

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TİP 2 DİYABETİK HASTALARDA
DİYASTOLİK DİSFONKSİYON/ ENDOTEL
DİSFONKSİYONU İLE
SERUM CYSTATİN-C DÜZEYİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. SERKAN KOCAKUŞAK

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. TARKAN TEKTEN

AYDIN-2008

TEŞEKKÜR (I)

Kardiyoloji uzmanlık tezi çalışmaları süresince katkı ve desteği olan ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde büyük emeği bulunan değerli ve saygıdeğer hocam Anabilim Dalı Başkanımız Doç.Dr.Tarkan Tekten başta olmak üzere, değerli hocalarım Doç.Dr.Alper Onbaşılı ve Doç.Dr.Ceyhan Ceyhan'a teşekkür ederim. Bununla birlikte tez çalışmaları esnasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr. Çiğdem Yenisey'e ve Radyoloji Anabilim Dalından Doç.Dr.Kutsi Köseoğlu'na teşekkür ederim. Ekokardiyografi eğitimimize katkısı olan Sonograf Öznur Şentürk'e teşekkürü ederim. Anjiyografi ünitesi teknisyenlerinden Esat Mete Turan ve Ümit Afyoncu'ya, efor laboratuvarı teknisyeni biyolog Aslı Kaynarca'ya bize verdikleri destekten ötürü şükranlarımı sunarım.

Dr. SERKAN KOCAKUŞAK
Aydın-2008

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I GİRİŞ ve AMAÇ	4-5
II- GENEL BİLGİLER.....	6-35
III- MATERYAL VE METOD.....	36-39
IV- BULGULAR.....	40-51
V - TARTIŞMA.....	52-56
VI- SONUÇLAR.....	57
VII- KAYNAKLAR.....	58-68

GİRİŞ ve AMAÇ (II)

Diyabetes Mellitus'un prevalansı dünyanın pek çok yerinde ve ülkemizde son iki dekatta dramatik bir biçimde artmıştır. Etyolojisinde genetik, çevresel faktörlerin ve yaşam tarzı tercihlerinin yer aldığı, hiperglisemiyle seyreden kronik metabolik bir hastalıktır (1-3). Ciddi makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara neden olur. Bunların en önemlileri kardiovasküler hastalıklar, nöropati, retinopati ve diyabetik nefropatidir (4).

Ateroskleroz, koroner arterlerin yanısıra büyük ve orta genişlikteki müküler arterleri de etkileyen sistemik bir hastalıktır. Ateroskleroz ve ilişkili hastalıklar dünya çapında 45 yaş altı nüfusun en önemli ikinci ölüm sebebi olup, 45 yaş üstü nüfusta ise birinci sıradaki ölüm sebebidir. Tüm yaş grupları göz önüne alındığında ise morbiditenin en önemli etkeni olup, görülme sıklığı gittikçe artmaktadır. Bu nedenle birçok araştırmacı, ateroskerozu organ tutulumu olmadan teşhis edebilmek ve aterosklerotik hastalığın yaygınlığını saptayabilmek için birçok yöntem geliştirmektedir (5).

Aterosklerotik hastalığın erken subklinik döneminde en önemli değişiklikler tüm arteryel yatakta görülen endotelial disfonksiyon ve intima-media kalınlığında artmadır. Endotelial disfonksiyon ve intima-media kalınlığındaki artma basit, ucuz ve girişimsel olmayan yöntemlerle belirlenebilir. Bu sayede aterosklerotik tutulum yaygınlaşmadan gerekli tedavi edici yöntemler uygulanabilir. Koroner damar yatağındaki aterosklerotik tutulum başlamadan önce endotel disfonksiyonu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca epikardiyal koroner arterlerdeki aterosklerozun komplike olmasında endotel disfonksiyonu önemli rol oynamaktadır. Fakat koroner endotel disfonksiyonunun teşhisi hem zor hem de girişimsel yöntemler gerektirmektedir. Endotel disfonksiyonunun sistemik tutulumu göz önüne alındığında, periferik arterlerden non-invazif yöntemlerle bakılması gerçeğe yakın birebir bilgi vermektedir. Özellikle brakial arterin kolay ulaşılabilir yerleşimi, endotel disfonksiyonun değerlendirilmesi için idealdir. Bu da bize koroner damar yatağındaki endotel disfonksiyonunu, indirekt yöntemlerle teşhis etme olanağı sunmaktadır (5,6).

Myokardiyal etkilenme kendini sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu, diyastolik kalp yetersizliği veya sistolik kalp yetersizliği şeklinde gösterebilir. Özellikle myokard dokusundaki etkilenmeyi değerlendirmek için transtorasik ekokardiyografi çok değerli bir tanı metodu olarak kullanılmaktadır (7). Kliniğimizde Diyabetik hastalarda kardiyak etkilenmeyi değerlendirmek için transtorasik ekokardiyografi tetkiki yaygın bir şekilde uygulanmaktadır. Transtorasik ekokardiyografide hem M-Mode ve 2 boyut görüntüler hem de Doppler görüntüleme ile myokard fonksiyonlarına ilişkin önemli bilgiler edinilmektedir. Özellikle

diyastolik sol ventrikül fonksiyonlarını değerlendirmede rutin bir uygulama olan mitral diyastolik akımın konvansiyonel pulsed wave (PW) Doppler ile incelenmesine ek olarak, önyük ve ardyükten bağımsız olması nedeni ile Doku Doppler görüntüleme (DDG) metodu da sol ventrikülün diyastolik fonksiyonlarını belirlemede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (7).

Hiperglisemik doku hasarının mekanizmalarından biri proteinlerin ve lipoproteinlerin yapılarının bozularak ileri glikasyon ürünlerinin (AGE: Advanced Glycation End Product) oluşmasıdır (8). AGE etkilerinin en iyi örneklerinden biri uzun süreli kan şekeri eğilimini görmek için de kullanılan glikolize hemoglobindir, günümüzde çok sayıda AGE ürünü tanımlanmıştır, bu ürünlerden biri de Cystatin C'dir(9).

Günümüzde düşük molekül ağırlıklı proteinlerin (Beta 2 mikroglobulin, retinol bağlayıcı protein, Alfa-1 mikroglobulin ve Cystatin C) glomerüler filtrasyon hızının tam ve doğru belirlenmesinde filtrasyon markırı olarak, kreatinine üstünlüğü ve rutin kullanımı araştırma konusudur. Bunlardan Cystatin C ve diğerleri üzerine çalışmalar yoğundur. Düşük molekül ağırlıklı proteinler glomerülden serbestçe filtre olur, nerdeyse tamamen reabsorbe olur ve proksimal tübülüste katabolize edilir (10). Hiperglisemik doku hasarını araştırmak için Cystatin C düzeyinin araştırılması; renal fonksiyonları henüz bozulmamış olan, serum kreatinin düzeyi normal olan ve proteinüri saptanmayan diyabetik hastalarda bakılması doğru bir yaklaşım olacaktır

Bu çalışmanın amacı; Mikroalbüminüri saptanmayan Tip 2 diyabetik hastalarda, brakial arterden ultrasonografi ile endotel disfonksiyonu, konvansiyonel ve Doppler ekokardiyografi ile diyastolik disfonksiyonu araştırdıktan sonra, serum Cystatin C seviyelerini belirledik. Daha sonra diyabetik hastalarda endotel disfonksiyonu ve diyastolik disfonksiyonun görülme sıklığını birbirleri ile olan ilişkisini ve ayrıca Cystatin C düzeyi ile olan ilişkisini araştırdık.

GENEL BİLGİLER (III)

Diyabetes Mellitus insülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak ya da göreceli azlığı sonucu karbonhidrat protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir grup metabolizma hastalığıdır. Diyabetes mellitus açlık hiperglisemisi ile ya da daha erken evrede glukoz tolerans bozukluğu ile karakterizedir. Diyabetes Mellitus klinik olarak polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı, görme kaybı, ketoasidoz veya hiperosmolar nonketotik koma, bazı durumlarda ise retinopati, nöropati, nefropati, kalp ve damar hastalıkları gibi uzun dönem komplikasyonları ile tanınır. Asemptomatik ya da hafif semptomlarla seyreden Diyabetes Mellitus hastaları ise çoğunlukla rutin tarama testleri ile tespit edilir. Günümüzde birçok diyabet formunun etyolojisi tespit edildiğinden, yeni bir sınıflamaya ihtiyaç duyulmuştur. Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından 1997’de önerilen klinik sınıflama, 1999’da WHO tarafından adapte edilmiş ve Diyabetes Mellitus’un klinik evre ve etyolojisine göre sınıflaması yapılmıştır.

Diyabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflaması (ADA, 1997)

I. Tip 1 diyabetes (B hücre yıkımı, çoğunlukla mutlak insülin eksikliği)

A.İmmunolojik

B.İdiopatik

II. Tip 2 diyabetes (rölatif insülin eksikliği ve insülin direnci ya da insülin salınım defekti ile birlikte insülin direnci)

III. Diğer spesifik diyabet tipleri

B hücre fonksiyonunda genetik defektle karakterize

İnsülin etkisinde genetik defekt

Ekzokrin pankreas hastalıkları

Endokrinopatiler

İlaç yada diğer kimyasallara bağlı gelişenler

Enfeksiyonlar- konjenital rubella, sitomegalovirus, koksaki virus

İmmunolojik diyabetin az izlenen formları- anti insülin antikorları

Diyabetle ilişkilendirilen genetik sendromlar- Down sendromu

IV. Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM) (11,12).

Dünyada, 177 milyondan fazla Diyabetes Mellitus hastası olduğu tahmin edilmektedir. Dünya sağlık örgütünün (WHO) verilerine göre bu sayı 2025'te 300 milyona yükselecektir. Gelişmiş ülkelerin çoğunda ölüm nedenleri arasında dördüncüdür (13). Son 20 yılda çoğunluğu Tip 2 diyabet olmak üzere Diyabetes Mellitus prevalansında belirgin bir artış izlenmiştir. Günümüzde Tip 2 Diyabetes Mellitus epidemisinden bahsedilmeye başlanmıştır. Amerikada 1976- 1988 yılları arasında 40- 74 yaşlarındaki yetişkinlerdeki Diyabetes Mellitus prevalansı %11.4'ten %14.3'e yükselmiştir (13). Danimarkada 22 yıllık bir periyotta Diyabetes Mellitus prevalansında %38 artış izlendi (13). Avustralyada 1981 yılında yapılan tahmine göre %3.4 olması gereken Diyabetes Mellitus'lu hasta sayısı şu an nüfusun %7.5'i dir (13). Ülkemiz de ise 1997- 1998 yıllarında yapılan 'Türkiye Diyabetik Epidemiyoloji Çalışması (TÜDEP)'e göre, 20- 80 yaş grubu diyabet sıklığı %7.2, İGT %6.7, bilinmeyen (yeni) diyabet oranının ise yaklaşık %30 olduğu bulunmuştur (13). Artan obezite ve fizik aktivite azlığı nedeniyle Tip 2 Diyabetes Mellitus prevalansının daha hızlı artması beklenmektedir. Erkek ve kadında görülme sıklığı benzerdir fakat 60 yaşın üzerindeki erkeklerde sıklık bir miktar artmıştır. Diyabetes Mellitus prevalansı 20 yaş altında % 0.19 iken 20 yaş üzerinde % 8.6'ya yükselir. Diyabetes Mellitus insidansında belirgin coğrafik farklılıklar vardır. İskandinav ülkeleri en yüksek insidansa sahiptirler. Bunlardan Finlandiya'nın insidansı yıllık 35/100.000 ile yüksek, Japonya ve Çin'in Tip 1 Diyabetes Mellitus insidansı 3/100 000 ile düşük, Kuzey Avrupa ve ABD'nin 8- 17/100.000 ile orta derecedir (2,3,13). Tip 2 Diyabetes Mellitus prevalansı ve (IGT) Pasifik adalarında yüksek, Hindistan ve ABD'de orta, Rusya ve Çin'de düşüktür. Bu değişkenlik genetik, davranışsal ve çevresel faktörlere bağlanmıştır. Diyabetes Mellitus prevalansı ayrıca ele alınan ülkenin farklı etnik gruplarında da değişkenlik gösterir (2, 3, 13).

Dünya Sağlık Örgütü ve National Diabetes Data Grup (NDDG) Diyabetes Mellitus'un tanı kriterlerini bazı verileri temel alarak belirlemiştir. Açlık glukoz değerleri spektrumu ve oral glukoz tolerans testine yanıtlar normal bireyler arasında değişkenlikler gösterir. Diyabet tanısı toplumdaki normal glisemi değerlerinden sapmaya göre değil diyabete spesifik komplikasyonların prevalansının artmaya başladığı hiperglisemi değerleri ele alınarak düzenlenmiştir (1).

Diyabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri

Diyabet semptomları (poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı.) ile birlikte günün herhangi bir anındaki plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dl olması

Açlık plazma glukoz değerinin ≥ 126 mg/dl olması

Oral glukoz testi (OGTT-75 gr) sırasında 2. saatteki plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dL olması

Kriterlerinden en az birinin bulunması tanıyı koydurur.

Plazma açlık glukozu (FPG) ve postprandial glukoz (OGTT) değerleri birbirleriyle yüksek oranda koreledir fakat farklı metabolik kontroller altında oldukları ve biri normalken diğerinin anormal olabileceği bilinmelidir. Plazma açlık glukoz değeri 100 mg/dL üzerinde ise OGTT planlamak faydalıdır, çünkü tarama testlerinde diyabet tanısı konmamış hastaların %30'una 2 saatlik tokluk plazma glukozu değerleriyle diyabet tanısı konmuştur (1,3,11). Kişiler açlık ve tokluk değerlerine göre farklı sınıflara girdiğinde bunlardan daha anormal olan değer dikkate alınır.

Bozulmuş açlık glukoz (IFG) değerleri 110- 125 mg/dl olan hastaların %20'si diyabetik postbrandial 2.saat değerlerine sahiptir. İki saatlik kan glukozu değerleri mortalite, kalp damar hastalığı ve retinopati açısından açlık kan glukozu değerlerine göre daha iyi öngörü sağlar (1,3,11).

Glukoz toleransı açlık plazma glukoz (FPG) değerlerine göre 3 kategoriye ayrılır:

1. FPG < 100 mg/dL normaldir.
2. FPG ≥ 100 mg/dL ya da < 126 ile bozulmuş açlık glukozu (IFG)
3. FPG ≥ 126 mg/dL iken Diyabetes Mellitus tanısı konur.

IFG değeri IGT (bozulmuş glukoz toleransı) değeriyle kıyaslanabilir ve bu 75 gr lık oral glukoz yüklemesi sırasında 2. saatteki kan şekeri değeridir (140-200 mg/dL). Bozulmuş açlık glikozu ve IGT tanısı alan kişiler 5 yıl sonrasında %40 Tip 2 Diyabetes Mellitus geliştirme riski ve kardiovasküler hastalık riski taşırlar (1,3,11). Gözden geçirilen bu kriterler asemptomatik kişilerde Diyabetes Mellitus tanısı için FPG değerlerinin güvenilir olduğunu gösterir. Oral glukoz tolerans testi rutin uygulamada önerilmez. Diyabet tanısında idrarda glukoz tayininin, kanda HbA1c ölçümünün pek yeri yoktur. Tarama testi sonrası kesin tanı

koymadan önce test tekrarı yapılmalıdır. Açlık plazma glukoz değeri normale döndüğü hallerde Diyabetes Mellitus tanısı değiştirilir (1,3,11).

HbA1'in β -zincirinin N-terminal(valinin) amino grubuna glukoz bağlanması ile oluşan dayanıklı yapı [- (1-deoksifruktozil) hemoglobin] Uluslararası Klinik Biyokimya Derneği (IFCC) tarafından HbA1c olarak tanımlanmıştır. HbA1c kandaki ana glikozile hemoglobindir ve HbA1'in ~%80'ini oluşturur. Diyabette uzun dönem glisemik kontrolün takibinde en iyi test HbA1c'dir. Tüm hastalarda başlangıçta ve tedavi takibinde ölçülmelidir. HbA1c, son 2-3 ay içindeki ortalama kan glukozunun göstergesidir. İyi kontrol edilebilen (örn, tip 2 diyabetik hastalarda) yılda 2 kez yapılması yeterlidir. Tip 1 diyabetiklerde ise 3 ayda bir yapılmalıdır. Tedavi değişimde en iyi cevap 2-3 ay sonraki test sonucunda yansır. Sık test yaptırmanın yararı yoktur. HbA1c sonuçlarında küçük değişimler (~%0.5), ölçüm oynamalarından kaynaklanabilir ve %1 oynama ~35 mg/dl ortalama kan glukoz değişimine karşılık gelir (14).

Diyabetes Mellitus tanısında plazma glukoz düzeylerinin ölçümünün yanısıra glukolize hemoglobin (HbA1c) ve serum proteinlerinin (fruktozamin) ölçümleride önemlidir. HbA1c normalde total hemoglobinin %4-6 'sını teşkil eder ve kan glukozu uzun süre yüksek kalan diyabetlilerde bu değer yükselir. Glukolize hemoglobinlerin yarı ömrü, dolaşımdaki eritrositlerin yaşam süresi ile ilişkilidir. Bu nedenle glukohemoglobin, önceki 8-12 haftadaki kan glukoz durumunu yansıtır. Tablo 1'de HbA1c değerleri ile ortalama plazma glukozu arasındaki korelasyon görülmektedir.

Tablo 1: HbA1c değerleri ile ortalama plazma glukozu arasındaki korelasyon

HbA1c	Ortalama plazma glukozu	
	mg/dl	mmol/l
%		
6	135	7.5
7	170	9.5
8	205	11.5
9	240	13.5
10	275	15.5
11	310	17.5
12	345	19.5

TİP 2 DİABETES MELLİTUS

Toplumda en sık görülen Diyabetes Mellitus formudur. Monozigotik ikizlerdeki konkordansı %70- 90 olup, anne ve babası diyabetli olan bireylerdeki görülme riski %40 civarındadır (1,11,12). Poligenik ve multifaktöryel özellik gösterir. Protease ve calpain 10 genleri hispanik ve diğer bazı populasyonlarda Tip 2 Diyabetes Mellitus ile ilişkilendirilmiştir (1,11,12). Tip 2 Diyabetes Mellitus insülin rezistansı, yetersiz insülin sekresyonu ve aşırı hepatik glukoz yapımı ile karakterizedir. Hastalığın erken evresinde pankreas B hücrelerinden insülin sekresyonunu artırır, böylece insülin rezistansına rağmen glukoz toleransı normal kalır. Ardından vücudun insülin rezistansını yenmek için gerekli hiperinsülinemik durumu sağlayamaması ile postprandial hiperglisemi gelişir. Sonunda insülin sekresyonunun iyice azalması ve karaciğerde glukoz sekresyonunun artması açlık kan glukozunu yükseltir. Tip 2 Diyabetes Mellitus ve obezite birlikteliği sık görülür. Obezite insülin direncini artırarak hiperglisemiyi ağırlaştırmasına rağmen obezite olmadan da Tip 2 Diyabetes Mellitus gelişir (1,11,12). İnsülin direnci, kilo verme, egzersiz ve farmakoterapiyle azaltılabilir. Tip 2 Diyabetes Mellitus yıllarca asemptomatik kalabilir. Bu sessiz dönemde hastaların makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyon riski artmıştır. Obezite, fiziksel aktivite azlığı, aile öyküsü ırk, hipertansiyon, kardiovasküler hastalık öyküsü, hiperlipidemi daha önce IFG yada IGT tanısı konması Tip 2 Diyabetes Mellitus gelişmesinde önemli risk faktörleridir. Tip 2 Diyabetes Mellitus’da inflamatuvar markırlardan CRP ve IL- 6 sıklıkla yüksektir (1,11,12).

DİABETES MELLİTUS’UN KRONİK KOMPLİKASYONLARI

Diyabetes Mellitusun kronik komplikasyonları vasküler (mikrovasküler ve makrovasküler) ve non-vasküler komplikasyonlar olarak 2 gruba ayrılır. Bu komplikasyonlar hastalığın ikinci dekatında belirginleşir. Tip 2 Diyabetes Mellitus uzun bir asemptomatik dönem olduğu için tanı anında komplikasyonlarla karşılaşılabilir. Kronik hiperglisemi mikrovasküler komplikasyonların sebebidir. Makrovasküler komplikasyonlarla kronik komplikasyonlar arasındaki neden sonuç ilişkisi tam olarak kurulamamıştır fakat koroner damar hastalığı ve mortalite tip 2 Diyabetes Mellitus hastalarında 2- 4 kat artmıştır (1). Bu olaylar FPG, postprandial glukoz ve HbA1c değerleri ile korelasyon gösterir. Dislipidemi ve hipertansiyonda makrovasküler komplikasyonlarda önemli bir rol oynar (1).

