκB-α'nın degradasyonunda bir değişim olmamakta ve plazma TNF-α ve IL-6 düzeyleri düşmektedir (52). Ancak endojen salusin-α'nın anti-salusin-α ile nötralizasyonunun ateroskleroz üzerine etkisi bulunmamıştır (50).

LDL reseptörü knockout (LDLR(-/-))fare ateroskleroz modelinde aterosklerotik lezyonlarda salusin- β mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı; subkutan salusin- β enjeksiyonu ile de bu aterosklerotik lezyonların β apının ve buradaki lipid birikimlerinin arttığı görülmüştür(51).

Salusin- β in vitro olarak insan umbilikal ven endotel hücrelerinde (HUVEC), VCAM-1, MCP-1, IL-1 β , IL-6, TNF- α ve NOX-2 gibi proinflamatuvar moleküllerin ekspresyonlarını, monositlerin endotele adezyonunu, oksidatif stresi, NF- κ B'nin nükleer translokasyonunu ve I κ B- α 'nın degradasyonunu artırmaktadır. Salusin- β p38 MAPK/NF- κ B ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK)/NF κ -B sinyal yolları ile endotelial inflamasyonu aktive etmektedir. Salusin- α VCAM-1 protein ekspresyonu artışı dışında, endotel üzerinde buna zıt veya benzer etkiler göstermemiştir (45, 46). **Şekil 6**'da salusinlerin inflamasyona ve ateroskleroza etkisi gösterilmiştir (56).



Şekil 6: Salusinlerin vasküler inflamasyona ve ateroskleroza etkisi (Mo: Monosit, Mφ: Makrofaj, EC: Endotel hücresi)

Yüksek glukoz uygulanan kardiyomyosit kültüründe salusin- β mRNA ve protein ekspresyonunun yanı sıra inflamasyon ve oksidatif stres artmıştır. Salusin- β maruziyeti hem yüksek glukoz uygulanan hem de yüksek glukoz uygulanmayan kardiyomyosit

kültüründe inflamasyon ve oksidatif stresi de artırmıştır. Ayrıca in vivo diyabet modeli sıçanlarda salusin- β 'nin susturulması kan glukozu ve insülin direncini etkilemezken, ventriküler disfonksiyonu hafifletmiş ve myokardda inflamasyon, oksidatif stres ve salusin- β ekspresyonunu azaltmıştır. Salusin- β 'nin hem in vitro hem de in vivo kardiyak inflamasyona katkısının NOX2/ROS/NF κ B yolağı üzerinden olduğu gösterilmiştir (57).

Salusinlerin, özellikle salusin- β 'nin vasküler proliferasyon ve fibroze etki ederek vasküler remodeling ve hipertansiyona katkıda bulundukları çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (47, 53, 58).

İn vitro VSMC hücrelerinde salusin- β , hücre siklusunun G0/G1 fazındaki hücre popülasyonunu düşürüp, S fazındaki hücre popülasyonunu artırarak proliferasyona yol açtığı belirtilmiştir. Ayrıca bu hücrelerde kollajen-I, kollajen-III ve fibronektin mRNA ekspresyonunu arttırdığı saptanmıştır. Salusin- β proliferatif etkisini cAMP-PKA-EGFR-CREB/ERK ve vasküler fibrosis üzerine etkisini transforming growth faktör β 1 (TGF- β 1)/Smad sinyali ile gösterdiği bildirilmiştir. Salusin- α VSMC'yi daha zayıf bir şekilde proliferere ederken; salusin- α ve salusin- β 'nin beraber uygulanması, sadece salusin- β 'nin yaptığından daha fazla proliferasyona sebep olduğu ileri sürülmüştür (**Şekil 5, 6**). Salusin- α VSMC bazal kollajen-I, kollajen-III ve fibronektin mRNA ekspresyonu üzerinde belirgin etkisi etmediği, salusin- β 'nin indüklediği kollajen-I, kollajen-III ve fibronektin mRNA ekspresyonunu anlamlı bir biçimde azaltmıştır. Yani salusin- α , salusin- β 'nin proliferatif etkisini arttırırken, fibrotik etkilerini azaltmaktadır. Bir viral vektör ile salusin- β ekspresyonu artırılan sıçanların damar media kalınlığının, adventisyal kollajen içeriğinin artıp, damar lümeninin daraldığı tespit edilmiştir. Ayrıca sıçanlarda kan basıncının da yükseldiği gözlenmiştir. Bütün bu sonuçlar salusin- β 'nin damarda remodelinge yol açtığını göstermektedir (47).

Spontan hipertansif sıçanlarda normotansif sıçanlara göre plazma, miyokard ve mezenter arter salusin- β düzeylerinin arttığı; bu hipertansif sıçanlarda salusin- β 'nin bir viral vektör ile susturulmasının kan basıncını, kalp ventrikül ağırlığını, perivasküler fibrozisi ve damar media kalınlığını düşürdüğü saptanmıştır. Ayrıca miyokard ve mezenter arterde NAD(P)H oksidaz ve süperoksit anyon düzeylerinin düşüp, plazma norepinefrin ve anjiyotensin düzeyleri normale döndüğü görülmüştür. VSMC hücrelerinde ise proliferasyon ve fibrozis hafiflediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak

oksidatif stresin eşlik ettiği hipertansiyon ve kardiyovasküler remodelingin gerilediği görülmektedir (53).

Salusin- β aterosklerozda kritik bir aşama olan VSMC migrasyonunu in vitro olarak uyardığı gösterilmiştir. Ayrıca in vivo olarak da damar ligasyonu ile intimal hiperplazi oluşturulan sıçan karotis arterlerinde salusin- β 'nin upregüle olduğu ve salusin- β 'nin susturulması ile bu intimal kalınlaşmanın azaldığı tespit edilmiştir. Salusin- β hem in vitro VSMC migrasyonu hem de in vivo intimal kalınlaşmayı reaktif oksijen türleri (ROS)/NF- κ B/MMP-9 sinyal yolağı ile yapmıştır (58).

Miyokard iskemisi reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanlarda iskemik bölge civarındaki makrofajlarda immünohistokimyasal olarak salusin- β ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Anti-salusin- β infüze edilen sıçanlarda, anti-salusin- β infüze edilmeyen gruba göre bu bölgede anjiyogenezin arttığı ve vasküler endotelial growth faktör A (VEGF-A) ekspresyonunun değişmediği tespit edilmiştir. Bundan, iskemisi reperfüzyon hasarı sonrasında iskemik bölgeye gelen makrofajlardan salgılanan salusin- β 'nin anjiyogenezisi VEGF-A sinyali dışında bir yoldan inhibe ederek kardiyak remodelingi önlediği sonucu çıkarılabilir (59).

Çeşitli hayvan çalışmalarında da santral sinir sisteminde salusin- β 'nin santral sempatik sistem aktivasyonu, inflamasyon ve oksidatif stres üzerinden kan basıncını artırdığı gösterilmiştir (60-64).

2.6. Heregulin- β 1

71 amino asit dizisine sahip heregulin- β 1 (Nregulin1 tip1), neuregulin gen ailesinden bir büyüme faktörü olup, ErbB3 ve ErbB4 reseptörleri için bir ligandır (65). Neuregulinler büyüme, diferansiyasyon ve neoangiogenezde rolleri vardır. Meme epitel hücreleri, glial hücreler, nöronlar ve kardiyomiyositlerin normal gelişimi sırasında veya hasar sonrası onarımlarında görev almaktadırlar (66, 67).

Neuregulinler ve ErbB reseptörleri insan endotel hücrelerinde yüksek düzeyde eksprese olurlar (68). İnsan endotelinde heregulin ekspresyonu hipoksi ve IL-6, interferon- γ gibi inflamatuvar sitokinler tarafından uyarılır (68, 69). Heregulin- β 1 VEGF gibi anjiyogenik faktörlerin eksprese olmasını, ErbB4 reseptörü aracılığıyla endotel

hücrelerinin migrasyon ve proliferasyonunu uyararak anjiyogeneziste rol alır (70, 71). Heregulin- β 1'in ErbB3'ü uyarması ise endotelial proliferasyonu inhibe eder (72).

İnsan monositlerinin makrofaja dönüşümü sırasında heregulin ve ErbB reseptör ekspresyon düzeyleri artar (73). İnsan monosit/makrofajlarında heregulinlerin ekspresyonu lipopolisakkaridler tarafından uyarılır (74). Heregulin- β 1 insan makrofaj hücrelerinde SR-A reseptörü ve ACAT-1 enzimin suprese edip ATP bağlayıcı kaset transporter A1 (ABCA1) ekspresyonunu arttırarak köpük hücre oluşumunu önlemektedir (73). Heregulin- β 1 ayrıca monosit hücrelerinde siklooksijenaz 2 (COX-2) ekspresyonunu azaltarak proinflamatuvar yanıtı baskılar (75).

Heregulin ekspresyonunun baskılanması VSMC'lerde proliferasyona ve fenotip transformasyonuna sebep olmuştur (76). Başka bir çalışmada heregulin- β 1'in, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) tarafından indüklenmiş VSMC proliferasyonunu ve ekstraselüler matriks üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (77).

Heregulin- β 1 iskemik beyin dokusunda IL-1 β , MCP-1, ICAM-1 ve MMP-9 ekspresyonunu baskılayarak proinflamatuvar cevabı baskılar (75, 78). Ayrıca antioksidan ve antiapoptotik özellikleri olup kardiyomiyositlerde endotelial nitrik oksit sentazı (eNOS) aktive eder (79, 80). İskelet kasına GLUT4 aracılı glukoz alımında, dolayısıyla glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde de heregulinler görev alır (81). Heregulin- β 1'in otonom sinir sistemi üzerinde de olumlu etkileri vardır. Nikotinik asetilkolin reseptörlerini aktive eder (82); vazodilatasyonla sonuçlanan anti-adrenerjik etkiler gösterir (83). Başlıca vazomotor merkezlerden biri olan rostral ventrolateral medullaya heregulin enjeksiyonu sıçanlarda kan basıncını düşürmüştür (84).

ApoE (-/-) farelere kronik heregulin- β 1 infüzyonu aterosklerotik lezyonları ve makrofajların arter duvarına infiltrasyonunu baskılamıştır (73). Heregulin- β 1 zedelenmiş karotis arterde neointimal oluşumu hafifletmiştir (77). Ayrıca heregulinin intravenöz uygulanması sıçanlarda iskemi nedenli kardiyak disfonksiyonu düzeltmiştir (85).

Akut koroner sendromlu hastaların koroner arterlerinin immünohistokimyasal analizinde, ilerlemiş ateromatöz plakların rüptür bölgelerinde heregulin- β 1'in ekspresyonu eser düzeyde iken, erken evrelerden ileri evrelere kadar bütün lezyonlardaki makrofajlarda ekspresyonu yüksek düzeyde saptanmıştır. Ayrıca akut

koroner sendromlu hastalardan alınan trombektomi aspiratında da heregulin- β 1 ekspresyonu eser düzeyde görülmüştür (73). Başka bir çalışmada da insan koroner arter lezyonlarındaki makrofaj köpük hücrelerinde heregulinin ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (74). Plazma heregulin- β 1 düzeylerinin koroner arter hastalarında, koroner arter hastası olmayanlara göre anlamlı düşük olduğu tespit edilmiştir (73). Geisberg ve ark. (86) koroner arter hastalarında hastalığın şiddeti ile plazma heregulin- β 1 düzeyleri arasında negatif korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Heregulin- β 1'in makrofaj ve vasküler hücrelerdeki etkileri **Tablo 1**'de özetlenmiştir (87).

Tablo 1: Heregulin- β 1'in makrofaj ve vasküler hücrelerdeki etkileri

Makrofaj			Vasküler Hücreler	
Köpük hücre oluşumu	↓		ICAM-1/VCAM-1	↓
ACAT1 ekspresyonu	↓		MCP-1 ekspresyonu	↓
CD36/SRA ekspresyonu	↓		IL-1 β /IL-6 ekspresyonu	↓
ABCA1 ekspresyonu	↑		İnflamasyon	↓

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1.Gereçler

Santrifüj	: Sigma 3-18K (Harz, Almanya)
Derin dondurucu	: Haier ULT Freezer (Qingdao, Çin)
ELISA Yıkama	: Biotek Instruments EL x 800 (Winooski, ABD)
ELISA Optik Okuyucu	: Biotek Instruments Reader EL x 50 (Winooski, ABD)
Girdap karıştırıcı	: Velp Scientifice 230 (İstanbul, Türkiye)
Otomatik Pipet (1-10µL)	: Socorex (Ecublens, İsviçre)
Otomatik Pipet (20-200µL)	: Socorex (Ecublens, İsviçre)
Otomatik Pipet (200-1000µL)	: Socorex(Ecublens, İsviçre)
Etüv	: W.C. Herause Hanau (Almanya)
Çalkalayıcı	: Heidolph Titramax 101

3.2.Hasta seçimi ve grupların oluşturulması

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra başlandı. 2015 Mayıs ayından 2016 Eylül ayına kadar Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalında KAH şüphesiyle koroner anjiyografi (KAG) yapılan gönüllüler, onayları alındıktan sonra çalışmaya dahil edildiler.

