

## Plazma asimetrik dimetilarginin (ADMA) düzeyi ve L-arginin/ADMA oranının koroner kollateral gelişimi üzerine etkisi

The effect of plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) level and L-arginine/ADMA ratio on the development of coronary collaterals

Dr. Mehmet Timur Selçuk, Dr. Hatice Selçuk, Dr. Ahmet Temizhan, Dr. Orhan Maden,  
Dr. Hakan Ulupınar, Dr. Erkan Baysal, Dr. Erdal Duru, Dr. Ali Şaşmaz

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyoloji Kliniği, Ankara

**Amaç:** Nitrik oksit (NO) sentazın endojen yarışmalı inhibitörü olan asimetrik dimetilargininin (ADMA) NO'nun üretim ve biyoyararlanımını azaltarak anjiyogenezi önlediği gösterilmiştir. Çalışmamızda, plazma ADMA düzeyi ve L-arginin/ADMA oranının koroner kollateral arter gelişimi üzerine etkisi araştırıldı.

**Çalışma planı:** Çalışmaya, koroner arter hastalığı şüphesiyle koroner anjiyografi uygulanan ve koroner arterlerin en az birinde %95'ten fazla darlık saptanan 94 hasta (66 erkek, 28 kadın; ort. yaş: 59±11) alındı. Koroner kollateral dolaşım Rentrop yöntemi kullanılarak sınıflandırıldı. Kollateral arterler, iyi gelişmemiş (Rentrop evre 0-1, n=44) ve iyi gelişmiş (evre 2-3, n=50) olmak üzere iki grupta değerlendirildi. Plazma ADMA ve L-arginin düzeyleri yüksek performanslı likit kromatografi yöntemiyle ölçüldü.

**Bulgular:** İki grup arasında kararlı angina dışında temel özellikler ve kardiyovasküler risk faktörleri açısından fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Rentrop evre 2-3 olan grupta kararlı angina sıklığı daha fazlaydı ( $p<0.001$ ). Evre 0-1 hastalarda asimetrik dimetilarginin düzeyi daha yüksek ( $p=0.003$ ), L-arginin/ADMA oranı daha düşük bulundu ( $p=0.019$ ). L-arginin düzeyleri açısından fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Çokdeğişkenli lojistik regresyon analizinde, plazma ADMA düzeyinin kollateral arter gelişimini bağımsız derecede etkilediği görüldü (odds oranı=0.674; %95 güven aralığı=0.508-0.894;  $p=0.006$ ).

**Sonuç:** Plazma ADMA konsantrasyonu koroner kollateral gelişimi iyi olmayan hastalarda yüksektir. Bu bulgu NO sentaz yolundaki bir düzensizliğin, bozulmuş koroner kollateral gelişimi ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Anjiyogenez inhibitörleri/kan; arginin; kollateral dolaşım; koroner anjiyografi; endotel, vasküler; neovaskülarizasyon, fizyolojik; nitrik oksit sentaz/metabolizma.

**Objectives:** It has been shown that asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous competitive antagonist of nitric oxide (NO) synthase, inhibits angiogenesis by reducing the production and bioavailability of NO. We investigated the effect of plasma ADMA level and L-arginine/ADMA ratio on the development of coronary collateral arteries.

**Study design:** The study consisted of 94 patients (66 males, 28 females; mean age 59±11 years) who underwent coronary angiography for suspected coronary artery disease and were found to have severe stenosis (>95%) in at least one major coronary artery. The patients were evaluated in two groups with poor (Rentrop score 0-1, n=44) and good (score 2-3, n=50) coronary collateral circulation according to the Rentrop collateral scoring system. Plasma levels of ADMA and L-arginine were measured by high-performance liquid chromatography.

**Results:** The two groups were similar with regard to basal characteristics and cardiovascular risk factors ( $p>0.05$ ) except for stable angina, which was more common in patients with Rentrop score 2-3 collateral circulation ( $p<0.001$ ). Despite similar L-arginine levels ( $p>0.05$ ), patients with Rentrop score 0-1 had a significantly higher ADMA level ( $p=0.003$ ) and lower L-arginine/ADMA ratio ( $p=0.019$ ). Multivariate logistic regression analysis showed that plasma ADMA concentration was an independent predictor of coronary collateral development (odds ratio=0.674; 95% confidence interval=0.508-0.894;  $p=0.006$ ).

