

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ KARDİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
İZMİR

**KORONER ARTER HASTALIĞININ KLİNİKTE
KARŞILAŞILAN FORMLARI İLE NORMAL
KORONER ANJİOGRAMI OLAN BİREYLERİN
PLAZMA SİSTATİN C DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR.NİHAT PEKEL

171574

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR.ÖMER KOZAN

İZMİR-2006

TEŞEKKÜR

Asistanlığım boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof.Dr.Sema Güneri, Prof.Dr.Ömer Kozan, Prof.Dr.Özhan Göldeli, Prof.Dr.Önder Kırımlı, Doç.Dr.Özer Badak, Doç.Dr.Özgür Aslan, Yrd.Doç.Dr Bahri Akdeniz, Yrd.Doç.Dr.Nezihi Barış'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin tamamlanmasında, araştırma konusu belirlenmesinden başlayarak her aşamada büyük desteğini gördüğüm Prof.Dr.Ömer Kozan'a, istatistiksel analizlerdeki desteği için Yrd.Doç.Dr Bahri Akdeniz'e, biyokimyasal analizlerdeki katkılarından ve bilimsel desteklerinden dolayı Biyokimya A.D'dan Prof.Dr.Hüray İşlekel'e ve Dr.Aygül Özkaya'ya ve tezimi okuyarak değerli katkılarını ileten tüm hocalarıma da ayrıca teşekkür ederim.

Sistatin C biyokimyasal analizlerini gerçekleştiren Mediset firması çalışanlarından; Dade Behring Nefelometri Cihazları Teknik Servis Uzmanı Sn.Vadi Tekbaş ve Nefelometrik Cihazlar Aplikasyon Sorumlusu Biyolog Sn. Nihan Cesur'a göstermiş oldukları karşılıksız desteklerinden dolayı, en içten minnertarlıklarımı sunarım.

Asistan arkadaşlarım başta olmak üzere Kardiyoloji A.D'da birlikte çalıştığımız tüm mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak; beni bugünlere getiren ailem, her zaman yanımda olan sevgili eşim, doğduğu günden itibaren varlığından güç aldığım biricik kızım iyi ki varsınız...

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. ATEROSKLEROZUN FİZYOPATOGENEZİ VE KLİNİK ORTAYA ÇIKIŞ ŞEKİLLERİ.....	7
2.1.1. Aterosklerozun Tanımı.....	7
2.1.2. Normal Arter Duvarı.....	7
2.1.3 Aterogenezde Hasara Tepki Hipotezi.....	8
2.1.4 Ateroskleroz Patogenezi.....	8
2.1.5 Düz Kas Hücreleri.....	9
2.1.6 Fibröz Başlık (Fibrous Cap).....	10
2.1.7 Plağın Yapısı ve Oluşturdukları Klinik Tablo Arasındaki İlişki.....	12
2.1.8 Koroner arter Hastalığının Klinikte Karşılaşılan Formları ile Ateroskleroz Lezyonlarının İlişkisi.....	15
2.2. LİZOZOMAL SİSTEİN PROTEAZLARI VE SİSTATİN C.....	17
2.2.1. Aterosklerozda Ekstraselüler Matriks Yapım-Yıkım Dengesi.....	17
2.2.2. Lizozomal Sistein Proteazları Ve Onların Potent İnhibitörü Sistatin C.....	18
2.2.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar.....	18
2.2.4 Klinik Çalışmalar.....	21
3. AMAÇ.....	24
4. ARAŞTIRMA MATERYALİ VE YÖNTEM.....	25
4.1. Çalışma Populasyonu.....	25
4.2 Sistatin C Ölçüm Yöntemi.....	25
4.3 İstatiksel Analiz.....	26
5. BULGULAR.....	27
5.1. Hastaların Bazal Karakteristikleri.....	27
5.2. Sistatin C Düzeyleri Ve Diğer Laboratuvar Değerleri.....	29
5.3. Kreatin Değerleri 1,3'ün Altında Olanlarda Sistatin C Düzeyleri.....	32
5.4. Korelasyon Analizleri.....	33
6. TARTIŞMA.....	34
7. SONUÇ.....	40
8. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI.....	40

9. ÖZET.....	41
10. SUMMARY.....	42
11. KAYNAKLAR.....	43



1.GİRİŞ

Aterosklerotik kalp hastalıkları (ASKH) günümüzün en önemli morbidite ve mortalite nedenlerindedir. ASKH'ı 20. yüzyılın başlarında tüm ölümlerin %10'undan daha azını oluştururken , bu yüzyılın sonlarına doğru bu oran gelişmiş ülkelerde %50'lere , gelişmekte olan ülkelerde ise %25'lere çıkmıştır. Veriler 2020 yılına gelindiğinde ASKH'ın yılda 25 milyon ölüme neden olacağını ve her üç ölümden birinin ASKH'na bağlı olacağını göstermektedir (1-2). Ülkemiz açısından olaya bakıldığında TEKHARF çalışması verilerine göre ülkemizde 60-69 yaş grubunda koroner arter hastalığının (KAH) prevalansı %14'ü aşmaktadır (3). Türk kardiyoloji derneğinin 2000 yılında yayınladığı rapora göre ise, aterosklerozun neden olduğu koroner arter hastalıkları ve inmeden kaynaklanan ölümlerin, tüm ölüm nedenlerinin %43'ünü oluşturduğu tahmin edilmektedir (4). Bu nedenle ASKH'ın patofizyolojisinin anlaşılması ve bu sayede önleyici tedbirler alınması halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Yakın zamana kadar giderek büyüyen aterosklerotik plağın, kitlesel etkisi ile damar lümenini daraltarak klinik bozukluklara yol açtığı ve lümeni tam tıkanıklığa akut değişiklikler oluşturduğuna inanılırdı. Ancak akut miyokard infarktüsü (AMİ) sonrası yapılan anjiyografik çalışmalar olguların çoğunda olaya sebep olan aterosklerotik plağın lümeni kritik derecede darlatmadığını ortaya koymuştur. Yine AMİ öncesinde ve sırasında yapılan anjiyografilerin incelenmesi, akut tromboza yol açarak damarı tıkanan lezyonların büyük çoğunluğunun daha önce anjiyografik olarak kritik darlığa yol açmayan aterosklerotik plakları olduğunu göstermiştir (5-8). Bu bulgular ve moleküler biyolojideki gelişmeler ışığında kararlı ve kararsız (hassas, vulnerable) plak kavramları ortaya atılmıştır ve artık günümüzde aterosklerotik olayların (akut koroner sendromlar, inme, ani ölüm) hassas plakların yırtılarak içerisindeki protrombotik materyal ile kanın teması sonucu oluşan akut tromboz nedeniyle oluştuğu fikri kabul görmüştür.

Günümüzde artık koroner arter hastalığının tedavi stratejileri koroner darlıklarının perkutan girişimler ile mekanik tedavisi yanında aterosklerozu önleyici yada geriletici, akut plak komplikasyonlarının önüne geçmeyi hedefleyen tedavi stratejilerine de ağırlık vermektedir. Bu bağlamda aterosklerotik olayları önlemedeki etkinlikleri büyük klinik çalışmalarla ispatlanmış anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve statinler koroner arter hastalığının tedavisinde kılavuzlardaki yerlerini almışlardır. Kompleks bir gelişim yapısına sahip aterosklerozun fizyopatogenezinin anlaşılmasına yönelik araştırmalar halen devam etmektedir. Bu bağlamda aterosklerotik plağın gelişimi ve komplikasyonlara yol

açmasında rol oynadığı saptanan yeni moleküllerin ileride ateroskleroza bağlı hastalıkları önlemede birer tedavi hedefi olması muhtemeldir.

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

2. GENEL BİLGİLER

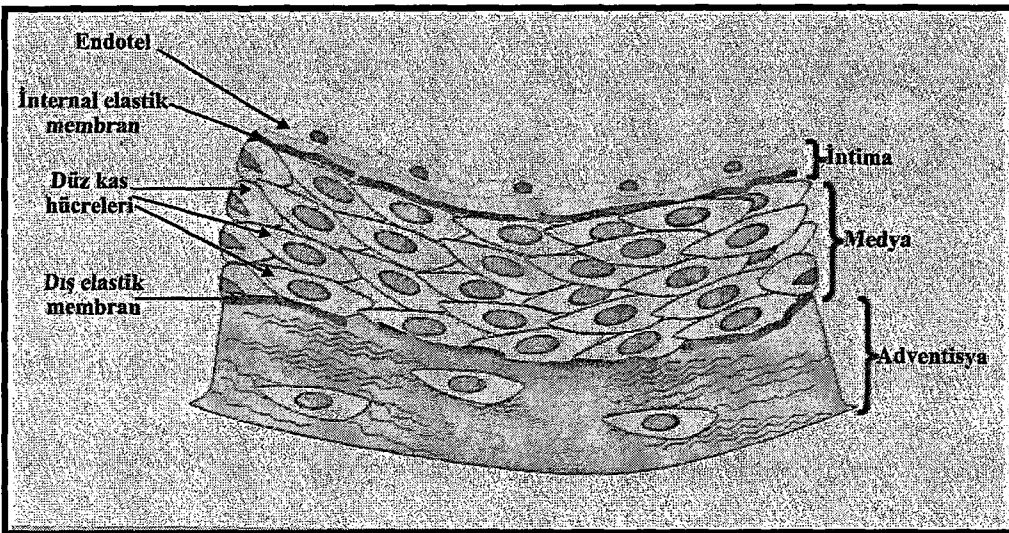
2.1. ATEROSKLEROZUN FİZYOPATOGENEZİ VE KLİNİK ORTAYA ÇIKIŞ ŞEKİLLERİ

2.1.1. Aterosklerozun Tanımı

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

2.1.2. Normal Arter Duvarı

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



Şekil-1 : Normal arter duvarının yapısı (Kaynak 10'dan alınmıştır)

2.1.3 Aterogenezde Hasara Tepki Hipotezi

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

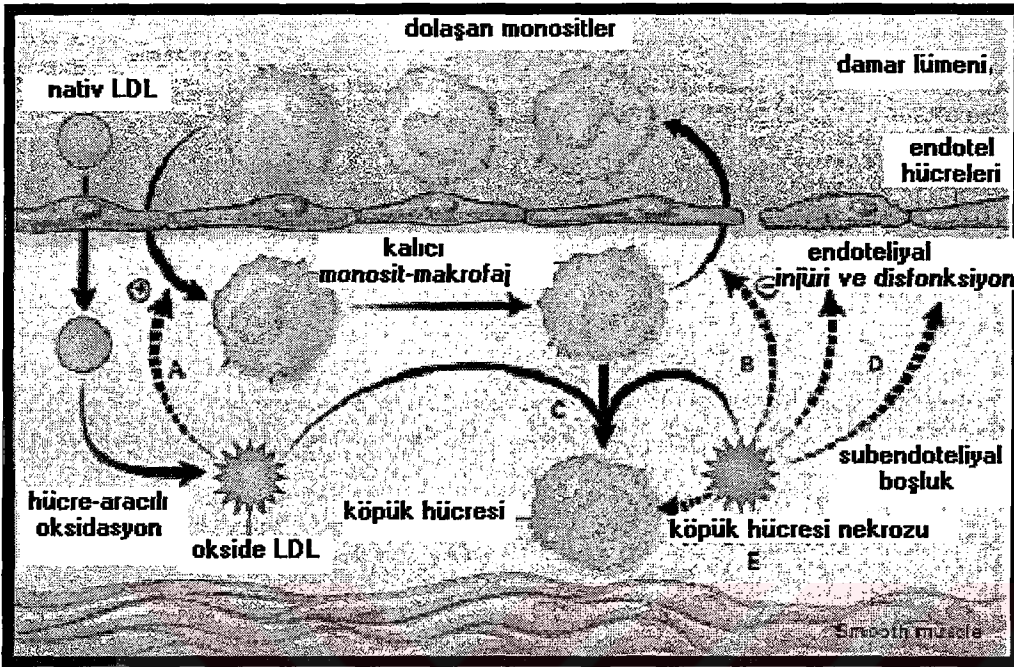
Endotel Fonksiyonlarını Bozan Faktörler	Endotel Fonksiyonlarını Düzelten Faktörler
<ul style="list-style-type: none">• Yaşın artması• Erkek cinsiyet• Ailede KAH öyküsü olması• Sigara içmek• Yüksek serum kolesterolü• Düşük serum HDL-kolesterolü• Hipertansiyon• Diabetes mellitus• Yüksek serum homosistein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

