



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

PULMONER HİPERTANSİYONLU ÇOCUKLARDA
BMPR2, SMAD4, TGFB_{ACBP1}, ALK1, MEF2C
GENLERİNİN İFADE DÜZEYLERİ

DR. ALİ ERKAN NİZAM
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. DERYA KARPUZ
MERSİN 2019



T.C.

MERSİN ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

**PULMONER HİPERTANSİYONLU ÇOCUKLARDA
BMPR2, SMAD4, TGFB_{ACBP1}, ALK1, MEF2C
GENLERİNİN İFADE DÜZEYLERİ**

DR. ALİ ERKAN NİZAM

UZMANLIK TEZİ

Bu tez, BAP- 2017-2-TP3-2587 kodlu proje olarak
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından desteklenmiştir.

DANIŞMAN

DOÇ. DR. DERYA KARPUZ

MERSİN 2019

TEŐEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bana destek olan tez danıőmanım Sayın Doç. Dr. Derya Karpuz'a, tez konumun belirlenmesinde ve sonrasında destek olan Sayın Prof. Dr. Olgu Hallıoğlu Kılınç'a, tezimin her aşamasında destek olan Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Sayın Ayőegöl Çetinkaya'ya, tez çalıőmalarımdaki katkılarından dolayı Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Nurcan Aras'a, Biyoistatistik ve Tıbbi Biliőim Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Semra Erdoğan'a, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda asistanlığım süresince yetiőmemde emeiği olan ve eğitimimde katkıları bulunan tüm değerli hocalarıma, eğitim dönemim boyunca bu zorlu yolu beraber yürüdüğüm sevgili asistan ve intörn doktor arkadaşlarıma teőekkür ederim.

Ayrıca her anımı değerli ve özel kılan sevgili eőim Sibel'e, beni yetiőtirip bu günlere getiren ve bana her zaman destek olan anneme, babama, kardeőime en içten duygularıyla teőekkür ederim.

Dr. Ali Erkan Nizam

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	4
ÖZET	6
ABSTRACT	8
1. GİRİŞ VE AMAÇ	10
2. GENEL BİLGİLER.....	12
Pulmoner Hipertansiyon	12
2.1. Tanım	12
2.2. Sınıflandırma	15
2.3. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri	15
2.4. Patogenez	17
2.5. Patofizyoloji	19
2.5.1. Hiperkinetik Pulmoner Hipertansiyon	20
2.5.2. Alveolar Hipoksi	22
2.5.3. Pulmoner Venöz Hipertansiyon	22
2.5.4. Primer Pediatrik Pulmoner Hipertansif Vasküler Hastalık	23
2.5.5. Pulmoner Hipertansiyonun Hücresel Mekanizmaları	23
2.5.5.1. Endotel İşlev Bozukluğu	23
2.5.5.2. Potasyum Kanal İşlev Bozukluğu.....	26
2.5.5.3. Trombositler ve Tromboz.....	27
2.5.5.4. Serotonin	27
2.5.5.5. Pulmoner Damarların Yeniden Yapılanması (Anjiogenez)	27
2.5.5.6. Proteoliz	28
2.5.5.7. Pulmoner Hipertansiyonda Genetik ve Genomik.....	28
2.5.5.7.1. Kemik Morfogenik Protein Reseptörü Tip 2 (BMP2) Geni	33
2.5.5.7.2. Aktivin A Reseptör Benzeri Kinaz-1 (ALK1) Geni	34
2.5.5.7.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü β Aktive Kinaz Bağlayıcı Protein 1 (TGF- β ACBP1) Geni.....	35
2.5.5.7.4. SMAD4 Geni	35

2.5.5.7.5. Myosit Arttırıcı Faktör 2C (MEF2C) Geni.....	36
2.5.5.7.6. Pulmoner Hipertansiyonla İlişkili Sendromlar ve Genetik Danışmanlık.....	37
2.6. Belirti ve Bulgular.....	38
2.7. Tanı.....	40
2.7.1. Elektrokardiyografi (EKG).....	41
2.7.2. Akciğer Grafisi.....	41
2.7.3. Ekokardiyografi	41
2.7.4. Ventilasyon / Perfüzyon Akciğer Sintigrafisi	42
2.7.5. Kardiyak Manyetik Rezonans Görüntüleme	42
2.7.6. Kalp Kateterizasyonu	43
2.8. Tedavi	43
2.8.1. Genel Önlemler.....	43
2.8.2. Destek Tedavisi	44
2.8.2.1. Antikoagülan Tedavi	44
2.8.2.2. Oksijen Tedavisi	44
2.8.2.3. Diüretikler	45
2.8.2.4. Digoksin.....	45
2.8.3. Özgül Tedaviler.....	45
2.8.3.1. Kalsiyum Kanal Blokörleri	45
2.8.3.2. Prostatiklinler	46
2.8.3.3. Endotelin Reseptör Antagonistleri.....	47
2.8.3.4. Fosfodiesteraz İnhibitörleri.....	49
2.8.4. Kombinasyon Tedavisi	50
2.8.5. Deneysel Tedavi Seçenekleri.....	50
2.8.6. Cerrahi Tedavi	51
3. GEREÇ VE YÖNTEM	54
3.1. Gruplar	54
3.1.1. Hasta Grubu	54
3.1.2. Kontrol Grubu.....	54
3.2. Laboratuvar Yöntemi	55
3.3. Transtorasik Ekokardiyografi Yöntemi	55
3.4. Gen Ekspresyon Yöntemi	

3.4.1. Total RNA İzolasyonu	56
3.4.2. Total RNA'dan cDNA Sentezlenmesi	56
3.4.3. Real Time PCR (RT-PCR) Analizi	57
3.5. İstatistiksel Yöntem.....	59
4. BULGULAR	60
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇLAR.....	76
7. KAYNAKLAR	79
8. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	92
9. ŞEKİLLER DİZİNİ	95
10. TABLOLAR DİZİNİ	96
11. GRAFİKLER DİZİNİ	97



ÖZET

Pulmoner hipertansiyon, fizyopatolojisi ve tedavisi henüz net olarak aydınlatılamamış bir hastalıktır. Yeni tedavi yöntemlerinin ortaya konulabilmesi amacıyla hastalığın genetik ve fizyopatolojik mekanizmalarının dikkate alınması gerekmektedir. Çalışmamızda 0-18 yaş arası pulmoner hipertansiyon tanısı almış çocuklarda *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* gen ekspresyon düzeylerindeki değişimlerin klinik bulgular üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya 47'si pulmoner hipertansiyon hastası (hasta grubu), ve 50'si sağlıklı olmak üzere (kontrol grubu) yaş ve cinsiyet yönünden benzer toplam 97 çocuk dahil edildi. Her iki gruptaki çocukların tümüne ekokardiyografi uygulandı ve demografik özellikleri kaydedildi. Pulmoner hipertansiyonlu 18 çocuğa ayrıca kalp kateterizasyonu yapıldı. Her iki gruptaki tüm çocuklardan alınan periferik kan örneklerinde *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* genlerinin ekspresyon düzeyleri Real Time PCR yöntemiyle araştırıldı.

Yapılan analizler neticesinde *BMPR2* hem de *SMAD4* gen ekspresyon düzeylerinin hasta çocuklarda kontrollere göre arttığı saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,001$). İki grup arasında *TGFB_{ACBP1}* (*TAB1*) ve *ALK1* genlerinin ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Hasta grubunda *MEF2C* gen ekspresyon düzeyi kontrollere göre daha düşük bulundu fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

İnvaziv olarak ölçülen ortalama pulmoner arter basıncı (PAB) ile *ALK1* ve *MEF2C* gen ekspresyon düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu durum invaziv olarak ölçülen PAB ile bazı gen ekspresyon düzeyleri arasında, ekokardiyografi ile tahmini olarak değerlendirebildiğimiz PAB ölçümüne göre daha kuvvetli bir ilişki olabileceğini düşündürdü.

Sonuç olarak pulmoner hipertansiyon tanı ve yönetiminde *BMPR2* ve *SMAD4* gen ekspresyon düzeylerinin çalışılması yararlı bulunmuştur fakat sonuçların klinik yansımalarını değerlendirmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *BMPR2*, çocuk, pulmoner hipertansiyon, *SMAD4*.

ABSTRACT

Physiopathology and treatment of pulmonary hypertension is not clear net. In order to find out new treatment methods, genetical and physiopathological mechanisms of this disease should be taken into consideration. This study was performed to evaluate the effects of *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* gene expressions on clinical findings in patients with pulmonary hypertension aged between 0 and 18.

A total of 97 children were included in this study; 47 of them (patient group) had pulmonary hypertension and 50 of them (control group) were healthy controls. All subjects underwent echocardiography and their demographic characteristics were recorded. Eighteen patients with pulmonary hypertension underwent cardiac catheterization. *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* gene expression levels in peripheral blood samples were evaluated by Real Time PCR method.

We found that *BMPR2* and *SMAD4* gene expressions were increased in patients with pulmonary hypertension compared to control group and this increase was statistically significant ($p < 0,001$). There was no significant difference on the expression levels of the *TGFB_{ACBP1}* (*TAB1*) and *ALK1* genes between patient and control groups. Although the *MEF2C* gene expression level was lower in the patient group compared to the control group, but the difference was not statistically significant.

There was a positive correlation between the mean pulmonary arterial pressure evaluated by cardiac catheterization and *ALK1*, *MEF2C* gene expression levels. This finding shows that in the evaluation of the relation between pulmonary arterial pressure (PAB) and some gene expression levels, PAB values obtained by cardiac catheterization seems to be more valuable compared to PAB values obtained by echocardiography, by which PAB levels can only be estimated.

In conclusion, evaluation of *BMPR2* and *SMAD4* gene expression levels was found to be useful in the diagnosis and management of pulmonary hypertension, but further studies are needed to evaluate the clinical implications of these results.

Keywords: BMPR2, children, pulmonary hypertension, SMAD4.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pulmoner hipertansiyon (PH); pulmoner arter basıncında ve pulmoner vasküler rezistansta (PVR) ilerleyici artış ile karakterize, akciğer damarlarında yeniden yapılanma, kalp yetersizliği ve ölümlle sonuçlanabilen tedavisi zor bir hastalıktır¹. Tanı sonrası bir yıllık sağ kalım oranının % 96; üç yıllık sağ kalım oranının 89%; beş yıllık sağ kalım oranının %81 ve yedi yıllık sağ kalım oranının %79 olduğu bilinmektedir². Pulmoner hipertansiyon fizyopatolojisi net olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Distal pulmoner arterlerde medial hipertrofi, intimada proliferatif ve fibrotik değişiklikler, perivasküler inflamatuvar infiltrasyon, vazokonstriksiyon, tromboz, adventisyal kalınlaşma ve sonuç olarak pulmoner damarlarda yeniden yapılanma ile damar direncinde artma PH'un histopatolojisinde rol oynayan başlıca mekanizmalardır³.

Pulmoner hipertansiyon ilerleyici bir hastalık olduğundan, zamanla prognozunun kötüleşmesi nedeniyle hastalığın erken dönemlerinde tanı konulup tedavi başlanması önemlidir⁴. Fakat hastalığın belirti ve bulgularının özgün olmayışı nedeniyle tanı koymak zordur. Tanıda kullanılan kalp kateterizasyonu nisbeten güvenilir sonuçlar veren bir işlem olsa da, invaziv test olması nedeniyle özellikle endikasyonu net olmayan hastalarda yapılması pratik değildir. Ekokardiyografi (EKO) bu gereksinimi karşılayan, güvenli ve invaziv olmayan bir testtir. Pulmoner arter basıncı da dahil olmak üzere sağ kalp hemodinamikleriyle bağıntılı kalp debisi, diyastolik basınç farkı gibi birçok değişkenin saptanmasına olanak verir ve bu sayede kalp boşluklarının boyutları, duvar hareketleri ve ventrikül fonksiyonları, pulmoner akım karakterindeki değişiklikler, triküspit yetersizliği gibi ağırlıklı sağ ventrikül fonksiyonları değerlendirilir⁵.

PH'da genetiğin önemi her ne kadar son yıllarda daha fazla bilinmeye başlansa da, kalıtsal geçişli PH'un ilk tanımlandığı 1950'lerden bu yana merak uyandıran bir konudur. Pulmoner arteriyel hipertansiyonda (PAH), bilinen aile öyküsü olan hastaların yaklaşık %75'inde sorumlu olarak 300'den fazla bağımsız *kemik morfogenezik protein reseptör tip 2 (BMPR2)* mutasyonu

tanımlanmıştır. Sporadik olan vakalarda ise %25'e varan oranlarda bu gende defektler saptanmaktadır⁶. Birden çok aile bireyinde rastlanan *aktivin reseptörü benzeri kinaz tip-1 (ALK1)* reseptöründe ve belirgin şekilde daha düşük sıklıkta *endoglin tip III (ENG)* reseptöründe saptanan patojenik mutasyonlar da yine PAH ile ilişkilendirilmiştir⁷. Bu ve benzeri bulgular, Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta (TGF- β) ailesinin PAH gelişimindeki önemli rolünü desteklemektedir. TGF- β ailesi üyeleri *SMAD'lar*, *ENG*, *ALK1*, *BMPR2*, *GDF2'dir*. TGF- β ailesi üyelerinin mutasyonlarının sonuçta inflamasyon, anjiogenez ve daha birçok hadisede rol alan TGF- β /BMP yolağını etkileyerek, pulmoner vasküler yapı bozulmalarına neden olduğu bilinmektedir.

Pulmoner hipertansiyon ile ilişkilendirilmiş olan birçok gen daha mevcuttur. Bunlardan en bilinenleri; *potasyum kanalı alt ailesi K üyesi 3 (KCNK3)*, *Kaveolin-1 (CAV-1)*, *T-Kutusu-4 (TBX4)*, *SMAD* gen ailesi üyeleri ve *ökaryotik çeviri başlatma faktörü 2-alfa kinaz 4 (EIF2AK4)* 'dür⁸.

Pulmoner hipertansiyon genetik ve genomünün aydınlatılması şüphesiz hastalığın patofizyolojisi ve mekanizmasının keşfine olumlu katkılar sağlayacaktır. Bu çalışmada doğumsal kalp hastalığına bağlı pulmoner hipertansiyon tanısı almış 0-18 yaş arası çocuklarda *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* gen ekspresyonları çalışılarak, bu genlerin klinik pratikteki ifade düzeyleri ile ilgili çıkarımda bulunmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Pulmoner Hipertansiyon

2.1. Tanım

Pulmoner hipertansiyon; pulmoner vasküler yatağı etkileyen, hemodinamik ve histolojik bulguları benzer olan, etiyojisinde kardiyak ve kardiyak dışı çok sayıda farklı nedenin olduğu, tedavi edilmediğinde ise pulmoner vasküler yatakta yeniden düzenlenme, kalp yetersizliği ve ölüme sonuçlanabilen bir grup hastalıktır. Doğumsal kalp hastalıkları, kapak hastalıkları, kalp yetmezliği kardiyak nedenlere; kronik pulmoner tromboemboli, kronik karaciğer hastalığı, bağ doku hastalıkları ve şistozomiyaz ise kardiyak dışı nedenlere örnek verilebilir.

Pulmoner arteriyel basınç, in utero dönemde sistemik arteriyel basınca benzer. Ancak doğumdan sonra hızla düşerek genellikle postnatal yaşın üçüncü ayında erişkin değerlerine ulaşır. Pulmoner hipertansiyon; deniz seviyesinde, üç aylıktan büyük bebeklerde, ortalama pulmoner arteriyel basınç (mPAB) değerinin 25 mmHg ve daha yüksek olmasıyla tanımlanır⁹.

Pulmoner arteriyel hipertansiyon tanımlaması için mPAB'ın 25 mmHg ve üzerinde olmasının yanı sıra ekspiryum sonu pulmoner arter kama basıncının (PAWP) 15 mmHg'nin altında ve pulmoner vasküler rezistans indeksinin (PVRI) ise 3 wood ünitesi x m² 'nin üzerinde olması gerekmektedir. Ekspiryum sonu pulmoner arter kama basıncı değeri, sol ventrikül diyastol sonu basıncını yansıtmaktadır. Yüksekliği kalp yetmezliği düşündürür. Pulmoner vasküler rezistans indeksi ise tüm akciğer boyunca pulmoner arterden sol atriya kadar olan vasküler rezistansdır. Bu direnci arttıran nedenlere örnek olarak; kor pulmonale, pulmoner embolizasyon, kalp kapak hastalıkları sayılabilir. Hipervolemi ve gebelik gibi nedenler ise pulmoner vasküler direnci azaltan nedenlerdendir⁹.

2018 yılında Fransa'nın Nice şehrinde düzenlenmiş olan 6. Dünya Pulmoner Hipertansiyon Sempozyumu'nda PH tanımı için güncellemeler önerilmiştir. Ortalama pulmoner arter basıncının 20 mmHg'nin üzerinde olması ve $PVRI \geq 3$ wood ünitesi $\times m^2$ olması PH olarak tanımlanmıştır fakat henüz PH rehberlerine bu kullanım geçmemiştir¹⁰.

Pulmoner hipertansiyon, gelişim mekanizması bakımından farklı tanımlamalar da ihtiva etmektedir. İdiyopatik PAH terimi altta yatan PAH ile ilişkilendirilmiş bir hastalığın bulunmadığı PAH'ı; herediter PAH ise pozitif aile öyküsü yada genetik kanıt saptanmış PAH'ı ifade eder.

Ortalama pulmoner arteriyel basınçtan PAWP çıkartılarak hesaplanan transpulmoner basınç gradiyenti (TPG) 6 mmHg üzerinde olan veya yüksek mPAB ölçülmemesine rağmen kavopulmoner anastomozu olan PVRI indeksi yüksek hastalar ise pulmoner hipertansif vasküler hastalık (PHVH) grubuna dahildir⁹.

Amerikan Kalp Derneği (AHA) ve Amerikan Göğüs Topluluğu (ATS) tarafından 2015 yılında yayınlanan güncel tanımlamaya göre PH tanımlamaları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Pulmoner hipertansiyonda güncel tanımlamalar⁹.

PH	<ul style="list-style-type: none">• mPAP ≥ 25 mmHg (deniz seviyesinde ve 3 aydan büyük çocuklarda)
PAH	<ul style="list-style-type: none">• mPAP ≥ 25 mm Hg• PAWP < 15 mm Hg• PVRI > 3 WU $\times M^2$
IPAH	<ul style="list-style-type: none">• PAH ile ilişkili altta yatan herhangi bir patoloji saptanamayan PAH• Pozitif aile öyküsü veya genetik kanıt saptanmış PAH
PHVH	<ul style="list-style-type: none">• Yüksek mPAP ölçülmeyen kavopulmoner anastomozlu PVRI indeksi yüksek hastaları ve• Yüksek TPG'li hastaları içeren sınırları geniş grup

(PH: Pulmoner hipertansiyon, PAH: Pulmoner arteryel hipertansiyon, IPAH: İdiyopatik pulmoner arteryel hipertansiyon, PHVH: Pulmoner hipertansif vasküler hastalık, mPAP: Ortalama pulmoner arter basıncı, PAWP: Pulmoner arteryel kama basıncı, PVRI: Pulmoner vasküler rezistans indeksi, TPG: Transpulmoner Gradyent, WU: Wood ünitesi)

2.2. Sınıflandırma

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 1973'te birincil pulmoner hipertansiyon konferansında benimsenen ilk tanımlamadan bu yana PAH sınıflandırması değişikliklere uğramıştır¹¹. Pulmoner hipertansiyon, eskiden belirlenebilir nedenler veya risk faktörleri bulunup bulunmamasına göre primer ve sekonder pulmoner hipertansiyon olarak sınıflandırılmaktaydı. Dünya PAH konferanslarında, 1998 ve 2003 yıllarında Evian-Venice sınıflandırması benimsenmiştir¹².

27 Şubat – 1 Mart 2018 tarihlerinde Nice şehrinde toplanmış olan 6. Dünya Pulmoner Hipertansiyon Sempozyumunda ise PH sınıflandırması en güncel halini almış olup; bu sınıflandırma Tablo 2'de gösterilmiştir¹³.

2.3. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Pulmoner hipertansiyonun dünya üzerinde 25 milyondan fazla bireyi etkilediği tahmin edilmektedir. Çocukluk çağındaki PH prevalansı ise 63,7 vaka / 1.000.000 olarak tahmin edilmektedir¹⁴. Aslında PH prevalansı ile ilgili güvenilir tahminlerde bulunmak hiç kolay değildir. Bunun nedeni, sekonder pulmoner hipertansiyonun daha sık görülmesi ve PH etiolojisinin çok farklı hastalıkları içermesidir¹⁵. Ancak idiyopatik PH için çocuklarda tahmin edilen insidans 4,4 / 1.000.000 olarak bildirilmiştir¹⁴. İdiyopatik PH, en sıklıkla 20-40 yaş arasında görülmektedir. Çocukluk çağında her iki cinsiyeti eşit olarak etkileyen PH, puberteden sonra kadınlarda daha yaygın olarak görülmektedir (oran:1.7/1)¹⁶. Doğumsal kalp hastalığı olup da tedavi edilmemiş hastaların % 30'unda PAH gelişmektedir¹⁷.

Tablo 2. PH klinik sınıflandırması (Nice,2018)¹³.

<p>1. Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH)</p> <p>1.1 İdiyopatik 1.2 Vazoreaktif PAH 1.3 Kalıtsal 1.4 İlaçlara ve toksinlere bağlı 1.5 Diğer hastalıklarla ilişkili PAH 1.5.1 Bağ dokusu hastalıkları 1.5.2 HIV enfeksiyonu 1.5.3 Portal hipertansiyon 1.5.4 Doğumsal kalp hastalığı 1.5.5 Şistozomiyaz 1.6 Venöz \ kapiller tutulumun belirgin belirtileri olan PAH 1.7 Yenidoğanın persistan pulmoner hipertansiyonu</p>
<p>2. Sol kalp hastalığına bağlı pulmoner hipertansiyon</p> <p>2.1 Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliğine bağlı PH 2.2 Azalmış ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliğine bağlı PH 2.3 Kapak hastalığı 2.4 Doğuştan post kapiller obstruktif lezyonlar</p>
<p>3. Akciğer hastalıklarına ve/veya hipoksiye bağlı pulmoner hipertansiyon</p> <p>3.1 Obstrüktif akciğer hastalığı 3.2 Restriktif akciğer hastalığı 3.3 Karma restriktif ve obsrükatif yapıda diğer pulmoner hastalıklar 3.4 Akciğer hastalığı olmaksızın hipoksi 3.5 Alveolar hipoventilasyon bozuklukları 3.6 Kronik olarak yüksek irtifaya maruz kalmak 3.7 Gelişimsel anormallikler</p>
<p>4. Pulmoner Arter Obstruksiyonuna Bağlı Pulmoner Hipertansiyon</p> <p>4.1 Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon 4.2 Diğer pulmoner arter obstruksiyonları</p>
<p>5. Mekanizmaları Belirsiz Pulmoner Hipertansiyon</p> <p>5.1 Hematolojik bozukluklar: Miyeloproliferatif bozukluklar, kronik hemolitik anemi 5.2 Sistemik bozukluklar: Sarkoidoz, pulmoner langerhans hücreli histiositoz, Gaucher hastalığı, Glikojen depo hastalıkları, Nörofibromatozis. 5.3 Diğerleri: Segmental PH, fibröz mediastinit, diyalize bağımlı kronik böbrek yetmezliği 5.4 Kompleks konjenital kalp hastalıkları</p>

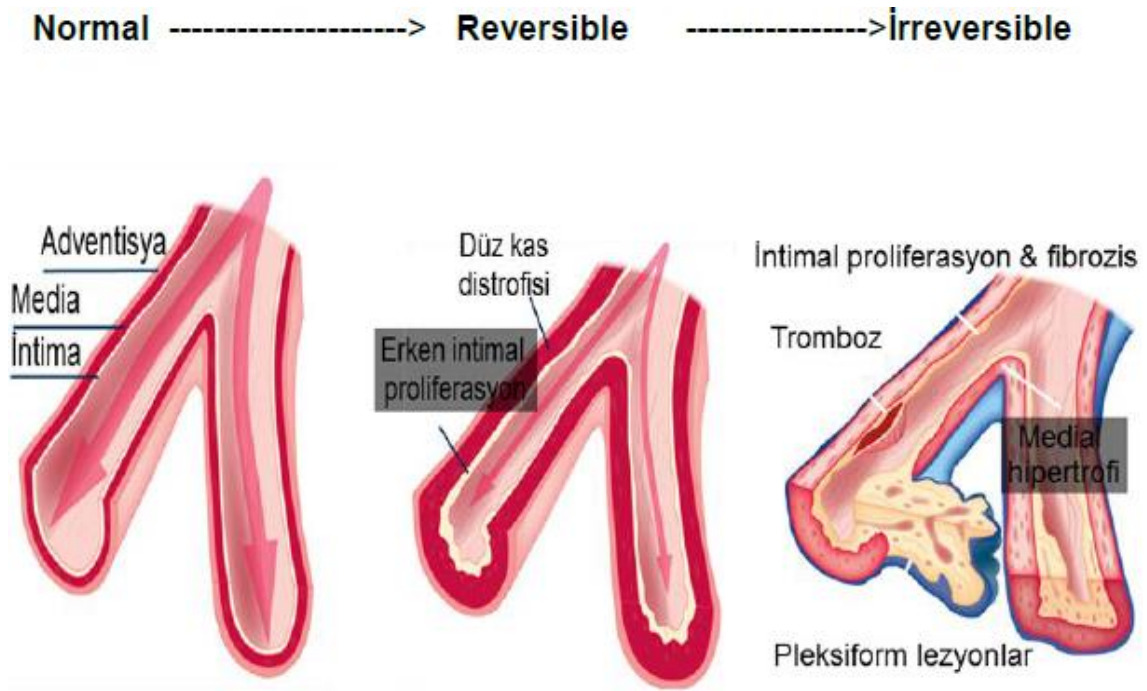
Pulmoner arteriyel hipertansiyon gelişimi ile ilişkili genetik, ilaç kullanımı, bağ doku hastalıkları gibi bir dizi risk faktörü saptanmıştır. Aile öyküsü de PAH hastalarında bilinen önemli tetikleyici faktörlerdendir. Ailesel PAH olgularının bir kısmında özgül bazı mutasyonlar bildirilmiştir. Bazı ilaçlarla PH arasında ilişki olduğu bilinmektedir. Örneğin, iştah baskılayıcı ilaçlarla PAH arasında kesin ilişki olduğu açıkça tanımlanmıştır. Dikkat eksikliği tedavisinde kullanılan ilaçlar ilgili çok araştırma yoktur ancak PAH ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bunlara ek olarak, amfetamin, metamfetamin ve L-Triptofan gibi ilaçların PH'ya neden olabileceği gösterilmiştir.

