

KARARLI KORONER ARTER HASTALARINDA PLAZMA ANGIOPOİETİN-1, ANGIOPOİETİN-2 VE VASKÜLER ENDOTELİAL BÜYÜME FAKTÖRÜ DÜZEYLERİ

Dr. Amir Shakor Tavakkoli, Doç.Dr. Enver Atalar, Doç.Dr. Necla Özer, Prof.Dr. Kenan Övünç, Prof.Dr. Serdar Aksöyek, Prof.Dr. Ferhan Özmen

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

Koronar ateroskleroz ve koroner kollateral damar gelişiminde büyüme faktörlerinin düzenleyici görev yaptıkları gösterilmiştir. Başta diyabet olmak üzere, koroner kollateral gelişimini etkileyen çeşitli faktörler vardır. Bu çalışmanın amacı kararlı koroner arter hastalığı (KAH) olanlarda büyüme faktörlerinin düzeyi ve koroner hastalığı şiddeti ve kollateral gelişimi ile ilişkisini belirlemektir. Çalışmaya koroner anjiyografi indikasyonu olan kararlı anjina pektoris hastaları dahil edilmiştir. Koroner anjiyografi sonucuna göre, koroner arterlerinde %50'den az darlık olanlar kontrol grubu (n=20, yaş ortalaması 55 10) ve %50 ve daha fazla darlık olanlar koroner arter hastası grubu (n=40, yaş ortalaması 59 11) olarak değerlendirilmiştir. KAH şiddeti 1, 2, 3 damar hastalığı olarak belirlenmiştir. Koroner kollateral varlığı anjiyografik olarak görülüp, görülmemesine göre değerlendirilmiştir. Plazma angiopoietin-1 düzeyi hasta ve kontrol grubunda benzerken (sırasıyla 194±84 pg/ml vs. 173±73,9 pg/ml, p=0,3), plazma angiopoietin-2

(sırasıyla 425±156 pg/ml vs. 251±81 pg/ml, p=<0,0001) ve VEGF (sırasıyla 17±8 pg/ml vs. 9,8±6,6 pg/ml, p=0,003) hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Koroner arter hastalarında diyabeti olan ve olmayanlar arasında plazma angiopoietin-1 (p=0,6), angiopoietin-2 (p=0,2) ve VEGF (P=0,4) düzeyleri benzer bulunmuştur. Ayrıca total okluzyon olanlarda, plazma VEGF düzeyleri (p=0.001), kollateral olanlarda VEGF (p=0.005) ve Ang-2 (p=0.003) düzeyleri daha yüksek olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, plazma VEGF ve Ang-2 düzeyleri, diyabeti olan ve olmayan kararlı KAH'da yüksektir ve her iki grupta benzerdir. Koroner kollateral olan hastalarda plazma VEGF ve Ang-2 düzeyleri artmıştır.

Anaktar Kelimeler: Kararlı koroner arter hastalığı, Plazma angiopoietin-1, Plazma angiopoietin-2, Vasküler endotelial büyüme faktörü

(Türk Girişimsel Kard. Der. 2008;12:97-107)

GİRİŞ

Günümüzde kalp ve damar hastalıkları, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde birinci sırada yer alan mortalite ve morbidite nedeni olup, kardiyak mortalitenin en önde gelen nedeni koroner arter hastalığıdır. Her sene ABD'de 1 milyondan fazla kişi kalp krizi geçirmektedir ve koroner arter hastalığından ölen kişinin sayısı 500,000'den fazladır¹. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de ölümlerin en sık nedeni kardiyak kökenli ve koroner arter hastalığıdır. Koroner arter hastalığının önemli risk faktörlerinden, diyabetes mellitus, hipertan-

siyon, dislipidemi, sigara kullanımı, obezite, ileri yaş ve aile öyküsü sayılabilir. Büyüme faktörlerinin de koroner arter hastalığının en önemli nedeni olan ateroskleroz oluşumu ve gelişiminde önemli rolü olduğu bilinmektedir. Daha önce yapılmış olan çalışmalarda kararlı koroner arter hastalığında ve akut koroner sendromlarda angiopoietin-1, angiopoietin-2 ve VEGF düzeyleri incelenmiştir²⁻⁵.

Koroner arter hastalığında kollateral damar gelişimi miyokardı iskemiyeye karşı korumaktadır fakat kollateral-larin gelişimi hastadan hastaya değişmektedir. Bu değişikliğin nedeni tam bilinmemektedir. Diyabetin kollateral oluşumunu etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca 15'ten fazla faktörün anjiogenez ve kollateral oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir. Bunların arasında anjiopoietin-1, anjiopoietin-2 ve vasküler endotelial büyüme faktörü önemli yer tutmaktadır⁶⁻⁸. İskemik kalp hastalıkları tedavisinde kontrollü anjiogenez gibi yeni tedavi

Yazışma Adresi: Dr. Amir Shakor TAVAKKOLİ
Hacettepe Üniversitesi Tıp Üniversitesi
Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
Tel: 0 312 305 17 80
e-mail: drmgkaya@yahoo.com
Geliş Tarihi:02.06.2008
Kabul Tarihi:10.07.2008

Tablo 1: Çalışma dışı bırakma kriterleri

1. Son 6 ay içinde akut koroner sendrom öyküsü olanlar (ST elevasyonlu Mİ-ST elevasyonsuz Mİ-Karasız Anjina)
2. Kronik karaciğer hastalığı
3. Kronik böbrek hastalığı
4. Akut inflamatuvar hastalıklar
5. Romatizmal hastalıklar
6. Habis hastalıklar
7. Konjestif kalp yetmezliği ve/veya LVEF <%40
8. Antikoagülan kullanımı
9. Ciddi kapak hastalığı (önemli yetmezlik ve darlık) ve protez kapağı olanlar
10. CABG öyküsü olan hastalar
11. Atriyal fibrilasyon
12. Akut enfeksiyon
13. Hormon replasman tedavisi veya steroid tedavisi alanlar
14. İnme öyküsü

yöntemleri gelişmekte olduğundan, angiopoietin, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve vasküler yapıların arasındaki etkileşimi tanımak ve bu faktörlerin kollateral damar gelişimindeki rollerini bilmek önemlidir. Bu tür yeni tedavi yöntemleri özellikle konvansiyonel tedaviden faydalanamayan hastalar için umut kaynağı olmaktadır. Bu yüzden günümüzde çeşitli vasküler büyüme faktörleri ve bunların hastalıklarla ilişkileri araştırılmaktadır⁶⁻⁸.

