

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLESİ**

**KORONER KOLLATERAL ARTER GELİŞİMİ
İLE İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Didem Oğuz

**KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN:
Doç.Dr.Yusuf Atmaca**

**Ankara
2009**

Tezimin planlanma, yürütölme ve yazım aşamalarında desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç.Dr.Yusuf Atmaca'ya ve tıp eğitimimde emekleri bulunan başta Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Çetin Erol olmak üzere tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Dr. Didem Oğuz

İÇİNDEKİLER

Önsöz ve Teşekkür.....	ii
İçindekiler	iii
Kısaltmalar ve Simgeler Dizini	v
Şekiller Dizini.....	vii
Tablolar Dizini	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Koroner Dolaşım	4
2.2 Arterler	4
2.3 Embriyoda Kan Damarı Oluşumu	5
2.3.1 Vaskülogenez.....	5
2.3.2 Anjiyogenez.....	6
2.3.3 Arteriyogenez	7
2.4 Koroner Kollateral Dolaşım	8
2.4.1 Anjiyogenez.....	9
2.4.2 Arteriyogenez	9
2.4.3 Kollateral Gelişiminde Büyüme Faktörleri	12
2.4.4 Koroner Kollateral Gelişimini Etkileyen Faktörler	14
2.4.5 Kollaterallerin Fonksiyonel Kapasitesi	15
2.4.6 Kollateral Dolaşımın Önemi.....	15
2.5 Tümör Nekrozis Faktör Alfa	16
2.6 Miyeloperoksidaz	18
2.7 C-Reaktif Protein	19
2.8 Beyaz Küre	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1 Çalışma Protokolü	23
3.1.1 Hasta Alımı.....	23
3.1.2 Biyokimyasal Çalışmalar	23
3.1.3 Koroner Anjiyografi	24
3.1.4 İstatistiksel Analiz.....	27

4. BULGULAR	28
4.1 Hastaların Klinik ve Anjiyografik Özellikleri	8
5. TARTIŞMA	33
ÖZET	40
SUMMARY	41
KAYNAKLAR	42

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

aFGF	Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü
bFGF	Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü
CRP	C-Reaktif Protein
CX	Sirkumfleks Arter
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentetaz
GM-CSF	Granülosit-Monosit Koloni Uyarıcı Faktör
HGF	Hepatosit Büyüme Faktörü
HIF-1	Hipoksi İle Uyarılan Faktör-1
hsCRP	Yüksek Duyarlı C-Reaktif Protein
ICAM-1	İntersellüler Adezyon Molekülü-1
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
LAD	Sol Ön İnen Koroner Arter
MCP-1	Monosit Kemotaktik Protein-1
MI	Miyokart İnfarktüsü
MMP	Matriks Metalloproteinaz
MPO	Miyeloperoksidaz
NO	Nitrik Oksit
PAI-1	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü-1
PDGF	Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü
PECAM-1	Trombosit Endotel Hücre Adezyon Molekülü-1
PIGF	Plasental Büyüme Faktörü
PMNL	Polimorfonüveli Nötrofiller
RCA	Sağ Koroner Arter
TGF-beta	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-1

TNF-alfa	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
VCAM-1	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
VE-Cadherin	Vasküler Endotelyal Cadherin
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEGF-R-2	Vasküler Endotelyal Reseptör-2
VPF	Vasküler Permeabilite Faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	9
Şekil 2.2	11
Şekil 3.1	26
Şekil 4.1	31
Şekil 4.2	32

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1	29
Tablo 4.2	30
Tablo 4.3	32

1. GİRİŞ

Aterosklerotik kalp hastalığı erişkinlerde en sık ölüm sebebidir. Son yıllarda koroner bakım ünitelerinin modernleştirilmesi, beta blokerlerin kullanımı, koroner bypass cerrahisi, fibrinolitik tedavi ve primer koroner anjiyoplasti gibi tedavi yöntemlerinde kaydedilen ilerlemelerle koroner arter hastalığına bağlı mortalitede önemli azalmalar kaydedilmiştir. Tüm bu ilerlemelere rağmen koroner arter hastalığı, halen hastane içi morbidite ve mortalitenin önde gelen sebebi olmaya devam etmektedir (1). İyi gelişmiş kollateral damarlar akut miyokart infarktüsü sırasında infarkt alanını sınırlayarak Q dalgalı Mİ (miyokart infarktüsü), sol ventrikül anevrizması ve kalp yetmezliği oluşmasını engellemekte ve bunun sonucu olarak da hastane içi ve uzun dönem mortalite ve morbiditede önemli azalmalara yol açmaktadır. Bu nedenle, kollateral damarların gelişimini etkileyebilecek faktörlerden inflamatuvar belirteçlerin incelenmesi önem kazanmış, medikal ya da invazif olarak yeterli koroner revaskülarizasyonun sağlanamadığı durumlarda bunların gelişimini arttırmak için yapılan çalışmalar da artış gözlenmiştir (2, 3, 4).

Kollateral gelişimi, kronik iskemi ya da hipoksiyi takiben mevcut olan kan damarlarından iskemik bölgeye yeni kapillerlerin tomurcuklanması (anjiyogenez) veya doğumdan itibaren mevcut olan interkoroner anastomoz kanallarının büyüüp olgunlaşması (arteriyogenez) şeklinde olmaktadır (5). Her ikisinde de endotel hücreleri ve iskemik bölgeye hücum eden trombosit ve monosit gibi inflamatuvar hücrelerden salınan büyüme faktörleri önemli rol oynamaktadır (1, 6).

Tümör nekrozis faktör (TNF-alfa), başlıca makrofajlardan üretilen proinflamatuvar bir sitokindir. Adezyon moleküllerinin (VCAM-1, ICAM-1 gibi) ekspresyonunun arttırılması, endotelden sitokin ve nitrik oksit (NO) salınımının arttırılması kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerinden bazılarıdır (7). TNF-alfa, endotelden NO ve prostasiklin üretimini arttırarak kan akımını arttırır ve lokal vazodilatasyon yapar. Adezyon moleküllerinden E-selektinin üretimini arttırarak lenfosit ve monositlerin endotel hücrelerine yapışmalarını kolaylaştırır (7).

Hiroyuki Tanaka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; TNF-alfa'nın, düz kas hücrelerini uyararak intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve pek çok sitokin üretimini arttırarak düz kasların proliferasyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir (8). Luis F. Fajardo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da düşük doz TNF-alfa'nın anjiyogenezi uyarırken, yüksek dozda TNF-alfa'nın anjiyogenezi inhibe ettiği gösterilmiş, TNF-alfa'nın lokal doku konsantrasyonuna göre etkisinin değişebileceği düşünülmüştür (9).

Miyeloperoksidaz (MPO); polimorfonüveli nötrofiller ve makrofajlar içerisindeki azurofilik granüller içinde depolanır ve inflamatuvar bir reaksiyonda ekstrasellüler sıvıya salınır (10). Ateroskleroz gelişimi, endotel disfonksiyonu, plak destabilizasyonu ve iskemik hasar sonrası ventriküler yeniden şekillenme kardiyovasküler sistemde yaptığı bazı etkilerdir (10). MPO; hidrojen peroksit reaksiyonu vasıtasıyla serbest radikaller ve antimikrobiyal aktivitesi olan geçirgen oksidatif maddeler oluşturur. Fakat bu sırada ev sahibi dokulara da oksidatif hasar yapar (10). G. Ndrepepa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; koroner arter hastalığı olan hastalarda olmayanlara göre serum MPO seviyesi daha yüksek bulunmuş ve koroner arter hastalığının ciddiyeti ile korelasyon saptandığı gösterilmiştir (11).

C-reaktif protein (CRP); bir akut faz reaktanı olup primer olarak karaciğerde sitokin stimülasyonu sonrası sentezlenmektedir (12). CRP'nin artık vasküler inflamatuvar sürecin de bir göstergesi olduğu bilinmektedir. Plazma konsantrasyonu, dolaşıma salınan sitokin konsantrasyonu ve inflamatuvar mediyatörlerin indüklemesine bağlı olarak değişir. S. Güleç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yüksek serum CRP seviyesinin koroner kollateral gelişimini kötü yönde etkilediği gösterilmiştir (3).

Bilindiği üzere inflamasyon aterosklerozun başlangıcında ve progresyonunda önemli rol oynar. Son yapılan çalışmalarda, artmış beyaz küre sayısının koroner arter hastalığı varlığı ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (13). Hal V Barron ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da yüksek beyaz küre sayısı akut miyokart infarktüsü sonrası kötü prognozun göstergesidir (86).

Aterosklerotik kalp hastalığı olan bireylerde kollateral gelişimi her zaman eşit derecede olmamaktadır. Bu farklılık çevresel ve genetik farklılıklardan kaynaklanabilir. Bu çalışmada; kollateral gelişimini etkileyebileceğini düşündüğümüz serum MPO, TNF-alfa, hsCRP gibi inflamatuvar belirteçlerin ve beyaz küre sayısının kolateral derecesi ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 KORONER DOLAŞIM

Kalbi besleyen üç ana koroner arter {sol ön inen koroner arter (LAD), sirkumfleks arter (Cx) ve sağ koroner arter (RCA)} ile bunların ana dalları kalbin epikardiyal yüzeyinde seyrederek koroner kan akımına çok küçük bir direnç gösterirler ve “ileti arterleri” olarak adlandırılırlar. Bu damarlar, kendileriyle 90 derece açı yaparak miyokart içine penetre olup kan akımı için direnç oluşturan daha küçük çaplı intramural damar ve arteriyoller (direnç arterleri) şeklinde devam ederler ve daha sonra milimetrekarede 4000 adet kapiller olacak şekilde dağılırlar (14).

2.2 ARTERLER

Dolaşım sistemi; kanı pompalayan kalp ile pompalanan kanı organ ve dokulara ileten arterler, kan ve doku arasında besin ve toksik madde alışverişi yapan kapillerler ve toksik maddeleri kalbe geri taşıyan venöz ve lenfatik sistemlerden oluşmuştur.

Arterler genel olarak üç katmanlı duvar yapısına sahiptirler:

- 1-) Tunica intima: Kan damarlarının iç yüzeyini döşeyen endotel hücreleri ve bazal laminadan oluşmuştur. Bazal laminanın dışında seyrek düz kas hücreleri bulunabilir.
- 2-) Tunica media: Esas olarak düz kas hücrelerinden oluşmuştur. İntimadan, internal elastik membran ile ayrılır. Düz kas hücreleri arasında elastik fiberler, tip 3 kollajen ve proteoglikan mevcuttur. Adventitia tabakasından eksternal elastik membran ile ayrılır.
- 3-) Tunica adventitia: Longitudinal olarak yerleşmiş tip 1 kollajen ve elastik fiberler ile damar duvarını besleyen vazo vazorumlardan oluşmuştur.

Geniş çaplı arterlerde her üç katman da bulunmaktadır. Orta çaplı arterler eksternal elastik membran yokluğu ile ayrılırlar. Arteriyollerde internal elastik membran yoktur ve çapları 0.1 ile 0.5 mm arasında değişmektedir. Geniş ve orta çaplı arterler ile arteriyoller makrovasküler yapıyı oluştururlar. Mikrovasküler yapı olarak adlandırılan kapillerlerin çapları 0.1 mm’den küçüktür ve bunlarda media tabakası

yoktur. Kapillerlerde, makrovasküler yapıdaki düz kas hücrelerinin yerini perisitler, adventisya tabakasının yerini de ince kollagen fiberleri almaktadır (15). Arteriyogenez ile üç katmanlı damar yapısı ve vazomotor fonksiyona sahip muskular arterler oluşurken, anjiyogenez ile kapiller oluşumu gerçekleşmektedir (5).

2.3 EMBRİYODA KAN DAMARI OLUŞUMU

Embriyo, gelişiminin en erken evrelerinde damarsal yapıdan yoksundur, beslenmesini diffüzyon ile sağlar. Fakat gelişiminin ilk haftalarında kompleks kapiller ağlardan ve kan damarlarından oluşan hayli vasküler bir organizmaya dönüşür. Embriyoda, damarsal gelişmenin en erken evresi, endotel hücre öncülerinin (anjiyoblast) belirli bölgelere göçü ve in situ farklılaşması, endotelial şeritlere dönüşmesi ve ardından da endokart tüpleri ile bir ağ oluşturması ile karakterize olan vaskülogenez evresidir. Bunu takiben primitif damarların büyümesi, olgunlaşması ve yeniden şekillenmesi ile olgun damarsal ağa dönüşmesi anjiyogenez olarak adlandırılır. Anjiyogenez, mevcut olan damarlardan yeni damarların tomurcuklanması ve periendotelial hücrelerle birlikte prekapiller arteriyol ve kapillerlere farklılaşması ile karakterizedir. En son olarak, daha geniş arterlerin fonksiyonel modifikasyonu arteriyogenez esnasında olur ve kalın muskuler tabakanın eklenmesi ile viskoelastik ve vazomotor özellik kazanırlar (16).

2.3.1 Vaskülogenez:

Kan damarı oluşumu ilk kez embryo properin dışında, yolk kesesi duvarında gelişir (16). Yolk kesesi mezoderminde mezenkimal hücreler kümelenirler ve ortalarında hematopoietik kök hücreleri, çevrelerinde ise endotel hücre öncüleri (anjiyoblast) olacak şekilde kan adacıkları oluştururlar. Anjiyoblastlar paraksial mesoderme göç edip birikirler ve endokardiyal tüplerle bir pleksus oluşturarak dorsal aorta, büyük venler ve yolk kesesi arter ve venlerinin embriyonik köklerini oluştururlar. Bu şekilde ilkel vasküler ağın oluşmasına “vaskülogenez” denmektedir. Vaskülogenezde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), granulosit-monosit koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), bazik fibroblast büyüme faktörü (b-FGF) ve diğer sitokinlerin reseptörleri rol oynar (16,17). Vaskülogenez sadece embriyoda sınırlı olmayıp,

anjyoblastların doğumdan sonra da in situ damar oluşumuna sebep olduğu bildirilmiştir (5).

2.3.2 Anjiyogenez:

Vaskülogenez ile ilkel damarsal ağın oluşmasından sonra bu yapının büyüüp gelişmesi ve olgunlaşmasına “anjyogenez” denmektedir (16). Anjiyogenez basamaklı bir şekilde olmaktadır. Anjiyogenez için ilk uyarı, hücrelerin yetersiz oksijenizasyonudur. Hipoksi, bir transkripsiyonel faktör olan HIF-1 (hipoksi ile uyarılan faktör-1) ekspresyonunu artırır. HIF-1, nitrik oksit sentetaz (NOS) ve VEGF üretimini artırır (5). Büyük oranda nitrik oksite bağlı olarak gerçekleşen vazodilatasyon anjiyogenezdeki en erken gelişen olaylardan biridir. Üretimi nitrik oksit tarafından kısmen regüle edilen VEGF, trombosit endotel hücre adezyon molekülü-1 (PECAM-1) ve vasküler endotelial cadherin’in aracılığı ile damarsal geçirgenliği artırır. Bunu proteinlerin ekstrasvazasyonu takip eder. Hücre dışı matriksin yıkımı, sadece göç eden hücrelere yer açmakla kalmayıp aynı zamanda bFGF, VEGF ve IGF (insülin benzeri büyüme faktörü)-1 gibi büyüme faktörlerinin salınımını da arttıran proteazlar tarafından gerçekleştirilir. Anjiyogenezde rol alan yirminin üzerinde matriks metalloproteinazı (MMP) tarif edilmiştir (16). Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA) de anjiyojenik bir proteaz olarak rol almaktadır (16,6). Hücre dışı matriks yıkımını takiben artık endotel hücreleri göç edebilmek ve çoğalmak için serbesttir. Bu aşamada VEGF, anjiyopoietinler ve FGF (fibroblast büyüme faktörü) önem kazanır. Anjiyopoietin 1, endotel hücreleri için kemotaktik iken, anjiyopoietin 2, VEGF varlığında anjiyojenik, VEGF yokluğunda antianjiyojenik olarak görev yapar. Fibroblast büyüme faktörü, endotel hücre büyümesinin yanında mezenkimal ve inflamatuvar hücrelerin olaya iştirakını sağlar. Trombosit kökenli büyüme faktörü de endotel tomurcuklanması ile yeni oluşan damarlarda perisit ve düz kas hücrelerinin oluşmasını sağlar.