Diyabetes Mellitus'un Kronik Komplikasyonları

I.Mikrovasküler

Göz hastalıkları

Retinopati (proliferatif/ non proliferatif)

Makuler Ödem

Nöropati

Duyusal ve motor (mono ve polinöropati)

Otonomik

Nefropati

II.Makrovasküler

Koroner arter hastalığı

Periferik damar hastalığı

Serebrovasküler hastalık

Diğerleri

Gastrointestinal (gastroparezi, diare)

Genitoüriner (üropati/ seksüel disfonksiyon)

Dermatolojik

İnfeksiyon

Katarakt

Glukoma (1).

SİSTATİN C (CYSTATİN C, cys C)

Sistatin C'den ilk olarak clausen J. 1961'de yayınlanan raporunda, insan serebrospinal sıvısında ' serebrospinal sıvı spesifik ' bir protein olarak bahsetmiştir ve adına CSF demiştir (15). Butter EA ve flynn FV'de aynı yıl, proteinürili hastaların idrarında post-gamma globulin dedikleri bir protein tarif etmişlerdir (15). 1962'de Hochwalc GM ve Therbecke G.İ; plevral sıvıda, asidik sıvıda, idrarda, merkezi sinir sisteminde, kan ve plazmada bir proteinin varlığını araştırdılar ve bu proteini gamma elektroforetik mobilitesine dayalı olarak gamma trace olarak adlandırdılar (15). Bu adlandırmalar son 20 yılda post gamma globulin ve gamma trace'den Cystatin C olarak değişime uğramıştır (15).

Sistatin C 122 aminoasitli 13 kDa ağırlığında nonglikozile polipeptidli bir sistein proteinaz inhibitörüdür. Bir housekeeping gen ürünü olup tüm çekirdekli hücreler tarafından üretilmektedir. Sabit bir üretim hızı olup üretim hızı inflamatuvar ve immunolojik süreçler, vücut kas kitlesi gibi diğer faktörlerden etkilenmemektedir. Düşük moleküler ağırlığı, bazik pH'ı nedeniyle glomerüllerden serbestçe filtre olur ve serum düzeyleri stabildir. Sistatin C bütün üyelerinin sistein proteinaz inhibitörü olduğu cystatin süper ailesine aittir (16,17). Cystatin süper ailesi 3 protein ailesine bölünmüştür. Bu aileler tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo 2 Cystatin Süper Ailesi (18,19,20)

Aile 1	Aile 2	Aile 3
Cystatin A Cystatin B	Cystatin C Cystatin D Cystatin S Cystatin SU=SN Cystatin SA	Düşük molekül ağırlıklı kininojen (LMWK) Yüksek molekül ağırlıklı kininojen(HMWK)

Aile 1 üyeleri genel olarak intraselüler, aile 2 üyeleri ekstraselüler, aile 3 ise intravasküler dağılmıştır. Yapılan çalışmalarda

Cystatin A : Epidermal hücrelerde ve polimorfonükleer lökositlerde bulunmuştur.

Cystatin B : Squamöz epitel hücrelerinde ve lenfositlerde bulunmuştur

Cystatin C : Özellikle adrenal medullada, pankreas adacıklarında, tiroid bezinde ve adenohipofizde yoğun olarak bulunmuştur. Ayrıca beyin kortikal nöronlarında da varlığı tespit edilmiştir. Cystatin C bütün dokularda ve biyolojik sıvılarda ölçülebilir miktarlardadır (21).

Cystatin S : Tükürük ve gözyaşı gibi temel sekresyonlarda bulunur.

Kininojenler : Plazmada, sinovyal sıvı ve amniyotik sıvıda bulunur (22).

Sistatinlerin Fizyolojik Fonksiyonları

Sistatin C'nin primer yapısı, fizikokimyasal ve immunolojik özellikleri belirlenmişse de biyolojik rolü tam olarak bilinmemektedir. (18,21) ancak sistein proteinaz ailesinin üyeleri birçok hücrede rol oynarlar:

1. İntraselüler peptid ve proteinlerin katabolizması
2. Prohormonların proteolitik parçalanmasında
3. Kollagen metabolizmasında
4. Malign hücrelerin normal dokulara penetrasyonunda (18,23).

Sistatinler endojen ve ekzojen sistein proteinaz aktivitesini düzenler. Sistein proteinazların zarar verici proteolitik etkilerini düzenlemede ve lokal olarak sınırlamada rol oynadıklarına inanılmaktadır (18,21). Sistatin C'nin inflamatuvar süreçte kuvvetli bir düzenleyici olabileceği ve viral, bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmada rol oynadığı iddia edilmektedir. Hem kemotaktik, hemde kemokinetik etkisi olduğu görülmüştür (24). Sistatin C'nin monositler veya makrofajlardan sekresyonu ve sistatin C ile komplemanın 4. komponenti arasındaki özel ilişki, inflamasyonun doku bölümü için özel olabilir. Sistatin C'nin lökosit kemotaksisini ve fagositozunu modüle etmekte ve böylece inflamatuvar süreçte düzenleyici rol oynadığı öne sürülmektedir (19). Tavera C ve arkadaşları fare glomerüler mezengial hücre konvansiyonel kültürlerinin, önemli miktarlarda sistatin C salgıladığını yaptıkları çalışmada görmüşlerdir (18). Sistein proteinazlardan Katepsin B, H, K, L'nin glomerül üstündeki varlığı ve endojen glomerüler sistein proteinazlarının intakt bazal membran parçalamaya kabiliyeti esas alınır, sistatin C'nin mezengial hücre proliferasyonu ile seyreden glomerüler hastalıklarda önemli bir faktör olduğu ortaya çıkar (18).

Sistatin C'nin genel koruyucu fonksiyonları da vardır. Bağ dokusunu; ölen hücrelerden veya malign hücrelerden salgılanan, intraselüler enzimlerin yıkımından

korumaktadır. Diğer aile 2 sistatinleri; sistatin D, S, SN, SA'nın insan vücut sıvılarında daha kısıtlanmış dağılımları vardır ve sistatin C ile birlikte aynı zamanda mikrobiyal enfeksiyonlara karşı defans oluşturabilirler. Çünkü bir çok parazitik protozoa, örneğin dizanteriye sebep olan entamoeba hystolitica ve chagas hastalığına sebep olan trypanosoma cruzi; parazit-hastalık ilişkisinin karışık fonksiyonu ile sistein peptidazları üretmektedir. Ayrıca sistatinlerin antiviral fonksiyonu polio, herpes simplex ve koronovirüs ile enfekte hücre kültürlerinde gösterilmiştir (25). İnsan sistein proteinazları (katepsin H, L, B, G, N, S, elastaz, papain, ficin, bromelain, calpain, dipeptidil peptidaz) protein ve peptidlerin intraselüler katabolizmasında önemli rol oynamaktadırlar. Prohormonların proteolitik sürecinde, kollagen katabolizmasında, malign hücreler tarafından normal dokuların penetrasyonunda, mikroorganizmaların sistein proteinazlarının, onların multiplikasyonunda ve doku penetrasyonunda aktif olduğuna inanılır. Sistatinlerin ise sistein proteinazların potansiyel zararlı proteolitik aktivitesini lokal olarak sınırlamada ve düzenlemede rol oynadığına inanılır. Her bir sistatin kendi spesifik inhibitör spektrumunu içerir (18).

Sistatin C'nin Çeşitli Vücut Sıvılarındaki ve Dokulardaki Dağılımı

Sistatin C büyük oranda nükleuslu hücrelerden sentez edilir ve özellikle nöroendokrin hücrelerde yoğun olarak bulunur. En yüksek konsantrasyonları seminal sıvı, serebrospinal sıvı ve süttedir. Bütün vücut sıvılarında fizyolojik olarak uyumlu konsantrasyonlarda bulunur (17,21,26).

Sistatin C'nin üretimi inflamasyonla değişmez. Bu yüzden bir akut faz proteini değildir. Sistatin C geninin yapısı pek bilinmemektedir. Pek çok insan dokusundan serbestlenen sistatin C düşük molekül ağırlıklı ve fizyolojik pH'ta pozitif yüklü olması nedeniyle glomerüllerden kolaylıkla filtre olur. Daha sonra proksimal tübüler hücrelerden reabsorbe edilir ve burada katabolize olur. Sistatin C'nin vücut sıvılarındaki dağılımı normal erişkinde; 0,6-2,5 mg/lt, ortalama 1,0 mg/lt'dir (18). Serebrospinal sıvıdaki konsantrasyonu 3,2-12,5 mg/lt ortalama 5,8 mg/lt'dir. Bu miktar normal plazma konsantrasyonunun 5-6 katıdır. Bu durum sistatin C'nin merkezi sinir sisteminde üretildiğini düşündürmektedir. Koroid pleksusun sistatin C üretmekte ve aynı zamanda aktif olarak onu sekrete etmekte olduğu gösterilmiştir (22,27). 3 aylıktan küçük çocuklarda kısmen yüksek serebrospinal sıvı konsantrasyonlarının yaklaşık 22 mg/lt'ye kadar çıktığı tespit edilmiştir (28). Sistatin C'nin idrardaki konsantrasyonu yaklaşık 0,03-0,3 mg/lt, tükürükte $1,8 \pm 0,9$ mg/lt'dir (22). En yüksek sistatin C konsantrasyonu seminal plazmada, ortalama 51 mg/lt (13-34) olarak kaydedilmiştir (18,22). Sistatin C immunohistokimyasal çalışmalarla çeşitli nöroendokrin hücrelerin

sitoplazmalarında gösterilmiştir. Sistatin C bazı normal adenohipofizal hücrelerde (özellikle lütein hormon üreten hücreler), pankreatik adacık hücrelerinde, tiroid bezi C hücrelerinde, adrenal medulla hücrelerinde ve bazı insan beyin kortikal nöronlarında araştırılmıştır (29). 11-nonhipersekrete suprasellar-pituitary adenomlar (görme yoluyla baskı yapan), glukagon üreten pankreatik islet hücre karsinomları, kalsitonin üreten medüller tiroid karsinoması ve norepinefrin üreten feokromasitoma gibi bir çok neoplastik dokunun sistatin C ürettiği tespit edilmiştir (27,29,30).

Sistatin C Metabolizması

Hemen hemen tüm çekirdekli hücrelerden sabit hızda üretilen ve serum ve plazmada oldukça stabil olan sistatin C ekstraselüler sıvıdan düşük moleküler ağırlığı ve bazik pH'ı nedeniyle glomerül membranı aracılığıyla kolayca filtre edilir. Tamamı reabsorbsiyona uğrar ve proksimal tübül hücrelerince kolaylıkla katabolize edilir. Dolayısı ile normal idrar konsantrasyonu oldukça düşük olup ortalama 0,03-0,3 mg/lt'dir (17,18).

Sistatin C'nin Klinik Tanısal Kullanımı

1. Glomerüler Filtrasyonun Değerlendirilmesi

Böbreğin fonksiyonel kapasitesinin en sensitif ve spesifik ölçüsü glomerül filtrasyon hızıdır. Dolayısıyla GFH'de saptanan düşüş fonksiyonel böbrek hastalığının en erken bulgusudur (31). GFH ölçümü için ekzojen yöntemler (inülin, 51 Cr-EDTA, 99mTc işaretli dietilen triamin pentaasetikasit (DTPA), iyoheksol, 131 Ihippurat, 131 I-iyodoasetat) duyarlı, ancak zorlukları ve pahalı olmaları nedeniyle pek pratik değildir (11). Endojen yöntemlerden en çok kullanılan kreatinin klirensi GFH 50 ml/dk/1,73m²'nin altına düşmedikçe bulgu vermez, serum kreatinin konsantrasyonu değişmez (32). Bundan dolayı GFH'deki hafif ve orta derecedeki değişimleri saptamada kreatinin analizinin hassas olmadığı kabul edilmektedir (33). Ayrıca kreatinin klirens ölçümü için 24 saatlik idrar toplanmalı beraberinde kan örneği de alınmalıdır, bir çok hastanın eksik idrar toplaması (özellikle yaşlılar ve çocuklar), kreatinin klirensi testinin hassasiyetini ve tekrarlanabilirliğini önemli ölçüde azaltmaktadır. Kreatinin tayininde karşılaşılan bazı analitik sorunlarda bu testin doğruluğunu ve hassasiyetini sınırlamaktadır (16). Bu nedenle GFH için alternatif bazı biokimyasal parametreler arayışına girilmiştir. Bunun için molekül ağırlığı 30 kDa'dan düşük olan β 2 mikroglobulin, retinol bağlayıcı protein, α 1-mikroglobulin, Tamm-Horsfall proteini ve sistatin C gibi proteinler

düşünülmüştür. Ancak düşük molekül ağırlıklı proteinlerin bir çoğunun serum konsantrasyonları, GFH'den bağımsız olarak inflamatuvar, immunolojik ve neoplastik bozukluklarda artmaktadır (34). Sistatin C ise bu faktörlerden etkilenmez, gün içerisinde belirgin diurnal ritmi yoktur, düşük molekül ağırlığı ve bazik pH'ından (yaklaşık 9.0) dolayı glomerüllerden kolayca filtre olur, proksimal tübüllerden tamamına yakını geri emilerek katabolize edilir. Sistatin C serum düzeyleri yaşa ve cinsiyete bağlı olarak değişiklik göstermez. Bu yüzden GFH için yeni bir marker olarak kullanılması söz konusudur (16,17).

Bazı araştırmalarda sistatin C'nin GFH azalmalarında %100 spesivite ve sensitivitede sistatin C yüksekliği gözlenmiştir (35). Karşılık olarak bazı otörler kreatininin GFH % 50'nin altına düştüğünde aynı spesivite ve sensitiveyi gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (35). Ancak bazı otörler sistatin C'nin çok küçük azalmalarda ($GFH < 1,6 \text{ ml.s}^{-1}$) anlamlı yükseklik göstermediği ve tekrarlanan ölçümler için kritik farklılığın % 37 olması (bu oran kreatinin için % 14 kadardır) nedeniyle özellikle başlangıç nefropatili hastalarda önermemektedirler (35).

Pediyatrik yaş grubunda yapılan bir çalışmada renal hastalık varlığında sistatin C ve kreatinin klirensinin inülin klirensi ile kıyaslamasında her ikisinde güzel korelesyon göstermiştir. İstatistiksel açıdan anlamlı bir üstünlük olmamasına rağmen sistatin C kreatinin klirensine göre hafif bir üstünlük göstermiştir (36). Altın standart kabul edilen ekzojen madelerle (51Cr-EDTA, 99mTc-DTPA, iyoheksol, inülin vb) yapılan çalışmalarda sistatin C ile GFH arasında yüksek korelesyon saptanmıştır (16). Çalışmaların çoğunda sistatin C, kreatinin klirensinden daha üstün bulunmuş olup özellikle ılımlı renal yetmezliklerde erken bir gösterge olduğu ileri sürülmüştür (16). Sistatin C renal transplant hastalarında incelenmiş, GFH ve transplant rejeksiyon değerlendirilmesinde yararlı bir marker olabileceği ileri sürülmüştür (37,38,39). Serum sistatin C düzeylerinin akut böbrek yetmezliği gibi hızlı GFH azalmalarında yapılan çalışmalarda kreatinine göre daha erken bulgu verdiği, daha kullanışlı olduğu bildirilmiştir (40,41).

2) Vasküler Anevrizmalar:

Aterosklerotik ve abdominal aorta anevrizmaları sıklıkla ekstraselüler matriksin aşırı yıkımı ve damar duvarının remodelingi ile seyreden inflamatuvar olaylardır. Bu vakalarda matriks metalloproteinazları, serin proteazları, katepsinlerin rolü olabilir. Bununla beraber normal düz kas hücrelerinden üretilen sistatin C katepsinlere karşı damar duvarını korumaktadır. Bazı aterosklerotik plaklar ve anevrizmalar sistatin C içermemektedir. Serum sistatin C konsantrasyonları, abdominal aort anevrizması boyut ve genişliği ile negatif

korelesyon gösterir (35). Anevrizmalı hastaların çok düşük serum sistatin C düzeyleri vardır. Yapılan bir çalışmada anevrizma saptama açısından sistatin C spesivitesi % 61 bulunmuştur (35).

3) Hiperhomosisteinemi

Normal glomerul filtrasyon düzeyine sahip insanlarda sistatin C konsantrasyonu açlığa ek olarak metiyonin yüklenmesi sonucu homosistein düzeylerinin önemli bir prediktörüdür (serum kreatinin düzeyine kıyasla) (35).

4) Lenfoproliferatif Hastalıklar

Serum β 2-mikroglobulin/sistatin C oranı artması lenfoproliferatif hastalıklar açısından GFH'daki azaltmayı yansıttığı kadar iyi bir indikatördür (35). Lösemi tanı ve takibinde de sistatin C'den yararlanılabilir. Plazma idrar lizozimi monositik ve miyelositik lösemilerin teşhisinin konulması ve incelenmesinde kullanılır. Ancak plazma lizozim seviyesi glomerüler filtrasyondan önemli oranda etkilendiği için plazma lizozim seviyesi / plazma sistatin C seviyesi oranı bu sebepten dolayı potansiyel olarak daha spesifik bir ölçümdür (18).

5) Sistatin C İle İlgili Diğer Olası kullanım Alanları ve İlişkili Hastalıklar

A) Sinir Sistemi:

Sistatin C güncel bilgilere göre, amiloidogenik bir protein olarak göz önüne alınmalıdır ve β amiloid ile birlikte alzheimerlı hastaların serebral arteriel duvarlarında bulunmuştur. Burada sistatinin nöronal hasara yol açtığı varsayılır. Alzheimerlı bazı hastalarda sistatin C gen polimorfizminin bu hastalığın riskini arttırdığı ve düşük serum sistatin C düzeylerinin bulunduğu bildirilmiştir (35). Otozomal dominant kalıtılan herediter sistatin C amiloid angiopati hastalığında arter duvarlarında özellikle beyinde amiloid depolanması olup; serebral hemoraji, paralizi, demans, stroke ve 40 yaşından önce ölüm görülür sistatin C geninde bir mutasyon mevcuttur. (Leu 68 Gln mutasyonu) Bu hastalıkta BOS'ta düşük sistatin C düzeyleri ile karşılaşmaktadır (18,42). Sistatin C aynı zamanda bir çok nörolojik hastalık tablosu (stroke, subklinik beyin infarktı, epilepsi, amiyotrofik lateral skleroz, siyatik sinir hastalıkları disk hernileri vb.) ve bazı amiloidoz tabloları ile de

ilşkilendirilmiştir (38,43,44,45). Sistatin C tanısal kullanımı kan beyin bariyeri bozukluklarının diğer göstergeleri gibi tartışılmaktadır. Bu bakış açısıyla bakteriyel menenjitlerde sistatin C beyin omirilik sıvısında azalmış olarak saptanmıştır (35).

B) Kardiovasküler Sistem

Plazma sistatin C düzeylerinin koroner kalp hastalıklarında ve sekonder kardiyovasküler olaylar açısından risk ve prognoz değerlendirilmesinde kullanışlı bir marker olabileceği bildirilmiştir (46). Periferik arteriel hastalık açısından da prediktif değeri olabileceğini bildiren yayınlar mevcuttur (47). Yapılan büyük bir çalışmada Sarnak ve arkadaşları sistatin C düzeyinde saptanan yüksekliklerin kalp yetmezliği açısından önemli bir risk faktörü olduğunu ve serum keatinin düzeyi ve kreatinin bazlı GFH ölçümünden daha prediktif olduğunu bildirmişlerdir (48). Bu durum böbrek disfonksiyonlu hastalarda, kalp yetmezliği için risk faktörlerinin artmış olmasıyla ilişkili olabilir.

C) Solunum Sistemi :

Cimerman ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serum sistatin C düzeylerinin astmatik hastalarda yükselmiş olduğu gözlenmiştir (49). Takeyabu ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise subklinik amfizem vakalarında bronkoalveoler lavaj sıvısında katepsin L ve sistatin C artmış olarak bulunmuştur (50).