Diyabetes mellitus'te koroner arter hastalığı daha sık, daha yaygın ve daha şiddetlidir. Ayrıca diyabet mellitus'te kollateral damar oluşumunun daha az olduğu gösterilmiştir⁹. Koroner arter hastalığı (KAH) olan ve olmayan diyabetik hastalarda, angiopoietin-1, angiopoietin-2 ve VEGF düzeyleri incelenmiştir¹⁰.

Türkiyeden stabil koroner arter hastalarında plazma büyüme faktörlerini inceleyen bir çalışma henüz yapılmamıştır. Diyabeti olan ve olmayan kararlı koroner arter hastalarında, total oklüzyon varlığı, KAH yaygınlığı ve kollateral varlığını inceleyen literatürdeki en kapsamlı çalışmadır.

Bu çalışmada diyabet mellitusu olan ve olmayan stabil koroner arter hastalarında plazma angiopoietin-1, angiopoietin-2 ve VEGF düzeyleri ve bunların koroner arter hastalığı yaygınlığı ile ilişkisi araştırılmıştır.

HASTALAR VE YÖNTEM

Klinik olarak stabil anjina pectoris tanısı alan ve/veya efor testi pozitifliği ve/veya miyokard perfüzyon sintigrafi pozitifliği ve/veya koroner bilgisayarlı tomografi (CT) anjiyografide önemli koroner lezyonları nedeniyle koroner anjiyografi indikasyonu olan ve koroner anjiyografi yapılan ve çalışma dışı bırakma kriteri olmayan hastalar çalışmaya alınmıştır (Tablo 1).

Çalışmaya alınan hastalar yapılan koroner anjiyografi sonucuna göre iki gruba ayrılmıştır:

A. Kontrol grubu: Koroner anjiyografi yapılan ve sonucunda koronerleri normal olan veya %50'nin altında lezyonu olan ardışık hastalar alınmıştır.

B. Koroner arter hastalığı grubu: Koroner anjiyografi sonucunda en az bir damarda %50 ve üzeri darlık olan, ardışık hastalar KAH çalışma grubu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmaya alınan hasta ve bireylerin fizik muayene, özgeçmiş, soygeçmiş ve kullandığı ilaçlar ayrıntılı olarak sorgulandı. Hastaların koroner anjiyografi öncesi rutin olarak yapılan tetkikler (EKG, Tam Kan sayımı, biyokimya, lipit profili) bazal parametreler olarak alınmıştır. Açlık kan şekeri 2 kere 126 mg/dl'nin üzerinde saptanan veya daha önceden diyabet tanısı almış olan ve oral antidiyabetik veya insülin alan hastalar diyabet grubu olarak tanımlanmıştır. Kan basıncı 140/90 mmHg ve üzeri olan veya halen anti-hipertansif tedavi kullanmakta olan hastalar hipertansiyon olarak değerlendirilmiştir. LDL-C > 130 Mg/dl, total kolesterol > 200 Mg/dl ve/veya hiperlipidemi hikayesi nedeniyle statin kullanan hastalar hiperlipidemik olarak değerlendirilmiştir. Hastaların birinci derece erkek akrabalarından 55 yaş, kadın akrabalarından 65 yaşdan önce KAH öyküsü olması aile öyküsü pozitifliği olarak kabul edilmiştir. Tüm hastalardan çalışmaya katılmaları konusunda yazılı onay alınmıştır.

Kan Örneklerinin Alınması: Koroner anjiyografi için arteriyel sheat (kılıf) girildikten sonra, koroner anjiyografi yapılmadan önce, femoral arterden ilk 5 cc kan dışarı atıldıktan sonra, 10 cc kan örneği alındı. Daha sonra sitratlı tüpe koyularak, bir saat içinde 20 dakika süreyle santrifüj edildi ve elde edilen plazma -80 derece derin dondurucuda saklandı.

VEGF, ANG-1 ve ANG-2 Düzeylerinin Ölçülmesi: Hasta ve kontrol grubunun dondurulmuş olarak saklanan serum örnekleri eritildikten sonra VEGF, Ang-1

Tablo 2: Kontrol ve koroner arter hastalığı gruplarının bazal klinik özellikleri ve kullandıkları ilaçlar

	Kontrol S=20	KAH S=40	p
Yaş	55±10	59±11	AD
Kilo	78±11	75±14	AD
Cinsiyet Kadın	11 (%55)	19 (%48)	AD
HT	8 (%40)	19 (%47)	AD
Sigara	13 (%65)	29 (%72)	AD
Diyabet	0	13 (%100)	
İlaç Kullanımı			
Aspirin	20 (%100)	40 (%100)	AD
Beta bloker	14 (%70)	29 (%73)	AD
Kalsiyum Kanal Bloker	4 (%20)	9 (%23)	AD
Statin	9 (%45)	21 (%52)	AD
ACE inh/ARB	9 (%45)	22 (%55)	AD
Nitrat	4 (%20)	9 (%22)	AD

ve Ang-2 ölçümleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji laboratuvarında ELISA yöntemiyle (R&D sistem, Abington, United Kingdom) çalışıldı.