Pulmoner hipertansiyon, bağ doku hastalıklarında da hayatı tehdit eden bir komplikasyon olarak ortaya çıkabilir. Skleroderma hastalarının %7,8 - %12'sinde PAH geliştiği bildirilmektedir¹⁸. Diğer bağ doku hastalıklarında da PAH gelişebilmesine rağmen sıklığı daha azdır. İnsan bağışıklık virüs enfeksiyonunun (HİV) da PAH'a neden olduğu gösterilmiş ve prevalansı %0,46 olarak bildirilmiştir. Çok net olmamakla birlikte, portal hipertansiyonlu hastaların %2-6'sında PAH gelişebilmektedir. PAH hastalarının %11.3'ünde altta yatan neden doğumsal kalp hastalığıdır¹⁸.

2.4. Patogenez

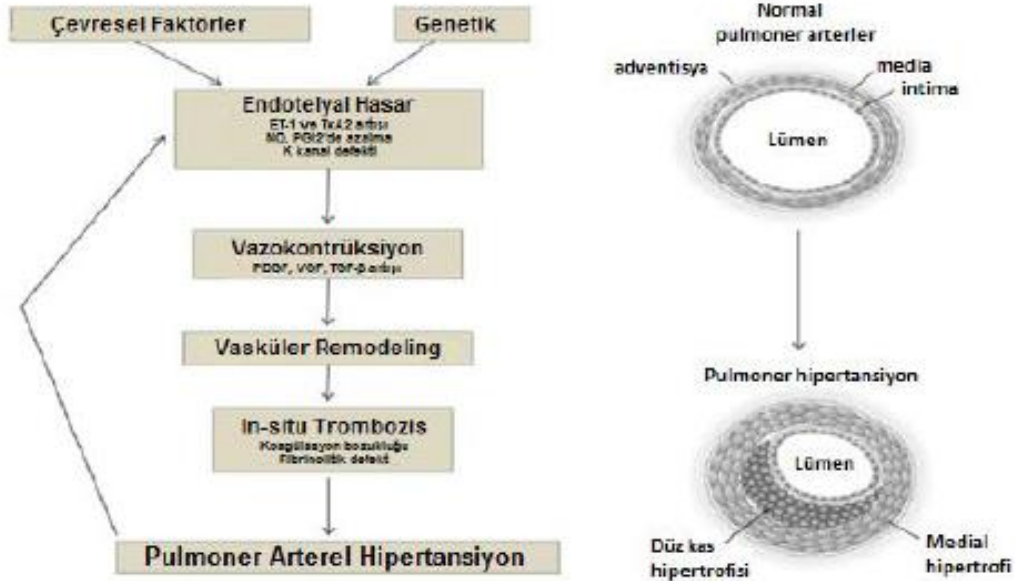
Pulmoner hipertansiyon patogenezinin temelinde küçük pulmoner arterlerin ilerleyici daralması yatmaktadır ve bu durum sıklıkla sağ kalp yetersizliği ve ölüme neden olmaktadır¹⁹. Distal pulmoner arterlerde medial hipertrofi, intimada proliferatif ve fibrotik değişiklikler, perivasküler inflamatuvar infiltrasyon, vazokonstriksiyon, trombozis, adventisyal kalınlaşma ve sonuç olarak pulmoner damarlarda yeniden yapılanma ile pulmoner vasküler rezistansta artış, pulmoner arterlerde ilerleyici daralmaya neden olur (Şekil 1). Patogenezde birçok neden yer almasına rağmen en önemli mekanizma ilerleyici endotelial hücre işlev bozukluğudur. Endotel hücrelerinin vasküler düz kas hücrelerine farklılaşması ile birlikte endotelin, tromboksan A2 (TXA2), prostasiklin (PGI2) gibi çeşitli aracılardan salınımı veya aracılardan dengenin bozulması gibi faktörler de önemli rol oynamaktadır²⁰. Endotel işlev bozukluğu

sonucu vazokonstriktör mediyatörler artar, vazodilatör mediyatörler azalır ve sonuçta vazokonstriktör-vazodilatör denge bozulur. Endotelin-1, pulmoner damar yatağında vazokonstriksiyona neden olarak, düz kas ve fibroblast çoğalmasını uyarır. Sonuçta damar lümeni daralır ve pulmoner damar direnci artar. Prostaglandin ve TXA2 arasındaki dengenin TXA2 lehine değişmesi vazokonstriksiyona, proliferasyona, tromboza ve inflamasyona yol açar ve PH gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rolü vardır.



Şekil 1. PAH patofizyolojisi²¹.

Pulmoner arteriyel hipertansiyonun tüm alt tiplerinde ortak bazı histolojik özellikler vardır. Bunlar arasında; intimal fibrozis, vasküler düz kas hücrelerinin distal lokalizasyonu ve hücre çoğalması ile pulmoner arteriyel tıkanma yer alır. Ek olarak, ağır PAH formlarında; “neointima” adı verilen ekstrasellüler matriksin ve miyofibroblastların artmış birikimi ile karakterize lezyonlar izlenmektedir. Pleksiform lezyonlar ise; damar lümenini daraltan, endotel-benzeri hücrelerin artmış proliferasyonu ile karakterizedir. Ayrıca pulmoner arteriollerin intima, media, adventisya tabakalarında inflamatuvar hücre infiltrasyonu da mevcuttur²⁰ (Şekil 2).



Şekil 2. Pulmoner hipertansiyon patogenezi.

(ET-1: Endotelin 1, TXA2: Tromboksan A2, NO: Nitrik oksit, PaO2: Parsiyel oksijen basıncı, K: Potasyum, VGF: Vasküler büyüme faktörü)

2.5. Patofizyoloji

Pulmoner hipertansiyonun karmaşık ve çok etkenli patofizyolojisi henüz tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Değişik etkenlerin tetiklediği farklı mekanizmaların bu hastalığa yol açtığı öne sürülmüş olsa da bu mekanizmaları birleştiren temel yapı tanımlanamamıştır. Pulmoner arteriyel hipertansiyon patofizyolojisinde en önemli hemodinamik belirteç PVR olup, bu belirteçte meydana gelen değişiklikler çok önemli rol oynar. Vasküler yatakta fizik yasalarına göre iki nokta arasındaki akıma karşı gelişen basınç değişiklikleri rezistans olarak tanımlanmaktadır.

R (Rezistans) = $\frac{Pa - Pv}{Q}$ (pulmoner arter basıncı)- P_v (pulmoner ven basıncı)/ Q (akım)²². Bu formüle göre pulmoner arter basıncı rezistans veya pulmoner arteriyel akımdaki değişikliğe bağlıdır. Akımda, vasküler rezistansta veya her iki parametrede meydana gelen artışlar pulmoner hipertansiyona neden olur.

Pulmoner hipertansiyon gelişimine neden olan mekanizmalar altta yatan hastalığa göre farklılıklar gösterdiğinden patofizyolojik farklılıklar dikkat çekmektedir. Bu farklı patofizyolojik özelliklere göre gelişim mekanizmaları aşağıda tanımlanmıştır.

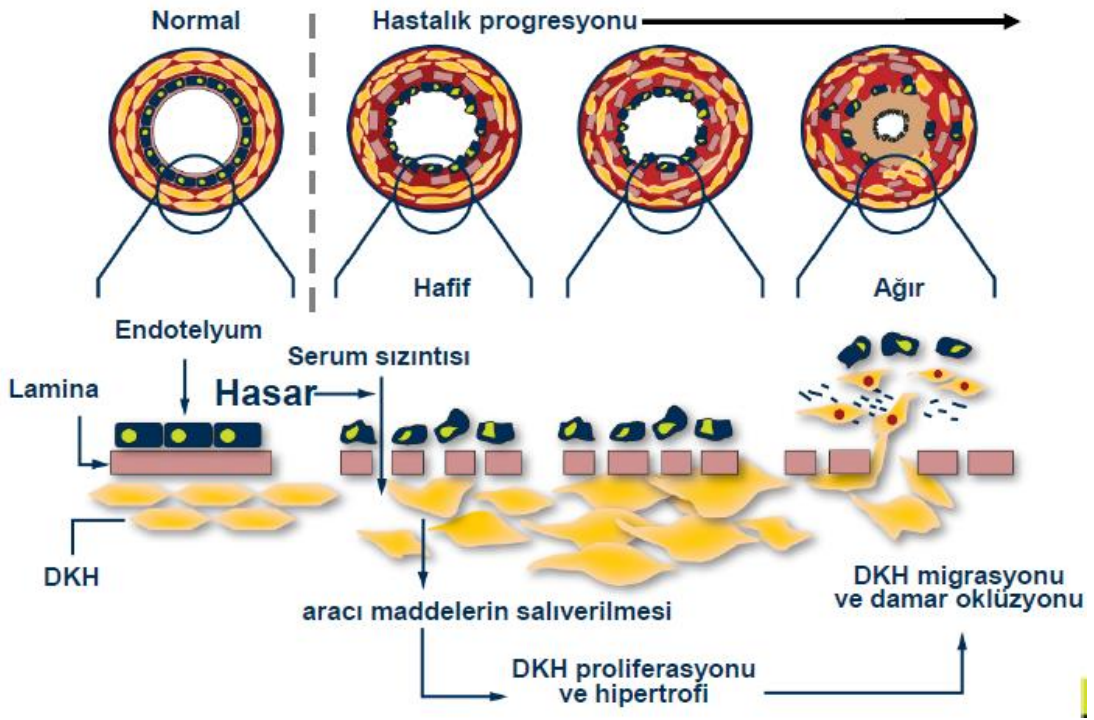
2.5.1. Hiperkinetik Pulmoner Hipertansiyon

Soldan sağa geçişli DKH (doğumsal kalp hastalığı)'de, artmış pulmoner kan akımı ve buna bağlı pulmoner arter basıncında artış sonucunda ortaya çıkan pulmoner hipertansiyona hiperkinetik PAH denir. Doğum sonrası soldan sağa geçişli DKH'nın başlangıç aşamasında PVR'nin düşüşünü izleyerek pulmoner kan akımı artar; bu da PA basıncını artırır. Sistemik basıncın doğrudan pulmoner arterlere iletilmesi nedeniyle kompanzatuvar pulmoner vazokonstriksiyon ile PVR yükselir. Endotelin, TXA2 gibi vazokonstriktör maddelerin aşırı üretimi şeklinde endotel hücrelerin vazodilatasyon mekanizmasındaki bozukluklar pulmoner hipertansiyonun bu tipi ile yakından ilişkilidir. Zamanla damar yatağında oluşan yapısal değişiklikler lümen daralmasına ve buna bağlı olarak rezistans artışına neden olur.

Hiperkinetik PAH, eğer pulmoner arteriollerdeki değişiklikler kalıcı hale gelmeden önce neden ortadan kaldırılabilirse genellikle normale dönebilir. Geniş soldan sağa defektler tedavi edilmezlerse, pulmoner vasküler yatakta geri dönüşümsüz değişiklikler oluşur, şiddetli pulmoner hipertansiyon gelişir ve sağdan sola dönen şant nedeniyle siyanoz ortaya çıkar. Bu evreye Eisenmenger Sendromu veya pulmoner vasküler obstruktif hastalık (PVOH) adı verilir (Şekil 3). Bu evrede cerrahi düzeltme artık mümkün değildir. Eisenmenger Sendromunun ortaya çıkma zamanı değişkendir, süt çocukluğu ile erişkin yaş arasındaki dönemi kapsar.

Soldan sağa şantlı kalp hastalıklarında PAH görülmesi defektin yeri ve boyutuyla da ilgilidir. Basit defektler pre-triküspit ve post-triküspit olarak ayrılabilirler. Pre-triküspit lezyonlar (atriyal septal defekt), post-triküspit (ventriküler septal defekt ve patent duktus arteriyozus) lezyonlara göre daha düşük olasılıkla ve daha geç dönemde PAH sebebi olur. Defektin boyutu da

benzer şekilde önemlidir. Büyük defektlerde, küçük defektlere göre daha fazla ve erken PAH gelişme riski vardır. Küçük ventriküler septal defekt (<1,5 cm) varlığında %3 oranında PAH gelişirken; büyük defektlerde bu oran %50'ye ulaşır²³. Pre-triküspit lezyonlar oldukları için atrial septal defekt olgularında PAH insidansı ventriküler septal defekt ve patent duktus arteriyozusa göre değişiklik gösterir. Sinüs venozus tipi defektlerde sekundum atriyal septal defekt ile karşılaştırıldığında, pulmoner arter basıncı ve pulmoner vasküler rezistans artışı daha sık görülmektedir. Ayrıca sinüs venozus tipi defektlerde pulmoner arteriyel basınç sekundum defektlere göre daha erken yaşlarda yükselmeye başlar²⁴.



Şekil 3. Soldan sağa geçişli DKH'de oluşan PAH'ın patogenezi.

(DKH: Doğumsal kalp hastalığı)

Büyük arter transpozisyonu, trunkus arteriyozus gibi siyanotik doğumsal kalp hastalıklarında da artmış pulmoner akım, pulmoner hipertansiyona neden olabilir. Bu hastalarda soldan sağa geçişli DKH durumunda olduğu gibi pulmoner damar yatağı yüksek basınçlı ve artmış bir akıma maruz kalmaktadır.

Bunun endotel üzerine olan etkileriyle birlikte bu hastalarda hiperviskozite, hipoksemi ve trombüs PAH gelişimini kolaylaştırır. Bu hastalarda erken cerrahi girişim yapılmazsa hızla PAH gelişecektir.

Siyanotik hastalarda hızlı gelişen PAH'dan hiperviskozite, bronkopulmoner kollaterallere bağlı lokal pulmoner hipoksemi ve mikrotrombüsler sorumludur.

2.5.2. Alveolar Hipoksi

Alveoler kapiller bölgedeki oksijen basıncının akut ve kronik olarak azalması güçlü bir vazokonstriktör yanıtın ortaya çıkmasına neden olur. Alveoler hipoksiye yanıt olarak oluşan pulmoner vazokonstriksiyonun kesin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır, ancak hayvan ve insan çalışmaları ile vasküler endotelden salgılanan iki önemli vazoaaktif olan nitrik oksit ve endotelin arasındaki dengesizlikten kaynaklandığını düşündürmektedir. Alveoler hipoksi; pulmoner parankimal hastalık, hava yolu darlıkları, yetersiz solunum gücü, göğüs duvarı ve solunum kası hastalıkları ve yüksek rakımda yaşam gibi durumlarda görülen pulmoner hipertansiyonun birçok tipinde önemli temel neden olabilir¹.

2.5.3. Pulmoner Venöz Hipertansiyon

Pulmoner venlerin basıncında artma pulmoner arteriollerde refleks vazokonstriksiyona neden olur. Pulmoner arter basıncı pulmoner arter ile pulmoner venler arasında yeterli basınç farkını oluşturmak için yükselir. Bu basınç farkı pulmoner dolaşımın sabit ileriye akımını idame ettirmek için gereklidir. Ayrıca pulmoner venöz basınç artışı küçük hava yollarını daraltabilir ve tam kapayabilir, bu durum vazokonstriksiyona katkıda bulunan alveolar hipoksiye yol açarak pulmoner hipertansiyona katkıda bulunabilir. Pulmoner venöz basıncın artmasına bağlı pulmoner hipertansiyon genellikle sebep ortadan kaldırıldığında geri dönüşümlüdür, buna tek istisna cerrahi düzeltilmesi mümkün olmayan doğuştan pulmoner venöz darlıklardır²⁵.

2.5.4. Primer Pediatrik Pulmoner Hipertansif Vasküler Hastalık

İlerleyici vasıfta, Eisenmenger sendromundaki gibi geri dönüşümsüz vasküler değişikliklerin de olduğu, intrakardiyak lezyonun bulunmadığı bir durumdur. Vasküler dokunun kendisinde meydana gelen medial hipertrofi, intimada fibrotik değişiklikler, vazokonstriksiyon, adventisyal kalınlaşma gibi değişiklikler ile tromboembolizm, trombosit kümelenmesi veya bunların birleşimi sonucu pulmoner vasküler yatağın kesitsel alanlarında bir azalma oluşur. Çocuklarda insidansı son kayıt çalışmalarıyla 0,48/milyon çocuk/yıl olarak saptanmıştır. Bu hastalarda ortalama yaşam süresi 10 aydır. On altı yıla kadar yaşam süresi uzayan bireysel olgular da bildirilmiştir. Bu hastaların % 6-12'sinde aile öyküsü mevcuttur ve ailevi PAH tanısı alırlar²⁶.

Ailevi PAH'da bazı genlerin mutasyonlarının vasküler düz kasların kontrolsüz proliferasyonuna neden olduğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır²⁷. Genetik mekanizmalar ve ilişkili gen mutasyonları ilgili bölümde ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

2.5.5. Pulmoner Hipertansiyonun Hücrel Mekanizmaları

2.5.5.1. Endotel İşlev Bozukluğu

Normal endotel; vazodilatatör ve vasokonstriktör substratların yapımında etkili olarak, vasküler homeostazın sağlanmasında temel rol oynayan en küçük endokrin organdır. Endotel hücreleri, morfolojik yapıları ve stratejik-anatomik pozisyonları dolayısı ile vasküler düz kas hücreleri ile kan dolaşımının komponentleri arasında (platelet, monosit, enzimler, hormonlar vb) selektif geçirgen bir bariyer oluşturur²⁸. Bunun için endotel hücreleri luminal yüzeyde dolaşım için nonadheziv bir yapıda bulunmalıdır. Bu görevi yanında endotel hücrelerinin damar tonusunun düzenlenmesi, koagülasyon, hücre büyümesi ve ölümü, lökosit migrasyonu gibi çeşitli olaylarda da rol oynar. Pulmoner hipertansiyon hastalarından alınan akciğer biyopsileri elektron mikroskobu ile incelendiğinde endotel hücrelerinde görülen değişiklikler, endotel işlev bozukluğunun patogeneizde rolü olabileceğini göstermektedir²⁹.

Endotel işlev bozukluğu sonucu vazokonstriktör mediyatörler artar, vazodilatör mediyatörler azalır ve sonuçta vazokonstriktör-vazodilatör denge bozulur. Vazokonstriksiyon tüm PH tiplerinde erkenden ortaya çıkan ve patogeneizde kilit rol oynayan ortak bir yanıttır. Endotel hasarı teorisine göre, endotelyumda birçok uyarana bağlı olarak (hipoksi, artmış kan akımı, ilaçlar vb) meydana gelen etkiler pulmoner arterlerdeki endotel hücrelerini hasara uğratmaktadır. Hasarlı endotel hücrelerinden damar bütünlüğünü koruyucu mediyatörlerin (nitrik oksit, prostasiklin vb) yapımı ve salınımı azalmakta; böylece endotelin-1 yapımı üzerindeki baskılanma ortadan kalkmaktadır. Endotel yüzeyindeki tahribat sonucu trombosit adezyonu ve agregasyonu kolaylaşmakta, trombositlerle endotel hücreleri arasındaki anormal etkileşim sonucu endotelin-1 salınımı uyarılmaktadır. Endotelin-1, pulmoner damar yatağında vazokonstriksiyona neden olur, düz kas ve fibroblast çoğalmasını uyarır. Dolayısıyla, damar lümeni daralır ve pulmoner damar direnci artar³⁰. Pulmoner damar direncine etkili olan faktörler tabloda gösterilmiştir. (Tablo 3)

Tablo 3. Pulmoner damar direncini değiştiren etkenler.

Pulmoner Damar Direncinde Artış	Pulmoner Damar Direncinde Düşüş
1- Sempatik Stimülasyon	1- Parasempatik Stimülasyon
2- Endotelin	2- Prostaglandin
3- Anjiyotensin 2	3- Bradikinin
4- Tromboksan A2	4- Nitrik oksit
5- Lökotrienler	5- Artmış kalp debisi
6- Hipoksi	6- Yüksek akciğer volümü
7- Artmış LA basıncı ve supin pozisyon	

(LA: Sol atriyum)

Endotelin, polipeptid yapıda olup; hidrofildir. Plazma membranını geçemez. Özgül reseptörleri aracılığıyla etki göstermektedir³¹. Endotelin A (ET-A) ve endotelin B (ET-B) olmak üzere iki reseptörü vardır. Endotelin A reseptörleri düz kas hücreleri ve kalp hücrelerinde, ET-B ise daha çok damar endotelinde, az bir kısmı ise düz kas hücrelerinde bulunur. Düz kas hücrelerinde ET-A ve ET-B reseptörlerinin etkinleşmesi vazokonstriksiyon, hücre proliferasyonu ve hipertrofiye neden olurken, endotel hücrelerindeki ET-B reseptörlerinin uyarılması nitrik oksit, prostasiklin gibi vazodilatörlerin salınımını sağlayarak vazodilatasyona ve hiperproliferasyonun baskılanmasına yol açar ve ET-1'in istenmeyen etkilerini dengeleyebilir. Her iki reseptörü aracılığı ile mitogenezde ve vazokonstriksiyonda önemli rol oynar. Ayrıca damar düz kas proliferasyonunda rol oynayarak vasküler yeniden yapılanmaya etkisi vardır³². Bunun yanında lökosit adezyonunda ve monosit kemotaksisinde de etkili olarak aterosklerotik süreçlere de yol açar. Soldan sağa geçişli doğumsal kalp hastalıklarına bağlı PH varlığında pulmoner damar yatağındaki endotelin-1 yapımı artar ve bu molekülün akciğer klerensi azalır. Dolayısıyla, PH hastalarında endotelin-1 düzeyleri yüksek seyretmektedir^{20,33}. Bunun yanı sıra PH hastalarında endotelin reseptör antagonisti kullanımıyla hastalığın gerilemesi de endotelinin önemine işaret etmektedir³⁴.

Prostasiklin (PGI₂), damar endotelinde siklooksijenaz enzimi ile araşidonik asitten üretilen endojen eikozanoittir. Prostasiklinler damar düz kas hücrelerinde çözünür adenilat siklazı uyararak adenosin trifosfatı siklik adenosin monofosfata (cAMP) dönüştürür. Ardından cAMP ile hücre içi kalsiyum düzeyinin düşmesine bağlı vazodilatasyon gerçekleşir. Ayrıca damar düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder ve trombosit agregasyonunu azaltır^{35,36}.