D) Malign Hastalıklar :

Sistatin C bir çok kanser dokusundan salgılanır ve özellikle tümör mikroçevresinde artmış olarak saptanır. Sistatin C yapılan bir çalışmada tümör invazyonunda rol alan katepsinleri ve TGF- β 'yı inhibe etmiş, sistatin C'nin TGF- β reseptör antagonisti olabileceği iddia edilmiştir. Kolorektal kanseler, fibrosarkomlar ve gliomalarla yapılan bazı çalışmalarda sistatin C ekspresyonunun prognostik anlamı olabileceği bildirilmiştir (51,52,53).

E) Retina Hastalıkları

Sistatin C retinada da bulunur. Burada katepsin S ve katepsin D nedenli proteoliz etkisi üzerine inhibitör etkilidir. Bazı hastalarda azalmış sistatin C konsantrasyonları kural dışı olabilmektedir (35). Tip 1 diabetiklerde yapılan bir çalışmada retinopatisi olanlarda, olmayanlara göre sistatin C anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (54).

F) Kemik Remodelingi :

Sistatin C rezorbsiyon nodüllerini çevreleyen alanda ekstraselüler olarak ve osteoklastlarda intraselüler olarak bulunur. Sistatin C olasılıkla burada, katepsin K ile olan kemik matriks degradasyonunun regülasyonunda fonksiyon görür. Ancak bu zamana kadar serum sistatin C konsantrasyonları ve kemik remodelingi arasında ilişki saptanmamıştır (35).

G) Genel sağlık durumu ve mortalite

Sistatin C ile ilgili yapılan büyük bir çalışmada Shlipak ve arkadaşları maligniteye bağlı mortaliteyi değerlendirme dışı bırakarak kardiyovasküler ve diğer nedenlere bağlı ölümleri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda sistatin C'nin yaşlı hastalarda mortalite için güçlü ve önemli bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir (55).

Sistatin C Ölçüm Metodları

İlk sistatin C ölçümü immunoassay yoluyla Loffberg ve Grubb tarafından 1979 yılında gerçekleştirilmiştir. Sonrasında daha sensitif radiofloresans ve çeşitli enzim immunoassaylar geliştirildi. Yakın zamanda ise otomatize edilmiş homojen immunoassaylerde kullanılan lateks veya polisitiren kaplı sistatin C spesifik antikorları geliştirilmiştir. Bunlar sistatin C ölçümü için 2 farklı yöntemde kullanılmaktadır: PETİA (Particle-Enhanced turbidimetric immuno assay) ve PENİA (Particle-Enhanced NepHelometric İmmunoassay) Bu assayler daha önceki ölçüm metodlarına göre daha doğrudur ve referans değerleri daha tutarlıdır. Sistatin C 3 aydan küçük çocuk ve 70 yaşından büyük kişilerde daha yüksektir (35).

Tablo 2'te sistatin C ölçüm yöntemleri ve çeşitli çalışmalarda vaka sayısı ve

bunların bulunan referans değerleri verilmiştir.

Tablo 3. Assay karakteristikleri ve sistatin C için referans aralıkları

Metod	Saptama Limiti	mg/L CV	% Reference aralığı, mg/L	Populasyon	N
SRID	0.3	11	0.78–1.52	Yetişkin	46
EIA	0.03	10–12	0.26–1.94	Yetişkin	30
EIA	0.001	3–9	1.52–2.76 1.26–2.30	Yetişkin (erkek) Yetişkin (kadın)	33 33
RIA	0.0013	NS	0.56–1.36	Yetişkin	100
EIA	0.002	4–5	0–3.24	Yetişkin	189
EIA	NS	NS	0.47–1.03	Yetişkin	33
PETIA	0.03	3–5	<1.25	Belirtilmemiş	206
PETIA	NS	2–7	0.70–1.21 0.84–1.55	Yetişkin(20-50 yaş) Yetişkin (>50 yaş)	242
PETIA	0.42	2–8	0.54–1.21	Yetişkin	270
PETIA	NS	NS	0.56–1.22	Yetişkin	249
PENIA	0.17	2–11	0.37–1.22	Yetişkin	52
PENIA	NS	2–4	0.51–0.94 0.48–0.98	Yetişkin (kadın) Yetişkin (erkek)	78 61
PENIA	0.17	3–5	0.51–0.98	Yetişkin	309
PENIA	0.17	3–5	0.93–3.35	Yetişkin(>65 yaş)	401
PENIA	0.25	1–2	0.51–0.95	Çocuk (1–14 yaş)	125
PETIA	NS	NS	0.18–1.38	Çocuk (0.8-18 yaş)	216
PETIA	NS	1–6	0.70–1.38	Çocuk (0.2-18 yaş)	195
PENIA	NS	3	0.63–1.33	Çocuk (1–16 yaş)	56

Reference aralıkları ortalama $SS \pm 2 SS$ 'yi geçmedikçe anlamlıdır.

SRID, single radial immunodiffusion; EIA, enzim immunoassay; 95 persantil temel alınmıştır.

ATEROSKLEROZ

Ateroskleroz, koroner arterlerin yanısıra büyük ve orta genişlikteki müküler arterleri de etkileyen sistemik bir hastalıktır. Ateroskleroz ve ilişkili hastalıklar dünya çapında 45 yaş altı nüfusun en önemli ikinci ölüm sebebi olup, 45 yaş üstü nüfusta ise birinci sıradaki ölüm sebebidir. Tüm yaş grupları göz önüne alındığında ise morbiditenin en önemli etkeni olup, görülme sıklığı gittikçe artmaktadır. Bu nedenle birçok araştırmacı, ateroskleroza organ tutulumu olmadan teşhis edebilmek ve aterosklerotik hastalığın yaygınlığını saptayabilmek için birçok yöntem geliştirmektedirler. Aterosklerotik hastalığın klinik bulguları ortaya çıktığında tutulum genellikle ileri safhadadır ve bu noktadan sonra yapılan girişimler genellikle palyatif veya ikincil korumaya yönelik olmaktadır (5). Halbuki klinik bulgular ortaya çıkmadan önceki dönemde arteryel duvarda birçok değişiklik olmaktadır ve bunlar ateroskleroza erken dönemde teşhis etmemize yardımcı olabilir. Koroner damar yatağı en ciddi tutulum yeri olup, morbidite ve mortalitenin en önemli sebebidir. Bu durum da subklinik dönemdeki teşhisi daha da önemli hale getirmektedir (6).

SOL VENTRİKÜL DİYASTOLİK FONKSİYONLARININ BELİRLENMESİNDE EKOKARDİYOGRAFI

Transtoraksik ekokardiyografi kolay uygulanabilir, teşhis ve takipte çok faydalı olan, tekrarlanabilir ve ucuz bir tetkiktir. Özellikle son yıllarda giderek yaygın kullanılan doku Doppler tekniğinin de eklenmesi ile diyastolik disfonksiyonların değerlendirilmesi daha kantitatif olarak yapılmaya başlanmıştır. Diyastolik fonksiyonları değerlendirmede konvansiyonel transmitral ve pulmoner ven pulsed wave (PW) Doppler akımlarının incelenmesi klasik metot olarak kabul edilmektedir (7).

Transmitral Akımın PW Doppler Analizi

İlk olarak yaklaşık 20 yıl önce Kitabatake tarafından transmitral akımın PW Doppler ile kaydı diyastolik fonksiyonları değerlendirmek amacı ile kullanılmaya başlanmıştır (56). Zaman içerisinde bu teknik yaygınlaşmış ve günümüzde ekokardiyografinin diyastolik fonksiyonları değerlendirmek açısından vazgeçilemez bir parçası olmuştur.

PW Doppler mitral akım paternini değerlendirmek açısından en uygun pozisyon Doppler dalgalarına paralel düşmesi nedeni ile apikal 4 boşluk ve 2 boşluk görüntüleridir.

Kayıt esnasında alınan örnekleme volumün mitral liflet uçlarına denk gelen noktadan alınması önerilmektedir.

Mitral akımın PW Doppler analizinde 4 klasik periyot izlenmektedir, bu periyotlar sırasıyla izovolümetrik relaksasyon periyodu, hızlı doluş periyodu, diyastasis, atriyal katkı'dır (7).

1. İzovolümetrik Relaksasyon Periyodu (IVRZ)

Aort kapağının kapanmasından mitral kapağın açılmasına kadar geçen süredir ve PW Doppler kaydı ile aort ileri akımının bittiği noktadan mitral diyastolik akımın başladığı nokta arası olarak belirlenir. Aort kapağının kapanması ve mitral kapağın açılması üzerine etkili olan bütün faktörlerden etkilenir.

IVRZ için 50 yaş altındaki kişilerde 65-90 msn ve 50 yaş ve üstü kişilerde 70-110 msn arası değerler normal kabul edilir. Diyastolik disfonksiyonda sol atriyal doluş basıncı artmadan ve E / A oranı değişmeden gözlenen ilk bozulma işaretidir.

2. Hızlı Doluş Periyodu

Mitral kapağın açılması ve kanın basınç farkı ile LV'e hızlı doluşunu gösterir. Ortaya çıkan PW Doppler dalgası E dalgası olarak adlandırılır. E dalgası, E akım hızı, hız zaman integrali ve E dalgası deselerasyon zamanı (EDZ) değeri ile ifade edilir. EDZ; E akım hızının pik değere ulaşmasından, sıfırlanma noktasına kadar geçen süre olarak tanımlanmaktadır ve diyastolik disfonksiyonu belirlemede önemli bir parametredir (Şekil-1).

3. Diyastasis

Hızlı doluş sonrası sol atriyum ve sol ventrikül arasındaki basıncın eşitlenmesi halinde akımın en aza indiği periyoddur ve yavaş doluş fazı olarak tarif edilir.

4. Atriyal Katkı

Diyastolun sonuna doğru atriyum kasılarak içinde kalan sol kanı sol ventriküle atar. Oluşan PW dalgası A dalgası olarak adlandırılır. A dalgası; akım hızı, süresi ve hız-zaman integrali olarak değerlendirilir.

Mitral Akım PW Doppler Paternleri

Örnekleme volumünün mitral liflet uçlarına yerleştirilmesi ile elde edilen PW Doppler kaydında 5 farklı formda mitral kapak akımı saptanabilir (7).

1. Normal Patern

Genç ve sağlıklı kişilerde görülen patern olup, E dalgası akım hızı (E)'nın A dalgası akım hızı (A)'na oranının (E / A) 1'den büyük olması ve EDZ'nin 200 ± 40 msn arasında

olması ile tanımlanır. Normal değerler 50 yaş üstü ve altı olmak üzere 2 gruba ayrılabilir. 50 yaş altı genellikle E / A oranı > 1 , $EDZ > 150$ msn ve 50 yaş üstü $E / A > 0,8$ normal değerler olarak kabul edilir.

2. Uzamış Gevşeme Paterni (Evre 1 LVDD)

$E / A < 1$, E akım hızında azalma, A akım hızında artma, EDZ ve İVRZ 'de uzama ile karakterizedir. Gevşeme hızındaki yavaşlama erken doluş hızında yavaşlamaya neden olur, atriyal katkının artmasına bağlı olarak da A dalgası akım hızında artma izlenir. En sık olarak hipertansiyon hastalarında gözlenmekte olan bir paterndir.

3. Pseüdonormal (Yalancı Normal) Patern (Evre 2 LVDD)

Gevşemedeki uzamaya esneyebilirlikteki azalmanın da eklenmesi ile ortaya çıkan, LV doluş basıncının normalin üst sınırını aşmaya başladığı safhadır. Normal PW Doppler mitral akım örneğini taklit ettiğinden bu paternin normal paternden mutlaka ayırt edilmesi gerekmektedir.

4. Restriktif Patern (Evre 3 LVDD)

Sol ventrikülün gevşeme ve esneme özelliğinin kaybolduğu bu safhada myokard stifnes ve duvar kalınlığında artış ön plandadır. Sol ventrikül doluş basıncında artma sonucunda sol atriyum basıncında artma ortaya çıkar. Mitral kapağın açılması ile birlikte hızlı ve kısa süreli erken diyastolik doluş oluşur ve bu patern E akım hızının 1m/sn'den yüksek olması, EDZ'ında kısalma (<150 msn) ile karakterizedir. Atriyal katkı sol ventrikül diyastol sonu basıncının artması nedeni ile azalmıştır ve E / A oranı > 2 olarak izlenir.

5. İleri Restriktif Patern (Evre 4 LVDD)

İleri derecede düşük esneyebilirlik ile karakterizedir. LV diyastol sonu basıncı ciddi olarak artar ve LV basıncının LA basıncını aşması nedeni ile atriyal akım dalgası yok denecek kadar azalmıştır. Bu ileri safhada atriyal dokuda yüksek basıncın bir sonucu olarak ortaya çıkan atriyal fibrozis nedeni ile atriyal sistolik fonksiyonlarda azalmaya bağlı olarak atriyal sistolik yetersizlik vardır. Bu patern sol ventrikül sistolik fonksiyonlarına bağlı olmaksızın kötü prognozla ilişkilidir.

Yukarıda sayılan bu 5 patern restriktif ve non-restriktif olmak üzere 2 gruba ayrılabilir (63).

Restriktif patern:

$E / A > 2$ ve $EDZ > 150$ msn'den küçük

Non-restriktif patern:

$E / A < 1$ ve $EDZ > 150$ msn'den uzun

Ayrıca sağlıklı genç bireylerde görülebilen hızlı gevşeme ile seyreden restriktif paterni taklit eden normal bir varyasyonun, mutlaka restriktif paternden ayırt edilmesi

gerekmektedir. Yaş, kalp hızı, PR intervalı, art-ön yükte fizyolojik değişiklikler ve solunum; mitral akım PW Doppler kayıtlarında değişiklik yapmak suretiyle diyastolik fonksiyonların doğru olarak değerlendirilmesinde engel oluşturmaktadırlar.

Solunum esnasında inspiyumda önyükün azalması sonucunda E dalga hızı ve hız-zaman integralinde azalma oluşur. Doppler kayıtlarının düzgün alınması için hastanın sakin nefes alması gereklidir ve kayıtlar ekspiyumun sonunda alınmalıdır (7).

Yaş ilerledikçe LV duvar kalınlığının artması, gevşeme ve esneme fonksiyonlarında fizyolojik azalmaya bağlı olarak diyastolik fonksiyonlarda azalma ortaya çıkar. Bu nedenle 50 yaş üstü $E / A > 0,8$ normal değerler olarak kabul edilir (56).

Normal sağlıklı kişilerde kalp atım sayısı arttığında E dalgası hızı ve hız-zaman integralinde değişiklik olmazken, A dalgası hızı ve hız-zaman integralinde ise artma saptanmıştır. Kalp hızı 100'ün üzerine çıktığında ise E ve A dalgalarının füzyonu gözlenmektedir. Elektrokardiyografideki PR (atriyo-ventriküler) aralığı uzaması durumunda (PR intervalı > 250 msn) E dalgası akım hızında düşme ve A dalgasında artma meydana gelir.

Ön yük ve ardyük değişiklikleri de transmitral doluş paternleri üzerlerinde 1 ileri veya 1 geri paterne kayma şeklinde etki gösterebilirler (57). Transmitral akımın PW Doppler ekokardiyografi ile değerlendirilmesinde en önemli nokta, normal doluş paterni ile pseudonormal doluş paternini birbirinden ayırt edebilmektir. Bu iki paternin birbirinden ayırt edilmesi tedavi ve prognozlarının farklı olması nedeni ile oldukça önemlidir. Normal ile pseudonormal paterni birbirinden ayırt etmek için; pseudonormal paterni bir geri veya bir ileri paterne dönüştüren ön yükü düşürücü veya yükseltici testler uygulanabilir.

Ön yükü düşürmek için; valsalva manevrası ve venöz dönüşü azaltan ilaçlar kullanılabilir. Valsalva manevrası ideal olarak 40 mmHg'ye ayarlı bir manometreye, derin inspiyum yapılmaması şartıyla 30 sn. süresince zorlu ekspiyum yapılması şeklinde uygulanır. Vagal manevra ile gerçek normal paternde E ve A akım hızlarındaki düşüş birlikte olurken, yalancı normal paternde E akım hızındaki düşmeye karşın A akım hızında düşme olmaz veya artma vardır. Böylece valsalva manevrası ile ön yükteki azalma; yalancı normal paternin uzamış gevşeme paternine dönüşümünü sağlar. Gerçek normal doluş paterninde valsalva manevrası ile E ve A dalgalarında birlikte düşme olur ve E / A oranı 1-2 arasındadır, E dalga hızında %10 azalma olması uygun ve normal valsalva manevrası yanıtı anlamına gelir. Nitrogliserin alımında da etki mekanizması aynı olup, venöz genişleme ile dönüş ve ön yük azaltılarak valsalva manevrasına benzer etkiler izlenir.

Bütün bu metotlara rağmen mitral akımın PW Doppler analizi ile her zaman LV diyastol sonu basıncı ile ilgili tam ve doğru bilgileri verememektedir. Bu nedenle diyastolik

fonksiyonları değerlendiren yeni parametrelere ihtiyaç duyulmuştur. Pulmoner ven akımının PW spektral Doppler analizi, PW Doku Doppler görüntüleme, transmitral akımın renkli yayılım hızı (Color Flow Propagation Velocity), Akustik Kuantifikasyon gibi yeni parametrelerde diyastolik fonksiyonları değerlendirmede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Doku Doppler (Tissue Doppler) Görüntüleme

Doku Doppler görüntüleme (DDG) konvansiyonel pulsed Doppler tekniğinin modifiye bir şeklidir. Temel prensibi örnek volümün konulduğu myokard alanına ait olan sistolik ve diyastolik hareket hızlarının görüntülenmesidir. DDG temel olarak pulsed wave doku Doppler (PWDD) ve renkli DDG olarak 2 metot ile uygulanır. Diyastolik fonksiyonların değerlendirilmesinde özellikle PWDD kullanılmaktadır (58).

PWDD metodu ile bir kardiyak siklus boyunca oluşan sistolik (Sm), erken diyastolik (Em veya E') ve geç diyastolik (Am) dalgaları görüntülenir (Şekil-1). Bu dalgaların oluşum zamanları, süreleri ve amplitüdleri normal kalpte segmentler arasında farklılık gösterir (58). PWDD dalga hızları bazal ve lateral segmentlerde daha fazla iken apekse doğru gidildikçe doku Doppler sistolik ve diyastolik dalga hızlarında azalma gözlenir (59,60).

PWDD'in en büyük avantajı örnek volümün konulduğu myokard alanına ait olan sistolik ve diyastolik dalgaların bir kardiyak siklus boyunca kayıt edilmesidir, böylelikle myokardın bölgesel olarak değerlendirilmesi de mümkün olmaktadır. Bu nedenle özellikle myokardiyal segmenter iskeminin değerlendirilmesinde faydalı olduğu görülmüştür, iskemi ile önce diyastolik sonrada sistolik doku Doppler dalga hızlarında azalma olduğu saptanmıştır (58).

Diyastolik fonksiyonların değerlendirilmesinde ise özellikle mitral anulusun septum ve lateral duvar ile kesiştiği myokard bölgelerinin LV'nin global diyastolik fonksiyonlarını yansıttığı saptanmıştır (58-61). Bu yöntem ile sol ventrikül diyastolik fonksiyonlarının hem segmenter hem de global olarak değerlendirilmesi mümkün olmaktadır.