Koroner Anjiyografi İşlemi ve Değerlendirilmesi:

Koroner anjiyografi sırasında gereken rutin görüntüler alındıktan sonra anjiyografi görüntüleri deneyimli bir kardiyolog tarafından değerlendirildi. Hastaların koroner anjiyografileri, koroner arter hastalığı şiddeti ve yaygınlığı, 1 veya 2 veya 3 damar hastalığı olarak belirlendi. Total oklüzyon varlığında, kollateral damar varlığı görsel olarak incelendi. Kollateral bağlantı, Werner ve ark.'nın çalışmalarında olduğu gibi değerlendirildi. Skor 0; alıcı ve verici koroner arterler arasında bağlantı olmaması, Skor 1; alıcı ve verici koroner arterler arasında iplik gibi ince bir bağlantı olması, Skor 2; alıcı ve verici koroner arterler arasında küçük bir yan dal gibi bağlantı olmasıdır. Çalışmamızda kollateral damar saptanan total oklüzyonlu koroner arter hastası sayısı az olduğundan, Lip ve ark.'nın çalışmalarında olduğu gibi, kollateral bağlantılar değerlendirilirken skor-1 ve skor-2 birlikte tek grup olarak incelendi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Gruplardaki parametrelerin dağılımını değerlendirmek için Kolmogorow-Smirnow testi yapıldı ve dağılımın normal olduğu saptandı. Farklı iki gruptaki ortamların karşılaştırılmasında nonparametrik testler (Mann-Whitney U), üç farklı gruptaki ortamların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanıldı. Tek yönlü varyans analizi ile farklılık saptandığında, ikişerli grup karşılaştırması için post-hoc Scheffe testi yapıldı. Gruplarda oranların karşılaştırılması Ki kare testi ile uygulandı.

Değişkenler arasındaki bağlantı (korelasyon) için Spearman korelasyon analizi yapıldı. Korelasyon analizinde birden fazla anlamlı parametre saptandığında Regresyon analizi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı, p değerinin 0,05'ten küçük olması, istatistiksel olarak anlamlı olarak tanımlandı. Standart sapmalar, ortalama ± olarak verildi. İstatistik değerlendirme "SPSS 10.0 for Windows" programı ile yapıldı.

BULGULAR

Çalışmaya 20 kontrol (yaş ortalaması 55,5±10,2 yıl) ve 40 koroner arter hastası (yaş ortalaması 59,6±11,4 yıl) alındı. Çalışmaya alınan hasta ve kontrollerin bazal klinik özellikleri, biyokimya test sonuçları ve kullandıkları ilaçlar Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Kontrol ve KAH grubundaki hastaların plazma Ang-1 ve 2 ve VEGF düzeyleri Tablo 4'de gösterilmiştir (Şekil 1 a,b,c). KAH grubunda plazma VEGF ve Ang-2 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

KAH grubunda, total oklüzyonu olan ve olmayan hastalar arasında plazma VEGF, Ang-1 ve 2 düzeyleri Tablo 5'te gösterilmiştir. Total oklüzyonu olan grupta olmayana göre sadece plazma VEGF düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0.001).

KAH grubundaki total oklüzyonu olan hastalar, kollateral olup olmamasına göre iki grupta değerlendirildikten sonra plazma VEGF ve Ang-1 ve Ang-2 düzeyleri karşılaştırılmıştır (Tablo 6). Kollateral olan hastalarda, kollateral olmayanlara göre plazma VEGF ve Ang-2 düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Tablo 3: Kontrol ve koroner arter hastalığı gruplarının bazal biyokimya test sonuçları

Hb (gr/lt)	14,5±1,5	14.4±1,1	AD
Lökosit (/mm ³)	7011±1355	7421±2566	AD
Trombosit (/mm ³)	265611±62246	265031±77822	AD
AST (U)	23±7	24±8	AD
ALT (U)	27±11	28±16	AD
BUN (mg/dl)	16±4	17±6	AD
Kreatinin (mg/dl)	0,9±0,2	1,0±0,3	AD
Kan Şekerı (mg/dl)	103±25	116±52	AD
LDL-K (mg/dl)	140±36	133±53	AD
HDL-K (mg/dl)	55±16	49±15	AD
Trigliserid (mg/dl)	158±73	188±79	AD

Tablo 4: Kontrol ve KAH grubundaki hastaların plazma Ang-1 ve Ang-2 ve VEGF düzeyleri

	Kontrol n=20	KAH n=40	P
Ang 1 (pg/ml)	173,0±73,9	194±84	0,3
Ang 2 (pg/ml)	251,0±81,1	425±156	<0,0001
VEGF (pg/ml)	9,8±6,6	17±8	0,003

Şekil 1-a,b,c: Koroner Arter Hastaları ve Kontrol Grubunda Plazma VEGF, Ang-1 ve Ang-2 Düzeyleri

Tüm grup için değerlendirme yapıldığında, kontrol grubu olan ve 1 damar, 2 damar ve 3 damar koroner hastalığı olanlar arasında plazma VEGF ve Ang-2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı saptandı (Tablo 7) (Şekil 2- a,b). Plazma VEGF düzeyleri için, post hoc analizde VEGF düzeyi sadece kontrol grubu olan ve 3 damar koroner hastalığı olanlar arasında anlamlı olarak farklı bulundu. Plazma Ang-2 düzeyleri için, post hoc analizde Ang-2 düzeyi kontrol grubu ile 2 ve 3 damar koroner hastalığı olanlar arasında anlamlı olarak farklı bulundu.

Kontrol grubu ile diyabeti olan ve olmayan koroner arter hastalarının plazma VEGF, Ang-1 ve

Tablo 5: KAH grubunda, total oklüzyonu olan ve olmayan hastalar arasında plazma VEGF, Ang-1 ve Ang-2 düzeyleri

	Total Oklüzyon YOK S=23	Total Oklüzyon VAR S=17	P
Ang 1 (pg/ml)	176±99	209±92	0,1
Ang 2 (pg/ml)	400±150	459±163	0,2
VEGF (pg/ml)	13±7	22±6	0,001

Tablo 6: KAH grubunda, total oklüzyonu olan hastalarda, kollateral olup olmamasına göre plazma VEGF, Ang-1 ve Ang-2 düzeyleri

	Kollateral YOK S=11	Kollateral VAR S=6	P
Ang 1 (pg/ml)	214±69	227±96	0,8
Ang 2 (pg/ml)	380±130	605±109	0,003
VEGF (pg/ml)	19±4	27±3	0,005

Tablo 7: KAH yaygınlığı açısından kontrol grubu, 1, 2 ve 3 damar hastalığı olanlarda plazma VEGF, Ang-1 ve Ang-2 düzeyleri