**Conclusion:** Elevated plasma ADMA concentrations are associated with a poorly developed coronary collateral circulation, suggesting that dysregulation of the NO synthase pathway may result in impaired collateral development.

**Key words:** Angiogenesis inhibitors/blood; arginine; collateral circulation; coronary angiography; endothelium, vascular; neovascularization, physiologic; nitric oxide synthase/metabolism.

Geliş tarihi: 16.01.2008 Kabul tarihi: 29.02.2008

Yazışma adresi: Dr. Mehmet Timur Selçuk, Altay Mah., KC Gökşupark Havuzluevler, A1 Blok, No: 36, 06770 Eryaman, Ankara.  
Tel: 0312 - 306 11 35 Faks: 0312 - 281 16 53 e-posta: timurselcuk@hotmail.com

Nitrik oksit (NO), endotelial nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile bir aminoasit olan L-argininden üretilen ve vasküler tonusu düzenleyerek vasküler homeostazın sürdürülmesinde önemli rol oynayan bir maddedir. Aynı zamanda, trombosit agregasyonu, lökosit-endotel etkileşimi ve vasküler düz kas hücre proliferasyonu gibi ateroskleroz oluşumu için önemli basamakların oluşumuna engel olmaktadır.<sup>[1]</sup> *In vitro* ve *in vivo* çalışmalardan elde edilen kanıtlar, NO'nun kollateral arter gelişimi için başlıca süreçler olarak kabul edilen arteriyogenez ve anjiyogenez için önemli bir düzenleyici madde olduğunu düşündürmektedir.<sup>[2-5]</sup>

Asimetrik dimetilarginin (ADMA) endotelial NOS'nin endojen yarışmalı inhibitörüdür ve endotelial NOS'nin üretim ve biyoyararlanımını azaltmaktadır.<sup>[6]</sup> Asimetrik dimetilarginin, vasküler endotelial hücreler de dahil birçok dokuda normal protein döngüsü sırasında arginin kalıntılarının metilasyonu ile elde edilmekte<sup>[7]</sup> ve dimetilarginin dimetilaminohidrolaz aracılığıyla sitruline metabolize olmaktadır.<sup>[8]</sup> Kardiyovasküler hastalıklar ve endotel fonksiyon bozukluğuna neden olduğu bilinen hiperkolesterolemi, hipertansiyon, sigara ve diyabet gibi birçok kardiyovasküler risk faktörünün ADMA ile ilişkisi gösterilmiştir.<sup>[9-12]</sup> Ayrıca ADMA, NO'yu inhibe ederek damar kompliyansını azaltmakta, damar direncini artırmakta ve kan akımını sınırlandırmaktadır.<sup>[8]</sup>

Koroner kollateral arterler, iskemik miyokard alanlarına kan akımını sağlamak amacıyla, aynı koroner arterin bölümleri arasında veya farklı koroner arterler arasında ateroskleroza karşı kronik adaptif bir yanıt olarak gelişen anastomotik bağlantılardır.<sup>[13]</sup> İyi gelişmiş bir kollateral dolaşımın, koroner arter hastalığı (KAH) bulunan kişilerde miyokard iskemisi ve hücre ölümüne karşı koruyucu etkisi klinik ve deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Koroner tıkanıklık durumunda, koroner kollateraller miyokard iskemisini ve infarktüs alanını sınırlandırmakta ve miyokard canlılığının uzun süre devam etmesini sağlayarak prognoz üzerine olumlu etki göstermektedir.<sup>[14,15]</sup> Tekrarlayan ciddi iskemi, artmış makaslama stresi, basınç gradiyenti ve anjiyogenik büyüme faktörleri gibi birçok mekanik ve biyokimyasal faktörün kollateral arter gelişimi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.<sup>[16]</sup> Bununla birlikte, kollateral dolaşım derecesi açısından hastalar arasında görülen farklılıkların tek başına bu faktörlerle açıklanamaması bu süreçte başka etkenlerin rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, koroner anjiyografi ile koroner arterlerin en az birinde ciddi darlık saptanan hasta-

larda, plazma ADMA düzeyi ve L-arginin/ADMA oranının koroner kollateral arter gelişimi üzerine etkisi araştırıldı.

