

Kardiyak Sendrom X Hastalarında İnterlökin-17 Serum Seviyesi ve IL-17 Geni -152G/A Polimorfizminin Araştırılması

Investigation of Interleukin-17 Gene-152g/A Polymorphism and IL-17 Serum Levels in Patients with Cardiac Syndrome X

Yasemin Gizem Özer¹ , Burak Önal² , Deniz Özen^{1,3} , Cemre Kandaz¹ , Bülent Demir⁴ , Ahmet Gökhan Akkan¹ 

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstinye Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Özer YG, Önal B, Özen D, Kandaz C, Demir B, Akkan AG. Investigation of Interleukin-17 Gene-152g/A Polymorphism and IL-17 Serum Levels in Patients with Cardiac Syndrome X. JAREM 2019; 9(Supplement 1): S23-8.

ÖZ

Amaç: Kardiyak Sendrom X (KSX), normal koroner arterlere sahip hastalarda anjina ile birlikte göğüs ağrısının görülmesi olarak tanımlanabilir. İnflamatuvar bir hastalık olan KSX'in patofizyolojisinden endotelial ve mikrovasküler disfonksiyon sorumlu tutulmaktadır. İnflamasyon, özellikle iskemik kalp hastalıklarının gelişmesinde oldukça etkili olan bir faktördür. İnflamatuvar yanıt sırasında, B ve T lenfositlerin sayısında ve bu hücrelerden salınan çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda artış olduğu bilinmektedir. İnterlökin-17 (IL-17), immün yanıtı oluşturan ve inflamasyonda rol alan birçok sinyal molekülünü de indüklediği için; KSX patogenezinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, IL-17 serum seviyeleri ve IL-17 geni üzerindeki -152G/A polimorfizmi ile KSX arasındaki ilişki incelenmiştir.

Yöntemler: 100 KSX hastası ile 101 sağlıklı kontrol bireyden alınan kan örnekleri kullanılarak, ELISA metodu ile serum IL-17 seviyeleri ölçülmüştür. Örneklerden DNA izolasyonu yapıldıktan sonra, PZR-RFLP yöntemi kullanılarak; IL-17 geni -152G/A polimorfizminin belirlenmesi için genotipleme yapılmıştır.

Bulgular: KSX hastaları ve sağlıklı kontrol bireylerin IL-17 geni -152G/A polimorfizmi sonuçları karşılaştırıldığında; genotip ve allelik dağılım açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,218$). IL-17 serum seviyeleri ise; KSX hastalarında sağlıklı kontrol bireylere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak bulunmuştur ($p<0,001$).

Sonuç: KSX patogenezinde endotelial aktivasyona karşı vücutta inflamatuvar yanıt oluşur. T hücrelerinden salınan proinflamatuvar IL-17'nin kardiyovasküler hastalıklardaki rolünü kanıtlayan, bizim çalışmamızı destekler nitelikte çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bununla birlikte, anti-inflamatuvar etkiye sahip statin grubu ilaçların da IL-17 gen ekspresyonunu ve sitokin salınımını inhibe ettiği de gösterilmiştir. Bu bağlamda çalışmamızda, IL-17 düzeyleri anlamlı derecede yüksek olarak belirlenen KSX'li hastalarda görülen inflamatuvar yanıtı baskılamak amacı ile hastalığın tedavisinde statinlerin yardımcı etki sağlayabileceğini öngörmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Kardiyak Sendrom X, inflamasyon, endotelial disfonksiyon, IL-17, -152G/A polimorfizmi

ABSTRACT

Objective: Cardiac syndrome X (CSX) can be defined as experiencing chest pain with angina by patients with normal coronary arteries. Endothelial and microvascular dysfunction is responsible for the pathophysiology of the inflammatory CSX disease. Inflammation is especially an important factor in the progression of ischemic heart diseases. It is accepted that both the number of B and T lymphocytes and expression of various proinflammatory cytokines released from those cells increases during inflammatory response. Different proinflammatory cytokines are produced by activated macrophages and T lymphocytes. Since interleukin-17 (IL-17) induces many signaling molecules, which promote immune response and play a role in inflammation, it is assumed that IL-17 can play a role in the CSX pathogenesis. In our study, the relationship between CSX and IL-17 serum levels and the -152G/A polymorphism on IL-17 gene was investigated.

Methods: Serum IL-17 levels of blood samples were analyzed from 100 patients with CSX and 101 healthy control individuals using the Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) method. After the DNA isolation was performed from blood samples, the IL-17 gene-152G/A polymorphisms were detected based on the PCR-RFLP method for both patients and healthy individuals. The promoter region of the IL-17 gene was

ORCID IDs of the authors: Y.G.Ö. 0000-0003-1107-8623; B.Ö. 0000-0002-7846-875X; D.Ö. 0000-0002-3095-1208; C.K. 0000-0002-0589-7465; B.D. 0000-0003-3252-5218; A.G.A. 0000-0003-3210-2709.

amplified by the PCR method, and then, genotyping was performed using PCR products for the RFLP step. After that, obtained data for CSX patients and the healthy control group were compared using the statistical analysis.