	Kontrol	1 Damar Hastalığı	2 Damar Hastalığı	3 Damar Hastalığı	P
Ang 1 (pg/ml)	173,0±73,9	198,7±89,6	180,8±93,2	197,8±81,5	0,7
Ang 2 (pg/ml)	251,0±81,1	369,1±151,3	423,8±116,4	456,4±170,3	0,001
VEGF (pg/ml)	9,8±6,6	11,9±8,9	16,8±7,8	19,6±7,4	0,001

Şekil 2-a,b: Koroner arter hastalığı şiddetine göre plazma Ang-2 ve VEGF düzeylerinin karşılaştırılması

Ang-2 düzeyleri Tablo 8'de görülmektedir. Plazma Ang-1 düzeyleri üç grupta da benzer olarak bulunmuştur (P=0,4). Plazma VEGF düzeyleri diyabeti olan ve olmayan koroner arter hastalarında kontrol grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur. Benzer olarak plazma Ang-2 düzeyleri de, diyabeti olan ve olmayan koroner arter hastalarında kontrol grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur. Her iki büyüme faktörü düzeyleri iki KAH altgrubunda farklı olarak saptanmamıştır (Şekil 3- a,b,c).

Çalışmaya alınan hastalarda plazma VEGF, Ang-1 ve Ang-2 düzeyleri ile KAH risk faktörleri (hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara, aile öyküsü, diyabet), plazma lipid düzeyleri, trombosit sayısı, lokosit

sayısı, kullanılan ilaçlar, koroner arter hastalığı yaygınlığı, total oklüzyon, kollateral gelişimi arasında ilişki olup olmadığı değerlendirildi. İncelenen parametreler arasında, istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptananlar Tablo 9'da görülmektedir. Ang-1 ile hiçbir parametre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Yapılan regresyon analizinde, plazma Ang-2 düzeyi ile sadece kollateral damar oluşumu arasında anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır (p=0,01) (Tablo 10). Plazma VEGF düzeyi ile sadece total oklüzyon olması arasında anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır (p=0,01).

Tablo 8: Diyabeti olan ve olmayan koroner arter hastaları ve kontrol grubunda plazma Ang-1, Ang-2 ve VEGF düzeyleri

	Kontrol N=20	KAH grubu DM YOK S=27	KAH grubu DM VAR S=13	P
Ang 1 (pg/ml)	173,0±73,9	187,0±82,3	210,4±88,9	0,4
Ang 2 (pg/ml)	251.0±81,1	403,6±161,9	472,3±140,5	0,0001
VEGF (pg/ml)	9,8±6,6	15,5±8,3	19,7±8,1	0,002

Şekil 3-a,b,c: Kontrol grubu, diyabeti olan ve olmayan koroner arter hastalarında plazma Ang-1, Ang-2, VEGF düzeylerinin karşılaştırılması

TARTIŞMA

Angiopoietinler ve VEGF endotel için en spesifik olan büyüme faktörleridir. Ang-1, Tie- 2 reseptörüne bağlanarak, VEGF'nin geçirgenlik artırıcı etkisini tersine çevirir ve düz kas hücrelerinin toplanmasını ve damarın olgunlaşmasını sağlar. Ang-2 ise, Tie-2 reseptörü için Ang-1'in doğal antagonistidir ve damarı kararsız hale getirir¹¹. VEGF varlığında, Ang-2 vasküler hücre çoğalmasını uyarır ve yeni damar oluşumuna yol açar¹². VEGF, endotel hücreleri, trom-

bositler ve düz kas hücreleri tarafından salınır ve angiogenезin başlaması ve ilerlemesinde rol alır ve vasküler geçirgenliği artırır^{13,14}. Dolayısıyla VEGF ve angiopoietinler, angiogenезde anahtar düzenleyici rolleri vardır. Selektif olarak Ang-2 ve VEGF artışı olması ve Ang-1 artmaması, yeni ve immatur damar oluşumunu uyarır. Büyüme faktörleri, yeni damar oluşumunun yanı sıra, aterosklerotik plak gelişimi ve plakta neovaskularizasyonu da etki eder^{15,16}. Rumi ve ark. çalışmasında koroner sinüs, aort ve periferik damarlarda VEGF ve angiopoietinlerin düzeyleri benzer bulunduğu için bizim çalışmamızda da kolaylık açısından intrakardiyak örnekler yerine periferik örnekler kullanıldı¹⁶.

Çalışmamızda, koroner arter hastalığı olanlarda, plazma Ang-1 düzeyini kontrol grubu ile benzer, plazma VEGF ve Ang-2 düzeylerini ise artmış olarak saptandı. Plazma VEGF ve Ang-2 düzeylerin, şiddetli koroner arter hastalığı olanlarda daha yüksek olarak bulundu. Artmış plazma VEGF ve Ang-2 düzeyleri ile diyabet arasında bir ilişki saptanmadı. Ayrıca koroner kollateral gelişen hastalarda plazma VEGF ve Ang-2 düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

Çalışmamızda, koroner arter hastalarında plazma Ang-1 düzeyinin artmamış olduğu saptandı.

Tablo 9: Korelasyon analizi sonucunda, plazma Ang-2 ve VEGF düzeyleri ile anlamlı derecede ilişki saptanan parametreler

	VEGF	Ang-2	Kollateral	KAH yaygınlığı	Total okluzyon	Diyabet
Ang 2	P=0,001 r=0,5		P=0,001 r=0,48	P=0,001 r=0,5	P=0,0001 r=0,5	P=0,01 r=0,3
VEGF		P=0,001 r=0,5	P=0,001 r=0,5	P=0,001 r=0,5	P=0,0001 r=0,5	P=0,01 r=0,3

Tablo 10: Plazma Ang-2 ve VEGF düzeyleri ile anlamlı derecede ilişki saptanan parametrelerin regresyon analizi sonuçları

	VEGF	Ang-2	Kollateral	KAH yaygınlığı	Total okluzyon	Diyabet
Ang 2	p=0,5		P=0,01	P=0,7	P=0,5	P=0,2
VEGF		P=0,5	P=0,09	P=0,4	P=0,01	P=0,07