Endotelden salınan nitrik oksidin (NO) kardiyovasküler sistemde asıl görevi vazodilatasyondur ve bu sayede plazma proteinlerin kaçışını artırır. VEGF gibi endotel hücrelerin yaşam süresini uzatır, çoğalmasını ve göçünü kolaylaştırır. Ayrıca NO, matriks metalloproteinazların aktivasyonundan sorumlu reseptörlerin

ekspresyonunu arttırır ve fibronektine bağlanarak hücre göçünü kolaylaştırır. Anjiyogenezi inhibe eden anjiyostatini bloke eder. Böylece NO erken dönemde vazodilatasyon yaparken, ileri evrelerde de neovasküler büyümeye katkıda bulunmaktadır (18).

Endotel hücreleri hücre dışı matrikse göç ettikten sonra katı şeritler oluşturacak şekilde dizilerek lümen oluştururlar. Endotel hücrelerinin çevrelerine yerleşen vasküler düz kas hücreleri ile hücre dışı matriksin oluşan yeni damarlara sağladığı yapısal ve fonksiyonel destek kritik öneme sahiptir. Endotel hücre apoptozisi, embriyoda vasküler regresyon ile karakterize olan ve doğumdan sonra sadece retina ve over hücrelerinde fizyolojik olarak gerçekleşen bir olaydır. Embriyoda endotel hücreleri, apoptozise karşı VEGF, VEGF-R-2, VE-cadherin ve integrinler gibi birçok faktör tarafından korunur. Kan akımı başladıktan sonra makaslama gücü de endotel hücre turnoverini kontrol altında tutar ve tümör nekrozis faktör alfa'ya bağlı apoptozisi engeller (16, 17).

Vasküler ağ olgunlaşması, organ ve dokuların ihtiyacına göre özelleşir. Oluşan bu yeni damarlar, dokuların ihtiyacına göre ve anjiyojenik uyarı doğrultusunda branşlaşmaya ve tomurcuklanmaya devam ederek damarsal yapıyı genişletirler. Tomurcuklanmada VEGF, PDGF (trombosit kökenli büyüme faktörü), asidik fibroblast büyüme faktörü (aFGF) önemli rol oynar. Anjiyogeneizde önemli olan sadece endotel hücre çoğalması değildir; vasküler düz kas hücreleri yeni oluşan damarların dayanıklılığını arttırırken hücre dışı matriks de büyüme faktörleri ve MMP depolanmasına olanak sağlayarak anjiyogeneizde önemli rol üstlenir.

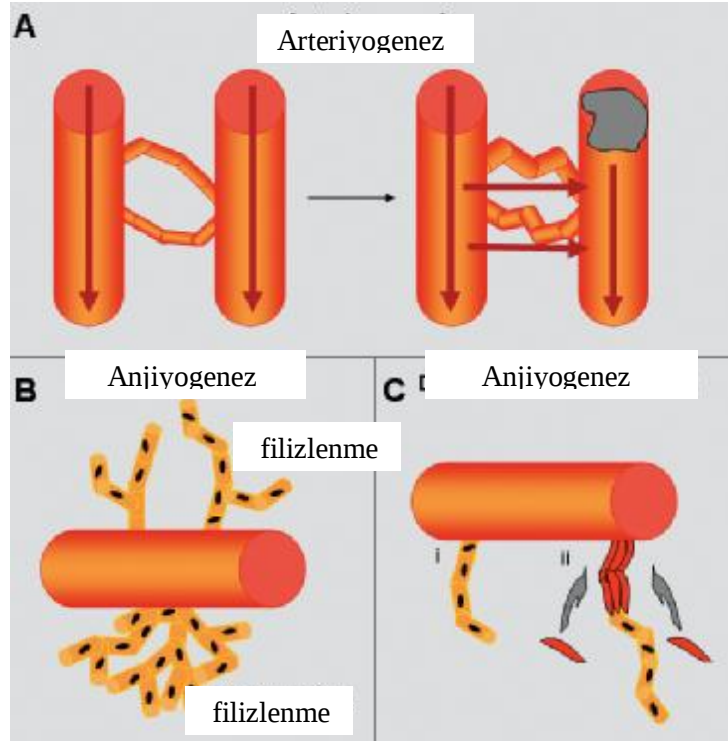
2.3.3 Arteriyogeneiz:

Periendotel hücreler oluştuktan sonra branşlaşan ve tomurcuklanan damarların çevresine doğru göç etmeye başlar (16). Bu işlemde PDGF önemli rol oynar. Yeni oluşan damarların vasküler düz kas hücresi ve ekstrasellüler matriks ile çevrelenerek üç katmanlı damar yapısına sahip viskoelastik ve vazomotor özellikler gösteren fonksiyonel damarlar haline almasına “arteriyogeneiz” denmektedir. Miyokart ya da

ekstremitelerde ana arterin oklüzyonunu takiben daha önceden var olan kollateral arterlerin (anostomoz kanallarının) inflamatuvar hücreler aracılığı ile olan büyümesine “adaptif arteriyogenez” denmektedir. Bunu kapiller anjiyogenezden ayırmak gerekir. Artmış kollateral akıma bağlı olarak, bu anostomoz kanallarının endotel hücreleri monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) salgılayarak monositleri olay yerine çeker. Monositler damar duvarını infiltre eder ve proteolitik olarak damar duvarının yeniden şekillenmesini sağlar. Aktive endotel hücreleri ve makrofajlar bFGF, PDGF- β ve TGF β -1 (dönüştürücü büyüme faktörü beta-1) salgılanmasını arttırarak düz kas büyümesi ve damarların genişlemesine yol açar (16). Adaptif arteriyogenez ile oluşan damarlar, vasoreaktiviteye sahip olmaları ve dokulara yeterli kan akımını sağlamaları yönüyle anjiyogenez ile oluşan ve dokularda sadece besin alışverişi ve oksijen sunumu yapabilen kapillerlere göre daha üstündür (5, 16).

2.4 KORONER KOLLATERAL DOLAŞIM

Koroner arter darlığı ya da koroner arter tıkanıklığı sonucu ortaya çıkan miyokart oksijen sunumu ve oksijen ihtiyacı arasındaki dengesizliğin insan, köpek ve domuzlarda koroner kollateral gelişimini arttırdığı gösterilmiştir. Koroner kollaterallerin oluşması mevcut kan damarlarından yeni kapillerlerin tomurcuklanmasıyla de novo oluşan “anjiyogenez” ya da mevcut arterler arasında doğumdan itibaren var olan anostomoz kanallarının büyüyüp olgunlaşmasıyla meydana gelen “arteriyogenez” şeklinde olmaktadır (6) (Şekil 1).



Şekil 2.1: Kollateral damar oluşumunun mekanizmaları, A) Damar tıkanıklığını takiben, önceden varolan anostomoz kanalının büyüyüp olgunlaşması (arteriyogenez). B) Ana damardan tomurcuklanarak kapillerlerin oluşması (anjiyogenez).

2.4.1 Anjiyogenez: Gelişen koroner iskemi ya da nekroz sonucu harap olan miyokart hücrelerinden ve inflamatuvar hücrelerden salınan bazı sitokinler endotel hücre aktivasyonuna yol açarlar (6). Aktive olan endotel hücreleri salgıladıkları proteazlar ile hücre dışı matriksi enzimatik olarak yıkarlar ve endotel hücreleri perivasküler alana göç ederler. Göç etmekle birlikte endotel hücreleri mitoz ile çoğalırlar ve diğer endotel hücreleri ile birleşerek, oluşturdukları hücre içi vakuollerle devamlılık kurarak yeni bir lümeni olan kapillerler meydana getirirler. Yeni dizilen endotel hücrelerin çevresine perisitlerin yerleşmesi ve bazal membran oluşması ile kapillerler oluşum sürecini tamamlamış olurlar (6).

2.4.2 Arteriyogenez: Arterler arasında doğumdan itibaren mevcut olan ve çapları 20-200 mikronmetre arasında değişen ince duvarlı anostomoz kanalları mevcuttur.

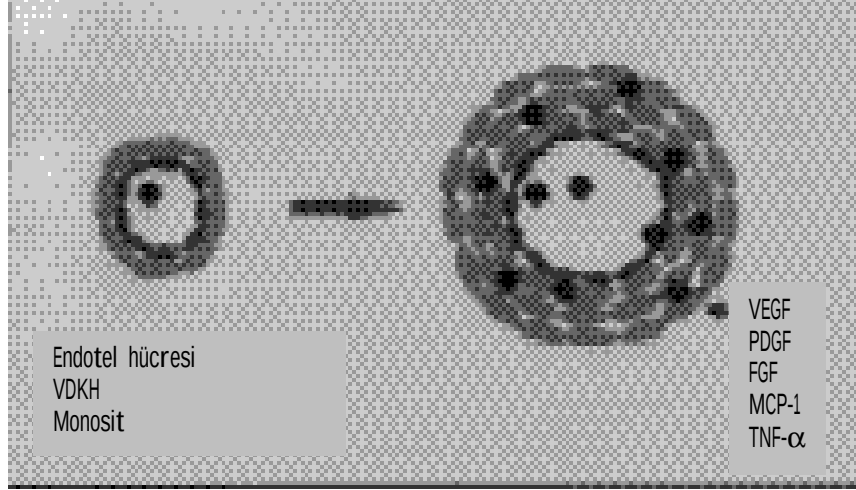
Bu yapıların yoğunluğu türler arasında farklılık gösterir. Yeni Gine domuzlarında akut koroner tıkanıklık hemen hemen hiç infarkta sebep olmaz çünkü çok iyi gelişmiş kollateralleri vardır. Köpekler orta derecede gelişmiş kollaterallere sahip iken, domuzlar, kobaylar ve tavşanlar bu anostomoz kanallarına sahip değildir ve akut tıkanıklığı takiben kısa bir süre içinde infarkt gelişir. İnsanlarda kollateral yoğunluğu köpeklerinkine benzer şekildedir (14).

Önceden mevcut olan bu anostomoz kanalları normalde kapalıdır ve işlev görmezler, çünkü birbirine bağladıkları arterler arasında basınç farkı yoktur. Koroner darlığı ya da akut koroner tıkanıklığını takiben kollaterallerin distal ucundaki basınç aşamalı olarak ya da aniden düşer ve kollateral damarlar açılır. Daha sonra bu ince damarlı küçük çaplı kanallar üç evrede olgun kollateral arterlere dönüşür (14).

1. evre (Mevcut kanalların pasif genişlemesi-ilk 24 saat): Kanalların proksimal ucu ile distal ucu arasındaki basınç gradienti oluşmasını takiben başlayan kan akımının etkisi ile internal elastik lamina parçalanır ve parçacıkları media tabakasına dağılır.

2. evre (1. gün-3. hafta arası): Bu evre hücresel proliferasyon ve inflamasyon ile karakterizedir. Akım başlaması ile aniden artan makaslama gücü endotel hücrelerinin ICAM (intersellüler adezyon molekülü) ve VCAM (vasküler hücre adezyon molekülü) salgılamasına sebep olarak monositlerin olay yerine gelip damar duvarına göç etmesi sağlanır. Makaslama gücü ayrıca, endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücrelerinden NOS ve anjiyotensin dönüştürücü enzim gibi enzimler ile büyüme faktörlerinin salgılanmasına sebep olur (16). Monositler ve aktive endotel hücreleri tarafından salınan VEGF, aFGF, TNF- α gibi bazı sitokin ve büyüme faktörleri endotel, düz kas hücreleri ve fibroblastların çoğalmasına yol açar. Birkaç hafta içinde bu hücreler kendilerini dairesel ve longitudinal şekilde düzenlerler (14) (Şekil 2).

İlk iki evrede damarların çapları yaklaşık 10 kat artar.



Şekil 2.2: Arteriyogenezin şematik olarak gösterilmesi. Mevcut olan küçük damarların endotel hücre, monosit ve vasküler düz kas hücrelerinin katılımıyla ve salınan büyüme faktörleriyle büyüyüp olgunlaşması görülmektedir. VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, PDGF: Trombosit kökenli büyüme faktörü, FGF: Fibroblast kökenli büyüme faktörü, MCP-1: Monosit kemotaktik protein-1, TNF- α : Tümör nekrozis faktör-alfa)

3. evre (3. hafta-6. ay arası): Hücre dışı matriks depolanması ve proliferasyonun daha da ilerlemesi ile karakterizedir. Üç basamak sonunda olgunlaşması ve gelişmesi tamamlanmış kollateral damarlar yaklaşık 1 milimetre lümen çapı ve 3 katmanlı damar duvarı yapısıyla normal damarlardan ayırt edilemeyecek düzeye ulaşmıştır (14).

2.4.3 Kollateral Gelişiminde Büyüme Faktörleri:

Koroner arter hastalığı olan bireylerde, intrakoroner büyüme faktör konsantrasyonlarının aterosklerozun ciddiyeti ve kollateral akım ile doğru orantılı olduğu bulunmuştur (19). Aktive olan makrofajlardan ve damar duvarı hücrelerinden salınan büyüme faktörleri, sitokinler, proteazlar ve proteaz inhibitörleri anjiyogenezi regüle etmektedir. Bazal şartlarda düşük düzeyde olan büyüme faktörü reseptör ekspresyonu, iskemi ve değişen fiziksel güçlerle artmaktadır. Büyüme faktörlerinin endotel ve düz kas hücreleri üzerine olan mitojenik etkileri, genişleyen damarların yayılımı için gerekli boşluğu sağlayacak olan ekstrasellüler matriksin proteazlar tarafından yıkımı ile tamamlanır (6).

Anjiyojenik potansiyeli ortaya çıkarılan ilk büyüme faktörü FGF'dir. Heparin bağlayıcı özelliğe sahip olan asidik ve bazik FGF'ler direkt olarak ya da VEGF'yi arttırarak dolaylı yoldan endotel hücre proliferasyon ve migrasyonunu uyarırlar (5). Fibroblast büyüme faktörleri hem anjiyogeneze hem de arteriyogeneze olan bölgelerde saptanmıştır (17). Aktive olan monositlerden salınarak endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve bağ dokusu için mitojenik özellik gösteren asidik FGF, damarın yeniden şekillenmesi esnasında hücre dışı yıkımda önemli rol oynayan üroplazminojenin de endotel hücreleri tarafından salınımını arttırır (6). Fibroblast büyüme faktörleri normal miyokart hücrelerinde de bulunurlar ve hücre ölümünü takiben veya ekstrasellüler matriksteki bağlanma yerlerinden koparak açığa çıkarlar ve aktivite gösterirler (17).