Results: When the IL-17 gene-152G/A polymorphism genotyping results of patients with CSX and healthy control individuals were compared, no statistically significant difference was observed in both genotypic and allelic distributions ($p=0.218$). The IL-17 serum levels were found to be statistically significantly higher in patients with CSX than in healthy controls ($p<0.001$).

Conclusion: Endothelium plays a significant role in the regulation of vascular functions. Inflammatory response is generated against the endothelial activation in the CSX pathogenesis. An increase in the CRP levels, which is a marker of inflammation, is common for both coronary artery disease and CSX, associated with endothelial dysfunction. Helper T cells play important roles in cardiovascular diseases. IL-17 induces the expression of different proinflammatory cytokines and chemokines, participating in the tissue infiltration and destruction. There are also several studies that prove the significant role of proinflammatory IL-17, which is released from T cells, in cardiovascular diseases, supporting our results. In addition, it has been demonstrated that statins, having anti-inflammatory effects, inhibit the IL-17 gene expression and cytokine release. In this context, we foresee that statins can have a subsidiary effect on the CSX treatment to suppress the inflammatory response in patients in who the IL-17 levels were determined as significantly higher than in healthy controls.

Keywords: Cardiac Syndrome X, inflammation, endothelial dysfunction, IL-17, -152G/A polymorphism

GİRİŞ

Kardiyak Sendrom X (KSX); tipik egzersizle oluşan göğüs ağrısı ve normal koroner arterleri olan hasta grubunu tanımlamak için kullanılmasına rağmen, hastalığın kesin tanısı için kılavuzlarda henüz bir fikir birliğine varılamamıştır. Bunun nedeni ise, sendromun heterojen bir yapıda olması ve birçok farklı patolojik mekanizma içermesidir (1). KSX'in patogenezinde ağırlıklı olarak mikrovasküler disfonksiyon sorumlu tutulmaktadır. Normal koroner arterlere sahip anjinal hastalarda göğüs ağrısı algısında artış olduğu çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir; ancak, bu ağrının kökeninde kardiyak bir problem olup olmadığı henüz kesinlik kazanmamıştır. KSX'teki mikrovasküler disfonksiyon, tüm hastalarda aynı olması beklenmeyen, birden çok mekanizmaya bağlı olabilir (2).

İskemik kalp hastalıklarının başlamasında ve ilerlemesinde immünopatolojinin ve inflamasyonun önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Aterosklerotik fonksiyon bozukluklarında; monosit/makrofajlar ile T hücreleri ve B hücreleri gibi lökositlerin miktarının arttığı belirlenmiştir (3). Normal yapıdaki endotel hücreleri, lökositlerin yapışmasına karşı dirençlidir. Ancak inflamasyon başladığında, endotel hücrelerinin yüzeyinde selektin ailesinden olan moleküllerin ekspresyonu artar. Bu moleküller monositlerin endotel hücrelerine yapışmasına aracı olurlar. Endotel hücre yüzeyine yapışan monositler, intimaya geçerler ve makrofajlara dönüşürler. Böylece aterosklerotik lezyonların erken formu olan lipid yüklü makrofajlar veya köpük hücrelerinden meydana gelen yağlı çizgiler oluşur (4).

Aktive olan makrofajlar ve T lenfositler tarafından çeşitli proinflatuvar sitokinler üretilmekle birlikte, sitokinlerin adipositlerden de salgılandığı bildirilmiştir (5). IL-17; birçok immün sinyal molekülünü indüklemesi sebebi ile belirgin bir proinflatuvar özelliğe sahiptir ve patofizyolojisinde inflamasyonun önemli bir rol oynadığı düşünülen KSX patogenezinde IL-17'nin de görev aldığı düşünülmektedir (6). IL-17; fibroblastlar, endotel hücreleri, epitel hücreleri, keratinositler ve makrofajlar gibi birçok farklı tip hücrede IL-6, G-CSF, GM-CSF, IL-1 β , TGF- β , TNF- α gibi sitokinlerin, IL-8, GRO- α ve MCP-1 gibi kemokinlerin ve PGE2 gibi prostaglandinlerin üretimine neden olur. IL-17 ailesinin her üyesinin ekspresyonu birbirinden farklıdır. IL-17A ve IL-17F'nin ekspresyonu; yalnızca sınırlı sayıdaki küçük bir grup aktive T hücrelerinde görülür ve inflamasyon sırasında regülasyona uğrar (7).

Biz bu çalışmamızda, KSX patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülen IL-17 geni -152G/A polimorfizmini ve IL-17 serum seviyelerini

hedefleyerek; inflamasyonun hastalık ile olan ilişkisini genetik temeller üzerinden açıklamayı amaçlamaktayız.K