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

1. Akut koroner sendrom
2. Koroner anjiyoplasti ve koroner bypass hikayesi
3. Kalp yetmezliği
4. Enfeksiyöz hastalık
5. Otoimmün ve inflamatuvar hastalık
6. Malignite

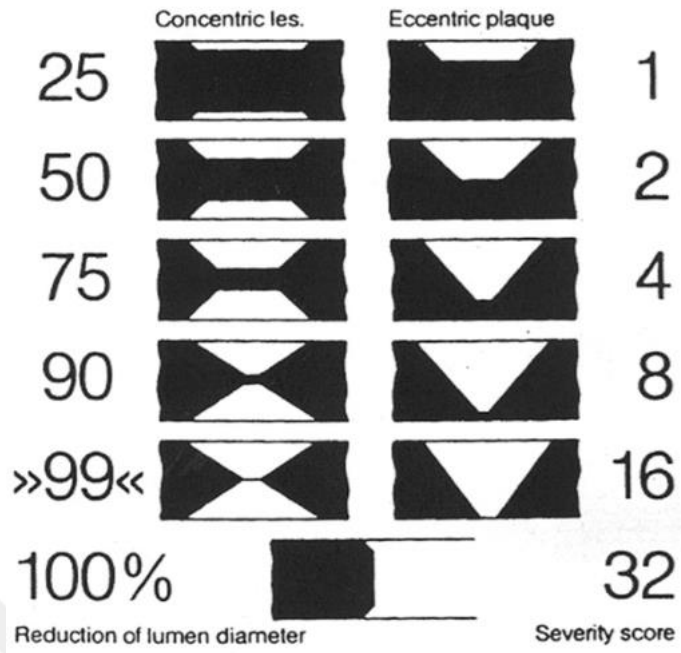
7. Travma
8. Kronik karaciğer ve böbrek hastalığı
9. Serebrovasküler hastalık
10. Periferik arter hastalığı öyküsü olan kişiler

Bu kriterleri karşılayan 168 gönüllü ile dört çalışma grubu oluşturuldu. Koroner anjiyografisi normal olan 55 kişi ile kontrol grubu (**normal KAG**) oluşturuldu. Koroner anjiyografisinde koroner arter darlığı derecesi %50'nin altında olan 35 gönüllü, tıkalı olmayan damar hastalığı (**non-kritik darlık**) grubunu oluşturdu. Bir koroner arterinde %50'nin üzerinde darlık olan 37 kişi tıkalı tek damar hastalığı (**tek damar**) ve birden fazla koroner arterinde %50'nin üzerinde darlık saptanan 41 gönüllü de tıkalı çok damar hastalığı (**çok damar**) grubunu meydana getirdi. Ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırılmak üzere koroner darlığı bulunan son 3 gruptaki 113 kişi ile de **KAH** grubu oluşturuldu. Gruplar arasında klinik ve demografik özellikler (yaş, cinsiyet, aile öyküsü, sigara, hipertansiyon, diyabetes mellitus, dislipidemi, vücut kitle indeksi) ve rutin laboratuvar değerleri (glukoz, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol) açısından fark olmamasına dikkat edildi. Katılımcıların bu bilgileri kendilerinden ve hasta dosyalarından alındı.

3.3.Gensini skoru ve koroner arter hastalığının yaygınlığı

KAH'ın yaygınlık ve şiddetinin tutulan damar sayısı ile değil, mevcut her darlığın damardaki lokalizasyonu ve meydana getirdiği darlığın büyüklüğü ile hesaplandığı bu skorlama sistemi 1983 yılında Gensini (88) tarafından oluşturulmuştur. Bu skorlama sisteminde darlığın büyüklüğüne göre bir katsayı ile lezyonun bulunduğu damar ve o damar üzerindeki lokalizasyonuna göre de başka bir katsayı elde edilir. Bu ikisinin çarpımı bir lezyonun şiddetini gösterir. Her bir lezyon için bu hesaplama yapılarak elde edilen değerler toplanır. Böylece hastanın toplam yaygınlık ve şiddet skoru elde edilmiş olur. **Şekil 7** ve **Şekil 8**'de lezyonun büyüklüğünün ve lokalizasyonunun çarpıldığı katsayılar gösterilmiştir(88).

Çalışmamızda KAH'lı her hastanın Gensini skoru bu hesaplama sistemi ile hesaplanarak kaydedildi.

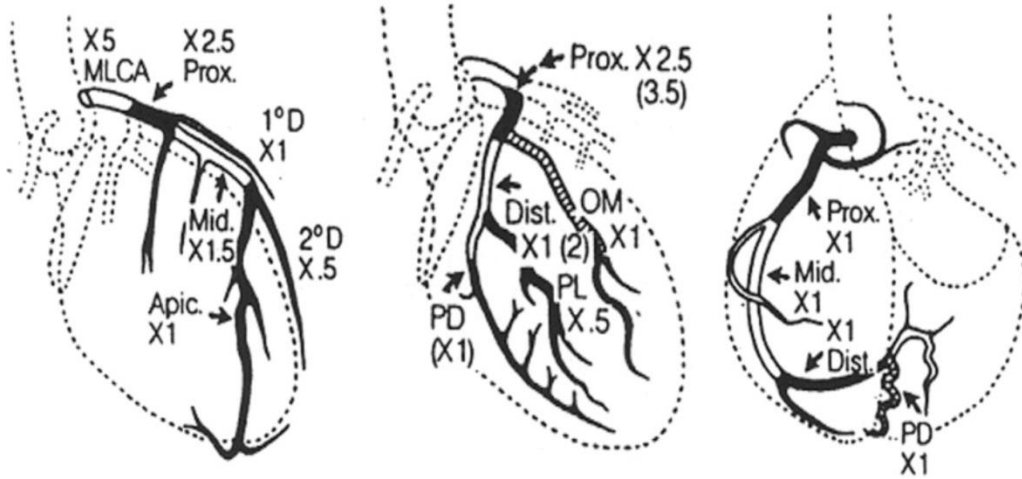


Şekil 7: Gensini darlık yüzdesi ve çarpım katsayısı

MLCA/LAD

CFx

RCA



Şekil 8: Gensini tutulan damar, lezyonun yeri ve çarpım katsayısı (MLCA: Sol ana koroner arter, LAD: Sol ön inen arter, CFx: Sirkumfleks arter, RCA: Sağ koroner arter)

3.4.Kan örneklerinin alınması ve analizi

Gönüllülerden rutin testleri için alınan periferik venöz kan örneklerinin yaklaşık 5 ml'si sarı kapaklı jelli kuru tüplere alınarak 15 dakika 1000 xg'de santrifüj edildi. Elde edilen serumlar analiz tarihine kadar -80 ° C'de saklandı.

Tüm örnekler toplandıktan sonra 'Enzyme Linked Immunosorbent Assay' (ELİSA) yöntemi ile serum salusin- α (Elabscience, Çin; katalog no: E-EL-H5308; varyasyon katsayısı<%10), salusin- β (Elabscience, Çin; katalog no: E-EL-H0928; varyasyon katsayısı<%10), heregulin- β 1 (Elabscience, Çin; katalog no: E-EL-H1883; varyasyon katsayısı<%10) ve hsCRP (DRG, Almanya; katalog no: EIA-3954; varyasyon katsayısı<%10) düzeyleri ölçüldü. Bu ELİSA kitlerinin çalışma prosedürüne göre analizler yapılarak standart eğrileri çizildi ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı. Her bir kitin çalışma prensibi ve prosedürü ile standart eğrisi aşağıda verilmiştir.

3.4.1. Salusin- α 'nın analizi

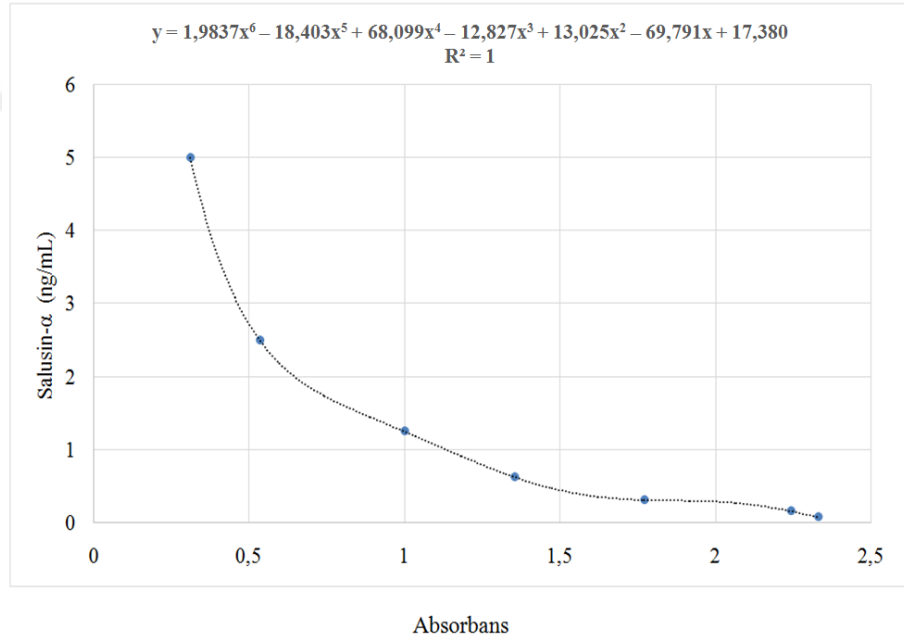
3.4.1.1. Salusin- α çalışma prensibi

Yarışmalı ELISA metoduna dayanan kitin mikrolaka kuyucukları salusin- α ile kaplıdır. Reaksiyon sırasında örnek veya standart içindeki salusin- α ile kuyucuklarda kaplı solid fazdaki salusin- α , insan salusin- α 'sına spesifik biyotinlenmiş saptama antikorları için yarışır. Mikrolaka yıkanarak örnek, standart ve konjugat artıkları uzaklaştırılır. Her kuyucuğa avidin bağlı Horseradish peroksidaz (HRP) enzimi eklenerek inkübe edilir. Sonra her kuyucuğa tetrametilbenzidin (TMB) substrat çözeltisi eklenir. Ardından enzim substrat reaksiyonu sülfürik asit solüsyonu eklenerek durdurulur ve oluşan renk değişikliği spektrofotometrik olarak 450 $\pm$ 2 nm dalga boyunda ölçülür. Standart eğrisine göre salusin- α düzeyleri hesaplanır.

3.4.1.2. Salusin- α çalışma prosedürü

1. Öncelikle standart çözelti hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
2. ELISA mikrolaka kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 50 μ L eklendi.

3. Ardından hızlı bir şekilde her kuyucuğa 50 µL biyotinlenmiş antikor eklendi.
4. 37 ° C’de 45 dakika inkübe edildi.
5. Daha sonra ELISA yıkama cihazında kuyucuklar aspire edilerek 3 defa yıkandı.
6. Her kuyucuğa 100 µL HRP konjugatı eklendi.
7. 37 ° C’de 30 dakika inkübe edildi.
8. ELISA yıkama cihazında kuyucuklar aspire edilerek 5 defa yıkandı.
9. Her kuyucuğa 90 µL substrat reaktifi eklendi.
10. 37 ° C’de 10 dakika inkübe edildi.
11. 50 µL stop solüsyonu her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
12. Standart eğrisi oluşturularak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 9).



Şekil 9: Salusin-α standart eğrisi

3.4.2. Salusin-β’nin analizi

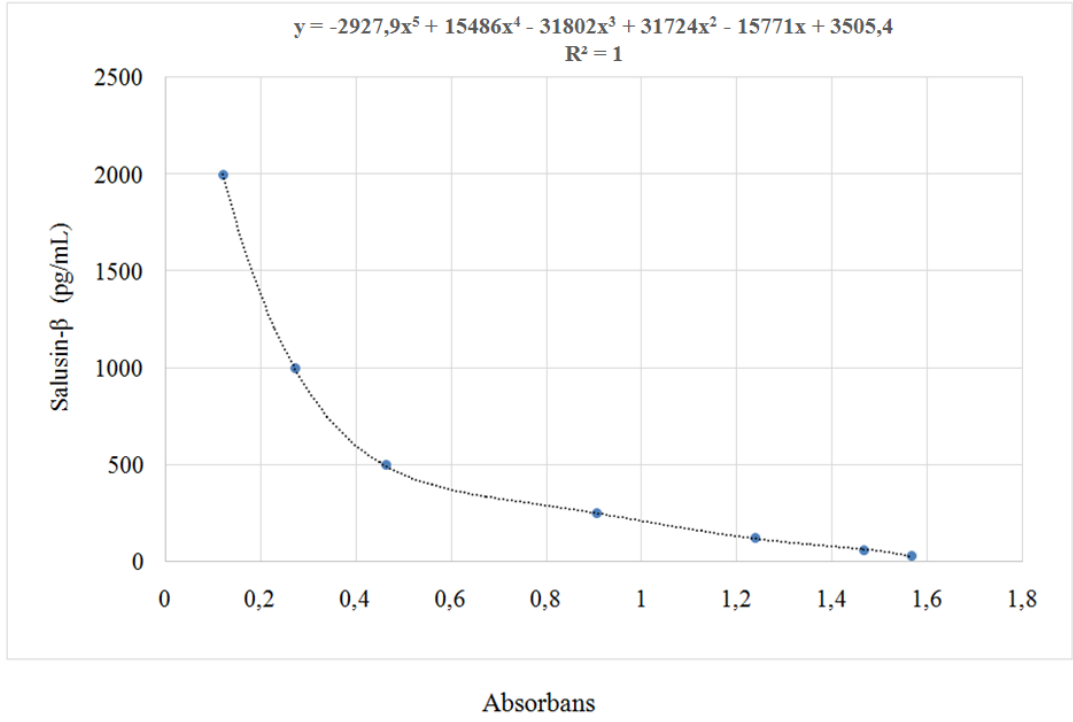
3.4.2.1. Salusin-β çalışma prensibi

Yarışmalı ELISA metoduna dayanan kitin mikropılaka kuyucuları salusin-β ile kaplıdır. Reaksiyon sırasında örnek veya standart içindeki salusin-β ile kuyucuklarda

kaplı solid fazdaki salusin- β , insan salusin- β 'sına spesifik biyotinlenmiş saptama antikoru için yarışır. Mikroplaka yıkanarak bağlanmamış örnek, standart ve konjugat artıkları uzaklaştırılır. Her kuyucuğa avidin bağlı HRP eklenerek inkübe edilir. Sonra her kuyucuğa TMB substrat çözeltisi eklenir. Ardından enzim substrat reaksiyonu sülfürik asit solüsyonu eklenerek durdurulur ve oluşan renk değişikliği spektrofotometrik olarak 450 ± 2 nm dalga boyunda ölçülür. Standart eğrisine göre salusin- β düzeyleri tespit edilir.

3.4.2.2. Salusin- β çalışma prosedürü

1. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
2. ELISA mikroplaka kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 50 μ L eklendi.
3. Ardından hızlıca her kuyucuğa 50 μ L biyotinlenmiş antikor eklendi.
4. 37 ° C'de 45 dakika inkübe edildi.
5. Daha sonra ELISA yıkama cihazında kuyucuklar aspire edilerek 3 defa yıkandı.
6. Her kuyucuğa 100 μ L HRP konjugatı eklendi.
7. 37 ° C'de 30 dakika inkübe edildi.
8. ELISA yıkama cihazında kuyucuklar aspire edilerek 5 defa yıkandı.
9. Her kuyucuğa 90 μ L substrat reaktifi eklendi.
10. 37 ° C'de 10 dakika inkübe edildi.
11. 50 μ L stop solüsyonu her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
12. Standart eğrisi oluşturularak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (**Şekil 10**).