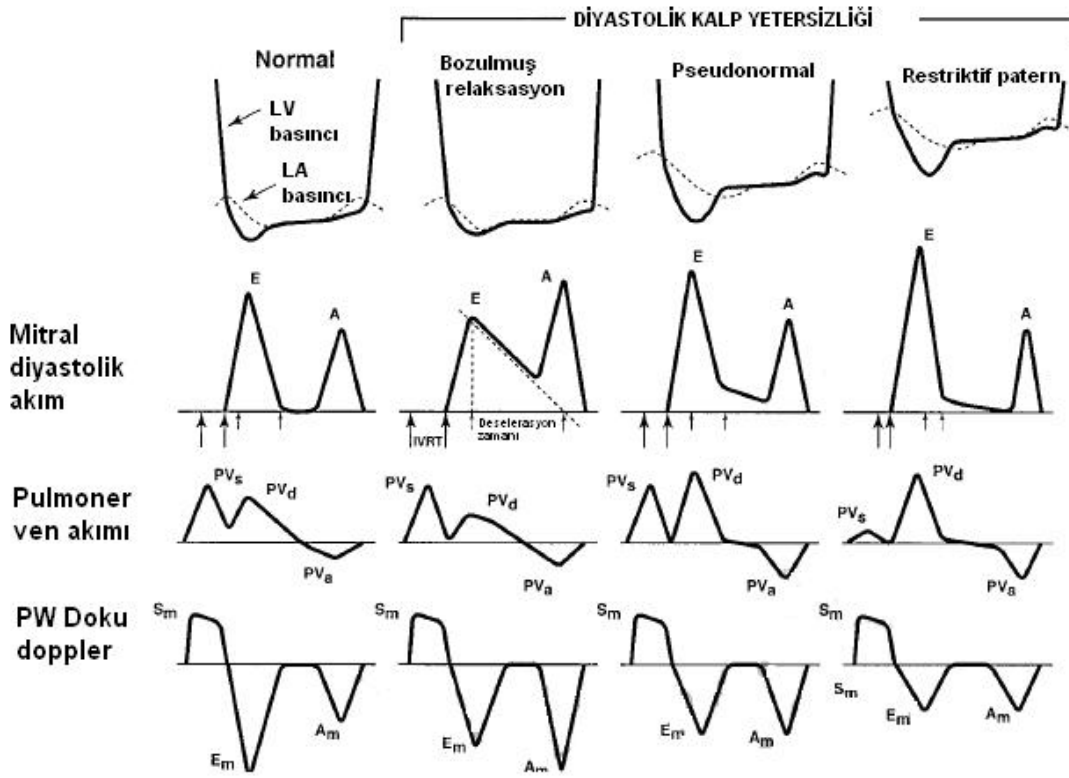
Özellikle pseudonormal paternin, normal paternden ayrılmasında PWDD çok faydalıdır (61). Pseudonormal patern ve restriktif paternde transmitral E akım hızı artış gösterirken, anulustan alınan PWDD kayıtlarında Em ve Am akım hızlarında azalma izlenir. Pseudonormal paternde E / A oranı 1'den büyük olduğu halde Em / Am oranı küçük olur (Şekil-1). Restriktif paternde de E / A > 2 olmasına rağmen, hem Em hem de Am hızları birlikte giderek azalır (Şekil-1).

Sohn ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; bir gruba serum fizyolojik, başka bir gruba nitrogliserin infüzyonu yaptıklarında, uzamış gevşeme bozukluğu olanların transmitral

Doppler akım hızlarının serum fizyolojik yüklenmesi ile yalancı normalize şekil aldığı, nitrogliserin verilen pseudonormal paternin ise uzamış gevşeme paternine dönüştüğü gözlenmiştir (62). Aynı hastaların transmitral akımlarındaki bu değişikliğe rağmen PWDD hızlarında anlamlı değişiklik olmamıştır, bu çalışmanın sonucunda PWDD incelemenin önyükten bağımsız olduğu gözlenmiştir.

PWDD ile elde edilen diyastolik hızların (Em ve Am) sadece sinüs ritmindeki hastalarda değil atriyal fibrilasyonu olan hastalarda da diyastolik disfonksiyonu saptamada faydalı olduğu saptanmıştır (63). Bu nedenle PWDD yönteminin kalp hızı ve kalp ritminden bağımsız bir metot olduğu düşünülmektedir.

Şekil-1. Diyastolik kalp yetersizliğinin ilerlemesi ile LV ve LA'un diyastol esnasındaki basınçları, transmitral Doppler LV dolum akım hızları, pulmoner ven Doppler hızları ve Doku Doppler hızlarında gözlenen değişiklikler (64).



E: erken LV dolum dalgası, A: atriyal kontraksiyon ile oluşan LV dolum dalgası, IVRZ: İzovolümetrik relaksasyon zamanı, PVs: pulmoner ven sistolik dalga, PVd: pulmoner ven diyastolik dalga, PVa: atriyal kontraksiyon ile oluşan pulmoner ven ters akım dalga, Sm: sistolik myokardiyal dalga, Em: erken diyastolik myokardiyal dalga, Am: atriyal kontraksiyon ile LV doluşu sırasındaki myokardiyal dalga; LV: Sol ventrikül, LA: Sol atriyum.

ENDOTELYAL DİSFONKSİYON

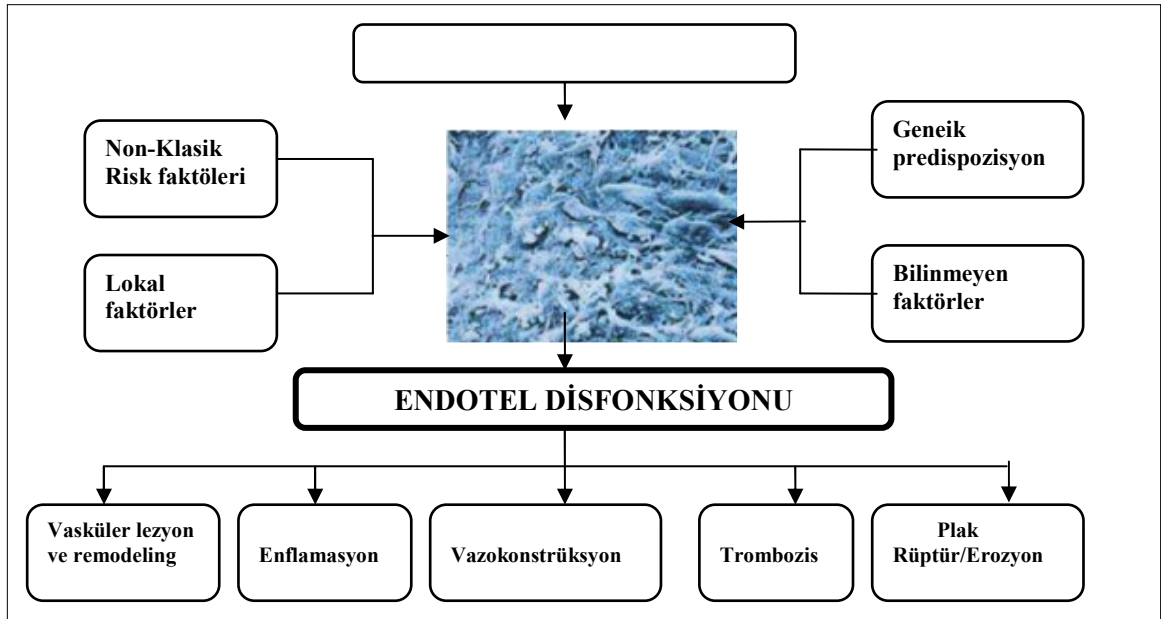
Son 20 yıl içerisinde, vasküler endoteliumun parakrin, endokrin ve otokrin organ olduğu ve vasküler hemostaz için olmazsa olmaz olduğu anlaşılmıştır. Bu süre zarfında yapılan çalışmalarda endotel fonksiyonlarındaki bozulmaların (yani endotelial disfonksiyon) aterosklerozun, akabinde aterosklerotik plakların ve en sonunda aterosklerotik plak komplikasyonlarının gelişmesinde ana element olduğu anlaşılmıştır (65,66). Endotelial disfonksiyon, vazodilatatör maddelerin biyoyararlanımındaki azalma ile karakterize olup; en belirgin olanı NO azalmasıdır. Bu çerçevede endotel kaynaklı vazokonstriktörler artar (66). Bu dengesizlik, endotel disfonksiyonunun karakteristiği olan endotel bağımlı vazodilatasyonda azalmaya yol açar. Diğer bir yandan endotel disfonksiyonu “ Endotelial Aktivasyon “ göstergesi olup, proinflamatuvar, proliferatif ve prokoagulan ortam yaratmaktadır (67). Endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz arasındaki bu ilişki düşünüldüğünde, endotel disfonksiyonunun varlığı istenmeyen kardiyovasküler olayların öngörücüsü olabilir.

Endotelial Disfonksiyon ve Sistemik Tutulum

Ludmer ve arkadaşlarının 1986’da aterosklerotik epikardial koroner arterlerde ilk olarak endotel disfonksiyonunu tanımlamalarından sonra girişimsel olarak yapılabilen koroner endotel disfonksiyonunu tanımlayan birçok yöntem tanımlandı (koroner Doppler akım ölçümleri, intrakoroner asetilkolininfüzyonu) (68). Daha sonraki yıllarda daha az invazif veya noninvazif yöntemlerde tanımlandı (kolda platismografi, brakial arterin reaktif hiperemi sonrası akımla uyarılan vasodilatasyonun ölçülmesi). Bu yeni yöntemler aslında endotel disfonksiyonunun yalnızca epikardial koroner arterlerle sınırlı kalmadığı, aynı zamanda tüm arteryel yatağı tuttuğu varsayımına dayanır (69). Endotel disfonksiyonunun sistemik doğası düşünüldüğünde periferik vasküler fonksiyonların koroner arterdekilerle paralellik gösterip göstermediği sorusu ortaya çıkmaktadır. Bu konuda yapılan iki büyük çalışmada; asetilkolinin intrakoroner infüzyonu sonrası epikardial koroner arterlerde oluşan vasodilatasyon ile brakial arterdeki akım ile uyarılan vasodilatasyonun korole olup olmadığı araştırıldı (70,71). Bu çalışmalarda, iki yöntem arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı görüldü. Bu sonuca göre endotel disfonksiyonunun sistemik tutulum gösterdiği kanıtlanmaktadır.

Endotelial Disfonksiyon ve Risk Faktörleri

Kardiyovasküler risk faktörleri ile aterosklerotik hastalık arasındaki ilişki kanıtlanmış olmasına rağmen; bu risk faktörlerinin lezyon oluşumuna ve akut koroner sendromlara nasıl yol açtığı hala netlik kazanmamıştır (72). Bazı bireylerin birçok klasik ve nonklasik risk faktörlerine sahip olmalarına rağmen, aterosklerotik hastalık geliştirmemeleri aradaki bir bağlantıda kopukluk olduğunu göstermektedir. Bu noktada endotelial hücrelerin stratejik yerleşimi nedeniyle (kan ile vasküler duvar arasında mekanik ve biyolojik bariyer) bu kopukluğun ana bileşeni olduğu düşünülmektedir. Aterosklerozis ve kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile alakalı risk faktörlerinin çoğunun endotelial disfonksiyonu ile de alakalı olduğu bulunmuştur. Hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabet ve sigara içimi gibi risk faktörleri reaktif oksijen ürünleri ve artmış oksidatif stres ile ilişkilidir (73). Reaktif oksijen ürünleri, NO ile reaksiyona girerek NO'nun vasküler biyoyararlanımını azaltırlar ve hücre hasarını tetiklerler (74). Artmış oksidatif stres endotelial disfonksiyonunun patogenezindeki ana mekanizma olarak kabul edilmektedir ve klasik ve nonklasik risk faktörlerinin endotelial üstündeki etkilerinin ortak son yolu olduğu düşünülmektedir (73-75). Tüm bunlar beraber değerlendirildiğinde, endotelial fonksiyon bütün kardiyovasküler risk faktörleri ile vasküloprotektif faktörlerin ilişkisidir. Bu noktada aterosklerozis gelişimindeki önemli rolü düşünüldüğünde endotelial disfonksiyonu tüm risk faktörlerinin bulunduğu ortak nokta olarak kabul edilir (Şekil 2).



Şekil 2. Endotelial disfonksiyon: Tüm risk faktörlerinin ortak noktası⁷⁶

Klinik Sendrom Olarak Endotelial Disfonksiyonu

Endotelial disfonksiyon varlığı klinik sendrom olarak kabul edilebilir ve kardiovasküler olayların öngörücüsüdür (77-79).

Endotelial Disfonksiyon ve Myokardiyal İskemi: Azalmış NO sunumu ile karakterize olan koroner endotelial disfonksiyon, myokardiyal iskemi ile yakından ilişkilidir (80). Hem fiziksel egzersiz hem de mental stres sırasında oluşan artmış myokardiyal kan ihtiyacı, epikardiyal koroner damarlardaki endotel bağımlı vazodilatasyon ile sağlanır (81-83). Diğer yandan tipik anjina pectorisi ve anjiyografik olarak normal epikardiyal koroner damar yapısına sahip vakalarda, mikrovasküler endotelial disfonksiyon gösterilmiştir (84-86). Zeiher ve arkadaşları, hemodinamik olarak ciddi koroner arter stenozuna sahip olmayan hastalarda, egzersizle indüklenen myokardiyal perfüzyon defektleri ile yetersiz koroner vazodilatasyon arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir (87). Sonuç olarak myokardiyal iskemi hem epikardiyal koroner arterlerin hemde koroner mikrovasküler yatağın endotelial disfonksiyonundan kaynaklanabilir.

Endotelial Disfonksiyon ve Akut Koroner Sendromlar:

Aterosklerotik hastalığın, klinik bulgularında gelişen akut komplikasyonlar önemli bir yer tutar. Endotel disfonksiyonu akut koroner sendromların patogenezinde önemli rol oynar (88). Aterosklerotik plağın ruptüre olmasına yol açan plak destabilizasyonu, enflamatuar prosesin hem plak içi hemde pro enflamatuar mediatör aracılığı ile olan etkisi ile gerçekleşir (89). Endotel disfonksiyonu oksidatif stres ile ilişkili olup, oksidatif stres enflamatuar prosesin en önemli tetikleyicisidir (90). NO, plak hassasiyetini arttıran birçok enflamatuar mediatörün ve adhezyon moleküllerinin endotel hücreleri yüzeyindeki ekspresyonunu azaltır (91,92). Bu etki esas olarak, birçok enflamatuar proteinin kontrolünü yapan transkripsiyon nükleer faktörün inhibisyonu ile olur (93,94). Anti enflamatuar etkilerinden dolayı, endotel disfonksiyonu plak destabilizasyonuna ve komplike olması yol açabilir. Endotel disfonksiyonu ile ilişkili fiziksel faktörler bir akut koroner sendromu tetikleyebilir. Anstabil anjina pectorisli hastalarda lezyon bölgesinde, metabolik veya sempatik stimülasyona vazokonstriksiyon ile cevap vermeye meyilli disfonksiyone bir endotelium bulunur (95). Endotel disfonksiyonu ile ilişkili vazokonstriksiyon, yukarıda sayılan sebeplerden dolayı plak ruptürüne ve akut koroner sendroma sebep olabilir. Normal sağlıklı endotel dokusu antitrombotik ortam oluşturur (antiagregan: NO ve prostasiklin; antikoagülan: heparin, protein C, protein S; fibrinolitik: doku plasminojen aktivatörü). Endotel disfonksiyonu sonucu, antikoagülan etki azalır ve prokoagülan mediatörlerde (Doku Faktörü, Plasminojen Aktivatör İnhibitör) rölatif olarak artma meydana gelir (96). Bu da vasküler yatakta tromboza yatkınlığı

arttırır. Endotel disfonksiyonu varlığında trombositlerden salınan mediatörlerin vazokonstrikyon yapma kapasiteleri artmaktadır (rölatif olarak vazodilatatörlerle dengelenemedikleri için). Ayrıca, disfonksiyone endotel varlığında Endotelin-1 gibi kuvvetli vazokonstriktörlere yanıt artar ki, yaygın ateroskleroza sahip hastalarda bunların düzeyleri ciddi bir şekilde artmıştır (97,98). Genel olarak bakıldığında endotel disfonksiyonu aterosklerotik plak hassasiyetini arttırır; plak rüptürünü tetikleyebilir; trombüs oluşumunu uygun ortam hazırlayabilir ve akut koroner sendromların gelişimindeki birçok tetik mekanizmada rol oynayabilir (99).

Endotelial Disfonksiyon ve Klinik Prognoz

Endotel disfonksiyonu ile koroner arter hastalığı ve risk faktörleri arasındaki ilişki birçok çalışmada aşık bir şekilde ortaya konmuştur (100). Bu ilişki göz önüne alındığında endotel disfonksiyonun aterosklerozun prognozunu da etkileyeceği belirgindir. Non-obstrüktif koroner arter hastalığı olan hastalarda yapılan bir çalışmada, ağır derecede koroner arter endotel disfonksiyonu artmış kardiovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkiliydi (100). Hafif koroner arter endotel disfonksiyonu olanlarda ise kardiovasküler morbidite ve mortalite artmamıştı (100). Bunun gibi diğer birçok çalışmadan ortaya çıkan sonuç, bozulmuş koroner arter endotel disfonksiyonunun koroner hadiselerin güçlü bir öngörücü olduğudur. Endotel disfonksiyonun sistemik tutulum gösterdiği göz önüne alındığında koroner arter dışındaki damarlardaki endotel disfonksiyonu prognoz belirteci olup olmadığını araştıran bir çalışmada, brakial arter vazodilatatör cevabı asetilkolin (endotel bağımlı) ve sodyum nitroprussid (endotel bağımsız) infüzyonu ile pletismografi ile değerlendirilmiş ve 4,5 yıllık takip süresi sonunda artmış kardiovasküler olay gelişen hastalarda azalmış brakial arter vazodilatatör cevabı gözlenmiştir (101). Bir başka çalışmada ise brakial arter endotel disfonksiyonu daha az invaziv ve son 10 yıldır endotel disfonksiyonun teşhisinde revaçta olan, Akımla Uyarılmış Vazodilatasyon (AUV) yöntemi ile incelendi. Sonlanım noktası olarak perkütan koroner girişim veya cerrahi revaskülarizasyonu içeren 5 yıllık takipte, artmış revaskülarizasyon ihtiyacı gösteren hastalarda AUV oranı azalmıştı (<%10) (101). Normal sürvi gösterenlerde ise AUV korunmuştu (>%10). Endotel disfonksiyonu tüm vasküler yatağı tutar. Brakial arter gibi aterosklerozun görülmediği arterlerde dahi endotel disfonksiyonun olması genel kardiyovasküler morbidite ve mortalitenin prognostik belirleyicilerinden bir tanesidir.

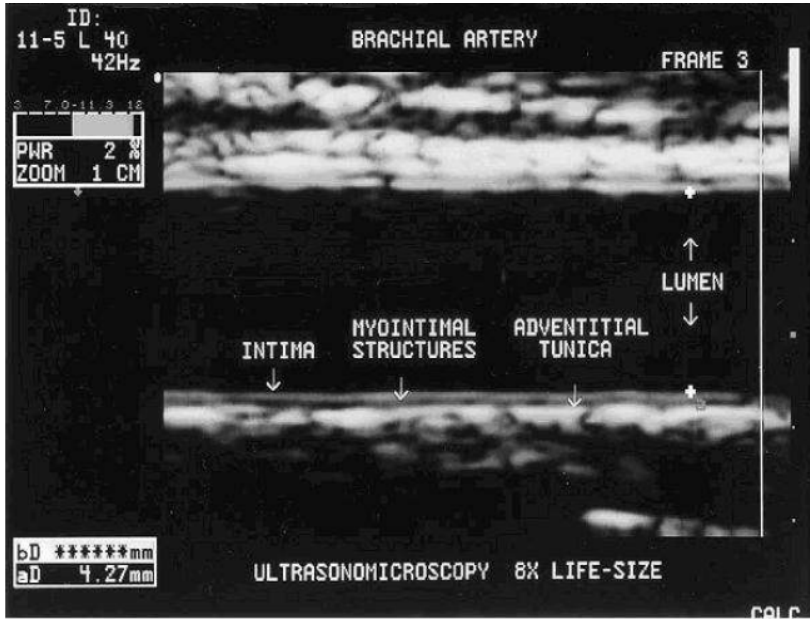
ENDOTELYAL DİSFONKSİYON TANI YÖNTEMLERİ

AKIMLA UYARILAN VAZODİLATASYON (AUV)

Damarların fiziksel ve kimyasal uyarılar sonucu vazomotor tonus değişiklikleri yapabilmeleri ve kan akımını ve dağılımını yerel özelliklere göre değiştirebilmeleri en önemli özelliklerinden bir tanesidir. Birçok kan damarı shear strese vazodilatasyonla yanıt verirler. Bu durum akımla uyarılan vazodilatasyon (AUV) olarak adlandırılır. AUV'un en etkin mediatörü endotel kaynaklı NO'tir. Endotel tarafından shear stresin algılanması ve arkasından gerçekleşen vazomotor tonus regülasyonunun mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Endotelial hücre membranı, shear strese maruz kalma durumunda aktive olan, kalsiyum ile tetiklenen potasyum kanalları içerirler (101-103). Potasyum kanallarının açılması sonucu endotel hücreleri hiperpolarize olur ve kalsiyumun hücre içine girmesi için gereken elektriksel güç oluşur. Hücre içine giren kalsiyum, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimini aktive ederek NO üretimini tetikler. NO'nun bilinen vazodilatör etkilerinden dolayı, AUV'dan NO'nun sorumlu olduğu düşünülmektedir (104,105). Endotelin dökülmesi veya soyulması veya NOS inhibitörü ile işlemden sonra birçok arterde AUV kaybolur. Genetik olarak eNOS aktivitesi ortadan kaldırılan farelerde, genede shear strese sonuç olarak bir miktar AUV gelişmektedir. Bu farelerde AUV'un prostanoidler aracılığı ile gerçekleştiği düşünülmektedir; çünkü indometazin ile AUV ortadan kaybolur (106). Birçok mekanizma, shear stres sonrası NO artışından sorumludur. Hiperakut değişiklikler, intrasellüler kalsiyumun artışı ile gerçekleşir. Aradan birkaç dakika geçtikten sonra shear stres tarafından tetiklenen mekanizmalar, serine/threonine protein kinaz üzerinden (Akt/PKB) eNOS'u fosforile ederek aktive eder ve hücre içinde düşük kalsiyum düzeyleri olması rağmen devamlı NO üretimi ve salınımı başlar (107,108). Saatler sonra ise shear stres devam ediyorsa eNOS geni transkripsiyonu aktive olur ve devamlı NO yapım ve salınımı sağlar.

