

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

## Subklinik Aterosklerozun Serum Endotelin-1 Düzeyi ile Değerlendirilmesi

Şeyda GÜNAY<sup>1</sup>, Emre SARANDÖL<sup>2</sup>, Ali AYDINLAR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

<sup>2</sup> Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bursa.

### ÖZET

Ateroskleroz ve ilişkili hastalıklar tüm dünyada en önde gelen ölüm nedenidir. Koroner arterlerde aterosklerotik tutulumun başlamasından daha önce endotel işlev bozukluğu ortaya çıkar. Aterosklerozu organ tutulumu ortaya çıkmadan teşhis etmek önemlidir. Bu çalışmada, subklinik aterosklerozun serum endotelin-1 (ET-1) düzeyi ile değerlendirilmesi amaçlandı. Göğüs ağrısı şikayeti ile başvuran ve koroner iskemi açısından egzersiz stres testi (EST) veya miyokard perfüzyon sintigrafisi (MPS) planlanan hastalar çalışmaya alındı. Öyküsünde anjiyografik olarak kanıtlanmış koroner arter hastalığı (KAH) olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. İskemi testi öncesinde hastalardan serum ET-1 ölçümü için kan örneği alındı. İskemi saptananlar koroner anjiyografi (KAG) ile değerlendirildi. KAG sonuçlarına göre hastalar, klinik olarak anlamlı KAH olanlar (grup-1) ve olmayanlar (grup-2) olarak gruplandı. İskemi saptanmayanlar ise grup-3 olarak tanımlandı. Bilinen KAH öyküsü olmayan 48 hasta (ortalama yaş: 57,4±10,9 ve 23'ü (%48) kadın) çalışmaya alındı. Hastaların 13'ü (%27) diyabetik, 26'sı (%54) hipertansif ve 10'u (%20) hiperlipidemikti. 17 hastada (%35,4) EST veya MPS ile iskemi saptanmazken (grup-3), 31 hastada iskemi mevcuttu. İskemi saptanarak KAG yapılan hastaların 21'inde (%67,7) klinik olarak anlamlı KAH saptandı (grup-1), 10'unda (%32,3) klinik olarak anlamlı KAH saptanmadı (grup-2). Medyan [min-maks] serum endotelin-1 seviyesi grup-1'de 15,9 [8,8-93,4] ng/L, grup-2'de 26,9 [8,5-55,5]ng/L, grup-3'te 21,8 [8,6-97,4] ng/L saptandı. Serum ET-1 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p=0,127). Koroner arter hastalığı şüphesi olan hastalarda serum ET-1 düzeyleri subklinik ateroskleroz için öngördürücü değildi.

**Anahtar Kelimeler:** İskemi. Endotelin. Subklinik. Ateroskleroz.

### Evaluation of Subclinical Atherosclerosis with Serum Endothelin-1 Levels

### ABSTRACT

Atherosclerosis and related diseases are the leading causes of death worldwide. Endothelial dysfunction occurs before the onset of atherosclerotic involvement in coronary arteries. It is important to diagnose atherosclerosis before organ involvement occurs. In this study, it was aimed to evaluate subclinical atherosclerosis by serum endothelin-1 (ET-1) levels in the subclinical period. Patients who presented with a complaint of chest pain and were scheduled for an exercise stress test (EST) or myocardial perfusion scintigraphy (MPS) in terms of coronary ischemia were included in the study. Patients with known angiographically proven coronary artery disease (CAD) were excluded from the study. Before the ischemia test, blood samples were taken from the patients for serum ET-1 measurement. Those with ischemia were evaluated by coronary angiography (CAG). According to the CAG results, those with clinically significant CAD (group-1) and those without clinically significant CAD (group-2) were grouped. Those without ischemia were defined as group-3. A total of 48 patients (mean age: 57.4 ± 10.9 years, and 23 (48%) females) without a known history of CAD were included in the study. 13 (27%) of the patients were diabetic, 26 (54%) of the patients were hypertensive and 10 (20%) of the patients were hyperlipidemic. While ischemia was not detected in 17 patients (35.4%) with EST or MPS (group-3), 31 patients had ischemia and underwent CAG. Among those, clinically significant CAD was detected in 21 (67.7%) patients (group-1), and clinically significant CAD was not detected in 10 (32.3%) patients (group-2). Median [min-max] serum endothelin-1 level in group-1 was 15.9 [8.8-93.4] ng / L, in group-2 it was 26.9 [8.5 -55.5] ng / L, and in group-3 it was 21.8[8.6-97.4] ng / L. There was no statistically significant difference between the groups in terms of serum ET-1 levels (p = 0.127). Serum ET-1 levels are not predictive of subclinical atherosclerosis in patients with suspected coronary artery disease.