Kararlı koroner arter hastalarında daha önce yapılmış olan çalışmalarda da, bizim gibi Ang-1 düzeyinin yükselmediği bulunmuştur^{4,17}. Ayrıca, akut miyokard infarktüsü geçiren hastalarda da Ang-1 düzeyi sağlıklı bireyler ile benzer olarak tespit edilmiştir⁴. Hayvan çalışmalarında da, iskemi ve VEGF uyarısı sonucunda Ang-1 ekspresyonunun artmadığı gösterilmiştir¹⁸⁻²⁰. Ang-1; endotel hücre survisini arttırmakta, endotel hücre etkileşimini stabilize etmekte ve vasküler permeabiliteyi azaltarak vasküler maturasyonda rol almaktadır^{21,22}. Kararlı koroner arter hastalığında ve akut koroner sendromda Ang-1 düzeylerinin artması, Ang-1'in diğer faktörlerinden farklı bir süreçte, belki de aterosklerozun ilk başlangıç aşamalarında, etkin olduğunu düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalarda, akut miyokard infarktüsünde ve dirençli anginası olanlarda ve kararlı koroner arter hastalarında, periferik kan örneklerinde plazma VEGF düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir^{3,4,23,24}.

Çalışmamızda, daha önceki çalışmalarla uyumlu şekilde, kararlı koroner arter hastalığı olanlarda plazma VEGF ve Ang2 düzeylerinin yüksek olduğu saptandı. Bilindiği gibi VEGF ve Ang2 gibi büyüme faktörleri, miyokard dokusunda hipoksi olduğunda artmaktadır. Çalışmaya aldığımız koroner arter hastalığı olanlarda iskemiye yol açacak düzeyde önemli koroner darlıklar olduğundan, plazma VEGF ve Ang2 düzeylerinin yüksek bulunması beklenebilir. Benzer şekilde kararlı angina pectoris hastalarında, tekrarlayan iskemik sonucunda angiogenik büyüme faktörleri üretimi uyarılabildiği daha önceden de gösterilmiştir²⁵. Büyüme faktörleri sadece kollateral damar oluşumunda değil aterosklerotik süreçte de rol alır. Aterosklerotik plakta, özellikle de artmış vasa vasorum ile birlikte, büyüme faktörü ekspresyonunun arttığı da gösterilmiştir^{26,27,28,29}. Lokal hipoksi sonucunda, aterosklerotik plakta neovaskülarizasyon, büyüme ve

rüptür gelişmesinde büyüme faktörlerinin de etkisi vardır²⁹. Çalışmamızda bulduğumuz artmış plazma VEGF ve Ang2 düzeyleri, bu aterosklerotik süreci de yansıtır olabilir.

Bunu destekleyen bulgularımızdan biri de, şiddetli koroner arter hastalığı olanlarda VEGF ve Ang-2 düzeylerinin daha yüksek bulunmasıdır. Chung ve ark.'nın çalışmasında ise, plazma VEGF düzeyleri sağlıklı bireyler ve değişik şiddetteki koroner arter hastalığında benzer olarak bulunmuştur⁵. Bu çalışmada, bizim çalışmamızdan farklı olarak, hasta grubunda tam tıkkama olan hasta yoktur. Farklı sonuç elde etmemiz bu nedenle olabilir. Her ne kadar önceki çalışmalarda sistemik ve koroner sinus düzeyleri benzer bulunsada sistemik aterosklerozu da yansıtır olabilir.

Koroner arter kollateral dolaşımı üç ana epikardiyal koroner arter arasındaki bağlantıyı yapan anastomotik damar yapılarıdır. Anjiyografik ve otopsi çalışmalarında koroner arter hastalığı olanlarda kollateral dolaşımın belirgin olarak artmış olduğu gösterilmiştir. Koroner arter darlığı veya tıkanması gelişenlerde, kollateral dolaşımın iskemi ve/veya infarktüsü sınırlandırdığı bilinmektedir³⁰⁻³¹. Koroner kollaterallerin önceden var olduğu ve ihtiyaç olduğunda açıldığı düşünüldü ancak günümüzde kollateral damarların neoangiogenezele veya yeni damar oluşumu ile gelişebildiği bilinmektedir³². Angiogeneze uyarısı, doku hipoksi veya iskemisine fizyolojik bir yanıtıdır ve bunun sonucunda dokulara olan kan akımı artar³³. Koroner kollateral damar gelişimi hastalar arasında farklılıklar göstermektedir. Koroner arter hastalarının yaklaşık yarısında kollateral oluşmamaktadır. Bunun nedeni halen tam olarak bilinmemektedir.

Kalp, miyokard iskemisi ile angiogeneze uyarıldığı gösterilen ilk büyüme faktörü VEGF dir^{34,35}. Daha sonra yapılan çalışmalarda Ang 2, FGF gibi

farklı büyüme faktörleri de gösterilmiştir. Büyüme faktörü düzeyi yüksek olduğu halde kollateral gelişmeme sebeplerinden biri kişiler arasında büyüme faktörlerine yanıtın değişkenlik göstermesi olabilir³⁶. Terapatik angiogenez çalışmalarında görülen farklı sonuçlarda VEGF faktörlere yanıtın az olmasına bağlı olabilir^{37,38}.