Tromboksan A₂, trombositler içinde araşidonik asitten tromboksan sentaz tarafından sentezlenir. Prostasiklinin aksine vazokonstriksiyona ve trombosit agregasyonuna yol açar. Kronik PH varsa PGI₂ sentezi azalırken fizyolojik antagonisti olan TXA₂ sentezi artar. Prostasiklin ve TXA₂ arasındaki dengenin TXA₂ lehine değişmesi vazokonstriksiyona, proliferasyona, tromboza

ve inflamasyona yol açar ve PH gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rolü vardır. Endojen PGI₂ eksikliği, PAH patogenezinde önemli bir role sahip olduğundan PGI₂ ve türevlerinin tedavide kullanımına dair birçok klinik çalışma yapılmış ve yararlılığı gösterilmiştir^{37,38}.

Nitrik oksit (NO), biyolojik sıvılarda kısa yarı-ömre sahip bir serbest radikaldir. Güçlü bir pulmoner arteriyel vazodilatör, trombosit aktivatörü ve damar düz kas proliferasyonunun inhibitörüdür. Nitrik oksit, oksijen ve L-arjinin ile akciğerde eksprese edilen nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir³⁹. Çözünür guanilat siklazı etkinleştirerek siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretimini artırır. Bu da vazodilatasyona yol açan cGMP-bağımlı protein kinazı etkinleştirir⁴⁰.

Pulmoner arteriyel hipertansiyon patogenezinde en önemli faktörlerden birinin NO biyoyararlanımının azalması olduğu düşünülmektedir. Ancak bunun endotelial disfonksiyonun nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu kesin olarak bilinmemektedir⁴¹. Pulmoner arteriyel hipertansiyon olgularında, pulmoner damarlarda endotelial NOS düzeylerinin düşük olması, patogeneizde vazokonstriksiyonu düşündürmektedir. Genetik olarak endotelial NOS eksikliği bulunan bir kemirgen modelinde, yabani tip ile karşılaştırılarak yapılan kontrollere göre diğer endojen uyarılara cevap olarak PH gelişme yatkınlığının daha fazla olduğu gözlenmiştir⁴².

2.5.5.2. Potasyum Kanal İşlev Bozukluğu

İdiopatik PH'da düz kas hücrelerindeki voltaj kontrollü potasyum kanallarında işlev bozukluğu vardır. Bu işlev bozukluğuna bağlı olarak hücre içine potasyum akımının engellenmesi hücre zarında depolarizasyona, kalsiyum kanallarının açılmasına, hücre içi kalsiyum artışına ve sonuçta vazokonstriksiyona yol açar. Ancak, bu bozukluğun sebep mi yoksa oluşan patolojik değişikliklerin bir sonucu mu olduğu kesin olarak belli değildir⁴³.

2.5.5.3. Trombositler ve Tromboz

Trombositler de pulmoner hipertansiyon patogenezinde etkin olarak rol almaktadır. Endotel hasarı, trombüse yatkın bir yüzey oluşturmada ve endotel trombosit etkileşimini arttırmaktadır. Trombüs oluşumu, lümeni daha da daraltarak pulmoner damar direncindeki artışa katkıda bulunur. Ayrıca endotel trombosit etkileşimi sonucu trombositlerden serbestleşen değişik prokoagulan, vazoaktif ve mitojenik mediyatörler vazokonstriksiyona ve damar duvarında yeniden yapılanmaya katkıda bulunur. Bu mediyatörler arasında TXA₂, serotonin, platelet kaynaklı büyüme faktörü, platelet uyarıcı faktör, vasküler endotelial büyüme faktörü ve TGF- β sayılabilir³³.

2.5.5.4. Serotonin

Düz kas hücreleri üzerinde güçlü vazokonstriktör ve mitojenik etkilerde bulunmaktadır. Pulmoner hipertansiyon hastalarının trombositlerinde 5-HT düzeyi düşüktür. Buna karşılık, serumda serotonin düzeyi yüksektir ve düz kas hücresi duvarında 5-hidroksi triptamin taşıyıcı protein (5-HTT) ekspresyonu artmıştır. Bu duruma trombositlerden serotonin salınımının artmasının, salınan bu serotoninin ise taşınabilmesi için gereken 5-HTT'nin artmasına olan gereksinimin neden olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak serotonin reseptörlerinin aktive olmasıyla vazokonstriksiyon meydana gelmektedir. Yapılan çalışmalar, deneysel hipoksik PH modelinde serotonin geri alım inhibitörlerinin etkili olduğunu göstermektedir⁴⁴.

2.5.5.5. Pulmoner Damarların Yeniden Yapılanması (Anjiogenez)

Anjiogenez, pulmoner hipertansiyon patofizyolojisinde araştırılan bir başka parametredir. Bu konudaki çalışmalar başlıca vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu faktör, VEGFR-1 ve VEGFR-2 isimli iki reseptör aracılığıyla etki etmektedir. Pulmoner hipertansiyon varlığında VEGF artmıştır. İki tip VEGF molekülünden biri olan VEGF-A'nın, PH patogenezinde koruyucu, VEGF-B'nin ise patojen olduğu, endotelial hücre

çoğalmasında ve pleksiform lezyonların oluşmasında rol aldığı düşünülmektedir^{45,46}. Pulmoner hipertansiyon oluşum mekanizmasında vasküler yeniden yapılanmanın önemi göz önünde bulundurulduğunda; VEGF-B tarafından bu damarsal gelişim süreçlerinin uyarılması neticesinde distal pulmoner arterlerde medial hipertrofi, intimada proliferatif değişiklikler, adventisyal kalınlaşma ve pulmoner damarlarda yeniden yapılanma görülmesinde VEGF'in rolü olduğu düşünülmektedir.

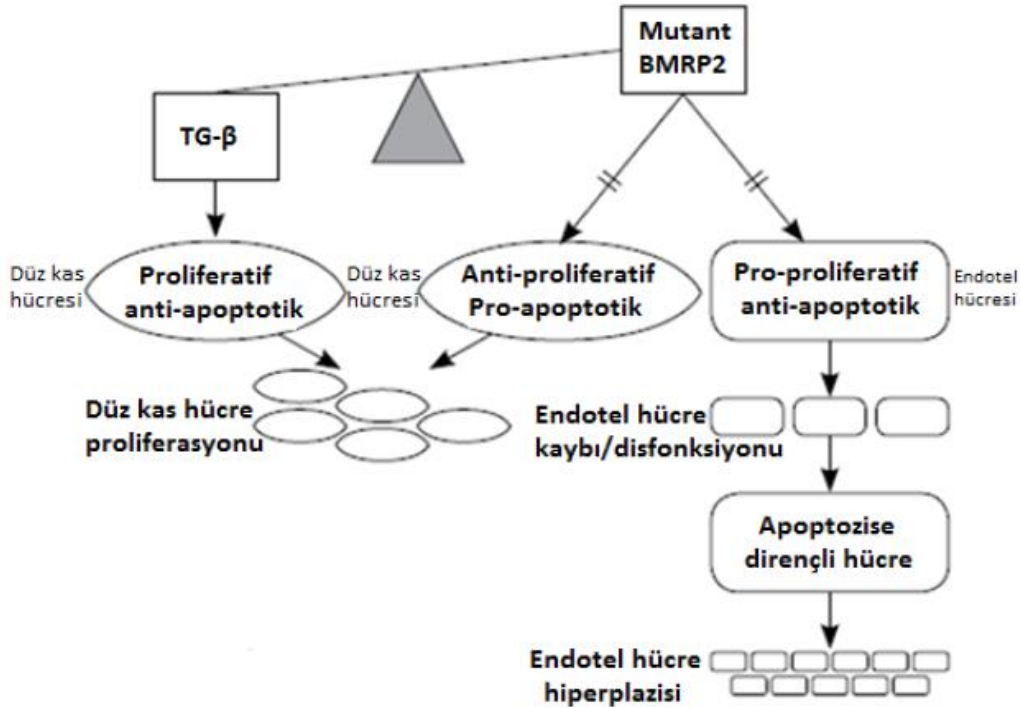
2.5.5.6. Proteoliz

Pulmoner hipertansiyon patogenezinde rol oynayan mekanizmalardan biri de ekstrasellüler matriksin proteolizidir. Doğumsal kalp hastalıklarına bağlı pulmoner tıkaçıcı damar hastalığı olan hastalarda gerçekleştirilen histopatolojik incelemelerde ve deneysel hayvan çalışmalarında elastolitik etkinliğin arttığı gösterilmiştir⁴⁷. Hasara uğramış endotelden subendotelyal alana sızan elastin ve tenascin-C gib bazı serum faktörlerinin endojen vasküler elastazı etkinleştirdiği ve dolayısıyla elastolitik etkinliği başlattığı düşünülmektedir. Endojen vasküler elastaz, ekstrasellüler matriksi yıkarken matriks metalloproteinazlarını da etkinleştirir ve yıkım daha da artar. Pulmoner damar yatağında olan hasardan sonra ilk ortaya çıkan histopatolojik özelliğin artmış elastaz aktivitesi olduğu gösterilmiş ve elastaz inhibitörlerinin hayvanlarda PH gelişimini durdurduğunun kanıtlanmasıyla proteoliz mekanizması daha da önemli hale gelmiştir⁴⁸.

2.5.5.7. Pulmoner Hipertansiyonda Genetik ve Genomik

Günümüzde pulmoner arteriyel hipertansiyonun kesin bir tedavisi bulunmamaktadır. Bu nedenle yeni terapötik gelişimi teşvik etmek için patofizyolojik bilgileri iletirmek ve moleküler mekanizmaları aydınlatmak gereklidir. Birçok bilim insanı, PH gelişiminde genetik faktörlerin önemli roller üstlendiğini düşünmekte ve bu alanda farklı çalışmalar yürütmektedir.

Dresdale ve arkadaşları 1950'lerin başlarında ilk primer pulmoner hipertansiyon tanımını yaptıktan sonraki süreç içinde, PAH'ı destekleyen moleküler ve genetik faktörler hakkında çok şey öğrenilmiştir⁴⁹. 1990'larda ve 2000'lerin başında yapılan çalışmalarla, *kemik morfojenik protein reseptör tip 2 (BMPR2)* genindeki mutasyonların PAH gelişimi için kalıtsal bir risk faktörü olduğu keşfedilmiştir⁵⁰. TGF- β düz kas hücresinde proliferasyonu artırıcı ve apoptozis mekanizmalarını baskılayıcı özellik gösterir. *BMPR2* mutasyonlarında ise endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinde farklı etkiler meydana gelebildiği bilinmektedir. Şekil 4'de TGF- β ve *BMPR2* mutasyonlarının düz kas ve endotel hücrelerine etki ederek PAH gelişimindeki rolleri gösterilmiştir. 2000 yılında *BMPR2* geni saptandıktan sonra; 2001 yılında *ALK1*; 2003 yılında *Endoglin (ENG)*; 2009 yılında *SMAD8*; 2011 yılında *SMAD1* ve *SMAD5*; 2012 yılında *Caveolin1*; 2013 yılında *KCNK3*, *TBX4* ve 2014 yılında ise *EIF2AK4* genleriyle ilgili önemli çalışmalar yapılarak PAH ile ilişkileri gösterilmiştir⁵¹. Ayrıca, PAH patogeneziyle ilgili yeni genomik mekanizmaları ortaya çıkarmak için ileri genetik ve genomik araştırmalar son zamanlarda popüler hale gelmiştir.

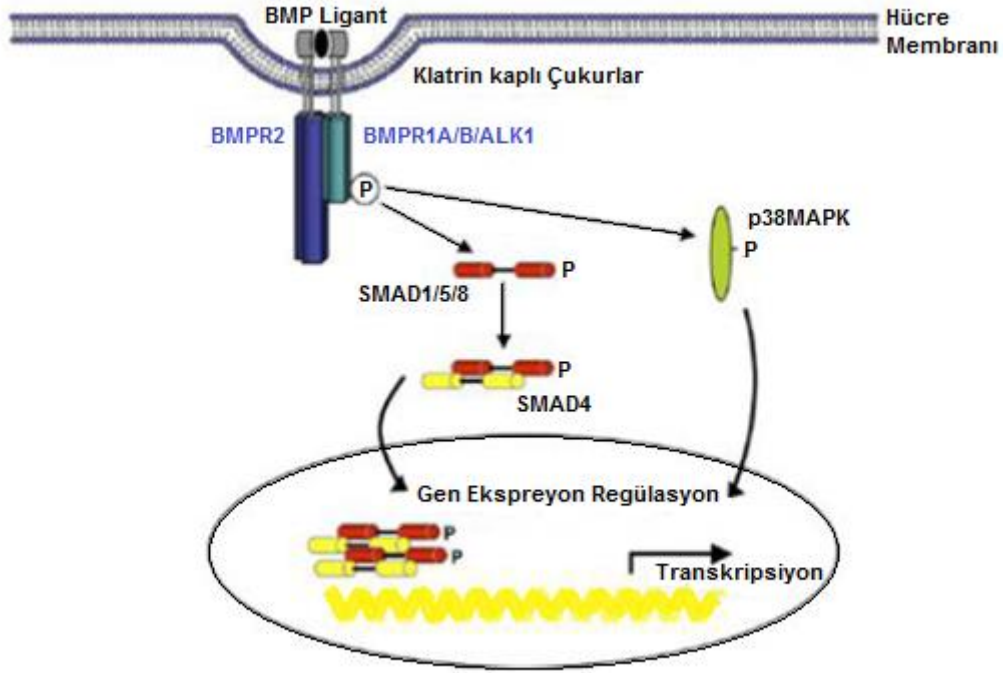


Şekil 4. TGF- β ve *BMPR2* mutasyonlarının etkileri⁵².

Bir ailede iki veya daha fazla bireyde PAH tanısının belgelenmiş olması veya PAH ile kuvvetli bir şekilde ilişkili olduğu bilinen bir gende (örneğin, *BMPR2*) mutasyon saptanması hereditör pulmoner arteriyel hipertansiyon (HPAH) olarak sınıflandırılmaktadır⁵³. PAH genetiğinde son 15 yıldaki önemli gelişmeler bu tanıyı doğrulamıştır. Artık aile öyküsü olmayan PAH hastalarının da kalıtsal bir hastalığa sahip olabileceği bilinmektedir⁶.

Ailesel PAH (HPAH) ve idiyopatik PAH (IPAH) vakaları arasında hemodinamikler benzer olmakla birlikte, genetik olarak kanıtlanmış *BMPR2* mutasyonu olan HPAH hastalarının IPAH'lılara kıyasla ortalama yaşam süresinin 10 yıl kadar daha kısa olduğu bulunmuştur⁵⁴. Hereditör PAH hastaları tanı sırasında daha ciddi klinik ve akut vazodilatör tedaviye daha az cevap, düşük kardiyak indeks, yüksek pulmoner vasküler rezistans ile karakterize hemodinamik fenotip sergilerler ve ölüm ya da akciğer transplantasyonuna progresyona daha yatkındırlar⁵⁵. Ancak, analiz edilmiş gen taşıyıcılarının sayısı çalışmaların sınırlı sayıda olmasından dolayı nispeten azdır. Risk sınıflaması ve klinik yönetim için genetik test yapmanın yararını değerlendirecek ileri çalışmalar gerekmektedir. Benzer bulgular ve kötü gidişli prognoz *ALK1* mutasyonu olan belli sayıda pediatrik hereditör PAH vakasında da gözlenmiştir⁵⁶. Ayrıca, *ALK1* mutasyonu taşıyıcıları hem PAH hem de hereditör hemorajik telenjektazi (HHT) geliştirebilirler.

PAH ile ilişkilendirilen genlerin genellikle TGF- β ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir ve bu gözlemler, TGF- β ailesinin PAH gelişimindeki önemli rolünü desteklemektedir (Şekil 5). TGF- β yolağında; BMP ligand ve *BMPR2* reseptör etkileşimi ile başlayan sinyal iletim süreci, SMAD proteinleri ve p38MAPK yolu şeklinde devam eder. Önce SMAD1, SMAD5 ve SMAD8 sonra da ortak yolak olan SMAD4 aracılığıyla iletiler hücre çekirdeğine ulaştırılır. Sonuçta transkripsiyon düzenlenir. Bu regülasyon sonucunda da bazı hastalıklara yatkınlık meydana geldiği gösterilmiştir. Bunlardan en bilineni ise PH'dur. Dolayısıyla, PAH ile ilişkili yeni genetik varyantlar belirlemek için, TGF- β reseptör ve etkileycilerinin araştırılması yaklaşımı benimsenmiştir.



Şekil 5. PAH gelişiminde TGF- β ailesi⁵².

(p38MAPK: p38 mitojen aktive edici protein kinaz)

Austin ve arkadaşları, PAH ile birden fazla aile üyesinin etkilendiği 3 nesil ailede PAH'la ilişkili olduğu bilinen genlerde mutasyon saptamamışlar ve bu ailelerde tam egzome sekanslama yaparak HPAH'de yeni bir gen olarak *Caveolin-1 (CAV1)*'i tespit etmişlerdir⁵⁷. Aynı zamanda İPAH olan bir çocukta bir çerçeve kayması mutasyonu saptamışlardır. *CAV1* endotelde ve akciğerin diğer hücrelerinde kaveoladan zengin bir membran proteinini kodlar. Kaveolalar, TGF- β süper ailesi, nitrik oksit yolağı, ve G-protein eşleşmeli reseptörleri gibi hücrel sinyal kaskadını başlatan hücre yüzeyi reseptörlerinde bol miktarda bulunur. PAH patogenezinde plazma membranındaki anormal sinyal iletişimi önemli bir neden olabilir. Çalışmalar *CAV1*'deki mutasyonların ailesel PAH ve İPAH olan nadir vakalarla ilişkili olduğunu ve PAH patogenezi için yeni bir kavram sağlayabileceğini göstermişlerdir.

Hereditör PAH'da bilinen gen mutasyonları olmayan birden çok üyesi etkilenmiş başka bir ailede eksom sekanslama ile *KCNK3* potasyum kanalında

yeni bir heterozigot missense varyant tespit edilmiştir⁵⁸. *KCNK3*, pH duyarlı bir potasyum kanalı kodlamaktadır. Bu potasyum kanalının hipoksiye duyarlı olduğu ve pulmoner vasküler tonüsün sağlanmasında rol aldığı gösterilmiştir⁵⁹.

BMPR2 mutasyonlarının penetransındaki çeşitliliklerin moleküler temeline pek çok çalışmada değinilmiştir^{60,61}. *BMPR2* mutasyonu saptanan bireylerin tamamında hastalığın görülmemesi sonucunda genin penetransının tam olmadığı bulunmuştur. Bu konuda istatistiksel olarak anlamlı yorumlar yapabilmek için büyük sayılarda hasta gerekirken, çalışmalara dahil edilebilecek hasta sayısının sınırlılığı nedeniyle ilgili çalışmaların yapılması güçleşmiştir. Philips ve arkadaşları tarafından, *TGF-β1* polimorfizminin tanı yaşını ve *BMPR2* mutasyonlarının penetransını etkilediği ileri sürülmüştür⁶⁰.

Mikroribonükleik asitler (miRNA); RNA'ların küçük, kodlama yapmayan, pek çok geni, yolağı ve hücreler arası karmaşık biyolojik ağları düzenleme kapasitesi olan tek başına veya bir diğeri ile birlikte hareket eden sekanslarıdır. Kanseri ve kardiyak hastalıklar gibi durumlarda, hastalık patogeneğinde miRNA'nın rolü iyi tanımlanmıştır. Small ve Olson tarafından kardiyovasküler hastalıklarda miRNA'ların rolü gösterilmiştir⁶². PAH'da miRNA'lar üzerindeki en geniş evrensel araştırma Courboulin ve arkadaşları tarafından 2011 yılında miR-204 üzerine gerçekleştirilmiştir⁶³. Bu çalışma yalnızca miRNA'ların PAH'daki önemini göstermekle kalmamış aynı zamanda normal miR-204 seviyelerinin yeniden sağlanmasının insan PAH tedavisinde yeni bir terapötik hedef olabileceğini göstermiştir⁶³. Bunu STAT3'ün kronik aktivasyonunu sağlayıp farelerde hastalığın şiddetinin azaldığını bularak göstermişlerdir. Brock ve arkadaşları *BMPR2*'nin miR-17-5p ve miR-20a tarafından doğrudan hedeflendiğini ve IL-6'nın STAT3 indüksiyonu üzerinden miR-17/92'yi indüklediğini göstermiştir. miR17/92'de STAT3 bağlanma bölgesi bulunmuştur. STAT3 aktivasyonunun, *BMPR2* protein ekspresyonunda baskılanmaya yol açtığı gösterilmiştir⁶⁴.

BMP/TGF-β sinyali yolunda SMAD ve primer miRNA transkripti arasındaki etkileşim miRNA'ların regülasyonunu sağlamaktadır. *BMPR2* veya *SMAD9* mutasyonları olan hastalardan elde edilen akciğer vasküler hücrelerindeki anormal miRNA regülasyonunun HPAH'da önemli bir rol

oynadığı gösterilmiştir⁶⁵. HPAH hücrelerindeki miRNA anormallikleri, hücre yüzeyinde BMPR2 protein miktarının artırılması ile ya da *BMPR2* veya *SMAD9*'daki nonsense mutasyonların ortadan kaldırılmasıyla düzeltilebilir⁶⁶. Bu tarz çalışmalar terapötik yaklaşımlar açısından ümit vericidir.

TGF- β , hücre büyümesinin, farklılaşmasının ve gelişiminin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar⁶⁷. TGF- β yolağındaki sinyal iletimi, serin / treonin reseptörü kinazlarının ligand ile indüklenmiş oligomerizasyonu, SMAD2 ile SMAD3'ün sitoplazmik sinyal moleküllerinin fosforilasyonu veya kemik morfogenetik proteini (BMP) için SMAD1 / 5 / 9 aktivasyonu ile başlatılır⁶⁷. Bu süreç, SMAD'ların karboksi-terminal fosforilasyonu, ortak sinyal transdüseri SMAD4 ile eşleşmeleri ve çekirdeğe translokasyon ile sonuçlanır. Aktive SMAD'lar, hücreye özgül transkripsiyon faktörleriyle birlikte çeşitli biyolojik etkileri düzenlemektedirler.

2.5.5.7.1. Kemik Morfogenetik Protein Reseptörü Tip 2 (BMPR2) Geni

2. kromozomun uzun kolunda 2q33.1-q33.2 lokasyonunda yer alır⁶⁸. BMPR2, embriyonik gelişim, vaskülojenez ve osteogenez sırasında çeşitli roller üstlenen, transformasyon büyüme faktörü- β (TGF- β) süper ailesine ait reseptörlerinden biridir. BMPR2 proteini 1.038 amino asitten oluşur ve fonksiyonel olarak enzim ve C-terminal sitoplazmik alanları içerir⁶⁹. Kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler), embriyonun, organların ve kemiklerin gelişmesinde veya farklılaşmasında yer alan hedef genlerin ekspresyonuna yol açan SMAD proteinleri aracılı sinyal iletimini başlatır. Kemik morfogenetik proteini ailesinin en önemli üyesi olan BMPR2'nin genetik değişiklikleri pulmoner hipertansiyon, kanser ve metabolik hastalıklar da dahil olmak üzere çeşitli klinik bozukluklarla ilişkilidir⁶⁹.

Yapılan çalışmalarda kemik morfogenetik proteininin vasküler gelişimdeki önemli rolü, PAH ve HHT dahil vasküler bozukluklarda vurgulanmıştır^{8,69}. SMAD aracılı sinyal iletimini etkinleştirmek için ALK1, BMPR2 ve ENG'den oluşan BMP reseptör kompleksi birleşerek pulmoner vasküler fonksiyonu modüle

etmektedir. Bu bölgedeki genetik bozukluklar, kompleksi kodlayan BMP9 / 10 sinyallemesinin zayıflamasına neden olmaktadır. Bu durum da dengesiz anjiogenetik yanıtlar doğurmaktadır⁶⁹.