Heparin bağlayıcı özelliği olan endotel hücreleri için spesifik olan VEGF mRNA'sı kollateral gelişimi ve yeni damar büyümesi olan bölgelere komşu alanlarda artmıştır (5). Vasküler endotelyal büyüme faktörünün diğer bir adı da vasküler permeabilite faktörü (VPF)'dür; sağlıklı bireylerde embriyonik dönemde anjiyojenik faktör iken yetişkin endotel hücrelerinde damar geçirgenliğini düzenler (5). Vasküler endotelyal büyüme faktörü hipoksiye duyarlı olarak miyokart hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve monositler tarafından üretilir.

Kronik iskemiye bağlı anjiyojenik cevapta bireyler arasında farklılıklar gözlenir. Koroner arter darlığı olan bireylerin sadece %50'sinde kollateral geliştiği saptanmış. Schultz ve arkadaşları, kollateral gelişen bireylerde VEGF düzeyini yüksek bulurken, kollateral gelişimi olmayanlarda VEGF düzeyi ve VEGF'nin hipoksiye bağlı uyarılmasının daha düşük olduğunu gözlemlemişler ve bireylerarası bu farklılığı çevresel ve genetik faktörlere bağlamışlardır (20).

İskemik olmayan normal dokularda da damar geçirgenliği ve mikrovasküler damar tonusu VEGF'den etkilenir. Her iki etki de NO aracılığı ile olur. VEGF endotel hücrelerinde hücre içi kalsiyum miktarını artırıp yapısal NOS'u aktive ederek NO açığa çıkarır. Nitrik oksit, ayrıca, trombosit ve endotel hücrelerinden plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI)-1 salınımını inhibe etmekte ve FGF salınımını arttırmaktadır (6). Murohara ve arkadaşları, eNOS -/- farelerde VEGF'nin anjiyogenezi arttırmadığı ve L-arjinin verilmesinin in vivo anjiyogenezi arttırdığını göstermişlerdir (21). Öte yandan, VEGF'nin anjiyogenezi uyarabilmesi için iskemik bir doku gereklidir. Endotel hücrelerinin farklılaşması için gerekli ana reseptör olan VEGFR-2 ekspresyonu iskemik dokuda artmaktadır (6).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü ve FGF'nin dışında hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve plasental büyüme faktörü (PlGF) de direkt olarak anjiyogenezi uyarabilmektedir (22,23). Yapısal olarak VEGF'ye benzeyen PDGF vasküler düz kas hücreleri için mitojeniktir ve vasküler düz kas hücrelerinde VEGF üretimini artırarak dolaylı yoldan endotel hücre proliferasyonunu artırır. İnsüline benzeyen büyüme faktörü (IGF)-1 de düz kas hücrelerinde VEGF üretimini artırır (1,6). TGFβ-1 de hücre dışı matriksi düzenleyerek dolaylı yoldan anjiyogeneze katkıda bulunur. Ayrıca tüm bu sitokinler birbirleriyle ikili olarak kombine verildiğinde sinerjik etki gösterirler (24).

2.4.4 Koroner Kollateral Gelişimini Etkileyen Faktörler

Koroner darlığı takiben erken dakikalar ya da saatler içinde kollateral kanalların genişliğini mekanik güçler belirler. Koroner anastomoz kanallarının proksimal ve distal ucundaki ani gelişen basınç farkı ile meydana gelen akım sonucu oluşan makaslama gücü endotel hücrelerinden lökosit adhezyon moleküllerinin salınmasına yol açarak kollateral gelişimini başlatır (14).

Kalıtsal faktörler: Önceden varolan anastomoz kanallarının yoğunluğu üzerine belirgin etkiye sahiptir. Örneğin, anastomoz kanalları varolmayan siyah Rus tavşanlarında, koroner tıkanıklık sonucu geniş infarkt gelişirken, zengin anastomoz kanallarına sahip Yeni Zellanda tavşanlarında infarkt alanı sınırlı kalmaktadır (14).

Tıkanıklığın ciddiyeti: Koroner darlığın çap olarak oranı %70'in üzerinde olmadıkça kollateral gelişimi nadirdir (14, 25).

Anjina süresi ve lezyon lokalizasyonu: Piek ve arkadaşları, anjinanın süresi, lezyonun proksimal yerleşimli olmasının kollateral gelişiminin bağımsız belirleyicileri olduğunu göstermişlerdir (25).

Egzersiz: Egzersizin, koroner darlığı olan hastalarda kollateral gelişimi ile ilgisi gösterilememiştir (5,26).

Heparin: Heparinin anjiyojenik olduğu insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (5,27,28). Heparinin bu etkisinin hücre dışı matrikste büyüme faktörlerinin yıkımını engellemesi, plazminojen aktivatörü salınımını arttırması ve VEGF'nin reseptörüne bağlanmasını engelleyen α -2 makroglobulin'in etkisini bloke etmesi yoluyla ortaya çıktığı öne sürülmektedir (17).

Farmakolojik ajanlar: Koroner kollateraller nitratlara ve beta adrenerjik agonistlere dilatasyon yanıtı gösterirler. Kalsiyum kanal blokerlerinin, beta blokerlerin ve alfa adrenerjik agonistlerin bir etkisi saptanmamıştır (14). Dipiridamol, rezistans arterlerini dilate eden bir maddedir. Kollaterale bağımlı bir miyokart dokusu varlığında dipiridamol verilirse, direnç arterlerini zaten maksimal dilate olarak kullanan miyokart sahası kan akımını daha fazla arttıramaz ve normal dokudaki direnç arterlerinin dilate olmasıyla koroner çalma meydana gelir (29).

Endojen vazodilatörler: Prostatiklin ve NO'nun kollateralleri dilate halde tutarak kollateral akımın sağlanmasında önemli rol oynadıkları, yüksek dozda aspirin ve

indometazinin ise kollateral kan akımında önemli azalmaya yol açtığı bildirilmektedir (14, 30).

2.4.5 Kollaterallerin Fonksiyonel Kapasitesi

Olgunlaşmış kollateral arterler, kollaterale bağımlı bölgelerde istirahat ya da orta dereceli egzersizde normal düzeyde perfüzyon sağlayabilir. Fakat, maksimal egzersizde; özellikle subendokardiyal bölgelerde perfüzyon bozukluğu görülebilir (14). Öte yandan, tam olarak gelişmiş kollateraller iyi gelişmiş muskular media tabakasına sahiptir ve vazomotor fonksiyonlara sahiptir. Böylece, kollateral damar tonusu, endotel, endojen hormonlar, trombosit ürünleri ve vazoaktif ilaçlardan etkilenir. Kollateral kan akımı, Mİ sonrasında 2. haftada anjiyografik olarak gösterilebilir hale gelirken, kollateral damarların vazodilatör kapasitesi 5. haftadan önce tam olarak normal değildir.

Koroner tıkanıklık ortadan kaldırıldığında kollateraller fonksiyonel ve anjiyografik olarak gösterilemez hale gelmekte, fakat uzun zaman sonra bile aynı damar tekrar tıkanır, bir saat gibi kısa bir sürede kollateral dolaşım tekrar tam olarak sağlanmaktadır (14).

2.4.6 Kollateral Dolaşımın Önemi

Geçmişte, insanlarda koroner kollateral dolaşımla ilgili çelişkili düşünceler mevcutken artık günümüzde koroner kollaterallerin, miyokart iskemisi veya nekrozunun ciddiyetini azalttığı açıktır. Total koroner tıkanıklık olan bazı hastalarda, istirahat ventrikül fonksiyonu kollateraller sayesinde şaşırtıcı derecede iyi olmaktadır. İyi gelişen kollaterallerin suladığı miyokart bölgeleri daha iyi kontraktıl fonksiyon ve daha az fibrozis göstermektedir (1).

İyi gelişen kollateraller, miyokardı iskemik hasara karşı korurken; bunların bulunması genellikle ciddi koroner arter hastalığının işaretidir (25). Rudimenter kollateral dolaşım, normal insan kalbinde akut koroner tıkanıklık esnasında miyokart

hasarını önlemek için yeterli değildir. Total koroner tıkanıklık öncesi, kısa süreli koroner yetmezlikleri bu kollaterallerin büyümesine sebep olarak miyokart hasarını azaltacak genişliğe ulaşmaktadır. Thrombolysis In Myocardial Infarction (TIMI)-1 çalışmasında; fibrinolitik tedavi uygulanmış ve başarılı fibrinolitik kriterleri sağlanmamış hastalarda; koroner kollateral gelişim derecesi ile enzim yükselmesi ve ekokardiyografik sol ventrikül fonksiyonları arasındaki ilişki incelenmiş; iyi kollaterali olanlarda sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu daha yüksek, CPK enzim düzeyi daha düşük bulunmuştur (1,31).

Akut miyokart infarktüsü (MI) sırasında iyi gelişmiş kollaterallerin varolması daha fazla preinfarkt anjina insidansı, daha az Q dalgalı Mİ ve daha az kalp yetmezliği ile ilişkili bulunmuştur (1,32). Ayrıca, iyi kollaterali olanlarda kardiyojenik şoka bağlı hastane içi ölümlerin daha az olması ile erken dönem prognozun daha iyi olduğu gösterilmiştir (1,32).

Anjiyografik olarak görüntülenebilen kollateral damarların yokluğunda dahi, akut miyokart infarktüsünden günlerce ya da haftalarca sonra yapılan revaskülarizasyon girişimleri ile bölgesel duvar hareketlerinde iyileşme sağlanabilmektedir. Bu durumda, miyokardın canlılığının, anjiyografik olarak görüntülenemeyen kapiller düzeydeki kollateral akım ile hiberne bir şekilde korunabileceği öne sürülmüştür (1).

2.5 TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR-ALFA

Tümör nekrozis faktör alfa (TNF-alfa); başlıca makrofajlardan üretilen proinflamatuvar bir sitokindir. Yaklaşık 10 yıl önce izole edilmiştir. Pek çok kronik inflamatuvar hastalıklarda TNF-alfa, fazla miktarda veya uygunsuz üretilmektedir. Lipopolisakkarid gibi inflamatuvar bir uyarıya cevap olarak salgılanır ve hemen hemen vücudun her yerinde bulunan reseptörlere bağlanarak etki eder (33). TNF-alfa sistemik olarak fazla miktarda salgılandığı takdirde endotel hücrelerin antikoagulan özelliklerini modifiye eder, nötrofilleri aktive eder ve inflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarır. Bütün bunlar kardiyovasküler kollapsa neden olabilir. TNF-alfa'nın az miktarda kronik üretimi de inflamatuvar cevaba katkıda bulunabilir (33).

Ayrıca TNF-alfa'nın kemik resorpsiyonu, ateş, anemi, insülin rezistansında da rol oynadığı düşünülmektedir (34).

TNF-alfa, yapısal olarak benzer reseptör ailesini aktive eden bilinen 10 ligand ailesinin üyelerinden biridir. Bu reseptörler hücre çoğalması ve programlı hücre ölümünü (apoptoz) başlatırlar (33). Normal büyüme, gelişme ve immün sistem fonksiyonları açısından gereklidirler. Bu reseptörlerin fazla uyarılması ciddi inflamatuvar reaksiyonlara, doku harabiyetine ve şoka neden olabilir.

TNF-ligand ailesinin üyeleri 3 polipeptid zincirden oluşur. TNF reseptör ailesinin üyeleri ise iki aynı alt ünite içeren transmembrane proteinlerdir. TNF-alfa; affinitesi birbirine benzer iki reseptöre bağlanır. Bunlar p55 (TNFR-1) ve p75 (TNFR-2) dir (34). TNFR-1 her yerde eksprese edilirken, TNFR-2 daha çok endotel ve hematopoetik hücrelerde eksprese edilir (35). TNFR-1 daha çok TNF-alfa tarafından uyarılan inflamasyon ve hücre ölümünü gerçekleştirir. TNFR-2 ise, TNFR-1 tarafından uyarılan hücre ölümünü kolaylaştırırken hücre çeşidine göre hücre aktivasyonu, göçü, büyümesi ve bölünmesini destekler (35). Kevin Krasinski ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada; TNF-alfa'nın etkisi bloke edildiğinde balon anjiyoplasti sonrası endotel iyileşmesinin hızlandığı gösterilmiştir (34). Hiroyuki Tanaka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise; balon anjiyoplasti sonrası vasküler hücre adezyon molekülü-1 ve intersellüler adezyon molekülü-1 gibi adezyon moleküllerinin çoğalan endotel ve düz kas hücreleri tarafından sürekli üretildiği ve bunda rol oynayan önemli sitokinlerden birinde TNF-alfa olduğu gösterilmiştir (8). Gene Imo E. Hoefer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da; TNF-alfa'nın p55 reseptörleri üzerinden pozitif yönde arteriogenezi uyardığı gösterilmiştir (36).

Erken aterosklerozda ve balon anjiyoplasti sonrası restenozda miyofibroblastların intimaya göç etmesi, çoğalması ve matriks depolanması (neointimal hiperplazi) görülür. John E. Rectenwald ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada in vivo TNF-alfa'nın neointimal hiperplaziyi potansiyelize ettiği gösterilmiştir (37). David A. Goukassian ve arkadaşlarının yaptığı in vivo çalışmada da; endotel hücre ve

endotelial öncül hücre sağkalımı, vasküler endotelial büyüme faktörü ekspresyonu, kemik iliğinden endotelial öncül hücre mobilizasyonu, endotelial öncül hücre farklılaşması ve iskeminin tetiklediği kollateral damar oluşumunun TNFR2 (p75) reseptörü üzerinden TNF-alfa'nın gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir (38). Başka bir çalışmada ise; TNFR-1 inhibisyonu ve TNFR-2 uyarılması ile iskemi tarafından uyarılan anjiyogenez ve arteriogenozin desteklendiği gösterilmiştir (35). Luis F. Fajardo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada düşük doz TNF-alfa (0,01-1 ng) anjiyogenezi uyarırken, yüksek doz TNF-alfa (1 ve 5 microgram) anjiyogenezi inhibe etmektedir. TNF-alfa'nın lokal doku konsantrasyonuna göre etkisinin değişebileceği gösterilmiştir (9). Marijke Frater-Schröder ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada in vitro TNF-alfa endotel hücre çoğalmasını inhibe ederken in vivo inhibe etmediği hatta yüksek dozda (10 microgram) FGF tarafından uyarılan anjiyogenezi baskılamadığı neovaskülarizasyonu uyardığı gösterilmiştir (39).