**Key Words:** Ischemia. Endothelin. Subclinical. Atherosclerosis.

**Geliş Tarihi:** 11.Ocak.2021  
**Kabul Tarihi:** 29.Mart.2021

Dr. Şeyda GÜNAY  
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Kardiyoloji Anabilim Dalı,  
Bursa.  
Tel: 0224 295 16 40  
E-posta: seydagunaymedical@yahoo.com

**Yazarların ORCID ID Bilgisi:**  
Şeyda GÜNAY: 0000-0003-0012-345X  
Emre SARANDÖL: 0000-0002-2593-7196  
Ali AYDINLAR: 0000-0002-8974-8837

Ateroskleroz, kronik inflamatuvar bir hastalıktır<sup>1</sup>. Ateroskleroz ve ilişkili hastalıklar, dünya çapında birinci sıradaki ölüm sebebidir<sup>2</sup>. Bu nedenle aterosklerozu organ tutulumu olmadan teşhis edebilmek önemlidir. Aterosklerotik hastalığın subklinik döneminde endotel disfonksiyonu görülür. Endotel disfonksiyonu sonucu; bir yandan nitrik oksitin biyoyararlanımının azalmasına bağlı olarak koronerlerde ve sistemik dolaşımda endotel bağımlı relaksasyon azalırken, bir yandan da vazokonstriksiyon, lökosit adezyonu, tromboz, inflamasyon ve hücre proliferasyonuna neden olan serbest oksijen radikallerinin salınımı artar<sup>3</sup>.

Damar endotelinden salınan ve endotel fonksiyonlarını düzenleyen maddelerden biri de endotelin-1'dir (ET-1). ET-1, endotel ve damar düz kası üzerindeki ET-A ve ET-B reseptörlerine bağlanarak hem otokrin hem de parakrin etki gösterir<sup>4,5</sup>. ET-1 oldukça potent bir vazokonstriktör olup<sup>6</sup>, ET-1'in büyük kısmı endotel hücrelerinden komşu damar düz kas hücrelerine doğru abluminal salınır<sup>4</sup>. Bu nedenle serum ET-1 seviyesi vasküler aktiviteyi yansıtmayabilir ve subklinik aterosklerozda ET-1'in rolü net olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, serum ET-1 seviyesi ile subklinik ateroskleroz arasındaki ilişki araştırıldı.

## Gereç ve Yöntem

### Çalışma Grupları:

Bu çalışmada, Bursa Uludağ Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'na göğüs ağrısı şikayeti ile başvuran, ayrıntılı anamnez alınıp fizik muayene, elektrokardiyografi (EKG) ve ekokardiyografi ile değerlendirilerek iskemi dokümantasyonu yapılmasına karar verilen, 30-75 yaş arası hastaların dosyaları retrospektif olarak incelendi. Sistolik kan basıncı  $\geq 140$  mmHg veya diastolik kan basıncı  $\geq 90$  mmHg ölçülen veya antihipertansif ilaç kullanmakta olan hastalar hipertansif olarak tanımlandı. Açlık kan şekeri  $\geq 126$  mg/dL ölçülen veya anti-diyabetik ilaç kullanmakta olan hastalar diyabetik olarak tanımlandı. Total serum kolesterol değeri  $>220$  mg/dL ölçülen veya lipid düşürücü ajan kullanmakta olan hastalar hiperlipidemik olarak tanımlandı. Endotelin antagonisti ajan kullanmakta olan hastalar, kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOA), akut veya kronik böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı tanısı olan, kalp kapak replasmanı yapılan, koroner stent implantasyonu yapılan veya koroner arter by-pass operasyonu geçiren hastalar çalışmaya alınmadı. Çalışma Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 2012-11/2 nolu karar ile onaylandı.

### Çalışma Protokolü:

Egzersiz stres testine (EST) uyum sağlayabilen hastalar EST ile, uyum sağlayamayan veya EKG bulguları EST ile değerlendirilmeye uygun olmayan hastalar ise miyokard perfüzyon sintigrafisi (MPS) ile iskemi