## HASTALAR VE YÖNTEMLER

Çalışmaya, Eylül 2005-Şubat 2006 tarihleri arasında kliniğimizde KAH şüphesi ile koroner anjiyografi uygulanan ve koroner arterlerin en az birinde %95'ten fazla darlık saptanan 94 hasta (66 erkek, 28 kadın; ort. yaş: 59±11) alındı. Daha önceden revaskülarizasyon işlemleri uygulanan, son bir ay içinde miyokard infarktüsü geçiren, önemli kapak ve doğumsal kalp hastalığı bulunan, akut koroner sendromla başvuran, kardiyomiyopatisi olan, böbrek ve karaciğer fonksiyon bozukluğu olan veya bilinen herhangi bir sistemik hastalığı bulunan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastalar çalışma konusunda bilgilendirildi ve çalışma protokolü hastanemiz eğitim planlama komisyonu tarafından onaylandı.

Bütün hastaların fizik muayeneleri yapıldı ve demografik özellikler, kardiyovasküler risk faktörleri ve kullanılan ilaçlar kaydedildi. Açlık kan şekeri düzeyi 126 mg/dl veya üstü olan veya oral antidiyabetik ilaç ve insülin kullanan hastalar diyabetik; sistolik kan basıncı 140 mmHg veya üstü, diastolik kan basıncı 90 mmHg veya üstü olan veya antihipertansif ilaç kullanan hastalar hipertansif kabul edildi. Beden kütle indeksi (BKİ), vücut ağırlığının boyun karesine bölünmesiyle (kg/m<sup>2</sup>) hesaplandı. Hastalardan 12 saatlik açlığı takiben rutin hematolojik ve biyokimyasal tetkikler için kan alındı.

Böbrek fonksiyonu Cockcroft formülü ile glomerül filtrasyon hızı hesaplanarak değerlendirildi. Kadınlar için elde edilen değer 0.85 ile çarpıldı.<sup>[17]</sup>

**Asimetrik dimetilarginin ölçümü.** Koroner anjiyografiden hemen sonra, antekubital ven yoluyla alınan kan örnekleri önceden soğutulmuş etilendiamin-tetraasetik asit (EDTA) içeren tüpler içerisine kondu ve buz içine yerleştirildi. Örnekler 3000 G'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazma örnekleri ölçüm yapılınca kadar -70° C'de dondurularak saklandı. Asimetrik dimetilarginin ve L-arginin düzeyleri floresan dedektörü kullanılarak yüksek performanslı likit kromatografi (HPLC) yöntemiyle ve örnekler kolon öncesi OPA (o-phthalaldehyde) ile türevlendirilerek ölçüldü.<sup>[18]</sup>

**Koroner anjiyografi ve kollateral arter skorlaması.** Koroner anjiyografi standart Judkins yöntemi kullanılarak femoral yaklaşımla uygulandı. Koroner arterler sağ ve sol oblik planda kranial ve kaudal açılar kullanılarak görüntülendi ve sol ventrikülografi sol ve sağ ön oblik planda yapıldı. Koroner anjiyografi

ve sol ventrikülografi için kontrast ajan olarak iopromid (Ultravist 370, Schering AG, Berlin, Almanya) kullanıldı. Koroner anjiyografi görüntüleri, hastaların klinik özellikleri ve laboratuvar değerleri konusunda bilgi sahibi olmayan iki tecrübeli kardiyolog tarafından değerlendirildi. Koroner arterlerdeki darlığın derecesine, en fazla darlığın gösterildiği projeksiyon esas alınarak karar verildi. Koroner kollateral dolaşım Rentrop yöntemi kullanılarak değerlendirildi ve tıkanmış olan arterdeki kontrast madde tutulumuna göre sınıflandırıldı (Evre 0: Kontrast madde ile dolan kollateral olmaması; Evre 1: Arterin yan dallarının epikardiyal segment doluşu olmadan görüntülenmesi; Evre 2: Epikardiyal segmentin kollateral damarlarla kısmen doluşu; Evre 3: Epikardiyal segmentin kollateral damarlarla tam doluşu).<sup>[19]</sup> Hastalar kollateral arter gelişim derecelerine göre, Rentrop evre 0-1 (44 hasta) ve evre 2-3 (50 hasta) olmak üzere iki gruba ayrıldı.