YÖNTEMLER

Çalışmaya, bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu imzalayan hastalar ve kontrol bireyler katıldı. Çalışma; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi bünyesindeki klinik araştırmalar etik kurulu tarafından onaylandı (Onay no: 35453) ve Dünya Tıp Birliği'nin yayınladığı Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yürütüldü. Hastanemizdeki kardiyoloji kliniğinde, tanısı 2013 Avrupa Kardiyoloji Derneği Kararlı Koroner Hastalığı Yönetimi Kılavuzu (8) kriterlerine göre konulmuş, ardışık 100 KSX hastası ve benzer yaş ve cinsiyet özelliklerine sahip, Framingham risk skoruna göre 10 yıllık kardiyak olay geçirme olasılığı %10'un altında olan ardışık asemptomatik 101 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. Dışlanma kriterleri olarak da; koroner arter hastalığı, geçirilmiş akut koroner sendrom, yavaş koroner akım sendromu, koroner ektazi, vazospastik anjina, koroner anjiyografide miyokardiyal köprü bulgusu, konjestif kalp yetmezliği, valvüler kalp hastalığı, kardiyomyopatiler, konjenital kalp hastalığı, perikardiyal ve miyokardiyal hastalıklar, atriyal fibrilasyon, sol dal bloğu, pulmoner emboli, geçirilmiş sebrovasküler olay, aktif enfeksiyon, neoplazi, otoimmün hastalıklar, hepatik disfonksiyon ve renal disfonksiyon (serum kreatin düzeyi > 1.5 mg/dL) belirlenmiştir.

Kan Örneklerinin Toplanması ve DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol bireylerden 12 saat gece açlığı sonrası antekübital ven yolu ile K₃EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri -20°C'de saklandı. Kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu; Invitrogen Pure-Link Genomik DNA kiti (K1820-02) (ThermoFisher, Carlsbad, CA, USA) kullanılarak, kit protokolüne uygun olarak yapıldı. Ardından, Thermo Scientific Nanodrop 2000 (Carlsbad, CA, ABD) ile 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçüm yapılarak, izole edilen DNA'ların A260/A280 Optik Dansite (OD) değerleri belirlendi ve bu değerlerin 1,8 \pm 0,2 arasında; DNA konsantrasyonlarının ise, 75-180 ng/ μ L olduğu belirlendi. Elde edilen genomik DNA örnekleri, genotipleme için kullanılmaya dek -20°C'de muhafaza edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Genotipleme

Çalışmada, IL-17 geninin promotör bölgesi üzerindeki -152G/A polimorfizmini belirleyebilmek amacı ile polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanıldı (Applied Biosystems 2720) (Foster City, CA, ABD). PZR döngüsünün ilk denatürasyon aşaması 94°C'de 5 dakika, daha sonra 35 döngü olarak denatürasyon, primer bağlanması ve uzama aşamaları sırasıyla 94°C'de 20 saniye,

60°C'de 40 saniye ve 72°C'de 30 saniye olarak ayarlandı. Onu takip eden 72°C'de 5 dakikalık son uzama aşaması ile de işlem son buldu. IL-17 geninin promotör bölgesindeki hedef polimorfizmi içeren 344 bç'lik bölgeyi çoğaltmak amacı ile kullanılan primer dizileri Tablo 1'de gösterilmektedir. İşlem sonunda elde edilen PZR ürünleri, %1.5'lik agaroz jelde yürütülüp; UV altında gözlemlenerek istenilen ürünlerin oluşup oluşmadığı kontrol edildi.

Ardından elde edilen PZR ürünleri, genotipleme için RFLP (Restriction Fragments Length Polymorphism=Restriksiyon Fragmentleri Uzunluk Polimorfizmi) yöntemi kullanılarak XmnI restriksiyon enzimi ile kesildi. Kesim ürünleri, %2'lik agaroz jelde yürütülerek analizleri yapıldı.

ELISA

Alınan periferik kan örneklerinin 5000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmesi ile kan serumları elde edildi. Örneklerdeki IL-17 serum seviyeleri, eBioscience Platinum ELISA kiti (ThermoFisher, Carlsbad, CA, ABD) kullanılarak belirlendi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, Statistical Package for Social Sciences versiyon 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) istatistik yazılım programı kullanılarak yapıldı. Özet veriler ortalama±SD ve yüzde açısından sunuldu. Grupların kantitatif değerlerini kıyaslarken bağımsız gruplar için t-testi ve kategorik özellikleri kıyaslarken Ki-kare testi uygulandı. İki ayrı özelliğin kantitatif verilerinin ve alt grup kıyaslamaları ise iki yönlü ANOVA ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı p<0,05 olarak belirlendi.

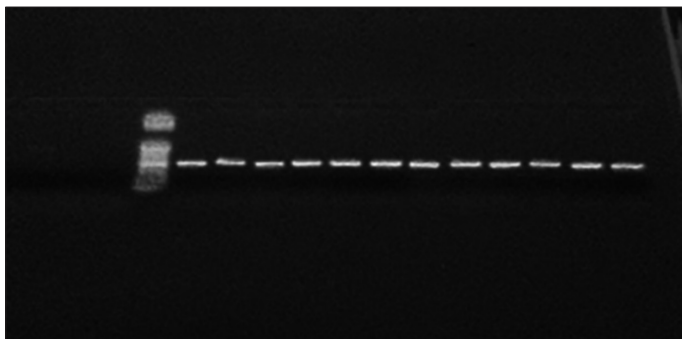
BULGULAR

IL-17 Geni -152G/A Polimorfizminin Belirlenmesi

Çalışmada, KSX hastalarının ve kontrol bireylerin genomik DNA'larından, uygun primerler kullanılarak PZR metodu ile IL-17 geni promotör bölgesinin çoğaltılması sağlandı. PZR işlemi sonucunda elde edilen ürünler, agaroz jel elektroforezi yöntemi ile görüntülenerek, istenilen sonucun alındığı doğrulandı (Resim 1).