varlığı açısından değerlendirildi. EST, "Quinton<sup>R</sup> Q-Stress<sup>R</sup> / Cardiac stres system, Cardiac Science" cihazı ile yapıldı. Test sonuçları "American College of Cardiology / American Heart Association" (ACC/AHA) 2013 önerileri<sup>7</sup> doğrultusunda iskemi varlığı açısından değerlendirildi. MPS ile değerlendirme, çalışma dahilinde olmayan nükleer tıp uzmanları tarafından yapıldı. İskemi saptanan hastaların işlem hakkında bilgilendirilip onamları alınarak koroner anjiyografi (KAG) işlemleri, femoral arter yoluyla standart Judkins yöntemi ile yapıldı. Sineanjiyografi donanımı olarak Siemens Axiom Artis BC kullanıldı. Bütün koroner anjiyografiler DICOM formatında "compact" disklere kaydedildi ve daha sonra araştırma ekibine dahil olmayan bir kardiyoloji uzmanı tarafından "off-line" ve görsel olarak incelendi. Her bir segment iki ortogonal pozisyonda incelendi, herhangi bir koroner arterde  $\geq 50$  darlık oluşturan lezyonlar klinik olarak anlamlı koroner arter hastalığı (KAH) olarak tanımlandı. KAG sonuçlarına göre hastalar, klinik olarak anlamlı koroner arter hastalığı olanlar (grup-1) ve olmayanlar (grup-2) olarak gruplandı. İskemi saptanmayanlar ise grup-3 olarak tanımlandı.

### Biyokimyasal Çalışmalar:

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan, iskemi varlığı açısından EST veya MPS ile değerlendirilmeden önce rutin tetkik için alınan kan örneğinden ET-1 düzeyi çalışmak için 5 ml serum 2 eppendorf tüpüne alınarak  $-20$  °C de saklandı. Serum örneklerinden "Human endothelin-1 (ET-1) ELISA kit" (Hangzhou Eastbiopharm Co, Ltd) kiti ile ELISA yöntemi kullanılarak ET-1 düzeyi ölçüldü.

### İstatistiksel analiz:

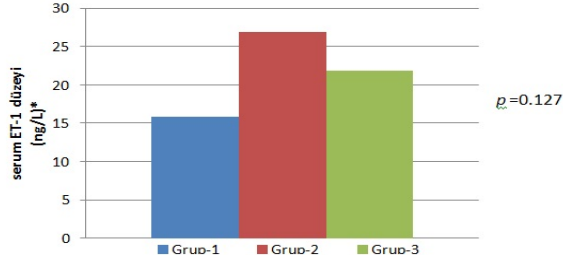
Çalışmada sürekli değişkenler betimleyici istatistik değeri olarak ortalama  $\pm$  standart sapma ya da medyan (minimum-maksimum), kesikli değişkenler medyan (minimum-maksimum), kategorik değişkenler ise frekans ve ilgili yüzde değerleri ile ifade edilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiş olup gruplar arası karşılaştırmalar ilgili test sonucuna göre k-grup testlerinden Kruskal Wallis, grup sayısının iki olması durumunda ise Mann Whitney veya bağımsız çift örneklem t testi kullanılarak yapılmıştır. Kategorik değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmaları Pearson ki-kare ve Fisher'in kesin ki-kare testleri kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup çalışmanın analizleri SPSS 20.0 programında yapılmıştır.

## Bulgular

Bilinen KAH öyküsü olmayan 48 hasta (ortalama yaş:  $57,4 \pm 10,9$  ve 23'ü (%48) kadın) çalışmaya alındı. Hastaların 13'ü (%27) diyabetik, 26'sı (%54) hiper-

## Subklinik Ateroskleroz ve Serum Endotelin-1 Düzeyi

tansif ve 10'u (%20) hiperlipidemikti. 17 hastada (%35,4) EST veya MPS ile iskemi saptanmazken (grup-3), 31 hastada iskemi mevcuttu. İskemi saptanarak KAG yapılan hastaların 21'inde (%67,7) klinik olarak anlamlı koroner arter hastalığı saptandı (grup-1), 10'unda (%32,3) klinik olarak anlamlı koroner arter hastalığı saptanmadı (grup-2). Medyan [min-maks] serum endotelin-1 seviyesi grup-1'de 15,9 [8,8-93,4] ng/L, grup-2'de 26,9 [8,5-55,5] ng/L, grup-3'te 21,8 [8,6-97,4] ng/L saptandı. Serum ET-1 düzeyleri açısından gruplar arasında (Şekil-1) istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı (p=0,127).



\*: median (min-maks), ET-1: endotelin-1

Şekil 1:  
Gruplar arası serum ET-1 düzeyleri

## Tartışma ve Sonuç

Koroner arter hastalığı gelişiminin farklı aşamalarında endotel bağımlı vazodilatasyon bozukluğu mevcuttur<sup>8-10</sup>. ET-1'in vazokonstriksiyon, düz kas proliferasyonu, nötrofil adezyonu ve trombosit agregasyonu yapması KAH gelişimine katkı sağladığını düşündürmektedir<sup>11</sup>.