Mikrovasküler endotel hücrelerinde, umbilikal ven endotel hücrelerinde ve aort endotel hücrelerinde *BMPR2* geni eksprese edilmektedir. Bu durum BMPR2 aracılı sinyalleme kaskadının vasküler gelişimde önemli roller oynadığını vurgulamaktadır⁷⁰. Çalışmalar, *BMPR2* mutasyonlarının kalıtsal PAH (HPAH) ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu göstermektedir^{8,69}. *BMPR2* mutasyonları HPAH hastalarının % 75'inde ve ayrıca idiyopatik PAH (IPAH) hastalarının % 15'inde saptanmıştır. *BMPR2* mutasyonu olan kişilerin sadece % 20'sinin HPAH geliştirmesi, hastalığın gelişiminde genetik değişikliklerin yanında çevresel etkenlerin de rol aldığını düşündürmektedir. Düşük BMP sinyal transdüksiyonu, TGF- β sinyalinin hiperaktivasyonuna yol açabilmekte ve bunun sonucunda pulmoner arteriyollerde düz kas hücrelerinin hiperproliferasyonuna yol açabilmektedir⁶⁹. BMP sinyal aktivasyonunun düz kas hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Bununla birlikte, azalmış BMP aktivitesine cevap olarak artmış TGF- β sinyal kaskadının altında yatan moleküler mekanizma büyük ölçüde bilinmemektedir. Bugüne kadar 300'den fazla farklı *BMPR2* mutasyonu PAH ile ilişkilendirilmiştir. Deneysel olarak onaylanmış *BMPR2* mutasyonlarının çoğu, bozulmuş bir SMAD proteini aracılı sinyal kaskadını işaret etmektedir⁶⁹.

2.5.5.7.2. Aktivin A Reseptör Benzeri Kinaz-1 (ALK1) Geni

12. kromozomun uzun kolunda, 12q13.13 lokasyonunda yer alır⁷¹. Kalıtsal hemorajik telenjektazi klinik olarak tekrarlayan epistaksis, mukokutanöz telenjektaziler ve akciğer, karaciğer, beynin sistemik arteriyovenöz malformasyonları ile karakterizedir. Otozomal dominant kalıtılan bir vasküler displazidir⁷². *ALK1* ve *ENG* genlerindeki heterozigot mutasyonların bu hastalığa neden olabildikleri 1990'lardan itibaren bilinmektedir⁷². Yapılan çalışmalarda TGF- β yolağında sinyal reseptör üyelerini kodlayan bu genler ile PAH arasındaki ilişki gösterilmiştir^{8,72}. Eylül 2000'de yapılan PH konsorsiyum

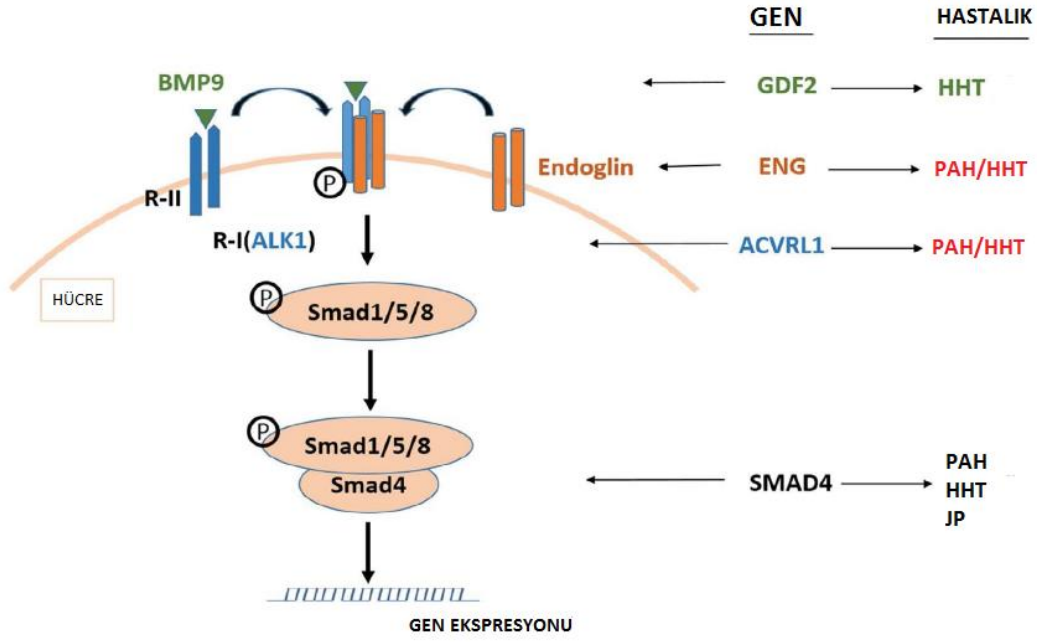
toplantısında *ALK1* gen mutasyonunun PH hastalarının %26'sında saptandığı açıklanmıştır⁷³.

2.5.5.7.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü β Aktive Kinaz Bağlayıcı Protein 1 (TGF- β _{ACBP1}) Geni

22. kromozomun uzun kolunda, 22q13.1 lokasyonunda yer alır ve farklı kaynaklarda *TAB1 geni* olarak da adlandırılmaktadır⁷⁴. TGF- β ; büyüme, farklılaşma, adezyon, göç ve apoptozis gibi hücrel süreçlerin düzenlenmesi ve embriyonik gelişme, iltihaplanma, anjiyogenez, bağışıklık işlevleri ve yara iyileşmesinde rol alan bir sitokindir⁶⁷. TGF- β / BMP yolağının PAH gelişimindeki rolü yapılan çalışmalarla gösterilmiştir⁶⁷. BMPR2 reseptör kompleksi aracılığıyla ve çoklu mekanizmalarla gelen sinyaller SMAD transkripsiyon aktivasyonuna ek olarak, X'e bağlı apoptozis inhibitörü (XIAP) ve TAB1 / TAK1 kompleksini düzenler⁷⁵. Dolayısıyla *TGFB_{ACBP1} (TAB1) geni* mutasyonları TGF- β / BMP yolağının aksamasına ve PAH gelişimine neden olabilmektedir.

2.5.5.7.4. SMAD4 Geni

18. kromozomun uzun kolunda, 18q21.2 lokasyonunda yer alır⁷⁶. SMAD ailesi TGF- β / BMP yolağında anahtar rol oynamaktadır. BMPR2 ile ligand bağlanması, SMAD reseptörleri (SMAD1, SMAD5 ve SMAD9) üzerinden sinyal iletimini tetikler. Bunlar da ortak yolak olan SMAD4 ile kompleksin merkezine yer değiştirir⁷⁷ (Şekil 6). Yapılan çalışmalarda kemik morfogenetik proteinine (BMP) özgü SMAD'larda meydana gelen mutasyonların PAH gelişimindeki önemi ortaya konmuştur⁷⁷. *SMAD4* gen mutasyonları aynı zamanda juvenil polipozis ve herediter hemorajik telenjektazi ile de ilişkilendirilmiştir⁷⁷.



Şekil 6. TGF-β / BMP yolağı ve SMAD ailesi⁷⁸.

(GDF2: Büyüme diferansiyasyon faktörü 2, HHT: Hereditör hemorajik telenjektazi, JP: Juvenil polipozis, PAH: Pulmoner arteriyel hipertansiyon)

2.5.5.7.5. Myosit Arttırıcı Faktör 2C (MEF2C) Geni

5. kromozomun uzun kolunda, 5q14.3 lokasyonunda yer alır⁷⁹. *MEF2C* çeşitli hücrelerde yüksek oranda eksprese edilir ve MADS kutusunun bir üyesi olarak transkripsiyonel düzenlenmede önemli rol oynar⁸⁰. Bu genin konjenital kalp hastalıkları ve PAH için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Örneğin Qiao ve arkadaşları tarafından farelerde yapılan bir çalışmada, *MEF2C* mutasyonunun kalbin sağ ventrikülünün kaybına ve kalbin sağa doğru dönen morfogenezi geçirmemesine neden olduğu görülmüştür⁸⁰. Ayrıca, *MEF2C* mutasyonu çift çıkışlı sağ ventriküle ve büyük arter transpozisyonuna (BAT) kadar değişen birçok kardiyak anomaliye neden olmaktadır⁸⁰. MEF2, pulmoner vasküler homeostazın korunmasında rol oynayan miR-424 ve miR-503'ün ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Jongmin Kim ve arkadaşlarının pulmoner vasküler homeostazın korunmasındaki transkripsiyon faktörü olan MEF2 üzerine yaptığı bir çalışmada,

PAH hastalarında akciğer endotel hücrelerinde MEF2 aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur⁷⁹.

2.5.5.7.6. Pulmoner Hipertansiyonla İlişkili Sendromlar ve Genetik Danışmanlık

Pulmoner hipertansiyon pek çok genetik bozuklukta yaygın olmayan bir hastalıktır ancak Down sendromu gibi belli başlı sendromlarda daha fazla görülür⁸¹. Down sendromunda artmış PAH riski soldan sağa kardiyak şantlara bağlıdır; ek olarak tıkaçıcı uyku apne sendromu ile ilişkili üst hava yolu tıkanıklığı PAH dışı pulmoner hipertansiyonu tetikleyebilir. Konjenital kalp hastalığı (KKH) ve pulmoner hipertansiyon ile daha yaygın fakat daha az önemde ilişkili genetik sendromlar DiGeorge sendromu, VACTERL sendromu, CHARGE sendromu, Schimtar sendromu, Noonan sendromu ve konjenital diyafragmatik herni ile ilişkili konjenital anomalileri içerir⁸². Pulmoner hipertansiyon ile ilişkili fakat KKH ilişkili olmayan genetik sendromlar Adams-Oliver sendromu, nörofibromatozis tip 1, uzun QT sendromu, hipertrofik kardiyomiyopati, Cantu sendromu, otoimmün poliendokrin sendrom, mitokondriyal ensefalopati laktik asidoz ve inme benzeri ataklar dahil mitokondriyal bozukluklar, Gaucher hastalığı ve glikojen depo hastalıklarını içermektedir⁸³⁻⁸⁵.

İki farklı kılavuz, hekimlere HPAH düşünülen hastalara profesyonel genetik danışma vermelerini ve genetik test yapmalarını önermektedir^{86,87}. Etkilenmiş bireyler ve risk altındaki aile bireyleri mutasyon durumlarını aile planlaması için bilmek isteyebilirler. Bu kişiler için prenatal tarama ya da implantasyon öncesi tanı ve yönetim düşünülmelidir. Reprodüktif tıp HPAH'ın yeni nesile transmisyonunu engelleyen pek çok seçeneğe olanak sağlamaktadır. *BMP2* mutasyonu taşıyıcısı çiftler için güncel reprodüktif seçenekler; çocuk yapmamak, prenatal genetik test yapmamak (reprodüktif şans), prenatal veya implantasyon öncesi genetik teşhis, gamet bağıışı kullanılması veya evlat edinmektir. Prenatal tanı PAH'a predispozan bir mutasyon taşıyan fetüsün uterus içerisindeyken tespit edilmesine olanak sağlar.

Bu gibi yöntemler pek çok diğer hastalık için kullanılmaktadır ancak penetransın tam olmadığı HPAH gibi durumlar için tartışmalıdır. Mutasyon taşıyıcıları, hekim hangi hastanın hangi zamanda hastalık geliştireceğini belirleyemeyeceğinden pek çok belirsizlik ile karşı karşıya kalacaktır. Günümüzde böyle hastalara egzersiz dispnesi gibi belirtiler için acil değerlendirme ile birlikte yıllık Doppler ile ekokardiyografi takibi önerilmektedir⁸⁶.

Erken tanı için akciğer dokusunda ekspresyona yönelik çalışmalar, küçük örneklem büyüklüğü nedeniyle sınırlıdır. Periferik kandan alınan örneklerle yapılan çalışmalar transkripsiyonel profil çıkarma imkanını doğurmuştur⁸⁸. Tek başına sklerodermayı sistemik skleroz ilişkili PAH hastalarından ayırt etmek için dizi temelli sınıflama amacıyla kohort büyüklüğünü genişletmenin ve iyi tanımlanmış fenotiplerin kullanılmasının etkinliği biyobelirteçler ile gösterilmiştir⁸⁹. Hücre temelli ekspresyon çalışmaları PAH'lı hücre populasyonlarında farklılıkların tespit edilmesinin yanı sıra, seçilmiş yolakların özelliklerinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır. PAH ile ilişkili genomik bilgileri, pulmoner vasküler hastalık sistem modeline eklemek literatüre değerli bilgiler sağlayacaktır.

2.6. Belirti ve Bulgular

Pulmoner hipertansiyon hastalarında soluksuz kalma, halsizlik, bitkinlik, anjina, senkop gibi özgül olmayan yakınmalar görülebilir. Bu belirtileri, sık görülen kardiyak ve pulmoner hastalıkların bulgularından ayırt etmek zor olduğundan PH tanısı genellikle gecikmektedir⁹⁰. Bu hastalardaki belirtilerden biri olan dispnenin en önemli sebebi kardiyak debinin artmış metabolik ihtiyaca yanıt verecek yeterlilikte olmamasıdır. Azalmış kardiyak debiye ikincil bozulmuş doku oksijenizasyonu sonucu halsizlik ve güçsüzlük gelişir. Göğüs ağrısı anjina pektoris benzer. Göğüs ağrısının temel nedeni egzersizle artan sağ ventrikül iş yükü ve hipoksemiye bağlı koroner yetersizliktir. Bir diğer belirti olan senkop, azalmış serebral kan akımına ikincil görülmektedir. Senkop başlangıç semptomu da olabilir. Ağır hastalarda dinlenme sırasında da belirtiler görülebilmektedir. Ayrıca sol parasternal lift, ikinci kalp sesinin pulmoner

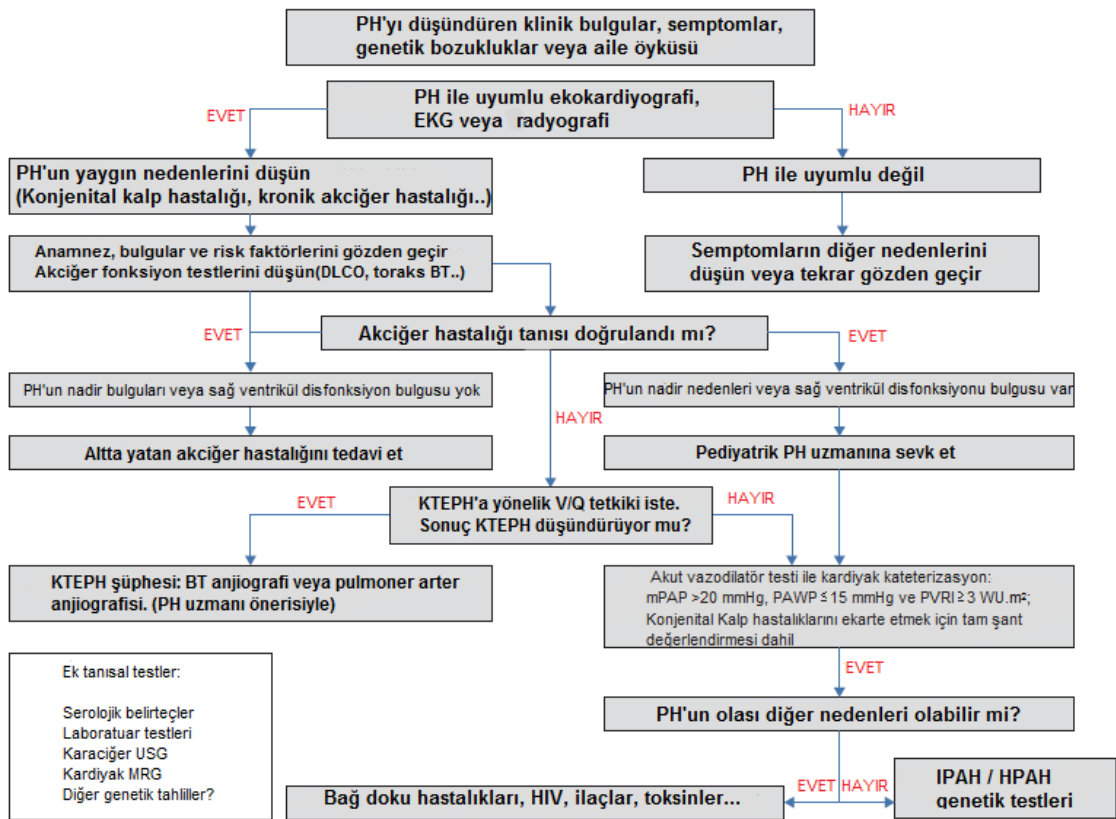
bileşeninde şiddetlenme, triküspit yetersizliğine bağlı pansistolik üfürüm, pulmoner yetersizliğe bağlı diyastolik üfürüm ve sağ ventriküle ait üçüncü bir kalp sesi gibi bulgular da eşlik edebilir. Daha ileri evrelerdeki hastalarda ise boyun venöz dolgunluğu, karaciğerde büyüme, çevresel ödem, asit gibi sağ kalp yetersizliği belirti ve bulguları gelişebilmektedir⁹¹. Tüm bu belirtiler göz önüne alınarak Tablo 4’de görüldüğü şekilde fonksiyonel sınıflandırma yapılarak hastanın tanı sonrası klinik yönetimi yapılmaktadır.

Tablo 4. Pulmoner hipertansiyonun fonksiyonel sınıflandırılması⁴.

Sınıf 1	Pulmoner hipertansiyonu olan ancak buna bağlı fiziksel aktivite kısıtlanması olmayan hastalar. Olağan fiziksel aktiviteler beklenenin üzerinde dispne ya da halsizlik, göğüs ağrısı ya da bayılma hissine neden olmaz.
Sınıf 2	Pulmoner hipertansiyonu olan ve buna bağlı hafif fiziksel aktivite kısıtlanması olan hastalar. Hasta dinlenme sırasında rahattır. Olağan fiziksel aktiviteler beklenenin üzerinde dispne ya da halsizlik, göğüs ağrısı ya da bayılma hissine neden olur.
Sınıf 3	Pulmoner hipertansiyonu olan ve buna bağlı belirgin fiziksel aktivite kısıtlanması olan hastalar. Hasta dinlenme sırasında rahattır. Olağan düzeyin altında fiziksel aktivite beklenenin üzerinde dispne ya da halsizlik, göğüs ağrısı ya da bayılma hissine neden olur.
Sınıf 4	Pulmoner hipertansiyonu olan ve semptomlar gelişmeden hiçbir fiziksel aktivitede bulunamayan hastalar. Bu hastalarda sağ kalp yetersizliği bulguları vardır. Dispne ve/veya halsizlik dinlenme sırasında bile gözlemlenebilir. Her türlü fiziksel aktivitede rahatsızlık artar.

2.7. Tanı

Pulmoner hipertansiyondan kuşkulanan hastanın değerlendirme sürecinde, tanının doğrulanması, özgül etiyojinin belirlenmesi, işlevsel ve hemodinamik bozukluğun değerlendirilmesini hedefleyen bir dizi inceleme yapılması gerekmektedir⁹² (Şekil 7). Pulmoner arteryel hipertansiyon, özellikle de İPAH, dışlama yoluyla konulan bir tanı olduğu için, PH'dan kuşkulanan olgularda bu algoritma yararlı bir başlangıç noktası oluşturabilir. Tanıda pek çok laboratuvar yöntemi kullanılabilmesine karşın altın standart tanı yöntemi kardiyak kateterizasyon ile doğrudan pulmoner arter basıncının ölçülmesidir.



Şekil 7. Tanısal Algoritma¹⁰.

(BT: Bilgisayarlı tomografi, DLCO: Karbonmonoksit diffüzyon ölçümü, EKG: Elektrokardiyografi, KTEPH: Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon, mPAP: Ortalama pulmoner arteryel basınç, MRG: Manyetik rezonans görüntüleme, PAWP: Pulmoner arter kama basıncı, PH: Pulmoner hipertansiyon, PVRI: Pulmoner vasküler rezistans indeksi, USG: Ultrasonografi, V/Q: Ventilasyon/Perfüzyon)

2.7.1. Elektrokardiyografi (EKG)

Pulmoner hipertansiyondan şüphelenilen hastaların EKG'sinde sağ ventrikül hipertrofisi, sağ aks sapması, P dalgasının piki görülebilir. Ancak EKG PH taramasında kullanılabilecek duyarlılıkta bir test değildir. Pulmoner hipertansiyonlu hastaların %79'unda sağ aks deviasyonu ve %87'sinde sağ ventrikül hipertrofisi vardır⁹³. Bu bulguların olmaması PH'ü dışlayamayacağı gibi, şiddetli hemodinamik bozukluk olmadığını da göstermez. EKG'nin duyarlılığı %55, özgüllüğü ise %70'dir⁹⁴. Bu hastalarda ventriküler aritmiler, atriyal flutter ve atriyal fibrilasyon gibi supraventriküler aritmiler görülebilir ve varlığı kliniğin daha da kötüleşmesine yol açar.

2.7.2. Akciğer Grafisi

PH hastalarının akciğer grafisinde; santral pulmoner arterlerde dilatasyon ve periferik damarlarda incelme gözlemlenebilir. Daha ağır olgularda, bu bulgulara sağ atriyum ve sağ ventrikül genişlemesi eşlik edebilir⁹³. Ancak, genel olarak bir hastada PH derecesi, radyografik değişikliklerin boyutundan tahmin edilemez.

2.7.3. Ekokardiyografi

Pulmoner hipertansiyon ilerleyici ve kronik bir hastalıktır. Zamanla prognozunun daha da kötüleşmesi nedeniyle hastalığın erken dönemlerinde tanı konulması ve tedavi başlanması önemlidir. Ancak belirti ve bulguların özgül olmaması nedeniyle erken dönemde tanıda güçlükler yaşanmaktadır. Tanıda altın standart olan kalp kateterizasyonu görece güvenli bir işlem olsa da, invaziv test olması nedeniyle özellikle endikasyonu net olmayan hastalarda yapılması pratik değildir. Transtorasik ekokardiyografi (TTE), bu gereksinimi karşılayan, büyük oranda ulaşılabilir, güvenli ve invaziv olmayan bir testtir. Pulmoner hipertansiyon tanısında oynadığı rol yanında, yüksek riskli toplum taramalarında, prognoz değerlendirilmesinde ve hastalığın durumu ve ilaca

yanıtın izleminde de kullanılmaktadır. Transtorasik ekokardiyografi, PAB'nın yanı sıra, kalp boşluklarının boyutları, duvar hareketleri, ventrikül fonksiyonları, kapak morfolojileri, perikard sıvısı, konjenital kalp hastalıkları, kalp içi şantlar ve pulmoner şantlar hakkında bilgi verir⁹⁵. Bu nedenle PH'dan şüphelenilen her hastaya TTE yapılmalıdır.

Bununla birlikte sağ atriyal genişleme ile perikardiyal efüzyon, triküspit anüler yüzey sistolik sapma (TAPSE), miyokardiyal performans indeksi gibi bazı ekokardiyografik bulgular, fonksiyonel kapasite ve invazif hemodinamik bulgular gibi prognostik değere sahiptir⁹⁶. Sağ ventrikülün sistolik disfonksiyonu ve dilatasyonu, sağ ventrikül duvar kalınlığında artış, sağ ventrikül kavitesi içinde spontan EKO kontrast görüntüsü, interventriküler septum biçim ve işlev anormallikleri, interatriyal septumun sağ atriyum basıncındaki yükseklığe bağlı sola deviyasyonu, sol ventrikül kavitesinin küçülmesi, ana pulmoner arter ve vena kava inferiorda dilatasyon, triküspit yetmezliği pulmoner hipertansiyonu düşündüren diğer bulgulardır. Ancak bu bulgular daha çok hastalığın ileri evrelerinde görülür.

2.7.4. Ventilasyon / Perfüzyon Akciğer Sintigrafisi

Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon (KTEPH) tanısı için bilgisayarlı tomografiden daha duyarlı bir testtir⁹⁷. İPAH hastalarında ise küçük periferik ve non-segmental defektler görülebilir.

2.7.5. Kardiyak Manyetik Rezonans Görüntüleme

Kardiyak manyetik rezonans görüntüleme, sağ ventrikül kitle, morfoloji, kontraktilite, işlev ve debi gibi özelliklerin değerlendirilmesine olanak sağlar. Bu görüntüleme ile PH'lı hastalarda atım hacmi ve sol ventrikül diyastol sonu hacminde azalma, sağ ventrikül diyastol sonu hacminde artış ve ilerleyen sağ ventrikül yetersizliği ortaya konabilir⁹⁸.

2.7.6. Kalp Kateterizasyonu

Pulmoner hipertansiyon tanısını doğrulamak ve hemodinamik bozukluğun derecesini belirlemek için sağ kalp kateterizasyonu yapılmalıdır. Kalp kateterizasyonu ile pulmoner arter sistolik, diyastolik ve ortalama basınçları, sağ atriyum, sağ ventrikül basıncı, PKUB ölçülmelidir. Kalp debisi hesaplanmalıdır.