Tablo 1: Endotel fonksiyonları üzerine etkili faktörler

2.1.4 Ateroskleroz Patogenezi

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

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



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

2.1.5 Düz Kas Hücreleri

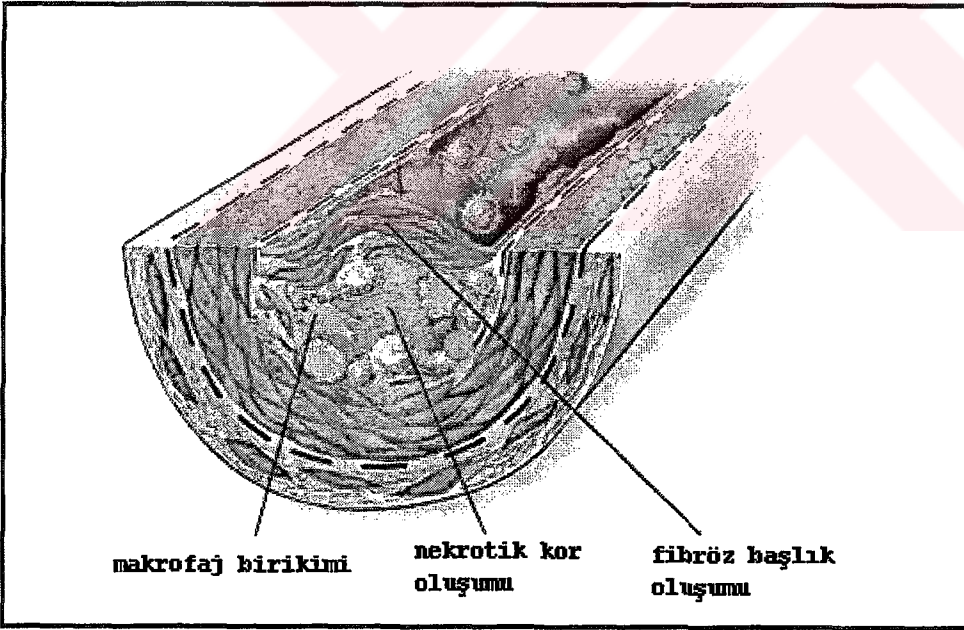
Normal arter duvarının medya tabakasında yer alan düz kas hücrelerinin esas görevi arter tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın oluşumu sırasında medyadan intimaya geç eden bu hücreler, lezyonun fibroproliferatif sürecinde rol alırlar. Bu yüzden düz kas hücrelerinin intimada birikmesi ilerlemiş lezyonun göstergesi kabul edilir.

Düz kas hücre kültürlerinde iki ayrı fenotip tanımlanmıştır (10). Birinci grup yoğun miyofibriller içeren kontraktıl fenotiptir. Bunlar medya tabakasında yerleşiktirler, endotelin, katekolamin, anjiyotensin-II gibi vazokonstriktörlere ve prostoglandin E, prostosiklin, NO gibi vazodilatörlere yanıt verirler. Bununla beraber örneğin platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi mitojenlere kayıtsızdırlar.

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

2.1.6 Fibröz Başlık (Fibrous Cap)

Olgunlaşmış bir aterom plağında lipid çekirdeğin üstü fibröz bir başlıkla örtülüdür. Lipid çekirdek ve etrafındaki fibröz başlıktan oluşan ilerlemiş lezyona “fibroaterom” denilir (şekil-3)



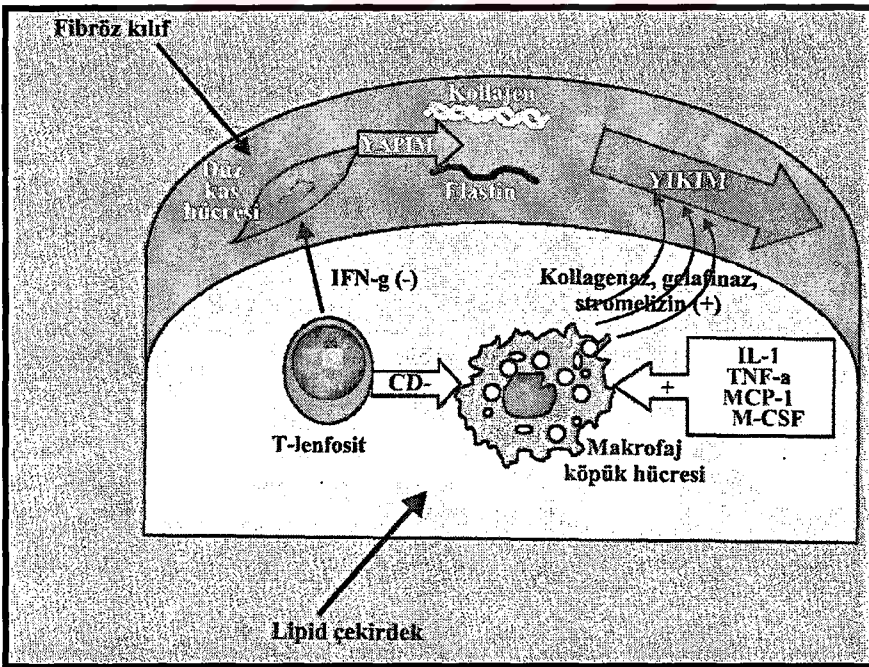
Şekil-3 : Fibroateromun yapısı (Şeklin alındığı kaynak Ross R., N Engl J Med 1999;340:115)

Fibröz başlık yoğunlukla düz kas hücreleri ve onların ürettiği bağ dokusundan oluşur. Lezyonun yaşı ilerledikçe düz kas hücrelerinin sayısı da artar. Düz kas hücrelerinin medyadan göçü ve proliferasyonu, PDGF, FGF gibi büyüme faktörlerinin uyarısı ile

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

Bugün artık fibröz başlığın dinamik bir yapı olduğu bilinmektedir. Bir yandan DKH tarafından kollajen yapımı sürerken, diğer yandan interlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekrosis faktör α (TNF- α) gibi sitokinlerle aktive edilen makrofajlar tarafından salgılanan proteazlar aracılığıyla sürekli bağ dokusu yıkımı olmaktadır.

Lipid çekirdek ve fibröz tabakanın lezyondaki miktarı, plağın zedelenebilirliğini (vulnerabilitesini), bir başka deyişle komplikasyon gelişimine ne kadar açık olduğunu belirleyen esas etkidir (13). Fibröz başlık ne kadar kalınsa plak o kadar stabil, fibröz başlık ne kadar inceyse, yırtılmaya o kadar yatkın ve dolayısıyla plak da komplikasyona o kadar açıktır. Aterom plağının komplike olmasında rol oynayan hücre ve maddelerin şematik anlatımı şekil-4'de ifade edilmektedir.



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

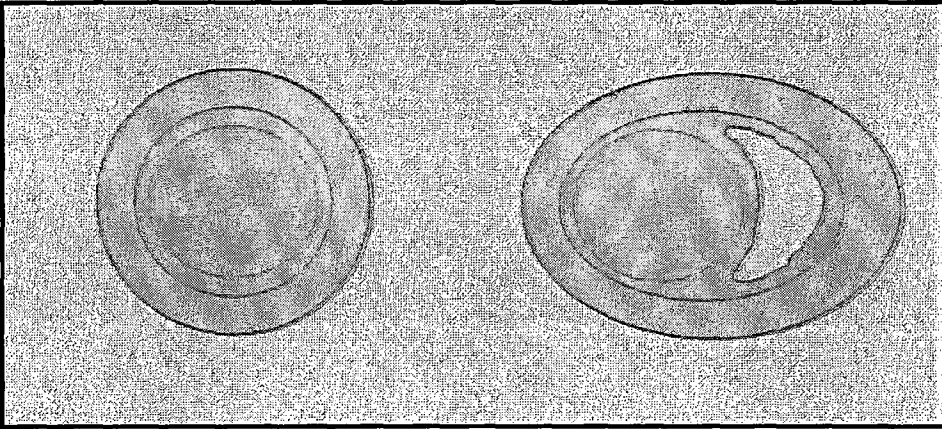
2.1.7 Plağın Yapısı ve Oluşturdukları Klinik Tablo Arasındaki İlişki

Kararlı (stabil) Aterosklerotik Plak

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

- Kalın bir fibröz başlık. Fibröz başlığın kalınlığı plağın her bölgesinde eşit düzeydedir. Bu yapısal özellik plağa mekanik travmalara direnme yeteneği kazandırır. Plaktaki çevresel gerilme stresini azaltır.
- Fibröz başlık, DKH ve kollajen bakımından zengindir.
- Lipid çekirdek plağın toplam hacminin %40'ından azdır.
- Lezyondaki inflamasyon (makrofaj ve T lenfosit) hücrelerinin sayısı azdır.

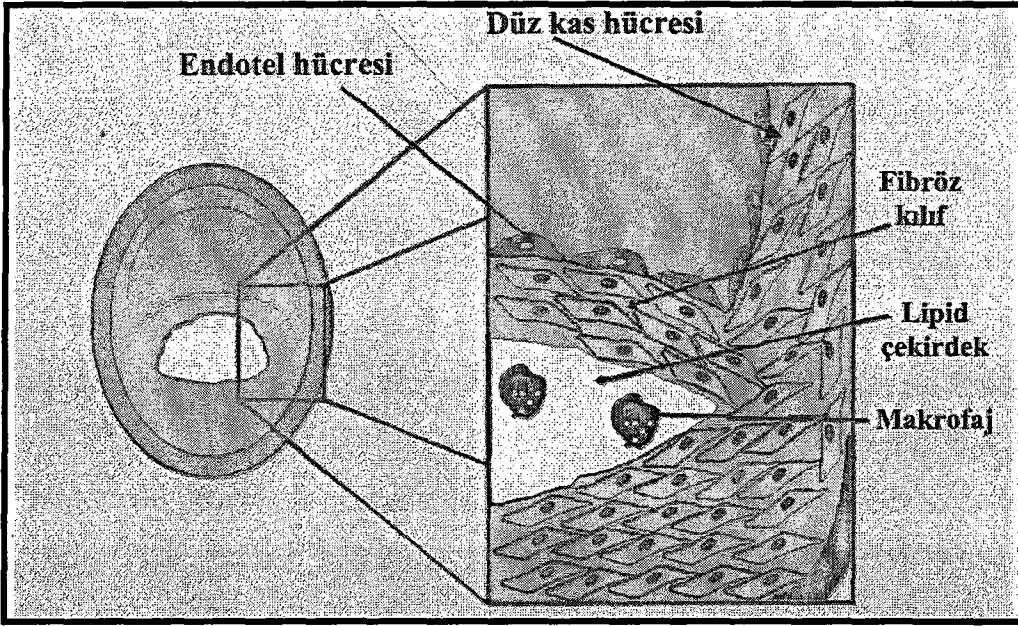
Bu özellikleri taşıyan bir aterom plağı lümeninde kritik düzeyde daralma yapacak kadar büyür ise oluşturacağı klinik tablo kararlı anjina pektoristir. Ancak büyüme her zaman lümenine doğru olmaz. Duvardaki yeniden biçimlenme ile damar dış çapını artırır. Bu durumda büyüme dışa doğrudur ve lümeni etkilemez.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



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

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

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



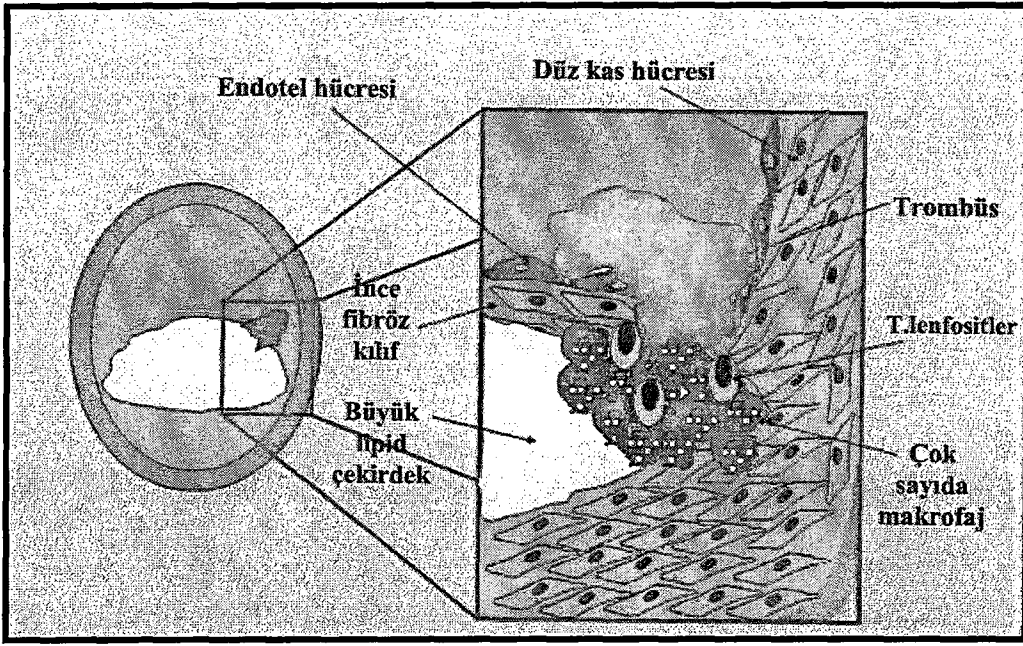
Şekil-6: Kararlı plağın yapısı. Kalın ve düz kas hücrelerinden zengin fibröz kılıf, küçük bir lipid çekirdek ve az sayıda inflamasyon hücresi (Kaynak 10).