2.6 MİYELOPEROKSİDAZ

Miyeloperoksidaz; polimorfonüveli nötrofillerden salınan bir hem proteindir. Bağışıklık sisteminin bir parçası olarak esas bakterisidal bir enzim olarak görev yapar. Nötrofillerin toplam protein miktarının %5'ini oluşturur. Nötrofillerden başka monositlerde ve bazı doku makrofajlarında bulunur (39). MPO, polimorfonüveli nötrofillerin (PMNL) ve monositlerin azurofilik granüllerinde depo edilir. Hücrel aktivasyon ve degranülasyon sırasında MPO fagositik vakuoller içinde hücre dışı alana salınır. MPO, kemik iliğinde öncül molekül olarak miyeloid farklılaşması sırasında sentezlenir, PMNL dolaşıma girmeden önce proses tamamlanır (39). Monositler makrofajlara farklılaşırken mieloperoksidaz enzimlerini kaybederler. Lökositler dışında MPO karaciğerde Kupffer hücrelerinde (40), mikroglialarda, granül içeren nöronlarda ve beyinde hippokampüsteki piramidal nöronlarda bulunur (41).

MPO; 144 kD molekül ağırlığı olan disülfid köprülerle birbirine bağlı iki aynı dimerden oluşan katyonik bir proteindir. Her dimer fonksiyonel olarak aynı hem grupları olan bir hafif ve bir ağır zincir alt ünitesinden oluşur (10). MPO,

laktoperoksidaz, eozinofil peroksidaz ve tiroid peroksidazın da içinde bulunduğu peroksidaz ailesine üyedir. MPO geniş bir pH spektrumu içinde fonksiyonel olsada optimum reaksiyon pH 5,5'da iken gerçekleşir. Tüm MPO sistemi enzim MPO, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve okside olabilen kofaktörlerden oluşur (39). Bu yapı içerisinde demir ferrik formda (MPO-Fe III) bulunur. H₂O₂ varlığında okside olur ve böylece nötrofillerin bakterisidal etkisinde önemli rol oynadığı düşünülen HOCl oluşur (42). HOCl ; protein, DNA, lipid ve kolesterol gibi çeşitli yapılarla reaksiyona girer (43). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda, MPO tarafından üretilen HOCl 'nin eNOS aktivitesini etkileyerek NO biyoyararlanımını azalttığı ve böylece vasküler disfonksiyona yol açtığı gözlenmiştir (44,45). Yapılan bazı çalışmalarda da HOCl'nin, VLDL, LDL gibi lipoproteinleri okside ederek makrofajlar tarafından kolesterol ester alımını kolaylaştırdığı gösterilmiş ve böylece MPO'nun aterosklerozun ilerlemesine katkıda bulunduğu düşünülmüştür (46,47).

Wegener's granülomatozis, mikroskopik poliarteritis gibi sistemik vaskülit olan hastaların serumlarında antinötrofil sitoplazmik otoantikorlar (ANCA) tespit edilmiştir. Bu antikorlar proteinaz 3 (PR3) (pANCA) ve miyeloperoksidaza (cANCA) karşı üretilmiştir. Reumaux ve arkadaşlarının yaptığı in vitro çalışmada TNF-alfa'nın ANCA aracılı nötrofil aktivasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (48). Ani kardiyak ölüm ve kalp yetmezliğinin en büyük sebeplerinden biri akut miyokart infarktüsü sonrası gelişen sol ventrikül yeniden şekillenmesi ve dilatasyonudur. İnfarkt bölgesinde biriken nötrofil ve monositlerden salgılanan MPO, proteinleri okside ederek biyolojik fonksiyonlarını bozar ve bu prosesin gerçekleşmesine yardımcı olur. Askari ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada, MPO enzimi olmayan farelerde akut miyokart infarktüsü sonrası lökosit infiltrasyonu ve sol ventrikül dilatasyonu azalmış ve sol ventrikül fonksiyonları büyük ölçüde korunmuştur (49).

2.7 C-REAKTİF PROTEİN

CRP eskiden sadece bir inflamasyon belirtici olarak kabul görürken, artık vasküler inflamatuvar sürecin de bir göstergesi olduğu bilinmektedir. CRP bir akut faz reaktanı olup primer olarak karaciğerde özellikle IL6, IL1, TNF-alfa uyarılması sonucu

sentezlenmektedir (50). Aynı zamanda lokal olarak koroner intimal ve medyal düz kas hücreleri tarafından da sentezlenebilir (51,52). Klasik kompleman sistemi aktivasyonunda rol oynayan immüitenin bir parçasıdır. Ayrıca insan endotel hücrelerinde IL-6 ve endotelin-1 salınımını indükler ve endotelial nitrik oksit sentazı azaltır. Makrofajların sitokin ve doku faktörü salınımını artırmasının yanında, LDL'nin makrofaj tarafından alınmasını da uyarır (53,54,55).

CRP'nin plazma konsantrasyonu, dolaşıma salınan sitokin konsantrasyonu ve inflamatuvar mediyatörlerin indüklemesine bağlı olarak değişir. Dolayısıyla CRP konsantrasyonu, beyaz küre aktivasyonu ve inflamatuvar aktivitenin doğru ve objektif bir indekstir (62,63). Yarı ömrü 19 saat olan CRP'nin dolaşımdan temizlenmesi organ yetmezlikleri gibi başka faktörlerden etkilenmemektedir (56,57). Gün içerisinde CRP düzeyleri diurnal varyasyon göstermez. Ölçümü kolay ve rutin olarak yapılabilen bir tetkiktir.

Sağlıklı bireylerde normal serum konsantrasyonu <3mg/L olan CRP'nin, akut faz durumlarında konsantrasyonu binlerce kat artabilir. İnflamatuvar durumun ortadan kalkmasıyla birkaç gün içerisinde normal seviyelerine döner (56,57). Kandaki CRP konsantrasyonunu artıran diğer durumlar aynı zamanda endotel hasarına da sebep olan sigara kullanımı, obezite, yüksek kan basıncı, yüksek trigliserid düzeyleri, diyabet ve insülin rezistansıdır (56).

CRP'nin eNOS aktivitesini azaltarak anjiyogeneze olumsuz rol oynadığı düşünülse de Marta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CRP'nin endotel hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü arttırdığı ve böylece anjiyogenezi uyardığı gösterilmiştir (12). Bununla beraber başka bir çalışmada, anjiyogenezin önemli yapıtaşlarından biri olan endotelial öncül hücrelerin sağkalımının, farklılaşmasının ve fonksiyonlarının CRP tarafından inhibe edildiği saptanmıştır (58). S.Güleç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, yüksek serum CRP seviyesinin koroner kollateral gelişimini kötü yönde etkilediği gösterilmiştir (3).

Serum CRP konsantrasyonu yüksekliğinin kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğu ve koroner arter hastalarında prognostik değeri olduğu yönünde kanıtlar mevcuttur. Kardiyovasküler risk değerlendirmesi için CRP ölçümü yüksek duyarlı CRP (hsCRP) kullanılarak yapılmaktadır. hsCRP ölçümü ile 10 mg/L'nin altındaki hassas değerler de ölçülebilmektedir. Sağlıklı bireylerde ölçülen serum hsCRP düzeyleri uzun dönem miyokard infarktüsü, iskemik inme ve periferik vasküler hastalık riskini öngörmektedir (59,60). Bilinen koroner arter hastalarında ise yüksek hsCRP seviyeleri yüksek kardiyovasküler risk ile ilişkili olduğundan, bu hastalarda daha agresif medikal tedavi ve yakın takip gerektiği görüşü savunulmaktadır (59,56).

2.8 BEYAZ KÜRE

İnflamasyona hücresel yanıtta önemli hücrelerden biri beyaz küredir. Normal immün yanıtın oluşmasında alt grupları rol oynamaktadır. Yaygın kullanımı olan, diğer inflamatuvar göstergelere göre daha stabil ve standardizasyonu daha iyi olan beyaz küre ölçümünün, kardiyovasküler mortalite de sigara içmek ve yaş gibi bağımsız öngörücü olduğu düşünülmektedir (61). Hajj Ali ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, yüksek beyaz küre değerlerinin toplam kardiyovasküler ölüm ile ilişkisi gösterilmiştir (62).

Mononükleer hücrelerin (monosit/makrofaj, T-lenfosit) aterosklerotik plak gelişiminde ve kararsız koroner arter plak patogenezindeki etkisi bilinmektedir. Akut koroner sendrom ve iskemik kalp hastalığında nötrofil ve monosit adezyon molekülleri ile polimorfonüveli lökosit ve monosit aktivasyonun diğer belirteçlerinin (CD11b, CD18 gibi) arttığı görülmüştür (63). Hayvan model çalışmalarında aterosklerotik kararlı ve kararsız plağa direkt nötrofil infiltrasyonu gösterilmiştir (64). Plak yapısında olan nötrofiller superoksit radikalleri, proteolitik enzimler ve arazidonik asit metabolitlerinin artmasını sağlayarak plak rüptürünü kolaylaştırmaktadır. Lökositlerin miyokardiyal iskemi/nekroz sınırında trombositleri aktive ederek tıkaçıcı lezyonlar oluşmasını tetiklediği düşünülmektedir (65). Akut MI ile oluşan nekrotik miyokart dokusunda ve miyokardın iyileşme döneminde ise lökosit infiltrasyonunun rolü olduğu iyi bilinmektedir.

Arras ve arkadaşlarının tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada da, kollateral arterlerin geliştiği maksimum çoğalma döneminde monositlerin ve makrofajların biriktiği ve bu bölgenin TNF-alfa ve bFGF ile boyandığı gösterilmiştir (66). Yapılan bir diğer çalışmada da MCP-1'in (monosit kemotaktik protein-1) arteriogenezi uyardığı ve özellikle monositlerin bu olayda anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (67).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 ÇALIŞMA PROTOKOLÜ

3.1.1 Hasta alımı:

Ekim 2008-Nisan 2009 tarihleri arasında, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı koroner anjiyografi laboratuvarında elektif koroner anjiyografi yapılarak en az bir koroner arterinde %95 ve üzerinde darlığı ve TIMI-1 akım bulunan ya da tam tıkalı lezyonu bulunan hastalar çalışmaya alınmak üzere değerlendirildi. Son 30 gün içerisinde perkütan koroner girişim uygulanan, ciddi darlık veya tam tıkalı lezyonun distaline son 30 gün içerisinde bypass yapılan ve akut veya kronik enfeksiyöz hastalığı ve kanser bulunan hastalar çalışmaya alınmadı. Değerlendirmeye alınan 320 hastadan 295 tanesi kriterlere uygundu ve çalışmaya dahil edildi.

3.1.2 Biyokimyasal Çalışmalar

Çalışmaya dahil edilen hastalardan koroner anjiyografi sonrası, arteriyel kateterden 5 ml kan örneği, vacutainer (Becton-Dickenson, ABD) tüplerine alınarak 1 saat içerisinde 5000 devir/dk da 15 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serumlar -20°C'deki derin dondurucu içerisinde saklandı. Hasta alımı bittikten sonra saklanmakta olan serumlarla immünoloji laboratuvarında TNF-alfa ve MPO düzeyleri belirlendi. MPO, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle (Imtec MPO ANCA. Wiesbaden-Almanya, Referans aralığı: 10 U/ml nin altındaki değerler: negatif, 10-20 U/ml: sınırda, 20U/ml nin üstündeki değerler pozitif) ve TNF-alfa, ELISA yöntemiyle (Biosource, Carlsbad, California, Amerika Birleşik Devletleri) çalışılmıştır. MPO ve TNF- α Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesi Klinik İmmünoloji ve Romatoloji Bilim Dalı immünoloji laboratuvarında değerlendirilmiştir. High sensitif-CRP nefelometrik yöntemle (CardioPhase hsCRP,BN II nefelometre, Dade- Behring –Almanya), beyaz küre düzeyleri Beckman Coulter LH 750 otomatik

kan sayım analizatöründe VSC prensibine göre İbni Sina Hastanesi merkez laboratuvarında ölçülmüştür.

Koroner anjiyografi için yatış yapan hastalardan rutin olarak istenen biyokimyasal kan parametreleri 12 saat açlık sonrası alınan kan örneği ile çalışıldı. LDL kolesterolün >100 mg/dl olması veya lipid düşürücü ilaç kullanımı hiperlipidemi olarak kabul edildi. Sistolik kan basıncı en az iki ölçümde ≥ 140 mmHg ve/veya diastolik kan basıncı en az iki ölçümde ≥ 90 mmHg olan hastalar ve/veya antihipertansif kullanan hastalar hipertansif olarak kabul edildi. Son 12 ayda düzenli sigara kullanımı sigara içiciliği olarak tanımlandı. Oral antidiyabetik veya insülin kullanan veya açlık kan şekeri en az iki kez >126 mg/dl saptanan hastalar diyabetik olarak kabul edildi. Aile hikayesi, 1.derece akrabalarından herhangi birisinde erkeklerde 55, kadınlarda 65 yaşından önce angina, miyokard infarktüsü, ispatlanmış koroner arter hastalığı, koroner revaskülarizasyon veya ani ölüm varlığı olarak tanımlandı. İki aydan daha uzun bir süredir olan eforla gelen retrosternal göğüs ağrısı kararlı angina pectoris, iki ay içerisinde başlayan veya son iki aydır giderek artan göğüs ağrısı kararsız angina pectoris, kardiyak enzim yüksekliği, göğüs ağrısı ile beraber EKG'sinde ST yüksekliği bulunan hastalar ST yükselmeli miyokart infarktüsü olarak tanımlanırken EKG'sinde ST yükselmesi dışında değişiklik bulunan hastalar ST yükselmesiz miyokart infarktüsü olarak tanımlandı.

Rutin biyokimyasal tetkikler (açlık kan şekeri, böbrek ve karaciğer fonksiyonları, hs CRP, tam kan, HbA1c, total kolesterol, LDL, HDL, trigliserid), Ankara Üniversitesi İbn-i Sina Hastanesi merkez laboratuvarında çalışıldı. LDL kolesterol Friedewald metodu ile hesaplandı.

3.1.3 Koroner anjiyografi

KAG işlemi için lokal anestezi sonrası Seldinger yöntemiyle ponksiyonu takiben femoral artere 6F veya 7F kılıf yerleştirildi. Aort köküne kadar ilerletilmiş olan 0.038 inçlik kılavuz tel üzerinden sağ ve sol koroner arter sistemi için ayrı olarak imal edilmiş olan 6F veya 7F'lik koroner anjiyografi kateterleri ilerletildi. Kılavuz telin çıkarılmasını takiben sağ ve sol koroner arter ostiumlarına oturulup opak madde

verilerek farklı açılardan sağ ve sol koroner arter sistemi ayrı ayrı görüntülendi. Koroner anjiyografi işlemi bittikten sonra vakalar hakkında bilgisi olmayan birbirinden bağımsız 2 kişi tarafından ayrı ayrı görüntüler izlendi ve aşağıdaki sisteme göre kollateral arter derecesi belirlendi. Tıkalı olan koroner artere kan akımı sağlayan kollaterallerin anjiyografik derecelendirilmesi Cohen-Rentrop'un sınıflandırmasına göre yapıldı. Buna göre;

Grade 0: Hiç kollateral akım olmaması

Grade 1: Tıkalı arterin sadece yan dallarının görüntülenmesi, epikardiyal segmentin görüntülenememesi,

Grade 2: Epikardiyal segmentin sadece bir kısmının görüntülenip, tamamının görüntülenememesi,

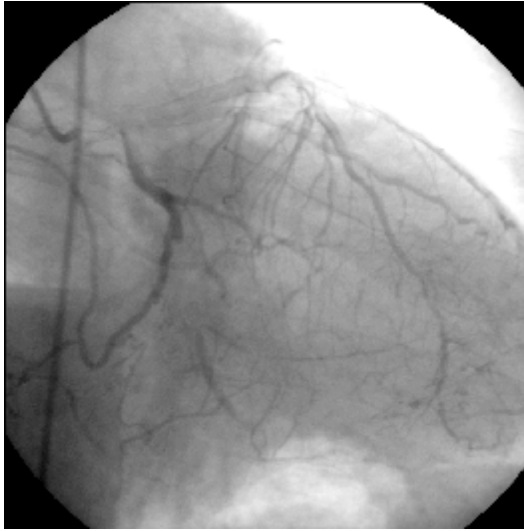
Grade 3: Epikardiyal segmentin kollateral akımla tamamen görüntülenmesi olarak değerlendirildi.