Şekil 10: Salusin-β standart eğrisi

3.4.3. Heregulin-β1'in analizi

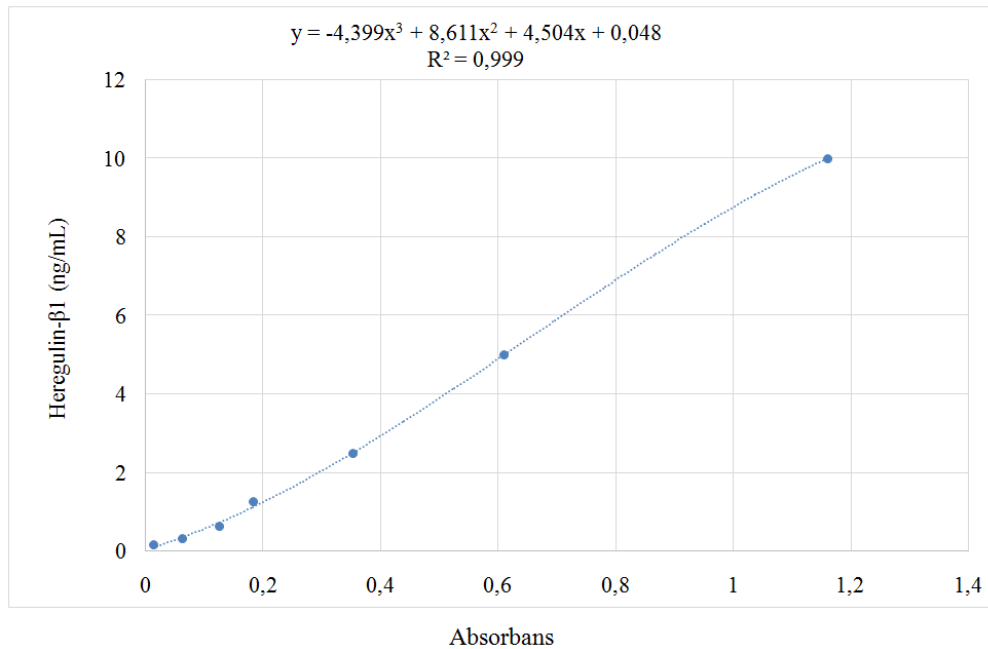
3.4.3.1. Heregulin-β1 çalışma prensibi

Sandviç ELISA metoduna dayanan kitin mikropilaka kuyucukları insan neuregulin-1'ine spesifik antikor ile kaplıdır. Kuyucuklara eklenen standart veya örneklerdeki neuregulin-1 solid fazdaki spesifik antikora bağlanır. Sonra her kuyucuğa biyotinlenmiş spesifik saptama antikorunu ile avidin bağlı HRP konjugatı eklenir. İnkübasyondan sonra serbest bileşenler yıkama ile uzaklaştırılır. Her kuyucuğa substrat eklenerek enzim-substrat reaksiyonu gerçekleştirilir. Ardından sülfürik asit eklenerek reaksiyonun durması sağlanır. Oluşan rengin absorbansı 450±2 nm dalga boyunda ölçülür. Oluşturulan standart eğrisine göre örneklerin konsantrasyonları hesaplanır.

3.4.3.2. Heregulin-β1 çalışma prosedürü

1. Standart stok çözeltisi hazırlanarak belirtilen oranlarda seyreltmeler yapıldı.
2. ELISA mikropilaka kuyucuklarının her birine standart veya örnekten 100 µL eklendi.

3. 37 ° C’de 90 dakika inkübe edildi.
4. Kuyucuklardaki standart ve örnek sıvıları aspire edildi.
5. Ardından hızlıca her kuyucuğa 100 µL biyotinlenmiş antikor eklendi.
6. 37 ° C’de 1 saat inkübe edildi.
7. Daha sonra ELISA yıkama cihazında kuyucuklar aspire edilerek 3 defa yıkandı.
8. Her kuyucuğa 100 µL HRP konjugatı eklendi.
9. 37 ° C’de 30 dakika inkübe edildi.
10. ELISA yıkama cihazında kuyucuklar aspire edilerek 5 defa yıkandı.
11. Her kuyucuğa 90 µL substrat reaktifi eklendi.
12. 37 ° C’de 10 dakika inkübe edildi.
13. 50 µL stop solüsyonu her bir kuyucuğa eklenerek 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
13. Standart eğrisi oluşturularak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 11).



Şekil 11: Heregulin-β1 standart eğrisi

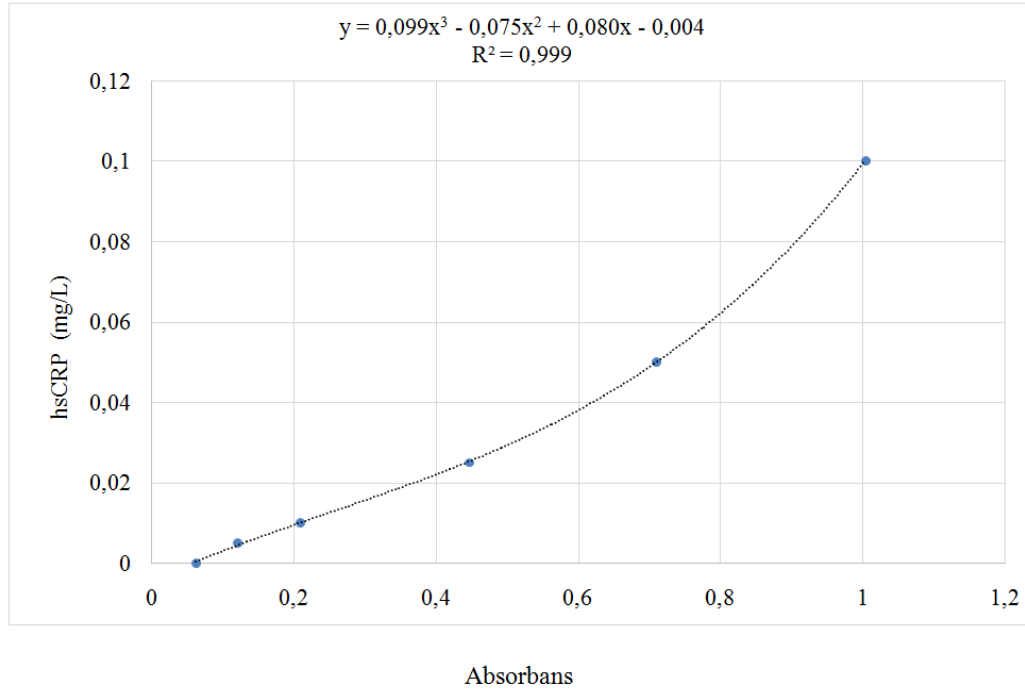
3.4.4. hsCRP'nin analizi

3.4.4.1. hsCRP çalışma prensibi

Sandviç ELISA metoduna dayanan kitin mikrolaka kuyucukları anti-CRP antikoru ile kaplıdır. Kuyucuklara eklenen standart veya örneklerdeki CRP solid fazdaki antikora bağlanır. Sonra her kuyucuğa HRP ile konjuge edilmiş saptama antikoru eklenir. Oda ısısında 45 dakika beklendikten sonra serbest bileşenler yıkama ile uzaklaştırılır. Her kuyucuğa TMB substratı eklenerek enzim-substrat reaksiyonu gerçekleştirilir. Ardından hidroklorik asit eklenerek reaksiyonun durması sağlanır. Oluşan rengin absorbansı spektrofotometrik olarak 450 nm dalga boyunda ölçülür. Oluşturulan standart eğrisine göre örneklerin konsantrasyonları tespit edilir.

3.4.4.2. HsCRP çalışma prosedürü

1. Tüm örnekler 1:100 oranında seyreltildi.
2. Mikrolaka kuyucuklarına standart ve örneklerin her birinden 10 µL eklendi.
3. Her kuyucuğa 100 µL enzim konjugat reaktifi eklendi.
4. Oda sıcaklığında 45 derece bekletildi.
5. Yıkama cihazında sıvılar aspire edilerek 5 kez yıkama yapıldı.
6. Her kuyucuğa 100 µL TMB eklendi.
7. Oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.
8. 100 µL stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.
9. 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.
10. Standart eğrisi oluşturularak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı
(Şekil 12).



Şekil 12: hsCRP standart eğrisi

3.5.İstatistiksel yöntemler

Çalışmamızın kategorik verileri ‘%’ olarak, nicel verileri ise ortalama $\pm$ standart sapma (Ort $\pm$ SD) olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz ‘IBM SPSS Statistics 20’programı kullanılarak yapıldı. Kategorik veriler için ki-kare testi yapıldı. Nicel veriler için normallik testiyle verilerin dağılım özelliği değerlendirildi. Normal dağılım gösteren verilere ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ve bağımsız gruplar student t testi; normal dağılım göstermeyen verilere ise Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testi uygulandı.Spearman testi ile korelasyon analizi yapıldı. Eşik değerlerinin saptanması için ROC (Reciever operating characteristic) analizi yapıldı. $p<0.05$ değeri tüm istatistiksel analizler için anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1.Başlangıç klinik ve laboratuvar değerleri

Katılımcıların başlangıç klinik özellikleri ve laboratuvar değerleri **Tablo 2**'de verilmiştir.

Bu parametreler hem dört grup arasında, hem de koroner arter hastalığı olmayanlar (Normal KAG) ve koroner arter hastalığı (KAH) olanlar şeklinde ikili olarak karşılaştırıldı. Hem dörtlü hem de ikili karşılaştırmada, değerlendirilen hiçbir parametre için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (**Tablo 2**).



Tablo 2: Hastaların başlangıç klinik özellikleri ve laboratuvar değerleri

	Normal KAG (n=55)	Non-kritik darlık (n=35)	Tek damar (n=37)	Çok damar (n=41)	p değeri*	KAH (n=113)	p değeri**
Yaş (Ort ± SD)	58.58± 8.47	61.25±10.40	61.75±8.85	61.14±7.78	0.286	61.38±8.93	0.054
Cinsiyet (Erkek) (%)	60.0	60.0	70.3	78.0	0.221	69.9	0.201
KAH aile öyküsü (%)	23.6	14.3	8.1	17.1	0.259	13.3	0.091
Sigara (%)	23.6	31.4	27.0	36.6	0.557	31.9	0.271
HT (%)	81.8	80.0	78.4	78.0	0.967	78.8	0.644
DM (%)	36.4	40.0	43.2	48.8	0.667	44.2	0.331
DL (%)	69.1	80.0	78.4	80.5	0.508	79.6	0.132
VKİ (%)	29.20±4.74	29.52±4.94	29.05±4.99	28.81±4.55	0.993	29.11±4.79	0.845
SKB (mmHg) (Ort ± SD)	137.90±14.60	142.85±20.01	138.27±20.15	138.65±17.85	0.520	139.83±19.23	0.442
Glukoz (mg/dL) (Ort ± SD)	107.90±38.08	126.05±56.55	116.21±49.66	125.37±57.63	0.404	122.51±54.49	0.097
Total Kolesterol (mg/dL) (Ort ± SD)	186.36±41.58	201.25±48.20	191.05±41.94	181.68±51.70	0.286	190.81±47.85	0.556
LDL Kolesterol (mg/dL) (Ort ± SD)	125.41±37.95	137.51±42.81	127.18±35.32	122.53±46.00	0.411	128.69±41.86	0.624
HDL Kolesterol (mg/dL) (Ort ± SD)	46.12±10.43	44.88±12.02	44.48±13.21	41.39±12.62	0.156	43.48±12.63	0.056

HT: Hipertansiyon, DM: Diyabetes mellitus, DL: Dislipidemi, VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, KAG: Koroner anjiyografi, Non-kritik darlık: Tıkalı olmayan damar hastalığı, Tek damar: Tıkalı tek damar hastalığı, Çok damar: Tıkalı çok damar hastalığı, KAH: Koroner arter hastalığı, * Dört grubun karşılaştırılması, ** Normal KAG ve KAH grubunun karşılaştırılması

4.2.Serum salusin- α , salusin- β , heregulin- β 1, hsCRP düzeyleri ve Gensini skoru

Grupların serum salusin- α , salusin- β ve heregulin- β 1 düzeyleri ile Gensini skorları **Tablo 3**'te verilmiştir.

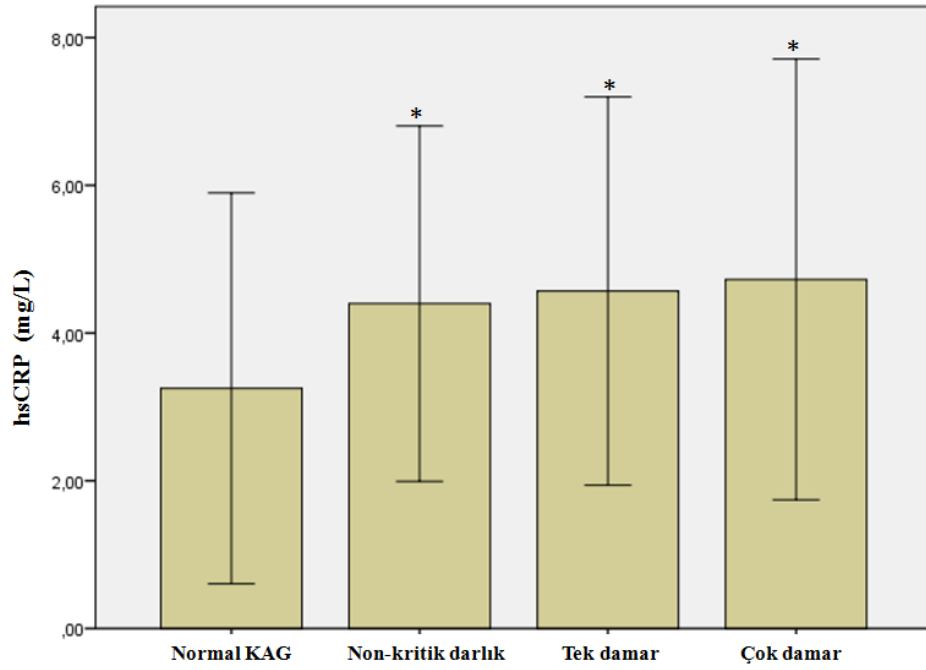
Grupların dörtlü karşılaştırmasında salusin- α düzeyleri bakımından anlamlı bir fark gözlenmezken; salusin- β , heregulin- β 1 ve hsCRP düzeylerinde anlamlı farklılık tespit edildi (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.001$ ve $p<0.05$). Gensini skorunda da anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0.001$).