Kararsız (anstabil, vulnerable) Aterosklerotik Plak

Kararlı plağın aksine kolay hasar görebilecek, bir başka deyişle komplikasyon riski yüksek plaklar kararsız plaklar olarak nitelendirilirler. Kararsız bir plağın ortak özellikleri şunlardır:

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

Kararsız plak özelliklerine sahip bir plağın şematik anlatımı şekil-7'de ifade edilmiştir. Kararsız plaklar bütün aterosklerotik plakların %10-20'sini oluştururken, akut koroner sendromlardan sorumlu olanların %80-90 oranında bunlar olduğuna inanılmaktadır. Bir plak komplike olduğu zaman akut koroner sendromlara sebep olacağı gibi tamamen sessiz de kalabilir. İleri derecede koroner damar daralmasına neden olan lezyonların %70'inin komplike olup onarılmış lezyonlar oldukları saptanmıştır (10).



Şekil-7: Kararsız plağın yapısı. İnce bir fibröz başlık, büyük bir lipid çekirdek ve çok sayıda inflamasyon hücresi (Kaynak 10).

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

2.1.8 Koroner arter Hastalığının Klinikte Karşılaşılan Formları ile Ateroskleroz Lezyonlarının İlişkisi

Amerikan Kalp Birliği (AHA), ateroskleroz lezyonlarını, ilerleme tipini klinik sonuçlarla eşleştirerek altı tipe ve beş evreye ayırmıştır (20).

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

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

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

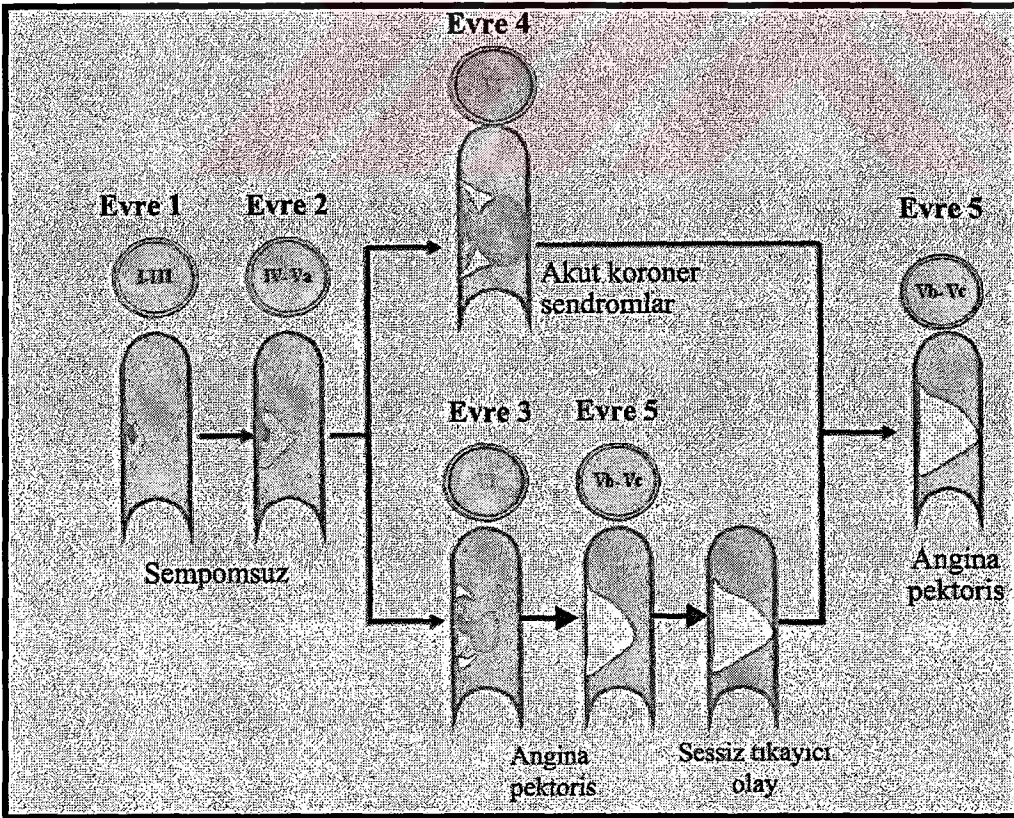
Evre 4: Bu evrede de akut komplike olmuş tip VI lezyonlar vardır. Bu lezyonların evre 3'tekilerden farkı duvardaki trombüsün büyüklüğüdür. Tıkayıcı bir trombüstür ve akut koroner sendromlara neden olur.

Evre 5: Evre 3 ve 4'teki lezyonlarda hasarın onarımı ve duvarda oturan trombüsün organize olması sonucunda plağın boyutu büyür ve fibrotik tıkaçıcı lezyon türleri olan tip Vb ya da Vc lezyonlar oluşur. Tip Vb ve Vc lezyonlar damar lümeninde kritik düzeyde daralma oluşturdukları için anjina pektoris neden olurlar. Ancak bu lezyonlar ortaya çıkmadan önceki iskemik dönemde etkili bir kollateral dolaşım oluştu ise klinik bulgu vermeden sesiz olarak kalabilirler. Tip V lezyonların daha ileri evresinde yağ birikintileri medyaya kadar uzanarak DKH'nin dizilişini bozabilir. Adventisyada ise lenfositler, makrofajlar hatta köpük hücreleri bile görülebilir.

AHA'nın bu sınıflamasına 2003 yılında iki tip daha eklenmiştir (21).

Ellili yaşlardan sonra plakların mineral içeriğinin artmaya başladığı gösterilmiştir. Kalsiyumun başı çektiği mineraller, plak kesit alanının yarısı ya da daha fazlasını kaplıyorsa bu tip VII lezyon olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca bu lezyonların bir çok kez tekrarlayan hasar onarım süreci nedeniyle, bağ dokusu içeriği de çok artmıştır.

Lipid çekirdeğin olmadığı ancak intimanın, zaman zaman hiyalinize olan düzensiz yapıdaki onarıcı nitelikli fibröz bağ dokusu ile kalınlaştığı duruma Tip VIII lezyon adı verilmektedir. Lezyon içinde yer yer kalsiyum kümeleşmeleride görülür.



Şekil-8: AHA aterosklerotik lezyon sınıflaması (Kaynak 10).

2.2. LİZOZOMAL SİSTEİN PROTEAZLARI VE SİSTATİN C

2.2.1. Aterosklerozda Ekstraselüler Matriks Yapım-Yıkım Dengesi

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

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

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

2.2.2. Lizozomal Sistein Proteazları Ve Onların Potent İnhibitörü Sistatin C

Katepsinler esas olarak hücre lizozomları ve endozomlarında faaliyet gösteren, Lizozomal Sistein Proteazları denilen bir proteaz ailesine mensup enzimlerdir. Son yıllarda moleküler biyolojideki gelişmelere paralel olarak bir çok katepsin tipi tanımlanmıştır ve bunların çoğunun varlığı insan ve hayvanlarda gösterilmiştir. Her ne kadar lizozom ve endozomlar bu enzimlerin esas buldukları ve faaliyetleri için optimum pH'ya sahip yerlerse de günümüzde çok çarpıcı bir şekilde katepsinlerin bu organeller dışında faaliyet gösterebildikleri saptanmıştır (41). Bu enzimlerin sekretuar özellikleri yoktur ve hücrenin kontakt zonu içinde fokal bir asidik ortam teşekkülüyle hücre dışı faaliyet göstermektedirler. DKH, endotel hücresi ve makrofajların kültür ortamlarında aktif katepsinlerin gösterilmesi bu enzimlerin hücre dışı faaliyetlerinin iyi bir delili olmuştur ve arteriyel patobiyolojideki önemlerinin anlaşılmasına yol açmıştır (42). Bu düşüneyi destekler nitelikte, genetik olarak modifiye edilmiş LDL-reseptörü olmayan ateroskleroza eğimli farelerde katepsin S eksikliğinin ateroskleroza azalttığı gösterilmiştir (43).

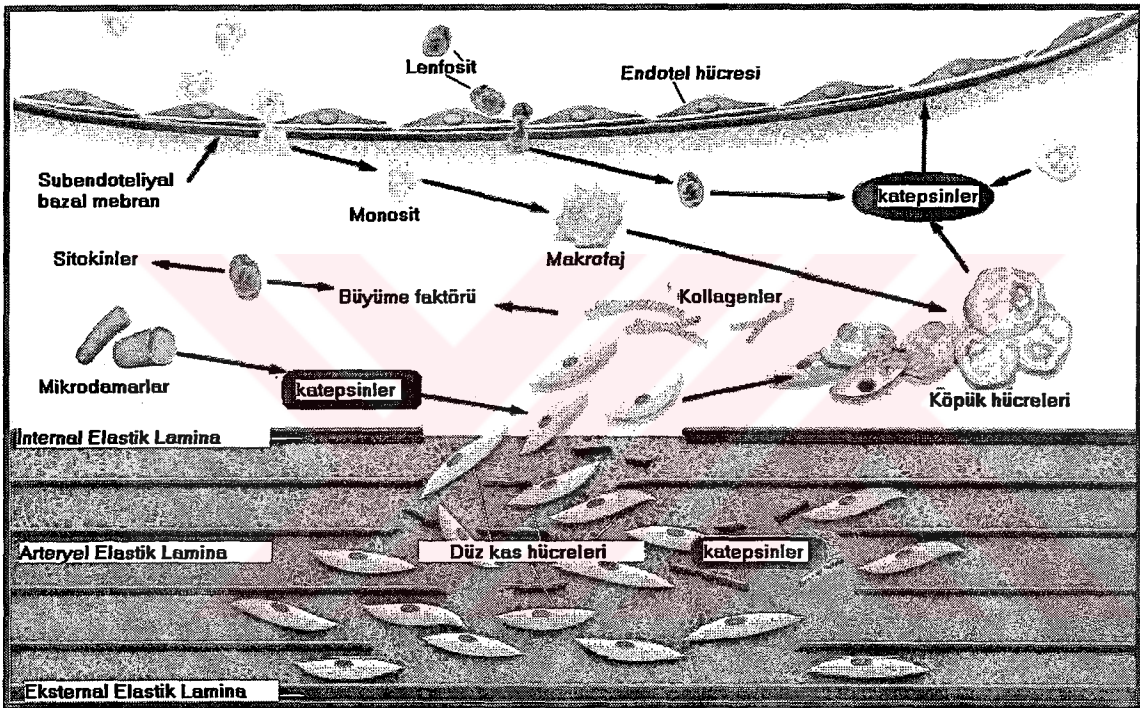
Sistatin C sistein proteaz inhibitörleri sistatin süperailisinin bir üyesidir. Bu ailenin 11 üyesi vardır ve sistatin C endojen sistein proteazlarının fizyolojik olarak en önemli inhibitörü olarak kabul edilmektedir (44-45).