(A)(Grade 0)



(B)(Grade 1)



(C)(Grade 2)



(D)(Grade 3)

Şekil 3.1: A ve D) LAD'de (sol ön inen arter) tam tıkanıklığı olan bir hastada RCA'ya (sağ koroner arter) kontrast madde injeksiyonunu takiben, LAD şekil 3.1A'da grade 0, şekil 3.1D'de grade 3 kollaterallerle retrograd olarak görüntüleniyor, B) RCA'da (sağ koroner arter) tam tıkanıklığı olan bir hastada anjiyografik olarak grade 1 kollateraller görüntüleniyor, C) CX 'in (sirkumfleks arter) obtus dalında tam tıkanıklığı olan bir hastada CX'in distali grade 2 kollaterallerle retrograd görüntüleniyor.

3.1.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS programı (version 11.5, SPSS Inc, Chicago, IL) ile yapıldı. Kategorik değişkenler yüzde olarak, sayısal değişkenler aritmetik ortalama $\pm$ standart deviasyon (SD) şeklinde ifade edildi. Gruplar arasındaki fark normal dağılımı olanlarda student-t testi, olmayanlarda Mann-Whitney U testi kullanılarak incelendi. Anormal dağılım gösteren parametreler ile kollateral derecesi arasında doğrusal ilişkinin olup olmadığı Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi. İyi kollateralin bağımsız göstergeleri çok değişkenli lojistik regresyon analizi ile incelendi. p değerinin $<0,05$ olması durumunda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Hastaların klinik ve anjiyografik özellikleri:

Çalışmamıza yaşları 25 ile 85 arasında değişen ve yaş ortalamaları 63 ± 10 olan, 77'si kadın (%26), 218'i erkek (%74) olmak üzere toplam 295 hasta alındı. Yaş ortalaması erkeklerde 62, kadınlarda ise 65 olarak bulundu. Kadınların yaş ortalaması erkeklere nazaran daha fazlaydı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,012$) (Tablo 4.1).

Anjiyografik olarak grade 2 ve 3 kollaterali olanlar iyi, grade 0 ve 1 kollaterali olanlar ise kötü kollateral grubunu oluşturdu. İyi kollaterali olanlar ile kötü kollaterali olanlar yaş, cinsiyet, hipertansiyon , diabetes mellitus , sigara, aile öyküsü, hiperlipidemi, lezyonun bulunduğu arter, kararlı angina pectoris öyküsü, beta bloker, ADE-I/ARB, asetil salisilik asit, statin ve nitrat kullanımı, miyokart infarktüsü (MI) öyküsü, HDL, LDL, total kolesterol, trigliserit ve açlık kan şekeri düzeyleri açısından karşılaştırıldı (Tablo 4.1). Bunların içinden iyi kollateral grubunda kararlı angina pectoris öyküsü olanların oranı daha fazla saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. (%61,5 ile %48,4, $p=0,025$) Ayrıca kollateral alan arterler karşılaştırıldığında RCA (sağ koroner arter) lezyonu iyi kollaterali olanlarda daha fazla bulunurken (%71 ile %47,6, $p<0,0001$); CX (sol sirkumfleks arter) lezyonu kötü kollateral grubunda daha fazla gözlendi (%23,8 ile %8,9, $p<0,0001$). Bunun dışındaki bazal demografik özellikler bakımından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Grupların klinik ve anjiyografik özellikleri

	Grup 1: İyi kolateral (n=169)	Grup 2: Kötü kollateral (n=126)	p değeri
Yaş (ort±SD), yıl	63±10,6	63±10,2	0,996
Cinsiyet (E/K), n	127/42	91/35	0,571
Hipertansiyon, n (%)	124(73,4)	91(72,2)	0,826
Diabetes mellitus, n (%)	64(37,9)	48(38,1)	0,969
Sigara, n (%)	62(36,7)	44(34,9)	0,755
Hiperlipidemi, n (%)	84(49,7)	59(46,8)	0,625
Aile öyküsü, n (%)	65(38,5)	56(44,4)	0,301
Kararlı angina pectoris öyküsü, n(%)	104(61,5)	61(48,4)	0,025
Tıkalı arter	LAD, n (%) Cx, n (%) RCA, n (%)	38(22,5) 36(28,6) 30(23,8) 60(47,6)	0,233 <0,0001 <0,0001
Beta bloker, n (%)	120(71)	91(72,2)	0,819
ADE-İ/ARB, n (%)	138(81,7)	93(73,8)	0,106
Nitrat, n (%)	91(53,8)	70(55,6)	0,771
Asetilsalisilik asit, n (%)	164(97,0)	125(99,2)	0,193
Statin, n (%)	126(74,6)	103(81,7)	0,143
Miyokart infarktüsü öyküsü, n (%)	76(45)	57(45,2)	0,964
LDL (mg/dl)	107,5±39,7	107±36,8	0,912
Total kolesterol (mg/dl)	178±45,5	181,5±45,8	0,515
HDL (mg/dl)	41,1±26,7	40,2±12,2	0,719
Trigliserid (mg/dl)	153,6±80,4	171,2±115,6	0,328
AKŞ (mg/dl)	120,6±60,5	124,5±66,9	0,979

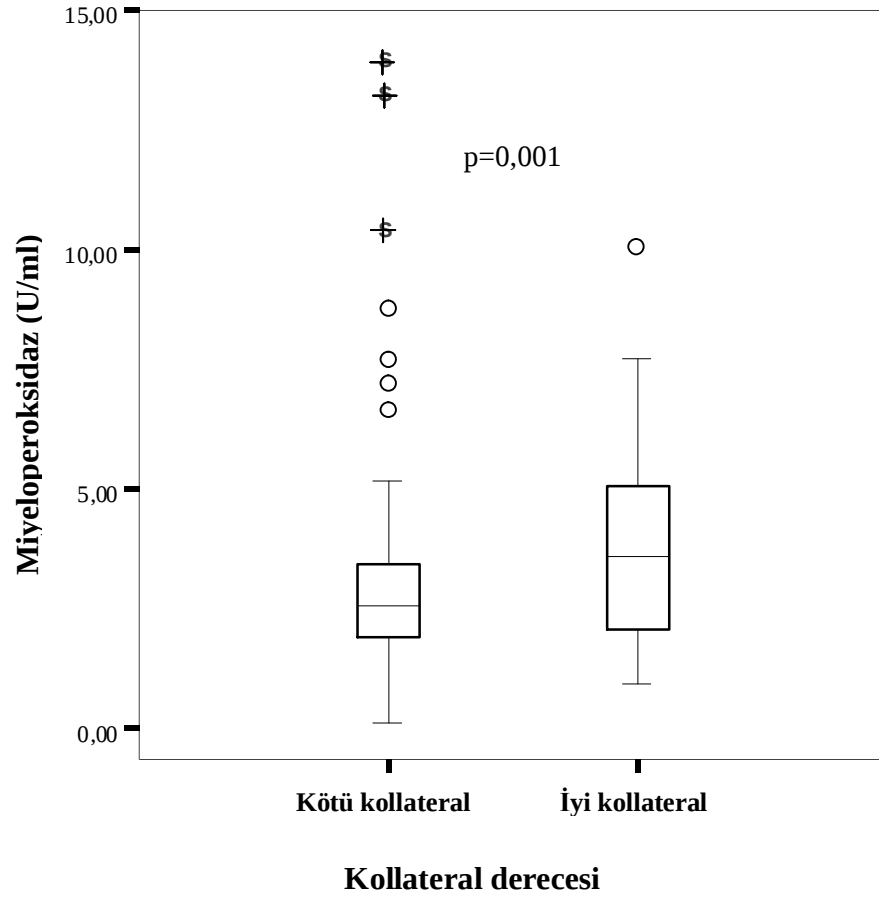
(E=Erkek, K=Kadın, Cx=Sol sirkumfleks arter, LAD=Sol ön inen arter, RCA=Sağ koroner arter, ADE-İ=anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü, ARB= anjiyotensin reseptör blokörü, AKŞ=açlık kan şekeri, ort±SD=Ortalama ± standart sapma)

Tablo 4.2 de gruplar TNF-alfa, MPO, hsCRP düzeyleri, beyaz küre sayısı ve alttipleri açısından karşılaştırıldı. Gruplar arasında hsCRP düzeyi, TNF-alfa düzeyi, beyaz küre sayısı ve alttiplerinin düzeyleri benzer bulundu, anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.2). MPO düzeyi de iyi kollaterali olan grupta daha yüksek saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($3,7\text{U/ml}$ ile $3,0\text{U/ml}$, $p=0,001$) (Tablo 4.1, Şekil 4.2). Ayrıca MPO düzeyi ile kollateral derecesi arasında korelasyon analizi yapıldığında p değeri anlamlı olmasına karşılık korelasyon olmadığı gözlemlendi ($p=0,009$, $r=0,15$) (Şekil 4.2).

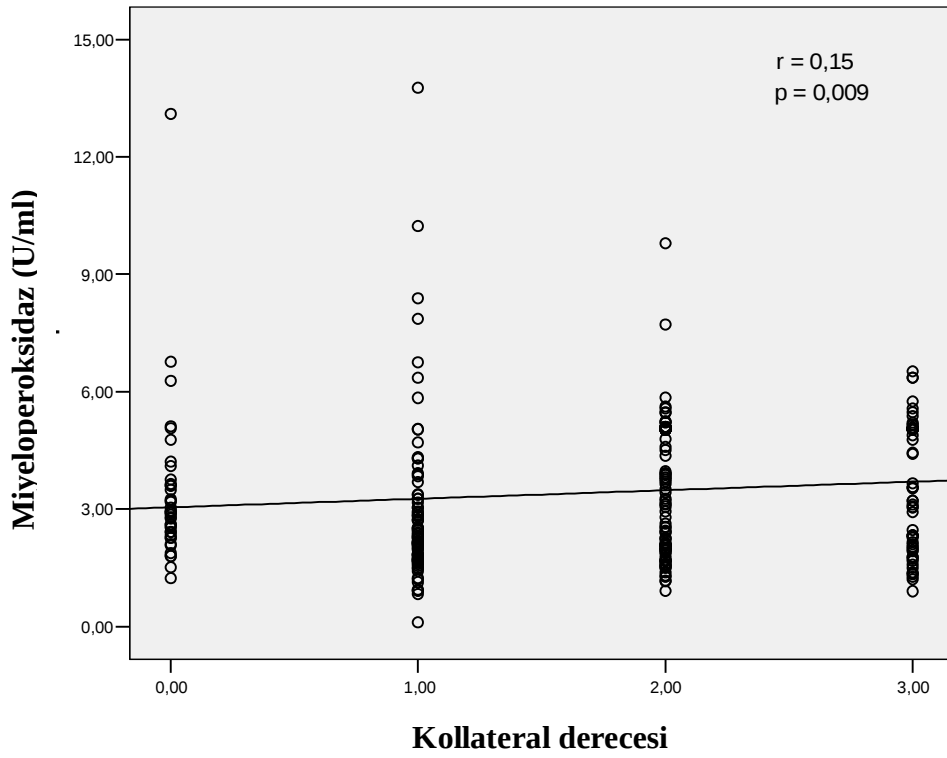
Tablo 4.2: İnflamatuvar belirteçler ile kollateral gelişimi arasındaki ilişki

	Grup 1: İyi kollateral (n=169) ortalama±SD	Grup 2: Kötü kollateral (n=126) ortalama±SD	p değeri
TNF alfa (pg/mL)	37,9±117,2	25,8±47,4	0,940
MPO (U/ml)	3,7±2,0	3,0±2,0	0,001
hsCRP (mg/L)	13,7±19,5	13,7±21,2	0,990
BK ($\times 10^9$ cells/L)	8400±3000	8500±2700	0,622
Nötrofil (%)	64,9±11,2	63,4±9,6	0,235
Lenfosit (%)	24,4±9,4	24,5±7,9	0,873
Monosit (%)	8,0±2,7	7,8±2,5	0,438

(BK=beyaz küre, MPO=miyeloperoksidaz, TNF-alfa=tümör nekrozis faktör alfa, SD=standart sapma)



Şekil 4.1: İyi ve kötü kollateral grubunda MPO düzeylerinin kutu-nokta grafiği ile gösterilmesi (p = 0,001).



Şekil 4.2: Kollateral derecesi ile MPO seviyesi arasındaki ilişkinin korelasyon nokta grafiği ile gösterilmesi

Çok değişkenli lojistik regresyon analizi yapıldığında, yüksek MPO düzeyinin ve kararlı angina pectoris öyküsünün iyi kollateral arter gelişiminin bağımsız öngörücüsü olduğu saptandı (OR 2,7; CI %95 1,7-4,3; $p < 0,0001$), (OR 1,7; CI %95 1,05-2,8; $p = 0,03$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: İyi kollateral arter gelişiminin öngörücüleri

	p değeri	OR	CI %95
Kararlı angina pectoris öyküsü	0,03	1,7	1,05-2,8
MPO (>2,91U/ml)	<0,0001	2,7	1,7-4,3

5. TARTIŞMA

İnsan kalbinde iyi gelişmiş kollateral damarların varlığı miyokart iskemisi ve infarktüsüne karşı kalbi korumakta, infarktüs sonrasında daha az Q dalgalı MI, sol ventrikül anevrizması, kalp yetmezliği gelişmesini sağlayarak hastane içi ve uzun dönem prognoza olumlu yönde etki etmektedir (2, 3, 4). Kollateral gelişimi yeni kapillerlerin tomurcuklanması ile karakterize olan anjiyogenez ya da doğumdan itibaren normal kalplerde mevcut olan fakat işlev görmeyen interkoroner anastomoz kanallarının büyüyüp olgunlaşması (yeniden şekillenmesi) ile karakterize olan arteriyogenez yoluyla olmaktadır (5). Arteriyogenez ile oluşan damarlar vazomotor fonksiyonlara sahip üç katmanlı damar yapısına sahip olmaları nedeniyle anjiyogenez ile oluşan ve sadece besin alışverişi yapabilen ince kapillerlere göre miyokardı iskemiyeye karşı korumada daha üstündürler (5,16). Bu nedenle kollaterallerin faydalı etkilerinin daha çok arteriyogenez mekanizmasıyla oluşan damarlardan kaynaklandığı beklenmektedir.