2.8. Tedavi

Son yıllarda PH tedavisinde iyi yönde gelişmeler olsa da, PH halen tam iyileşme sağlanamayan kronik bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Pulmoner hipertansiyon patogenezi ve tedavisinde elde edilen ilerlemeler kötü prognozlu bu hastalık için yeni umutlar doğurmuştur. İlaç tedavisindeki gelişmeler sonucunda hastaların semptomatik durumunda düzelme sağlanıp klinik tablonun kötüleşme süreci yavaşlamaktadır. Tedavide amaç; PH şiddetini azaltmak, hayat kalitesini iyileştirmek, sağ ventrikül fonksiyonlarını düzeltip oluşabilecek tromboembolik sorunları önlemek ve prognozu iyileştirmektir⁹². Endotel reseptör antagonistleri, fosfodiesteraz-5 inhibitörleri, prostasiklin analogları gibi özgül ilaçların kullanılmadığı dönemlerde, PH'da sağ kalım süresi ortalama üç yıl olarak bildirilmekteydi^{99,100}. Her ne kadar tedavi seçeneklerinde ilerleme sağlansa da bu tedaviler belirti ve bulguları hafifletip sağ kalımı uzatmaya yöneliktir. Pulmoner hipertansiyonun etiyolojisi ve şiddetine göre kullanılacak tedavi seçeneği belirlenir. Tedavi; genel önlemler, destek tedavisi, özgül tedaviler ve kombinasyon tedavisi olarak dört başlık altında incelenebilir.

2.8.1. Genel Önlemler

Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda yaşam tarzı değişikliği önemlidir. Kardiyak debiyi azaltıp PAB'ı arttıran; yüksek rakımda yaşama, sıcak banyo, sigara içme, hipoksik süreçler, uzun süreli uçak seyahati ve zorlu fiziksel aktivitelerden kaçınılmalıdır. Bununla birlikte hastalar mümkün olduğunca aktif

yaşamaya da yönlendirilmelidir. Kısa süreli ve dönüşümlü dinlenme dönemleri ile birlikte hafif egzersiz önerilebilir. Gebelik de kardiyovasküler sistem üzerine ek yük getirdiği için risk oluşturmaktadır. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda gebelik %30-50 mortaliteyle bağıntılı olması nedeniyle hastalar korunma yöntemleri konusunda bilgilendirilmelidir⁹². Pnömoniye yatkınlık nedeniyle hastalara influenza ve pnömokok aşısı yapılmalıdır. Psikososyal destek bu hasta grubunda çok önemlidir. Birçok hastada gelişen anksiyete ve depresyon yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir⁹². Bunlara ek olarak hayatı tehdit eden durumlar dışında her türlü cerrahi işlemde kaçınılmalı, mümkünse genel anestezi yerine epidural anestezi kullanılmalıdır.

2.8.2. Destek Tedavisi

2.8.2.1. Antikoagülan Tedavi

Pulmoner hipertansiyon hastalarında hareketsizlik, kalp yetersizliği, sağ kalp boşluklarının geniş olması gibi nedenlerden dolayı tromboembolik olay riski yüksektir. Kontrendikasyonu yoksa tüm PH'lı hastalara antikoagülan tedavi önerilir. Bu tedavi tekrarlayan tromboembolileri engeller, distal pulmoner arteriyel dolaşımda gözlenen tromboza yatkınlığı azaltır. Ayrıca kronik antikoagülasyon kullanımının, PH'lı hastalarda yaşam süresini uzattığına dair çalışmalar vardır¹⁰⁰. En çok tercih edilen ajan varfarindir.

2.8.2.2. Oksijen Tedavisi

Hipoksi güçlü bir vazokonstriktördür. Oksijen uygulamasıyla ortalama PAB, periferik vasküler direncin azaldığı ve egzersiz kapasitesinin arttığı gözlenmiştir. Bu nedenle hipoksemisi olan, semptomatik yarar gözlenen PAH hastalarına ayaktan oksijen tedavisi önerilebilir¹⁰¹.

2.8.2.3. Diüretikler

Sağ kalp yetersizliği sonucu gelişen karaciğer konjesyonu, asit, periferik ödem ve santral venöz basınç artışına bağlı belirti ve bulguları kontrol altına almak için diüretikler kullanılır. Bu konuda en çok tercih edilen ilaç furosemiddir. Hayvan çalışmalarında potasyum tutucu diüretiklerin de PH'u artıran hipoksi oluşumunu azalttığı gösterilmiştir¹⁰².

2.8.2.4. Digoksin

Sağ ventrikül yetersizliği olan PAH hastalarında digoksin kullanımının akut olarak kalp debisini iyileştirdiği gösterilse de, kronik kullanımında tedavinin etkinliği bilinmemektedir¹⁰³. Diüretik tedavisine yanıt alınamayan venöz konjesyonda, sağ ve sol kalp yetersizliğinde kullanılabilir. Bununla birlikte atriyal flutter veya diğer atriyal disritmilerde ventrikül hızını yavaşlatmak için de digoksin uygulanabilir.

2.8.3. Özgül Tedaviler

2.8.3.1. Kalsiyum Kanal Blokörleri

Düz kas hücrelerine kalsiyum girişini inhibe ederek vazodilatasyona yol açan kalsiyum kanal blokörleri (KKB), uzun süredir PAH tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak sadece sağ kalp kateterizasyonu sırasında akut vazodilatatör tedavisine cevap veren İPAH hastalarının küçük bir bölümünde yararlı olduğu bildirilmiştir¹⁰⁴. Ayrıca, vazoreaktivite testi yapılamayan ya da negatif sonuç alınan hastalarda da KKB kullanılmamalıdır. Çünkü bu tedavinin hipotansiyon, senkop, sağ ventrikül fonksiyonlarında kötüleşme gibi çok ciddi yan etkileri olabilir. Yapılan çalışmalar sonucunda en çok tercih edilen KKB'ler nifedipin, diltiazem ve amlodipindir^{90,104}. Kalsiyum kanal blokörü seçiminde başlangıç kalp hızı önemlidir. Görece taşikardisi bulunan hastalara diltiazem tercih edilirken, bradikardisi olanlara nifedipin ve amlodipin kullanılır. Pediyatrik hasta grubunda da çok sık olmamakla birlikte yanıt veren hastalara KKB

kullanılmaktadır. Ancak uzun süreli tedavide sonuçlar başarısız olabileceğinden yakın izlem gerekmektedir¹⁰⁴.

2.8.3.2. Prostatiklinler

Prostatiklin cAMP üzerinden etki ederek büyük damar yataklarında güçlü vazodilatasyona neden olur. Ayrıca bu ajanın antiproliferatif, antiinflamatuvar ve antiagregan özellikleri de vardır¹⁰⁵. Subkutan uygulanan treprostiniil, intravenöz (IV) epoprostenol, inhale iloprost ve oral beroprost PAH tedavisinde kullanılan ana prostatiklinlerdir. Prostanoidler DSÖ-FS IV olan hastalarda ilk sırada önerilen tedavilerdendir⁹².

Epoprostenol sentetik prostatiklin olup, PAH'ta sağkalım üzerine olumlu etkisi olduğu gösterilen ilk ilaçtır¹⁰⁶. Bağ doku hastalığı ile ilişkili PAH olguları ve İPAH üzerinde yapılan bir çalışmada epoprostenolün hemodinamik özellikleri, belirti ve bulguları, egzersiz kapasitesini ve sonuç olarak yaşam kalitesini arttırdığı gösterilmiştir¹⁰⁶. En sık gözlenen yan etkiler çene ağrısı, yüzde kızarma, baş ağrısı, diyare, karın ağrısı, ışığa duyarlılık ve eklem ağrısıdır⁹². Bu yan etkilerin çoğu doza bağımlı olduğundan doz azaltılmasına yanıt verir. Ayrıca, bu tedaviyi alan hastalar kateter ile ilişkili enfeksiyon ve trombozis gibi komplikasyonlar açısından risk altındadır. Amerikan Göğüs Hekimleri Koleji (ACCP) ve Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) DSÖ fonksiyonel sınıf (DSÖ-FS) IV olan PAH hastalarında İV epoprostenolü ilk seçenek tedavi olarak önermektedir⁹². Yeni ilaçlar geliştirilmesine rağmen epoprostenol ilerlemiş PAH'da en etkili tedavi olarak görülmektedir⁹².

Treprostiniil, dengeli bir PGI2 analogudur ve subkutan veya İV yolla uygulanabilir. Etkileri epoprostenole benzeyen treprostiniilin infüzyon bölgesinde yaptığı ağrı, kullanımını sınırlayan en önemli yan etkidir. ACCP ve ESC treprostiniili DSÖ sınıf II, III ve IV hastalarına önermektedir.

İloprost da dengeli bir PGI2 analogu olup, yarı ömrü 20-25 dakikadır. İloprostun İV kullanımı mümkün olmakla birlikte bu ilaç daha çok inhalasyon yoluyla kullanılır ve bu yolla verildiğinde 1-2 saat süren pulmoner

vazodilatasyona neden olur. İn hale iloprostun PAB ve PVR'de düşme, sistemik arter basıncında düşme olmaksızın kardiyak debide artış yaptığı gözlenmiştir¹⁰⁷. Flushing, baş ağrısı, öksürük ve senkop en önemli yan etkileridir. Kısa etki süresi nedeniyle inhale iloprost günde 6-9 defa nebülizatör yardımıyla verilebilir. ESC ve ACCH inhale iloprostu DSÖ-FS sınıf III ve IV olan hastalara önermektedir. İn hale iloprost selektif bir pulmoner vazodilatatör olmasının yanısıra daha az sistemik yan etkiye sahip olması nedeniyle kullanım ve etkinlik açısından İV epoprostenole üstündür.

Seleksipag, seçici bir prostasiklin reseptör agonistidir¹⁰⁸. Oral yolla kullanılır. Pulmoner arteriyel hipertansiyon hastalarında yapılan bir randomize kontrollü çalışmada, hastalara çalışmanın başında ve sonunda sağ kalp kateterizasyonu yapılmış ve günde iki defa 800 mikrogram uygulanan seleksipag'ın 17 hafta sonunda PVR'i azalttığı görülmüştür¹⁰⁸.

2.8.3.3. Endotelin Reseptör Antagonistleri

Endotel hücreleri tarafından salınan ET-1'in iki reseptöründen ilki olan ET-A reseptörleri düz kas hücreleri ve kalp hücrelerinde bulunur. Hücrelerin vazokonstriksiyonundan ve hücre çoğalmasından sorumludur. ET-B ise düz kas hücrelerinde vazokonstriksiyon ve hücre çoğalmasını uyarırken, endotel hücrelerinde NO ve prostasiklin salınımını arttırıp, ET yıkımına neden olur. Ancak PH varlığında değişik şekilde regüle olan ET-B reseptörleri, endotel düz kas hücrelerine göç ederek aktif olarak vazokonstriksiyon sürecine katılır. Sonuçta PAH tedavisinde endotelin reseptör antagonistlerinin (ERA) yararlı olabileceği düşünülmüştür. Ancak ET-A ve ET-B reseptörlerinin her ikisinin birden bloke edilmesinin, selektif ET-A reseptör blokajına göre daha iyi olup olmadığı tartışmalı bir konudur. Yapılan çalışmalarda PAH tedavisinde kullanılan nonselektif bosentan ile selektif etkili ambrisentan arasında klinik olarak anlamlı farklılık gösterilememiştir¹⁰⁹.

Bosentan; oral yolla kullanılan hem ET-A hem de ET-B reseptör aktivitesini bloke eden bir çifte endotelin- reseptör antagonistidir. Endotelin 1'in ET-A ve ET-B reseptörlerine bağlanmalarına karşın yarışır. Ancak ET-A

reseptörlerine karşı biraz daha fazla affiniteye sahiptir. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda yapılan çalışmalarda bosentan tedavisinin egzersiz kapasitesini ve kalp debisini artırdığı, pulmoner hemodinamiyi iyileştirdiği ve klinik kötüleşmeyi geciktirdiği bulunmuştur⁹².

Plasebo kontrollü bir çalışma olan EARLY çalışmasında DSÖ FS-II olan 185 İPAH hastasına dört hafta boyunca günde iki kez 62.5 mg ve sonrasında altı ay boyunca günde iki kez 125 mg bosentan verilmiştir. Bu çalışmada bosentan ile PVR'de %23 azalma, egzersiz kapasitesinde iyileşme ve klinik kötüleşmeye kadar geçen sürede anlamlı derecede uzama saptanmıştır¹¹⁰. Sonuçta EARLY çalışması erken başlanan tedavinin PAH'ın ilerlemesini yavaşlatabileceğini ortaya koymuştur. BREATHE-4 çalışmasında HIV enfeksiyonu ile ilişkili 16 PAH hastası; BREATHE-5 çalışmasında ise konjenital kalp hastalığına bağlı Eisenmenger fizyolojisi bulunan 44 hasta alınmıştır. Her iki çalışmada da DSÖ FS III olan hastalara dört hafta boyunca günde iki kez 62.5 mg ve sonrasında 12 hafta boyunca günde iki kez 125 mg bosentan verilmiştir. Bu çalışmalarda da PVR'de azalma ve egzersiz kapasitelerinde artış saptanmıştır^{111,112}. Bosentanın en önemli yan etkisi doza bağlı olduğu bilinen transaminaz yüksekliğidir. Tipik olarak bu yükselme tedavinin ilk 26 haftasında görülse de ilerleyen dönemlerde de ortaya çıkabilir. Yine tedavi dozuna bağlı olarak hemoglobin konsantrasyonunda azalma yapabilir. Bundan dolayı karaciğer enzimleri ve hemoglobin düzeyleri belirli aralıklarla kontrol edilmelidir¹¹³. Diğer bir etkisi de teratojenite olup üreme çağındaki hastalar korunma yöntemleri hakkında bilgilendirilmelidir.

Ambrisentan; ET-A reseptör blokör seçiciliği sitaksentan'a göre bir miktar daha düşük olan ambrisentan propionik asit sınıfından sülfonamid olmayan bir ERA'dir. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda kullanıldığında egzersiz kapasitesinde, semptom ve hemodinamide düzelmeler olduğu izlenmiştir¹¹⁴. Yan etkileri diğer ERA'lara benzer⁹².

Masitentan; bosentanın yapısı değiştirilerek ikili endotelin reseptör antagonisti (ERA) olan daha etkin ve güvenli masitentan geliştirilmiştir. SERAPHIN çalışmasında 3 ya da 10 miligram masitentan ile tedavi edilen 742 PAH hastası 100 haftalık dönemde plasebo ile karşılaştırılmıştır¹¹⁵.

Masitentanın, morbidite ve mortaliteyi azalttığı ve ayrıca egzersiz kapasitesini arttırdığı görülmüştür. Karaciğer toksisitesi gözlenmemiştir.

2.8.3.4. Fosfodiesteraz İnhibitörleri

Fosfodiesteraz inhibitörleri PAH hastalığının tedavisinde oral yoldan kullanılan bir diğer ilaç grubudur. Fosfodiesteraz tip-5 pulmoner ve penil damarlarda bulunur. cGMP yıkımından sorumlu enzim olan fosfodiesteraz tip-5 inhibisyonu ile hücre içi cGMP artar ve kalsiyum konsantrasyonu azalır. Sonuçta vasküler düz kas hücrelerinde gevşeme oluşur. Ayrıca fosfodiesteraz tip-5 inhibitörlerinin antiproliferatif etkinlikleri de vardır¹¹⁶. Asıl olarak erektil disfonksiyon tedavisi için onaylanan sildenafil, tadalafil ve vardenafil gibi fosfodiesteraz tip-5 inhibitörlerinin pulmoner vazodilatasyon yaptığı da görülmüştür¹¹⁷.

Sildenafil: Selektif fosfodiesteraz tip-5 inhibitörü olan sildenafil ilk olarak erektil disfonksiyonda kullanılsa da, daha sonra vazodilatatör etkisi nedeniyle PAH tedavisinde kullanımı düşünülmüştür. Bir çalışmada (SUPER); İPAH, bağ doku ve kas hastalığı ile ilişkili 278 PAH hastasına, 12 hafta süre ile 20, 40 ve 80 mg olmak üzere günde üç kez sildenafil tedavisi uygulanmıştır. Ve bu hastaların egzersiz kapasitelerinde, fonksiyonel sınıf ve hemodinamik parametrelerinde iyileşme gözlenmiştir¹¹⁸. Sonrasında bu gruba 12 ay daha günde üç kez 80 mg dozunda sildenafil tedavisi devam edilmiştir. Bu hastaların %94'ü hayatta kalmış ve egzersiz kapasiteleri korunmuştur¹¹⁸. Sildenafil iyi tolere edilebilir bir ilaç gibi görünmektedir. En sık bildirilen yan etkisi vazodilatasyona bağlı baş ağrısı, kızarma ve burun kanamasıdır. En önemli yan etkisi ise hipotansiyon yapmasıdır.

Tadalafil: Eretil disfonksiyon tedavisinde kullanılan diğer bir seçici PDE-5 inhibitörüdür. 406 hastanın alındığı PHIRST çalışmasında dört farklı dozda tadalafil tedavisi uygulanmıştır. Günlük 40 mg kullanıldığında efor kapasitesi, hemodinamik parametreler ve semptomatik iyileşmeler için olumlu sonuçlar elde edilmiştir¹¹⁹. Yan etkileri sildenafille benzerdir.

Riociguat: Endojen NO ile sinerji içinde hareket eden, iki yönlü hareket modu olan bir ilaçtır. Nitrik oksitten bağımsız olarak da çözünür guanilat siklazı uyarmaktadır. Yakın zamanda yapılan PATENT-I adlı çalışmada 443 hasta günde 3 kez 0.5 ila 2.5 miligram aralığında oral riociguat ile tedavi edilmiş ve 6 dakika yürüme mesafesi (6DYM) ve pulmoner vasküler rezistans üzerine olumlu sonuçlar gösterilmiştir¹²⁰.

2.8.4. Kombinasyon Tedavisi

Pulmoner hipertansiyon patofizyolojisine birden çok faktör katkıda bulunmaktadır. Bu süreçleri yavaşlatıp durdurabilecek hatta geriye döndürebilecek ajanların kombine kullanımı sonucunda, PH tedavisinde daha başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Kombinasyon tedavisi birden çok ilacın eş zamanlı kullanılması veya daha önceden başlanmış bir tedaviye ikinci veya üçüncü ilacın eklenmesi şeklinde olabilir. Kombinasyon tedavisinin etkinliğini belirlemek için çok sayıda, randomize, plasebo kontrollü çalışma yapılmıştır. Ancak, birden çok ilacın birlikte kullanımında ilaçlara ait yan etki ve morbidite daha belirgin olabilmektedir.

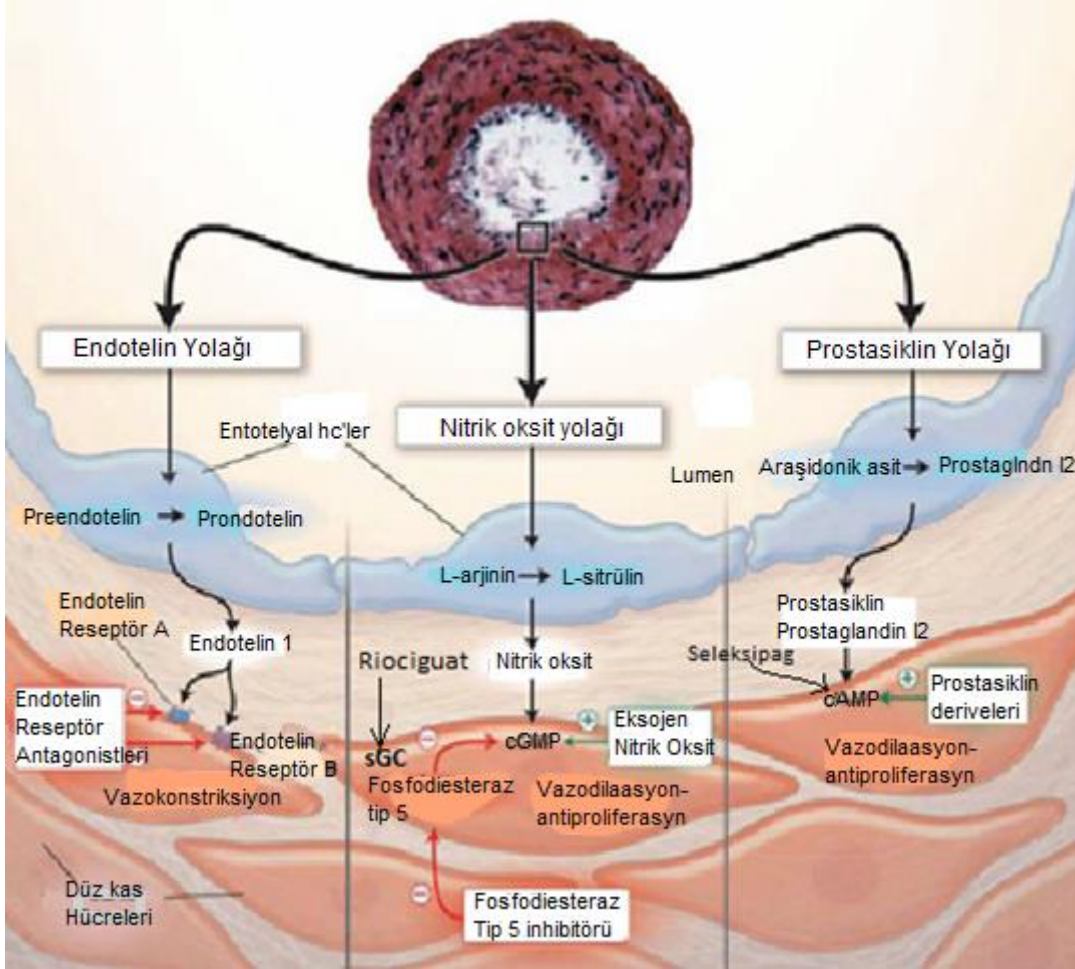
Endotelin reseptör antagonisti veya PDE5 inhibitör ajanları altında kötüleşen çocuklar erken kombinasyon tedavilerinden yarar görebilir. Eğer çocuk düşük risk kategorisine gerilemiyorsa, önceki tedaviye inhale prostasiklin (iloprost–treprostinil) eklenmesi faydalı olabilir. Tedavi altındaki çocukta hastalığın ilerlemesi açısından, sürekli tekrar değerlendirme önemlidir. Yüksek riskli çocuklarda intravenöz epoprostenol veya treprostinil başlanması güçlü şekilde düşünülmelidir¹²¹.

PH tedavisinde hedeflenen mekanizmalar Şekil 8’de gösterilmiştir.

2.8.5. Deneysel Tedavi Seçenekleri

Pulmoner hipertansiyon ile ilgili morbidite ve mortalite azalmış olsa da PH’nu tamamen ortadan kaldıracak bir tedavi yöntemi henüz geliştirilememiştir. Bu nedenle, patofizyolojik değişiklikleri hedefleyen, bulguları ve prognozu iyileştiren ilaç ve yöntemler araştırılmaktadır. Bunlar arasında inhale VİP,

prostanoid olmayan prostasiklin reseptör agonistleri, tirozin kinaz inhibitörleri, serotonin antagonistleri, NO bağımsız cGMP aktivatörleri, Rho kinaz inhibitörleri, elastaz inhibitörleri, vasküler endotel büyüme faktörü reseptör inhibitörleri ve kök hücre tedavisi sayılabilir.



Şekil 8. PH tedavisinde hedeflenen mekanizmalar.