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

2.2.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar

Sukhova GK, Shi GP ve ark.'ı tarafından yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda insanların atrosklerotik plaklarının bol miktarda katepsin K ve S içermelerine karşın normal arter duvarında katepsin K ve S'nin çok az miktarda olduğu yada hiç olmadığı gösterilmiştir (49,50). Bu çalışmalarda katepsin K ve S'nin başlıca aterom plağının omuz bölgesindeki makrofajlarda , fibröz kapsül düz kas hücrelerinde ve internal elastik lamina

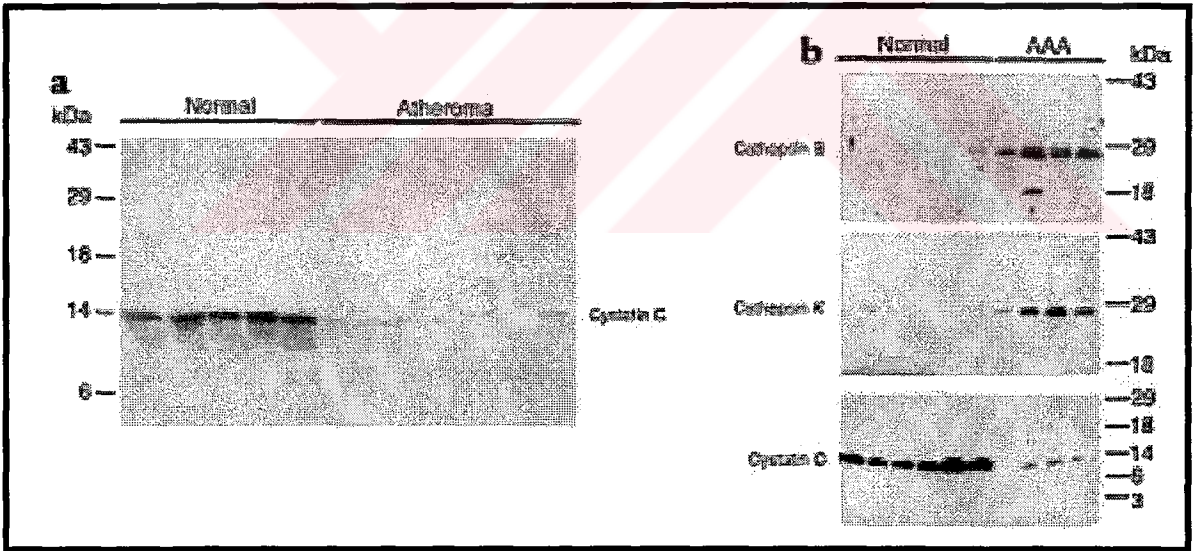
fragmentasyon yerlerinde buldukları gösterilmiştir. Bu bulgular bu enzimlerin damar duvarının elastik laminasının harabiyeti ile düz kas hücre göçünde ve ateromun fibröz kapsülündeki kollajenin yıkımıyla da plağın destabilizasyonunda rol oynadıklarını düşündürmektedir. Ayrıca damar lümenini döşeyen endotel hücreleri ve plak içindeki mikrodamarların endotel hücreleri katepsin S salgırlarlar, bu da bu proteazların plak büyümesi ve komplikasyonlarında rol oynayan neovaskularizasyon sürecinde aktif rol aldıklarını düşündürmektedir (42). Şekil-9'da sistein proteazı katepsinlerin aterogenezdeki olası rolleri anlatılmıştır.



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

Bu araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda; normal koşullarda, kültüre insan DKH'nin katepsin K ve S içermemeleri ve elastolitik aktivite göstermemelerine rağmen, ateroma

ilişkili sitokinlerden IL-1 β ve IFN- γ ile stimüle edildiklerinde aktif katepsin S salgıladıkları ve önemli miktarlarda elastini parçaladıkları ve Katepsin S'nin selektif bir inhibitörünün bu elastolitik aktivitenin %80'ninden fazlasını durdurduğu gösterilmiştir (49). Yine aynı araştırmacılar immünohistokimyasal çalışmalarla normal arter duvarının bol miktarda sistatin C içermesine rağmen insan aterosklerotik plakları ve abdominal aort anevrizmalarından alınan örneklerin çok az miktarda sistatin C içerdiklerini (şekil-10, kaynak 50) göstermişlerdir. Bu araştırmacılar deneylerinde insan DKH kültürlerinin INF- γ ile stimüle edilmeleriyle meydana gelen katepsin-S'e bağımlı elastolitik aktivitenin %75'inden fazlasının ortama rekombinant cystatin C ilavesi ile durdurulduğunu ve aterosklerozda plazmada düzeylerinin azaldığı gösterilmiş bir stokin olan TGF- β 1 ile stimüle edildiklerinde DKH kültürlerinde ortamdaki cystatin C miktarlarının arttığını ve bununla uyumlu olarak ortama TGF- β 1 ilavesinin INF- γ ile stimüle edilmiş düz kas hücrelerindeki elastolitik aktivitenin tamamına yakını durdurduğunu gözlemlemişlerdir (49-50). Tablo-2'de çeşitli sitokinlerin ve anjiyogenik faktörlerin katepsin S ve sistatin C ekspresyonu ve sekresyonu üzerine olan etkileri gösterilmiştir.



Şekil-10: Normal arterlerden, aterosklerotik plaklardan ve aortik anevrizmalardan elde edilen protein ekstratlarının “immunoblotting” yöntemi ile işlenmesi. Hem aterosklerotik plaklar (a) hem de aortik anevrizmalar (b) belirgin derecede azalmış sistatin C antijeni göstermesine karşın, anevrizmal aortalarda (b) katepsin S ve K'nın arttığı görülmektedir (Kaynak 50).

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

Tablo-2: ↑: artma, ↓: azalma, -:etki yok. EH;endotel hücresi, MK;makrofaj. (Kaynak 42)

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

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

2.2.4 Klinik Çalışmalar

İmmünohistokimyasal çalışmalarla aterosklerotik lezyonlarda sistatin C eksikliğinin gösterilmesi klinik aterosklerotik olaylar ile plazma sistatin C seviyeleri arasındaki ilişkinin araştırılmasına yol açmıştır.

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

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

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

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

Plazma sistatin C düşüklüğü ile koroner arter hastalığı arasında bir ilişkinin var olduğunu destekleyen bu çalışmaların yanı sıra plazma sistatin C düzeyleri ile aterosklerotik hastalık gelişimi arasında bir ilişkinin saptanmadığı çalışmalar da vardır. Michelle A Albert ve ark tarafından yapılan, aspirin ve beta-karotenin kanser ve kardiyovasküler hastalıklardan

primer korunmadaki etkilerini araştıran plasebo kontrollü bir çalışmada (Physicians Health Study) 22,071 sağlıklı denekten 60 aylık takipte periferik arter hastalığı gelişen 133 hasta ve eşit sayıda kontrol grubunda bazal sistatin C kan düzeylerine bakılmış ve arada istatiksels anlamlılıktta fark saptanmamıştır. Araştırmacılar hipotez olarak aterosklerozun erken dönemlerinde sistatin C seviyelerinin normal olduğunu ancak sistatin C nin bir geç belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (57).

10,600 sağlıklı gönüllü erkek üzerinde 5 yıl boyunca risk faktörlerinin koroner kalp hastalığı gelişimi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı gözlemsel bir çalışmada izlemde ilk koroner olaylarını geçiren 313 hasta ile 616 kontrolünün bazal sistatin C düzeylerine bakılmış ve koroner olay geçirenlerin bazal sistatin C seviyeleri kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır. Araştırmacılar bu farkın böbrek fonksiyonlarındaki bir farklılıktan kaynaklanmadığını göstermişler ve koroner olay geliştiren hastalarda yüksek sistatin C düzeyleri saptanmasına hipotez olarak arteriyel duvar dışındaki hücrelerden azalmış arteriyel ekspresyonu dengelemek için sistatin C'nin over-eksprese edildiğini ileri sürmüşlerdir. Tabi ki bu hipotezleri kanıtlanmamış olarak durmaktadır (58).

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

Sonuç olarak literatürde plazma sistatin C düzeyleri ile klinik aterosklerotik olaylar arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar içerisinde, koroner arter hastalığında plazma sistatin C düşüklüğünün gösterildiği çalışmaların yanında böyle bir ilişkinin saptanmadığı çalışmalarda bulunmaktadır. Ancak literatürde henüz koroner arter hastalığının klinikte karşılaşılan tüm formları ile normal koroner anjiyografiye sahip olguları birarada içeren bir araştırma populasyonunda, plazma sistatin C düzeylerini karşılaştıran bir çalışma yoktur.

3. AMAÇ

Aterosklerotik lezyonlarda sistatin C düzeylerinin düşük olduğu immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak plazma sistatin C seviyeleri ile aterosklerotik kalp hastalıkları ilişkisi net olarak ortaya konamamıştır. Biz bu çalışma ile aterosklerotik kalp hastalıklarının klinikte karşılaşılan tüm formlarını içeren hasta grupları oluşturmayı ve bu hasta gruplarının plazma sistatin C düzeylerini kendi içlerinde birbirleriyle ve koroner damarları anjografide normal saptanan kontrol grubu ile karşılaştırmayı planladık.



4. ARAŞTIRMA MATERYALİ VE YÖNTEM

4.1. Çalışma Populasyonu

Çalışmaya ocak-2005 ve Nisan-2006 tarihleri arasında toplam 397 hasta dahil edildi.. Hastanemize akut koroner sendrom (AKS) kliniği ile başvurup troponin yüksekliği olan hastalar akut miyokard infarküsü (AMİ) grubunu (ST yükselmeli yada ST yükselmez) (grup 1) ve troponin yükselmesi olmayıp anlamlı EKG değişikliği olanlar ve koroner anjiyografide %20'den fazla lümenal daralması gösterilenler kararsız angina grubunu (grup 2) ve göğüs ağrısı nedeniyle başvurup non-invaziv yöntemlerde koroner iskemisi gösterilen ve koroner anjiyografide anlamlı darlığı saptanan hastalar kararlı angina grubunu (grup 3) ve koroner anjiyografilerinde damarları normal saptanan olgularda kontrol grubunu (grup 4) oluşturdu. Sistatin C için plazma örnekleri AKS hastalarından olayın 24 saati içinde diğer hastalardan koroner anjiyografi (KAG) öncesinde alındı. Sistatin C için kanlar EDTA içeren tüplere alındı ve plazması ayrıldıktan sonra -70 derecede donduruldu.

Bilinen sistemik hastalığı, kanser tanısı veya aktif enfeksiyonu olan hastalar çalışmadan hariç bırakıldı. Yine aortik anevrizmalı hastalarda sistatin C düşüklüğü beklendiği için, bilinen aortik anevrizması olan hastalar çalışmadan hariç bırakıldı.

4.2 Sistatin C Ölçüm Yöntemi

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

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

4.3 İstatiksel Analiz

Plazma sistatin-C, serum kreatinin ve CRP değerleri normal dağılım gstermedikleri için medyan olarak, diğer değişkenler ise ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar arasında kesikli değişkenlerin karşılaştırılmasında çoklu ki-kare testi, sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında ise normal dağılım görülen verilerde ANOVA testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Kruskal Wallis varyans analiz yöntemleri kullanılmıştır. Varyans analizinde anlamlı sonuç çıkan bağımsız değişkenlerde farkın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak için Bonferroni post-hoc testi yapılmıştır. Tüm testler tek yönlü olarak değerlendirilmiştir. $P < 0,05$ olması durumunda anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analiz için SPSS 11 sürüm yazılım programı kullanıldı.



5. BULGULAR

5.1. Hastaların Bazal Karakteristikleri

Çalışmaya toplam 397 hasta dahil edildi. Hastaların 146'sını AMİ olanlar (grup 1) , 57'sini kararsız anginası olanlar (grup 2) , 142'sini kararlı anginası olanlar (grup 3) ve 52'sini normal koroner anjiyografisi olanlar (grup 4; kontrol grubu) oluşturmaktaydı. Gruplar arasında ortalama yaş, beden kitle indeksleri ve hipertansiyon sıklığı bakımlarından fark saptanmadı. Kontrol grubunda erkek hasta sayısı diğer gruplardan anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0.003$). Diyabetik hasta oranı kontrol grubunda daha düşüktü ($p=0,018$). Öyküde hiperlipidemi mevcudiyeti ve hastaların statin tedavisi alıyor olma durumları AMİ ve kontrol gruplarında diğer gruplara göre daha düşüktü ($p<0,001$). Benzer olarak AMİ ve kontrol gruplarındaki hastaların anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (ADE-İ) ve beta bloker kullanıyor olma oranları diğer gruplara göre daha düşüktü (sırasıyla $p=0,006$ ve $p<0,0001$). Sigara kullanımı açısından gruplara bakıldığında aktif içicilerin oranı grup 1'de diğer gruplara göre daha fazla idi, hiç sigara kulanmayanlar ise grup 4'te diğer gruplara göre daha fazla idi. Gruplar arasında öyküde kalp yetersizliği (KKY), serebrovasküler olay (SVO) ve periferik arter hastalığı (PAH) olması açısından fark yoktu. Hastaların bazal karakteristikleri ve kullanmakta oldukları tedaviler tablo-3'de özetlenmiştir.