Tablo 3: Serum salusin- α , salusin- β , heregulin- β 1 düzeyleri ve Gensini skoru (Ort $\pm$ SD)

	Normal KAG (n=55)	Non-kritik darlık (n=35)	Tek damar (n=37)	Çok damar (n=41)	p değeri
Gensini skoru		4.72 $\pm$ 3.38	20.02 $\pm$ 16.50	56.96 $\pm$ 28.69	0.000
Salusin- α (ng/mL)	2.21 $\pm$ 11.17	2.39 $\pm$ 1.98	2.47 $\pm$ 1.39	2.31 $\pm$ 1.57	0.844
Salusin- β (pg/mL)	448.89 $\pm$ 269.05	629.61 $\pm$ 377.42	654.21 $\pm$ 423.40	647.91 $\pm$ 409.48	0.047
Heregulin- β 1 (ng/mL)	4.59 $\pm$ 2.92	2.21 $\pm$ 1.71	6.26 $\pm$ 2.62	2.79 $\pm$ 2.13	0.000
hsCRP (mg/L)	3.25 $\pm$ 2.64	4.39 $\pm$ 2.40	4.56 $\pm$ 2.62	4.72 $\pm$ 2.98	0.019

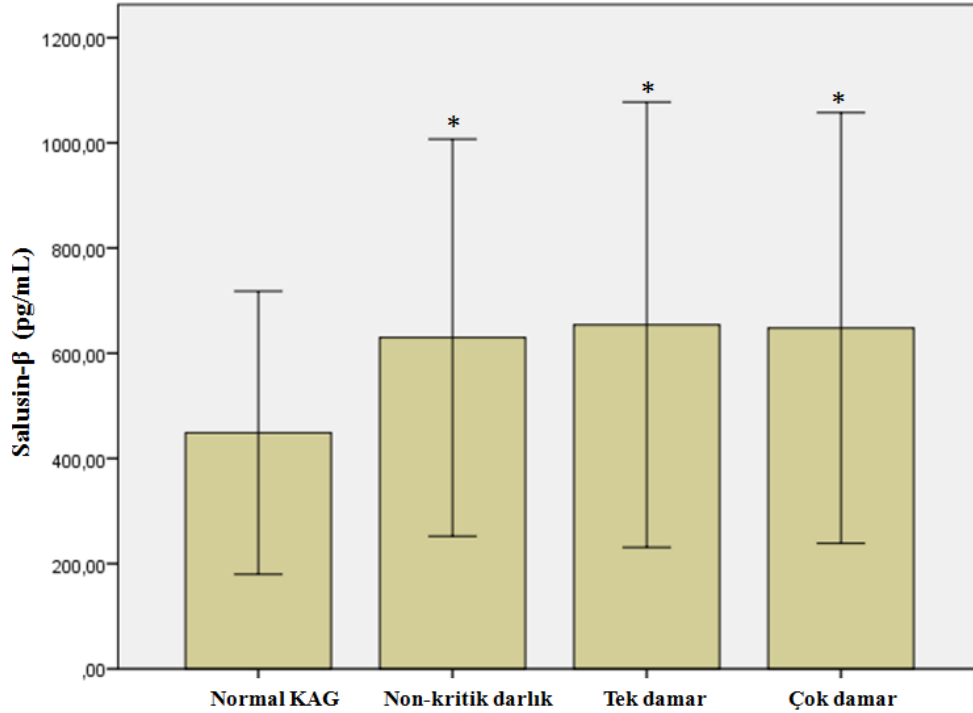
Anlamlı fark tespit edilen parametreler için gruplar ikili olarak karşılaştırıldı.

Koroner anjiyografisi normal olan grupta (Normal KAG) hsCRP düzeyleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$, herbiri için). Diğer grupların ikili karşılaştırmalarında ise anlamlı bir fark yoktu (**Şekil 13**).



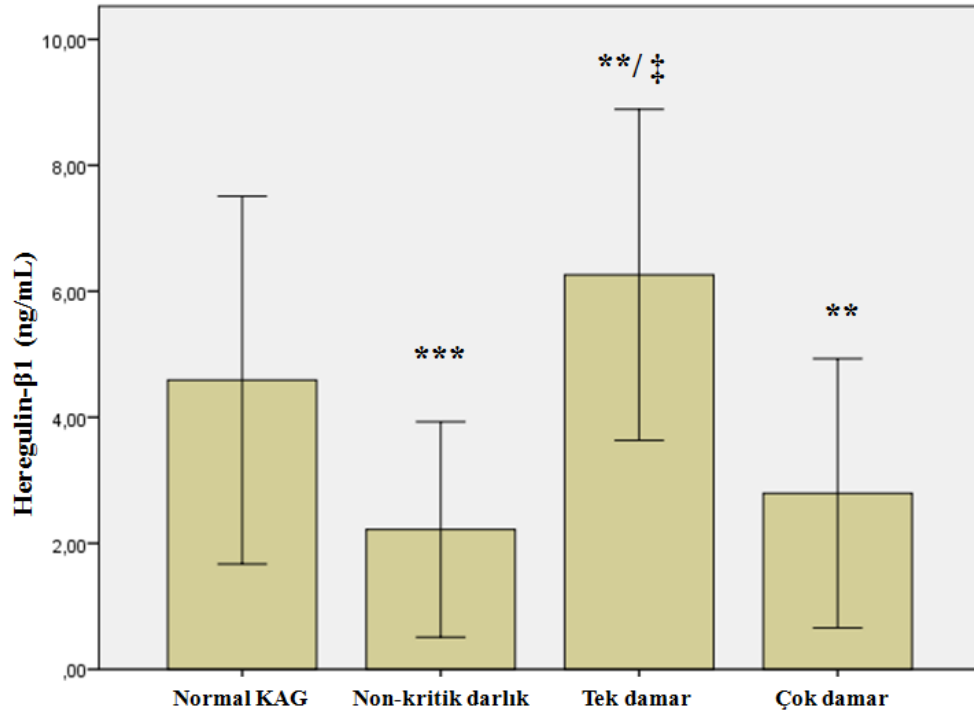
Şekil 13: Serum hsCRP (*p < 0.05, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

Serum salusin- β düzeyleri de koroner anjiyografisi normal olan grupta KAH bulunan diğer üç gruptan anlamlı düşük bulundu (p<0.05). Diğer üç grubun salusin- β düzeyleri arasındaki fark anlamlı değildi (**Şekil 14**).



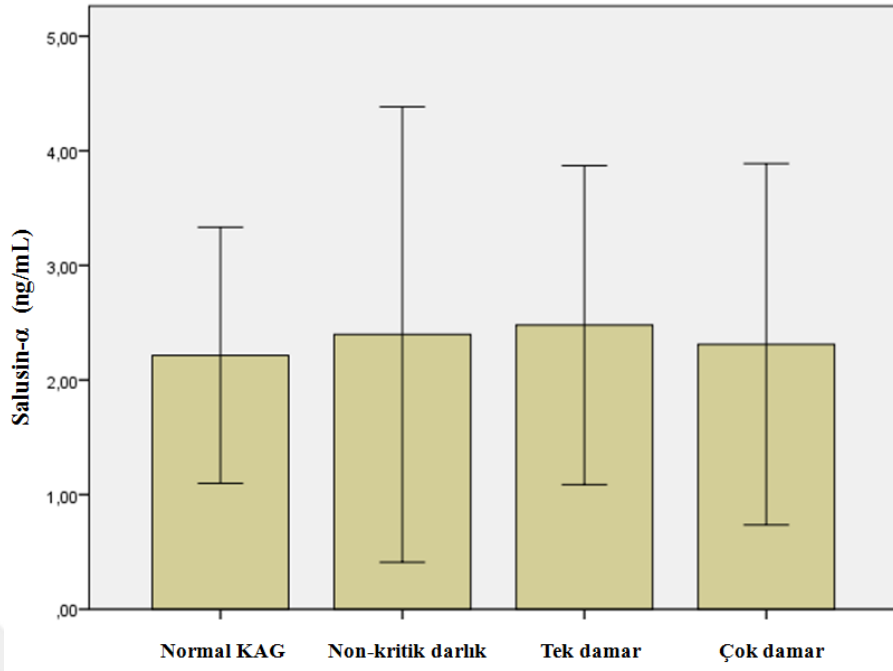
Şekil 14: Serum salusin- β (*p < 0.05, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

‘Normal KAG’ grubunda serum heregulin- β 1 seviyeleri ‘Non-kritik darlık’ ve ‘Çok damar’ gruplarına göre anlamlı yüksek iken (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.01$), ‘Tek damar’ grubuna göre düşük saptandı ($p < 0.01$). Ayrıca ‘Tek damar’ grubunun serum heregulin- β 1 düzeyleri ‘Non-kritik darlık’ ve ‘Çok damar’ gruplarından da anlamlı yüksekti ($p < 0.001$ herbiri için)(Şekil 15).



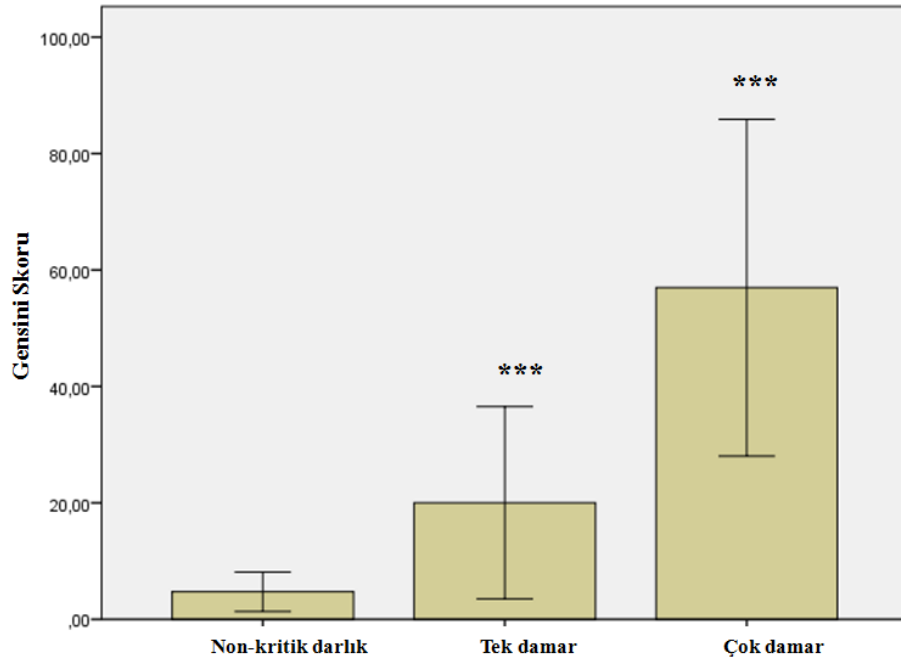
Şekil 15: Serum heregulin- β 1 (***) $p < 0.001$, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ; ** $p < 0.01$ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; ‡ $p < 0.001$ non-kritik darlık ve çok damar gruplarıyla karşılaştırıldığında)

Gruplar arasında serum salusin- α düzeyleri istatistiksel bir farklılık göstermedi(Şekil 16).



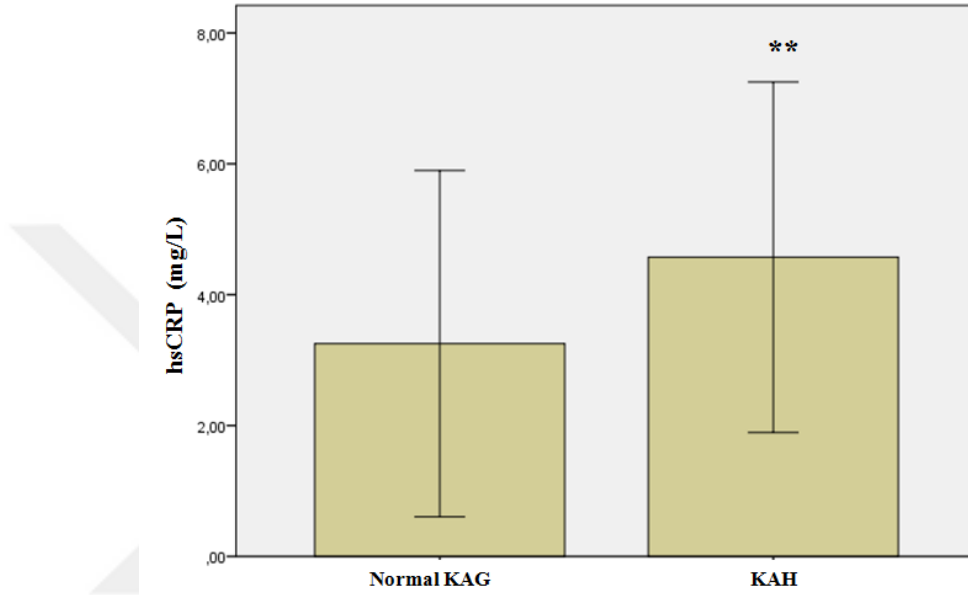
Şekil 16: Serum salusin-α

KAH bulunan her üç grubun Gensini skoru istatistiksel olarak birbirlerinden farklıydı ($p < 0.001$, herbiri için) (Şekil 17).