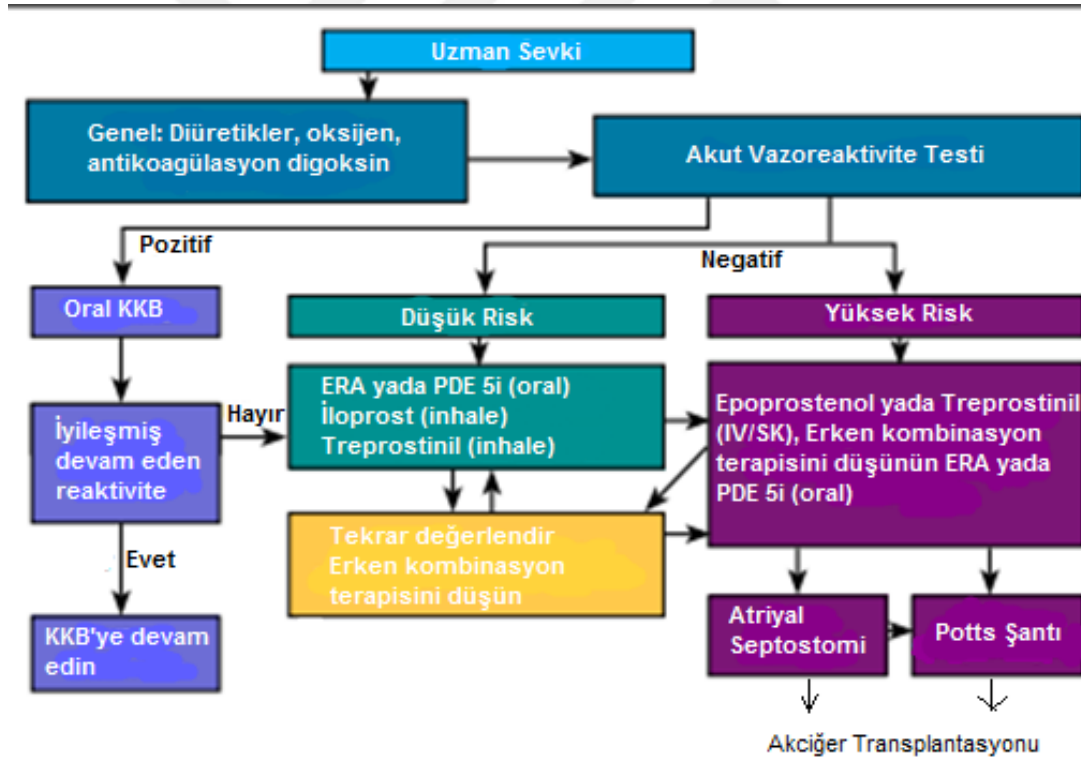
(cAMP: siklik adenosin monofosfat, cGMP: siklik guanilat monofosfat)

2.8.6. Cerrahi Tedavi

Pulmoner hipertansiyon tedavisinde kullanılan tıbbi tedaviler oldukça gelişmiş olmasına rağmen, bu tedaviler PH için küratif değildir. Kullanılan yöntemler hastaların kliniğini düzelterek yaşam kalitelerini yükseltmekte ve

sağkalımı uzatmaktadır. Cerrahi tedavi seçenekleri atriyal septostomi, pulmoner endarterektomi ve akciğer transplantasyonudur. Vazodilatör tedaviye dirençli olan PAH hastalarında kısa dönem prognoz kötüdür. Bu hastalarda atriyal septostomi palyatif bir geçiş yöntemi olarak kabul edilmektedir¹²². Atriyal septostomi ile sağdan-sola bir şant oluşturularak sağ kalp dekompresyonu sağlanmakta ve sol ventrikül ön yük artırılıp kardiyak debi yükseltilmekte ayrıca sistemik oksijen taşıma kapasitesi artırılmaktadır¹²². Cerrahi olarak palyatif Potts şantlarının (inen aortadan sol pulmoner artere) oluşturulması suprasistemik İPAH olan ileri derecede hasta çocuklar için yeni bir seçenek olarak tanımlanmaktadır¹²³. Yapılan tıbbi tedavilere yanıt vermeyen, son dönem akciğer yetmezliği olan hastalar için ise tek tedavi seçeneği akciğer naklidir.

Pulmoner hipertansiyonda tedavi algoritması Şekil 9'da ve risk değerlendirilmesi Tablo 5'de gösterilmiştir.



Şekil 9. PH tedavi algoritması¹⁰.

(ERA: Endotelin reseptör antagonisti, PDE5i: Fosfodiesteraz 5 inhibitörü, İV: intravenöz, SK: subkutan, KKB: Kalsiyum kanal blokeri)

Tablo 5. Pulmoner hipertansiyon risk değerlendirilmesi¹⁰.

Risk Belirleyicileri	Düşük Risk	Yüksek Risk
Sağ ventrikül yetmezliği bulgusu	Yok	Var
Semptomların progresyonu	Yok	Var
6 dakika yürüme testi	>350 m	<350 m
Büyüme	Normal	Büyüme Geriliği
DSÖ Fonksiyonel Sınıflandırma	I, II	III, IV
Serum BNP/NT – ProBNP	Hafif Yükselme	Belirgin Yükselme
Ekokardiyografi		RA/RV genişlemesi Azalmış LV boyutları Artmış RV / LV oranı Azalmış TAPSE Düşük RV FAC Perikardiyal effüzyon
Hemodinamik Parametreler	Sistemik Kİ: >3 L. dk ⁻¹ .m ⁻² Sistemik venöz saturasyon >%65 Akut vazoreaktivite	Sistemik Kİ: <2,5 L. dk ⁻¹ .m ⁻² mRAP >10 mmHg PVRI > 20 WU.m ² Sistemik venöz saturasyon <%60 PACI < 0,85 mL.mmHg ⁻¹ .m ⁻²

(FAC: fraksiyonel bölge değişimi, RA: sağ atriyum, RV: sağ ventrikül, LV: sol ventrikül, Kİ: Kardiyak indeks, mRAP: ortalama sağ atriyum basıncı, PVRI: pulmoner vasküler rezistans indeksi, PACI: pulmoner arteriyel kompliyans indeksi, TAPSE: triküspit anüler yüzey sistolik sapma)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ile Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı tarafından yürütüldü. Çalışma için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komitesi'nin onayı (17.10.2018 tarihli ve 2018/423 sayılı) alındı. Çalışmaya katılan çocuklar ve aileleri çalışma konusunda bilgilendirilerek, aydınlatılmış onamları alındı.

3.1. Gruplar

3.1.1. Hasta Grubu

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı'nda soldan sağa şantlı DKH tanısı ile izlenen hastaların dosyaları incelendi. Ekokardiyografi sonucunda soldan sağa şantlı VSD, ASD, AVSD, PDA gibi DKH'larına bağlı olarak triküspit yetersizliği 2,8 m/sn'nin üzerinde ölçülerek pulmoner hipertansiyon tanısı konmuş olan hastalar telefonla aranarak kontrole çağırıldı. Triküspit yetersizlik akım hızı 3,4 m/sn'nin üzerinde olan hastalara kalp kateterizasyonu yapıldı, hemodinamik ölçümleri alındı ve bu gruba non-invaziv olarak PAB ölçülen grup ayrı ayrı değerlendirildi. Çalışmaya alınan 47 hastanın 24'ü kız, 23'ü erkek olup, yaşları 0-18 yıl arasında değişmekteydi. Ekokardiyografi ile ölçülen triküspit yetersizliği 2,8 m/sn altında olanlar, DKH dışında bir nedenle PH gelişenler, akut akciğer enfeksiyonu veya pulmoner basıncı artıracak diğer kronik hastalığı olanlar çalışmaya alınmadı.

3.1.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu masum üfürüm veya nonspesifik göğüs ağrısı gibi nedenlerle Mersin Üniversitesi Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı'na başvuran, herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan, ilaç kullanmayan, normal mental-motor gelişime sahip, ekokardiyografi ile normal olarak değerlendirilen sağlıklı

çocuklar arasından seçildi. Kontrol grubuna dahil edilen 50 çocuğun 24'ü kız, 26'sı erkek olup; yaşları 0-18 yıl arasında değişmekteydi.

3.2. Laboratuvar Yöntemi

Çalışmaya dahil edilen bütün çocukların öykü ve fizik muayeneleri değerlendirildikten sonra her birinden genetik analiz için periferik kan örneği alındı. Her çocuktan 2 ml ve EDTA'lı hemogram tüpü kullanılarak alınan kan örnekleri -80°C'de çalışma tamamlanincaya kadar saklandı.

Araştırmanın deneyleri Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü ve Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (MEİTAM)'de yapıldı.

3.3. Transtorasik Ekokardiyografi Yöntemi

Çalışmaya dahil edilen tüm çocuklar işlem öncesi 10 dakika dinlendirildikten sonra 3 ve 6 MHz'lik transduserler kullanılarak sırt üstü ya da sol yan yatar pozisyonda transtorasik ekokardiyografi cihazı (Vivid S5 Pro Ultrasound System; GE Medical Systems, Horten, Norveç) ile değerlendirildi. Hastalara ve kontrol grubuna parasternal uzun eksen, apikal dört boşluk, kısa eksen, subkostal ve suprasternal çalışmalar yapıldı. Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (EF) Simpson Metodu kullanılarak hesaplandı. Tüm ekokardiyografik ölçümler Amerikan Ekokardiyografi Topluluğu (ASE) ve Avrupa Kardiyovasküler Görüntüleme Derneği'nin (EACI) güncel rehberleri doğrultusunda elde edildi¹²⁴. Triküspit yetersizlik derecesi; apikal dört boşluk pozisyonunda renkli Doppler ekokardiyografi ile triküspit yetersizlik jetinin en büyük olduğu kesitte yapıldı. Elde edilen triküspit yetersizlik akımının tepe hızı ve sağ atriyal basınç üzerinden Bernoulli Denklemi kullanılarak sistolik PAB hesaplandı. Sağ atriyal basınç; subkostal görüntüden inferiyor vena kavanın çapı ve venin solunum sırasındaki değişkenliğine (inspiratuvar kollaps) göre tahmin edildi. Tüm hastalarımızda solunumla değişkenlik olduğundan RA basıncı 5 mmHg olarak alındı.

$$\text{Sistolik PAB} = [4 \times (\text{Triküspit yetersizlik akım hızı})^2] + \text{Sağ atriyal basınç}$$

Triküspit yetersizlik akım hızının 2,8 m/sn'nin üzerinde olması pulmoner

hipertansiyon olarak değerlendirildi. Triküspit yetersizlik akım hızı 3,4 m/sn'nin üzerinde olan hastalara kalp kateterizasyonu yapıldı ve hemodinamik ölçümleri alındı.

3.4. Gen Ekspresyon Yöntemi

3.4.1. Total RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu aşağıdaki aşamalar gerçekleştirilerek TRIzol™ Reagent (Thermo Fisher, ABD) kullanılarak yapıldı:

- 1- 500 µl kan örneği 1,5 ml'lik eppendorf tüplere alındı.
- 2- Üzerine 500 µl trizol eklendi ve vortex(VELP Scientifica, İtalya) yapıldı.
- 3- 15 dakika -20°C'de inkübe edildi.
- 4- +4 °C'de soğutulmuş 200 µl kloroform eklendi ve vortex yapıldı.
- 5- 10 dakika 14.000 rpm'de santrifüj (Sigma, Almanya) edildi.
- 6- 3 faza ayrılan örneğin en üstteki fazı alındı yeni hazırlanan 1,5 ml'lik eppendorf tüplere aktarıldı.
- 7- Üzerine 500 µl izopropanol eklenip, 10dk 14.000rpm'de santrifüj edildi.
- 8- Üstteki kısım döküldü, %80'lik etanolden 1000 µl eklendi.
- 9- 10 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edildi.
- 10- Tüpler kurutulduktan sonra 50 µl distile su eklendi.
- 11- Elde edilen RNA -20°C'de saklandı.

3.4.2. Total RNA'dan cDNA Sentezlenmesi

Kandan izole edilen RNA örneklerinden cDNA (Applied Biosystems High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, ABD) elde edildi. cDNA reaksiyon bileşenleri ve miktarları Tablo 6'da gösterilmiştir. PCR reaksiyon koşulları Tablo 7'deki gibi oluşturulmuştur.

Tablo 6. cDNA reaksiyon bileşenleri ve miktarları.

Bileşenler	Hacim/Reaksiyon (µL)
10X RT Buffer	2.0 µl
25X dNTP Mix (100nm)	0.8 µl
10x RT Random Primers	2.0 µl
MultiScribe™ Reverse Transcriptase	1.0 µl
Nuclease-free H ₂ O	4.2 µl
RNA	10.0 µl
Total Reaksiyon	20.0 µl

Tablo 7. cDNA oluşturmak için PCR döngüsü.

	Erime	Bağlanma	Uzama	Son Uzama
Sıcaklık (°C)	25	37	85	4
Zaman (dk)	10	120	5	∞

3.4.3. Real Time PCR (RT-PCR) Analizi

Elde edilen cDNA'lar kullanılarak *BMP2*, *SMAD4*, *TGFβ_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* genlerinin sentez düzeylerini belirlemek için bu genlerin TaqMan Assay'leri (Applied Biosystems, USA) ve Actb TaqMan Assay'i (Applied Biosystems, USA) kullanıldı. Tablo 8'de gösterildiği gibi hazırlanan PCR bileşenleri Real-Time PCR cihazı (Applied Biosystems ViA Seven™, USA) ile Tablo 9'da gösterildiği gibi PCR döngüsü ayarlanarak analiz edildi.

Tablo 8. Real-Time PCR bileşenleri.

Real-Time PCR Bileşenleri	Total Hacim (20-µL)
TaqMan® Gene Expression Assay	1.0 µl
GoTaq® Probe qPCR Reaction Mix	10.0 µl
cDNA	2.0- 5.0 µl
Nuclease-Free H ₂ O	Son hacim 20-µL olacak şekilde su eklenir.

Tablo 9. Real-Time PCR döngüsü.

Basamak	Siklus	Sıcaklık (°C)	Zaman
GoTaq®DNA Polimeraz Aktivatörü	1	95	2 dk
Denatürasyon	40	95	3 sn
Uzama		60	30 sn

Sentez düzeylerinin kantitasyonunda “Comparative CT (Comparative Threshold Cycles - $\Delta\Delta$ CT-Delta Delta CT)” analizi kullanıldı. Her örnek 3 tekrarlı olacak şekilde çalışıldı. Hedef genler ve endojen kontrolün (Actb) sentez düzeylerindeki farklılıkların belirlenmesinden elde edilen $\Delta\Delta$ CT değerleri kullanılarak $2^{-\Delta\Delta$ CT hesaplandı ve araştırılan *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* genlerinin sentez düzeyi belirlendi.

3.5. İstatistiksel Yöntem

Sürekli ölçümlere ait normallik kontrolleri Shapiro Wilk testi ile test edildi. Sürekli ölçümlerin gruplar arası farklılıkları için Student t testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir.

Sürekli ölçümlere ait ilişkilere ise Pearson korelasyon katsayısı ile bakıldı. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar için Pearson ki-kare testi yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak sayı ve yüzde değerleri verilmiştir.

İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak alınmıştır.



4. BULGULAR

Çalışmaya 0-18 yaş grubundan 47'si PH'lı ve 50'si sağlıklı çocuk olmak üzere toplam 97 kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen çocukların yaş ortalaması; 5.2 ± 5.4 yıl olarak hesaplandı. Hasta ve kontrol grupları ayrı ayrı incelendiğinde, sağlıklı çocuklarda yaş ortalamasının 6.0 ± 5.1 yıl, hasta çocuklarda 4.4 ± 5.7 yıl olduğu belirlendi. Yaş ortalamaları ve cinsiyet bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak fark olmadığı belirlendi (sırasıyla $p=0,154$, $p=0,763$).

Hasta ve sağlıklı gruplar arasında EKO parametreleri değerlendirildiğinde sadece LVEDD ve TY'den ölçülen tahmini sistolik PAB ölçümleri arasında anlamlı fark saptandı (sırasıyla $p=0,017$; $p<0,001$). Demografik veriler ve ekokardiyografik parametrelere ait tanımlayıcı istatistikler (ortalama ve standart sapma) ve p değerleri Tablo 10'da verilmiştir. Sağlıklı çocuklarda LVEDD değerinin PH tanısı konmuş çocuklara göre daha büyük, PAB değerleri bakımından incelendiğinde ise PH hastalarında sağlıklı çocuklara göre daha yüksek olduğu belirlendi.

Tablo 10. Demografik veriler ve ekokardiyografik parametreler.

		Kontrol (n=50)	Hasta (n=47)	p
Yaş (yıl)		6.0 ± 5.1	4.4 ± 5.7	0,154
Cinsiyet (n/%)	Kız	24 (%48)	24 (%51,1)	0,763
	Erkek	26 (%52)	23 (%48,9)	
EF (%)		$76,82 \pm 10,98$	$76,49 \pm 9,84$	0,877
FS (%)		$45,50 \pm 10,70$	$45,38 \pm 10,86$	0,957
LVEDD (cm)		$3,02 \pm 0,80$	$2,59 \pm 0,96$	0,017
LVEDS (cm)		$1,67 \pm 0,60$	$1,45 \pm 0,61$	0,077
PAB echo (mmHg)		$21,58 \pm 1,51$	$47,13 \pm 37,16$	<0,001

(EF: Ejeksiyon fraksiyonu, FS: Fraksiyon Kısalması, LVEDD: Sol ventrikül diyastol sonu çap, LVEDS: Sol ventrikül sistol sonu çap, PAB echo: Non-invaziv ölçülen pulmoner arter basıncı)

Çalışmaya alınan 47 hastanın 29'u (%61,7) medikal tedavi almaktaydı. Hastaların 20'si (%42,5) dekonjestif tedavi (furosemid ve/veya kaptopril), 9'u (%19,1) ise PH özgül tedavi (4 hasta bosentan, 3 hasta sildenafil ve 2 hasta tadalafil) kullanıyordu.

Pulmoner hipertansiyon nedenleri incelendiğinde altta yatan neden olarak 24 hastada (%51) ventriküler septal defekt (VSD), 8 hastada (%17) patent duktus arteriyozus (PDA), 5 hastada (%10,6) VSD ve atriyal septal defekt (ASD), 4 hastada (%8,5) VSD ve PDA, 3 hastada (%6,3) ASD, 2 hastada (%4,2) atriyoventriküler septal defekt (AVSD) ve 1 hastada (%2,1) düzeltilmiş büyük arter transpozisyonu (BAT) görüldü (Tablo 11). Hastaların aile öyküsü sorgulandığında hiçbir hastada ailede PH öyküsü yoktu.

Tablo 11. Pulmoner hipertansiyona neden olan kalp hastalıkları.

	Sayı	Yüzde
VSD	24	%51
PDA	8	%17
VSD ve ASD	5	%10,6
VSD ve PDA	4	%8,5
ASD	3	%6,3
AVSD	2	%4,2
Düzeltilmiş BAT	1	%2,1

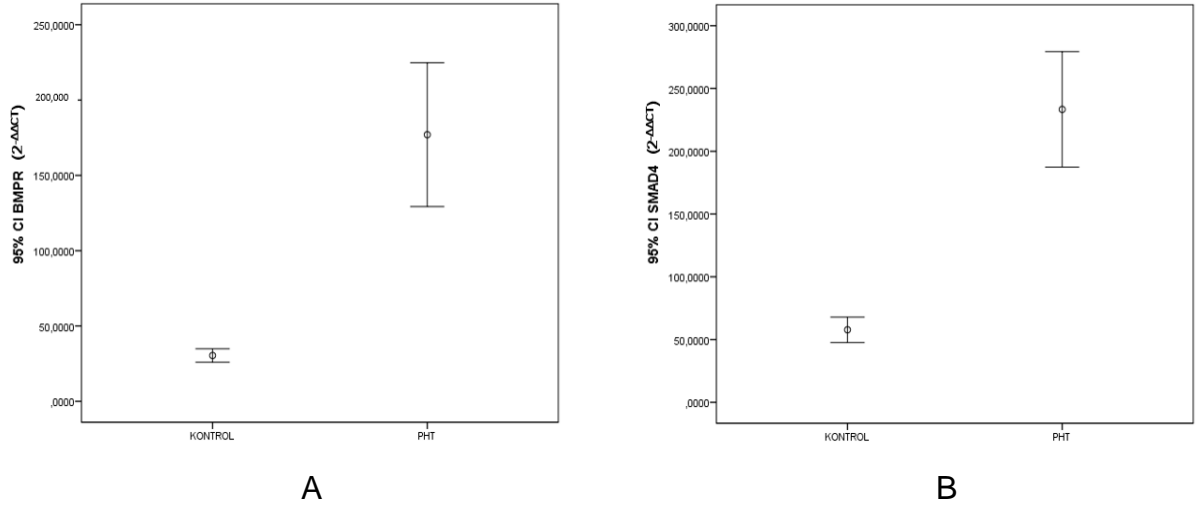
(ASD: Atriyal septal defekt, AVSD: Atriyoventriküler septal defekt, PDA: Patent duktus arteriyozus, BAT: Büyük arter transpozisyonu, VSD: Ventriküler septal defekt)

Hasta ve kontrol grupları arasında *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* gen ekspresyon düzeyleri incelendi. Hastalarda *BMPR2* ve *SMAD4* gen ekspresyon düzeyleri kontrollere göre yüksek bulundu ($p < 0.001$). *TGFB_{ACBP1}* ve *ALK1* ekspresyon düzeyleri hasta ve kontrol grupları arasında incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. *MEF2C* ekspresyon düzeyi kontrol grubunda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 12).

Tablo 12. Gen ekspresyon düzeylerinin hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması.

	Hasta (n=47)	Kontrol (n=50)	p
BMPR2	176,993 ± 162,531	30,435 ± 15,351	<0,001
SMAD4	233,338 ± 156,661	57,784 ± 33,857	<0,001
TGFB _{ACBP1}	34,026 ± 29,585	40,845 ± 39,075	0,381
MEF2C	186,586 ± 153,043	239,039 ± 190,693	0,147
ALK1	2,931 ± 3,132	2,189 ± 2,481	0,312

BMPR2 ve *SMAD4* genlerinin ekspresyon düzeylerinin ayrı ayrı kontrol grubu ile hasta grubu için karşılaştırmaları Grafik 1'de gösterilmiştir.



Grafik 1. *BMPR2* ve *SMAD4* genlerinin hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması.

(a: *BMPR2* geni hasta ve kontrol grupları karşılaştırılması, b: *SMAD4* geni hasta ve kontrol grupları karşılaştırılması)

Cinsiyetler arasında gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında, genetik parametrelerin cinsiyete bağlı farklılık göstermediği saptandı (Tablo 13).

Tablo 13. Gen ekspresyon düzeylerinin cinsiyetler arasında karşılaştırılması.

	Kız (n=48)	Erkek (n=49)	p
<i>BMPR2</i>	117,65 ± 151,97	89,14 ± 118,83	0,309
<i>SMAD</i>	153,30 ± 155,38	141,64 ± 133,20	0,700
<i>TGFB_{ACBP1}</i>	36,01 ± 31,82	38,61 ± 37,32	0,739
<i>MEF2C</i>	218,28 ± 172,91	206,41 ± 176,2	0,744
<i>ALK1</i>	2,33 ± 2,71	2,62 ± 2,58	0,661

Genetik parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde; *BMPR2*'nin *SMAD4* ve *ALK1* ile aynı yönlü doğrusal bir ilişkisi olduğu saptandı (sırasıyla $r=0,629$; $p<0,001$; $r=0,309$; $p=0,014$). Ayrıca *SMAD4* gen ekspresyon düzeyi ile *TGFB_{ACBP1}* arasında ve *TGFB_{ACBP1}* gen ekspresyon düzeyi ile *MEF2C* arasında pozitif korelasyon bulundu (sırasıyla $r=0,336$, $p=0,003$; $r=0,517$, $p<0,001$). Genetik parametreler arasındaki korelasyon katsayıları ve p değerleri Tablo 14'de verildi.

Tablo 14. Gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.

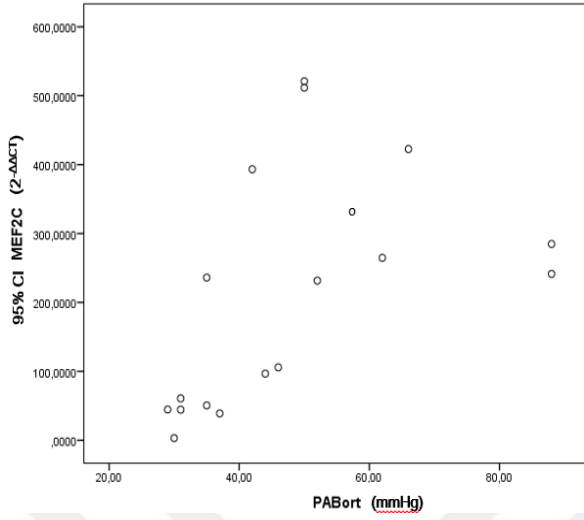
		SMAD4	TGFB _{ACBP1}	MEF2C	ALK1
BMPR2	r	0,629	0,143	0,000	0,309
	p	<0,001	0,213	0,997	0,014
SMAD4	r		0,336	0,151	0,027
	p		0,003	0,160	0,834
TGFB _{ACBP1}	r			0,517	0,140
	p			<0,001	0,303
MEF2C	r				0,087
	p				0,508

Aynı genetik parametrelerin hasta çocuklar arasındaki değişimleri incelendiğinde, *BMPR2* ekspresyon düzeyi arttıkça *SMAD4* ve *TGFB_{ACBP1}* parametresinin değerlerinin arttığı ve aralarındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (sırasıyla $r=0.458$, $p=0.001$; $r=0.376$, $p=0.014$). *SMAD4* ekspresyon düzeyi arttığında da *TGFB_{ACBP1}* ve *MEF2C* değerlerinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (sırasıyla $r=0.629$, $p<0.001$; $r=0.367$, $p=0.011$) (Tablo 15).