**İstatistiksel değerlendirme.** İstatistik çalışmaları SPSS 11.5 paket programı (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Kategorik değişkenler

ki-kare testi ile değerlendirildi. Devamlı değişkenler ortalama±standart sapma şeklinde ifade edildi ve Student t-testi veya Mann-Whitney U-testiyle karşılaştırıldı. Yaş, cinsiyet, BKİ, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabetes mellitus, sigara, aile öyküsü, ADMA ve L-arginin/ADMA oranının iyi kollateral gelişimi üzerine etkisi geriye doğru çokdeğişkenli lojistik regresyon testiyle değerlendirildi. Final modelde anlamlı bulunan bağımsız değişkenlerin etkileşim etkileri incelendi. P değerinin 0.05'in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Grupların temel demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de gösterildi. İki hasta grubu arasında yaş, cinsiyet, kardiyovasküler risk faktörleri açısından fark yoktu ( $p>0.05$ ). Kollateral arter gelişim derecesi evre 2-3 olan grupta kararlı angina sıklığı daha fazlaydı ( $p<0.001$ ). Gruplar arasında açlık kan şekeri, total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol, trigliserid, üre, kreatinin, glomerül filtrasyon hızı ve kul-

**Tablo 1. Grupların temel demografik ve klinik özellikleri**

	Rentrop evre 0-1 (n=44)			Rentrop evre 2-3 (n=50)			p
	Sayı	Yüzde	Ort.±SS	Sayı	Yüzde	Ort.±SS	
Yaş			58.1±10.6			59.1±11.5	0.674
Cinsiyet							0.617
Erkek	32	72.7		34	68.0		
Kadın	12	27.3		16	32.0		
Kararlı angina	15	34.1		37	74.0		<0.001
Beden kütle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )			27.1±3.8			27.5±4.6	0.650
Sistolik kan basıncı (mmHg)			122.5±18.2			128.2±17.9	0.127
Diyastolik kan basıncı (mmHg)			77.4±10.5			79.8±11.6	0.313
Risk faktörleri							
Hipertansiyon	22	50.0		28	56.0		0.561
Hiperlipidemi	19	43.2		21	42.0		0.908
Diyabetes mellitus	9	20.5		13	26.0		0.526
Sigara	20	45.5		24	48.0		0.805
Aile öyküsü	11	25.0		17	34.0		0.341
Laboratuvar bulguları							
Açlık kan şekeri (mg/dl)			120.8±49.4			127.9±61.7	0.696
Total kolesterol (mg/dl)			190.8±49.6			183.5±56.8	0.511
LDL-kolesterol (mg/dl)			117.0±41.2			112.9±55.5	0.695
HDL-kolesterol (mg/dl)			46.7±11.8			44.6±15.9	0.479
Trigliserid (mg/dl)			156.8±161.0			131.2±68.7	0.747
Üre (mg/dl)			33.1±8.1			35.6±8.2	0.147
Kreatinin (mg/dl)			0.80±0.15			0.81±0.18	0.724
Glomerül filtrasyon hızı			102.5±24.0			99.1±32.3	0.292
Kullanılan ilaçlar							
Aspirin	31	70.5		41	82.0		0.187
Nitrat	24	54.6		19	38.0		0.147
Beta-bloker	32	72.3		37	74.0		0.889
Anjiyotensin-dönüştürücü enzim inhibitörü/							
Anjiyotensin reseptör blokeri	19	43.2		27	54.0		0.295
Statin	15	34.1		23	46.0		0.240

**Tablo 2. Gruplar arasında L-arginin, asimetrik dimetilarginin (ADMA) düzeylerinin ve arginin/ADMA oranının karşılaştırılması**