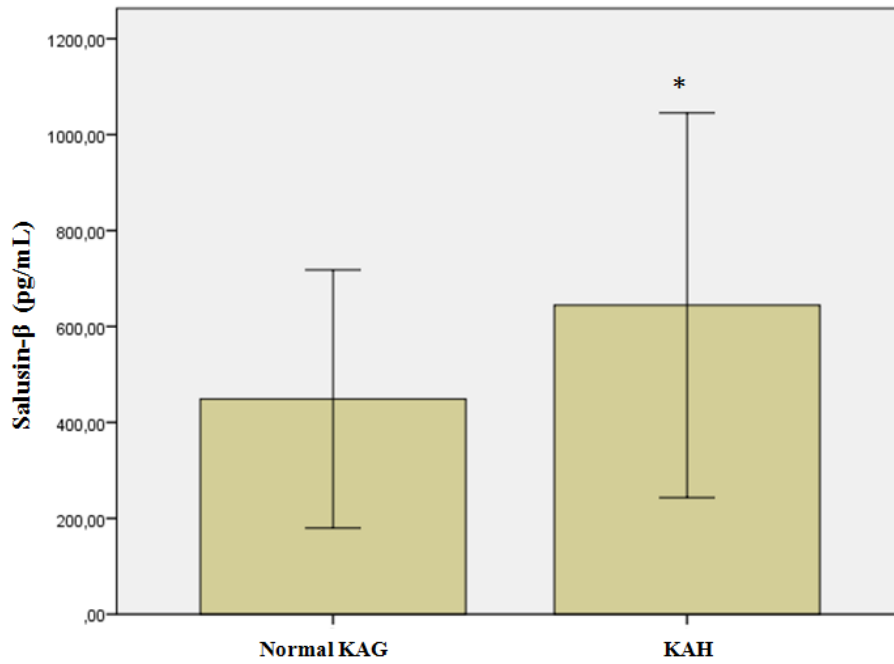


Şekil 17: Gensini skoru (***) $p < 0.001$ tek damar → non-kritik darlık, çok damar → non-kritik darlık, çok damar → tek damar)

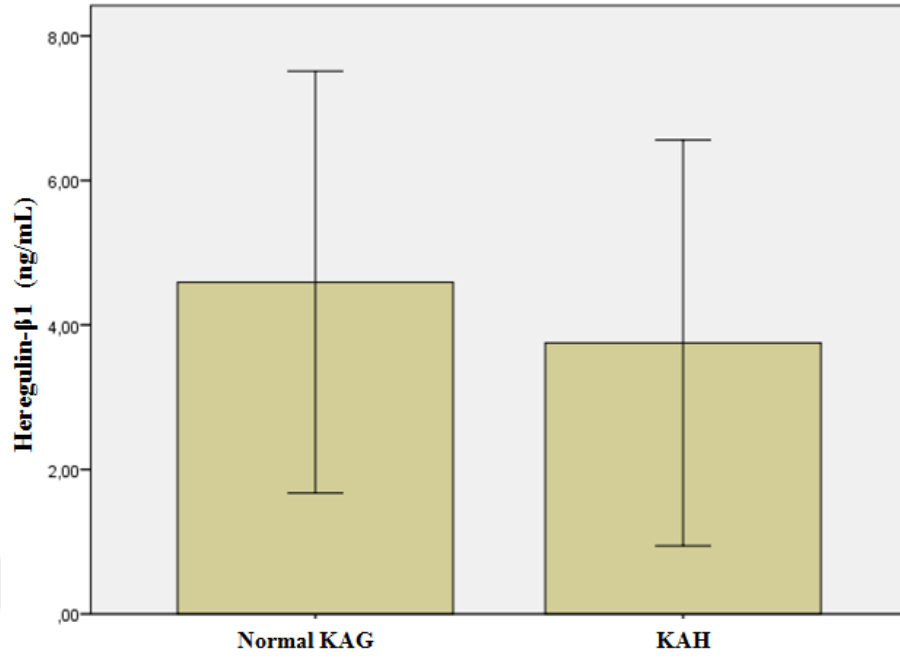
KAH varlığına göre de karşılaştırma yapıldı. Bu durumda ‘normal KAG’ grubu, KAH grubuna göre daha düşük hsCRP ve salusin- β düzeylerine sahip iken (sırasıyla $p < 0.01$, $p < 0.05$); salusin- α ve heregulin- $\beta 1$ düzeyleri bakımından iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (Şekil 18, Şekil 19, Şekil 20, Şekil 21).



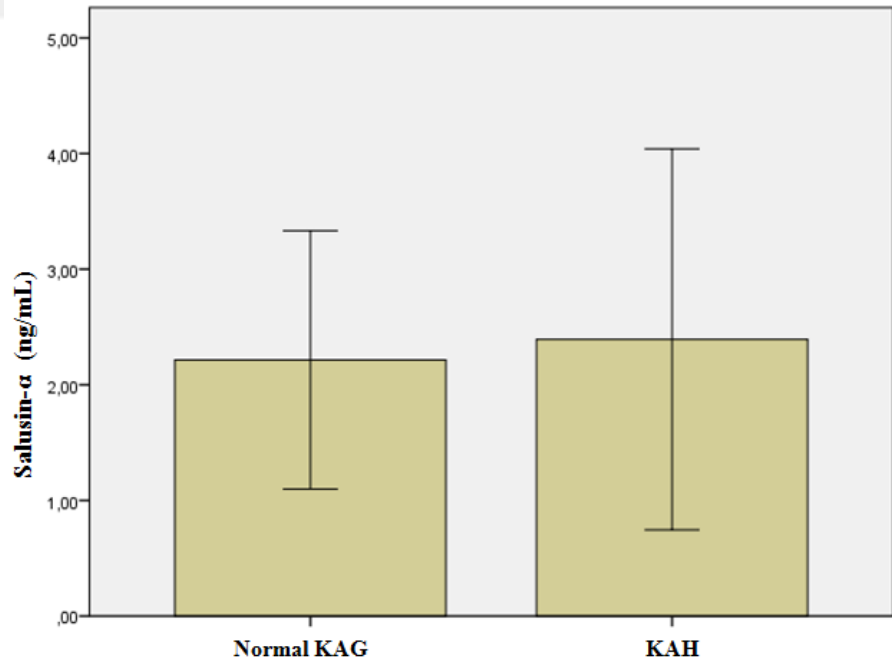
Şekil 18: Serum hsCRP (** $p < 0.01$)



Şekil 19: Serum salusin- β (** $p < 0.05$)



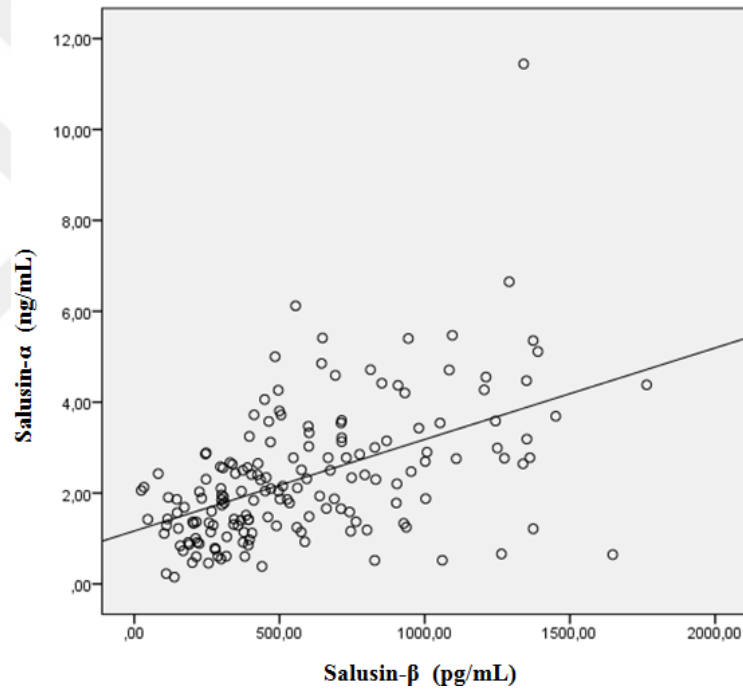
Şekil 20: Serum heregulin-β1



Şekil 21: Serum salusin-α

4.3.Korelasyon analizi

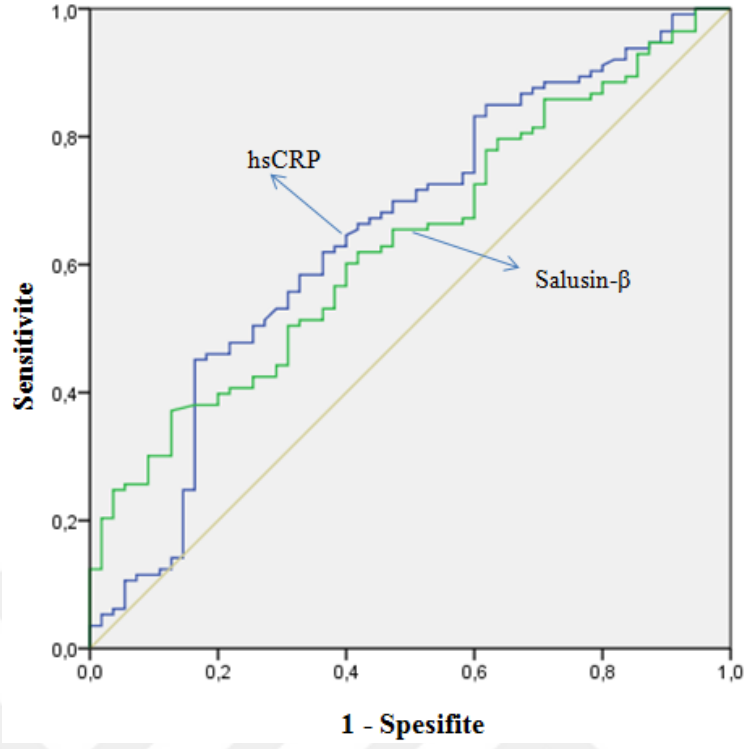
Araştırdığımız dört serum parametresi ve Gensini skorunun diğer parametrelerle beraber korelasyon analizi yapıldı. Salusin- α ile salusin- β arasında orta derecede pozitif bir korelasyon ($r=0.522$, $p=0.000$) (Şekil 22), salusin- β ile hsCRP arasında($r=0.246$, $p=0.001$) ve salusin- α ile heregulin- $\beta 1$ ($r=0.242$, $p=0.002$) arasında ise zayıf pozitif bir korelasyon tespit edildi. Gensini skoru ile herhangi bir parametre arasında anlamlı bir korelasyon bulunamadı. Ayrıca bu parametrelerle katılımcıların başlangıç klinik ve laboratuvar değerleri arasında da anlamlı bir korelasyon tespit edilmedi.



Şekil 22: Salusin- α ve salusin- β 'nin korelasyon grafiği($r=0.522$, $p < 0.001$)

4.4.ROC eğrileri

Salusin- β ve hsCRP için ROC analizi yapıldı ve her bir parametre için birer eşik değeri belirlenerek, sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri (PPD ve NPD) hesaplandı (Şekil 23, Tablo 4).



Şekil 23: Salusin- β ve hsCRP için ROC eğrisi

Tablo 4: Seçilen eşik değerlerinde salusin- β ve hsCRP için sensitivite, spesifite, PPD ve NPD yüzdeleri

	Eşik değeri	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)
Salusin- β	449.79 pg/mL	60.18	60.00	77.27	42.31
hsCRP	3.41 mg/L	61.90	63.63	77.78	44.87

PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer

5. TARTIŞMA

Günümüzün en önemli mortalite nedenlerinden biri olan KAH'nın başlıca nedeni "ateroskleroz" ve buna eklenen trombozudur. Aterosklerozdan, vasküler endotelyumda birçok aterojenik uyarana (hiperkolesterolemi, sigara, diyabet, yaşlanma, hiperhomosisteinemi, oksidan-antioksidan dengesinde bozulma, vb) karşı oluşan kronik inflamatuvar bir reaksiyon sorumlu tutulmuş ve aterosklerozun kronik inflamatuvar bir hastalık olduğu ileri sürülmüştür. Aterosklerotik olayın başlangıcından ilerlemesine kadar olan her evrede inflamasyonun rolü olduğu belirtilmektedir (89). Yapılan literatür taramasında aterosklerozun patogenezinde yer aldığı ileri sürülen inflamasyonun salusin- α , salusin- β , heregulin- β 1 ve hsCRP parametrelerinin birlikte ele alındığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda anjiyografik olarak KAH olduğu ispatlanmış hastalarda, dolaşımdaki salusin- α , salusin- β ve heregulin- β 1 düzeyleri ile KAH yaygınlığı ve şiddeti arasındaki ilişkinin irdelenmesi amaçlandı. Ayrıca bu peptidlerin ateroskleroz için bir biyobelirteç olarak kabul gören hsCRP ile ilişkileri de değerlendirildi.

Araştırmamızda serum glukoz düzeyi, total kolesterol, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeyleri dört grup arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Dört grup arasında salusin- α düzeylerinin de anlamlı farklılık göstermediği, salusin- β , heregulin- β 1 ve hsCRP düzeylerinin ise anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmalarda salusin- α 'nın ateroskerozu önlediği, salusin- β 'nin ise proaterojenik olduğu belirtilmektedir. Salusin- α aterosklerotik plak gelişiminde çok önemli bir proses olan köpük hücre oluşumunu, makrofaj köpük hücre oluşumunda anahtar bir enzim olan ACAT-1'in downregülasyonu ile baskıarken, salusin- β 'nin ACAT-1'in upregülasyonu ile stimüle ettiği gösterilmiştir (48). Araştırmamızda salusin- α düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Watanabe ve ark (48) yaptıkları bir çalışmada serum salusin- α düzeylerini KAH'da sağlıklı kişilere göre ve 3 damar hastalığı olanlarda da tek damar hastalığı olanlara göre anlamlı düşük bulmuşlardır. Salusin- α düzeyleri ile KAH şiddeti arasında negatif korelasyon saptanmıştır.

Yapılan klinik çalışmalar salusinlerin ateroskleroz ve hipertansiyon gibi hastalıklarla ilişkili olduğunu göstermektedir. Du ve ark. (90) KAH olan grupta olmayanlara göre serum salusin- α düzeylerini daha düşük saptamışlar ve salusin- α

düzeyleri ile KAH'ın şiddeti arasında negatif korelasyon bulmuşlardır. Salusin- α 'nın, KAH'ın gelişimi ve progresyonunu öngörmeye potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Watanabe ve ark.'nın (91) 70 hipertansif ve 20 sağlıklı gönüllü ile yaptıkları bir çalışmada, serum salusin- α düzeylerinin hipertansif olanlarda daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca karotis aterosklerozunun bir göstergesi olan 'karotis maksimal intima media kalınlığı' ile salusin- α düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir.

Ti ve ark. (92) karotis plağı olan hipertansif kişilerin, plak olmayan hipertansif ve normotansif kişilere göre daha düşük serum salusin- α düzeylerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Plak olmayan hipertansif grubun normotansif gruptan daha düşük salusin- α düzeylerine sahip olduğunu saptamışlardır. Bütün gruplar birlikte ele alındığında serum salusin- α düzeylerinin, 'karotis ortalama intima media kalınlığı' ile negatif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Hipertansif grup, ekokardiyografik sol ventrikül hipertrofisi olanlar ve olmayanlar olarak ayrıldıklarında birinci grubun daha düşük serum salusin- α düzeylerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak komplike hipertansif hastalık ile düşük serum salusin- α düzeyleri birlikteliğinin olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Anti-aterosklerotik etkiler gösterdiği bildirilen salusin- α 'nın dolaşım ve vasküler doku düzeylerindeki azalmasının, insan ateroskleroza yakından ilişkili olduğu gösterilmesine rağmen çalışmamızda serum salusin- α düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Salusin- α 'nın KAH'daki aterogenezi doğrudan etkilemediği görülmektedir. Bu nedenle, salusin- α 'nın ilerlemiş aterogenezi baskılayamadığı düşünülmektedir. Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarının sayısının kısıtlı olması dezavantaj olarak görülebilir. Bununla birlikte, Kimoto ve ark. (93) yaptıkları bir çalışmada böbrek yetmezliğinde karotid arterin plak skorunun serum salusin- α düzeyi ile negatif korelasyon göstermediği bildirmişlerdir.

Salusin- α ve salusin- β inflamatuvar hücreler tarafından eksprese edilirler (48, 55). Böylece KAH'da, TNF- α veya diğer proinflamatuvar uyarılar ve kompensatuvar mekanizmalarla birlikte inflamatuvar hücrelerden salusin- α salınımının artması çalışmamızda salusin- α 'nın kontrol grubuna göre diğer grupların farklılık göstermemesine neden olabilir. Salusin- α 'nın ateroskleroz mekanizmasındaki rolünü ve

salusin- α ile diğer iyi bilinen ateroskleroz belirteçleri arasındaki korelasyonlarını değerlendiren ileri araştırmalara gerek vardır.