Tablo-3: Hastaların bazal karakteristikleri ve kullanmakta oldukları tedaviler

Bazal Değişkenler	Grup 1 n=146	Grup 2 n= 57	Grup 3 n= 142	Grup 4 n= 52	p değeri ¶	
Yaş (ortalama, ±SD) (yıl)	62,5±12,1	63,0±9,7	61,2±10	58,9±11,9	0,164	
Cinsiyet (Erkek -%) *	97 (68,3)	41 (71,9)	115 (78,8)	27 (51,9)	<0,003	
BKİ (kg/m2-medyan) (min-maks)	27.3 (19.9-41.1)	27.3 (21.4-39.8)	26.5 (19.1-36)	26.5 (20.4-40)	0,58	
DM (%) **	42 (29,6)	19 (33,3)	50 (34,2)	6 (11,5)	0,018	
HT (%)	74 (52,1)	39 (68,4)	86 (58,9)	30 (57,7)	0,205	
HL (%) &	62 (43,7)	43 (75,4)	95 (65,1)	21 (40,4)	0,001	
Sigara	Eski içici	25 (17,6)	12 (21,1)	48 (32,9)	3 (5,8)	-
	Aktif içen	56 (39,4)	13 (22,8)	42 (28,8)	17 (32,7)	-
	Hiç içmeyen ¥	61 (43)	32 (56,1)	56 (38,4)	32 (61,5)	0,0001
KAH öyküsü (%) &&	28 (19,7)	27 (47,4)	74 (50,7)	0 (0)	0,0001	
KKY (%)	12 (8,5)	4 (7)	6 (4,1)	2 (3,8)	0,4	
SVO öyküsü (%)	6 (4,2)	3 (5,3)	3 (2,1)	1 (1,9)	0,55	
PAH öyküsü (%)	5 (3,5)	1 (1,8)	4 (2,7)	1 (1,9)	0,88	
Statin kullanımı (%) €	19 (13,5)	19 (33,3)	68 (46,9)	11 (21,2)	<0,0001	
ADE-İ kullanımı (%) £	43 (30,5)	30 (52,6)	69 (47,6)	24(46,2)	0,006	
Beta-bl kullanımı (%) ¥	20 (14,2)	21 (36,8)	60 (41,4)	11 (21,2)	<0,0001	

¶ P değerleri anlamlı çıkan değişkenler için gruplar tek tek birbirleri ile karşılaştırıldı. Bu değişkenler için arasında anlamlı fark çıkan gruplar aşağıda belirtildi.

* Grup 1 ile grup 3 arasında p=0,044. Grup 1 ile grup 4 arasında p=0,035. Grup 2 ile grup 4 arasında p=0,031. Grup 3 ile grup 4 arasında p<0,0001.

** Grup 1 ile grup 4 arasında p<0,01. Grup 2 ile grup 4 arasında p=0,007. Grup 3 ile grup 4 arasında p=0,002.

& Grup 1 ile grup 2 arasında p<0,0001. Grup 1 ile grup 3 arasında p<0,0001. Grup 2 ile grup 4 arasında p<0,0001. Grup 3 ile grup 4 arasında p=0,002.

¥ Grup 1 ile grup 3 arasında p=0,009. Grup 1 ile grup 4 arasında p=0,032. Grup 3 ile grup 4 arasında p<0,0001.

&& Grup 1 ile grup 2 arasında p<0,0001. Grup 1 ile grup 3 arasında p<0,0001.

€ Grup 1 ile grup 2 arasında p<0,001. Grup 1 ile grup 3 arasında p<0,0001. Grup 3 ile grup 4 arasında p<0,001

£ Grup 1 ile grup 2 arasında p=0,003. Grup 1 ile grup 3 arasında p=0,003. Grup 1 ile grup 4 arasında p=0,043

¥ Grup 1 ile grup 2 arasında p<0,0001. Grup 1 ile grup 3 arasında p<0,0001. Grup 3 ile grup 4 arasında p=0,009

5.2. Sistatin C Düzeyleri Ve Diğer Laboratuvar Değerleri

Çalışmaya alınan hastaların serum kreatinin seviyeleri , plazma sistatin C düzeyleri , CRP düzeyleri ve lipid profili özellikleri tablo-4'te özetlenmiştir.

Tablo-4:

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p değeri ¶
Serum kreatinin (mg/dl)					
Medyan*	1,06	1,04	1,08	0,96	0,005
min-maks	0,60-3,80	0,50-1,87	0,70-2,50	0,60-1,59	
Sistatin C (mg/L)					
Medyan	0,95	0,95	0,93	0,89	0,49
min-maks	0,47-3,87	0,63-1,81	0,54-2,05	0,61-1,98	
CRP (mg/L)					
Medyan**	13,04	4,49	4,04	5,14	0,0001
min-maks	0,49-254,78	0,96-99,71	0,15-76,02	1,13-158	
LDL (mg/dl)					
Ortalama ±SD	101,9 ±32,9	99,8 ±33,9	106,2 ±39,1	104,4 ±27,3	0,597
HDL (mg/dl)					
Ortalama ±SD £	43,8 ±10,7	44,9 ±13,0	47,2 ±13,6	48,4 ±12,4	0,048
TG (mg/dl)					
Ortalama ±SD	156,3 ±20,7	162,3 ±86,4	172,7 ±173,3	146,5 ±56,26	0,594

¶ P değerleri anlamlı çıkan değişkenler için gruplar tek tek birbirleri ile karşılaştırıldı. Bu değişkenler için arasında anlamlı fark çıkan gruplar bonferroni post-hoc analizi kullanılarak belirlendi ve aşağıda belirtildi.

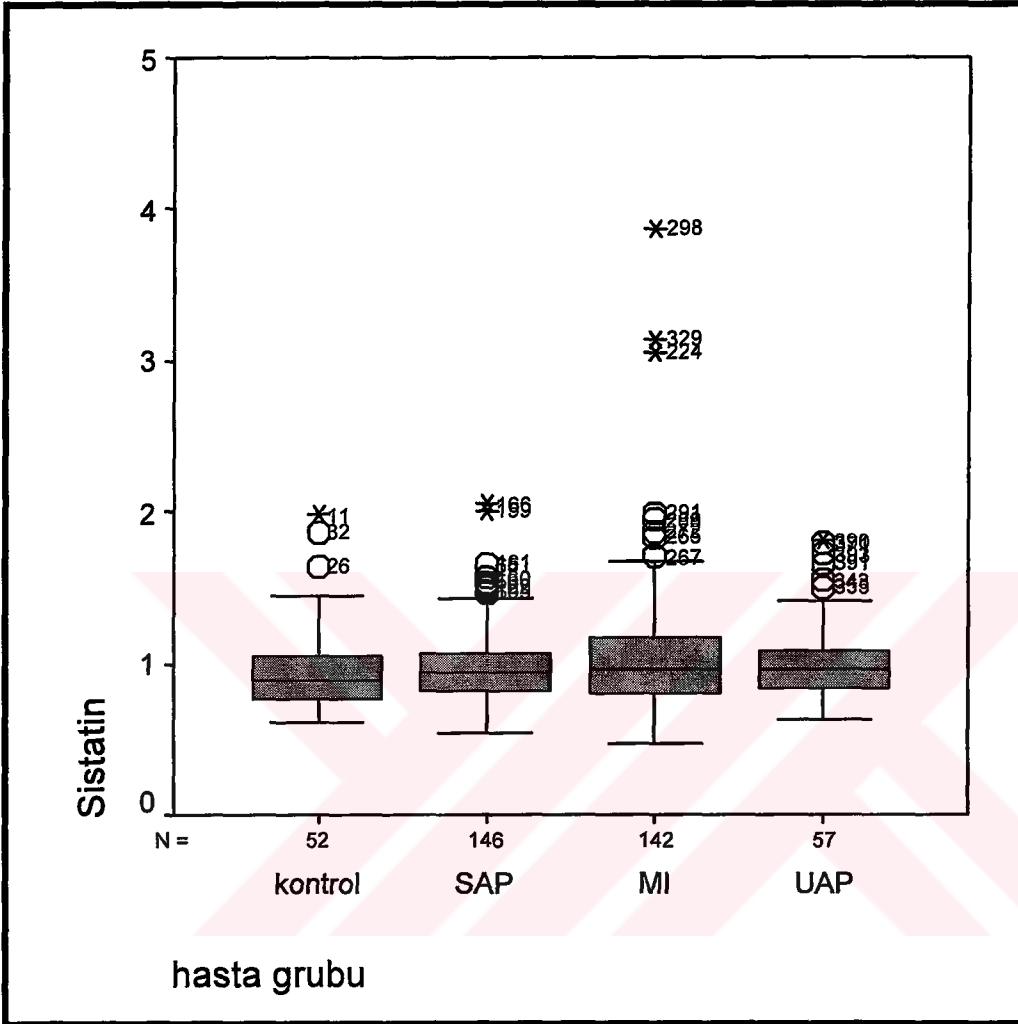
* Grup 1 ile grup 4 arası p=0,024. Grup 3 ile grup 4 arasında p=0,035

** Grup 1 ile grup 2 arasında p=0,004. Grup 1 ile grup 3 arasında p<0,0001. Grup 1 ile grup 4 arasında p=0,049.

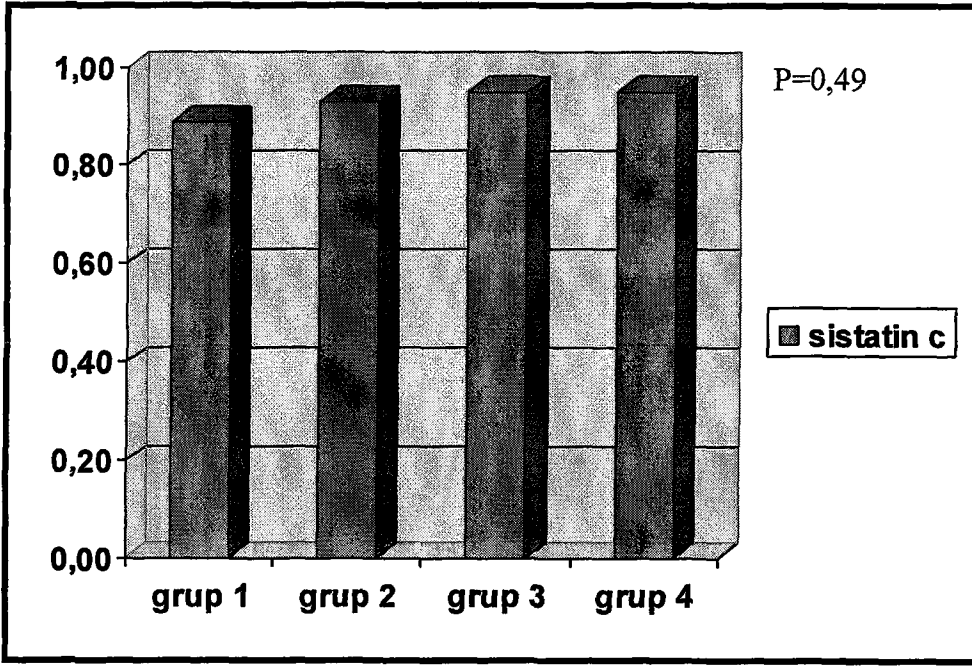
£ Grup 1 ile grup 3 arasında p=0,138. Grup 1 ile grup 4 arasında p=0,135 (p değerleri anlamlılığa daha yakın olanlar belirtildi)

Serum kreatinin değerleri grup 4'te grup 1 ve grup 3'e kıyasla anlamlı olarak daha düşüktü (sırasıyla; p=0,024 ve p=0,035). Serum LDL kolesterol ve TG düzeyleri gruplar arasında benzerdi. Ancak serum HDL kolesterol düzeyleri grup 1'de diğer gruplara göre hafif ama istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktü. Ancak gruplar Bonferroni post-hoc analizine göre tek tek karşılaştırıldığında HDL değerlerinin anlamlı farklılık göstermediği saptandı.

Gruplar arasında plazma sistatin C düzeyleri açısından herhangi bir farklılık saptanmadı. Sistatin C'nin gruplar içerisindeki dağılımını ve gruplar arasındaki karşılaştırmasını gösteren grafikler şekil-11 ve 12'de gösterilmiştir.