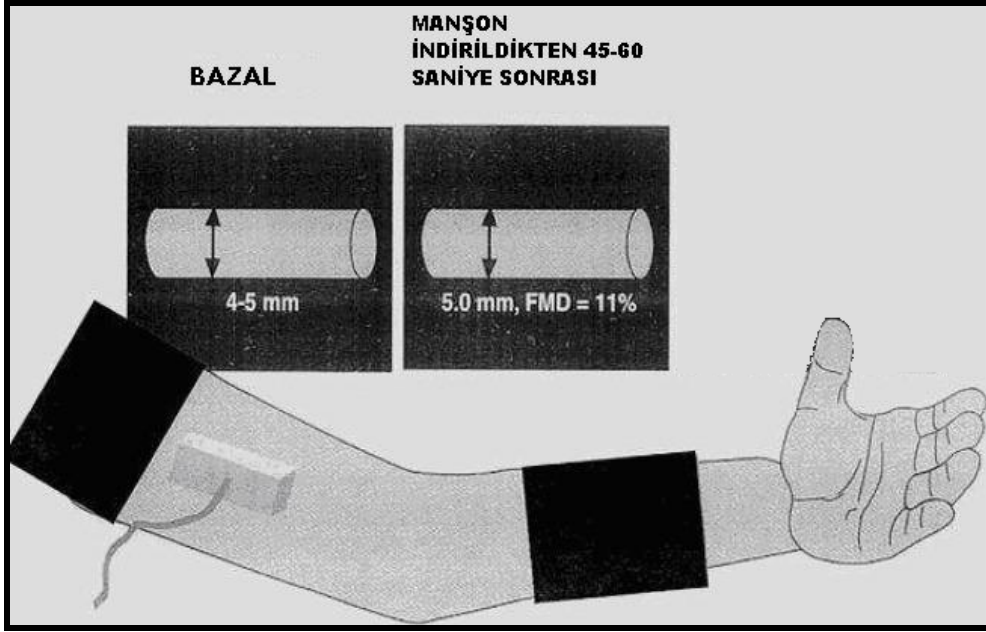
TEKNİK:

Birçok faktör akımla uyarılan vasküler reaktiviteyi etkilediğinden, işlemden önce belirli koşullar yerine getirilmiş olmalıdır. Hastalarda işlem 8-12 saatlik açlık döneminden sonra yapılmalıdır. Tüm vazoaktif ilaçlar kesilmiş olmalıdır. Menstrüel sıklusa da dikkat edilmesi gerekmektedir (109). Ultrasonik görüntüleme yüksek frekanslı (en az 7 MHz) lineer array transducer ile yapılmaz. Mutlaka EKG monitörizasyonu yapılmalıdır. Brakiyal arter, antekubital fossanın hemen yukarısında linear planda görüntülenir. Damarın hem anterior hemde posterior duvarlarının net olarak görülebilmesi lazımdır (Şekil 3).



Şekil 3. Longitudinal planda brakiyal arterin ultrasonik 2D görüntüsü¹¹⁰

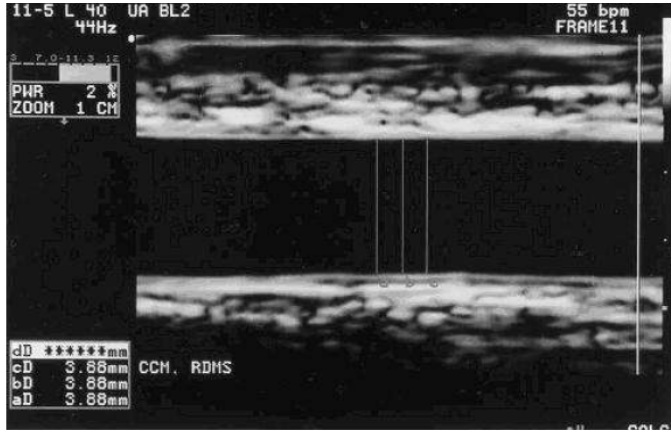
Brakiyal arterde akım uyarımı yaratabilmek için, bir sfignomanometer ya antekubital fossanın yukarısına ya da ön kola yerleştirilir. Bazal görüntüler alınır (hem 2D hemde PW Doppler ile arter lümeninin tam ortasından olacak ile bazal ileri akım hızı). Daha sonra sfignomanometer sistolik tansiyonun 50 mmHg üzerinde olacak şekilde şişirilir (Şekil 4). Böylece antegrad kan akımı kesilir ve iskemi yaratılmış olur. Bunun sonucu olarak daakımın kesildiği yerin distalindeki resistans arterlerde vazodilatasyon olur. Sfignomanometer indirildiğinde kan ani olarak dilate olmuş olan resistans damarlarından geçeceği için, brakiyal arterde reaktif hiperemi oluşur. Sfignomanometer indirildikten sonra, brakiyal arterin longitudinal planda 30. sn ve 2. dak'da 2D görüntüleri alınır. Arterin orta kısmından ise PW Doppler ileri akım hızı saptanır (sfignomanometer indirildikten en fazla 30 sn sonraya kadar) (Şekil 4).



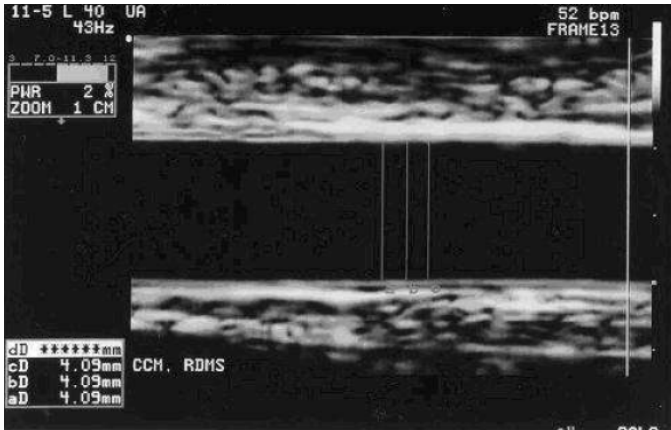
Şekil 4. Sfignomanometerin ve transducerin yerleştirilmesini gösteren şematik çizim.

Sfigmanometer şişirildikten sonra 5 dak şişik pozisyonda tutulur (Azami hiperemi 5 dakikada elde edilmektedir; 5 dakikadan daha fazla şişirmelerde anlamlı fark olmamaktadır). AUV için radial, aksiller veya süperfisyal arterler de kullanılabilir; fakat çapı 2,5 mm'den küçük arterlerde ölçüm işlemi zorlaşmakta, çapı 5 mm'den büyük arterlerde ise hiperemi ve vazaodilatasyon daha az belirgin olmaktadır (111-113). (Şekil-5)

A)



B)



Şekil 5. Brakiyal arterin ultrasonografik görüntüleri: A.) işlemden önce B.)

Hiperemik stimülattan 1 dakika sonra¹¹⁰

YORUMLAMA:

AUV, endotel bağımlı bir işlem olup; orta büyüklükteki musküler arterlerin shear strese maruz kalması sonucu meydana gelen hiperemiyi ölçmektedir. Bir çok çalışmada azami hiperemi ve relaksasyonun sfignomanometer indirildikten sonraki 45-60 saniyeler arası olduğu gösterilmiştir. Gelişen hiperemi bir NOS inhibitörü olan NG-monomethyl-L-arginine ile önlenabilir. Bu da AUV NO bağımlı bir mekanizma ile çalıştığını göstermektedir. Kardiyak kateterizasyon endikasyonu olmayan asemptomatik popülasyonun değerlendirilmesinde ümit verici bir yöntemdir. Yöntemin kişi bağımlı olması, biyolojik sirkadiyan ritim nedeniyle farklı günlerde %25 değişkenlik göstermesi, arter çapına göre kötü sinyal-gürültü oranına sahip olması yöntemin kısıtlılıklarıdır (114-116).

MATERYAL VE METOD (IV)

Bu çalışmaya Ocak 2008 ve Haziran 2008 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji polikliniğine başvuran, daha önce Tip 2 Diyabetes Mellitus tanısı konulmuş 40 hasta ve 10 kontrol grubu hastası bilgilendirilmiş onayı da alınarak dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan hastalar, öykü, fizik muayene, laboratuvar bulguları ile bir süredir Tip 2 Diyabetes Mellitus tanısı konmuş ve tedavi gören, 30 yaş üzeri kişilerdi.

Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

- ⇒ Glukokortikoid kullanımı
- ⇒ Karaciğer yetmezliği
- ⇒ Bilinen malignite varlığı
- ⇒ Gebelik
- ⇒ Tip 1 Diyabet
- ⇒ Çalışmaya uyum sağlayamayacak hasta
- ⇒ Daha önceden koroner revaskülarizasyon yapılmış olması
- ⇒ Karotis cerrahisi uygulanmış olması
- ⇒ Serebrovasküler hastalık geçirmiş olması

Tüm hastaların anamnez ve fizik muayeneleri tamamlandıktan sonra çeşitli demografik (yaş, cins, ırk) verileri kaydedildi. Tüm hastalardan 12 saatlik açlığı takiben, açlık plazma glukoza, Cystatin C düzeyi, lipit parametreleri, üre ve kreatinin seviyesi için 10 cc venöz kan örneği alındı. 24 saatlik idrarda mikroalbümin bakıldı. Cystatin C Elisa yöntemiyle çalışıldı. Sonuçlar ng/ml cinsinden verildi.

ULTRASONOGRAFİK GÖRÜNTÜLEME

Brakiyal Arter B-Mode ultrasonografi incelemeleri, Toshiba Aplio marka ultrasonografi cihazı ile 7-12 MHz lineer array transduser ile yapıldı. Bütün ultrasonografi incelemeleri aynı operatör tarafından yapıldı. Brakiyal arterde endotel disfonksiyonu bakılması amacıyla 'Akımla Uyarılan Vazodilatasyon (AUV)' tekniği kullanıldı. Teknik temel olarak Coretti ve arkadaşlarının yayınladığı kılavuz esas alınarak yapıldı (119). İşlem sessiz ve 21-23°C sıcaklığında bir ortamda 12 saatlik bir açlık periyodunu takiben yapıldı. İşlemden 12 saat önce alkollü veya kafeinli içeceklerin alımı yasaklandı. Hastalar sırt üstü rahat bir pozisyonda yatırıldı. Transdüser dirseğin 4-5 cm üzerinde sağ brakiyal arter trasesi üzerine konularak, arter trasesi boyunca tortüyozenin olmadığı ve en iyi görüntünün alındığı bölgede longitudinal olarak görüntülendi ve ultrasonografi aletinin büyütme ve odaklama özellikleri kullanılarak görüntü büyütüldü. Net görüntü almak için brakiyal arterin bulunduğu deriniğe göre transdüserin frekans ayarı yapıldı. Ölçüm yerini standardize etmek için, kursörün omuza bakacak şekilde yönlendirilerek brakiyal arterden uygun görüntü elde edildi. Transdüser uygun görüntünün elde edildiği yerde sabit şekilde tutularak, kursörün bulunduğu transdüser kenarının izdüşümü, cilt üzerine mürekkepli kalemle işaretlendi. Bu mürekkeple işaretli noktanın el orta parmağına uzaklığı ölçülerek kaydedildi. Brakiyal arter çapı (intimadan-intimaya) üç kez ölçüldü ve bu üç ölçümün ortalaması bazal çap olarak kaydedildi. Brakiyal arterden alınan bu ölçümler EKG monitörizasyonuna göre diyastol sonunda alındı. Çap ölçümünün yapıldığı brakiyal arter bölgesinden kan akım hızı (pulse Doppler ile) pik sistolde ölçülerek kaydedildi. Bazal brakiyal arter çapı ve akım hızı kaydedildikten sonra tansiyon aletinin manşonu kola bağlandı. Ortalama 250 mmHg basınçta şişirilerek 5 dakika boyunca bu şekilde tutuldu. Sonra manşon aniden indirildi ve transdüser daha önce kalemle işaretlenmiş cilt üzerine uygun şekilde yerleştirildi ve kan akım hızı 15 sn içinde ölçüldü (hiperemik cevap). Hiperemik cevap sonrası oluşan AUV'ü değerlendirmek için 90 sn süresince brakiyal arter görüntüsü alındı ve 60. sn'deki arter çapı (endotel bağımlı vazodilatatör yanıt = EBVY) kaydedildi. AUV bazal damar çapına (BÇ) göre % (yüzde) artış olarak ifade edildi. Kısaca endotele bağımlı dilatasyon " $AUV = [(BÇ - EBVY) / BÇ] \times 100$ " eşitliği ile hesaplandı. Ölçülen çaplar esas alınarak, brakiyal arter kesitsel alanları matematiksel olarak hesaplandı. Hesaplamalar manuel olarak tek bir operatör tarafından yapıldı. İntraobserver değişkenlik asgari düzeyde tutulmaya çalışıldı.

Endotel disfonksiyonunun tesbiti için yapılan AUV sonucunda elde edilen değerler Yaşa göre düzenlenmiş olan Coretti Klavuzu kullanılarak saptandı (Tablo 4).

Tablo-4 Akımla Uyarılmış Vazodiltasyon (AUV) Testinde farklı yaş gruplarında normal aralıklar

Brakiyal arter çapı (mm)	25 YAŞ		35 YAŞ		45 YAŞ	
	AUV %	95% C.I.	AUV %	95% C.I.	AUV %	95% C.I.
2	15.93	13.61 - 18.25	14.19	11.98 - 16.39	12.44	10.18 - 14.71
3	13.33	11.83 - 14.82	11.58	10.41 - 12.76	9.84	8.71 - 10.98
4	10.72	9.18 - 12.26	8.98	7.90 - 10.06	7.24	6.39 - 8.09
5	8.12	5.71 - 10.53	6.38	4.32 - 8.43	4.63	2.77 - 6.49

Brakiyal arter çapı (mm)	55 YAŞ		65 YAŞ		75 YAŞ	
	AUV %	95% C.I.	AUV %	95% C.I.	AUV %	95% C.I.
2	10.71	8.22 - 13.18	8.96	6.14 - 11.79	7.22	3.97 - 10.47
3	8.1	6.69 - 9.50	6.36	4.51 - 8.21	4.62	2.24 - 6.99
4	5.95	4.47 - 6.52	3.75	2.29 - 5.22	2.012	0.01 - 4.02
5	2.89	1.04 - 4.74	1.15	-0.89 - 3.19	-0.59	-2.98 - 1.79

DİYASTOLİK FONKSİYONLARIN EKOKARDİYOGRAFİK SINIFLANDIRILMASI

Normal sistolik fonksiyon, ejeksiyon fraksiyonunun %50'nin üzerinde olması ve sol ventrikül segmenter hareket bozukluğu izlenmemesi olarak tanımlandı.

Transmitral akımın PW incelemesinde E / A hız oranının > 1 olması, EDZ'nin 160-240 msn arasında olması, İVRZ'nin 60-105 msn arasında olması normal diyastolik patern olarak tanımlandı.

Diyastolik disfonksiyon 3 sınıfa ayrıldı. 55 yaş altı hastalarda E / A oranının < 1 , EDZ > 240 msn ve İVRZ > 100 msn olması; 55 yaş ve üstü hastalarda ise E / A < 0.8 , EDZ > 240 msn ve İVRZ > 105 msn olması uzamış relaksasyon paterni (evre 1 LVDD) olarak tanımlandı.

E / A oranının 1 ile 1.5 arasında, EDZ'nin 160-240 msn arasında ve İVRZ'nin 60-105 msn arasında olduğu hastalarda normal paternin, pseudonormal patern (evre 2 LVDD)'den ayrımı için pulmoner ven kayıtları ve PWDD kayıtları incelendi. Pseudonormal paterni destekleyici bulgular olarak; pulmoner ven akım kayıtlarında PVd / PVs > 1.5 olması, PVa dalga maximum hızının 35cm/sn'den fazla olması, pulmoner ven ters A dalgası süresinin transmitral A dalgası süresinden farkının 30 msn'den fazla olması veya mümkün olan hastalarda Valsalva manevrası ile E / A oranının < 1 'e dönmesi arandı. Ayrıca mitral anulusun septal komşuluğundan alınan Em (E') değerinin 8 'in altında olmasında sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu olarak değerlendirildi.

E / A oranının > 2.0 , EDZ < 160 msn, İVRZ < 70 msn, PVd / PVs > 1.5 , pulmoner ven ters A dalgası süresinin transmitral A dalgası süresinden farkının 30 msn'den fazla olması Restriktif patern (evre 3 LVDD) olarak tanımlandı.

İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında student t test, olgu sayısı yetersiz olan grupların değerlendirmesinde ise nonparametrik testlerden olan Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare test, Cystatin-C parametreleri için tanı tarama testleri (spesifite, sensitivite oranları + ve - kestirim değerleri) ve cut off noktası bulmada ROC analizi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

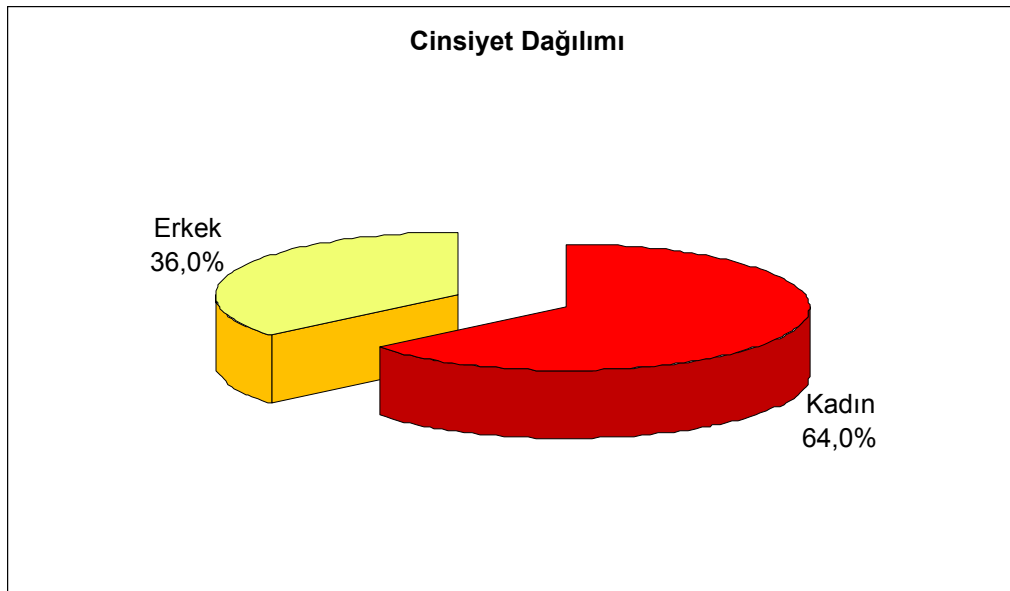
BULGULAR (V)

Çalışma Ocak 2008-Haziran 2008 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Kardiyoloji Servisinde yaşları 36 ile 77 arasında değişen 40 hasta 10 kontrol olmak üzere toplam 50 olgu üzerinde yapıldı. Hasta grubunun yaş ortalaması 54,2 kontrol grubunun yaş ortalaması ise 47,2 dir.