Çalışmamızda total tıkanma olan koroner arter hastaları ile total tıkanması olmayan KAH karşılaştırıldığında, plazma VEGF düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğunu ancak Ang-2 düzeyinin ise benzer olduğu saptandı. Total okluzyon olan hastalar içinde kollateral olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında ise, hem plazma VEGF hem de Ang 2 düzeyinin kollateral olan hastalarda anlamlı olarak yüksek olduğu gösterildi. Ayrıca, regresyon analizinde plazma VEGF ile total tıkanma, Ang-2 ile de kollateral oluşumu anlamlı olarak bulunmuştur. Bu bulgular, koroner tam tıkanma gelişen hastalarda plazma VEGF düzeyinin arttığını ancak, kollateral damar oluşumu için sadece VEGF ün yeterli olmadığını, beraberinde Ang 2 nin de artmış olması gerektiğini düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalarda da Ang 2 ve VEGF in kollateral damar gelişimi için sinerjistik etki gösterdikleri belirtilmiştir³⁹⁻⁴¹. Bu çalışmalarda, VEGF varlığı ve uygunluğuna bağlı olarak Ang-2'nin angiogenez üzerinde iki rolünün olduğu saptanmıştır. VEGF varsa agonist etki etmekte ve angiogenezi uyarmaktadır. VEGF yoksa, angiogeneze antagonist etki göstermekte ve damar regresyonuna neden olmaktadır. Dolayısıyla Ang-2 ve VEGF kararlı ve fonksiyonel bir mikrodamar oluşumu için birlikte ve sinerjistik etki etmelidir. Yeni yayınlanan bir çalışmada da koroner kollateral oluşumu için Ang-2 nin daha önemli olduğu bildirilmiştir⁴². Bizim bulgularımız da bu çalışmaları desteklemektedir. Fleisch ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada da koroner kollateral kan akımı ile plazma VEGF arasında önemli ilişki saptanmıştır². Lin ve ark. çalışmasında da bizim çalışmamızda olduğu gibi koroner kollateral varlığı ile plazma VEGF düzeyleri ilişkili bulunurken⁸. Lim ve ark. çalışmasında ise¹⁷ koroner kollateral olan ve olmayan hastalarda plazma Ang2 ve VEGF düzeyleri benzer olarak bulunmuştur. Lim ve ark. çalışmasında, hastalarda total okluzyon olup olmadığı belirtilmemiş sadece KAH şiddeti belirtilmiştir. Bulgularımızın farklı olmasının en önemli nedenlerinden birisi bu olabilir. Diyabet, koroner arter hastalığı gelişimi için major risk faktördür ve diyabet hastalarının en önemli mortalite ve morbidite nedeni kardiyovasküler olaylardır. Diyabet hastalarında akselere ateroskleroz geliştiği ve iskemiye yanıt olarak angiogenik yanıtın ise azalmış olduğu gösterilmiştir^{9,43}.

Çalışmalarda, diyabet hastalarında büyüme faktörü ekspresyonlarında bozukluklar olduğu bulunmuştur⁴⁴. Çalışmamızda, diyabet olan ve olmayan koroner arter hastalarında plazma Ang-1, Ang-2 ve VEGF düzeyleri benzer olarak saptandı. Daha önceki çalışmalarda diyabet hastalarında plazma Ang-1 düzeyleri kontrol grupları ile benzer bulunurken, VEGF ve Ang-2 düzeyleri bazı çalışmalarda yüksek, bazı çalışmalarda ise kontrol grupları ile benzerdir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi, çeşitli çalışmalarda plazma VEGF ve Ang-2 düzeyleri, diyabet olan ve olmayan koroner arter hastalarında ve sağlıklı bireylerde, benzer olarak saptanmıştır^{5,17}. Blann ve ark. çalışmasında da, VEGF düzeyi, koroner arter hastalığı olmayan diyabet hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda benzer bulunurken, koroner arter hastalığı olan diyabet hastalarında, önceki iki gruba göre yüksek olarak tespit edilmiştir³. Lim ve ark. çalışmalarında ise plazma VEGF ve Ang-2 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur^{10,45}. Lim ve ark.'nın ilk çalışmasında, diyabet hastalarında artmış plazma VEGF ve Ang-2 düzeylerinin kan şekeri kontrolü ile azaldığı gösterilmiştir. Bu bulgu, Chaturverdi ve ark. plazma VEGF düzeyi ile diyabet süresi ve glisemik kontrol arasında ilişki saptamadıkları çalışma ile çelişmektedir⁴⁶. Lim ve ark.'nın diğer çalışmasında, diyabete eşlik eden karotis arter hastalığı olan ve olmayanlarda plazma VEGF ve Ang-2 düzeyi benzer olarak saptanmış ve diyabetin aterosklerozdan bağımsız olarak büyüme faktörlerini arttırdığı düşünülmüştür¹⁰. Büyüme faktörlerinin diyabet hastalarında artmasının nedeni olarak, hipergliseminin endotel hücreleri için toksik olduğu ve bu hücrelerde VEGF ve Ang-2 yapımını arttırabileceği söylenmiştir⁴⁷.

Diyabet hastalarında VEGF ve Ang-2 düzeyinin yüksek olması durumunda, kollateral oluşumunun da daha fazla olması beklenir. Ancak bu, diyabet hastalarında koroner kollateral oluşumun daha az olduğunu gösteren çalışmalar ile çelişmektedir. Dolayısıyla, plazma büyüme faktörü düzeyinin yüksek olarak saptanmadığı önceki çalışmalar ve bizim çalışmamız, diyabette azalmış kollateral gelişimi ile daha uyumlu gibi gözükmektedir. Sonuç olarak stabil koroner arter hastalarında plazma angiopoietin-1 düzeyleri kontrol grubu ile benzer, angiopoietin-2 ve VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur. KAH şiddeti arttıkça plazma angiopoietin-2 ve VEGF düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir. Anjiyografik olarak görülebilen koroner kollateral olan hastalarda plazma angiopoietin-2 ve VEGF düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır. Ayrıca KAH grubunda DM olan ve olmayanlar arasında angiopoi-

etin-1 ve -2 ve VEGF düzeyleri benzer bulunmuştur. Bulgularımız aterosklerotik süreçte büyüme faktörlerinin etkili olduğu ve kompleks bir etkileşim içinde olduklarını düşündürmektedir.

SONUÇLAR

Plazma Angiopoietin-1 düzeyleri koroner arter hastalığı ve kontrol grubu arasında benzerdir.

Plazma angiopoietin-2 ve VEGF düzeyleri koroner arter hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksektir.

Koroner arter hastalığı grubunda total oklüzyonu olanlarda total oklüzyonu olmayanlara göre plazma angiopoietin-1 ve -2 düzeyleri benzerken sadece VEGF düzeyleri yüksektir. Total oklüzyonu olan hastalar arasında kollateral gelişimi olan hastalarda olmayanlara göre plazma Ang-2 ve VEGF düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Plazma angiopoietin-2 ve VEGF düzeyleri, koroner arter hastalığı şiddeti arttıkça yükselmektedir. Plazma Angiopoietin-2 düzeyleri sadece 2 ve 3 damar hastalığı olanlarda kontrole göre yüksek bulunmuştur. Angiopoietin-2 düzeyleri 1 damar hastalığı olan hastalarda kontrol grubuna benzerdir.