Plazma salusin- β düzeyleri diabetes mellitusta, KAH ve serebrovasküler hastalıkta sağlıklı kontrollere göre anlamlı artış göstermiştir (94). Koroner anjiyografiye göre KAH olanların, olmayanlara göre daha yüksek salusin- β düzeylerine sahip olduğu, KAH'ın şiddeti ile salusin- β arasında pozitif korelasyonun olduğu saptanmıştır (95).

Yılmaz ve ark. (96) ST elevasyonlu miyokard infarktüsü (STEMI) olan hastalarda yatışta ve tedaviden sonra salusin- α ve salusin- β düzeyindeki değişimi araştırmışlardır. STEMI'li hastalarda, sağlıklı gönüllülere göre salusin- α düzeyleri anlamlı olarak azalmış ve salusin- β düzeyleri ise anlamlı olarak artmış olarak bulunmuştur. Tedavi sonrası 7. günde yatış zamanına göre salusin- α düzeyleri anlamlı olarak artmış, salusin- β düzeyleri ise anlamlı olarak düşmüş olmasına rağmen; sağlıklı bireylere göre salusin- α 'nın hala anlamlı olarak düşük, salusin- β 'nin ise anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır. Salusin- α düzeyleri ile nabız sayısı arasında negatif korelasyon bulunurken salusin- β düzeyleri ile biyokimyasal parametreler arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Bu çalışmanın verileri, akut vakalarda salusin- α düzeylerinin azaldığı ve salusin- β düzeylerinin arttığı gerçeğini desteklemektedir.

Araştırmamızda serum salusin- β düzeyleri koroner anjiyografisi normal olan grupta KAH'ı olan üç gruba göre anlamlı olarak düşük bulunurken, diğer üç grubun salusin- β düzeyleri arasındaki farklılığın anlamlı olmadığı saptanmıştır. Bulgularımıza göre biyoaktif bir peptid olan salusin- β 'nin vasküler inflamasyona katılımı salusin- α 'dan daha fazla gibi görünmektedir. Artmış salusin- β , aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkları öngörmeye umut verici bir aday biyobelirteç olabilir.

Çalışmamızda tüm peptidler için en uygun eşik değerlerinde duyarlılık ve özgüllüğü %70'in altında saptadık. Sonuçlarımızın aksine Sato ve ark. (56) yaptıkları ROC analizinde AUC değerlerini salusin- α için 0.916 ve salusin- β için ise 0.781 olarak tespit etmişler; salusin- α için 8.5 pM ve salusin- β için 4.4 nM eşik değerlerinde duyarlılıkları sırasıyla %82 ve %70, özgüllükleri ise sırasıyla %93 ve %75 olarak hesaplamışlardır. Bu nedenle, azalmış serum salusin- α düzeylerinin, artmış salusin- β yerine KAH'ı saptamak için daha güvenilir bir biyobelirteç olabileceğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ayrıca salusin- β ile salusin- α arasında orta derecede pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Salusin- α ve salusin- β 'nin biyosentezi için düzenleyici mekanizmalar yeterince araştırılmadığı halde, aynı prekürsör olan preprosalusinden

biyosentezlenirler ve bunların ifadelerinin uyum içinde olduğu bildirilmiştir (38). Bu nedenle korelasyonun sebebi iki peptidin biyosentezlerinin ortak bir preprosalusin prekürsöründen meydana geliyor olmaları olabilir. Bazı biyolojik fonksiyonları birbirinden farklı olmasına rağmen her iki salusinde kan basıncını düşüren vazodilatörlerdir. Söz konusu ilişkinin mekanizmasını tam olarak anlayabilmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Fare ateroskleroz modellerinde salusinlerin kolesterol profilinde değiştirebileceği gösterilmiştir. Bir çalışmada salusin- β 'nin serum LDL kolesterolü arttırdığı bildirilirken (51), bir diğerinde plazma lipidlerinde değişiklik meydana getirmediği belirtilmiştir (52). Salusin- α nın ise HDL kolesterol düzeyini artırdığı (50, 52) total kolesterol düzeyini ise düşürdüğü saptanmıştır (50).

Lipid düşürücü diyet ve fiziksel aktivitede artış gibi yaşam tarzı değişiklikleri veya atorvastatin uygulamasının serum salusin- α düzeyini ve lipid profilini değiştirdiği bildirilmiştir. Yaşam tarzı değişikliklerine bağlı lipid profilinde düzelme ilginç olarak salusin- α düzeyinde azalmaya neden olmuş ve bu bulgu dislipidemide oluşan salusin- α 'nın upregülasyonunun düzelmesiyle ilişkilendirilmiştir. Ancak atorvastatin ile tedavinin salusin- α düzeyinde anlamlı artış oluşturduğu saptanmıştır. Bu bulgu ise spesifik atorvastatin etkisiyle salusin- α sekresyonunda artış ile açıklanmıştır (97). Araştırmamızda dört grup arasında total kolesterol, LDL kolesterol ve HDL kolesterol düzeyleri salusin- α düzeylerinde olduğu gibi anlamlı değişiklik göstermemiştir.

Kolakowska ve ark (98), pediatrik esansiyel hipertansiyonu olan hastalarda, beyaz önlük hipertansiyonu olanlara göre plazma salusin- β düzeylerini daha yüksek düzeylerde saptamışlardır. Salusin- β ile sistolik ve diyastolik kan basınçları, trigliserid düzeyleri ve TG/HDL kolesterol oranı arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermişlerdir.

LDLR (-/-) farelerde aterosklerotik lezyonlarda salusin- β ekspresyonunun arttığı belirlenmiştir (54). Zhou ve ark. (51) LDLR (-/-) farelere 12 hafta süreyle salusin- β infüzyonu uyguladıklarında LDL kolesterol düzeylerinin artmasıyla ilişkili olarak aterosklerotik lezyonların ağırlaştığını saptamışlardır. ApoE (-/-) farelere 4 ve 8 hafta salusin- β infüzyonunun kan basıncı veya serum total kolesterol ve glukoz seviyelerini etkilemeksizin aortada aterosklerotik lezyonları ve lezyonlara makrofaj infiltrasyonunu artırdığını saptamışlardır (50). Aksine salusin- α 'nın 4-8 hafta infüzyonu aortik aterosklerotik lezyonları ACAT-1'in downregülasyonu ile (makrofajlarda okside LDL

indüklü kolesterol ester birikimini azaltarak) baskılamıştır. Peritoneal makrofajlarda CD36 ekspresyonunda değişiklik olmamış, ancak serum lipid profilinde olumlu etkiler saptanmıştır. Serum HDL kolesterol düzeyleri anlamlı artış göstermiş non-HDL kolesterol düzeylerinde ise anlamlı azalmalar saptanmıştır (50).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda salusinlerin ateroskleroza ve lipid metabolizmasını hangi mekanizmalarla etkilediği konusunda kesin net bilgi yoktur (54).

Vasküler endotelial disfonksiyon aterosklerozun en erken belirtisidir. Lektin benzeri okside LDL reseptör 1'e (LOX-1) endotelial disfonksiyonun başlatılmasında esas element gözüyle bakılmaktadır (99). OxLDL, LOX-1'i aktive ederek endotelial disfonksiyona neden olur (100). LOX-1 in endotelial hücrelerde bazal ekspresyonu düşüktür. Ancak oksidatif stres ve proinflatuvar sitokinler ile ekspresyonu artar (99). OxLDL'nin LOX-1'e bağlanmasıyla oluşan reaktif oksijen metabolitleri ile aktive olan NF- κ B p-selektin, VCAM-1, ICAM-1 gibi adezyon moleküllerini ve MCP-1 ekspresyonunu indükleyerek aterogenezde önemli rol oynar (101). Erken aterosklerotik lezyonlarda LOX-1 düzeyleri hem endotelde hem de intima içinde yüksek düzeylerde saptanmıştır. Bu bulgu ile LOX-1'in endotelial disfonksiyonda, aterosklerotik plakların başlamasında ve büyümesinde rol aldığı düşünülmüştür (102).

Koya ve ark. (45) salusin- β 'nin LDLR (-/-) farelerde vasküler endotelial hücrelerde NF- κ B aracılığı ile endotelial hücrelere monosit adezyonunu hızlandırarak aterogenezde önemli rol oynadığını göstermişlerdir. Çalışmalarında salusin- β selektif olarak NOX2 ve oksidatif stres indüksiyonuna neden olmuştur.

Vasküler endotelial hücrelerde bulunan LOX-1 de aynı mekanizmalarla endotelial disfonksiyon ve aterogenezde önemli rol oynar (103). Diğer taraftan LOX-1'e oxLDL dışında başka liganlarında bağlandığı bilinmektedir (99). Bu nedenlerle salusin- β aterogenezdeki etkilerini LOX-1 ekspresyonunu ve/veya aktivasyonunu artırarak gösteriyor olabilir. Salusin- β 'nin LOX-1 ile ilişkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Normal makrofajlarda LOX-1'in oxLDL'nin hücre içine alınmasına etkisinin %5-10 oranında olduğu belirtilmiştir. Proinflatuvar sitokinler makrofajlarda, LOX-1 ekspresyonunu stimüle ederken, diğer SR-A1 ve CD36 gibi çöpçü reseptörlerin ekspresyonunu baskılar. Böylece proaterosklerotik durumlarda LOX-1 ekspresyonu arttığında makrofajlar tarafından oxLDL'nin hücre içine alımında LOX-1'in etkisi

%40'a yükselir (104). Böylece LOX-1 makrofajların köpük hücreye dönüşmesinde önemli rol oynar (105).

Bu bulgular doğrultusunda salusin- β 'nın vasküler endotelial hücrelerde ve makrofajlarda LOX-1 ekspresyonunu ve/veya aktivasyonunu arttırabileceğini düşünebiliriz. Salusinler, LOX-1, oxLDL ilişkisini araştıran çalışmalar salusinlerin aterogenezi hangi mekanizmalarla etkilediği konusuna katkı sağlayabileceği gibi, tanı ve tedaviye de önemli katkı sağlayabilir. Endotelial disfonksiyon ve aterosklerozla ilişkili hastalıklarda biyobelirteç olarak kullanılmasına fırsat verebilir. Aynı zamanda ateroskleroz ve KAH tedavisinde terapötik yaklaşımlar sağlayabilir.

Neuregulinler olarak da bilinen heregulinler, insan epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptör ailesinin üyeleri olan ErbB3 ve ErbB4'ün doğal ligandları ve polipeptid büyüme faktörlerinin bir grubudur. Bu peptidler, anjiyogenez ve kardiyak fonksiyonların kompansasyonu da dahil olmak üzere, kardiyovasküler sistemin gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar. Heregulin β -1'in aterogenezi inhibe ettiği ve SR-A aracılığıyla makrofaj köpük hücre oluşumunu baskıladığı ileri sürülmüştür (73). Ateroskleroz gelişimi makrofajlarda kolesterol ester birikimi ile hızlandırılır. İntrasellüler serbest kolesterol seviyesi çöpçü reseptörler yoluyla oxLDL'nin uptake'i ile artırılır (106). Serbest kolesterolün aşırı birikimi hücrelere toksiktir. Bu nedenle Apo-A1 ve HDL gibi ekstrasellüler alıcılarla uzaklaştırılması gerekir (106, 107). ACAT-1 makrofajlarda kolesterol ester birikimini hızlandırır. Böylece köpük hücre oluşumuna neden olarak aterosklerozun erken evresinde önemli rol oynar (108).

Panutsopoulos ve ark. (74) insan monosit kaynaklı makrofaj hücre kültür çalışmasında heregulin β -1'in asetillenmiş LDL'nin makrofajlara alımını SR-A'yı baskılayarak azalttığını ve ACAT-1 enzimini inhibe ederek köpük hücre oluşumunu engellediğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda koroner anjiyografisi normal olan grupta serum heregulin- β 1 düzeyleri non-kritik koroner darlığı ve tıkalı çok damar hastalığı gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, tıkalı tek damar hastalığı grubuna göre düşük olduğu belirlendi. Ayrıca tıkalı tek damar darlığı bulunanlarda serum heregulin- β 1 düzeylerinin non-kritik koroner darlığı ve tıkalı çok damar hastalığı gruplarından anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı.

Panutsopoulos ve ark. (74) hem normal, hem de aterosklerotik insan koroner arter endotelial hücrelerinde heregulin ekspresyonunun olmadığını, ilerlemiş evrede heregulin ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir. Xu ve ark. (73) devam eden

ateroskleroza karşı koymak için arteriyel duvara infiltre olan makrofajların heregulin üretebileceklerini ileri sürmüşlerdir. Bununla birlikte akut koroner sendromda (AKS) aşırı ilerlemiş koroner plaklarda heregulin seviyelerinin azaldığını gözlemişlerdir. Şayet aterosklerotik koroner arterlerdeki heregulin düzeylerindeki artış veya azalmalar plazmaya tam olarak yansıyor ise bulgularımızın Panutsopulos ve ark. (74) ile Xu ve ark.'nın (73) sonuçlarıyla benzerlik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Araştırmamızda tıkalı tek damar hastalığı bulunanlarda heregulin- $\beta 1$ düzeylerindeki anlamlı artış, heregulin- $\beta 1$ 'in fonksiyonları göz önüne alındığında bir paradoks gibi görülse de söz konusu gruptaki heregulin- $\beta 1$ artışı köpük hücre oluşumunu azaltmak için koruyucu bir mekanizma sonucu gelişmiş olabilir.

Xu ve ark. (73) AKS'de plak rüptüründen sonra aterotromboz bölgesinde heregulin- $\beta 1$ 'in eser düzeyde olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar AKS'de plazma ve tromboz bölgesindeki azalmaya, ilerlemiş aterosklerozun mu sebep olduğu yoksa azalmış heregulin β -1'in aterosklerozun ilerlemesine mi neden olduğunu sorgulamışlardır. Araştırmacılar ilerlemiş aterosklerotik plaklardaki makrofajlarda heregulin- $\beta 1$ düşüklüğünü heregulin β -1'i parçalayan artmış 'a disintegrin and metalloprotease 17' (ADAM-17) enzim upregülasyonuna ve/veya rüptür sonrası trombüs oluşumuna sebep olan koagülasyon faktörlerinin aktivasyonuna bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Çalışmada azalmış heregulin- $\beta 1$ ekspresyonu ile koroner arter destabilizasyonu ve rüptürü arasındaki ilişkiyi gösteren ilave çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Heregulin- $\beta 1$ 'in antioksidan özelliklerinin olduğu (109), iskemik sıçan beyin dokularında IL-1 β , MCP-1, ICAM-1 süpresyonu ile antiinflamatuvar ve antiapoptotik (110) etkileri bildirilmiştir. Heregulin- $\beta 1$ bu özellikleri ile LDL oksidasyonunu engelleyebilir, böylece LOX-1 ekspresyonunu azaltarak antiaterojenik etki gösterebilir. Bu nedenlerle heregulin β -1, oxLDL ve LOX-1 ilişkisini araştıran çalışmalar tanı ve tedavide önemli katkılar sağlayabilir.