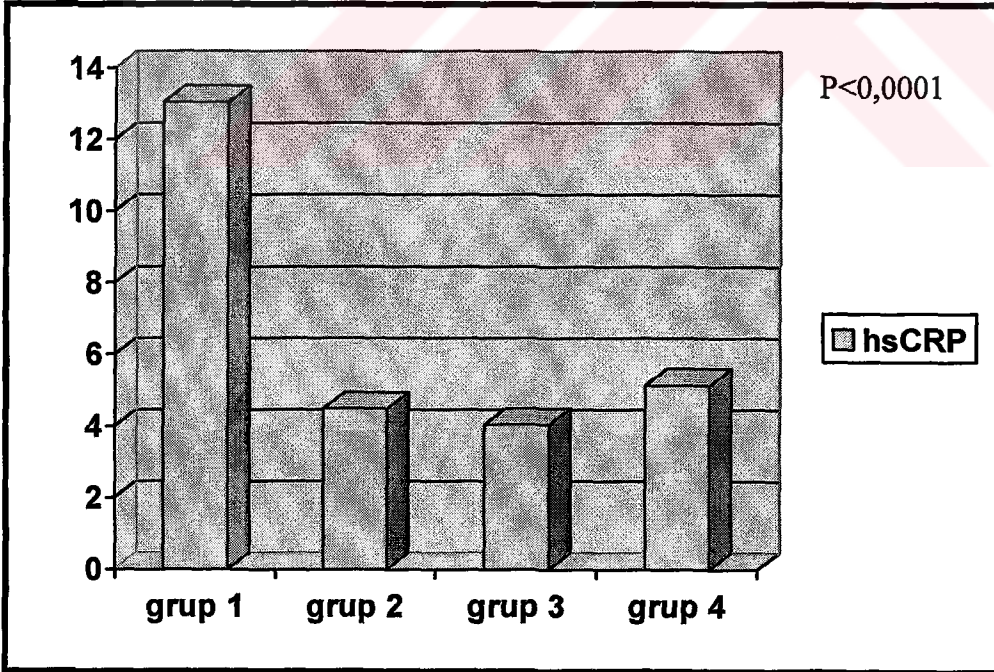


Şekil-11: Grupların kendi içlerinde sistatin C dağılımı görülmektedir.



Şekil-12: Gruplar arasında sistatin C düzeylerinin karşılaştırılması

Serum hsCRP düzeyleri AMİ grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksekti. Diğer grupların serum hsCRP düzeyleri açısından birbirleri arasında fark yoktu. (şekil-13)



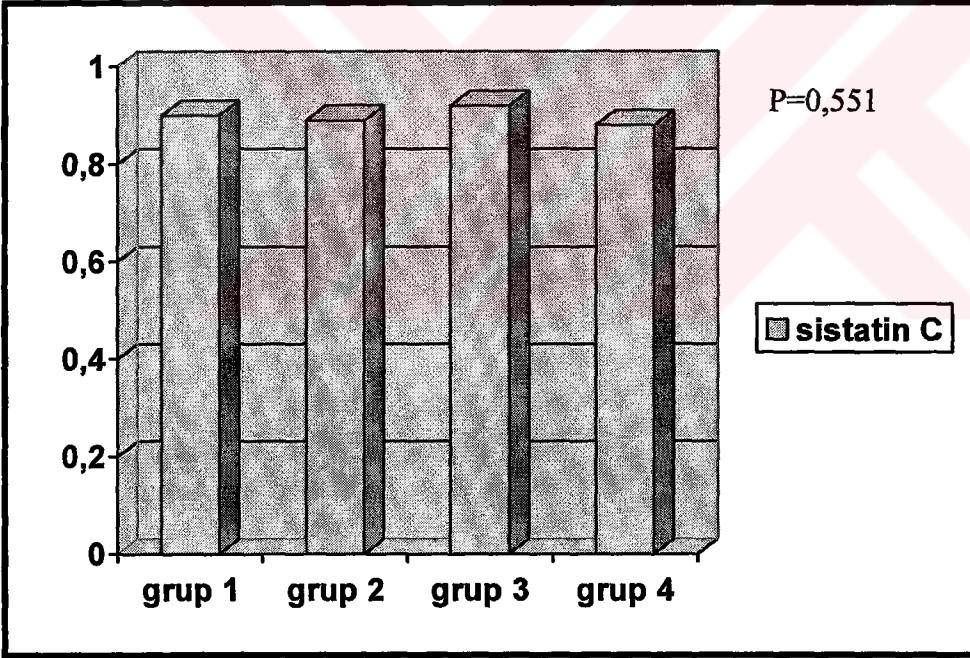
Şekil-13: Gruplar arasındaki hsCRP düzeylerinin karşılaştırması

5.3. Kreatinin Değerleri 1,3'ün Altında Olanlarda Sistatin C Düzeyleri

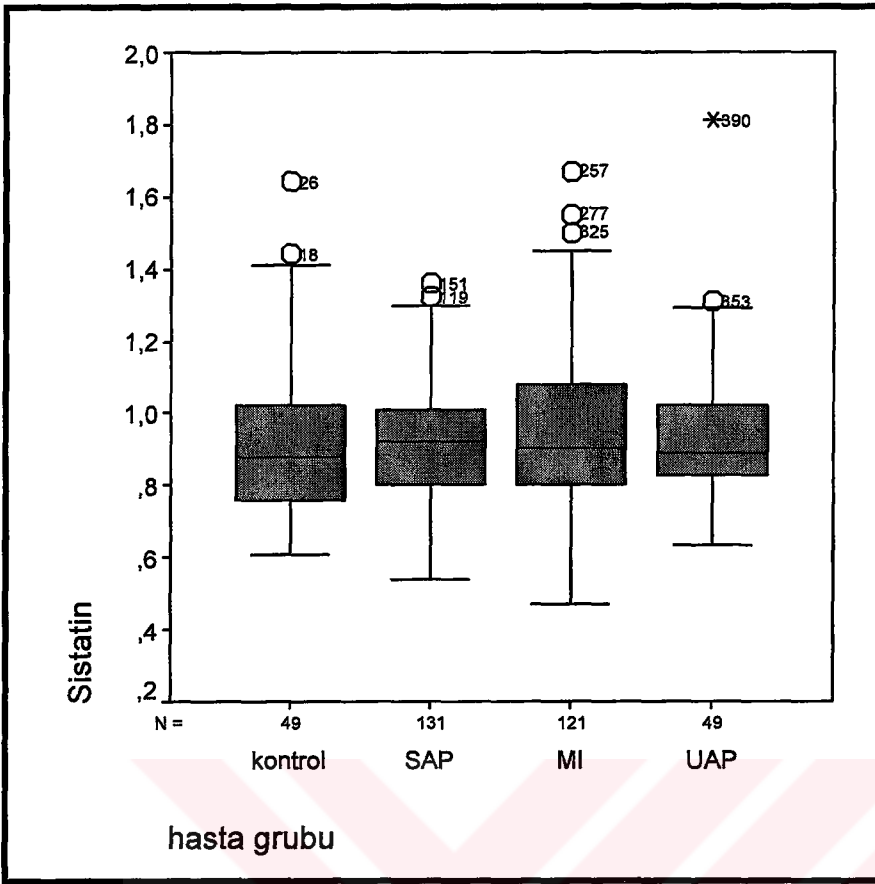
Plazma sistatin düzeylerinin ana belirleyicisi olması nedeniyle serum kreatinin değerleri 1,3 mg/dl'nin altında olan hastalarda (350 hasta ; tüm hastaların %88,1'i) plazma sistatin C düzeyleri ayrıca karşılaştırıldı (Tablo-5). Serum kreatinin düzeyleri 1,3'ün altında olan hastalarda da tüm popülasyona benzer şekilde gruplar arasında sistatin düzeyleri açısından fark saptanmadı (şekil-14). Bu hastaların kendi grupları içindeki sistatin C dağılımları şekil-15'te gösterilmiştir. Serum kreatinin değeri 1,3'ün altında olanlarda da grup 1'de hsCRP düzeyleri diğer gruplardan daha yüksekti.

Tablo-5: Kreatinin değeri 1,3'ün altında olanlarda sistatin C ve hsCRP değerleri.

	Grup 1 n=121	Grup 2 n=49	Grup 3 n=131	Grup 4 n=49	P değeri
Sistatin C (min-maks)	0,90 (0,47-1,67)	0,89 (0,63-1,81)	0,92 (0,54-1,36)	0,88 (0,61-1,64)	0,551
CRP (min-maks)	12,90 (0,49-254,78)	4,49 (0,96-99,71)	4,40 (0,15-76,02)	5,14 (1,13-158)	0,006



Şekil-14: Serum kreatinin değeri 1,3'ün altındaki hastalarda gruplar arasında sistatin C düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil-15: Serum kreatinin değeri 1,3'ün altındaki hastalarda grupların kendi içlerindeki sistatin C düzeylerinin dağılımı

5.4. Korelasyon Analizleri

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

Değişken	R değeri	P değeri
Serum kreatinin	0,785	<0,0001
CRP	0,09	0,143
yaş	0,388	<0,0001
BKİ	-0,01	0,839
LDL	-0,059	0,242
HDL	-0,095	0,059
TG	-0,014	0,788

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

6. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı aterosklerotik plaklardaki düşüklüğü gösterilmiş olan ve bu düşüklüğünün yol açtığı katepsinlere bağlı artmış proteolitik etki sonucu, akut plak komplikasyonlarında rol oynaması muhtemel gözükten sistein protez inhibitörü sistatin C'nin plazma düzeylerinin, normal koroner anjiyografili olgularla ve koroner arter hastalığının stabil formu ile kıyaslandığında akut koroner sendroma sahip hastalarda daha düşük olup olmadığını test etmektir. Bu çalışmanın sonucunda görüldü ki; çalışılan tüm popülasyonlarda, sistatin C plazma düzeyleriyle, koroner hastalığının mevcudiyeti ve koroner arter hastalığının klinik ortaya çıkış şeklinin ilişkisi olmadığını destekler şekilde sistatin C düzeyleri benzer çıktı (grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4 için medyan değerler mg/L cinsinden sırasıyla; 0,95 ; 0,95 ; 0,93 ; 0,89 ; p=0,49, tablo-4 ve şekil-12).

Başlangıç hipotezimizin aksine, arada istatistiksel anlamlılıkta bir fark olmasa da, çalışmamızın akut koroner sendrom kolunu oluşturan hastalarda (grup 1 ve grup 2), plazma sistatin C düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek çıktı. Çalışmamızın kontrol grubundaki hastaların serum kreatinin değerleri, grup 1 ve grup 3'e göre daha düşüktü (medyan kreatin değerleri sırasıyla 0,96 mg /dl, 1,06 mg/dl ve 1,08 mg/dl. P değeri sırasıyla p=0,024 ve p=0,035, tablo-4). Renal fonksiyonların plazma sistatin C düzeylerinin ana belirleyicisi olması nedeniyle, kontrol grubundaki daha düşük sistatin C değerlerinin bu gruptaki daha düşük serum kreatinin değerlerinden kaynaklanıp kaynaklanmadığını test etmek için plazma sistatin C düzeylerini kreatinin değeri 1,3'ün altında olan hastalarda ayrıca karşılaştırdık. Kreatinin değeri 1,3'ün altında olan hastalar tüm popülasyonun %88,1'ini oluşturuyordu (350 hasta) ve bu hastalarda gruplar arasında sistatin C düzeyleri oldukça benzer çıktı (grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4 için medyan değerler mg/L cinsinden sırasıyla; 0,90 ; 0,89 ; 0,92 ; 0,88 ; p=0,551, tablo-5 ve şekil-14).

Bizim bu bulgularımız Perk Erikson ve ark. (55) ile Davide Noto ve ark'nın (56) bulguları ile çelişmektedir. Adı geçen ilk araştırmacılar miyokardiyal infarktüs geçirmiş 237 hastada plazma sistatin C düzeylerinin, 229 sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak daha düşük olduğunu saptamışlardır (0.79±0.14 µg/mL'ye karşı 0.84±0.11 µg/mL ; P<0.0001). Bizim çalışmamızda kreatinin değerleri 1,3'ün altında olanlar dikkate alındığında, miyokardiyal infarktüs geçiren hastaların ve normal koroner anjiyografiye sahip kontrol grubunun ortalama sistatin C değerleri sırasıyla 0,94±0,21 mg/L ve 0,92±0,22 mg/L idi. Görüldüğü gibi her iki değerde bahsedilen çalışmadaki sistatin C değerlerinden yüksektir. Bu farklılık renal mekanizmalarla yada aynı kitin kullanılması nedeniyle de analiz metodundaki farklılıklarla açıklanamaz. Muhtemel bir açıklama etnik farklılıktır.

Adı geçen araştırmacılar sistatin C plazma düzeylerinin bazı gen polimorfizimlerinden etkilendiğini göstermişlerdir ve Türk toplumunda bu polimorfizimlerin görölme sıklığına dair bir veri elimizde mevcut değildir. Diğer bir olası neden de yaş faktörü olabilir. Bizim çalışmamızda sistatin C düzeyleri ile yaş arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü. Literatürde de belirtildiği gibi 50 yaş üzerinde sistatin C için referans değer aralıkları daha yüksektir. Bahsi geçen çalışmaya 50 yaşın altındaki bireyler alınmıştır, bizim çalışmamızda ise yaş ortalaması 60 civarındır. Bunun yanında bahsi geçen çalışma ile bizim çalışmamız arasında metodoloji bakımından da bir takım farklılıklar vardır. şöyle ki adı geçen çalışmada plazma sistatin C düzeylerine hastalar infarktüs geçirdikten üç ay sonra bakılmıştır ve kontrol grubunu bizim çalışmamızdan farklı olarak normal koroner anjiyografisi olanlar değil, görünürde sağlıklı olan yaş ve cinsiyet uyumlu eşleştirilmiş kontrol grubu oluşturmaktadır.