Bu çalışmada, koroner iskemisi olmayan hastalar, klinik olarak anlamlı koroner arter hastalığı olan iskemik hastalar ve klinik olarak anlamlı koroner arter hastalığı olmayan iskemik hastalar arasında serum ET-1 düzeyleri benzer saptandı. Serum ET-1 düzeyinin, klinik olarak anlamlı koroner arter hastalığı olmayan fakat koroner iskemisi olan hastalarda erken dönemde subklinik ateroskleroz varlığını yansıtmadığı görüldü.

Oysa ki, Zeiher ve ark<sup>12</sup> hemodinamik olarak anlamlı KAH bulunmayanlarda koroner endotel bağımlı vazodilatasyon bozukluğu ile egzersizle tetiklenen miyokard perfüzyon defekti arasında ilişki saptamıştır. Obstruktif KAH olmayan hastalarda intrakoroner Ach uygulamasıyla miyokard iskemisinin tetiklenmesi<sup>13</sup> bunu desteklemektedir.

Bunula birlikte, iskemi ET-1 protein ekspresyonunu artırır<sup>14-17</sup>. Önceki çalışmalarda anginası olan ama koroner anjiyogramları normal olan hastalarda, KAH olanlarda, akut miyokard enfarktüsü geçirenlerde serum ET-1 düzeyleri yüksek saptanmış ayrıca ateroskleroz lezyonlarında da ET-1 ekspresyonu ve EDE (endotelin dönüştürücü enzim) artmıştır<sup>18-23</sup>. İnsan makrofajlarında okside LDL kolesterol ET-1 üretimini

ve endotel hücrelerinden ET-1 salınımını artırır<sup>24</sup>. Doku ET-1 düzeyinin KAH olanlarda anginanın şiddetiyle korele olduğu ve kararsız anginada arttığı gösterilmiştir<sup>23,25</sup>. ET-1'in plazma düzeylerinin akut miyokard infarktüsü geçiren hastalarda arttığı ve 1 yıllık prognozla korelasyon gösterdiği saptanmıştır<sup>26</sup>.

Düşük-orta kardiyovasküler risk grubundaki bireylerde subklinik aterosklerozu erken dönemde saptamak amacıyla geleneksel KAH risk faktörleri kullanılarak oluşturulan çok değişkenli risk modelleri yetersiz kaldığından subklinik aterosklerozu saptayabilen biyokimyasal belirteçlere yönelik ileri çalışmalar ihtiyaç vardır<sup>27</sup>.

Bu çalışmada gruplar arasında serum ET-1 düzeyinin benzer olması, endotelin-1'in abluminal salınımı nedeniyle vasküler fonksiyonları doğru yansıtamayabileceği görüşünü desteklemektedir.

Sonuç olarak, serum ET-1 düzeyleri bu çalışmada subklinik ateroskleroz ile ilişkili bulunmamıştır. Koroner arterlerdeki fonksiyonel ve yapısal değişiklikler ile serum ET-1 düzeyi arasındaki ilişki belirsizdir. Koroner arter hastalığı şüphesi olan hastalarda serum ET-1 düzeyleri subklinik ateroskleroz için öngördürücü değildir.

### Etik Kurul Onay Bilgisi:

**Onaylayan Kurul:** Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu.

**Onay Tarihi:** 22.05.2012

**Karar No:** 2012-11/2

### Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: Ş.G., A.A.; Veri toplama ve işleme: Ş.G.; Analiz ve verilerin yorumlanması: Ş.G., E.S.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: Ş.G.

### Destek ve Teşekkür Beyanı:

Bu makalede yer alan çalışma HDP(T)-2012/36 nolu proje kapsamında Bursa Uludağ Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmiştir.

Bu araştırmanın biyokimyasal analizlerinde desteğini esirgemeyen ve maalesef elim sağlık sorunları nedeniyle kaybettiğimiz değerli meslektaşımız Dr. Ebru Açıköz'e sonsuz teşekkürlerimizi sunarız.

### Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarlarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

## Kaynaklar

1. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature. 1993 Apr 29;362(6423):801-9.
2. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2012 Jan 3;125(1):e2-e220. doi: 10.1161/CIR.0b013e31823ac046. Epub 2011 Dec 15. Erratum in: Circulation. 2012 Jun 5;125(22):e1002.
3. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. Am J Physiol. 1996 Nov;271(5 Pt 1):C1424-37.