Araştırmamızda salusin- α ile heregulin- $\beta 1$ arasında zayıf pozitif bir korelasyon tespit edildi. Ayrıca salusin- α düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamakla birlikte, anti-aterojenik peptidler olan salusin- α 'nın heregulin- $\beta 1$ ile korelasyon göstermesi salusin- α ve heregulin- $\beta 1$ 'nın aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar için yararlı terapötik etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

Aterosklerotik gelişim süresince devam eden düşük dereceli sistemik inflamasyonun göstergesi olarak birçok biyobelirteç (CRP, fibrinojen, serum amiloid A,

VCAM-1, ICAM-1, E-selektin, P-selektin, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α , NF- κ B vb.) tanımlanmıştır. Bu inflamatuvar parametreler içinde, CRP her ne kadar inflamasyonun non-spesifik bir belirteci ise de, aterosklerozun ciddiyeti ve kardiyovasküler riski belirlemede en güçlü ve önemlisidir. Aynı zamanda Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından standart kabul edilen tek parametredir. HsCRP ile koroner aterosklerozun şiddeti arasındaki ilişkiyi araştıran önceki çalışmalar tartışmalı sonuçlar ortaya koymuştur (111-117).

Assadpour Piranfar (117) serum hsCRP düzeylerinin koroner ateroskleroz'un şiddeti ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Hindistan'da 80 hastada yapılan bir çalışmada artmış serum hsCRP düzeyleri ile Gensini skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmuştur (113). Ayrıca, Luove ark. (118) 106 hastada serum hsCRP ve TNF- α düzeyleri ile koroner ateroskleroz şiddeti arasındaki ilişkiyi araştırmışlar, serum hsCRP ve TNF- α düzeyleri ile Gensini skoru arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda KAG'ı normal olan grupta hsCRP düzeyleri diğer her bir gruba göre anlamlı düşük bulunurken hasta gruplarının ikili karşılaştırmalarında anlamlı fark bulunmamıştır. Aynı zamanda salusin- β ile proaterojen olduğu belirtilen (31, 32, 33) hsCRP arasında ise pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Salusin- β ile hsCRP arasındaki bu korelasyon salusin- β 'nin da proaterojen olduğunu düşündürmektedir. Gensini skoru ile hsCRP arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Çalışmamızda hsCRP koroner aterosklerozun şiddeti ile anlamlı derecede ilişkili olmasa da ateroskleroz ile ilişkili gibi gözükmektedir. Bu konuda daha fazla analitik araştırmaların yapılması uygun olacaktır.

Sonuç olarak, salusin- α ile heregulin- β arasındaki ilişki bu moleküllerin anti-aterojenik özelliklerinden dolayı KAH'da hemodinamiyi ve aterogenezi düzenleyebileceğini düşündürmektedir. Bulgularımız CRP'nin proaterojenik olduğunu bir kez daha göstermektedir. Gelecekte artmış aterojenik salusin- β düzeylerini azaltmak için anti-salusin- β 'nin KAH'da tedavi amacıyla kullanılabileceğini düşündürmektedir. Klinik olarak, çalışmamızın sonuçları, yapılacak ileri çalışmalarla salusin- α , salusin- β ve heregulin- β 1'in ateroskleroz için biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi için terapötik yaklaşımlar sağlayabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte aterosklerozun patogenezinde yer aldığı ileri sürülen salusin- α , salusin- β ve heregulin- β 1 ile ilgili çalışmalar henüz çok

yeni olup, aterosklerozdaki etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır. Bu bağlamda bulgularımızın gelecekteki salusin ve heregulin- β 1 çalışmaları için temel oluşturacağı düşünülmektedir. Salusinler ve heregulin β -1'in oxLDL ve LOX-1 ile ilişkisini araştıran çalışmalar, söz konusu peptidlerin aterogenezi hangi mekanizmalarla etkilediği konusuna katkı sağlayabileceği gibi tanı ve tedaviye de önemli katkılar sağlayacaktır. Yakın gelecekte inflamatuvar bir süreç olan KAH'da hsCRP'ye ilave olarak serum salusin- α , salusin- β ve heregulin- β 1 düzeylerinin ölçümünün rutin laboratuvarların analiz kapsamına girebileceği görüşündeyiz.



6. KAYNAKLAR

1. Dünya Sağlık Örgütü. Cardiovascular diseases (CVDs). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>. Son erişim Tarihi: 18.03.2017.
2. Perk J, Rosengren A, Dallongeville J. Kardiyovasküler Hastalığın Önlenmesi: Risk Faktörlerinin Saptanması ve Değiştirilmesi. Çeviri editörü: Kozan Ö. ESC Textbook Kardiyovasküler Hastalıklar. 1 ed. İstanbul CSA Global Publishing; 2007. s. 243-70.
3. Şenocak M. Kardiyovasküler Hastalıkların Epidemiyolojisi. Çeviri editörü: Ünal S. Cecil Textbook of Medicine. 22 ed. Ankara: Öncü Basımevi; 2006. s. 251-4.
4. Türkiye kalp ve damar hastalıkları önleme ve kontrol programı eylem planı (2015-2020). Ankara: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu; 2015.
5. Gök H. Klinik Kardiyoloji.1. Baskı, Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti, 1996.
6. Frostegard J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. BMC Medicine 2013;11:117.
7. Gimbrone MA, Jr. Vascular endothelium, hemodynamic forces, and atherogenesis. Am J Pathol 1999;155(1):1-5.
8. Mayo Clinic Cardiology Concise Textbook ,Joseph G. Murphy , MD; Margarer A. Lloyd, MD. 3th Edition. 2005; 687-781.
9. Schwartz SM, Heimark RL, Majesky MW. Developmental mechanisms underlying pathology of arteries. Physiol Rev 1990;70(4):1177-209.
10. Sary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, Glagov S, Insull W, Jr., Richardson M, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation 1992;85(1):391-405.
11. Erol MK. Aterosklerotik Biyoloji ve Hastalığın Epidemiyolojisi. Çeviri editörü: Kozan Ö. Textbook of Cardiovascular Medicine. 3 ed. Ankara: Öncü Basımevi; 2008. s. 2-12.

12. Linton MF, Fazio S. Macrophages, inflammation, and atherosclerosis. International journal of obesity and related metabolic disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity 2003;27 Suppl 3:S35-40.
13. Akyol G, Gönül İl, Ekinçi Ö. Kan Damarları. Çeviri editörü: Çevikbaş U. Robbins Temel Patoloji. 8 ed. İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. s. 339-378.
14. Murphy JG, Lloyd MA. Mayo Clinic Cardiology Concise Textbook. 2008;715-1338.
15. Öngen Z. Ateroskleroz Tromboz ve Damar Biyolojisi. Çeviri editörü: Ünal S. Cecil Textbook of Medicine. 22 ed. Ankara: Öncü Basımevi; 2006. s. 383-9.
16. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. Braunwald E (editor). Heart Disease. 5.Baskı. Philadelphia: WB Saunders, 1997:1105-1125.
17. Sary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, Jr., et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation 1995;92(5):1355-74.
18. Sary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Jr., Rosenfeld ME, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation 1994;89(5):2462-78.
19. Türk Kardiyoloji Derneği. Koroner Kalp Hastalığı Riski ve Değerlendirilmesi.<http://www.tkd.org.tr/kilavuz/k11/4e423.htm?wbnum=1604>. Son erişim tarihi: 18.03.2017.
20. Nordestgaard BG. The vascular endothelial barrier--selective retention of lipoproteins. Curr Opin Lipidol 1996;7(5):269-73.
21. Flavahan NA. Atherosclerosis or lipoprotein-induced endothelial dysfunction. Potential mechanisms underlying reduction in EDRF/nitric oxide activity. Circulation 1992;85(5):1927-38.
22. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. Circulation 2002;106(25):3143-421.

23. Ermiş C. Kardiyovasküler Hastalıklar: Kalp Hastalıkları. Çeviri editörleri: Çoban E, Süleymanlar G. Hastalıkların Patofizyolojisi. 4 ed. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006. s. 312-8.
24. National Institutes of Health. Family History of Early Atherosclerotic Cardiovascular Disease <https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/current/cardiovascular-health-pediatric-guidelines/full-report-chapter-4>. Son erişim tarihi: 18.03.2017.
25. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285(19):2486-97.
26. Lee IM, Rexrode KM, Cook NR, Manson JE, Buring JE. Physical activity and coronary heart disease in women: is "no pain, no gain" passe? JAMA 2001;285(11):1447-54.
27. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340(2):115-26.
28. Tokgözoğlu L. Ateroskleroz ve enflamasyonun rolü. Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol 2009;37 Suppl 4:1-6.
29. Libby P. Aterosklerozun Vasküler Biyolojisi. In: Emre Aslanger IŞ, editor. Braunwald Kalp Hastalıkları. 3 ed. İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri; 2007. p. 921-9.
30. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. N Engl J Med 2005;352(16):1685-95.
31. Erol MK. Koroner Arter Hastalığı İçin Diğer Risk Faktörleri. In: Kozan Ö, editor. Textbook of Cardiovascular Medicine. 3 ed. Ankara: Öncü Basımevi; 2008. p. 141-4.
32. Ridker PM, Libby P. Aterotrombotik Hastalık İçin Risk Faktörleri Çeviri editörleri: Aslanger E, Şirinoğlu I. Braunwald Kalp Hastalıkları. 3 ed. İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri; 2007. s. 946-50.
33. Yıldırım A. Yeni bir risk faktörü olarak yüksek duyarlıklı C-reaktif protein (hsCRP). Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol 2005;33(6):360-71.

34. Khuseyinova N, Imhof A, Trischler G, Rothenbacher D, Hutchinson WL, Pepys MB, et al. Determination of C-reactive protein: comparison of three high-sensitivity immunoassays. *Clin Chem* 2003;49(10):1691-5.
35. Şişman AR. C-Reaktif Protein: Klinik Önem, Ölçüm Yöntemlerindeki Gelişmeler, Preanalitik ve Analitik Değişkenlikler. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2007 5(1):33-41.
36. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001;103(13):1813-8.
37. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 2004;109(7):837-42.
38. Shichiri M, Ishimaru S, Ota T, Nishikawa T, Isogai T, Hirata Y. Salusins: newly identified bioactive peptides with hemodynamic and mitogenic activities. *Nat Med* 2003;9(9):1166-72.
39. Aydın S, Eren MN, Aydın S. Kardiyovasküler sistemde salusin- α ve salusin- β 'nın fizyolojisi ve klinik rolü. *Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci* 2014;26(1):33-8.
40. Suzuki N, Shichiri M, Akashi T, Sato K, Sakurada M, Hirono Y, et al. Systemic distribution of salusin expression in the rat. *Hypertens Res* 2007;30(12):1255-62.
41. Suzuki N, Shichiri M, Tateno T, Sato K, Hirata Y. Distinct systemic distribution of salusin-alpha and salusin-beta in the rat. *Peptides* 2011;32(4):805-10.
42. Sato K, Koyama T, Tateno T, Hirata Y, Shichiri M. Presence of immunoreactive salusin-alpha in human serum and urine. *Peptides* 2006;27(11):2561-6.
43. Sato K, Sato T, Susumu T, Koyama T, Shichiri M. Presence of immunoreactive salusin-beta in human plasma and urine. *Regul Pept* 2009;158(1-3):63-7.
44. Sato K, Koyama T, Shichiri M. Biosynthesis and secretion of salusin-alpha from human cells. *Peptides* 2008;29(12):2203-7.
45. Koya T, Miyazaki T, Watanabe T, Shichiri M, Atsumi T, Kim-Kaneyama JR, et al. Salusin-beta accelerates inflammatory responses in vascular endothelial cells via NF-

kappaB signaling in LDL receptor-deficient mice in vivo and HUVECs in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012;303(1):H96-105.

46. Zhou CH, Pan J, Huang H, Zhu Y, Zhang M, Liu L, et al. Salusin-beta, but not salusin-alpha, promotes human umbilical vein endothelial cell inflammation via the p38 MAPK/JNK-NF-kappaB pathway. *PLoS One* 2014;9(9):e107555.

47. Sun HJ, Liu TY, Zhang F, Xiong XQ, Wang JJ, Chen Q, et al. Salusin-beta contributes to vascular remodeling associated with hypertension via promoting vascular smooth muscle cell proliferation and vascular fibrosis. *Biochim Biophys Acta* 2015;1852(9):1709-18.

48. Watanabe T, Nishio K, Kanome T, Matsuyama TA, Koba S, Sakai T, et al. Impact of salusin-alpha and -beta on human macrophage foam cell formation and coronary atherosclerosis. *Circulation* 2008;117(5):638-48.

49. Sun HJ, Zhao MX, Liu TY, Ren XS, Chen Q, Li YH, et al. Salusin-beta induces foam cell formation and monocyte adhesion in human vascular smooth muscle cells via miR155/NOX2/NFkappaB pathway. *Sci Rep* 2016;6:23596.

50. Nagashima M, Watanabe T, Shiraishi Y, Morita R, Terasaki M, Arita S, et al. Chronic infusion of salusin-alpha and -beta exerts opposite effects on atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 2010;212(1):70-7.

51. Zhou CH, Liu LL, Wu YQ, Song Z, Xing SH. Enhanced expression of salusin-beta contributes to progression of atherosclerosis in LDL receptor deficient mice. *Can J Physiol Pharmacol* 2012;90(4):463-71.

52. Zhou CH, Liu L, Liu L, Zhang MX, Guo H, Pan J, et al. Salusin-beta not salusin-alpha promotes vascular inflammation in ApoE-deficient mice via the I-kappaBalpha/NF-kappaB pathway. *PLoS One* 2014;9(3):e91468.

53. Ren XS, Ling L, Zhou B, Han Y, Zhou YB, Chen Q, et al. Silencing salusin-beta attenuates cardiovascular remodeling and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Sci Rep* 2017;7:43259.

54. Niepolski L, Grzegorzewska AE. Salusins and adropin: New peptides potentially involved in lipid metabolism and atherosclerosis. *Adv Med Sci* 2016;61(2):282-7.