Tablo 1. Hedef bölgenin çoğaltılması amacı ile PZR işleminde kullanılan primerler

Gen	Primerler	PZR ürünü
IL-17	5' CAG AAG ACC TAC ATG TTA CT 3'	344 bç
	5' GTA GCG CTA TCG TCT CTC T 3'	



Resim 1. IL-17 geni promotör bölgesi PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde gösterilmesi. İlk kuyu, moleküler ağırlık belirteci; diğer 12 kuyu, 344 bç'lik PZR ürünleridir

Promotör bölgede bulunan -152G/A polimorfizminin belirlenmesi amacı ile çoğaltılan 344 bç uzunluğundaki DNA parçaları, XmnI restriksiyon enzimi kullanılarak kesildi. Kesim sonucunda, 213 bç ve 131 bç uzunluğundaki bantların görüldüğü örnekler AA, kesim bölgesi bulunmayan 344 bç uzunluğundaki tek bir bant olarak görülen örnekler GG ve 344, 213 ve 131 bç uzunluklarındaki bantların görüldüğü örnekler ise AG genotipleri olarak belirlendi. Hasta ve kontrol bireylere ait bazı örneklerin XmnI kesim ürünleri Resim 2'de gösterilmektedir.

Belirlenen genotiplerin dağılım oranları, KSX hastalarında AA %20.0, AG %37.0, GG %43.0; kontrol grubunda ise, AA %11.9, AG %35.6 ve GG %52.5 olarak saptandı (Tablo 2). IL-17 geni -152G/A polimorfizminin genotip dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0,05) (Tablo 2). Aynı zamanda, IL-17 geni -152G/A polimorfizminin allelik dağılımı bakımından da KSX hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0,05) (Tablo 3).

IL-17 Serum Seviyesi Sonuçları

IL-17 serum seviyeleri, ELISA metodu ile belirlendi. KSX hasta grubunun ortalama IL-17 serum seviyesi 16,39±6,21 pg/mL olarak bulunurken; kontrol grubunda ise bu değer 9,07±3,35 pg/mL olarak ölçüldü (Resim 3). Hasta ve kontrol gruplarına ait serum IL-17 seviyeleri karşılaştırıldığında, hasta grubunun IL-17 seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu (p<0,001).

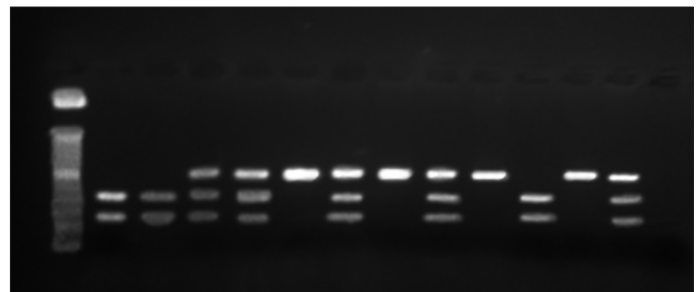
Demografik Veri Sonuçları

Çalışmaya dâhil edilen KSX hastaları ve kontrol bireyler karşılaştırıldıklarında; kadınlarda KSX hastalığının görülme sıklığı, kontrol grubundaki bireylerden anlamlı olarak daha yüksekti (p<0,05).

Tablo 2. KSX hastaları ve kontrol bireylerin IL-17 geni -152G/A polimorfizmi genotip dağılımı

IL-17 promotör	Kontrol [n (%)]	Hasta [n (%)]	Toplam [n (%)]
AA	12 (11,9)	20 (20,0)	32 (15,9)
AG	36 (35,6)	37 (37,0)	73 (36,3)
GG	53 (52,5)	43 (43,0)	96 (47,8)
Toplam	101 (100,0)	100 (100,0)	201 (100,0)