	Rentrop evre 0-1	Rentrop evre 2-3	<i>p</i>
L-arginin ( $\mu\text{mol/l}$ )	118.8 $\pm$ 28.7	109.0 $\pm$ 29.3	0.104
ADMA ( $\mu\text{mol/l}$ )	4.0 $\pm$ 1.7	3.0 $\pm$ 1.7	0.003
L-arginin/ADMA	35.7 $\pm$ 18.3	46.7 $\pm$ 25.0	0.019

lanılan ilaçlar açısından farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ). Asimetrik dimetilarginin düzeyi evre 0-1 hastalarda daha yüksek bulunurken ( $p=0.003$ ), L-arginin düzeyleri açısından fark bulunmadı ( $p=0.104$ ). L-arginin/ADMA oranı ise evre 0-1 hastalarda daha düşük bulundu ( $p=0.019$ ; Tablo 2).

Kollateral gelişimi üzerine etkili olabilecek faktörleri araştırmak amacıyla yapılan geriye doğru çokdeğişkenli lojistik regresyon analizinde, yaş, cinsiyet, BKİ, hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi, sigara kullanımı, aile özelliği ve L-arginin/ADMA'nın kollateral gelişimine etkisi saptanmazken, plazma ADMA düzeyi etkili bulundu (odds oranı -  $OO=0.674$ ; %95 güven aralığı -  $GA=0.508-0.894$ ;  $p=0.006$ ). Bir sonraki aşamada analize kararlı angina eklendiğinde, ADMA ( $OO=0.732$ ; %95  $GA=0.550-0.974$ ;  $p=0.032$ ) ve kararlı anginanın ( $OO=0.212$ ; %95  $GA=0.085-0.531$ ;  $p=0.001$ ) kollateral gelişimine etkisinin devam ettiği görüldü. Çoklu regresyon analizi sonucunda kollateral gelişimine etkisi bulunan kararlı angina ve ADMA'nın etkileşim etkileri de regresyon modeline dahil edildiğinde, kararlı anginanın kollateral gelişimine etkisi ortadan kalktı ( $p=0.783$ ). Etkileşim etkisi istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber ( $p=0.270$ ), ADMA'nın kollateral gelişimi üzerine bağımsız bir belirleyici olduğu bulundu ( $OO=1.736$ ; %95  $GA=1.015-2.941$ ;  $p=0.044$ ).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada kollateral gelişimi iyi olmayan hastalarda plazma ADMA düzeyinin kollateral dolaşımı iyi gelişmiş olan hastalara göre yüksek olduğu, plazma L-arginin/ADMA oranının ise düşük olduğu gösterilmiştir. Çokdeğişkenli analizler sonucunda plazma ADMA konsantrasyonunun kollateral arter gelişimi için bağımsız bir belirleyici olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, NO sentaz yolunun koroner kollateral dolaşımın gelişiminde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Koroner kollateral gelişim üzerine etkili olan faktörlerin araştırıldığı çalışmalarda, anjiyogenez ve arteriyogenez olarak adlandırılan farklı ve birbirine yakın ilişkili iki mekanizmanın kollateral gelişim sürecinde rol oynadığı gösterilmiştir. Geçmiş yıllarda, anji-

yogenez terimi daha önceden var olan postkapiller venüllerden yeni kapiller damar oluşumunu tanımlamak için kullanılmaktayken,<sup>[20]</sup> günümüzde primitif damarların kompleks ve olgun vasküler ağ oluşturmak üzere büyüme, genişleme ve yeniden yapılanma süreci olarak adlandırılmaktadır.<sup>[21]</sup> Arteriyogenez ise, daha önceden var olan kollateral arteriyollerin viskoelastik ve vazomotor özellikler kazanarak fonksiyonel musküler kollateral arterlere dönüşümünü tanımlamaktadır. Yeni damar oluşumu ve kollateral arter büyümesinin biyolojik mekanizmalarının daha fazla anlaşılmasıyla birlikte, değişik kimyasal maddeler ve büyüme faktörleriyle iskemik dokuların yeniden beslenmesine yönelik terapötik arteriyogenez/anjiyogenez çalışmaları hız kazanmış ve bu tedavi yaklaşımı tıkaçıcı damar hastalığı olan kişiler için umut ışığı olmuştur. Deneysel çalışmalardan elde edilen bulgular, endotelial NOS tarafından üretilen NO'nun anjiyogenez ve arteriyogenez süreçlerinde rol oynayan önemli faktörlerden biri olduğunu ortaya koymuştur.