Plazma VEGF düzeyleri sadece 3 damar hastalığı olanlarda kontrole göre yüksek bulunmuştur. VEGF düzeyleri 1 ve 2 damar hastalığı olanlarda kontrol grubuna benzerdir.

Koroner arter hastaları arasında angiopoietin-1 ve -2 ve VEGF düzeyleri diyabeti olan ve olmayanlarda benzer bulunmuştur. Plazma Angiopoietin-1 ve -2 ve VEGF düzeyleri ve koroner arter hastalığı risk faktörleri, hastaların kullandıkları ilaçlar ve biyokimya parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Plazma angiopoietin-2 ile koroner kollateral arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

Bu çalışmanın kısıtlılıklarından biri hasta sayısının az olmasıdır. Özellikle diyabetik (13 hasta), total oklüzyonu olan (17 hasta) ve kollateral gelişimi olan (6 hasta) hasta sayısı azdır. Hasta sayısı daha yüksek olduğunda daha kesin sonuçlar elde edilmesi beklenebilir.

Diğer kısıtlılığı diyabetik hastalarda HbA1c değerlerinin elde olmamasıdır. Bu değerlerin elde olması ve diyabetik hasta sayısının fazla olması halinde büyüme faktörleri düzeyleri ve kan şekeri arasındaki muhtemel ilişki araştırılabilir.

Büyüme faktörlerinin birçok etkisi Tie-2 reseptör üzerinden oluşmaktadır. Tie-2 reseptör düzeylerine

bakılması, büyüme faktörleri ve reseptörleri ile olan ilişkileri de gösterebileceğinden daha kapsamlı sonuçlar elde edilebilir ve yorumlar yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Griffin BP, Topol EJ, Manual of Cardiovascular Medicine. 2nd ed. Philadelphia: Lipincott Williams&Wilkins, 2004:3.
2. Martin Fleisch, Michael Billinger, Franz R. Eberli, Ali R. Garachemani, Bernhard Meier, and Christian Seiler. Physiologically Assessed Coronary Collateral Flow and Intracoronary Growth Factor Concentrations in Patients With 1- to 3-Vessel Coronary Artery Disease. Circulation, Nov 1999;100:1945 -50.
3. Andrew D. BLANN, Funmi M. BELGORE, Charles N. McCOLLUM, Stanley SILVERMAN, Peck Lin LIP and Gregory Y. H. LIP. Vascular endothelial growth factor and its receptor, Flt-1, in the plasma of patients with coronary or peripheral atherosclerosis, or Type II diabetes. Clinical Science,2002;102:187-94.
4. Kaeng W. Lee, MRCP; Gregory Y.H. Lip, MD, FRCP; Andrew D. Blann, PhD, Plasma Angiopoietin-1, Angiopoietin-2, Angiopoietin Receptor Tie-2, and Vascular Endothelial Growth Factor Levels in Acute Coronary Syndromes. Circulation. 2004;110:2355-60.
5. N A Chung, C Lydakis, F Belgore, F L Li-Saw-Hee, A D Blann, Angiogenesis, thrombogenesis, endothelial dysfunction and angiographic severity of coronary artery disease. Heart, Dec 2003; 89: 1411-15.
6. Hoong SL, Andrew DB, Aun YC, Plasma Vascular Endothelial Growth Factor, Angiopoietin- 1, And Angiopoietin- 2 In Diabetes. Diabetes Care. 2004; 27: 2918- 24.
7. Chong AY, Caine GJ, Freestone B, Blann AD, Lip Gregory YH. Plasma Angiopoietin- 1, Angiopoietin- 2 And Angiopoietin Receptor Tie- 2 Levels in Congestive Heart Failure. JACC,2004; 43: 423-28.
8. Lee KW, Lip Gregory YH, Blann AD. Plasma Angiopoietin- 1, Angiopoietin- 2, Angiopoietin Receptor Tie- 2, And Vascular Endothelial Growth Factor Levels In Acute Coronary Syndromes. Circulation, 2004;110: 2355-60.
9. Abaci A, Oğuzhan A, Kahraman S, Eryol NK, Ünal Ş, Arınç H, Ergin A. Effects Of Diabetes Mellitus On Formation Of Coronary Vessels. Circulation, 1999; 99: 2239-42.
10. Hong Sern Lim, Andrew D. Blann, Aun Yeong