p=0,218; $\chi^2=3,050$ olarak belirlenmiş ve anlamlı bir fark bulunamamıştır



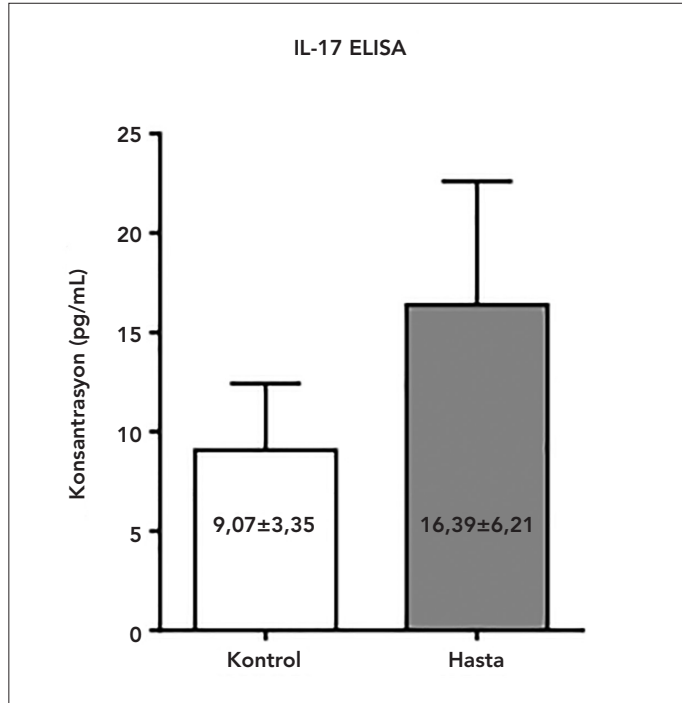
Resim 2. IL-17 geninin XmnI restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan kesim ürünleri. İlk kuyu, moleküler ağırlık belirteci, 2. ve 3. kuyular 131 ve 213 bç'lik bantların görüldüğü AA; 4. ve 5. kuyular 344, 213 ve 131 bç'lik bantların görüldüğü AG ve 6. kuyu 344 bç'lik tek bir bantın görüldüğü GG genotipleridir

Ayrıca, KSX hastalarında sigara kullanımı da anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ve aynı zamanda hastalarda hipertansiyon ve diyabetin varlığı da kontrol bireylere oranla daha fazladır. Anjiyotensin reseptör blokeri/anjiyotensin reseptör inhibitörü kullanımı, kardiyovasküler hastalık veya miyokard enfarktüsü geçirme veya birinci dereceden akrabalarından erkeklerde 55, kadınlarda 65 yaşından önce ani ölümün gerçekleşmesi ile tanımlanan aile öyküsü her iki grup arasında karşılaştırıldığında, hasta grubunda istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Egzersiz stres testi pozitifliği hasta bireylerde %62 olarak belirlenirken; kontrol bireylerde ise %0 olarak belirlendi. Hemogloblin düzeylerinin KSX hastalarında, kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşük olduğu ortaya çıkmıştır. Bunların yanında, her iki grubun demografik verilerinin kıyaslanmasında; vücut kütle endeksi, kalsiyum kanal blokeri ve statin kullanımı ile platelet, ortalama trombosit hacmi, AST, ALT, TG, GGT, total kolesterol LDL ve HDL değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4).

TARTIŞMA

Kardiyak Sendrom X (KSX); anjina pektoris ve egzersiz stres testi esnasında miyokard iskemisine işaret eden ST segment depresyonu-



Resim 3. KSX hastaları ve kontrol bireylerinin serum IL-17 seviyeleri
KSX: Kardiyak Sendrom X

Tablo 3. IL-17 geni -152G/A polimorfizmi allelik dağılım tablosu

	Kontrol [n (%)]	Hasta [n (%)]
A n (%)	60 (29,7)	77 (38,5)
G n (%)	142 (70,3)	123 (61,5)

$\chi^2=3,462$; $p=0,063$ olarak belirlenmiş ve anlamlı bir fark bulunmamıştır

na sahip olmanın yanında; normal koroner anjiyografi ile karakterizedir. KSX, bazı hastalarda görülen mikrodolaşım bozukluklarından dolayı mikrovasküler anjinanın eşdeğeri olarak düşünülmüştür. KSX hastalarında mikrovasküler düzeydeki vazodilatasyonun bozulmasının; dolayısı ile endotelial disfonksiyonun, miyokard iskemisi ve anjina patogenezinde önemli rolü olduğu kabul edilmektedir (9, 10). Bir endotelial aktivasyon göstergesi olan endotelial disfonksiyon da proinflatuvar, proliferatif ve prokoagulan ortam yaratır (11). İnflamasyonun bir göstergesi olan C-reaktif protein (CRP) seviyesinin yükselmesi, endotelial disfonksiyon ile ilişkili koroner arter hastalığı ve KSX için ortak bir belirteçtir (12).

Tablo 4. KSX hastaları ve kontrol grubuna ait demografik bilgiler

	KSX hastaları (n=100)	Kontrol Bireyler (n=101)	p
Yaş	54,67	49,23076923	<0,001
Kadın/Erkek	71/29	55/49	0,007
BMI	25,028	24,87980769	0,641
HT n (%)	43 (43)	12 (11,5)	<0,001
DM n (%)	32 (32)	0	
AÖ n (%)	31 (31)	15 (14,4)	0,004
SİGARA n (%)	39 (39)	25 (24)	0,021
İlaç Tedavisi n (%)			
BB	16 (16)	7 (6,7)	0,036
KKB	20 (20)	5 (4,8)	
ACEİ/ARB	24 (24)	8 (7,7)	0,001
STATİN	23 (23)	15 (14,4)	0,115
EFOR	62 (62)	0	
HB	12,45±1,69	13,14±1,63	0,003
PLT	251,69±80,26	249,26±58,84	0,805
MPV	8,66±1,33	8,55±1,02	0,513
AST	20,35±9,50	22,75±13,13	0,138
ALT	21,65±15,71	20,58±10,83	0,569
GGT	23,42±12,96	25,73±11,60	0,181
Biyokimya			
TG (mg/dL)	152,23±88,09	132,72±64,27	0,071
TK (mg/dL)	199,18±37,60	200,60±34,49	0,778
LDL (mg/dL)	119,58±34,08	120,43±29,34	0,848
HDL (mg/dL)	48,15±11,56	46,58±34,21	0,665