Nitrik oksidin anjiyogenezde rol oynadığını gösteren ilk doğrudan kanıtlar Papapetropoulos ve ark.<sup>[5,22]</sup> ile Ziche ve ark.<sup>[23,24]</sup> yaptığı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalardan elde edilmiştir. İskemik bırakılan tavşan ekstremite modelinde, NOS için bir substrat olan L-argininin oral uygulamasının spontan anjiyogenezi başlattığı gösterilmiştir.<sup>[25]</sup> *In vivo* yapılan anjiyografide ve nekropsi materyalinde yapılan histolojik incelemede artmış neovaskularizasyon izlenmiştir. Başka bir çalışmada, endotelial NOS geni taşımayan farelerde cerrahi olarak oluşturulan ekstremite iskemisi sonrasında anjiyogenezin oldukça bozulmuş olduğu gözlenmiş ve NO'nun iskemiye kompensatuvar yanıt olarak gelişen fizyolojik anjiyogenez için kritik bir düzenleyici molekül olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>[2]</sup> Brevetti ve ark.<sup>[26]</sup> eNOS ekspresyonu fazla olan tavşanlarda doku iskemisine yanıt olarak artmış kollateral gelişimi olduğunu belirtmişlerdir.

Anjiyogenez oluşumunda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi anjiyogenik büyüme faktörleri görev almaktadır. Anjiyogenik büyüme faktörlerinin NO salınımını uyardığı<sup>[27]</sup> ve anjiyogenik işlevlerini yerine getirebilmek için NO'ya ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir.<sup>[5,27-29]</sup> Nitrik oksidin, ekstrasellüler matriks protein ve endotelial hücre adezyon moleküllerinin değişimi, endotelial hücre migrasyonu ve proliferasyonu gibi büyüme faktörleri tarafından yürütülen anjiyogenik etkileri düzenleyerek 'anjiyogenik programı' başlattığı düşünülmektedir.<sup>[30]</sup> *In vitro* çalışmalarda büyüme faktörleri aracılığıyla sağlanan

kapiller ağ oluşumunun NOS inhibitörleri ile bloke edilebildiği gösterilmiştir.<sup>[5,28,29]</sup> Ayrıca, NOS inhibisyonunun tavşan kornea implant modelinde VEGF ile uyarılmış anjiyogenezi inhibe ettiği gözlenmiştir.<sup>[24]</sup>