- Chong, Bethan Freestone, and Gregory Y.H. Lip. Plasma Vascular Endothelial Growth Factor, Angiopoietin-1, and Angiopoietin-2 in Diabetes: Implications for cardiovascular risk and effects of multifactorial intervention. *Diabetes Care*, 2004; 27: 2918-24.
11. P.C. Maisonpierre, C. Suri, P.F. Jones, S. Bartunkova, S.J. Wiegand and C. Radziewski et al., Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis, *Science*, 1997; 277:55-60.
 12. I.B. Lobov, P.C. Brooks and R.A. Lang, Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002; 99 :11205-10.
 13. Battegay, E. (1995) Angiogenesis: mechanistic insight, neovascular diseases, and therapeutic prospects. *J. Mol. Med.* 1995;73:333-46.
 14. Ferrara, N., Winer, J. And Burton, T. Aortic smooth muscle cells express and secrete vascular endothelial growth factor. *Growth Factors*, 1991;5: 141-48.
 15. K.S. Moulton, Plaque angiogenesis and atherosclerosis, *Curr Atheroscl Rep*, 2001; 3: 225-33.
 16. Rumi JJ et al., systemic and intracardiac vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 and -2 levels in coronary artery disease: effects of angioplasty, *Annals of medicine* 2007;39:298-305.
 17. Lip GYH, Lim SH, Tajebjee K, et al. Is soluble CD40 ligand a mediator of angiogenesis in patients with coronary artery disease? *Thrombosis Research*, 2007. doi:10.1016/j.thromres.2007.10.013.
 18. Toshiro Matsunaga, David C. Wartier, John Tessmer, Dorothee Weihrauch, Michael Simons, and William M. Chilian Expression of VEGF and angiopoietins-1 and -2 during ischemia-induced coronary angiogenesis *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, Jun 2003; 285: H352- H358.
 19. H. Oh, H. Takagi, K. Suzuma, A. Otani, M. Matsumura and Y. Honda, Hypoxia and vascular endothelial growth factor selectively up-regulate angiopoietin-2 in bovine microvascular endothelial cells, *J Biol Chem*. 1999; 274 :15732-39.
 20. S.J. Mandriota, C. Pyke, C. Di Sanza, P. Quinodoz, B. Pittet and M.S. Pepper, Hypoxia-inducible angiopoietin-2 expression is mimicked by iodonium compounds and occurs in the rat brain and skin in response to systemic hypoxia and tissue ischaemia, *Am J Pathol*. 2000;156:2077-89.
 21. N. Ferrara, Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis, *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;280:C1358-C1366.
 22. Isner JM. Vascular remodeling. *Circulation*. 1994; 89: 2937-41.
 23. Chung NA, Makin AJ, Lip GY. Measurement of the soluble angiopoietin receptor tie-2 in patients with coronary artery disease: development and application of an immunoassay. *Eur J Clin Invest*. 2003; 33: 529-35.
 24. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML. Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2003; 107: 524-30.
 25. Kumar S, Shahabuddin S, Haboubi N, West D, Arnold F, Reid H, Carr T. Angiogenesis factor from human myocardial infarcts. *Lancet*. 1983;2: 364-68.
 26. Eisenstein, R. (1991) Angiogenesis in arteries: Review. *Pharmacol. Ther.* 49, 1-19.
 27. Inoue, M., Itoh, H., Ueda, M., et al. (1998) Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions.
 28. Barer, A. C., Beeuwkes, R., Lainey, L. L. And Silverman, K. J. Vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1984; 310: 175-77.
 29. O'Brien, E. R., Garvin, M. R., Dev, R., et al. Angiogenesis in human coronary artery plaques. *Am. J. Pathol.* 1994;145: 883-94.
 30. Habib GB, Heibig J, Forman SA, Brown BG, Roberts R, Terrin ML, Bolli R. Influence of coronary artery collaterals on myocardial infarct size in humans: results of phase 1 thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) trial. *Circulation*. 1991;83: 739-46.
 31. Baroldi G. Coronary heart disease: significance of the morphologic lesions. *Am Heart J*. 1973; 85:1-5.
 32. Schaper W, DeBrabander M, Lewi P. DNA synthesis and mitoses in coronary collateral vessels of the dog. *Circ Res*. 1971; 28:671-79.
 33. Adair TH, Gay WJ, Montani JP. Growth regulation of the vascular system: evidence for a metabolic hypothesis. *Am J Physiol*. 1990; 259:R393-R404.
 34. Levy A, Levy NS, Loscalzo J, Calderone A, Takahashi N, Yeo KT, Koren G, Colucci WS, Goldberg MA. Regulation of vascular endothelial

- growth factor in cardiac myocytes. *Circ Res.* 1995;76:758-66.
35. Harmey JH, Dimitriadis E, Kay E, Redmond HP, Bouchier-Hayes D. Regulation of macrophage production of vascular endothelial growth factor (VEGF) by hypoxia and transforming growth factor beta-1. *Ann Surg Oncol.* 1998;5:271-78.
 36. Scott PA, Gleadle JM, Bicknell R, Ong AL. Role of hypoxia sensing system, acidity and reproductive hormones in the variability of vascular endothelial growth factor induction in human breast carcinoma cell lines. *Int J Cancer.* 1998;75:706-12.
 37. Banai S, Jaklitsch T, Shou M, Lazarous DF, Scheinowitz M, Biro S, Epstein SE, Unger EF. Angiogenic-induced enhancement of collateral blood flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs. *Circulation.* 1994;89:2183-89.
 38. Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, Blair R, Kearney M, Walsh K, Isner JM. Constitutive expression of phVEGF 165 after intramuscular gene transfer promotes collateral development in patients with critical limb ischemia. *Circulation.* 1998;97: 1114-24.
 39. Matsunaga T, Warltier DC, Tessmer J, Weihrauch D, Simons M, Chilian WM. Expression of VEGF and angiopoietins-1 and -2 during ischemia-induced coronary angiogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 285: H352-H358.
 40. Visconti RP, Richardson CD, Sato TN. Orchestration of angiogenesis and arteriovenous contribution by angiopoietins and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002; 99: 8219-224.
 41. Lobov IB, Brooks PC, Lang RA. Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002; 99:11205-10.
 42. Wataru Mitsuma, Makoto Kodama, Satoru Hirono, Masahiro Ito, Mahmoud M Ramadan, Komei Tanaka, Makoto Hoyano, Takashi Saigawa, Takeshi Kashimura, Koichi Fuse, Yuji Okura, Yoshifusa Aizawa Angiopoietin-1, angiopoietin-2 ve tie-2 in the coronary circulation of patients with and without coronary collateral vessels *Circ J.* Mar 2007; 71:343-47.
 43. Yarom R et al. Human coronary microvessels in diabetes in diabetes and ischaemia. Morphometric study of autopsy material. *J Pathol.* 1992;166:265-70.
 44. Ohashi H, Takagi H et al. Alterations in expression of angiopoietins and tie-2 receptor in the retina of streptozotocin induced diabetic rats. *Mol Vis.* 2004;10:608-17.
 45. Hoong Sern Lim, Gregory YH Lip and Andrew D Blann Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in diabetes mellitus: relationship to VEGF, glycaemic control, endothelial damage/dysfunction and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2005;180:113-18.
 46. N. Chaturvedi, J. H. Fuller, F. Pokras, R. Rottiers, N. Papazoglou and L. P. Aiello and the EUCLID Study Group. Circulating plasma vascular endothelial growth factor and microvascular complications of Type 1 diabetes mellitus: the influence of ACE inhibition. *Diabet. Med.* 2001;8: 288-94.
 47. T. Okamoto, S. Yamagishi and Y. Inagaki et al., Angiogenesis induced by advanced glycation end products and its prevention by cerivastatin, *FASEB J*2002,16:1928-30.