BMI: vücut kitle indeksi; HT: hipertansiyon; DM: diabetes mellitus; AÖ: aile öyküsü; BB: beta bloker; KKB: kalsiyum kanal blokeri; ACEİ/ARB: anjiyotensin II reseptör blokeri/anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; HB: hemoglobin; PLT: platelet sayısı; MPV: ortalama platelet hacmi; AST: aspartat aminotransferaz; ALT: alanin aminotransferaz; GGT: gama-glutamil transferaz; TG: trigliserit; TK: total kolesterol; LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein; HDL: yüksek yoğunluklu lipoprotein

Yardımcı T hücre yanıtları, kardiyovasküler hastalıklarda büyük öneme sahiptir (3). Herhangi bir uyarın, plazmada bulunan ve hücrelerden serbestleşen bir takım kimyasal mediyatörleri tetikleyerek inflamasyonu başlatır (13). İnflamatuvar yanıt sırasında da; nitrik oksit, trombosit aktive edici faktör ve sitokinler gibi bazı endojen mediyatörler, gerektiğinde membran fosfolipidlerinden sentezlenir (14).

Belirgin proinflamatuvar özelliğe sahip olan IL-17, KSX patogenezinde rol oynuyor olabilir (6, 15). IL-17 esas olarak T hücrelerinden salgılanan bir sitokindir; ancak makrofajlardan, dendritik hücrelerden ve doğal öldürücü hücrelerden de salgılandığı bilinmektedir. Proinflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin, hücre adezyon moleküllerinin ve büyüme faktörlerinin üretimi, IL-17 ile tetiklenebilmektedir (6). Aynı zamanda IL-17, aortik dokularda monosit birikimini ve aktivasyonunu da düzenleyici göreve sahiptir. IL-17A ve IFN- γ karşılıklı etki ile IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve CXCL10 gibi bazı inflamatuvar faktörleri uyarır ve böylece olası inflamatuvar süreci tetikler. Bu sonuçlar, IL-17'nin proinflamatuvar süreçteki rolünü destekler niteliktedir (7).

Kardiyak Sendrom X, erkeklere kıyasla kadınlarda daha sık görülür. Özellikle menopozal ve ovaryum yetmezliği semptomları yaşayan kadınlarda KSX görüldüğü gözlenmiştir. KSX, östrojen eksikliği yaşayan post menopozal kadınlarda daha çok görülmektedir. Östrojen eksikliği, endotel disfonksiyonu ve/veya anormal ağrı algısı olan kadınlarda KSX için bir tetikleyici olabilir. Söz konusu kadın hastalarda östrojen replasman tedavisinin göğüs ağrısını önlemede olumlu sonuçlar doğurabileceği öne sürülmüştür (16). Bizim çalışmamızın demografik bulguları da kadınlarda KSX'in daha sık görüldüğünü destekler niteliktedir.

Çalışmamızda, Türk toplumunda KSX hastalığı ile IL-17 geninin promotör bölgesinde bulunan -152G/A polimorfizmi arasındaki ilişkiyi PZR-RFLP yöntemini kullanarak araştırdık. KSX hastaları ve benzer demografik özelliklere sahip sağlıklı kontrol bireylere ait genomik DNA örnekleri kullanılarak yapılan genotipleme sonucunda, genotip dağılımı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0,218$). IL-17 geni -152G/A polimorfizmi allel dağılımı bakımından incelendiğinde ise, anlamlı olmasa da anlamlılığa yakın bir sonuç elde edildi ($p=0,063$). Buna bağlı olarak; ileride yapılacak olan çalışmalarda hasta ve kontrol bireylerin sayısının artırılması ile KSX hastalığı ve -152G/A polimorfizmi allelik dağılımı arasındaki ilişki açısından anlamlı sonuç elde edilebileceği öngörülebilir.

Çalışmanın diğer aşamasında, hasta ve kontrollere ait serum örneklerinin IL-17 serum düzeyleri ELISA metodu ile belirlendi. Elde edilen sonuca göre, iki grup arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede, hasta bireylere ait IL-17 seviyelerinin, kontrol bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. Literatürde KSX hastalarında IL-17 serum seviyelerinin incelendiği bir çalışma henüz bulunmamaktadır. İnflamatuvar hastalığa sahip bireylerde yapılan çalışmalarda, IL-17 serum seviyesinin hasta grubunda daha yüksek olduğu gösterilmiştir ve bu sonuçlar da bizim çalışmamızı destekler niteliktedir (17). Jafarzadeh ve ark. akut miyokard infarktüsü geçirmiş ve stabil olmayan anjinası olan hastalarda, IL-17 serum düzeyinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir (18). Yapılan bir çalışmada, hipertansiyonu olan hastalarda IL-17 seviyesinin yükseldiği; ateroskleroz ve koroner arter hastalığı faktörleri çıkarıldığında da, IL-17'nin yine hipertansiyona sahip hastalarda risk faktörü olarak gözlemlendiği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada, IL-17 geni çıkarılan farelerde vasküler fonksiyonların korunduğu, süperoksit üretiminin ve aortik T hücre infiltrasyonunun azaldığı gösterilmiştir (19). Çin'de yapılan çalışmalara göre, koroner arter hastalarında IL-17 ve Th17 düzeylerinde de artış olduğu bildirilmiştir (20, 21). Ayrıca, inflamasyon ve dolayısı ile de kardiyovasküler hastalık belirteci olabilecek CRP artışında IL-17'nin etkili olduğu, hepatosit ve koroner arter düz kas hücre kültürlerinde de gösterilmiştir (22). IL-17; doku infiltrasyonu ve yıkımında görev alan IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin, makrofaj kemoatraktan protein-1 gibi kemokinlerin ve matris metalloproteinazların ekspresyonunu tetikleme özelliğine sahiptir. Bu şekilde IL-17'nin proinflamatuvar sitokin olarak görev aldığı, çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda belirtilmiştir (23).