Çalışmamızda bir NOS inhibitörü olan ADMA'nın artmış plazma konsantrasyonunun koroner kollateral gelişimini olumsuz etkileyebileceği sonucuna varılmıştır. Bu bulgu NO'nun koroner kollateral gelişimi ile ilişkisini araştıran çalışma sonuçlarıyla uyumludur. Kollateral arter gelişimi basamaklarından biri olan aktif büyüme aşamasında eNOS ekspresyonunun arttığını ilk kez, sol sirkumfleks arteri kronik olarak tıkalı köpek kalbinde gösteren Cai ve ark.<sup>[31]</sup> eNOS'nin adaptif arteriyogenez için önemli bir faktör olduğunu öne sürmüşlerdir. Lamblin ve ark.<sup>[32]</sup> eNOS gen polimorfizmi taşıyan insanlarda NOS aktivitesinin azalmasına bağlı olarak koroner kollateral gelişiminin iyi olmadığını göstermişlerdir. Yakın zamanda Güleç ve ark.<sup>[33]</sup> tarafından yapılan benzer bir çalışmada da, eNOS genine ait Glu298Asp polimorfizmi olan hastalarda kollateral gelişiminin bozulmuş olduğu gösterilmiştir. Literatürde, insan koroner arter gelişimi ile ADMA'nın ilişkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır; bu konudaki bilgiler hayvan çalışmaları ile sınırlıdır. Jacobi ve ark.<sup>[34]</sup> ADMA'nın inhibisyonu ile farelerde iskemik ve inflamatuvar uyarılara karşı anjiyoadaptasyonun arttığını, anjiyogenez ve arteriyogenezin iyileştiğini göstermişlerdir. Jang ve ark.<sup>[35]</sup> ApoE eksikliği olan hiperkolesterolemik farelerde ADMA plazma düzeyinin yüksek olduğunu ve lokal veya sistemik olarak yükselmiş ADMA düzeyinin sadece bazal değil bFGF ile uyarılan anjiyogenezi de inhibe ettiğini göstermişlerdir. Daha önceden yapılmış NO ve kollateral gelişimini araştıran çalışma bulguları<sup>[32,33]</sup> ile birlikte değerlendirildiğinde, çalışmamızın sonuçları NOS inhibitörü plazma düzeyinin insanlarda kollateral gelişimi için belirleyici bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Kardiyovasküler risk faktörlerinin koroner kollateral gelişimine etkisini inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle diyabetin kollateral gelişimine olan etkisi oldukça tartışmalıdır. Çalışmamızda, diyabet de dahil olmak üzere, kardiyovasküler risk faktörlerinin kollateral arter gelişimi üzerine etkisi bulunamamıştır. Çalışmamıza ait kısıtlayıcı faktörlerden biri olan hasta sayısının görece azlığı, kollateral gelişiminde etkili olabilecek risk faktörlerinin saptanmasını engellemiş olabilir. Çalışmamıza ait diğer bir kısıtlılık ise koroner kollateral gelişiminin anjiyografik olarak değerlendirilmiş olmasıdır. Anjiyografi ile ancak 200 mikrometrenin

üzerinde genişliğe sahip kollateral arterler gösterilebildiği için, kollateral artere sahip olmadığı düşünülen hastalarda aslında anjiyografik olarak görülmeyen küçük kollateraller olabilir.<sup>[36]</sup>

Sonuç olarak çalışmamızda, bir NOS inhibitörü olan plazma ADMA düzeyi, kollateral gelişimi yetersiz olan hastalarda kollateral gelişimi iyi olan hastalara göre yüksek, L-arginin/ADMA oranı ise düşük bulunmuş ve çokdeğişkenli analizde plazma ADMA düzeyi iyi kollateral gelişimi üzerine etkili bulunmuştur. Bu bulgular, NO metabolizmasının kollateral arter gelişiminde önemli rol oynadığını bildiren çalışma sonuçlarını<sup>[32,33]</sup> desteklemekte ve ADMA düzeyini azaltmaya yönelik tedavi yaklaşımlarının kollateral gelişimi için yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Landmesser U, Drexler H. The clinical significance of endothelial dysfunction. *Curr Opin Cardiol* 2005; 20:547-51.
2. Murohara T, Asahara T, Silver M, Bauters C, Masuda H, Kalka C, et al. Nitric oxide synthase modulates angiogenesis in response to tissue ischemia. *J Clin Invest* 1998; 101:2567-78.
3. Amano K, Matsubara H, Iba O, Okigaki M, Fujiyama S, Imada T, et al. Enhancement of ischemia-induced angiogenesis by eNOS overexpression. *Hypertension* 2003;41:156-62.
4. Smith RS Jr, Lin KF, Agata J, Chao L, Chao J. Human endothelial nitric oxide synthase gene delivery promotes angiogenesis in a rat model of hindlimb ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22: 1279-85.
5. Papapetropoulos A, Garcia-Cardena G, Madri JA, Sessa WC. Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *J Clin Invest* 1997; 100:3131-9.
6. Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999;43:542-8.
7. Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? *Circulation* 2004;109:1813-8.
8. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339:572-5.
9. Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, et al. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolyase. *Circulation* 2002;106:987-92.
10. Fard A, Tuck CH, Donis JA, Sciacca R, Di Tullio MR, Wu HD, et al. Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in