Davide Noto ve ark.'ın yaptıkları çalışmada ise; 61 AMİ , 61 kararsız angina hastasının plazma cys C düzeyleri, 61 kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve istatikselsel olarak anlamlı olmasa da AMİ hastalarında sistatin C'nin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla sistatin C değerleri $0,85 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$, $0,97 \pm 0,27 \mu\text{g/mL}$ ve $0,90 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$). Bir önce ki çalışmadan farklı olarak AMİ hastalarından kan örnekleri, bizim çalışmamızdaki gibi olayın ilk 12 ila 24 saati içinde alınmıştır. Yine bizim çalışmamıza benzer olarak bu çalışmada da araştırmacılar kreatinin değerleri 1,3'ün üzerinde olan hastaları analize dahil etmemişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sistatin C değerleri ile bizim çalışmamızda ki değerler AMİ olan hastalar hariç birbirine yakındır (Kreatinin $<1,3$ olanlarda grup 1, grup 2 ve grup 4 için sırasıyla bizim ortalama sistatin C değerlerimiz $0,94 \pm 0,21 \text{ mg/L}$, $0,93 \pm 0,19 \text{ mg/L}$ ve $0,92 \pm 0,22 \text{ mg/L}$). AMİ geçirenlere bakıldığında bizim sistatin C değerlerimiz bahsi geçen çalışmadakilerden daha yüksektir. Kararsız anginalı hastalara bakıldığında bahsi geçen çalışmada da bizim çalışmamızla uyumlu olarak, kontrol grubu ile kıyaslandığında sistatin C düzeyleri açısından fark saptanmamıştır.

Yine de AMİ geçiren hastalarda kontrol grubuna kıyasla plazma sistatin C düzeylerinin bizim çalışmamızda farklı çıkmayıp bahsi geçen çalışmalarda düşük çıkmasının tam olarak izahı yapılamamıştır. Ne var ki Sukhova GK, Shi GP ve ark.'nın insanların aterosklerotik damarları ile normal arter duvarından elde ettikleri spesimenlerde yaptıkları immünohistokimyasal çalışmalar aterosklerotik plaklarda normal arterlere göre katepsinlerin çok daha fazla, sistatin C'nin ise çok daha az bulunduğunu net bir şekilde ortaya koymuştur (49,50). Lezyon içerisinde sistatin C düzeyleri bu kadar belirgin düşük iken bizim çalışmamızda koroner arter hastalığı olanlarla, olmayanlar

arasında plazma sistatin C düzeylerinin benzer olmasının nedeni açık değildir. Bunun bir açıklaması periferik kandan alınan örneklerinin tüm vucuda ait sistatin C düzeylerini yansıtması ve koroner dolaşımdaki düzeylerden etkilenmemesi olabilir. Sistatin C tüm çekridekli hücrelerden sentezlenebilen ve sentezlendikten sonra dolaşıma kısa sürede salınan bir molekül olduğu için bu molekülün aterosklerotik lezyonlardaki düşük üretimi vücudun geri kalan hücreleri tarafından telafi ediliyor olabilir. Bu faktörü ortadan kaldırmak için direkt koroner sinüsten örnekleme yapılması daha uygun bir yöntem olabilir.

Çalışmamızın koroner arter hastalığının stabil formunu bulunduran kolunda da (grup 3), kontrol grubu ile kıyaslandığında plazma sistatin C düzeyleri açısından istatistiksel anlamlılıkta fark çıkmadı. Bizim bu sonuçlarımız ile uyumlu olarak, koroner arter hastalığı olan ve olmayan bireylerin plazma sistatin C düzeylerinin benzer olduğunu destekleyen bir çalışma da Jian Liu ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar aterosklerotik kalp hastalığı kalitatif anjiyografi ile dökümente edilmiş 92 hasta, koroner arter hastalığından klinik, anjiyografik yada EKG bulguları ile etkilenmediği düşünülen 103 diyabetik hasta ve kalitatif anjiyografi ile koroner arterlerinde lümenal daralma saptanmayan 30 normal koroner anjiyogram olgusunda ELISA yöntemi ile serum katepsin S ve sistatin C düzeylerini karşılaştırmışlardır (59). Araştırmacılar katepsin S düzeylerinin kontrol grubuna göre aterosklerotik ve diyabetik hasta gruplarında anlamlı olarak daha yüksek olduğunu saptamışlardır ancak serum sistatin C düzeylerini diyabetik hastalarda kontrol grubundan daha yüksek, aterosklerotik hastalarda ise kontrol grubu ile benzer bulmuşlardır. Aterosklerotik hasta grubunun yaklaşık üçte birini akut koroner sendromu olan hastalar (22 ST yükselmeli AMİ ve 17 kararsız angina hastası) oluşturduğu için bu araştırmacıların sonuçlarının bizim sonuçlarımız ile uyumlu olduğu söylenebilir.

Aterosklerotik kalp-damar hastalıkları ile plazma sistatin C düzeyleri arasında bir ilişkinin saptanmadığı iki çalışma daha vardır. Bu çalışmaların birinde Michelle A Albert ve ark 22,071 sağlıklı denekten 60 aylık takipte periferik arter hastalığı (PAH) gelişen 133 hasta ve eşit sayıda kontrol grubunda bazal sistatin C kan düzeylerine bakmışlar ve PAH gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında istatistiksel anlamlılıkta fark saptamamışlardır (57). Diğer çalışmada ise Luc G ve ark. 10,600 sağlıklı gönüllü erkekten 5 yıllık izlemde ilk koroner olaylarını geçiren 313 hasta ile 616 kontrolünün bazal sistatin C düzeylerine bakmışlar ve koroner olay geçirenlerin bazal sistatin C seviyelerini kontrol grubuna göre daha yüksek saptamışlardır (58). Araştırmacılar bu farkın böbrek fonksiyonlarında ki bir farklılıktan kaynaklanmadığını göstermişler ve koroner olay geliştiren hastalarda yüksek sistatin C

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

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

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

Tomas Jernberg ve ark. 726 ST yükselmesiz akut koroner sendrom olgusunun bazal sistatin C düzeylerinin mortalite ve miyokardial infarktüs gelişimi üzerine etkisini incelemişlerdir (66). Araştırmacılar hastaları bazal sistatin C değerlerine göre dört gruba ayırmışlardır. Bazal sistatin C düzeyleri en yüksek olan grubun (1,25 mg/L), en düşük olan gruba göre (<0,83 mg/L) mortalite riskinin 11,7 kat (%95 CI, 4,7-29,3) daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bazal sistatin C düzeyleri en yüksek olan gruptaki hastaların tahmini GFR'ı 58ml/dk'nın altında saptanmış ve diğer gruplara göre daha çok risk faktörüne sahip daha yaşlı hastalardan oluştuğu görülmüştür. Bu çalışmada sistatin C düzeyleri ile ileride AMİ görülmesi arasında bir ilişki saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonuçlarının sistatin C'nin ateroskleroz ile olan ilişkisi üzerinden mortaliteyi artırdığı şeklinde değil de, renal fonksiyonlar ile olan ilişkisi nedeniyle böbrek fonksiyonları bozuk olan koroner olaylar açısından yüksek riskli hastaları saptaması şeklinde yorumlamak daha doğru olacaktır.

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

Çalışmamızda ayrıca sistatin C ile bazı laboratuvar ve klinik değişkenlerin korelasyonuna da bakıldı. Literatürle uyumlu olarak sistatin C'nin serum kreatinin ile kuvvetli ve yaş ile orta dereceli bir korelasyon gösterdiği görüldü. Serum sistatin C düzeyleri üzerine, renal fonksiyon dışında etki eden faktörlerin araştırıldığı Knight E.L ve ark tarafından Hollanda'nın Groningen kentinden populasyona dayalı örnekleme yöntemi ile seçilen 8,592 olgulu bir çalışmada yaşın, erkek cinsiyetin, kilonun, boyun, aktif sigara içiminin ve yüksek serum CRP değerlerinin daha yüksek sistatin C değerleri ile bağımsız olarak ilişkili oldukları gösterilmiştir (69). Araştırmacılar serum sistatin C ile CRP arasındaki ilişkinin diğer faktörlere göre (obezite ve sigara içimi gibi) ayarlama yapıldıktan sonra da devam

ettiğini görmüşler ve sistatin C'nin ayrıca bir inflamasyon belirteci de olabileceği görüşünü ortaya atmışlardır. Her ne kadar bahsi geçen çalışma kadar büyük ölçekli bir çalışma olmasa da, biz çalışmamızda sistatin C ile CRP arasında bir korelasyon saptamadık. Ancak CRP ile sistatin C arasında korelasyonun saptandığı bir diğer çalışmada, Johnston N ve ark. görünürde sağlıklı olan 408 yaşlı (medyan yaşı 65) birey üzerinde sistatin C ile ilişkili faktörleri araştırmışlar ve sistatin C'nin yaş, BKİ ve CRP ile bağımsız olarak pozitif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır (70). CRP dışında, bahsi geçen araştırmacıların bulguları ile uyumsuz olarak, biz BKİ ile sistatin C arasında da bir korelasyon saptamadık. Plazma sistatin C düzeyleri ile koroner arter hastalığı ilişkisinin araştırıldığı bazı çalışmalarda, serum HDL değerlerinin sistatin C ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (56,58). Çalışmamızda serum lipid değerleri ile sistatin C arasında böyle bir korelasyon saptamadık.



7. SONUÇ

Sonuç olarak bizim çalışmamızda koroner arter hastalığı olanlar ve olmayan hastaların plazma sistatin C düzeyleri benzer saptandı. Ayrıca koroner arter hastalığı olanların içerisinde akut koroner sendromlarla başvuranların plazma sistatin C düzeyleri hastalığın stabil formunu bulunduran hastalarla benzer düzeyde çıktı. Biz bu sonuçlardan plazma sistatin C düzeylerinin koroner arter hastalığının varlığından yada yokluğundan ve koroner arter hastalığının ortaya çıkış şekline etkilenmediği sonucunu çıkardık. Doku düzeyindeki çalışmalar aterosklerotik plaklarda katepsinlerin ve onların inhibitörü sistatin C arasında artmış proteoliz lehine bozulmuş bir dengenin olduğunu ve bu moleküller ve aralarındaki dengenin aterosklerotik sürecin başlamasından nihayetinde komplikasyonlara yol açmasına kadarki her süreçte etkin rol oynadıklarını düşündürmektedir. Ne var ki lokal düzeyde gerçekleşen bu olaylar sistemik dolaşıma yansımıyor olabilir.

8. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

Bizim çalışmamızın önemli kısıtlılıklarından biri kontrol grubuna alınan hastaların aterosklerozdan tamamen etkilenmediğini söylemenin güç olmasıdır. Koroner anjiyografi koroner lümenini değerlendirmektedir ve damar dışına doğru olan pozitif remodeling nedeniyle lümen daralma yapmayan aterosklerotik segmentler koroner anjiyografide saptanamıyabilmektedir. Ayrıca kontrol grubundaki hastaların koroner sistem dışındaki diğer vasküler yatakları incelenmediğinden, bu bölgeleri tutan bir aterosklerotik süreci ekarte edemedik. Nitekim bizim kontrol grubumuzu oluşturan hastalar diyabetik ve sigara içen hasta oranının daha az olması dışında diğer gruplar ile aterosklerotik hastalıklar için benzer risk profili özellikleri taşıyorlardı. Ayrıca kontrol grubunda bir hastada SVO öyküsü, bir hastada da PAH öyküsü mevcut idi.