Tek damar hastalıklarında arteriyogenez ön planda iken, çok damar hastalığında arteriyogenez ve anjiyogenez birlikte görülmektedir (2). Ayrıca koroner tıkanıklık sonrası kollaterallerin gelişim sürecinin tamamlanması ve anjiyografik olarak görünür hale gelmesi için iki ila beş hafta sürenin geçmesi gerekmektedir (68). Çalışmamıza sadece tam tıkalı (anatomik ya da fonksiyonel) lezyonları olan ve tıkanıklığın bir aydan daha uzun süreli olduğu düşünülen vakalar alınmıştır. Kollaterallerin derecelendirilmesi Cohen ve Rentrop sınıflandırmasına göre yapılmıştır (69). Buna göre grade 0 ve 1 kollaterali olanlar kötü, grade 2 ve 3 kollaterali olanlar iyi kollateral grubu olacak şekilde hastalar iki gruba ayrılmıştır. Rivard ve arkadaşlarının ilerlemiş yaş ile birlikte görülen endotel disfonksiyonuna bağlı olarak azalmış NO ve iskemik dokulardan azalmış VEGF salınımı sebebiyle anjiyogenezin bozulduğunu belirtmişlerdir (70). Bizim çalışmamızda gruplar arasında yaş ortalamaları benzer şekilde bulunmuştur.

Ciddi arter tıkanıklıklarından sonra artan makaslama gücü sonucu arteriyogenez uyarılır (71). Bu mekanizmada MCP-1'in (monosit kemotaktik protein-1) etkili

olduğu düşünülmektedir (5). Başlangıçta makaslama gücü maksimum iken kollateral damarların çapı arttıkça bu güç giderek azalır (72). Hipertansiyonun da bu mekanizmayı kolaylaştırıcı rol oynayacağını varsayarsak kollateral gelişimini olumlu yönde etkileyebileceğini düşünebiliriz. Bizim çalışmamızda da iyi kollateral grubunda hipertansiyon hastalığı daha fazla saptanmış fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Diabetes mellitus, retinada anjiyogenezi stimule ederek körlüğe bile yol açabilmektedir. Abacı ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 205 diyabetik hasta diyabetik olmayan kontrol grubu ile koroner kollateral derecesi açısından karşılaştırılmıştır. Hastaların kollateral derecesi Cohen-Rentrop kriterlerine göre yapılmış ve her hastanın toplam kollateral skoru belirlenmiştir. Her iki grupta bazal demografik veriler ve koroner darlıkların ciddiyeti benzer bulunsada diyabetik hasta grubunda ortalama hastalıklı damar sayısı istatistiksel olarak anlamlı daha fazla bulunurken, kollateral skoru anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Bunun diyabete bağlı bozulmuş endotel fonksiyonu nedeniyle NOS aktivitesindeki azalmadan kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (73,74). Schaper, DM’de anjiyogenezi artarken arteriyogenezin azaldığını öne sürmüştür (74). Abacı ve arkadaşlarının çalışmasında kollateral sınıflandırması anjiyografik olarak Cohen ve Rentrop kriterlerine göre yapılmış ve muhtemelen sadece arteriyogenez ile oluşan kollateraller görüntülenebilmiştir. Anjiyogenezi ile oluşan kapillerler değerlendirilememiştir. Ayrıca 112 hasta ile yapılan başka bir çalışmada da diyabetin anjiyografik olarak görüntülenen kollateral gelişiminde etkisi gösterilememiş, bunun yanında aynı hastalarda bakılan miyokardiyal tülleme skoru diyabet ile ters orantılı saptanmıştır (75). Bizim çalışmamızda 112 diyabetik hasta mevcuttu ve DM sıklığı açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Biz çalışmamızdaki bu sonucun, hasta sayısının az olmasından ve anjiyogenezi ile oluşan damarların gösterilememiş olabileceğinden kaynaklandığını düşündük, ayrıca çalışmamızda her iki grup arasında hastalıklı damar sayısını karşılaştırmadık.

Landmesser ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, statinlerin eNOS aktivitesini arttırarak endotelial öncül hücrelerin hareketini kolaylaştırdığı ve miyokardiyal

neovaskülarizasyonu arttırdığı gösterilmiştir (76). Yapılan diğer çalışmalarda da statin tedavisinin kollateral gelişimini olumlu yönde etkilediği saptanmıştır (77,78). İ. Dinçer ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, en az bir koroner arterinde %95 ve üzerinde tıkanıklığı olan 400 hasta çalışmaya alınmış ve bunlardan 196 tanesinin statin kullandığı saptanmıştır. İyi ve kötü kollateral grupları karşılaştırıldığında statin tedavisi, kararlı angina pectoris öyküsü ve çoklu damar hastalığının kollateral gelişimini olumlu yönde etkilediği gösterilmiş ve 149 diyabetik hasta üzerinde yaptıkları diğer bir çalışmada da kararlı angina pectoris öyküsü ve statin tedavisi iyi kollateral gelişiminin bağımsız öngörücüsü saptanmıştır (79,80). Fakat 400 hastalık çalışmada 3 aydan daha kısa süre, 10 mg ve altında veya bunun eşdeğerinde statin kullanan hastalar açısından bakıldığında her iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda da kararlı angina pectoris ve yüksek MPO düzeyi iyi kollateral gelişiminin bağımsız öngörücüsü bulunmuştur. Statin kullanımı ise kötü kollateral grubunda daha fazla bulunmuş olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Bu sonucun diğer çalışmalardan farklı çıkması, çalışmamızda statin dozları ve kullanım süresi açısından ayrıca inceleme yapmadığımızdan kaynaklanmış olabilir.

Nitrik oksit hem anjiyogenez hem de arteriyogenezde önemli rol oynamaktadır. Nitrik oksitin direkt olarak vasküler düz kas hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve antianjiyojenik olduğunu iddia eden çalışmalar mevcutsa da, bir çok çalışmada NO' nun büyüme faktörlerini uyararak ya da büyüme faktörlerinin etkisine aracı olarak kollateral gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (5,6,16,81,82). Oral nitrat preparatları da nitrik oksit açığa çıkartarak etki göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise kötü kollateral gelişen grupta oral nitrat kullanımı daha fazla bulunsada bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

İnflamasyon; bilindiği gibi aterosklerozun progresyonundaki temel mekanizmadır. CRP'de proaterojenik ve proinflamatuvar özellikleriyle bu mekanizma içinde yer alır. Yapılan çalışmalarda CRP'nin ICAM, VCAM, E-selektin gibi adezyon moleküllerini ve bazı kemokinlerin üretimini arttırdığı gösterilmiştir (83,84). Subodh Verma ve

arkadaşlarının yaptığı çalışmada da nitrik oksit üretimini azalttığı ve anjiyogenezi inhibe ettiği saptanmıştır (85).

Son yapılan çalışmalarda CRP'nin endotelial öncül hücrelerin farklılaşmasını ve sağ kalımını kötü yönde etkilediği ve böylece bu hücrelerin anjiyojenik ve arteriyojenik fonksiyonlarını bozduğu ileri sürülmüştür (58,86). Oysa Marta Turu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CRP in vitro anjiyogenezi uyarmıştır (12). Güleç ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da, en az bir koroner arterinde %95 ve üzerinde tıkanıklığı olan 185 hastadan koroner anjiyografiden hemen sonra alınan kanlarda hsCRP düzeyleri çalışılmıştır. İyi ve kötü kollateraller gruplar arasında karşılaştırılmış ve kötü kollateral grubunda hsCRP düzeyleri yüksek saptanmıştır (3). Kollateral arter gelişimi ile yüksek CRP düzeyleri arasında ters ilişki olduğunu gösteren çalışmalar (3,87) bulunsada, biz çalışmamızda kollateral gelişimi ile hsCRP arasında anlamlı bir ilişki saptamadık. Amerikan Kalp Cemiyeti'nin 2003'de yayınladığı kılavuzda, kardiyovasküler risk belirlemede 2 hafta ara ile alınan hsCRP düzeylerinin ortalamasının alınması önerilmiş, koroner arter hastalığı olan hastalarda ise hastalığın progresyonunu göstermesi açısından tek veya seri hsCRP ölçümlerinin faydası hakkında yeterli veri olmadığı söylenmiştir. 10mg/L'nin üzerindeki hsCRP düzeylerinin kardiyovasküler hastalık dışında enfeksiyon gibi pekçok nedene bağlı olabileceği kılavuzda ayrıca vurgulanmıştır (56). Biz çalışmamızda her ne kadar akut, kronik enfeksiyon ve malignite gibi hsCRP'yi yükselten hastalıkları çalışma dışı bıraksak da, hsCRP ölçümlerimiz bir kez, hastanın hastane yatışı sırasında, herhangi bir zamanda yapılmış ve kan değerleri 10mg/L'nin üzerinde olan hastalardan tekrar ölçüm için kan alınmamıştır. Bu nedenle gruplar arasındaki fark anlamlı çıkmamış olabilir düşüncesindeyiz.

E-selektin, ICAM-1, VCAM-1 gibi adezyon molekülleri, IL-6, IL-8, IL-10, TNF alfa gibi sitokinler, fibrinojen, serum amiloid protein, hsCRP ve beyaz küre sayısı potansiyel olarak klinikte kullanılabilecek inflamatuvar belirteçlerdir. Fakat bunların içerisinde klinikte en fazla kullanılanlar, kullanım kolaylığı ve ucuzluğu nedeniyle hsCRP ve beyaz küre sayısıdır. Barron ve arkadaşlarının 975 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada akut miyokart infarktüsü sonrası, yüksek beyaz küre sayısının,

artmış trombüs yükü, artmış kalp yetmezliği ve ölüm insidansı ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur (88). Fibrinojen, albumin, CRP ve beyaz küre sayısının koroner arter hastalığı ile ilişkisinin karşılaştırıldığı bir metaanalizde hepsinin birbiri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (13). Koroner kollateral gelişimi ile beyaz küre sayısı arasındaki ilişkiyi gösteren herhangi bir çalışma bulunmasa da biz çalışmamızda beyaz küre sayısını, iyi ve kötü kollateral arterler arasında karşılaştırdık ve anlamlı bir fark saptamadık.

Kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri halen araştırılmakta olan tümör nekrosis factor alfa, inflamasyonda rol oynayan önemli sitokinlerden biridir. Clara De Palma ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gösterilmiştir ki, TNF-alfa sfingomiyelinaz 2, sfingosin kinaz 1, sfingozin 1 fosfat reseptörleri aracılığıyla endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) aktivasyonunu sağlamaktadır (89). Daha önceden de bahsedildiği gibi endotelial nitrik oksit sentetaz, endotel üzerine etki ederek migrasyon, anjiyogenez, vazodilatasyon, geçirgenlik, apoptozda ayrıca inflamatuvar ve adezyon moleküllerinin salınımında rol oynar. Proinflamatuvar bir sitokin olan TNF-alfa'nın da bu olaylarda dolaylı veya doğrudan rol aldığı düşünülmektedir (90). Yapılan diğer çalışmalarda ise TNF-alfa'nın çeşitli damarlarda eNOS üretimini azalttığı ve böylece NO üretimini azalttığı gösterilmiştir (91,92,93). TNF alfa'nın endotel üzerine etkisi tam olarak bilinmemekle beraber; yapılan bir çalışmada, in vitro sıgır aort ve beyin kapiller endotel ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunun TNF-alfa tarafından inhibe olduğu, fakat in vivo olarak yüksek dozlarda bile bu etkisini göstermediği saptanmıştır (94). Imo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, TNF-alfa p55 reseptörleri aracılığıyla arteriogenezi pozitif yönde etkilemekte iken (36), Luis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada düşük doz TNF-alfa'nın anjiyogenezi uyardığı, yüksek dozun inhibe ettiği bulunmuştur (9). Biz çalışmamızda anjiyogenez üzerinde etkisi olduğu düşünülen dolayısıyla kollateral arter oluşumunu ve derecesini etkileyebileceğini düşündüğümüz TNF-alfa seviyesini iyi ve kötü kollaterali olan hastalar arasında karşılaştırdık, anlamlı fark bulamadık.

Ayrıca TNF-alfa'nın kök hücre aracılı vasküler onarım ve yeniden şekillenmede önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Özellikle kök hücre mobilizasyonu,

proliferasyonu ve fonksiyonları üzerine olan etkileri, diğer sitokinlerin varlığı ve TNFR alt tiplerinin çeşitliliği nedeniyle komplike olmakla beraber halen araştırılmaktadır. Valgimigli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kalp yetmezliğinin erken ve geç evresinde periferik kanda dolaşan endotel öncül hücrelerinin ve CD 34 kök hücrelerinin seviyesi ile TNF alfa seviyesinin ters orantılı olduğu bulunmuştur (95). Biz çalışmamızda kollateral arter gelişiminde rol oynayan endotel öncül hücrelerle ilgili bir araştırma yapmadık.

Miyeloperoksidaz (MPO), polimorfonüveli nötrofillerin ve monositlerin azurofilik granüllerinde depolanan proinflamatuvar ve prooksidatif bir enzimdir. Yapılan immünohistokimyasal ve kütle spektrometrik çalışmalarda MPO tarafından okside edilen LDL aterosklerotik lezyonlarda saptanmıştır (96,97,98). Tüm peroksidazlar gibi miyeloperoksidaz da kimyasal reaksiyonlarla nitrik oksiti tüketir. Ayrıca üretilen oksitler nitrik oksit sentetaz aktivitesini inhibe eder (99). Tüm bunlar MPO'nun endotel disfonksiyonunda ve ateroskleroz gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, lökosit ve kan MPO düzeyleri koroner arter hastalığı bulunan hastalarda yüksek saptanmıştır (100). Biz çalışmamızda, hastaların tümünde koroner arter hastalığı bulunduğundan bunu değerlendiremedik.

Miyokart infarktüsü sonrası gelişen sol ventrikül yeniden şekillenmesi sonucunda sol ventrikülde dilatasyon gelişir. Kalp yetmezliği ve ani kardiyak ölümlerin önemli bir nedeni olan dilatasyonun gelişiminde iskemik hasar ve buna karşı gelişen inflamatuvar cevabın rol oynadığı düşünülmektedir. Nötrofil ve monositlerden salgılanan MPO, infarkt alanında birikir ve oluşan oksidatif radikaller proteinleri okside ederek onların fonksiyonlarını bozar. Askari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, MPO (-/-) farelerde akut miyokart infarktüsü sonrası daha az lökosit infiltrasyonu ve sol ventrikül dilatasyonu dolayısıyla daha fazla korunmuş sol ventrikül fonksiyonları gözlenmiştir (49). Gene Mocatta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, akut koroner sendromlu hastalarda yüksek MPO düzeyinin, yüksek pro BNP düzeyi ve düşük sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ile beraber kötü prognozun göstergesi olduğu gösterilmiş (101), başka bir çalışmada da yüksek riskli

hastaları belirlemede kullanılabileceği düşüncesi gündeme getirilmiştir (102). G. Ndrepepa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da kararlı angina pektoristen akut koroner sendroma progresyon MPO seviyesi artışı ile doğru orantılı bulunmuştur (11). Biz çalışmamızda akut koroner sendrom ile MPO ilişkisini incelemedik.