Tablo 5:Hasta grubunun demografik özelliklerin dağılımı

Yaş (yıl)	54,2±8,77
Cinsiyet (Kadın/ Erkek)	26 (%64) /14 (%36)
Sigara Kullanımı	14 (%35)
Hipertansiyon	30(%75)
Hiperlipidemi	19 (%48)
Aile Koroner Arter Hastalığı Hikayesi	13 (%32)

Olguların 32'si (%64) kadın; 18'i (% 36) erkektir.



Şekil 6: Cinsiyetlerin dağılım grafiği

Tablo 6A: Biyokimyasal ölçümlerin dağılımı(n=50)

	Min – Max	Ort±SD
Üre mg/dl	13 – 52	31,76±8,40
Kreatinin mg/dl	0,50 – 1,10	0,91±0,11
LDL mg/dl	71 – 218	126,30±32,58
HDL mg/dl	4,60 – 85	45,97±10,60
Total Kolesterol mg/dl	48 – 305	203,06±41,43
Trigliserid mg/dl	70 – 324	165,18±58,55
Açlık Kan Şekeri mg/dl	80 – 302	132,94±39,90
Tokluk Kan Şekeri mg/dl	92 – 466	193,34±78,03
Cystatin-c ng/ml	707 – 4544	1753,12±785,15

Tablo6B : Hasta ve kontrol grubu değerlendirmeleri

	Grup		†p
	Hasta (n=40) Ort+SD (medyan)	Kontrol (n=10) Ort+SD (medyan)	
Üre mg/dl	32,10 ± 9,18 (32)	30,40 ± 4,08 (31,5)	0,541
Kreatinin mg/dl	0,92 ± 0,11 (0,90)	0,85 ± 0,07 (0,90)	0,014*
LDL mg/dl	133,90 ± 31,28 (125)	95,90 ± 16,04 (93)	0,001**
HDL mg/dl	45,71 ± 11,75 (44,5)	47,00 ± 3,43 (46,5)	0,451
Total Kolesterol mg/dl	209,90 ± 42,89 (213)	175,70 ± 18,28 (181)	0,002**
Trigliserid mg/dl	165,72 ± 63,51 (154)	163,00 ± 34,33 (155)	0,762
Açlık Kan Şekeri mg/dl	144,20 ± 36,66 (139)	87,90 ± 5,25 (89)	0,001**
Tokluk Kan Şekeri mg/dl	213,85 ± 73,74 (194)	111,30 ± 15,47 (107)	0,001**

† : Mann Whitney U test

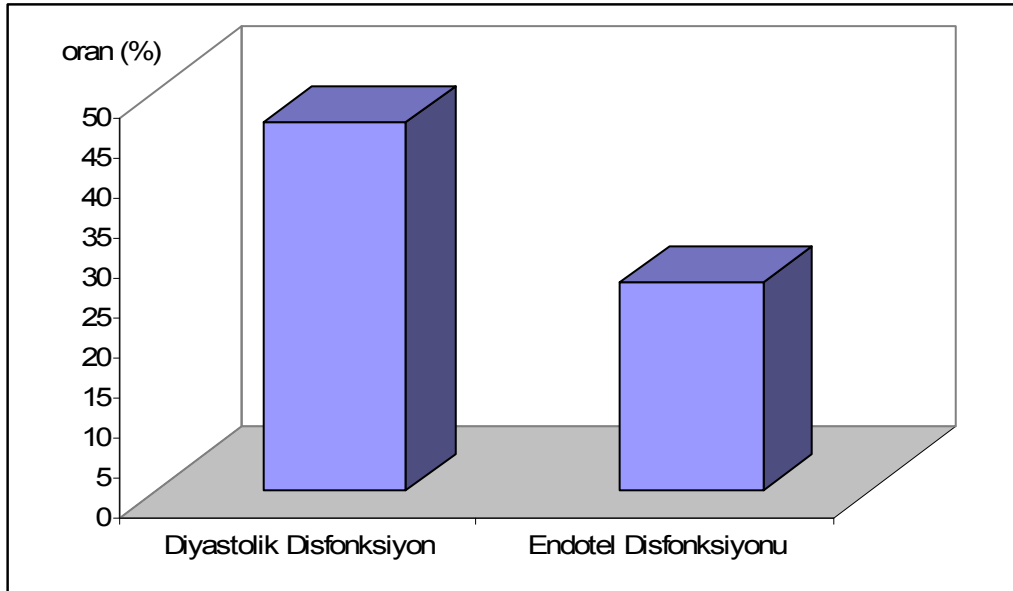
*p<0,05

** p<0.01

Tablo 7: Diyastolik disfonksiyon ve endotel disfonksiyon dağılımı (n=50)

		N	%
Diyastolik Disfonksiyon	Pozitif	23	46,0
	Negatif	27	54,0
Endotel Disfonksiyonu	Pozitif	13	26,0
	Negatif	37	74,0

Diyastolik disfonksiyon 23 (%46) olguda pozitif olarak saptanmıştır. Hastaların 21'inde (%91.3) Evre 1 Diyastolik disfonksiyon, Hastaların 2'sinde (%8.7) Evre 2 Diyastolik disfonksiyon saptandı. Endotel disfonksiyon ise 13 (%26) olguda pozitif bulunmuştur.



Şekil 7: Diyastolik disfonksiyon ve endotel disfonksiyon görülme oranları dağılımı

Tablo 8: Hasta ve kontrol grubu değerlendirmeleri

		Grup		p
		Hasta (n=40) n (%)	Kontrol (n=10) n (%)	
Diyastolik	Pozitif	21 (%52,5)	2 (%20,0)	0,065
Disfonksiyon	Negatif	19 (%47,5)	8 (%80,0)	
Endotel	Pozitif	12 (%30,0)	1 (%10,0)	0,197
Disfonksiyonu	Negatif	28 (%70,0)	9 (%90,0)	
		Ort+SD (medyan)	Ort+SD (medyan)	†p
Cystatin-C ng/ml		1916,07±792,71 (1621,5)	1101,30±207,87 (1132,0)	0,001

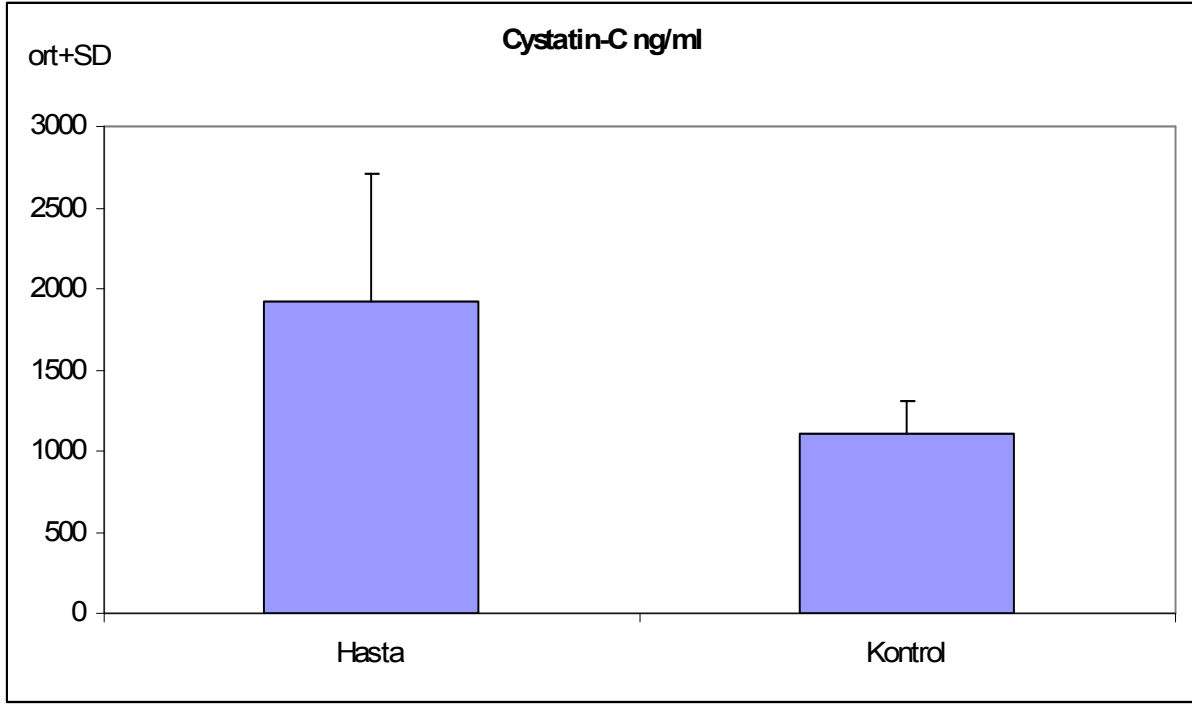
• : *Ki kare test*

† : *Mann Whitney U test*

p<0.01

Diyastolik disfonksiyon görülme oranı hasta grubunda daha yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). Endotel disfonksiyon oranları da hasta ve kontrol gruplarına göre anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Cystatin-C düzeyleri hasta grubu olgularda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksek olarak saptanmıştır ($p<0,01$).



Şekil 8: Cystatin –C düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Tablo 9: Hasta grubu olgularında diyastolik disfonksiyon durumuna göre değerlendirmeler (n=40)

	Diyastolik Disfonksiyon		p
	Pozitif (n=21)	Negatif (n=19)	
Cystatin-c ng/ml	1838,47±570,32	2001,84±992,63	0,522

• : student t test

Hasta grubu olgularında; diyastolik disfonksiyon görülen olgular ile görülmeyen olguların Cystatin C düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

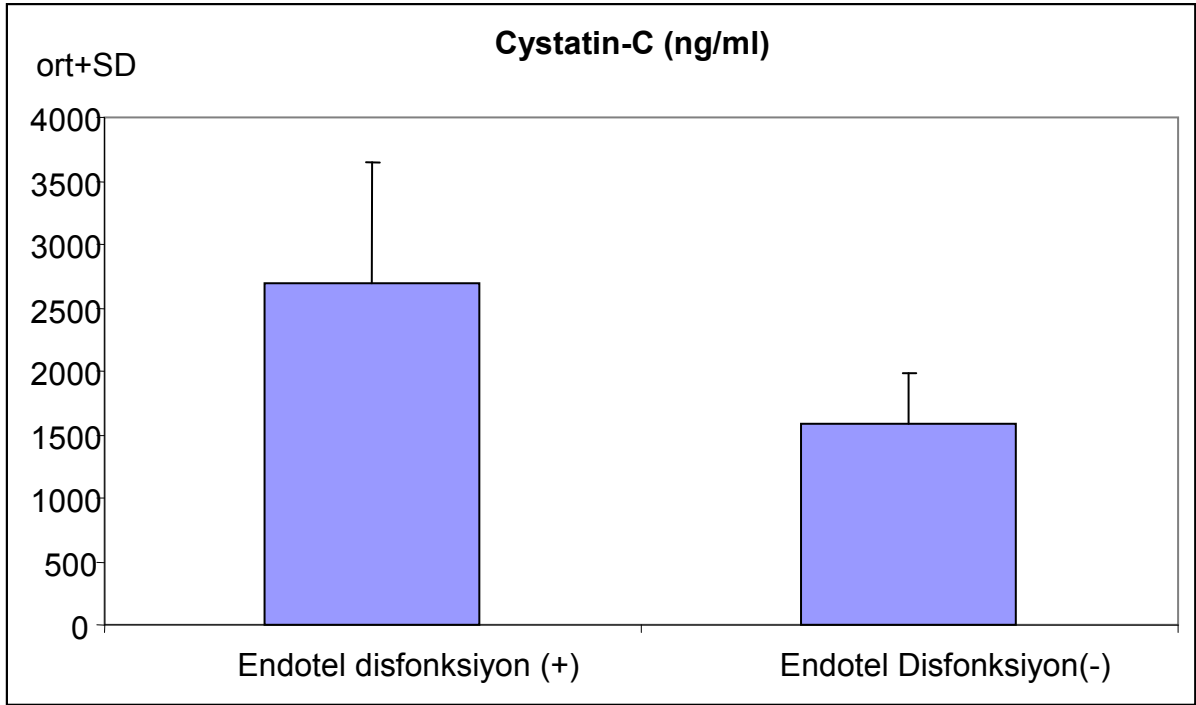
Tablo 10: Hasta grubu olgularında endotel disfonksiyon durumuna göre değerlendirmeler (n=40)

	Endotel Disfonksiyon		p
	Pozitif (n=12)	Negatif (n=28)	
Cystatin-c ng/ml	2692,16±952,10	1583,46±394,88	0,002**

• : student t test

** p<0.01

Hasta grubu olgularında; endotel disfonksiyon görülen olguların Cystatin-C düzeyleri, görülmeyen olgulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p<0,01).



Şekil 9: Cystatin-C düzeylerinin endotel disfonksiyon gruplarına göre dağılımı

Çalışma grubu olgularda Endotel disfonksiyon durumuna göre Cystatin-C düzeylerinin cut off değerini saptamak için ROC analizi yapıldı.

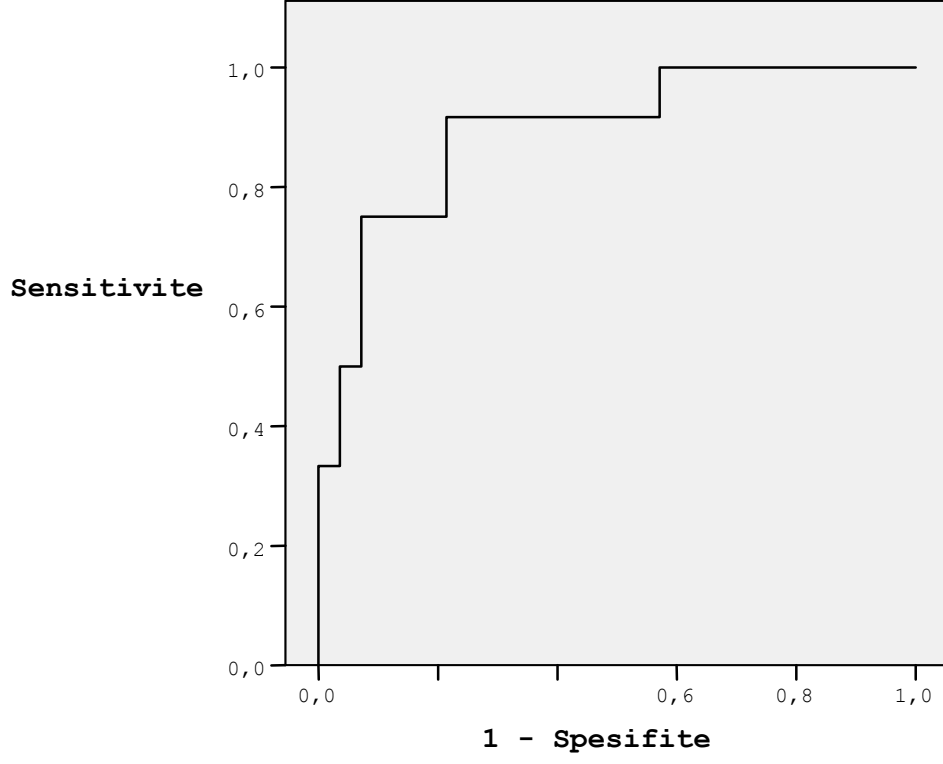
Tablo 11: Endotel disfonksiyon durumuna göre Cystatin-C düzeylerinin cut off değeri

Cystatin-C Değeri	Duyarlılık	Özgüllük	Pozitif kes.değ.	Negatif kes.değ.
>1500	91,67	42,86	40,74	92,31
>1588	91,67	57,14	47,83	94,12
>1600	91,67	64,29	52,38	94,74
>1694	91,67	71,43	57,89	95,24
>1834	91,67	78,57	64,71	95,65
>1907	75,00	78,57	60,00	88,00
>2026	75,00	89,29	75,00	89,29
>2300	75,00	92,86	81,82	89,66
>2388	58,33	92,86	77,78	83,87

Çalışma grubu olgularda Endotel disfonksiyon durumuna göre Cystatin-C düzeylerinin cut off değerini saptamak için yapılan ROC analizi sonucunda; 1834 noktası cut off noktası olarak saptandı. Bu noktada duyarlılık %91,67; özgüllük % 78,57; pozitif kestirim değeri % 64,71 ve negatif kestirim değeri ise % 95,65 olarak bulunmuştur.

ROC eğrisi altında kalan alan 0,893 olarak saptanmıştır (Olayı %89 oranında açıkladığını gösterir, ROC eğrisi altında kalan alan 1'e ne kadar yakın ise test o derecede anlamlıdır).

ROC Curve
Çalışma Grubunda



Şekil 10: Cystatin-C ROC eğrisi

Tablo 12: Hasta grubu olgularında, diyastol ve diyastolik disfonksiyon birlikte görülme ve görülme durumuna göre değerlendirmeler (n=23)

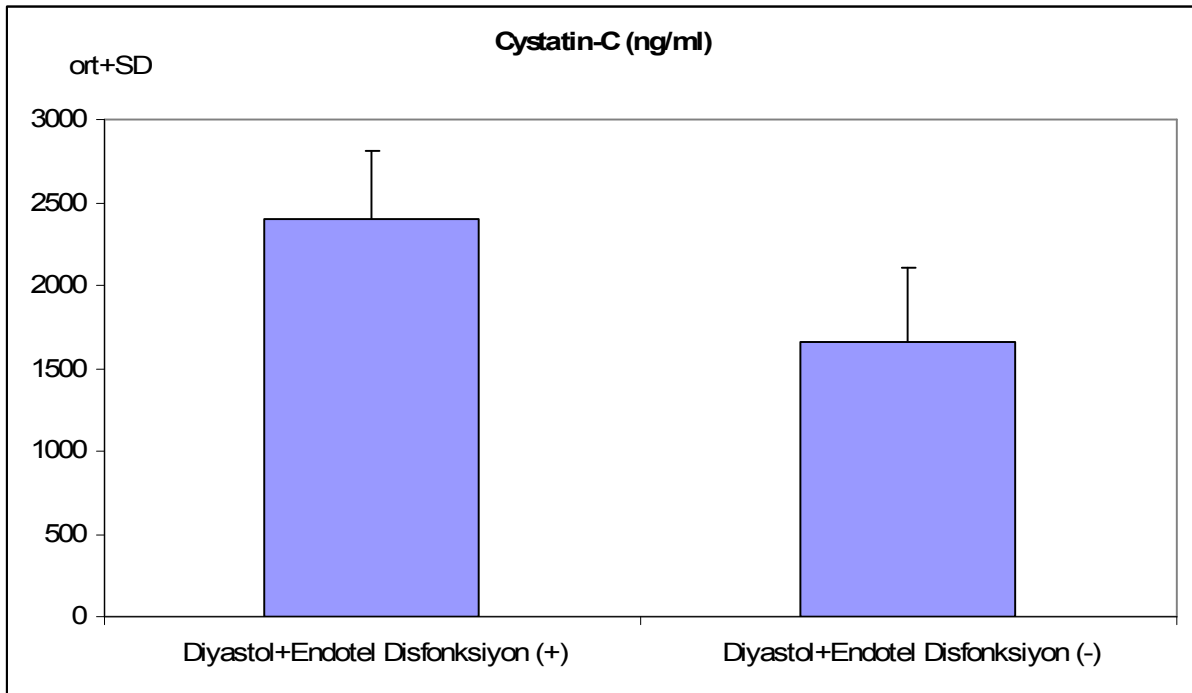
	Diyastol ve Endotel Disfonksiyon		p
	Pozitif (n=8) Ort+SD (medyan)	Negatif (n=15) Ort+SD (medyan)	
Cystatin-C (ng/ml)	2396,50±417,92 (2358,5)	1660,06±444,17 (1538,0)	0,004**

• : Mann Whitney U test

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

Hasta grubu olgularında; diyastol ve endotel disfonksiyon görülen olguların Cystatin-C düzeyleri, görülmeyen olgulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p < 0,01$).