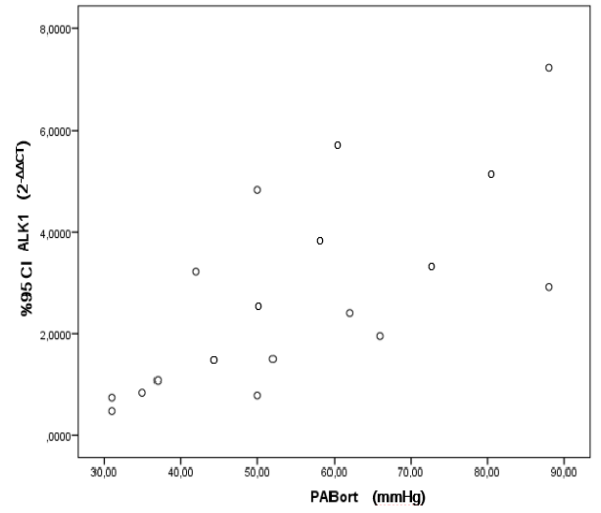
Tablo 15. Hasta ve kontrol gruplarında gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.

Grup			SMAD4	TGFB _{ACBP1}	MEF2C	ALK1	
Hasta	BMPR2	r	0,458	0,376	0,134	0,318	
		p	0,001	0,014	0,371	0,055	
	SMAD4	r		0,629	0,367	-0,072	
		p		<0,001	0,011	0,671	
	TGFB _{ACBP1}	r			0,262	-0,141	
		p			0,094	0,425	
	MEF2C	r				0,298	
		p				0,074	
	Kontrol	BMPR2	r	0,536	0,102	0,247	0,169
			p	<0,001	0,561	0,105	0,409
SMAD4		r		0,514	0,593	0,082	
		p		0,002	<0,001	0,698	
TGFB _{ACBP1}		r			0,669	0,039	
		p			<0,001	0,865	
MEF2C		r				-0,132	
		p				0,548	

Pulmoner hipertansiyon tanısı konulan hastaların 18'ine kalp kateterizasyonu yapıldı. Kateterizasyon yapılan hastalar ile TY'den tahmini pulmoner arter basınçları hesaplanan hastaların gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında sonuçların benzer olduğu saptandı. Kalp kateterizasyonu ile ölçülen pulmoner arter basınçları ile gen ekspresyonları arasındaki ilişki incelendiğinde ortalama PAB artışıyla *ALK1* ve *MEF2C* ekspresyon değerleri arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı (Sırasıyla $r=0,677$, $p=0,016$; $r=0,499$, $p=0,042$) (Grafik 2). Ekokardiyografi sonucunda tanı alan, ortalama PAB'ı 25 mmHg'nin üzerinde ve triküspit yetersizliği 2,8 m/sn'nin üzerinde olan hastaların bu parametrelerindeki belirgin artışların da gen ekspresyon düzeyleri ile ilişkili olabileceği düşünüldü.



A



B

Grafik 2. MEF2C ve ALK1 genlerinin ortalama PAB ile karşılaştırılması.

(A: MEF2C geninin ortalama PAB ile karşılaştırılması, B: ALK1 geninin ortalama PAB ile karşılaştırılması)

Ayrıca kalp kateterizasyonu yapılan hastaların gen ekspresyonları arasındaki ilişki hasta ve kontrol gruplarında incelendiğinde, SMAD4 düzeyi ile TGFβ_{ACBP1} ve MEF2C arasında pozitif korelasyon saptandı (Sırasıyla r=0.726, p=0.002; r=0.646, p=0.004) (Tablo 16).

Tablo 16. Kalp kateterizasyonu uygulanan hastalarda gen ekspresyon düzeyleri ve işlem sırasında ölçülen PAB'ları arasında karşılaştırma.

Kateterizasyon Uygulananlar		SMAD4	TGFB _{ACBP1}	MEF2C	ALK1	PABs	PABd	PABort
BMPR2	r	0,172	0,263	0,071	-0,032	0,130	0,022	0,075
	p	0,496	0,343	0,779	0,917	0,619	0,934	0,773
SMAD4	r		0,726	0,646	-0,064	0,172	0,265	0,272
	p		0,002	0,004	0,835	0,509	0,304	0,290
TGFB _{ACBP1}	r			0,412	-0,029	0,354	0,499	0,498
	p			0,127	0,932	0,214	0,070	0,070
MEF2C	r				0,457	0,462	0,394	0,499
	p				0,116	0,062	0,117	0,042
ALK1	r					0,715	0,594	0,677
	p					0,009	0,042	0,016
PABs	r						0,834	0,935
	p						<0,001	<0,001
PABd	r							0,961
	p							<0,001

(PABd: pulmoner arter diyastolik basıncı, PABs: pulmoner arter sistolik basıncı, PABort: pulmoner arter ortalama basıncı)

5. TARTIŞMA

Pulmoner hipertansiyon gelişim mekanizması, fizyopatolojisi ve tedavisi günümüzde halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Son yıllarda özellikle genetik alanında yapılan çalışmalarla bu konuda ilerlemeler kaydedilmiştir^{8,125}. Bu çalışmada pulmoner hipertansiyon tanısı alan çocuklarda *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* gen ekspresyonları çalışılarak, bu genlerin ifade düzeyleri ile ilgili çıkarımda bulunmak amaçlandı.

Pulmoner hipertansiyonda genetik ile ilgili daha önce yapılan çalışmalar genellikle mutasyonlara yöneliktir⁸. Birçok çalışma hastalıkla ilişkili hücreyel yollara ve farklı gen mutasyonları ortaya koymaya odaklanmıştır. Çocuklarda PH üzerine ise mekanizma ve genetik araştırmalar bir yana, epidemiyolojik veriler bile örneklem nüfusunun küçüklüğü ve çalışmaların azlığı nedeniyle oldukça kısıtlıdır. Gen ekspresyonlarının klinik yansımaları ve ifade düzeyleri üzerine kapsamlı bir çalışmaya ise literatürde bildiğimiz kadarıyla rastlanmamıştır.

Bugüne kadar PH ile ilişkisi kanıtlanmış olan genlerin büyük çoğunluğu TGF- β /BMP yolağında yer almaktadır¹²⁶. Çalışmamıza dahil ettiğimiz genlerden *SMAD4*, *BMPR2*, *ALK1*, *TGF- β _{ACBP1}* genleri özellikle bu yolakta bulunmaları nedeniyle seçildi. *MEF2C* geni ise son yıllarda doğumsal kalp hastalığı ve PH ile ilişkilendirilmeye başlandığı için çalışmamıza dahil edildi⁷⁹. Doğumsal kalp hastalıklarına bağlı olarak gelişen PH ile direkt olarak ilişkilendirilmiş bir gene literatürde rastlanmamıştır. Bu durum çalışmamızın olumlu yönlerinden bir tanesidir. Çalışmamızda hem DKH'na sekonder gelişen PH ile ilişkili genlere işaret edebilmek hem de bu hastalardaki gen ekspresyon düzeylerinin hastalığın kliniğinde pratik kullanımına dair bilgi edinmek amaçlanmıştır.

Çalışmamıza dahil edilen tüm çocuklar sağlıklı grup ve PH grubu olarak demografik özellikleri bakımından analiz edildiğinde; her iki grubun yaş ortalamaları ve cinsiyetleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gösterildi.

Pulmoner hipertansiyonla ilişkisi ilk gösterilmiş gen olan *BMPR2* geninin şimdiye kadar 300'den fazla bağımsız mutasyonu tanımlanmıştır⁶. Bizim

çalışmamıza 47 PH hastası ve 50 sağlıklı çocuk dahil edildi. Çalışılan gen ekspresyon düzeyleri arasında; *BMPR2* geninin eksprese edilme oranının, çalışmamıza dahil edilen hasta çocuklarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı saptandı ($p<0,001$). Bu sonuç PH tanısında veya PH gelişme riski yüksek popülasyonun tayininde *BMPR2* gen ekspresyonunun araştırılabileceğine işaret etmektedir. Pulmoner hipertansiyonda *BMPR2* geninin penetransı tam değildir. Bu nedenle ailesinde veya kendisinde PH tanımlanmış olan bireylere genetik danışmanlık verilirken *BMPR2* gen ekspresyon düzeyi çalışılması veya *BMPR2* mutasyonu araştırılması tartışmalı bir durumdur.

2014 yılında Koç ve Korkmaz tarafından skleroderma hastalarında *BMPR2* ekspresyonunun Real Time PCR yöntemiyle saptanması ve hastaların klinik seyri ile ilişkilendirilmesi üzerine bir çalışma yapılmıştır¹²⁷. Çalışmaya 20 skleroderma hastası ve 29 sağlıklı birey dahil ederek periferik kan örneklerini almışlardır. Sonuç olarak skleroderma hastalarında *BMPR2* gen ekspresyon düzeyinin sağlıklı gruba göre azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmadaki 20 skleroderma hastasının 4'ünde aynı zamanda PH geliştiği saptanmıştır. Pulmoner hipertansiyonlu bireylerin *BMPR2* gen ekspresyon düzeyi, diğer skleroderma hastalarıyla kıyaslandığında ise PH'lı bireylerde *BMPR2* gen ekspresyon düzeyinin arttığı saptanmıştır¹²⁷. Bryant ve arkadaşları tarafından fareler üzerinde yürütülen bir çalışmada *BMPR2* gen ekspresyon düzeyi arttıkça PH'lı akciğer vasküler yapısının hipoksiye daha duyarlı hale geldiği gösterilmiştir¹²⁸. West ve arkadaşları tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise *BMPR2* gen ekspresyon düzeyinin, PH'ı olan ve olmayan bireylerde penetrans üzerine etkisi araştırılmıştır¹²⁹. Çalışmalarına dahil ettikleri 20 bireyden 5'i PH hastası, 7'si *BMPR2* taşıyıcısı ve 8'i ise *BMPR2* mutasyonu taşımayan sağlıklı birey olarak belirtilmiştir. Bu bireylerden alınan periferik kan örneklerinde Real Time PCR kullanılarak gen ekspresyonu araştırılmıştır. Sonuç olarak *BMPR2* ekspresyonundaki artışın, penetrans artışı ile korele olduğuna dair bulgulara ulaşılmıştır.

Herhangi bir hastalıkla ilgili genin ekspresyon düzeyi ve mutasyonu arasında aynı yönlü pozitif veya negatif ilişki olabilmektedir. Bizim çalışmamızda

mutasyon araştırılmamış; yalnızca gen ekspresyonlarının ifade düzeyleri hakkında çıkarımda bulunmak amaçlanmıştır. Bu durum, çalışmamızın kısıtlayıcı yönlerinden bir tanesidir. Sonuçlarımız *BMPR2* gen ekspresyon düzeyi ile ilgili daha önce yapılan az sayıda çalışmanın sonuçlarına uyumludur. Gelecekte yapılacak bu tarz çalışmalarda genlerin ekspresyon düzeyleri ile gen mutasyonlarının ve protein düzeylerinin beraber çalışılması penetransa dair de çıkarımda bulunmayı sağlayacaktır.

SMAD4 geni TGF- β /BMP yolağında anahtar rol oynamaktadır. *BMPR2* ile ligand bağlanması, SMAD reseptörleri (*SMAD1*, *SMAD5* ve *SMAD9*) üzerinden sinyal iletimini tetikler. Bunlar da ortak yolak olan *SMAD4* ile kompleksin merkezine yer değiştirir. Pulmoner hipertansiyonla bu yolağın ilişkisi her geçen gün daha iyi anlaşılakta olup, yolağın hemen her basamağındaki defektler çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir⁷⁷. Çalışmamızda hasta ve sağlıklı gruplar arasında yapılan *SMAD4* gen ekspresyon düzeyi karşılaştırılması neticesinde, hasta grubunda anlamlı artış olduğu saptandı ($p < 0,001$). Bu sonuç, *BMPR2* geninde olduğu gibi *SMAD4* geninde de ekspresyon düzeyi artışının PH ile ilişkilendirilebileceği şeklinde yorumlandı. Ayrıca PH tanısı koyarken ve HPAH'lı bireylere genetik danışma verilirken *SMAD4* gen ekspresyonuna başvurulabileceğini düşündürdü. Ancak genin penetransı üzerine yorum yapabilmek için mutasyon araştırılmasına ihtiyaç olduğu kanısındayız.

Shintani ve arkadaşları tarafından PH'da bazı SMAD moleküllerinin (*SMAD1*, *SMAD2*, *SMAD3*, *SMAD4*, *SMAD5*, *SMAD6*, *SMAD8*) rolü üzerine bir çalışma yürütülmüştür¹³⁰. Yeni mutasyon tanımlayabilmeye yönelik direk sekanslama ve multipleks ligasyon bağımlı amplifikasyon yöntemi kullanılarak yapılan analizler neticesinde *SMAD8* ile ilgili yeni bir mutasyon (c.606 C.A, p.C202X) tanımlanmıştır. Bu mutasyon aracılığıyla *SMAD8* ve *SMAD4* molekül etkileşimlerinin bozulduğu ve PH geliştiği bulunmuştur. Nasim ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada; PH hastalarında bazı SMAD genlerinin (*SMAD1*, *SMAD4*, *SMAD5*, *SMAD9*) önemi araştırılarak pulmoner hipertansiyon hastası olan 324 birey ve sağlıklı 402 bireyden alınan periferik kan

örneklerinden genetik analizler yapıldığında, *SMAD4* ve *SMAD9* gen mutasyonlarının PH hastalarında anlamlı olduğu gösterilmiştir⁷⁷.

SMAD4 gen ekspresyonu yalnızca PH ile değil bazı kanserlerle de ilişkilendirilmiştir. Özellikle kolon adenom ve karsinomlarında *SMAD4* gen ekspresyon düzeyindeki azalmanın hastaların yaşam oranlarını olumsuz etkilediği bilinmektedir. Bu konuda Yan ve arkadaşlarının 2016 yılında yayınlamış oldukları bir makalede; *SMAD4* gen ekspresyon düzeyindeki düşüşün, kolon kanserinde yaşam oranlarını azalttığı açıklanmıştır¹³¹. Bizim çalışmamıza dahil ettiğimiz çocukların hiçbirinde kanser tanısı veya öyküsü saptanmadı. Yapılan literatür taramasında pulmoner hipertansiyon hastalığında *SMAD4* gen ekspresyon düzeyiyle ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızın bu konuda yapılacak olan diğer çalışmalara öncülük edeceğini düşünmekteyiz.

ALK1 ve *ENG* genleri 1990'lardan bu yana herediter hemorajik telenjektazi hastalığı ile ilişkilendirilmişlerdir⁷². Bu hastalığın insidansı yaklaşık 1-2/100.000 olarak bilinmektedir¹³². Bizim çalışmamıza dahil edilen çocukların hiçbirinde klinik olarak herediter hemorajik telenjektazi hastalığına rastlanmamıştır. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda ise TGF- β yolağında sinyal reseptör üyelerini kodlayan *ALK1* ve *ENG* genleri ile PAH arasındaki ilişki ortaya konmuştur⁸. Çalışmamızda ekspresyon düzeyini araştırdığımız bir diğer gen olan *ALK1* geni mutasyonlarının PH hastalarının yaklaşık %26'sında saptandığı bilinmektedir⁵¹.

Uznanska ve arkadaşları tarafından Polonya'da yürütülen bir çalışmada 20'si IPAHA olan toplam 50 PAHA hastasında *BMPR2*, *ALK1* ve *ENG* genleri araştırılmıştır¹³³. Sonuçlarda 20 IPAHA hastasının tamamında *ALK1* gen mutasyonu gösterilmiştir. Leherde bu mutasyonların penetransının diğer ırklara göre farklı olabileceği düşünülmüştür. Gore ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yapılan bir çalışmada akciğer vasküler sisteminden doku örnekleri alınarak *BMPR2*, *ALK1* ve *ENG* genlerinin polimorfizm ve mutasyonlarının PH gelişimindeki önemi araştırılmıştır¹³⁴. 29 hastadan girişimsel işlemler esnasında pulmoner arter örnekleme yapılmıştır. Western blotting yöntemiyle genetik analiz oluşturulmuş ve sonuçta bu 29 hastanın hiç birinde *BMPR2*, *ALK1* ve

ENG genlerinin polimorfizm veya mutasyonuna rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda periferik kan örneklerinden genetik analiz yapılmış olup; doku örnekleme alınmamıştır. Çalışmamızda *ALK1* gen ekspresyon düzeyi hasta ve kontrol grupları arasında analiz edildi. Sonuçta hasta veya kontrol grubunda *ALK1* gen ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü ($p=0,312$). Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalar DKH'na bağlı pulmoner hipertansiyon gelişen hastalardı ve hiçbirinde herediter PAH saptanmadı. Çalışma verilerimiz *ALK1* gen ekspresyon düzeyinin HPAH ile ilişkili olabileceğini fakat DKH'na sekonder PH etyopatogenezinde rol almadığını düşündürmektedir. Çalışmamıza dahil ettiğimiz 47 PH hastasından 18'ine kardiyak kateterizasyon uygulandı. Kateterizasyon uygulanan hastaların ortalama PAB ölçümleri ile *ALK1* gen ekspresyon düzeylerini karşılaştırdığımızda bu iki parametre arasındaki pozitif korelasyon anlamlı bulundu ($p=0,016$). Kardiyak kateterizasyon uygulanan hastaların ortalama PAB'lerinin, uygulanmayan hastalardan daha yüksek olduğu düşünüldüğünde, *ALK1* gen ekspresyon düzeyinin ortalama PAB artışı ile anlamlı ilişkisi hastalığın ciddiyeti ile ilgili olabilir. Ancak hastalığın ciddiyeti ile *ALK1* gen ekspresyon düzeyi artışı arasında güvenilir bir ilişki olup olmadığına dair kesin sonuçlara ulaşmak için geniş hasta serileriyle yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

TGF- β ; büyüme, farklılaşma, apoptozis gibi hücrel süreçlerin düzenlenmesinde ve anjiyogenezde rol oynaması nedeniyle PH fizyopatolojisinde önemli bir sitokindir⁶⁷. West ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada BMPR2 reseptör kompleksi aracılığıyla ve çoklu mekanizmalarla gelen sinyallerin SMAD transkripsiyon aktivasyonuna ek olarak, X'e bağlı apoptozis inhibitörü (XIAP) ve TAB1/TAK1 kompleksini düzenlediği vurgulanmıştır. Bu durum TGF- β /BMP yolağında TGF- β_{ACBP1} (*TAB1*) genindeki ekspresyon değişiklikleri veya mutasyonların PH ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür⁷⁵. TGF- β_{ACBP1} (*TAB1*) geninin ekspresyon düzeyi de çalışmamız dahilinde PH'lı ve sağlıklı çocuklar arasında analiz edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarından alınan periferik kan örneklerinden elde edilen veriler doğrultusunda, iki grup arasında TGF- β_{ACBP1} (*TAB1*) gen ekspresyon düzeyi

arasında farklılık saptanmamıştır ($p=0,381$). TGF- β /BMP yolağında yer almasına rağmen bu genin ekspresyon düzeyinde artış olmamasının DKH'na sekonder gelişen PH hastalarının çalışmaya dahil edilmesinin sonucu olabileceği; HPAH hastalarında çalışılsa sonucun anlamlı olabileceği düşünülmüştür. Bulgularımıza göre TGF- β_{ACBP1} (*TAB1*) gen ekspresyon düzeyinin, PH'lı bireylerde tanı ve ailesinde PH öyküsü olan bireylerde genetik danışmanlık açısından kullanılması konusunda yargıya varabilmek zordur. Bu konuda genel bir yargıya varabilmek için daha geniş popülasyonda ve aynı zamanda mutasyon araştırmalarını da içeren, ileri çalışmalar yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

MEF2C çeşitli dokularda yüksek oranda eksprese olan ve transkripsiyonu düzenlemedeki önemli rolleri ile tanınan bir gendir⁸⁰. Sahoo ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada *MEF2C*'nin PAH'lı ve sağlıklı çocuklara ait akciğer dokusunda düz kas hücreleri üzerindeki etkisi incelenmiştir¹³⁵. Pulmoner arteriyel hipertansiyonlu hastalarda bakılan miR-214 ekspresyon düzeyinin artmış olduğu ve *MEF2C* ekspresyon düzeyinde azalma olduğu bulunmuştur. Bunların sonucunda terapötik amaçla miR-214 antagonisti kullanımının, PAH gibi proliferatif vasküler hastalıklarda kullanılabileceği, ayrıca pulmoner arter düz kas hücrelerinde hipoksiye sekonder olarak *MEF2C*-MYOCD-Leiomodin1 yolağının bozulduğu vurgulanmıştır¹³⁵. Çalışmamızda da *MEF2C* gen ekspresyon düzeyinin istatistiksel anlamı olmasa da ekokardiyografi ile tanısı konmuş olan PH'lı hasta grubunda kontrollere göre düşük olduğu bulundu ($p=0,147$). Kardiyak kateterizasyon ile invaziv olarak ölçülen ortalama PAB değerleri ile *MEF2C* gen ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında bu iki parametre arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,042$). İnvaziv olarak ölçülen PAB ile *MEF2C* gen ekspresyon düzeyi arasında, ekokardiyografiyle tahmini olarak ölçülen PAB'a göre daha kuvvetli bir ilişki olabileceği düşünüldü. Ortalama PAB yükseldikçe hastalığın kliniği ve bulgularının daha belirgin hale geldiği düşünüldüğünde; kateterizasyon sırasında ölçülen PAB ve gen ekspresyon düzeyi korelasyonu daha önemli olduğu düşünülmektedir. *MEF2C* gen ekspresyon düzeyindeki artış veya azalmanın PH'daki rolüne dair yorum yapabilmek için daha geniş popülasyonlu

ve ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. TGF- β /BMP yolağında yer almasına rağmen bu genin ekspresyon düzeyinde artış olmamasının DKH'na sekonder gelişen PH hastalarının çalışmaya dahil edilmesinin sonucu olabileceği; HPAH hastalarında çalışılsa sonucun anlamlı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamıza yalnızca 0-18 yaş arası çocuklar dahil edildi. Literatürde pediyatrik pulmoner hipertansiyon ile ilgili çalışma sayısı erişkinlere oranla oldukça azdır. Bu nedenle çalışmamızın önem kazandığı düşünülmüştür. Araştırılan *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* genlerinin sentez düzeyi belirlenirken her örnek üç tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır. Bu sayede sonuçların güvenilirlik derecesinin yükseldiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* genlerinin ekspresyon düzeyleri çalışılmış fakat bu genlerin mutasyonlarına yönelik araştırma yapılmamıştır. Bu nedenle gen mutasyonlarının ekspresyon düzeyine etkisine ve genlerin PH'daki penetraslarının anlaşılabilmesine yönelik çıkarımda bulunmak mümkün olmamıştır. Bu durum çalışmamızın kısıtlı yönlerindedir.

Çalışmamız neticesinde edindiğimiz veriler doğrultusunda; çocuklarda *BMPR2* ve *SMAD4* genlerinin ekspresyon düzeylerinin bakılmasının DKH'na bağlı PH gelişimi riski için anlamlı olabileceğini düşünmekteyiz. Aynı şekilde bu genlerin ekspresyon düzeylerindeki artış, kendilerinde veya ailelerinde pulmoner hipertansiyon öyküsü olan bireylere genetik danışmanlık verirken de kullanılabilirliği düşünülmüştür. *BMPR2* ve *SMAD4* gen ekspresyon düzeyleri yüksek tespit edilen kişilere reproduktif tıp uygulamaları sırasında çeşitli seçenekler sunulabileceği düşünülmüştür. Prenatal tanı PAH'a predispozan bir mutasyon taşıyan fetüsün uterus içerisindeyken tespit edilmesine olanak sağlar. Bu gibi yöntemler pek çok diğer hastalık için kullanılmaktadır ancak penetrasın tam olmadığı HPAH gibi durumlar için tartışmalıdır. Her mutasyon taşıyıcısında hastalık gelişmeyeceği unutulmaması gereken bir konudur. Daha kesin genellemeler yapabilmek için genetik teknolojide gelişime ihtiyaç vardır. Mutasyon taşıyıcıları, hekim hangi hastanın hangi zamanda hastalık geliştireceğini belirleyemeyeceğinden pek çok belirsizlik ile karşı karşıya kalacaktır. Günümüzde genetik yatkınlığı saptanan hastalara egzersiz dispnesi

gibi belirtiler için acil değerlendirme ile birlikte yıllık Doppler ile ekokardiyografi takibi önerilmektedir.