Ayrıca, anti-inflamatuvar etkisi bilinen HMG-CoA redüktaz inhibitörlerinin IL-17 gen ekspresyonunu ve T hücreleri tarafından salınımını inhibe ettiği bilinmektedir (24). Bu bağlamda da serum düzeylerini yüksek olarak belirlediğimiz ve patogenezinde inflamasyonun suçlandığı KSX hastalarında statin kullanımının rutin tedavi seçenekleri arasına girmesi ile inflamasyona bağlı bulguların önlenebileceği ya da azaltılabileceği aşikardır.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızın kısıtlılıkları içerisinde; proje bütçesinin belirli limitler dahilinde olmasından dolayı IL-17 geni üzerindeki farklı polimorfizmlere de bakılamaması bulunmaktadır. Bunun yanı sıra yine kısıtlı bütçeden dolayı, hasta sayısının ve kontrol sayısının artırılmaması da kısıtlama olarak sayılabilir. Ayrıca IL-17'nin yanısıra; KSX patogenezinde rol oynadığı düşünülen diğer sitokinlerin, hs-CRP gibi diğer inflamatuvar belirteçler ile mikrovasküler disfonksiyon, vasküler inflamasyon ve endotel disfonksiyonu gelişmesinde rol oynadığı gösterilen ilave belirteçlerin çalışılmaması da bir diğer kısıtlılık olarak değerlendirilebilir. Bunun yanında başka bir kısıtlılık ise hastalara KSX tanısının koroner anjiyografi ile konulmasıdır. Çünkü bir lümenografi olan koroner anjiyografi; koroner lümeni daraltmayan, dışa doğru büyüyen ekzantrik plakları belirlemede yetersiz kalmaktadır. Dolayısıyla intravasküler ultrasonografi (IVUS) ve optik koherens tomografi (OCT) gibi intrakoroner görüntüleme yöntemlerinin çalışmamızda kullanılmaması da bir diğer kısıtlılık olarak yorumlanabilir.

SONUÇ

Çalışmamızda, IL-17 -152G/A polimorfizmi ile KSX hastalığı arasında istatistiksel olarak bir ilişki bulunamamasına rağmen; IL-17 serum düzeyi hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı olarak daha yüksektir. Bu nedenle, KSX'in patogenezinde sorumlu endotel disfonksiyonda ve inflamatuvar hastalıklarda rolü olduğu bilinen IL-17 sitokinini kodlayan gen üzerinde görülen çeşitli polimorfizmlerin, KSX hastalığı için bir belirteç olabileceğini düşünmekteyiz. IL-17 geni üzerindeki bu polimorfizmler ile KSX hastalığı arasındaki ilişkinin daha iyi aydınlatılması için ise, sitokin konformasyonel değişikliğe sebep olabilecek daha farklı polimorfizmler de çalışmaya dâhil edilerek veya örnek sayıları artırılarak daha kapsamlı araştırmalar yapılabilir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır. (Onay no. 35453)

Hasta Onamı: Bu çalışmaya katılan hastalardan yazılı onam alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - Y.G.Ö., B.Ö., B.D.; Tasarım - Y.G.Ö., B.Ö.; Denetleme - D.Ö., A.G.A.; Kaynaklar - B.Ö., D.Ö., B.D.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - Y.G.Ö., D.Ö., B.D.; Analiz ve/veya Yorum - C.K., B.D., A.G.A.; Literatür Taraması - Y.G.Ö., D.Ö., C.K.; Yazıyı Yazan - Y.G.Ö., B.Ö., D.Ö.; Eleştirel İnceleme - B.D., A.G.A.

Çıkar Çatışması: Yazarların beyan edecek çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: Çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 23172).

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the Ethics Committee of İstanbul University Cerrahpaşa-Cerrahpaşa School of Medicine (Approval no. 35453).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - Y.G.Ö., B.Ö., B.D.; Design - Y.G.Ö., B.Ö.; Supervision - D.Ö., A.G.A.; Resources - B.Ö., D.Ö., B.D.; Data Collection and/or Processing - Y.G.Ö., D.Ö., B.D.; Analysis and/or Interpretation - C.K., B.D., A.G.A.; Literature Search - Y.G.Ö., D.Ö., C.K.; Writing Manuscript - Y.G.Ö., B.Ö., D.Ö.; Critical Review - B.D., A.G.A.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: The study was supported by the Scientific Research Projects of İstanbul University (Project No.: 23172).