Şekil 11: Cystatin-C düzeylerinin Diyastolik disfonksiyon ve endotel disfonksiyon gruplarına göre dağılımı

Tablo 13: Hasta grubu olgularında, endotel ve diyastolik disfonksiyon birlikte görülenler ile diğer hasta grubunun değerlendirilmesi (n=40)

	Diyastol ve Endotel Disfonksiyon		p
	Pozitif (n=8) Ort+SD (medyan)	Negatif (n=32) Ort+SD (medyan)	
Cystatin-C (ng/ml)	2396,50±417,92 (2385,5)	1795,96±822,59 (1539,0)	0,002**

• : Mann Whitney U test

* p<0.05

** p<0.01

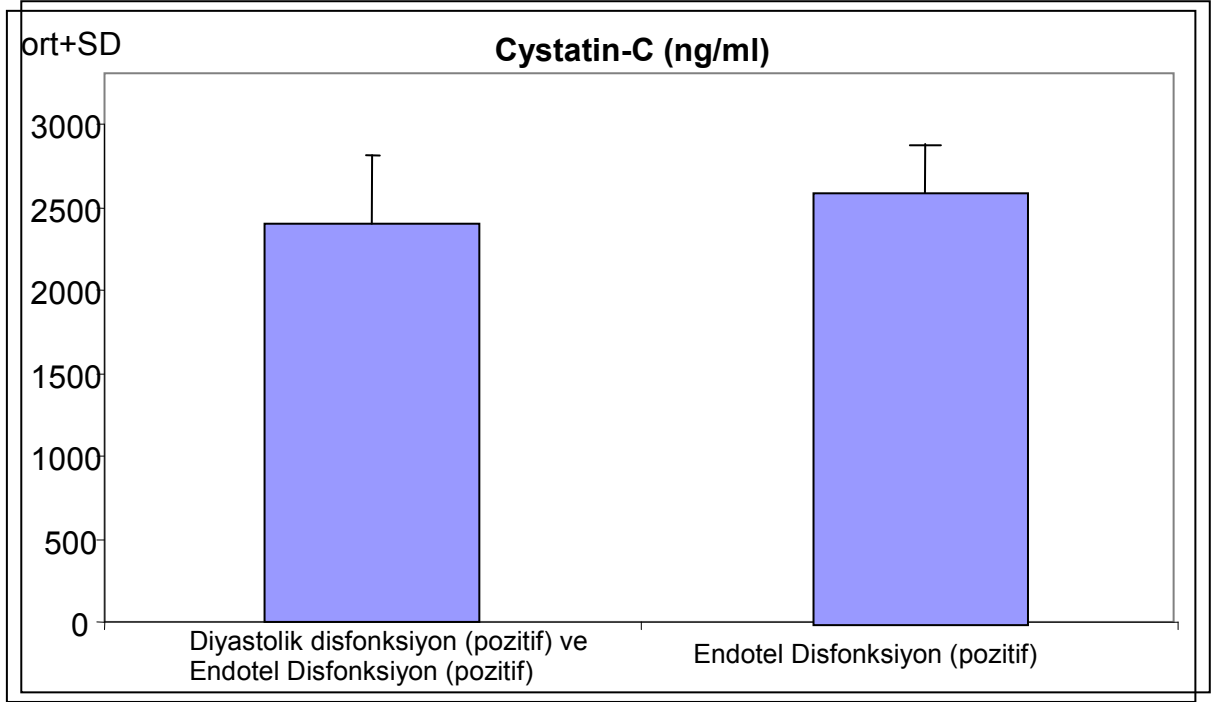
Hasta grubu olgularında; diyastolik disfonksiyon ve endotel disfonksiyon görülen olguların Cystatin-C düzeyleri, diğer hasta grubu olgulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p<0,01).

Tablo 14: Hasta grubu olgularında, endotel ve diyastolik disfonksiyon birlikte görülen ile sadece endotel disfonksiyonu olan gruba göre değerlendirmeler (n=40)

	Diyastolik disfonksiyon ve Endotel disfonksiyonu Pozitif (n=8) Ort+SD (medyan)	Endotel disfonksiyonu Pozitif (n=12) Ort+SD (medyan)	
Cystatin-C (ng/ml)	2396,50±417,92	2692,16±952,10	0,690

• : Mann Whitney U testi

Diyastol+endotel disfonksiyon görülen olguların Cystatin C düzeyleri, sadece endotel disfonksiyonu olgularından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmamıştır (p>0,05).



Şekil 12: Cystatin C düzeylerinin endotel disfonksiyon ve diyastolik disfonksiyonu pozitif olgular ile sadece endotel disfonksiyonu pozitif olan gruplarına göre dağılımı

TARTIŞMA (VI)

Diyabet metabolik olduğu kadar vasküler bir hastalıktır (117,118). Diyabet komplikasyonları nedeni ile olan hastaneye yatışların yüzde yetmiş beşi ateroskleroz kaynaklıdır ve Tip 2 diyabetiklerde başlıca ölüm nedeni kardiyovasküler komplikasyonlardır (119,120). Aterosklerozun hayatı tehdit eden sonuçlarından olan koroner arter hastalığı, diyabetteki en sık damar komplikasyonudur (121). Diyabetik hastalarda ağır koroner arter hastalığının görülmesinin nedeni aterosklerozun erken gelişmesidir (122). Prediyabetik hastalarda ateroskleroz hızlanmış ve koroner arter hastalığı riski artmıştır. Oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu sinerjik etki göstererek diyabette koroner arter hastalığı oluşumunu hızlandırmaktadır (117).

Koroner arter hastalığı nedeniyle ciddi morbidite ve mortalite arttırıcı etkisi yanında diyabetiklerde ateroskleroz ekstrakraniyal karotis dallarını ve alt ekstremitte arterlerini de tutar. Diyabetin varlığı aynı zamanda serebrovasküler hastalık riskini ve perifer arter hastalığı riskini de belirgin olarak arttırır ki bunlar koroner arter hastalığı ile yakın ilişkilidir (118). Bu sebeple diyabetik hastalarda aterosklerozun erken tanısı ve tedavisi mortalite ve morbidite açısından büyük önem taşımaktadır.

Daha önce yapılan bir çalışmada kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda artmış serum Cystatin c seviyeleri ile artmış kardiyovasküler mortalite ve morbidite arasında bir ilişki tespit edilmiştir (123).

Diyabetik hastalarda erken dönemde henüz nefropati başlamadan önce endotel disfonksiyonun ve kardiyak etkilenmenin göstergesi olan diyastolik disfonksiyonun oluştuğunu gösterebilmek amacı ile mikroalbuminüri olmayan hastalarda serum Cystatin C seviyesi ile birlikte endotel disfonksiyonunu ve diyastolik disfonksiyon varlığını araştırılması daha anlamlı olacağından çalışmaya mikroalbuminüri olmayan Tip 2 Diyabetik hastaları almayı planladık.

Endotel disfonksiyonunun sistemik tutulum gösterdiği göz önüne alındığında koroner arter dışındaki damarlardaki endotel disfonksiyonu prognoz belirteci olup olmadığını araştıran bir çalışmada, brakial arter vazodilatör cevabı asetilkolin (endotel bağımlı) ve sodyum nitroprussid (endotel bağımsız) infüzyonu ile pletismografi ile değerlendirilmiş ve 4,5 yıllık takip süresi sonunda artmış kardiyovasküler olay gelişen hastalarda azalmış brakial arter vazodilatör cevabı gözlenmiştir (101). Bir başka çalışmada ise brakial arter endotel disfonksiyonu daha az invaziv ve son 10 yıldır endotel disfonksiyonun teşhisinde revaçta olan, Akımla Uyarılmış Vazodilatasyon (AUV) yöntemi ile incelenmiş, sonlanım noktası

olarak perkütan koroner girişim veya cerrahi revaskülarizasyonu içeren 5 yıllık takipte, artmış revaskülarizasyon ihtiyacı gösteren hastalarda AUV oranı azalmış saptanmış (<%10) (101). Normal sürvi gösterenlerde ise AUV korunmuştu (>%10). Endotel disfonksiyonu tüm vasküler yatağı tutar. Brakiyal arter gibi aterosklerozun görülmediği arterlerde dahi endotel disfonksiyonun olması genel kardiyovasküler morbidite ve mortalitenin prognostik belirleyicilerinden bir tanesidir.

Endotel fonksiyonundaki bozulmanın koroner atherosklerozun prevalansı ile ilişkisi vardır (124). KAH'ın birçok risk faktörü, muhtemelen artmış oksidatif stres sebebiyle, endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir (125). Frick ve ark.'nın çalışmasında bildirdikleri; brakial arterin yapısının koroner arter yapısı ile benzer olduğu ve bu benzerliğin KAH'ın Endotel Bağımlı Vazodilatör Yanıt (EBVY) ile ilişkisinin daha belirgin olduğu sonucu ile uyumluydu (126). Bu atheroskleroz oluşumunun koroner arterler dışında diğer büyük arterleri de etkilemesine bağlı olabilir. Sonuçta, konvansiyonel KAH risk faktörlerine ek olarak invazif olmayan endotel fonksiyonu incelemesi KAH riski olan hastalarda yardımcı olabilir. Brakiyal arterden invaziv olmayan yöntemle saptadığımız endotel disfonksiyonlu hastalardaki Cystatin C yüksekliği koroner arter hastalığı açısından asemptomatik hastalarda bir öngördürücü olduğunu düşünüyoruz.

Heitzer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada endotel disfonksiyonu ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişkiyi aşikar bir biçimde ortaya koymuşlardır. Non-obstrüktif koroner arter hastalığı olan hastalarda yapılan bu çalışmada, ağır derecedeki endotel disfonksiyonun artmış kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Endotel disfonksiyonu hafif olanlarda ise kardiyovasküler morbidite ve mortalitenin artmadığı görülmüştür. Endotel disfonksiyonun derecesinin atherosklerozun prognozunu etkileyeceği ortadadır. Brakiyal arterden AUV yöntemi kullanılarak endotel disfonksiyonun erkenden saptanması mümkündür. Sonuç olarak koroner arter hastalığının erken habercisi olan brakiyal arter endotel disfonksiyonunun Cystatin C gibi serum markırı ile saptanabilmesi asemptomatik hastaların belirlenmesi için kolay uygulanabilen ve ucuz bir yöntem olarak kullanılabilir (100).

Periferik arter hastalığı yaygındır ancak sıklıkla tanısı atlanmaz, periferik arter hastalığı şüphesini doğuracak bir biyomarkör indeksi oluşturulursa hastalara uygun zamanda vasküler testler ve tedavi yaklaşımları planlanabilecektir. Beta 2 mikroglobülin ve Cystatin C nin Ankle brakiyal indeksle en yüksek korelasyonu göstermiştir ve bunlar konvansiyonel risk faktörü olan yaş, diyabet ve sigara içmeden daha yüksek oranda ilişkili bulunmuştur. Sonuçta Beta 2 mikroglobülin, Cystatin C, hsCRP ve glikozdan oluşan bir biyomarkör paneli periferik arter hastalığı riskini saptama açısından değerlidir (127). Diyabetin koroner arter hastalığı eşdeğeri olarak kabul edildiğinden koroner arter hastalığı henüz saptanmamış olan diyabetik olgularımızın endotel disfonksiyonu saptanmış olan grubunda serum Cystatin C düzeyinin yüksek çıkması; periferik arter hastalığında olduğu gibi koroner arter hastalığında da risk saptamada bir markör olarak kullanılabilir.

Diyabet aşikar aterosklerotik hastalık yokluğunda bile kardiyak yapı ve fonksiyonlarda değişiklikler oluşturabilir. Sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu diyabetik kardiyomyopatinin en erken prelinik belirtisidir. Bunu sistolik disfonksiyon ve olası septomatik kalp yetmezliği gelişimi izleyebilir (128). Raev ve arkadaşları kardiyovasküler hastalığı olmayan Tip 1 Diyabetik genç hastalarda diyastolik fonksiyonlarda değişiklikler olduğunu saptamışlardır, bu değişikliklerin diyabetik kardiyomyopatinin en erken bulgusu olabileceğini öne sürmüşlerdir (129). Çünkü diyastolik anomaliler Tip 1 Diyabet başladıktan 8 yıl sonra ortaya çıkmaktadır (130). Bizim yaptığımız çalışmada diyastolik disfonksiyonu olan hasta grubunun Cystatin C seviyesi olmayan hasta grubuna oranla anlamlı olarak yüksek bulunmamıştır.

Diyabette, oksidatif stres, protein glikolizasyonu ve obezite nedeni ile devam eden düşük dereceli bir enflamasyon mevcuttur, (119) ve bu ateroskleroza kolaylaştırır. Endotel hasarı sonucunda da trombosit ve lökositleri çeken adhezyon proteinleri açığa çıkar ve enflamasyon daha da artar. HsCRP düzeyleri obezite ve diyabette artar, hsCRP vasküler risk göstergesi olarak ortaya çıkmaktadır (131). Physician's Health Study çalışmasında CRP ilk miyokard enfarktüsünü öngören en iyi parametre olmuştur, (119) aynı zamanda kararsız koroner arter hastalığında uzun dönem mortaliteyi öngörür ve inme riski ile de ilişkilidir. Enflamatuar göstergeler görüldüğü kadarıyla kardiyovasküler riski insülin direnci göstergesi olan diğer metabolik bozukluklardan bağımsız olarak artırır (121).

PRIME çalışmasında; Koroner arter hastalığı olmayan 50-59 yaş arası 758 erkek hasta prospektif olarak 5 yıl izlenmiştir. Bunların 313'ünde Myokard enfarktüsü, koroner ölüm veya anjina pectoris ortaya çıkmıştır. Myokard enfarktüsü ile serum Cystatin C arasında ilişki araştırılmış, Cystatin C'nin aterosklerotik süreçteki inflamatuvar fenomende yer aldığını göstermişlerdir. Öte yandan Cystatin C'nin koroner arter hastalığı bakımından CRP ve İL-

6'dan daha güçlü bir risk markırı olmadığını saptamışlardır (132). Bizim çalışmamızın sonuçları da endotel disfonksiyonu veya endotal disfonksiyonu ile birlikte diyastolik disfonksiyonu olan tip 2 diyabetik olgularda Cystatin C düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek çıkmıştır. Tip 2 Diyabetik hastalarda koroner arter hastalığına gidişin bir göstergesi olarak Cystatin C'nin kullanılabilceğini düşünmekteyiz.

İnflamasyon aterosklerotik sendromların önemli bir komponentidir. İmmünite ve inflamasyondaki olası rolü nedeni ile Cystatin C periferik arter hastalığı ile veya vasküler yapı değişiklikleri ile ilişkisi vasküler inflamasyonda rol alabilir. Aterosklerozlu hastalarda inflamatuvar düzenleyici olan C-reaktif peptit artmıştır ve bu madde periferik arter hastalığı gelişimi açısından prediktif değere sahiptir. Vasküler hastalığın diğer biyomarkırları IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler, ICAM-1, VICAM-1 ve E-selektin gibi solübil adhezyon molekülleridir. Alternatif olarak Cystatin C damar duvarında amiloid oluşumuna katkıda bulunarak damarları hasara uğrattırıyor olabilir (133). Diyabetik hasta grubu ateroskleroz için yüksek risk altında olan bir grup olarak kabul edildiğinden ve bizim yapmış olduğumuz çalışmada periferik arter hastalarında olduğu gibi endotel ve diyastolik disfonksiyonu olan olgularda serum Cysatatin C düzeyi anlamlı olarak daha yüksek saptandığından, diyabetik hastalarda Cysatatin C'nin hsCRP gibi bir inflamatuvar markır olarak kullanılabilceğini düşünüyoruz.

Hiperglisemik doku hasarının mekanizmalarından biri de proteinlerin ve lipoproteinlerin yapılarının bozularak ileri glikasyon ürünlerinin (AGE: Advanced Glycation End Product) oluşmasıdır (8). AGE etkilerinin en iyi örneklerinden biri uzun süreli kan şekeri eğilimini görmek için de kullanılan glikolize hemoglobindir, Glikolize LDL bir diğer örnek olabilir (9). AGE oluşumu geri dönüşsüz bir olay olduğundan bu ürünler yaşla birlikte birikir ve diyabet bu birikimi hızlandırır (134). Sonuçta diyabet komplikasyonları intraselüler glikoz nedeni ile proteinlerin kovalent modifikasyonu ve çapraz bağlanması sonucu yaşlanmanın hızlanması ile hücre fonksiyonlarının bozulması biçiminde ortaya çıkar (8).

Endotel hücrelerinde AGE bağlanması ile trombomodülin, doku faktörü ve vasküler adhezyon molekülü-1 gibi pıhtılaşma ve enflamasyonu kolaylaştıran proteinler artar. Endoteldeki AGE reseptörlerine ligand bağlanması ile vasküler endotel büyüme faktörü artar bu diyabetteki arter duvar esnekliğinin azalması ve kapiller geçirgenlik artışına katkıda bulunur (135). Aynı zamanda bir AGE ürünü olan Cystatin C nin bahsedilen patofizyolojik süreç nedeniyle erken vasküler etkilenmeyi göstereceğini düşünmekteyiz

Joachim ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada yüksek Cystatin-C konsantrasyonları kalp yetmezliği olmayan ve koroner arter hastalığı olan hastalarda, sol

ventrikül hipertrofisi ve sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (136). Diyastolik disfonksiyonun varlığının ileride oluşabilecek diyastolik kalp yetmezliği açısından bir prediktör olduğu göz önüne alındığında, yüksek Cystatin C konsantrasyonlarının sistolik kalp yetmezliğine kıyasla diyastolik kalp yetmezliği gelişimi açısından daha iyi bir gösterdiği sonucuna varmışlardır. Bu çalışma serum kreatinine kıyasla Cystatin C'nin daha iyi bir kalp yetmezliği göstergesi olduğu saptanmıştır.

W.H.Wilson ve ark. tarafından sistolik disfonksiyonu ($EF \leq \%35$) olan hastalarda yapmış oldukları benzer bir çalışmada plazma Cystatin c seviyeleri daha ciddi diyastolik disfonksiyon ve sağ ventrikül sistolik disfonksiyonu ve daha kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (137).

Bizim yaptığımız çalışmada diyastolik disfonksiyonu olan Tip 2 DM lu hastalarla kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptamadık ($p:0.522$). Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak kesinleştirilmiş koroner arter hastalığı ,sistolik disfonksiyon,kalp yetersizliği veya bu durumu düşündürecek semptom ve bulguları olmayan diyabetik hastalar alınmıştır. Hedef popülasyonun önceki çalışmalara göre belirgin daha düşük kardiyovasküler riskli hastalardan oluşması bu farkı belirsiz hale getirmiş olabilir. Bizim düşüncemiz örneklem grubunun daha geniş tutulması durumunda bu farkın oluşabileceği yönündedir.

Çalışmanın kısıtlılıkları:

FMD testi noninvaziv bir test olarak koroner arter hastalığı ile kesin bir korelasyon gösterir.Fakat hasta, teknik işlem ve uygulayıcıya bağlı olarak sonuçların etkilenmesi nedeniyle altın standart olmaktan yoksundur.Buda FMD nin klinik takip amacıyla yaygın kullanımını engellemektedir(138)

SONUÇ (VII)

Tip 2 Diyabet koroner arter hastalığı eşdeğeri olan metabolik bir hastalıktır. Aynı zamanda beraberinde periferik arter hastalığı, karotis arter hastalığı ve serebrovasküler hastalık sık görülmekte ve çoğunlukla asemptomatik seyretmektedir. Aterosklerozda düşük dereceli bir enflamatuvar durumun olduğu bilinmektedir. Diyastolik disfonksiyon diyabette kardiyak etkilenmenin en erken bulgusudur. Brakiyal arterden Akımla Uyarılmış Vazodilatasyon testi ile endotel disfonksiyonun saptanması önemli bir non invaziv tarama testi olarak kabul görmektedir. Bu çalışmada endotel disfonksiyonu veya endotel disfonksiyonu ile birlikte diyastolik disfonksiyonu olan tip 2 diyabetik hastalarda serum Cystatin C düzeyi anlamlı olarak yüksek saptadık. Cystatin c nin düşük dereceli enfalamatuvar bir durum olan koroner arter hastalığı açısından, asemptomatik tip 2 diyabetik hastalarda hsCRP gibi öngördürücü bir markır olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz

KAYNAKLAR (IX)

1. Powers AC. Diabetes Mellitus. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. USA: McGraw Hill, 2005; 2152- 80.
2. Warram JH, Krolewski WC. Epidemiology of diabetes mellitus. In: Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ, editors. Joslin's diabetes mellitus. 14th ed. Boston: Lippincott Williams&Wilkins, 2005; 341-54.
3. Shaw J, Zimmet P. Epidemiology of type 2 diabetes: an increasing problem, also in dialysis units. In: Mogensen CE editor. Diabetic nephropathy in type 2 diabetes. London: Science Press, 2002; 21- 30.
4. Rug V, editor. Diabetes and kidney disease: Time to Act. Belgium: International Diabetes Federation, 2003.
5. Suzan DJMK, Ale A, Maarten SL, et al. Reproducibility of In Vivo Carotid Intima-Media Thickness Measurements Stroke 1997; 28: 665-671.
6. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. N Engl J Med 1987; 316: 1371-1375.
7. Ewy GA, Appleton CP, DeMaria AN, et al. ACC/AHA guidelines for the clinical application of echocardiography. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Assessment of Diagnostic and Therapeutic Cardiovascular Procedures. J Am Coll Cardiol 1990; 16: 1505-28.
8. Sheetz MJ, King GL: Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects diabetic complications. JAMA 2002; 288: 2579-2588.
9. Nathan DM: The pathophysiology of diabetic complications: how much does the glucose hypothesis explain? Ann Intern Med 1996; 124 (1 Pt 2): 86-89.
10. Grubb A : Diagnostic value of analysis of Cystatin C and proprotein HC in biological fluids. Clin Nephrol 1992;38:20-7
11. Altuntaş Y. Diyabetes mellitus'un tanımı, tanısı ve sınıflaması. In: Yenigün M, Altuntaş Y, editörler. Her yönüyle diyabetes mellitus. 2inci baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi, 2001;51- 62.