9. ÖZET

KORONER ARTER HASTALIĞININ KLİNİKTE KARŞILAŞILAN FORMLARI İLE NORMAL KORONER ANJİOGRAMI OLAN BİREYLERİN PLAZMA SİSTATİN C DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Giriş ve Amaç

Sistatin C, elastin ve kollajenin yıkımında rol oynayan katepsin grubu proteolitik enzimlerin güçlü bir inhibitörüdür. Aterosklerotik plak içindeki sistatin C eksikliğinin, proteolitik aktivitenin artmasına neden olarak plak kapsülünün yırtılmasında ve klinik kardiyovasküler olayların gelişmesinde rol oynadığı iddia edilmiştir. Çalışmamızda normal koroner arteriogramı olan bireylerle karşılaştırıldığında, plak komplikasyonun olmadığı stabil anjina pektorisli hastalar ile plak komplikasyonun temel patofizyolojik rol oynadığı akut koroner sendrom olgularında plazma sistatin C düzeyleri açısından farklılık olup olmadığını araştırmayı planladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya ocak-2005 ile nisan-2006 tarihleri arasında kliniğimize başvuran ve koroner anjiyografisi yapılan hastalar alındı. Hastalar AMİ (grup 1), kararsız angina (grup 2) ve kararlı angina (grup 3) gruplarından oluşmaktaydı. Koroner anjiyografisinde koroner arterleri normal saptanan olgular kontrol grubu olarak (grup 4) alındı. AMİ grubundaki hastalardan plazma örnekleri olayın ilk 24 saati içinde, diğer hastalardan koroner anjiyografinin yapıldığı gün alındı. Plazma sistatin C ölçümleri Dade Behring otoanalizatörü kullanılarak nefelometrik yöntemle yapıldı.

Bulgular

Çalışmaya toplam 397 hasta dahil edildi. Gruplar arasında ortalama yaş, BKİ bakımlarından fark saptanmadı. Kontrol grubunda kadın hasta sayısı diğer gruplardan anlamlı olarak daha fazlaydı ($p=0.003$). Gruplar arasında plazma sistatin-C düzeyleri bakımından fark saptanmadı (grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4 için medyan değerler mg/L cinsinden sırasıyla; 0,95 ; 0,95 ; 0,93 ; 0,89 ; $p=0,49$).

Sonuç

Çalışmamızda koroner arter hastalığı olan ve olmayanlarda ve koroner arter hastalığının klinik alt tipleri arasında plazma sistatin C düzeyleri benzer çıktı. Biz bunun aterosklerotik plaklardaki lokal sistatin C düşüklüğünün plazma sistatin C düzeylerine yansımamasından kaynaklandığını düşündük.

10.SUMMARY

THE COMPARISON OF PLASMA CYSTATIN C LEVELS BETWEEN THE PATIENTS WITH NORMAL CORONARY ANGIOGRAPHY AND THE FORMS OF CORONARY ARTERY DISEASE SEEN IN CLINICS.

Introduction and Aim

Cystatin C is a powerful inhibitor of cathepsin type proteolytic enzymes which degrades elastin and collagen. It is supposed that the lack of cystatin C in atherosclerotic plaques leads to tearing of plaque capsule and development of clinical cardiovascular disease by excess proteolytic activity. In our study we planned to investigate the plasma cystatin C levels of stable angina pectoris patients without plaque complications and of acute coronary syndrome patients in whom plaque complication is the main pathophysiologic process and to compare them with levels of patients who have normal coronary arteriogram.

Material and Method

We enrolled patients who admitted to our clinic and undergone coronary angiography between January-2005 and April-2006. The patient are divided in to four groups. Group 1 is the patients with acute myocardial infarction, Group 2 is the ones with unstable angina pectoris and Group 3 is the ones with stable angina pectoris. The cases with normal coronary arteriogram form the Group 4 as control group. Plasma samples was driven in the first 24 hours from the patients with acute myocardial infarction, and in the day of coronary arteriography from the other patients. Plasma cystatin C measurements was done according the nephelometry procedure with the Dade Behring autoanalyser.

Findings

We enrolled 397 patients to our study. There were no difference between mean ages and body mass indexes of groups. The number of female patients were statistically more in the control group than other groups ($p=0,003$). There were no difference of plasma cystatin C levels between groups (median values for group 1, group 2, group 3, and group 4 as units of mg/L respectively are 0,95, 0,95, 0,93 and 0,89; $p=0,49$)

Result

In our study, plasma cystatin C levels were similar in the patients with and without coronary artery disease and in the clinical subgroup of coronary artery disease. We thought that this is because of the production of local cystatin C levels in atherosclerotic plaque doesn't effect the plasma cystatin C levels.

11.KAYNAKLAR

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

- 15-Raines EW, Ross R. Smooth muscle cells and pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *BJH* 1993;69:30-37.
- 16-Krinstensen SD, Ravn HB, Falk E. Insights into the pathophysiology of unstable coronary artery disease . *Am J Cardiol* 1997;80:5E-9E
- 17-Lendon CL, Davies MJ, Born GVR, et al. Atherosclerotic plaque caps are locally weakened when macrophage density increased. *Atherosclerosis* 1991;87:87-90
- 18-Davies MJ. Acute coronary thrombosis- the rol of plaque distruption and its initiation and prevention. *Eur Heart J* 1995;16(suupl):3-7
- 19-Little WC, et al. Can coronary angiography predict the site of subsequent myocardial infarction in patients with mild to modorate coronary artery disease. *Circulation* 1988;12:56-62.
- 20-Stary HC, Chandler AB et al. A definition of advenced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of Council on Atherosclerosis, American Heart Association, *Circulation* 1995;95:1355-74
- 21-Stary HC. Atlas of atherosclerosis progression and regression. Second ed. New York: The Parheonon Pulishing Group;2003.p.13-5.
- 22-Libby P, Lee RT. Matrix matters. *Circulation*. 2000;102:1874–1876.
- 23-Parks WC. Who are the proteolytic culprits in vascular disease. *J Clin Invest*. 1999;104:1167–1168.
- 24-Weber AJ, De Bandt M. Angiogenesis: general mechanisms and implications for rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2000;67:366–383.
- 25-Ohtani H. Stromal reaction in cancer tissue: pathophysiologic significance of the expression of matrix-degrading enzymes in relation to matrix turnover and immune/inflammatory reactions. *Pathol Int*. 1998;48:1–9.
- 26-Halloran BG. Pathogenesis of aneurysms. *Semin Vasc Surg*. 1995;8:85–92.
- 27-MacSweenety STR. Pathogenesis of abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg*. 1994;81:935–941.
- 28-Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*.1995;91:2844–2850.
- 29-Libby P. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med*. 2000;247:349–358.
- 30-Galis ZS, et al.Cytokine-stimulated human vascular smooth muscle cells synthesize a complement of enzymes required for extracellular matrix digestion. *Circ Res*. 1994;75:181–189.

- 31- Newby AC, et al. Extracellular matrix degrading metalloproteinases in the pathogenesis of atherosclerosis. *Basic Res Cardiol Suppl.* 1994;89:59–70.
- 32- Galis ZS, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1994;94:2493–2530.
- 33- Halpert I, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93:9748–9753.
- 34- Ye S, et al. Preliminary report: genetic variation in the human stromelysin promoter is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Br Heart J.* 1995;73:209–215.
- 35- Steins MB, et al. Overexpression of tissue-type plasminogen activator in atherosclerotic human coronary arteries. *Atherosclerosis.* 1999;145:173–180.
- 36- Kienast J, et al. Relation of urokinase-type plasminogen activator expression to presence and severity of atherosclerotic lesions in human coronary arteries. *Thromb Haemost.* 1998;79:579–586.
- 37- Carmeliet P, et al. Urokinase-generated plasmin activates matrix metalloproteinases during aneurysm formation. *Nat Genet.* 1997;17:439–444.
- 38- Falkenberg M, et al. Increased expression of urokinase during atherosclerotic lesion development causes arterial constriction and lumen loss, and accelerates lesion growth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:10665–10670.
- 39- Xiao Q, et al. Plasminogen deficiency accelerates vessel wall disease in mice predisposed to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:10335–10340.
- 40- Dollery CM, et al. Neutrophil elastase in human atherosclerotic plaques: production by macrophages. *Circulation.* 2003;107:2829–2836.
- 41- Punturieri A, Filippov S, Allen E, Caras I, Murray R, Reddy V, Weiss SJ. Regulation of elastinolytic cysteine proteinase activity in normal and cathepsin K deficient human macrophages. *J Exp Med.* 2000;192:789–799.
- 42- Jian Liu, Galina K. Sukhova, Jiu-Song Sun. Lysosomal Cysteine Proteases in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1359-1366
- 43- Sukhova GK, et al. Deficiency of cathepsin S reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest.* 2003;111:897–906
- 44- Abrahamson M. Human cysteine proteinase inhibitors. Isolation, physiological importance, inhibitory mechanism, gene structure and relation to hereditary cerebral hemorrhage. *Scand J Clin Lab Invest.* 1988;48:21-31

- 45- Rawlings ND, Barret AJ. Evolution of proteins of the cystatin superfamily. *J Mol Evol* 1990; 30:60-71
- 46- David J Newman. Cystatin C. *Annals of Clinical Biochemistry*; Mar 2002;39:89-104
- 47- Guido Filler, et al. Cystatin C as a marker of GFR; history, indications, and future research. *Clinical Biochemistry*;38 (2005):1-8
- 48- Dharnidharka VR, et al. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. 2002 Aug;40(2):221-6
- 49- Sukhova GK, Shi GP, et al. Expression of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1998;102:576–583.
- 50- Shi GP, et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms. *J Clin Invest*. 1999;104:1191–1197.
- 51- Jormsjo S, Wuttge DM, Sirsjo A, Whatling C, Hamsten A, Stemme S, Eriksson P. Differential expression of cysteine and aspartic proteases during progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Pathol*. 2002;161:939–945.
- 52- Fabunmi RP, Sukhova GK, Sugiyama S, Libby P. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 in human atheroma and regulation in lesion-associated cells: a potential protective mechanism in plaque stability. *Circ Res*. 1998;83:270–278.
- 53- Fabunmi RP, Baker AH, Murray EJ, Booth RF, Newby AC. Divergent regulation by growth factors and cytokines of 95 kDa and 72 kDa gelatinases and tissue inhibitors or metalloproteinases-1, -2, and -3 in rabbit aortic smooth muscle cells. *Biochem J*. 1996;315:335–342.
- 54- J.S. Lindholt, et al. Cystatin C deficiency is associated with the progression of small abdominal aortic aneurysms. *Br J Surg* 2001;88(11):1472-5
- 55- Per Eriksson, et al. Human Evidence That the Cystatin C Gene Is Implicated in Focal Progression of Coronary Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:551-557
- 56- Davide Noto, et al. Cystatin C levels are decreased in acute myocardial infarction Effect of cystatin C G73A gene polymorphism on plasma levels. *Int J Cardiol*. 2005 May 25;101(2):213-7.
- 57- Albert MA, et al. Plasma levels of cystatin-C and mannose binding protein are not associated with risk of developing systemic atherosclerosis. *Vasc Med* 2001;6:145–9.

- 58- Luc G, Bard JM, et al. Plasma cystatin-C and development of coronary heart disease: The PRIME Study. *Atherosclerosis*. 2005 Jul 23; [Epub ahead of print] PMID: 16046222
- 59- Jian Liu, Guo-Ping Shi. Increased serum cathepsin S in patients with atherosclerosis and diabetes. *Atherosclerosis*. 2006 Jun;186(2):411-9
- 60- Hazel Finney, et al. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clinical Chemistry* 1997;43(6):1016–1022
- 61- Tetsuo Hayashi, et al. The serum cystatin C concentration measured by particle-enhanced immunonephelometry is well correlated with inulin clearance in patients with various types glomerulonephritis. *Nephron* 1999;82:90-92
- 62- Frans J. Hoek, et al. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:2024-2031.
- 63- Al Suwaidi J, Reddan DN, Williams K, et al. Prognostic implications of abnormalities in renal function in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2002;106:974–980.
- 64- Santopinto JJ, Fox KA, Goldberg RJ, et al. Creatinine clearance and adverse hospital outcomes in patients with acute coronary syndromes: findings from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Heart*. 2003;89:1003–1008.
- 65- Colin Baigent, Kate Burbury, David Wheeler. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet* 2000; 356: 147–52
- 66- Jernberg T, Lindahl B, et al. Cystatin C a Novel Predictor of Outcome in Suspected or Confirmed Non–ST-Elevation Acute Coronary Syndrome. *Circulation*. 2004;110:2342-2348.)
- 67- Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 2006 Aug 15;145(4):237-46.
- 68- Bokenkamp A, Herget-Rosenthal S, Bokenkamp R. Cystatin C, kidney function and cardiovascular disease. *Pediatr Nephrol*. 2006 Sep;21(9):1223-30.
- 69- Eric L. Knight, Jacobien C, et. al. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney International*, Vol. 65 (2004), pp. 1416-21

70- Nina Johnston, Tomas Jernberg, et al. Biochemical indicators of cardiac and renal function in a healthy elderly population. *Clinical Biochemistry* 37 (2004) 210– 216