Bunun yanında MPO'nun depo edildiği inflamatuvar hücrelerden monositlerin kollateral gelişiminde önemli rol oynadığını gösteren pek çok çalışma mevcuttur (66,103,104). Kocaman ve arkadaşları en az bir koroner arterinde %95 ve üzerinde darlığı olan, diyabeti bulunmayan 210 hastayı iyi ve kötü kollateral olmak üzere 2 gruba ayırmıştır. Gruplar karşılaştırıldığında iyi kollateral grubunda monosit sayısı yüksek bulunmuş, bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ve monosit sayısı iyi kollateral gelişiminin bağımsız prediktörü olarak tespit edilmiştir. Lökosit, lenfosit ve nötrofil sayısında gruplar arasında belirgin bir fark izlenmemiştir (105). Aynı şekilde diyabetik hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada da, monosit sayısı iyi kollateral grubunda yüksek saptanmış, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (106). Bizim çalışmamızda ise beyaz küre ve alt tiplerinin sayısı açısından gruplar arasında belirgin bir fark bulunmazken, MPO düzeyi iyi kollaterali olan hastalarda yüksek saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Beyaz küre sayısı açısından gruplar arasında belirgin bir fark yokken, MPO seviyesinin yüksek çıkmasını özellikle nötrofil ve monositlerdeki MPO aktivitesinin artmış olabileceği şeklinde yorumladık. Ayrıca çok değişkenli lojistik regresyon analizi yapıldığında yüksek MPO düzeyi, iyi kollateral arter gelişiminin bağımsız öngörücüsü saptanmıştır. Literatürde kollateral gelişimi ile MPO seviyesi arasındaki ilişkiyi gösteren birebir herhangi bir çalışma bulunmamakla beraber kollateral gelişiminde inflamatuvar hücrelerden çok bu hücrelerden salınan proinflamatuvar enzim ve sitokinlerin önemli rol oynayabileceği düşüncesindeyiz.

Sonuç olarak çalışmamızdaki bulgular TNF-alfa, hs CRP ve beyaz küre sayısının kollateral gelişimi üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığını düşündürmekte iken MPO seviyesinin kollateral gelişimini olumlu yönde etkilediğini düşündürmektedir.

ÖZET

Koroner Kollateral Arter Gelişimi İle İnflamatuvar Belirteçler Arasındaki İlişki

Amaç: Anjiyogenez ve arteriogenez koroner kollateral oluşumunda rol oynayan iki mekanizmadır. Yapılan pekçok çalışmada, TNF-alfa (tümör nekrozis faktör-alfa) ve hsCRP'nin nitrik oksit sentetaz, sitokinler ve büyüme faktörleri aracılığıyla anjiyogenezi regüle ettiği gösterilmiştir. Fakat MPO (mieloperoksidaz), beyaz küre ve kollateral gelişimi hakkında elimizde veri yoktur. Biz de çalışmamızda, ciddi koroner arter lezyonu olan bireylerde, inflamatuvar belirteçlerinden olan TNF-alfa, MPO, hs CRP düzeyi ile beyaz küre sayısının koroner kollateral gelişimi üzerine etkisini belirlemeyi amaçladık.

Materyal-Metod: Çalışmaya, koroner anjiyografide bir aydan uzun süreli olduğu düşünülen fonksiyonel ya da total koroner tıkanıklığı saptanan 295 koroner arter hastası alındı. Hastalar, tıkalı damara gelişen kollaterallerin anjiyografik derecesine göre iyi kollateral (grup 1) (169 hasta) ve kötü kollateral (grup 2) (126 hasta) olmak üzere ikiye ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen hastalardan koroner anjiyografi sonrası, arteriyel kateterden 5 ml kan örneği alındı. Bu kanlar 1 saat içerisinde 5000 devir/dk da 15 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serumlar -20°C'deki derin dondurucu içerisinde saklandı. Hasta alımı bittikten sonra saklanmakta olan serumlarla TNF-alfa ve MPO düzeyleri çalışıldı. HsCRP düzeyi ve beyaz küre sayısı rutin biyokimyasal testler içerisinde çalışılmıştı.

Bulgular: İyi ve kötü kollateral grupları arasında TNF-alfa, hsCRP ve beyaz küre sayısı açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Kararlı angina pectoris öyküsü, iyi kollateral grubunda daha fazla bulunurken (%61,5 ile %48,4, $p=0,025$), diğer klinik özellikler açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Anjiyografik olarak kollateral alan arterler karşılaştırıldığında RCA (sağ koroner arter) lezyonu iyi kollaterali olanlarda daha fazla bulunurken (%71 ile %47,6, $p<0,0001$); CX (sol sirkumfleks arter) lezyonu kötü kollateral grubunda daha fazla gözlendi (%23,8 ile %8,9, $p<0,0001$). Ayrıca MPO aktivitesi iyi kollaterali olan hastalarda yüksek saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (3,7U/ml ile 3,0U/ml, $p=0,001$). Çok değişkenli lojistik regresyon analizi yapıldığında ise yüksek MPO seviyesinin ve kararlı angina pectoris öyküsünün iyi kollateral gelişiminde bağımsız öngördürücü olduğu sonucuna varılmıştır (OR 2,7; CI %95 1,7-4,3; $p<0,0001$), (OR 1,7; CI %95 1,05-2,8; $p=0,03$).

Sonuç: Çalışmamızda ciddi koroner arter lezyonu olan hastalarda TNF-alfa, hsCRP seviyesinin ve beyaz küre sayısının kollateral gelişimine etkisinin olmadığı saptandı. Beyaz küre ve alttıplerinin sayısı açısından gruplar arasında belirgin bir fark yokken, MPO seviyesinin yüksek çıkmasını özellikle nötrofil ve monositlerdeki MPO aktivitesinin artmış olabileceği şeklinde yorumladık. Kollateral gelişiminde inflamatuvar hücrelerden çok bu hücrelerden salınan proinflamatuvar enzim ve sitokinlerin önemli rol oynayabileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar Sözcükler: Kollateral arter, İnflamatuvar belirteçler, kararlı angina pectoris, anjiyogenez

SUMMARY

Association Between Development of Coronary Collateral Arteries And Inflammatory Markers

Background: Angiogenesis and arteriogenesis play a role in coronary collateral vessel formation. In most of the studies, TNF-alpha and hsCRP have been shown to regulate angiogenesis via nitric oxide synthase, cytokines and growth factors. But there are no published studies about MPO (myeloperoxidase), leukocyte count and coronary collateral development. In this study we aimed to show the effect of MPO, hsCRP, TNF-alpha values and leukocyte count on the development of coronary collateral arteries in patients with severely diseased coronary arteries.

Materials and methods: In the study, 295 patients who had functional obstruction or total coronary occlusion at least 1 month on their angiograms are included. We divided the study population into two groups according to their collateral grade as good collateral (group 1) (169 patients) and poor collateral (group 2) (126 patients). 5 ml of blood samples were collected from the arterial sheaths immediately following coronary angiography from each patient. Collected blood samples were centrifuged within one hour at a rate of 5000 cycle/min for 15 minutes. Then serums were stored at -20°C . After all samples had collected we studied MPO and TNF values in the laboratory. We studied the hsCRP level and leukocyte count in routine laboratory examination.

Results: There were no statistical differences between the groups with respect to TNF-alpha, hsCRP values and leukocyte count between the groups ($p>0.05$). Although there were no statistical differences in clinical properties ($p>0.05$) only history of stable angina pectoris was statistically more prevalent in good collateral group (%61.5 and %48.4, $p=0.025$). According to the coronary angiography we found that RCA (right coronary artery) lesions were common in good collateral group (%71 and %47.6, $p<0.0001$) and CX (left circumflex artery) lesions were common in poor collateral group (%23.8 and %8.9, $p<0.0001$). Furthermore MPO activation was higher in good collateral group and the difference was statistically significant (3.7U/ml and 3.0U/ml, $p=0.001$). In multivariate logistic regression analysis, stable angina pectoris [odds ratio 1.7, 95% confidence interval (1.05-2.8), $p=0.03$] and high MPO levels [odds ratio 2.7, 95% confidence interval (1.7-4.3), $p<0.0001$] were found to be independent predictors of good collateral development.

Conclusions: It was found that the levels of TNF-alpha, hsCRP and white blood cell count had no impact on the collateral development in patients having severe coronary artery lesion. The higher MPO levels in spite of nonsignificant differences between the groups with respect to WBC count and subtypes, we interpreted this result as an increased activation of MPO particularly in neutrophils and monocytes. We think that proinflammatory enzymes and cytokines released from these cells rather than inflammatory cells themselves may play an important role on the collateral development.

Key Words: Collateral arteries, inflammatory markers, stable angina pectoris, angiogenesis.

KAYNAKLAR

- 1) Gonçalves LM. Angiogenic growth factors: potential new treatment for acute myocardial infarction? *Cardiovasc Res.* 2000; 45:294-302
- 2) Perez-Castellano N, Garcia EJ, Abeytua M, Soriano J, Serrano JA, Elizaga J, Botas J, Lopez-Sendon JL, Delcan JL. Influence of collateral circulation on in-hospital death from anterior acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31:512-8
- 3) Güleç S, Özdemir AO, Maradit-Kremers H, Dinçer I, Atmaca Y, Erol Ç. Elevated levels of C-reactive protein are associated with impaired coronary collateral development. *Eur J Clin Invest.* 2006;36:369-75
- 4) Berry C, Balachandran KP, L'Allier PL, Lesperance J, Bonan R, Oldroyd KG. Importance of collateral circulation in coronary heart disease. *Eur Heart J.* 2007; 28:278-91
- 5) van Royen N, Piek JJ, Buschmann I, Hoefer I, Voskuil M, Schaper W. Stimulation of arteriogenesis; a new concept for the treatment of arterial occlusive disease. *Cardiovasc Res.* 2001; 49:543-53
- 6) Kersten JR, Pagel PS, Chilian WM, Warltier DC. Multifactorial basis for coronary collateralization: a complex adaptive response to ischemia. *Cardiovasc Res.* 1999; 43: 44-57
- 7) Basic Pathology 6. th edition sayfa: 95 Kumar Cotran Robbins
- 8) Tanaka H, Sukhova G, Schwartz D, Libby P. Proliferating arterial smooth muscle cells after balloon injury express TNF- α but not interleukin-1 or basic fibroblast growth factor. *Arterioscler Tromb Vasc Biol.* 1996;16:12-18

- 9) Fajardo LF, Kwan HH, Kowalski J, Prionas SD, Allison AC. Dual role of tumor necrosis factor- α in angiogenesis. *Am J Pathol.* 1992;140:539-44

- 10) Roman RM, Wendland AE, Polanczyk CA. Myeloperoxidase and coronary arterial disease: from research to clinical practice. *Arq Bras Cardiol.* 2008;91:e11-9

- 11) Ndrepepa G, Braun S, Mehilli J, Von Beckerath N, Schömig A, Kastrati A. Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. *Eur J Clin Invest.* 2008;38:90-6

- 12) Turu MM, Slevin M, Matou S, West D, Rodriguez C, Luque A, Grau-Olivares M, Badimon L, Martinez-Gonzalez J, Krupinski J. C-reactive protein exerts angiogenic effects on vascular endothelial cells and modulates associated signalling pathways and gene expression. *BMC Cell Biol.* 2008;9: 47

- 13) Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 1998;279:1477-82

- 14) Ganz P, Braunwald E. Coronary blood flow and myocardial ischemia. In: Braunwald E, ed Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. Sixth edition WB Saunders Company 2001; Chapter 34: 1087-1108.

- 15) Circulatory system. In: Jungueira LC, Carneiro J, Kelly R.O. Basic Histology. Eighth Edition. Lange 1992; Chapter 11: 202-217

- 16) Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res.* 2001; 49:507-21

- 17) Isner JM. Angiogenesis. In: Topol EJ, ed. Textbook of Cardiovascular Medicine. Lippincott-Raven Publishers 2002; Chapter 106: 2017-2046.

- 18) Tayebjee MH, Lip GY, MacFadyen RJ. Collateralization and the response to obstruction of epicardial coronary arteries. *QJM* 2004;97:259-72
- 19) Fleisch M, Billinger M, Eberli FR, Garachemani AR, Meier B, Seiler C. Physiologically assessed coronary collateral flow and intracoronary growth factor concentrations in patients with 1- to 3-vessel coronary artery disease. *Circulation* 1999;100: 1945-50
- 20) Schultz A, Lavie L, Hochberg I, Beyar R, Stone T, Skorecki K, Lavie P, Roguin A, Levy AP. Interindividual heterogeneity in the hypoxic regulation of VEGF: Significance for the development of the coronary artery collateral circulation. *Circulation* 1999;100;547-52
- 21) Murohara T, Asahara T, Silver M, Bauters C, Masuda H, Kalka C, Kearney M, Chen D, Symes JF, Fishman MC, Huang PL, Isner JM. Nitric oxide synthase modulates angiogenesis in response to tissue ischemia. *J Clin Invest.* 1998;101: 2567-78
- 22) Carmeliet P, Moons L, Luttun A, Vincenti V, Compernelle V, De Mol M, Wu Y, Bono F, Devy L, Beck H, Scholz D, Acker T, Di Palma T, Dewerchin M, Noel A, Stalmans I, Barra A, Blacher S, Vandendriessche T, Ponten A, Eriksson U, Plate KH, Foidart JM, Schaper W, Charnock-Jones DS, Hicklin DJ, Herbert JM, Collen D, Persico MG. Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat Med.* 2001;7:575-83
- 23) Schaper W. Collateral Circulation: past and present. *Basic Res Cardiol.* 2009; 104:5-21

- 24) Raines EW, Ferri N. Thematic review series: The immune system and atherogenesis. Cytokines affecting endothelial and smooth muscle cells in vascular disease. *J Lipid Res.* 2005;46:1081-92
- 25) Pohl T, Seiler C, Billinger M, Herren E, Wustmann K, Mehta H, Windecker S, Eberli FR, Meier B. Frequency distribution of collateral flow and factors influencing collateral channel development: Functional collateral channel measurement in 450 patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 38:1872-8
- 26) Kennedy CC, Spiekerman RE, Lindsay MI Jr, Mankin HT, Frye RL, McCallister BD. One year graduated exercise program for men with angina pectoris. Evaluation by physiologic studies and coronary arteriography. *Mayo Clin Proc.* 1976;51: 231-6
- 27) Fujita M. Heparin and angiogenic therapy. *European Heart Journal* 2000;21: 270-274
- 28) Bombardini T, Picano E. The coronary angiogenetic effect of heparin: experimental basis and clinical evidence. *Angiology* 1997;48: 969-76
- 29) Werner GS, Figulla HR. Direct assessment of coronary steal and associated changes of collateral hemodynamics in chronic total coronary occlusions. *Circulation* 2002;106: 435-40
- 30) Altman JD, Dulas D, Pavek T, Bache RJ. Effect of aspirin on coronary collateral blood flow. *Circulation* 1993;87:583-9
- 31) Habib GB, Heibig J, Forman SA, Brown BG, Roberts R, Terrin ML, Bolli R. Influence of coronary collateral vessels on myocardial infarct size in humans. Results of phase 1 thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) trial. The TIMI investigators. *Circulation* 1991; 83:739-746