KAYNAKLAR

- Kaski JC, Rosano GM, Collins P, Nihoyannopoulos P, Maseri A, Poole-Wilson PA. Cardiac syndrome X: clinical characteristics and left ventricular function. Long-term follow-up study. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 807-14. [\[CrossRef\]](#)
- Buffon A, Rigattieri S, Santini SA, Ramazzotti V, Crea F, Giordina B, et al. Myocardial ischemia-reperfusion damage after pacing-induced tachycardia in patients with cardiac syndrome X. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H2627-33. [\[CrossRef\]](#)
- Dierich MP, Erdei A, Huemer H, Petzer A, Stauder R, Schulz TF, et al. Involvement of complement in B-cell, T-cell and monocyte/macrophage activation. *Immunol Lett* 1987; 14: 235-42. [\[CrossRef\]](#)
- Galle J, Quaschnig T, Seibold S, Wanner C. Endothelial dysfunction and inflammation: what is the link? *Kidney Int Suppl* 2003; 45-9. [\[CrossRef\]](#)
- Guzik TJ, Mangalat D, Korb R. Adipocytokines - novel link between inflammation and vascular function? *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 505-28.
- Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK, et al. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol* 1995; 155: 5483-6.
- Aggarwal S, Gurney AL. IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. *J Leukoc Biol* 2002; 71: 1-8.
- Task Force Members, Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2013; 34: 2949-3003. [\[CrossRef\]](#)
- Michaelides A, Ryan JM, VanFossen D, Pozderac R, Boudoulas H. Exercise-induced QRS prolongation in patients with coronary artery disease: a marker of myocardial ischemia. *Am Heart J* 1993; 126: 1320-5. [\[CrossRef\]](#)
- Kemp HG, Kronmal RA, Vlietstra RE, Frye RL. Seven year survival of patients with normal or near normal coronary arteriograms: a CASS registry study. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 479-83. [\[CrossRef\]](#)
- Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 631-8. [\[CrossRef\]](#)
- Recio-Mayoral A, Rimoldi OE, Camici PG, Kaski JC. Inflammation and microvascular dysfunction in cardiac syndrome X patients without conventional risk factors for coronary artery disease. *JACC Cardiovasc Imaging* 2013; 6: 660-7. [\[CrossRef\]](#)
- Lentsch AB, Ward PA. Regulation of inflammatory vascular damage. *J Pathol* 2000; 190: 343-8. [\[CrossRef\]](#)
- Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008; 454: 428-35. [\[CrossRef\]](#)
- Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang SK. IL-17 cytokine family. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 1265-73. [\[CrossRef\]](#)
- Kaski JC. Overview of gender aspects of cardiac syndrome X. *Cardiovasc Res* 2002; 53: 620-6. [\[CrossRef\]](#)
- Gullick NJ, Abozaid HS, Jayaraj DM, Evans HG, Scott DL, Choy EH, et al. Enhanced and persistent levels of interleukin (IL)-17⁺ CD4⁺ T cells and serum IL-17 in patients with early inflammatory arthritis. *Clin Exp Immunol* 2013; 174: 292-301. [\[CrossRef\]](#)
- Jafarzadeh A, Esmaeeli-Nadimi A, Nough H, Nemati M, Rezayati MT. Serum levels of interleukin (IL)-13, IL-17 and IL-18 in patients with ischemic heart disease. *Anadolu Kardiyol Derg* 2009; 9: 75-83.
- Madhur MS, Lob HE, McCann LA, Iwakura Y, Blinder Y, Guzik TJ, et al. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension* 2010; 55: 500-7. [\[CrossRef\]](#)
- Hashmi S, Zeng QT. Role of interleukin-17 and interleukin-17-induced cytokines interleukin-6 and interleukin-8 in unstable coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 2006; 17: 699-706. [\[CrossRef\]](#)
- Cheng X, Yu X, Ding YJ, Fu QQ, Xie JJ, Tang TT, et al. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome. *Clin Immunol* 2008; 127: 89-97. [\[CrossRef\]](#)
- Patel DN, King CA, Bailey SR, Holt JW, Venkatachalam K, Agrawal A, et al. Interleukin-17 stimulates C-reactive protein expression in hepatocytes and smooth muscle cells via p38 MAPK and ERK1/2-dependent NF-kappaB and C/EBPbeta activation. *J Biol Chem* 2007; 282: 27229-38. [\[CrossRef\]](#)
- Kolls JK, Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004; 21: 467-76. [\[CrossRef\]](#)
- Zhang X, Jin J, Peng X, Ramgolam VS, Markovic-Plese S. Simvastatin inhibits IL-17 secretion by targeting multiple IL-17-regulatory cytokines and by inhibiting the expression of IL-17 transcription factor RORC in CD4⁺ lymphocytes. *J Immunol* 2008; 180: 6988-96. [\[CrossRef\]](#)