4. Wagner OF, Christ G, Wojta J, et al. Polar secretion of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *J Biol Chem.* 1992 Aug 15;267(23):16066-8.
5. Miyauchi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol.* 1999;61:391-415.
6. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 1988 Mar 31;332(6163):411-5.
7. Fletcher GF, Ades PA, Kligfield P, et al. Exercise standards for testing and training: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2013 Aug 20;128(8):873-934.
8. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, et al. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation.* 2000 Mar 7;101(9):948-54.
9. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation.* 2000 Apr 25;101(16):1899-906.
10. Fichtlscherer S, Breuer S, Zeiher AM. Prognostic value of systemic endothelial dysfunction in patients with acute coronary syndromes: further evidence for the existence of the "vulnerable" patient. *Circulation.* 2004 Oct 5;110(14):1926-32.
11. Mitani H, Takimoto M, Bandoh T, Kimura M. Increases of vascular endothelin-converting enzyme activity and endothelin-1 level on atherosclerotic lesions in hyperlipidemic rabbits. *Eur J Pharmacol.* 2000 Jan 17;387(3):313-9.
12. Zeiher AM, Krause T, Schächinger V, Minners J, Moser E. Impaired endothelium-dependent vasodilation of coronary resistance vessels is associated with exercise-induced myocardial ischemia. *Circulation.* 1995 May 1;91(9):2345-52.
13. Hasdai D, Gibbons RJ, Holmes DR Jr, Higano ST, Lerman A. Coronary endothelial dysfunction in humans is associated with myocardial perfusion defects. *Circulation.* 1997 Nov 18;96(10):3390-5.
14. Firth JD, Ratcliffe PJ. Organ distribution of the three rat endothelin messenger RNAs and the effects of ischemia on renal gene expression. *J Clin Invest.* 1992 Sep;90(3):1023-31.
15. Brunner F. Tissue endothelin-1 levels in perfused rat heart following stimulation with agonists and in ischaemia and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol.* 1995 Sep;27(9):1953-63.
16. Wang X, Douglas SA, Loudon C, et al. Expression of endothelin-1, endothelin-3, endothelin-converting enzyme-1, and endothelin-A and endothelin-B receptor mRNA after angioplasty-induced neointimal formation in the rat. *Circ Res.* 1996 Feb;78(2):322-8.
17. Douglas SA, Loudon C, Vickery-Clark LM, et al. A role for endogenous endothelin-1 in neointimal formation after rat carotid artery balloon angioplasty. Protective effects of the novel nonpeptide endothelin receptor antagonist SB 209670. *Circ Res.* 1994 Jul;75(1):190-7.
18. Kaski JC, Elliott PM, Salomone O, et al. Concentration of circulating plasma endothelin in patients with angina and normal coronary angiograms. *Br Heart J.* 1995 Dec;74(6):620-4.
19. Lerman A, Edwards BS, Hallett JW, et al. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *N Engl J Med.* 1991 Oct 3;325(14):997-1001.
20. Stewart DJ, Kubac G, Costello KB, Cernacek P. Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1991 Jul;18(1):38-43.
21. Minamino T, Kurihara H, Takahashi M, et al. Endothelin-converting enzyme expression in the rat vascular injury model and human coronary atherosclerosis. *Circulation.* 1997 Jan 7;95(1):221-30.
22. Rossi GP, Colonna S, Pavan E, et al. Endothelin-1 and its mRNA in the wall layers of human arteries ex vivo. *Circulation.* 1999 Mar 9;99(9):1147-55.
23. Zeiher AM, Ihling C, Pistorius K, Schächinger V, Schaefer HE. Increased tissue endothelin immunoreactivity in atherosclerotic lesions associated with acute coronary syndromes. *Lancet.* 1994 Nov 19;344(8934):1405-6.
24. Boulanger CM, Tanner FC, Béa ML, et al. Oxidized low density lipoproteins induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. *Circ Res.* 1992 Jun;70(6):1191-7.
25. Zeiher AM, Goebel H, Schächinger V, Ihling C. Tissue endothelin-1 immunoreactivity in the active coronary atherosclerotic plaque. A clue to the mechanism of increased vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation.* 1995 Feb 15;91(4):941-7.
26. Omland T, Lie RT, Aakvaag A, Aarsland T, Dickstein K. Plasma endothelin determination as a prognostic indicator of 1-year mortality after acute myocardial infarction. *Circulation.* 1994 Apr;89(4):1573-9.
27. Kavousi M, Leening MJ, Nanchen D, et al. Comparison of application of the ACC/AHA guidelines, Adult Treatment Panel III guidelines, and European Society of Cardiology guidelines for cardiovascular disease prevention in a European cohort. *JAMA.* 2014 Apr 9;311(14):1416-23.