- 32) Antoniucci D, Valenti R, Moschi G, Migliorini A, Trapani M, Santoro GM, Bolognese L, Cerisano G, Buonomici P, Dovellini EV. Relation between preintervention angiographic evidence of coronary collateral circulation and clinical and angiographic outcomes after primary angioplasty or stenting for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2002;89:121-5
- 33) Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med.* 1996;334:1717-25
- 34) Krasinski K, Spyridopoulos I, Kearney M, Losordo DW. In vivo blockade of tumor necrosis factor- α accelerates functional endothelial recovery after balloon angioplasty. *Circulation* 2001;104:1754-6
- 35) Luo D, Luo Y, He Y, Zhang H, Zhang R, Li X, Dobrucki WL, Sinusas AJ, Sessa WC, Min W. Differential functions of tumor necrosis factor receptor 1 and 2 signaling in ischemia-mediated arteriogenesis and angiogenesis. *Am J Pathol.* 2006;169:1886-98
- 36) Hoefer IE, van Royen N, Rectenwald JE, Bray EJ, Abouhamze Z, Moldawer LL, Voskuil M, Piek JJ, Buschmann IR, Ozaki CK. Direct evidence for tumor necrosis factor α signaling in arteriogenesis. *Circulation* 2002;105:1639-41
- 37) Rectenwald JE, Moldawer LL, Huber TS, Seeger JM, Ozaki CK. Direct evidence for cytokine involvement in neointimal hyperplasia. *Circulation* 2000; 102:1697-702
- 38) Goukassain DA, Qin G, Dolan C, Murayama T, Silver M, Curry C, Eaton E, Luedemann C, Ma H, Asahara T, Zak V, Mehta S, Burg A, Thorne T, Kishore R, Losordo DW. Tumor necrosis factor α receptor p75 is required in ischemia-induced neovascularization. *Circulation* 2007;115:752-62

- 39) Lau D, Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacol Ther.* 2006;111:16-26
- 40) Brown KE, Brunt EM, Heinecke JW. Immunohistochemical detection of myeloperoxidase and its oxidation products in kupffer cells of human liver. *Am J Pathol.* 2001;159:2081-8
- 41) Green PS, Mendez AJ, Jacob JS, Crowley JR, Growdon W, Hyman BT, Heinecke JW. Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2004;90:724-33
- 42) Winterbourn CC, Kettle AJ. Biomarkers of myeloperoxidase-derived hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 2000; 29:403-9
- 43) Hawkins CL, Pattison DI, Davies MJ. Hypochlorite-induced oxidation of aminoacids, peptides and proteins. *Amino Acids* 2003;25:259-74
- 44) Zhang C, Yang J, Jacobs JD, Jennings LK. Interaction of myeloperoxidase with vascular NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species in vasculature: implications for vascular diseases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 285:H2563-72
- 45) Zhang C, Reiter C, Eiserich JP, Boersma B, Parks DA, Beckman JS, Barnes S, Kirk M, Baldus S, Darley-Usmar VM, White CR. L-arginine chlorination products inhibit endothelial nitric oxide production. *J Biol Chem.* 2001;276:27159-65
- 46) Malle E, Waeg G, Schreiber R, Gröne EF, Sattler W, Gröne HJ. Immunohistochemical evidence for the myeloperoxidase/H₂O₂/halide system in human atherosclerotic lesions: colocalization of myeloperoxidase and hypochlorite-modified proteins. *Eur J Biochem.* 2000; 267:4495-503

- 47) Whitman SC, Hazen SL, Miller DB, Hegele RA, Heinecke JW, Huff MW. Modification of type III VLDL, their remnants and VLDL from ApoE-knockout mice by p-hydroxyphenylacetaldehyde, a product of myeloperoxidase activity, causes marked cholesteryl ester accumulation in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1238-49
- 48) Reumaux D, Vossebeld PJ, Roos D, Verhoeven AJ. Effect of tumor necrosis factor-induced integrin activation on Fc gamma receptor II-mediated signal transduction: relevance for activation of neutrophils by anti-proteinase 3 or anti-myeloperoxidase antibodies. *Blood* 1995;86:3189-95
- 49) Askari AT, Brennan ML, Zhou X, Drinko J, Morehead A, Thomas JD, Topol EJ, Hazen SL, Penn MS. Myeloperoxidase and plasminogen activator inhibitor 1 play a central role in ventricular remodeling after myocardial infarction. *J Exp. Med.* 2003;197: 615-24
- 50) Casas JP, Shah T, Hingorani AD, Danesh J, Pepys MB. C-reactive protein and coronary heart disease: a critical review. *J Intern Med.* 2008;264:295-314
- 51) Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 2003;108:1930-2
- 52) Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. Macrophage conditioned medium induces the expression of C-reactive protein in human aortic endothelial cells: potential for paracrine/autocrine effects. *Am J Pathol.* 2005;166:1265-71
- 53) Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001;103:1194-7

- 54) Verma S, Li SH, Badiwala MV, Weisel RD, Fedak PW, Li RK, Dhillon B, Mickle DA. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation* 2002;105:1890-6
- 55) Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation* 2002;106:1439-41
- 56) Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511
- 57) Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003; 111:1805-12
- 58) Verma S, Kuliszewski MA, Li SH, Szmitko PE, Zucco L, Wang CH, Badiwala MV, Mickle DA, Weisel RD, Fedak PW, Stewart DJ, Kutryk MJ. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation and function: further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease. *Circulation* 2004;109: 2058-67
- 59) Clearfield MB. C-reactive protein: A new risk assessment tool for cardiovascular disease. *J Am Osteopath Assoc.* 2005;105:409-16
- 60) Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med.* 1997;336:973-9

- 61) Weijenberg MP, Feskens EJ, Kromhout D. White blood cell count and the risk of coronary heart disease and all-cause mortality in elderly men. *Arterioscler Tromb Vasc Biol.* 1996;16:499-503.
- 62) Hajj-Ali R, Zareba W, Ezzeddine R, Moss AJ. Relation of the leukocyte count recurrent cardiac events in stable patients after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2001;88:1221-4
- 63) Hoffman M, Blum A, Baruch R, Kaplan E, Benjamin M. Leukocytes and coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2004;172:1–6.
- 64) Eriksson EE, Xie X, Werr J, Thoren P, Lindbom L. Direct viewing of atherosclerosis in vivo: plaque invasion by leukocytes is initiated by the endothelial selectins. *FASEB J.* 2001;15:1149–57.
- 65) Siminiak T, Flores NA, Sheridan DJ. Neutrophil interactions with endothelium and platelets: possible role in the development of cardiovascular injury. *Eur. Heart J.* 1995;16:160–70.
- 66) Arras M, Ito WD, Scholz D, Winkler B, Schaper J, Schaper W. Monocyte activation in angiogenesis and collateral growth in the rabbit hindlimb. *J. Clin. Invest.* 1998;101:40-50.
- 67) Hoefer IE, Grundmann S, van Royen N, Voskuil M, Schirmer SH, Ulusans S, Bode C, Buschmann IR, Piek JJ. Leukocyte subpopulations and arteriogenesis: specific role of monocytes, lymphocytes and granulocytes. *Atherosclerosis* 2005;181:285-93.
- 68) Nelissen-Vrancken HJ, Debets JJ, Snoeckx LH, Daemen MJ, Smits JF. Time-related normalization of maximal coronary flow in isolated perfused hearts of rats with myocardial infarction. *Circulation* 1996; 93:349-55

- 69) Rentrop KP, Cohen M, Blanke H, Phillips RA. Changes in collateral channel filling immediately after controlled coronary artery occlusion by an angioplasty balloon in human subjects. *J Am Coll Cardiol*. 1985;5:587-92 (abstract)
- 70) Rivard A, Fabre JE, Silver M, Chen D, Murohara T, Kearney M, Magner M, Asahara T, Isner JM. Age dependent impairment of angiogenesis. *Circulation* 1999;99:111-20
- 71) Scholz D, Schaper W. Preconditioning of arteriogenesis. *Cardiovasc Res*. 2005;65:513-23.
- 72) Heil M, Schaper W. Pathophysiology of collateral development. *Coron Artery Dis*. 2004;15:373-8
- 73) Abacı A, Oğuzhan A, Kahraman S, Eryol NK, Ünal S, Arınç H, Ergin A. Effect of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels. *Circulation* 1999;99: 2239-42
- 74) Schaper W, Buschmann I. Collateral circulation and diabetes. *Circulation* 1999; 99:2224-6
- 75) Kornowski R. Collateral formation and clinical variables in obstructive coronary artery disease: the influence of hypercholesterolemia and diabetes mellitus. *Coron Artery Dis*. 2003;14:61-4
- 76) Landmesser U, Engberding N, Bahlmann FH, Schaefer A, Wiencke A, Heineke A, Spiekermann S, Hilfiker-Kleiner D, Templin C, Kotlarz D, Mueller M, Fuchs M, Hornig B, Haller H, Drexler H. Statin-induced improvement of endothelial progenitor cell mobilization, myocardial neovascularization, left ventricular function and survival after experimental myocardial infarction requires endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2004;110:1933-9.

- 77) Pourati I, Kimmelstiel C, Rand W, Karas RH. Statin use is associated with enhanced collateralization of severely diseased coronary arteries. *Am Heart J*. 2003;146:876-81.
- 78) Sata M, Nishimatsu H, Suzuki E, Sugiura S, Yoshizumi M, Ouchi Y, Hirata Y, Nagai R. Endothelial nitric oxide synthase is essential for the HMG-Co A reductase inhibitor cerivastatin to promote collateral growth in response to ischemia. *FASEB J*. 2001;15:2530-2
- 79) Dinçer İ, Ongun A, Turhan S, Özdol Ç, Ertaş F, Erol Ç. Effect of statin treatment on coronary collateral development in patients with diabetes mellitus. *Am J. Cardiol*. 2006;97:772-4
- 80) Dinçer İ, Ongun A, Turhan S, Özdol Ç, Kumbasar D, Erol Ç. Association between the dosage and duration of statin treatment with coronary collateral development. *Coron Artery Dis*. 2006;17:561-5.
- 81) Güleç S, Karabulut H, Özdemir AO, Özdol Ç, Turhan S, Altın T, Tutar E, Genç Y, Erol Ç. Glu298Asp polymorphism of the eNOS gene is associated with coronary collateral development. *Atherosclerosis* 2008; 198:354-9
- 82) Lamblin N, Cuilleret FJ, Helbecque N, Dallongeville J, Lablanche JM, Amouyel P, Bauters C, Van Belle E. A common variant of endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is associated with collateral development in patients with chronic coronary occlusions. *BMC Cardiovasc Disord*. 2005;5:27
- 83) Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102:2165-8
- 84) Pasceri V, Cheng JS, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 2001;103:2531-4

- 85) Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, Dhillon B, Weisel RD, Li RK, Mickle DA, Stewart DJ. C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002;106:913-9
- 86) Suh W, Kim KL, Choi JH, Lee YS, Lee JY, Kim JM, Jang HS, Shin IS, Lee JS, Byun J, Jeon ES, Kim DK. C-reactive protein impairs angiogenic functions and decreases the secretion of arteriogenic chemo-cytokines in human endothelial progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;321:65-71.
- 87) Kerner A, Gruberg L, Goldberg A, Roguin A, Lavie P, Lavie L, Markiewicz W, Beyar R, Aronson D. Relation of C-reactive protein to coronary collaterals in patients with stable angina pectoris and coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2007;99:509-12
- 88) Barron HV, Cannon CP, Murphy SA, Braunwald E, Gibson CM. Association between white blood cell count, epicardial blood flow, myocardial perfusion and clinical outcomes in the setting of acute myocardial infarction: a thrombolysis in myocardial infarction 10 substudy. *Circulation* 2000;102:2329-34.
- 89) De Palma C, Meacci E, Perrotta C, Bruni P, Clementi E. Endothelial nitric oxide synthase activation by tumor necrosis factor alpha through neutral sphingomyelinase 2, sphingosine kinase 1 and sphingosine 1 phosphate receptors: a novel pathway relevant to the pathophysiology of endothelium. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 2006;26:99-105
- 90) Zhang H, Park Y, Wu J, Chen X, Lee S, Yang J, Dellsperger KC, Zhang C. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. *Clin Sci (London)* 2009;116:219-30
- 91) Seidel M, Billert H, Kurpisch M. Regulation of eNOS expression in HCAEC cell line treated with opioids and proinflammatory cytokines. *Kardiol. Pol.* 2006; 64:153-8

- 92) Goodwin BL, Pendleton LC, Levy MM, Solomonson LP, Eichler DC. Tumor necrosis factor alpha reduces argininosuccinate synthase expression and nitric oxide production in aortic endothelial cells. *Am J. Physiol Heart Circ Physiol.* 2007; 293:H1115-21
- 93) Picchi A, Gao X, Belmadani S, Potter BJ, Focardi M, Chilian WM, Zhang C. Tumor necrosis factor alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ Res.* 2006; 99:69-77
- 94) Frater-Schröder M, Risau W, Hallmann R, Gautschi P, Böhlen P. Tumor necrosis factor type alpha, a potent inhibitor of endothelial cell growth in vitro, is angiogenic in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:5277-81
- 95) Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, Porta MD, Soukhomovskaia O, Malagutti P, Bugli AM, Bragotti LZ, Francolini G, Mauro E, Castoldi G, Ferrari R. CD 34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation* 2004;110:1209-12
- 96) Heinecke JW. Mass spectrometric quantification of aminoacid oxidation products in proteins: insights into pathways that promote LDL oxidation in the human artery wall. *FASEB J.* 1999;13:1113-20
- 97) Heller JJ, Crowley JR, Hazen SL, Salvay DM, Wagner P, Pennathur S, Heinecke JW. P-Hydroxyphenylacetaldehyde, an aldehyde generated by myeloperoxidase, modifies phospholipid amino groups of low density lipoprotein in human atherosclerotic intima. *J Biol Chem.* 2000;275: 9957-62.
- 98) Podrez EA, Abu-Soud HM, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radic Biol and Med.* 2000; 28:1717-25

- 99) Abu-Soud HM, Hazen SL. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. *J Biol Chem.* 2000;275:37524-32
- 100) Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, Topol EJ, Sprecher DL, Hazen SL. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 2001; 286:2136-42.
- 101) Mocatta TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, Senthilmohan R, Frampton CM, Richards AM, Winterbourn CC. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49:1993-2000
- 102) Khan SQ, Kelly D, Quinn P, Davies JE, Ng LL. Myeloperoxidase aids prognostication together with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in high risk patients with acute ST elevation myocardial infarction. *Heart* 2007; 93:826-31
- 103) Herold J, Pipp F, Fernandez B, Xing Z, Heil M, Tillmanns H, Braun-Dullaeus RC. Transplantation of monocytes: a novel strategy for in vivo augmentation of collateral vessel growth. *Human Gene Therapy* 2004 ;15:1-12.
- 104) Heil M, Ziegelhoeffer T, Pipp F, Kostin S, Martin S, Clauss M, Schaper W. Blood monocyte concentration is critical for enhancement of collateral artery growth. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002;283:H2411-9
- 105) Kocaman SA, Arslan U, Tavit Y, Okuyan H, Abacı A, Çengel A. Increased circulating monocyte count is related to good collateral development in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2008;197: 753-6.
- 106) Kocaman SA, Şahinarslan A, Akyel A, Timurkaynak T, Boyacı B, Çengel A. The association of circulating monocyte count with coronary collateral growth in patients with diabetes mellitus. *Acta Diabetologica* 2009