12. Bennett PH, Krowler WC. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis. In: Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ, editors. Joslin's diabetes mellitus. 14th ed. Boston: Lippincott Williams & Wilkins, 2005; 331-40.
13. Satman İ. Diyabetes mellitus'un epidemiyolojisi. In: Yenigün M, Altuntaş Y, editörler. Her yönüyle diyabetes mellitus. 2inci baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi, 2001; 69- 84.
14. Jeppsson J-O, Kobold U, Ban J, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 78-89.
15. Kyshe-Andersen J.S, Schimidt L, Nordin G, Andersson B, Nillson-Ehle P, Lindstrom V, Grubb A: Serum Cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. Clin Chem 1994;40:1921-6
16. Laterza O.F, Price C.P, Scott M.G. Cystatin C : an improved estimator of glomerular filtration rate ? Clin Chem 48:5 699-707
17. Randers E, Krue S, Erlandsen E.J, et al. serum Cystatin C as an endogen marker of renal functions – a review. Clin Chem Lab Med 1999;37(4):389-395
18. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, et al. Serum Cystatin C measured by automated immunoassay : a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. Kidney Int.1995;47(1):312-8
19. Newman D : More on Cystatin C. Clin Chem 1999 may;45(5):718-9
20. Obervaber R, Nenov V, Wedekam C, et al. Reduction in mean glomerular pore size coincides with the development of large shunt pores in patients with diabetic nephropathy. Exp Nephrol 2001;9(1):449-5
21. Mussab M, Ruzzante N, varognolo M, Plebani M. Quantitative automated particle-enhanced immunonephelometric assay for the routine measurement of human Cystatin C. Clin Chem Lab Med 1998 Nov;36(11):859-65
22. Bokenkamp A, Domantezki M, Zinck R, Schumann G: Cystatin C, serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipient. Clin Chem.1999 oct;45(10):1866-8
23. Nilson-Ehle P, Grubb A: New Markers for the determination of GFR : Iohexol clearance and Cystatin C serum concentration. Kidney Int.Suppl.1994;47:17-3
24. Foster DW. Diabetes Mellitus. Harrison's Principles of Internal Medicine. 1994;s:1979-2000
25. Ekiel I, Abrahamson M: Folding-related dimerization of human Cystatin C. J Biol

Chem 1996;271(3):1314-8

26. Palsdottir A, Abrahamson M, Thorsteinsson L, et al. Mutation in Cystatin C gene causes hereditary brain hemorrhage. *Lancet* 1988;603
27. Kyshe-Andersen J, Schimidt C, Nordin G, et al. Serum Cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1994;40:1921-6
28. Goldstein BJ, Müller-Wieland D. *Textbook of Type 2 Diabetes* 2003 Türkçesi Martin Dunitz Company
29. Yashura O, Hanai K, Ohkubo I, et al. Expression of Cystatin C in rat, monkey and human brains. *Brain research*;1993(6):85-8
30. Ayatse JO, Kwan JT. Relative sensitivity of serum and retinol binding protein and alfa-1 microglobulin in assessment of renal function. *Ann Clin Biochem* 1991;28:514-6
31. Coll E, Botey A, Alvarez L, et al. Serum Cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *American Journal of Kidney Diseases*. Vol 36, No:1(july) 2000:pp 29-34
32. Risch L, Blumberg A, Huber AR. Assessment of renal functions in renal transplant patients using Cystatin C. A comparison to other renal functions markers and estimates. *Renal Failure* 2001 23(3ve 4) 439-448
33. Swan SK. The search continues-an ideal marker of GFR. *Clin Chem* 43 No:6, 1997
34. Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of Cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Invest* ! 985;45:97-101
35. Mares J, Stejskal D, Vavrovskova J, et al. Use of Cystatin C determination in clinical diagnostics. *Biomed Pub Fac Med Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2003 Dec;147(2):177-80
36. Stickle D, Cole B, Hock K, et al. Correlation of plasma concentrations of Cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem* 1998;44:6 1334-8
37. Hariharan S, Kasiske B, Matas A, et al. Surrogate markers for long-term renal allograft survival. *Am J transplant* 2004 jul;4(7):1179-83
38. Liu X, Zeng B, Xu J. Alteration of Cystatin C in cerebrospinal fluid of patients with sciatica revealed by proteomical approach. *Saudi Med J* 2005 Nov 26(11):1699-704
39. Jovanovic D, Krstivojevic P, obradovic I, et al. Cystatin C as a measure of glomerular filtration in patients with kidney transplants. *Srp Arh Celok Lek* 2003 40. Herget-Rosenthal S, 40.Pietruck F, Volbracht L, et al. Serum Cystatin C a superior marker of rapidly reduced

glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *Clin Nephrol* 2005 Jul;64(1):41-6

41. Ahlstrom A, Tallgren M, Peltanen S, Pettila V. Evaluation and predictive power of serum cystatin C in acute renal failure. *Clin Nephrol* 2004 Nov;62(5):344-50

May-Jun; 131(5-6):211-4 Serbian

42. Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR. *Williams Textbook of Endocrinology* 9th edition WB. Saunders Company

43. Nagai A, Ryv JK, Terashima M, Tanigawa Y, et al. Neuronal cell death induced by Cystatin C in vivo and in cultured human CNS neurons is inhibited with cathepsin B.

Brain Res 2005 Dec 20;1066(1-2):120-8

44. Seliger SL, Longstrth WT jr, Katz R, et al. Cystatin C and subclinical brain infarction. *J Am Soc Nephrol* 2005 Dec;16(12):3721-7

45. Nilsson M, Wang X, Rodziewicz-Motowidlo S, et al. Prevention of domain swapping inhibits dimerization and amyloid fibril formation of Cystatin C : use of engineered disulfide bridges, antibodies and carboxymethylpapain to stabilize the monomeric form of Cystatin C. *J Biol Chem* 2004 Jun 4;279(23):24236-45

46. Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rathenbacher D. Plasma Concentrations of Cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events : more than simply a marker of glomerular filtration rate. *Clin Chem*. 2005 Feb;51(12):321-7

47. O'hare AM, Newman AB, Katz R, et al. Cystatin C and incipient peripheral arterial disease events in the elderly : results from the health study. *Arch Intern Med* 2005 Dec 12-26;165(22):2266-70

48. Sarnak Mj, Katz R, Stehman-Breen CO, et al. Cystatin C concentration as a risk factor for heart failure in older adults. *Ann Intern Med* 2005;142:497-505

49. Cimerman N, Brguljan PM, Krasevec M, et al. Serum Cystatin C, a potent inhibitor of cysteine proteinases, is elevated in asthmatic patients. *Clin Chim Acta* 2000 Oct;300(1-2) 83-13

50. Takeyabu K, Betsuyaku T, Nishimura M, et al. Cysteine proteinases and Cystatin C in with subclinical emphysema. *Eur Respir J*. 1998 Nov;12(5):1033-9

51. Kopitz C, Anton M, Gansbacher B, et al. Reduction of experimental human fibrosarcoma lung metastasis in mice by adenovirus-mediated Cystatin C overexpression in the host. *Cancer Res* 2005 Oct 1;65(19):8608-12

52. Nakabayashi H, Hara M, Shimuzu K. Clinicopathologic significance of cystatin expression in gliomas. *Hum Pathol* 2005 Sep;36(9):1008-15

53. Sokol JP, Schiemann WP. Cystatin C antagonizes transforming growth factor beta signaling in normal and cancer cells. *Mol Cancer Res* 2004 Mar;2(3):183-95
54. Galicka-Latala D, Fedak D, Kuzniewski M, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy and neuropathy and beohropathy in patients with type-1 diabetes mellitus. *Przegl Lek.*2004;61(3):155-8 Polish
55. Shlipak MG, Fyr CL, Chertow GM, et al. Cystatin C and mortality risk in the elderly : The health, aging and body composition study. *J am Soc Nephrol* 2006 Jan;17(1):254-61
56. Kitabatake A, Inoue M, Asao M, et al. Transmitral blood flow reflecting diastolic behavior of the left ventricle in health and disease--a study by pulsed Doppler technique. *Jpn Circ J* 1982; 46(1): 92-102.
57. European Study Group on Diastolic Heart Failure: How to diagnose diastolic heart failure. *Eur Heart J* 1998; 19: 990 –1003.
58. Nagueh SF, Middleton KJ, Kopelen HA, et al. Doppler Tissue Imaging: a non-invasive technique for evaluation of left ventricular relaxation and estimation of filling pressures. *J Am Coll Cardiol* 1997;30: 1527–33.
59. Bruch C, Grude M, Muller J, et al. Usefulness of tissue Doppler imaging for estimation of left ventricular filling pressures in patients with systolic and diastolic heart failure. *Am J Cardiol* 2005 Apr 1; 95(7): 892-5.
60. Yalcin F, Kaftan A, Muderrisoglu H, et al. Is Doppler tissue velocity during early left ventricular filling preload independent? *Heart* 2002; 87: 336–9.
61. Garcia MJ, Thomas JD, Klein AL. New Doppler echocardiographic applications for the study of diastolic function. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 865–75.
62. Sohn DW, Kim HC, Kim HS, et al. Assessment of mitral annulus velocity by Doppler tissue imaging in the evaluation of left ventricular diastolic function. *J Am Coll Cardiol.* 1997 Aug; 30(2): 474-80.
63. Sohn DW, Song JM, Zo JH, et al. Mitral annulus velocity in the evaluation of left ventricular diastolic function in atrial fibrillation. *J Am Soc Echocardiogr* 1999; 12: 927– 31.

64. European Study Group on Diastolic Heart Failure: How to diagnose diastolic heart failure. *Eur Heart J* 1998; 19: 990–1003.
65. Kinlay S, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in coronary artery disease and implications for therapy. *Am J Cardiol* 1997; 80: 11-I–16-I.74
66. Lerman A, Burnett JC Jr. Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation* 1992; 86(suppl III): III-12–II-19.
67. Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 631–638.
68. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046–1051.
69. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1995; 75: 71B–74B.
70. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26:1235–1241.
71. Takase B, Uehata A, Akima T, et al. Endothelium-dependent flow-mediated vasodilatation in coronary and brachial arteries in suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998; 82: 1535–153.
72. Lemmy Urakami-Harasawa, et al. *J Clin Invest* 1977; 100 (11): 2793-2799.
73. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87: 840–844.
74. Tomasian D, Keaney JF Jr, Vita JA. Antioxidants and the bioactivity of endothelium-derived nitric oxide. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 426–435.
75. Yura T, Fukunaga M, Khan R, et al. Free radical-generated F2-isoprostane stimulates cell proliferation and endothelin-1 expression on endothelial cells. *Kidney Int* 1999; 56: 471–478.
76. Piero O, Bonetti PO, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 168-175.
77. Zeiher AM, Drexler H, Wollschläger H, et al. Endothelial dysfunction of the coronary microvasculature is associated with impaired coronary blood flow regulation in patients with early atherosclerosis. *Circulation* 1991; 84:1984–1992.
78. McLenachan JM, Vita J, Fish DR, et al. Early evidence of endothelial vasodilator dysfunction at coronary branching points. *Circulation* 1990; 82: 1169–1173.
79. Zeiher AM, Drexler H, Wollschläger H, et al. Modulation of coronary vasomotor tone in humans: progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991; 83: 391–401.

80. Quyyumi AA, Dakak N, Andrews NP, et al. Contribution of nitric oxide to metabolic coronary vasodilatation in the human heart. *Circulation* 1995; 92: 320–326.
81. Gage JE, Hess OM, Murakami T, et al. Vasoconstriction of stenotic coronary arteries during dynamic exercise in patients with classic angina pectoris: reversibility by nitroglycerin. *Circulation* 1986; 73: 865–876.
82. Gordon JB, Ganz P, Nabel EG, et al. Atherosclerosis influences the vasomotor response of epicardial coronary arteries to exercise. *J Clin Invest* 1989; 83: 1946–1952.
83. Yeung AC, Vekshtein VI, Krantz DS, et al. The effect of atherosclerosis on the vasomotor response of coronary arteries to mental stress. *N Engl J Med* 1991; 325: 1551–1556.
84. Motz W, Vogt M, Rabenau O, et al. Evidence of endothelial dysfunction in coronary resistance vessels in patients with angina pectoris and normal coronary angiograms. *Am J Cardiol* 1991; 68: 996–1003.
85. Quyyumi AA, Cannon RO III, Panza JA. Endothelial dysfunction in patients with chest pain and normal coronary arteries. *Circulation* 1992; 86: 1864–1871.
86. Egashira K, Inou T, Hirooka Y, et al. Evidence of impaired endothelium-dependent coronary vasodilatation in patients with angina pectoris and normal coronary angiograms. *N Engl J Med* 1993; 328: 1659–1664.
87. Zeiher AM, Krause T, Schächinger V, et al. Impaired endothelium-dependent vasodilation of coronary resistance vessels is associated with exercise-induced myocardial ischemia. *Circulation* 1995; 91: 2345–2352.
88. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001; 104: 365–372.
89. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135–1143.
90. Napoli C, de Nigris F, Palinski W. Multiple role of reactive oxygen species in the arterial wall. *J Cell Biochem* 2001; 82: 674–682.
91. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4651–4655.
92. De Caterina R, Libby P, Peng HB, et al. Nitric oxide decreases cytokine induced endothelial activation: nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995; 96: 60–68.
93. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor- κ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336: 1066–1071.

94. Peng HB, Libby P, Liao JK. Induction and stabilization of I κ B α by nitric oxide mediates inhibition of NF- κ B. *J Biol Chem* 1995; 270: 14214–14219.
95. Bogaty P, Hackett D, Davies G, et al. Vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation* 1994; 90: 5–11.
96. McGorisk GM, Treasure CB. Endothelial dysfunction in coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol* 1996; 11: 341–350.
97. Yangs ZH, Richard V, von Segesser L, et al. Threshold concentrations of endothelin-1 potentiate contractions to norepinephrine and serotonin in human arteries: a new mechanism of vasospasm? *Circulation* 1990; 82: 188–195.
98. Zeiher AM, Goebel H, Schächinger V, et al. Tissue endothelin-1 immunoreactivity in the active coronary atherosclerotic plaque: a clue to the mechanism of increased vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation* 1995; 91: 941–947.
99. Al Suwaidi J, Hamasaki S, Higano ST, et al. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000; 101: 948–954.
100. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, et al. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104: 2673–2678.
101. Cooke JP, Rossitch E, Andon NA, et al. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest* 1991; 88: 1663–71.
102. Miura H, Wachtel RE, Liu Y, et al. Flow-induced dilation of human coronary arterioles: important role of Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Circulation* 2001; 103: 1992–8.
103. Olesen SP, Clapham DE, Davies PF. Haemodynamic shear stress activates a K-current in endothelial cells. *Nature* 1988; 331: 168–70.
104. Pohl U, Holtz J, Busse R, et al. Crucial role of the endothelium in the vasodilator response to flow in vivo. *Hypertension* 1985; 8: 37–44.
105. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, et al. Nitric oxide is responsible for flow dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995; 91: 1314–9.
106. Sun D, Huang A, Smith CJ, et al. Enhanced release of prostaglandins contributes to flow-induced arteriolar dilatation in eNOS knockout mice. *Circ Res* 1999; 85: 288–93.
107. Corson MA, James NL, Latta SSE, et al. Phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase in response to fluid shear stress. *Circ Res* 1996; 79: 984–91.
108. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, et al. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999; 399: 601–5.

109. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, et al. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995; 92: 3431–5.
110. Corretti MC, Todd JA, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(2): 257-265.
111. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, et al. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J* 1995; 74: 247–53.
112. Stadler RW, Karl WC, Lees RS. New methods for arterial diameter measurement from B-mode images. *Ultrasound Med Biol* 1996; 22: 25–34.
113. Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. *Am J Physiol* 1995; 268: H1397–H1404.
114. Verma S, et al. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation* 2003; 108: 2054-2059.
115. Michel E, et al. The clinical impact of endothelial dysfunction. *Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1149-1160.
116. Ganz P, et al. Testing endothelial vasomotor function. Nitric oxide, Multipotent Molecule. *Circulation* 2003; 108: 2049-2053.
117. Hsueh WA: In diabetes, treat hidden heart disease. *Cleve Clin J med* 2000;67:807-813
118. Beckman JA, Creager MA, Libby P: Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA* 2002; 287: 2570-2581.
119. Spanhaimer RG: Reducing cardiovascular risk in diabetes. Which factors to modify first? *Postgrad Med* 2001;109:26-36
120. Marso SP: Optimizing the diabetic formulary: beyond aspirin and insulin. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:652-661.
121. Resnick HE, Howard BV: Diabetes and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 2002; 52: 245-267.
122. Solomon CG: Reducing cardiovascular risk in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348: 457-459.
123. Shlipak MG, Katz R, Sarnak MJ, Fried LF, Newman AB, Stehman-Breen C, Seliger SL, Kestenbaum B, Psaty B, Tracy RP, Siscovick DS, Cystatin C and prognosis for cardiovascular and kidney outcomes in elderly persons without chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2006;145:237-246.

124. Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A, et al. Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1997; 129: 111–118.
125. Raitakari OT, Celermajer DS. Testing for endothelial dysfunction. *Ann Med* 2000; 32: 293–304.
126. Modena MG, Bonetti L, Coppi F, et al. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 40: 505–510.
127. Fung ET, Wilson AM, Zhang F, et al. A biomarker panel for peripheral arterial disease. *Vasc Med* 2008; 13(3): 217-24.
128. Freire CMV, Moura ALMT, Barbosa MM, et al. Left Ventricle Diastolic Dysfunction in Diabetes: an Update. *Arq Bras Endocrinol MetaBeta* 2007; 51/2:168-175.
129. Raev DC. Which left ventricular function is impaired earlier in the evolution of diabetic cardiomyopathy? An echocardiographic study of young type I diabetic patients. *Diabetes Care* 1994; 17(7): 633-9.
130. Cosson S, Kevorkian JP. Left ventricular diastolic dysfunction: an early sign of diabetic cardiomyopathy? *Diabetes MetaBeta* 2003; 29(5): 455-66.
131. Libby P, Plutzky J: Diabetic macrovascular disease: the glucose paradox? *Circulation* 2002; 106: 2760-2763.
132. G Luca, J-M Bard, C Lesueur, D Arveiler, et al. Plasma cystatin-C and development of coronary heart disease: The PRIME Study. *Atherosclerosis* 2006; 185 : 375–380.
133. Wilson AM, Kimura E, Harada RK, et al. β 2- Microglobulin as a biomarker in peripheral arterial disease. *Proteomic Profiling and Clinical Studies*. *Circulation* 2007; 116: 1396-1403.
134. Aronson D, Rayfield EJ: How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. *Cardiovasc Diabetol* 2002; 1:1-10.
135. Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-820.
136. Joachim HI, Shlipak MG, Chertow GM, et al. Cystatin C, left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction: data from The Heart and Soul Study. *Journal of Cardiac Failure* 2006; 12 (8): 601-7.
137. Wilson W.H., Van Lente F, Shrestha K, Troughton R, Francis G, Tong W, Martin M, Borowski A, Jasper S, Starling R. Impact of myocardial function on Cystatin C measurements in chronic systolic heart failure. *Journa of Cardiac Failure* 2008; 14(5):394-9

138-Michael D,Andrew T,Brian D.Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning..Am Heart J 2003;145:943-51