- response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2039-44.
11. Eid HM, Arnesen H, Hjerkin EM, Lyberg T, Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. *Metabolism* 2004;53:1574-9.
  12. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141-6.
  13. Popma JJ, Bittl J. Coronary angiography and intravascular ultrasonography. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, editors. *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine*. 6th ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 2001. p. 387-418.
  14. Fukai M, Ii M, Nakakoji T, Kawakatsu M, Nariyama J, Yokota N, et al. Angiographically demonstrated coronary collaterals predict residual viable myocardium in patients with chronic myocardial infarction: a regional metabolic study. *J Cardiol* 2000;35:103-11.
  15. Sabia PJ, Powers ER, Ragosta M, Sarembock IJ, Burwell LR, Kaul S. An association between collateral blood flow and myocardial viability in patients with recent myocardial infarction. *N Engl J Med* 1992;327:1825-31.
  16. Koerselman J, van der Graaf Y, de Jaegere PP, Grobbee DE. Coronary collaterals: an important and underexposed aspect of coronary artery disease. *Circulation* 2003;107:2507-11.
  17. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41.
  18. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998;98:1842-7.
  19. Cohen M, Rentrop KP. Limitation of myocardial ischemia by collateral circulation during sudden controlled coronary artery occlusion in human subjects: a prospective study. *Circulation* 1986;74:469-76.
  20. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000;6:389-95.
  21. Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res* 2001;49:507-21.
  22. Papapetropoulos A, Desai KM, Rudic RD, Mayer B, Zhang R, Ruiz-Torres MP, et al. Nitric oxide synthase inhibitors attenuate transforming-growth-factor-beta 1-stimulated capillary organization in vitro. *Am J Pathol* 1997;150:1835-44.
  23. Ziche M, Morbidelli L, Masini E, Amerini S, Granger HJ, Maggi CA, et al. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P. *J Clin Invest* 1994;94:2036-44.
  24. Ziche M, Morbidelli L, Choudhuri R, Zhang HT, Donnini S, Granger HJ, et al. Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis. *J Clin Invest* 1997;99:2625-34.
  25. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, et al. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest* 1994;93:662-70.
  26. Brevetti LS, Chang DS, Tang GL, Sarkar R, Messina LM. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase increases skeletal muscle blood flow and oxygenation in severe rat hind limb ischemia. *J Vasc Surg* 2003;38:820-6.
  27. van der Zee R, Murohara T, Luo Z, Zollmann F, Passeri J, Lekutat C, et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor augments nitric oxide release from quiescent rabbit and human vascular endothelium. *Circulation* 1997;95:1030-7.
  28. Babaei S, Teichert-Kuliszewska K, Monge JC, Mohamed F, Bendeck MP, Stewart DJ. Role of nitric oxide in the angiogenic response in vitro to basic fibroblast growth factor. *Circ Res* 1998;82:1007-15.
  29. Kostyk SK, Kourembanas S, Wheeler EL, Medeiros D, McQuillan LP, D'Amore PA, et al. Basic fibroblast growth factor increases nitric oxide synthase production in bovine endothelial cells. *Am J Physiol* 1995;269(5 Pt 2):H1583-9.
  30. Toyota E, Matsunaga T, Chilian WM. Myocardial angiogenesis. *Mol Cell Biochem* 2004;264:35-44.
  31. Cai WJ, Kocsis E, Luo X, Schaper W, Schaper J. Expression of endothelial nitric oxide synthase in the vascular wall during arteriogenesis. *Mol Cell Biochem* 2004;264:193-200.
  32. Lamblin N, Cuilleret FJ, Helbecque N, Dallongeville J, Lablanche JM, Amouyel P, et al. 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.
  33. Gulec S, Karabulut H, Ozdemir AO, Ozdol C, Turhan S, Altin T, et al. Glu298Asp polymorphism of the eNOS gene is associated with coronary collateral development. *Atherosclerosis* 2008;198:354-9.
  34. Jacobi J, Sydow K, von Degenfeld G, Zhang Y, Dayoub H, Wang B, et al. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase reduces tissue asymmetric dimethylarginine levels and enhances angiogenesis. *Circulation* 2005;111:1431-8.
  35. Jang JJ, Ho HK, Kwan HH, Fajardo LF, Cooke JP. Angiogenesis is impaired by hypercholesterolemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2000;102:1414-9.
  36. Gibson CM, Ryan K, Sparano A, Moynihan JL, Rizzo M, Kelley M, et al. Angiographic methods to assess human coronary angiogenesis. *Am Heart J* 1999;137:169-79.