55. Sato K, Fujimoto K, Koyama T, Shichiri M. Release of salusin-beta from human monocytes/macrophages. *Regul Pept* 2010;162(1-3):68-72.
56. Sato K, Watanabe R, Itoh F, Shichiri M, Watanabe T. Salusins: potential use as a biomarker for atherosclerotic cardiovascular diseases. *Int J Hypertens* 2013;2013:965140.
57. Zhao MX, Zhou B, Ling L, Xiong XQ, Zhang F, Chen Q, et al. Salusin-beta contributes to oxidative stress and inflammation in diabetic cardiomyopathy. *Cell Death Dis* 2017;8(3):e2690.
58. Sun HJ, Zhao MX, Ren XS, Liu TY, Chen Q, Li YH, et al. Salusin-beta Promotes Vascular Smooth Muscle Cell Migration and Intimal Hyperplasia After Vascular Injury via ROS/NFkappaB/MMP-9 Pathway. *Antioxid Redox Signal* 2016;24(18):1045-57.
59. Masumura M, Watanabe R, Nagashima A, Ogawa M, Suzuki J, Shichiri M, et al. Anti-salusin-beta antibody enhances angiogenesis after myocardial ischemia reperfusion injury. *Expert Opin Ther Targets* 2013;17(9):1003-9.
60. Chen WW, Sun HJ, Zhang F, Zhou YB, Xiong XQ, Wang JJ, et al. Salusin-beta in paraventricular nucleus increases blood pressure and sympathetic outflow via vasopressin in hypertensive rats. *Cardiovasc Res* 2013;98(3):344-51.
61. Sun HJ, Zhang LL, Fan ZD, Chen D, Zhang L, Gao XY, et al. Superoxide anions involved in sympathoexcitation and pressor effects of salusin-beta in paraventricular nucleus in hypertensive rats. *Acta Physiol (Oxf)* 2014;210(3):534-45.
62. Huang X, Wang Y, Ren K. Deleterious effect of salusin-beta in paraventricular nucleus on sympathetic activity and blood pressure via NF-kappaB signaling in a rat model of obesity hypertension. *Die Pharmazie* 2015;70(8):543-8.
63. Li HB, Qin DN, Cheng K, Su Q, Miao YW, Guo J, et al. Central blockade of salusin beta attenuates hypertension and hypothalamic inflammation in spontaneously hypertensive rats. *Sci Rep* 2015;5:11162.
64. Li HB, Qin DN, Suo YP, Guo J, Su Q, Miao YW, et al. Blockade of Salusin-beta in Hypothalamic Paraventricular Nucleus Attenuates Hypertension and Cardiac

Hypertrophy in Salt-induced Hypertensive Rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2015;66(4):323-31.

65. Lemke G. Neuregulins in development. *Mol Cell Neurosci* 1996;7(4):247-62.

66. Lemmens K, Doggen K, De Keulenaer GW. Role of neuregulin-1/erbB signaling in cardiovascular physiology and disease: implications for therapy of heart failure. *Circulation* 2007;116:954-60.

67. Xu Y, Li X, Zhou M. Neuregulin-1/ErbB signaling: a druggable target for treating heart failure. *Curr Opin Pharmacol* 2009;9:214-9.

68. Iivanainen E, Paatero I, Heikkinen SM, Junttila TT, Cao R, Klint P, et al. Intra- and extracellular signaling by endothelial neuregulin-1. *Exp Cell Res* 2007;313:2896-909.

69. Kalinowski A, Plowes NJ, Huang Q, Berdejo-Izquierdo C, Russell RR, Russell KS. Metalloproteinase-dependent cleavage of neuregulin and autocrine stimulation of vascular endothelial cells. *FASEB J* 2010;24:2567-75

70. Russell KS, Stern DF, Polverini PJ, Bender JR. Neuregulin activation of ErbB receptors in vascular endothelium leads to angiogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;46:H2205-11.

71. Hedhli N, Russell KS. Cytostatic drugs, neuregulin activation of erbB receptors, and angiogenesis. *Curr Hypertens Rep* 2010;12:411-7.

72. Amin DN, Hida K, Bielenberg DR, Klagsbrun M. Tumor endothelial cells express epidermal growth factor receptor (EGFR) but not erbB3 and are responsive to EGF and to EGFR kinase inhibitors. *Cancer Res* 2006;66:2173-80.

73. Xu G, Watanabe T, Iso Y, Koba S, Sakai T, Nagashima M, et al. Preventive effects of heregulin- β 1 on macrophage foam cell formation and atherosclerosis. *Circ Res* 2009;105:500-10.

74. Panutsopoulos D, Arvanitis DL, Tsatsanis C, Papalambros E, Sigala F, Spandidos DA. Expression of heregulin in human coronary atherosclerotic lesions. *J Vasc Res* 2005;42:463-74.

75. Xu Z, Ford GD, Croslan DR, Jiang J, Gates A, Allen R, et al. Neuroprotection by neuregulin-1 following focal stroke is associated with the attenuation of ischemia-induced pro-inflammatory and stress gene expression. *Neurobiol Dis* 2005;19:461–70.
76. Jiao L, Wang MC, Yang YA, Chen EQ, Xu HT, Wu KY, et al. Norepinephrine reversibly regulates the proliferation and phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells. *Exp Mol Pathol* 2008;85:196–200.
77. Clement CM, Thomas LR, Mou Y, Croslan DR, Gibbons GH, Ford BD. Neuregulin-1 attenuates neointimal formation following vascular injury and inhibits the proliferation of vascular smooth muscle cells. *J Vasc Res* 2007;44:303–12.
78. Li Q, Zhang R, Ge Y, Mei Y, Guo Y. Effects of neuregulin on expression of MMP-9 and NSE in brain of ischemia/reperfusion rat. *J Mol Neurosci* 2009;38:207–15.
79. Hedhli N, Huang Q, Kalinowski A, Palmeri M, Hu X, Russell RR, et al. Endothelium-derived neuregulin protects the heart against ischemic injury. *Circulation* 2011;123:2254–62.
80. Brero A, Ramella R, Fitou A, Dati C, Alloatti G, Gallo MP, et al. Neuregulin-1 β 1 rapidly modulates nitric oxide synthesis and calcium handling in rat cardiomyocytes. *Cardiovasc Res* 2010;88:443–52.
81. Gumà A, Martínez-Redondo V, López-Soldado I, Cantó C, Zorzano A. Emerging role of neuregulin as a modulator of muscle metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010;298:E742–50.
82. Okoshi K, Nakayama M, Yan X, Okoshi MP, Schuldt AJ, Marchionni MA, et al. Neuregulins regulate cardiac parasympathetic activity: muscarinic modulation of β -adrenergic activity in myocytes from mice with neuregulin-1 gene deletion. *Circulation* 2004;110:713–7.
83. Lemmens K, Fransen P, Sys SU, Brutsaert DL, De Keulenaer GW. Neuregulin-1 induces a negative inotropic effect in cardiac muscle: role of nitric oxide synthase. *Circulation* 2004;109:324–6.
84. Matsukawa R, Hirooka Y, Nishihara M, Ito K, Sunagawa K. Neuregulin-1/ErbB signaling in rostral ventrolateral medulla is involved in blood pressure regulation as an antihypertensive system. *J Hypertens* 2011;29:1735–42.

85. Gu X, Liu X, Xu D, Li X, Yan M, Qi Y, et al. Cardiac functional improvement in rats with myocardial infarction by up-regulating cardiac myosin light chain kinase with neuregulin. *Cardiovasc Res* 2010;88:334–43.
86. Geisberg CA, Wang G, Safa RN, Smith HM, Anderson B, Peng XY, et al. Circulating neuregulin-1beta levels vary according to the angiographic severity of coronary artery disease and ischemia. *Coron Artery Dis* 2011;22(8):577-82.
87. Watanabe T, Konii H, Sato K, Itoh F. The Roles of Novel Vasoactive Agents in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases: Good or Bad Guys? <https://www.iconceptpress.com/book/cardiovascular-disease-i/11000116/1303000865.pdf>. Son erişim tarihi: 15.04.2017.
88. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1983;51(3):606.
89. Taleb S. Inflammation in atherosclerosis. *Arch of cardiovasc Dis* 2016;109(12):708-15.
90. Du SL, Wang WJ, Wan J, Wang YG, Wang ZK, Zhang Z. Serum salusin-alpha levels are inversely correlated with the presence and severity of coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest* 2013;73(4):339-43.
91. Watanabe T, Suguro T, Sato K, Koyama T, Nagashima M, Kodate S, et al. Serum salusin-alpha levels are decreased and correlated negatively with carotid atherosclerosis in essential hypertensive patients. *Hypertens Res* 2008;31(3):463-8.
92. Ti Y, Wang F, Wang ZH, Wang XL, Zhang W, Zhang Y, et al. Associations of serum salusin-alpha levels with atherosclerosis and left ventricular diastolic dysfunction in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2012;26(10):603-9.
93. Kimoto S, Sato K, Watanabe T, Suguro T, Koyama T, Shichiri M. Serum levels and urinary excretion of salusin-alpha in renal insufficiency. *Regul Pept* 2010;162(1-3):129-32.
94. Fujimoto K, Hayashi A, Kamata Y, Ogawa A, Watanabe T, Ichikawa R, et al. Circulating levels of human salusin-beta, a potent hemodynamic and atherogenesis regulator. *PLoS One* 2013;8(10):e76714.

95. Liu J, Ren YG, Zhang LH, Tong YW, Kang L. Serum salusin-beta levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *J Investig Med* 2015;63(4):632-5.
96. Yilmaz M, Atescelik M, Ardic S, Goktekin MC, Yildiz M, Gurger M, et al. Serum Salusin Levels in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Clin Lab* 2016;62(9):1717-23.
97. Grzegorzewska AE, Niepolski L, Sikora J, Jankow M, Jagodzinski PP, Sowinska A. Effect of lifestyle changes and atorvastatin administration on dyslipidemia in hemodialysis patients: a prospective study. *Pol Arch Med Wewn* 2014;124(9):443-51.
98. Kolakowska U, Kuroczycka-Saniutycz E, Wasilewska A, Olanski W. Is the serum level of salusin-beta associated with hypertension and atherosclerosis in the pediatric population? *Pediatr Nephrol* 2015;30(3):523-31.
99. Yoshimoto R, Fujita Y, Kakino A, Iwamoto S, Takaya T, Sawamura T. The discovery of LOX-1, its ligands and clinical significance. *Cardiovasc Drug Ther* 2011;25(5):379-91.
100. Li D, Liu L, Chen H, Sawamura T, Mehta JL. LOX-1, an oxidized LDL endothelial receptor, induces CD40/CD40L signaling in human coronary artery endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(5):816-21.
101. Cominacini L, Rigoni A, Pasini AF, Garbin U, Davoli A, Campagnola M, et al. The binding of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) to ox-LDL receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells through an increased production of superoxide. *J Biol Chem* 2001;276(17):13750-5.
102. Chen M, Kakutani M, Minami M, Kataoka H, Kume N, Narumiya S, et al. Increased expression of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in initial atherosclerotic lesions of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(4):1107-15.
103. Shiraki T, Aoyama T, Yokoyama C, Hayakawa Y, Tanaka T, Nishigaki K, et al. LOX-1 plays an important role in ischemia-induced angiogenesis of limbs. *PLoS One* 2014;9(12):e114542.

104. Schaeffer DF, Riazy M, Parhar KS, Chen JH, Duronio V, Sawamura T, et al. LOX-1 augments oxLDL uptake by lysoPC-stimulated murine macrophages but is not required for oxLDL clearance from plasma. *J Lipid Res* 2009;50(8):1676-84.
105. Li D, Mehta JL. Intracellular signaling of LOX-1 in endothelial cell apoptosis. *Circulation Res* 2009;104(5):566-8.
106. Pennings M, Meurs I, Ye D, Out R, Hoekstra M, Van Berkel TJ, et al. Regulation of cholesterol homeostasis in macrophages and consequences for atherosclerotic lesion development. *FEBS lett* 2006;580(23):5588-96.
107. Chang TY, Li BL, Chang CC, Urano Y. Acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferases. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;297(1):E1-9.
108. Miyazaki A, Sakashita N, Lee O, Takahashi K, Horiuchi S, Hakamata H, et al. Expression of ACAT-1 protein in human atherosclerotic lesions and cultured human monocytes-macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18(10):1568-74.
109. Timolati F, Ott D, Pentassuglia L, Giraud MN, Perriard JC, Suter TM, et al. Neuregulin-1 beta attenuates doxorubicin-induced alterations of excitation-contraction coupling and reduces oxidative stress in adult rat cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2006;41(5):845-54.
110. Shyu WC, Lin SZ, Chiang MF, Yang HI, Thajeb P, Li H. Neuregulin-1 reduces ischemia-induced brain damage in rats. *Neurobiol Aging* 2004;25(7):935-44.
111. Erren M, Reinecke H, Junker R, Fobker M, Schulte H, Schurek JO, et al. Systemic inflammatory parameters in patients with atherosclerosis of the coronary and peripheral arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(10):2355-63.
112. Koc M, Karaarslan O, Abali G, Batur MK. Variation in high-sensitivity C-reactive protein levels over 24 hours in patients with stable coronary artery disease. *Tex Heart Inst J* 2010;37(1):42-8.
113. Masood A, Jafar SS, Akram Z. Serum high sensitivity C-reactive protein levels and the severity of coronary atherosclerosis assessed by angiographic gensini score. *JPMA* 2011;61(4):325-7.
114. Monteiro CM, Pinheiro LF, Izar MC, Barros SW, Vasco MB, Fischer SM, et al. Highly sensitive C-reactive protein and male gender are independently related to the

severity of coronary disease in patients with metabolic syndrome and an acute coronary event. *Braz J Med Biol Res* 2010;43(3):297-302.

115. Ulucay A, Demirbag R, Yilmaz R, Unlu D, Gur M, Selek S, et al. The relationship between plasma C-reactive protein levels and presence and severity of coronary stenosis in patients with stable angina. *Angiology* 2007;58(6):657-62.

116. Zebrack JS, Muhlestein JB, Horne BD, Anderson JL. C-reactive protein and angiographic coronary artery disease: independent and additive predictors of risk in subjects with angina. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(4):632-7.

117. Assadpour Piranfar M. The Correlation between High-Sensitivity C-Reactive Protein (hsCRP) Serum Levels and Severity of Coronary Atherosclerosis. *Int. Cardiovasc Res J* 2014;8(1):6-8.

118. Luo JG. [Relationship between serum IL-8 hsCRP, TNF-alpha and coronary lesions in CHD patients]. *Xi bao yu fen zi mian yi xue za zhi* = Chinese journal of cellular and molecular immunology 2010;26(8):789-91.