Mikroarray araştırmaları hasta ve kontrol grupları arasında gen ekspresyon düzeyleri hakkında yorum yapmayı sağlayan güçlü ve efektif araştırmalardır. Pulmoner hipertansiyon hastalarında yapılan mikroarray analizlerinde pek çok genin pulmoner hipertansiyonla ilişkili olarak ekspresyon düzeylerinde değişiklikler tanımlanmıştır^{88,136}. Yakın gelecekte yeni teknolojiler ve bilimsel gelişmeler ışığında mikroarray kullanımının PH'da önemli hale geleceği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz özgül gen ekspresyon düzeyleri hakkındaki bilgilerimiz de ileride bu gibi gelişmelere katkı sağlayacağı düşünölmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamıza dahil ettiğimiz DKH'na bağlı PH gelişmiş olan çocuk hastalarda *BMP2* ve *SMAD4* gen ekspresyon düzeyleri sağlıklı çocuklara göre artmış olarak bulunmuştur. Böylelikle bu genlerin ekspresyon düzeylerini çalışmanın riskli gruplarda PH gelişimi açısından fikir vereceği ve anlam ifade ettiği düşünölmüştür. İnvaziv olarak ölçölen PAB ile *ALK1* ve *MEF2C* gen ekspresyon düzeyleri arasında bulunan aynı yönlü doğrusal ilişkinin ise hastalığın ciddiyeti ile gen ekspresyonlarının artış göstermesi şeklinde ilişkilendirilebileceği düşünölmüştür.

6. SONUÇLAR

Çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Çocuk Kardiyoloji Bilim Dalı'nda takipli 47 PH hastası ve 50 sağlıklı olmak üzere toplam 97 kişi dahil edildi. Demografik özellikleri, ekokardiyografik parametreleri değerlendirildi. Alınan periferik kan örneklerinde *BMP2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* genlerinin ekspresyon düzeyleri çalışıldı. Elde edilen veriler karşılaştırmalı olarak analiz edildi ve şu sonuçlar elde edildi:

- 1) Çalışmaya 48'i (% 49,5) kız, 49'u (% 50,5) erkek olmak üzere toplam 97 kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubunda cinsiyet açısından fark saptanmadı. ($p=0,763$)
- 2) Çalışmaya dahil edilen çocukların yaş ortalaması; 5.2 ± 5.4 olarak hesaplandı. Hasta ve kontrol gruplarında ayrı ayrı incelendiğinde, sağlıklı çocuklarda yaş ortalaması 6.0 ± 5.1 , hasta çocuklarda 4.4 ± 5.7 olup yaş ortalamaları bakımından gruplar arası fark saptanmadı ($p=0,154$).
- 3) Değerlendirmeye alınan ekokardiyografi parametreleri arasında LVEDD ve PAB'da hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık bulundu (sırasıyla p değerleri; 0.017 ve <0.001).
- 4) Çalışmaya dahil edilen 47 hastanın 29'u (%61,7) medikal tedavi almaktaydı. Hastaların 20'sinin (%42,5) dekonjestif tedavi (furosemid ve/veya kaptopril), 9'unun (%19,1) ise PH özgül tedavi (4 hasta bosentan, 3 hasta sildenafil ve 2 hasta tadalafil) kullandığı saptandı.

- 5) Pulmoner hipertansiyon nedenleri incelendiğinde altta yatan neden olarak 24 hastada (%51) VSD, 8 hastada (%17) PDA, 5 hastada (%10,6) VSD ve ASD, 4 hastada (%8,5) VSD ve PDA, 3 hastada (%6,3) ASD, 2 hastada (%4,2) AVSD ve 1 hastada (%2,1) düzeltilmiş TGA görüldü.
- 6) Hasta ve sağlıklı çocuklarda *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* gen ekspresyonları incelendi. *BMPR2* ve *SMAD4* gen ekspresyonları için hasta çocuklar ile kontroller arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu saptandı (her iki farklılığa ait p değerleri $p < 0.001$).
- 7) *TGFB_{ACBP1}* ve *ALK1* gen ekspresyon düzeyleri hasta ve sağlıklı çocuklarda benzer sonuçlar verirken (sırasıyla $p = 0,381$; $p = 0,312$), *MEF2C* ekspresyon düzeyi sağlıklı çocuklarda hasta çocuklardan daha yüksek bulundu ancak bu farklılık anlamlı değildi ($p = 0,147$).
- 8) Gen ekspresyon düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde; *BMPR2* ekspresyonu arttıkça *SMAD4* ve *ALK1*'in de paralel şekilde arttığı görüldü (sırasıyla $r = 0,629$; $p < 0,001$; $r = 0,309$; $p = 0,014$). Aynı şekilde *SMAD4* ekspresyonu artarken *TGFB_{ACBP1}*'in artışı ($r = 0,336$; $p = 0,003$) ve *TGFB_{ACBP1}* ekspresyonu artarken *MEF2C*'nin artışı ($r = 0,517$; $p < 0,001$) izlendi.
- 9) Cinsiyetler arasında karşılaştırma yapıldığında *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*, *ALK1*, *MEF2C* gen ekspresyon düzeylerinin hiçbirinde farklılık yoktu (sırasıyla $p = 0,309$, $p = 0,700$, $p = 0,739$, $p = 0,661$, $p = 0,744$).
- 10) Çalışmaya dahil edilen 47 PH hastasının 18'ine kardiyak kateterizasyon uygulanarak invaziv PAB'ları ölçüldü. Kardiyak kateterizasyon uygulanan hastalarda *BMPR2*, *SMAD4*, *TGFB_{ACBP1}*,

ALK1, *MEF2C* gen ekspresyon düzeyleri ayrıca analiz edildi. Hiç birinde farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,749$, $p=0,851$, $p=0,974$, $p=0,429$, $p=0,664$).

11) Çalışmamızda kardiyak kateterizasyon uygulanmış olan 18 hastada; invaziv olarak ölçülen ortalama PAB ile *ALK1* ve *MEF2C* gen ekspresyon düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı. Bu durum invaziv olarak ölçülen PAB ile bazı gen ekspresyon düzeyleri arasında, ekokardiyografi ile tahmini değerlendirdiğimiz PAB ölçümüne göre daha kuvvetli bir ilişki olabileceğini düşündürdü.

12) Sonuç olarak; PH hastalarında *BMPR2* ve *SMAD4* gen ekspresyon düzeylerinin çalışılması tanı sırasında etyoloji araştırılırken ve profesyonel genetik danışmanlık verilirken kolaylık sağlayabilir. Ayrıca her iki gen de TGF- β /BMP sinyal yolağında rol aldığı için, bu yolağın PH gelişimindeki önemi bir kez daha vurgulandı. Pulmoner hipertansiyon hastalarında ve risk grubunda gen ekspresyon düzeylerinin klinik önemi hakkında daha net bilgiler elde etmek ve genellemelerde bulunabilmek için daha geniş popülasyonlu ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu görüldü.

7. KAYNAKLAR

1. Barst RJM, Heart Disease in Infants, Adolescents, Clinical management of patients with pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* 2001; 1347-1361.
2. Zijlstra WM, Douwes JM, Rosenzweig EB, et al., Survival differences in pediatric pulmonary arterial hypertension: clues to a better understanding of outcome and optimal treatment strategies. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63: 2159-2169.
3. Opitz CF, Hoeper M, Gibbs JS, et al., Pre-capillary, combined, and post-capillary pulmonary hypertension: a pathophysiological continuum. *J Am Coll Cardiol* 2016; 68: 368-378.
4. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, et al., 2015 ESC/ERS guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the joint task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J* 2015; 37: 67-119.
5. Holcomb BW, Jr., Loyd JE, Ely EW, et al., Pulmonary veno-occlusive disease: a case series and new observations. *J Chest* 2000; 118: 1671-9.
6. Machado RD, Eickelberg O, Elliott CG, et al., Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 32-42.
7. Harrison RE, Flanagan JA, Sankelo M, et al., Molecular and functional analysis identifies ALK-1 as the predominant cause of pulmonary hypertension related to hereditary haemorrhagic telangiectasia. *J Med Genetics* 2003; 40: 865-71.
8. Girerd B, Lau E, Montani D, et al., Genetics of pulmonary hypertension in the clinic. *Curr Opin Pulm Med* 2017; 23: 386-391.

9. Abman SH, Hansmann G, Archer SL, et al., Pediatric Pulmonary Hypertension: Guidelines From the American Heart Association and American Thoracic Society. *Circulation* 2015; 132: 2037-99.
10. Rosenzweig EB, Abman SH, Adatia I, et al., Paediatric pulmonary arterial hypertension: updates on definition, classification, diagnostics and management. *Eur Respir J* 2019; 53: 1801-916.
11. Hatano S, Strasser TJG, Switzerland, World Health Organization 1975 primary pulmonary hypertension: report of committee. *J Ci Nii Ac* 1975; 322: 71-76.
12. Simonneau G, Galiè N, Rubin LJ, et al., Clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 5-12.
13. Sinan ÜY, Meriç DM, Özen DK 6. Dünya Pulmoner Hipertansiyon Sempozyumu. <https://www.tkd.org.tr/PHGundem/makale=10>
14. van Loon RLE, Roofthoof MT, Hillege HL, et al., Pediatric pulmonary hypertension in the Netherlands: epidemiology and characterization during the period 1991 to 2005. *J Circulation* 2011; 110: 69-84.
15. Ivy DD, Rosenzweig EB, Lemarié JC, et al., Long-term outcomes in children with pulmonary arterial hypertension treated with bosentan in real-world clinical settings. *Am J Cardiol* 2010; 106: 1332-1338.
16. Rubin L, Primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1997; 336: 111-117.
17. Friedman W, Proceedings of National Heart, Lung, and Blood Institute pediatric cardiology workshop: pulmonary hypertension. *Pediatr Res* 1986; 20: 811.
18. McLaughlin V, Davis M, Cornwell W, Pulmonary arterial hypertension. *Curr Probl Cardiol* 2011; 36: 461-517.
19. Oka M, Homma N, Taraseviciene-Stewart L, et al., Rho kinase-mediated vasoconstriction is important in severe occlusive pulmonary arterial hypertension in rats. *Circ Res* 2007; 100: 923-929.
20. Chan SY, Loscalzo J, Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 44: 14-30.
21. Gaine S, Pulmonary hypertension. *Chest* 2000 ; 284: 3160-3168.

22. Moss A, Moss and Adams' heart disease in infants, children, and adolescents: including the fetus and young adult. Lippincott Williams & Wilkins: 2007; 393-398.
23. Moledina S, Hislop A, Foster H, et al., Childhood idiopathic pulmonary arterial hypertension: a national cohort study. *Heart* 2010; 2009: 182-378.
24. Vogel M, Berger F, Kramer A, et al., Incidence of secondary pulmonary hypertension in adults with atrial septal or sinus venosus defects. *Heart* 1999; 82: 30-33.
25. Olguntürk R, Pediatrik pulmoner hipertansiyon ve doğumsal kalp hastalıklarına bağlı pulmoner arteriyel hipertansiyon. *J Ana Cardiol* 2010; 388: 10-14.
26. Humbert M, Sitbon O, Simonneau G, Treatment of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2004; 351: 1425-1436.
27. Deng Z, Morse H, Slager S, et al., Familial primary pulmonary hypertension (Gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 737-744.
28. Loscalzo J, Nitric oxide and vascular disease. *J Mass Medical Soc*: 1995; 94: 336-341.
29. Lüscher T, Noll G, The endothelium as a regulator of vascular tone and growth. In *The Endothelium in Cardiovascular Disease*, Springer: *J Am Cardiol* 1995; 88: 1-24.
30. Myung K, Park M, Pediatric cardiology for practitioners. Elsevier Health Sciences: 2011; 67: 333-339.
31. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, et al., The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2863-2867.
32. Gómez-Garre D, Guerra M, González E, et al., Aggregation of human polymorphonuclear leukocytes by endothelin: role of platelet-activating factor. *Eur J Pharmacol* 1992; 224: 167-172.

33. Humbert M, Morrell N, Archer S, et al., Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 13-24.
34. Pektaş A, Olguntürk R, Çocukluk Çağı Pulmoner Hipertansiyonu Tanı ve İzleminde Kullanılan Biyobelirteçler ve Kayma Gerilimi, Tedavi protokolleri ve Prognoz ile İlişkisinin Değerlendirilmesi. *J Ped Cardiol* 2012; 351: 125-136.
35. Badesch D, McLaughlin V, Delcroix M, et al., Prostanoid therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 56-61.
36. Olschewski H, Rose F, Schermuly R, et al., Prostacyclin and its analogues in the treatment of pulmonary hypertension. *Pharmacol Ther* 2004; 102: 139-153.
37. Tuder R, Cool C, Geraci M, et al., Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1925-1932.
38. Christman B, McPherson C, Newman J, et al., An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992; 327: 70-75.
39. Coggins M, Nitric oxide in the pulmonary vasculature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 1877-1885.
40. Bloch K, Ichinose F, Roberts Jr, et al., Inhaled NO as a therapeutic agent. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 339-348.
41. Chatterjee A, Catravas J, Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul Pharmacol* 2008; 49: 134-140.
42. Champion H, Bivalacqua T, Greenberg S, et al., Adenoviral gene transfer of endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) partially restores normal pulmonary arterial pressure in eNOS-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13248-13253.
43. Yuan X, Wang J, Juhaszova M, et al., Attenuated K⁺ channel gene transcription in primary pulmonary hypertension. *Lancet* 1998; 351: 726-727.

44. Hervé P, Launay JM, Scrobohaci ML, et al., Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension. *Am J Med* 1995; 99: 249-254.
45. Zhao Y, Campbell A, Robb M, et al., Protective role of angiotensin-1 in experimental pulmonary hypertension. *Circ Res* 2003; 92: 984-991.
46. Du L, Sullivan C, Chu D, et al., Signaling molecules in nonfamilial pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2003; 348: 500-509.
47. Cowan K, Heilbut A, Humpl T, et al., Complete reversal of fatal pulmonary hypertension in rats by a serine elastase inhibitor. *Nat Med* 2000; 6: 698.
48. Rabinovitch M, Elastase and the pathobiology of unexplained pulmonary hypertension. *Chest* 1998; 114: 213-224.
49. Dresdale D, Schultz M, Michtom R, Primary pulmonary hypertension. I. Clinical and hemodynamic study. *J Am Med* 1951; 11: 686-705.
50. Deng Z, Haghghi F, Helleby L, et al., Fine mapping of PPH1, a gene for familial primary pulmonary hypertension, to a 3-cM region on chromosome 2q33. *American journal of respiratory and critical care medicine*. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1055-9.
51. Lane K, Machado R, Pauciulo M, et al., Heterozygous germline mutations in *BMP2*, encoding a TGF-beta receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. *Nature genetics* 2000; 26: 81-4.
52. Simonneau G, Robbins IM, Beghetti M, et al., Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Col Cardiol* 2009; 54: 43-54.
53. Çıtırık D, Hallıoğlu O, Monocrotaline ile Pulmoner Hipertansiyon Oluşturulan Sıçanlarda Bosentan, Sildenafil ve Kombine Tedavi Uygulaması. *Tez Çalışması* 2012; 2: 11-45.
54. Sztrymf B, Coulet F, Girerd B, et al., Clinical outcomes of pulmonary arterial hypertension in carriers of *BMP2* mutation. *J Am Resp Crit* 2008; 177: 1377-83.
55. Liu D, Wu W, Mao Y, et al., *BMP2* mutations influence phenotype more obviously in male patients with pulmonary arterial hypertension. 2012; *Circgenets*. 111;96 : 22-109.

56. Girerd B, Montani D, Coulet F, et al., Clinical outcomes of pulmonary arterial hypertension in patients carrying an ACVRL1 (ALK1) mutation. *J Am Cardiol* 2010; 181: 851-861.
57. Long L, Crosby A, Yang X, et al., Altered bone morphogenetic protein and transforming growth factor- β signaling in rat models of pulmonary hypertension: potential for activin receptor-like kinase-5 inhibition in prevention and progression of disease. *Circulation* 2009; 119: 566-576.
58. Ma L, Roman-Campos D, Austin E, et al., A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2013; 369: 351-361.
59. Olschewski A, Li Y, Tang B, et al., Impact of TASK-1 in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Circ Res* 2006; 98: 1072-1080.
60. Phillips J, Poling S, Phillips C, et al., Synergistic heterozygosity for TGF β 1 SNPs and BMPR2 mutations modulates the age at diagnosis and penetrance of familial pulmonary arterial hypertension. *Genet Med* 2008; 10: 359.
61. Newman H, Phillips A, Loyd J, Narrative review: the enigma of pulmonary arterial hypertension: new insights from genetic studies. *Ann Intern Med* 2008; 148: 278-283.
62. Small EM, Olson E, Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 2011; 469: 336.
63. Courboulin A, Paulin R, Giguère N, et al., Role for miR-204 in human pulmonary arterial hypertension. *J Exp Med* 2011; 208: 535-548.
64. Brock M, Trenkmann M, Gay R, et al., Interleukin-6 modulates the expression of the bone morphogenic protein receptor type II through a novel STAT3–microRNA cluster 17/92 pathway. *Circ Res* 2009; 104: 1184-1191.
65. Drake K, Zygmunt D, Mavrakakis L, et al., Altered MicroRNA processing in heritable pulmonary arterial hypertension: an important role for Smad-8. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184: 1400-1408.
66. Drake K, Dunmore B, McNelly L, et al., Correction of nonsense BMPR2 and SMAD9 mutations by ataluren in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013; 49: 403-409.

67. Horbelt D, Denkis A, Knaus P, et al., A portrait of Transforming Growth Factor β superfamily signalling: Background matters. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 469-474.
68. Upton P, Davies R, Tajsic T, et al., Transforming Growth Factor- β 1 Represses Bone Morphogenetic Protein-Mediated Smad Signaling in Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells via Smad3. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013; 49: 1135-1145.
69. Wang G, Fan R, Ji R, et al., Novel homozygous BMP9 nonsense mutation causes pulmonary arterial hypertension: a case report. *BMC Pulm Med* 2016; 16: 17.
70. Kim J, Hwangbo C, Hu X, et al., Restoration of impaired endothelial MEF2 function rescues pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2014; 114: 13-19.
71. Austin ED, Loyd J, The genetics of pulmonary arterial hypertension. *Circ Res* 2014; 115: 189-202.
72. Kim MJ, Park SY, Chang H, et al., Clinical significance linked to functional defects in bone morphogenetic protein type 2 receptor, BMPR2. *BMB Rep* 2017; 50: 308.
73. Finkenzeller G, Hager S, Stark G, Effects of bone morphogenetic protein 2 on human umbilical vein endothelial cells. *J Mic Research* 2012; 84: 81-5.
74. Azuma H, Genetic and molecular pathogenesis of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Med Invest* 2000; 47: 81-90.
75. Attisano L, Cárcamo J, Ventura F, et al., Identification of human activin and TGF β type I receptors that form heteromeric kinase complexes with type II receptors. *Cell* 1993; 75: 671-680.
76. Lane KB, Machado RD, Pauciulo MW, et al., Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF- β receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. *Nat Genet* 2000; 26: 81.
77. Fujio K, Komai T, Inoue M, et al., Revisiting the regulatory roles of the TGF-beta family of cytokines. *J Autoimmunity Reviews* 2016; 15: 917-22.

78. West J, Loyd JE, Hamid R, Potential Interventions Against BMPR2-Related Pulmonary Hypertension. *J Progression PH* 2012; 11: 25-32.
79. Gallione CJ, Repetto GM, Legius E, et al., A combined syndrome of juvenile polyposis and hereditary haemorrhagic telangiectasia associated with mutations in MADH4 (SMAD4). *Lancet* 2004; 363: 852-9.
80. Nasim MT, Ogo T, Ahmed M, et al., Molecular genetic characterization of SMAD signaling molecules in pulmonary arterial hypertension. *Human mutation* 2011; 32: 1385-9.
81. Qiao XH, Wang F, Zhang XL, et al., MEF2C loss-of-function mutation contributes to congenital heart defects. *Int J Med Sci* 2017; 14: 1143.
82. Greenwood RD, Nadas A, The clinical course of cardiac disease in Down's syndrome. *J Pediatrics* 1976; 58: 893-897.
83. Vida VL, Padalino MA, Boccuzzo G, et al., Scimitar Syndrome Clinical Perspective: A European Congenital Heart Surgeons Association (ECHSA) Multicentric Study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 122: 1159-1166.
84. Patel MS, Taylor GP, Bharya S, et al., Abnormal pericyte recruitment as a cause for pulmonary hypertension in Adams–Oliver syndrome. *Am J Med Genet A* 2004; 129: 294-299.
85. Stewart DR, Cogan JD, Kramer MR, et al., Is pulmonary arterial hypertension in neurofibromatosis type 1 secondary to a plexogenic arteriopathy? *Chest* 2007; 132: 798-808.
86. Lo SM, Liu J, Chen F, et al., Pulmonary vascular disease in Gaucher disease: clinical spectrum, determinants of phenotype and long-term outcomes of therapy. *J Inherit Metab Dis* 2011; 34: 643-650.
87. McLaughlin V, Archer SL, Badesch DB, et al., A report of the american college of cardiology foundation task force on expert consensus documents and the american heart association. *J Am Coll Cardiol* 2009; 119: 2250-2294.
88. Badesch DB, Abman SH, Simonneau G, et al., Medical therapy for pulmonary arterial hypertension: updated ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2007; 131: 1917-1928.

89. Bull TM, Coldren CD, Moore M, et al., Gene microarray analysis of peripheral blood cells in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 911-919.
90. Risbano MG, Meadows CA, Coldren CD, et al., Altered immune phenotype in peripheral blood cells of patients with scleroderma-associated pulmonary hypertension. *Clin Transl Sci* 2010; 3: 210-218.
91. Sitbon O, Humbert M, Jaïs X, et al., Long-term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Bratisl Lek Listy* 2005; 111: 3105-3111.
92. Raiesdana A, Loscalzo J, Pulmonary arterial hypertension. *Ann Med* 2006; 38: 95-110.
93. Galiè N, Hoeper MM, Humbert M, et al., Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 2009; 30: 2493-2537.
94. Rich S, Dantzker DR, Ayres SM, et al., Primary pulmonary hypertension: a national prospective study. *Ann Intern Med* 1987; 107: 216-223.
95. Ahearn GS, Tapson VF, Rebeiz A, et al., Electrocardiography to define clinical status in primary pulmonary hypertension and pulmonary arterial hypertension secondary to collagen vascular disease. *Chest* 2002; 122: 524-527.
96. Holcomb Jr BW, Loyd JE, Ely EW, et al., Pulmonary veno-occlusive disease: a case series and new observations. *Chest* 2000; 118: 1671-1679.
97. Raymond RJ, Hinderliter AL, Willis PW, et al., Echocardiographic predictors of adverse outcomes in primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1214-1219.
98. Tunariu N, Gibbs SJ, Win Z, et al., Ventilation-perfusion scintigraphy is more sensitive than multidetector CTPA in detecting chronic

- thromboembolic pulmonary disease as a treatable cause of pulmonary hypertension. *J Nucl Med* 2007; 48: 680-684.
99. Torbicki A, Cardiac magnetic resonance in pulmonary arterial hypertension: a step in the right direction. Oxford University Press: 2007;4: 32-35.
 100. Schannwell C, Steiner S, Strauer B, et al., Diagnostics in pulmonary hypertension. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58: 591-602.
 101. Alam S, Palevsky H, Standard therapies for pulmonary arterial hypertension. *Clin Chest Med* 2007; 28: 91-115.
 102. Weissmann N, Tadić A, Hänze Jr, et al., Hypoxic vasoconstriction in intact lungs: a role for NADPH oxidase-derived H₂O₂? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: 683-690.
 103. Barst RJ, Gibbs JSR, Ghofrani HA, et al., Updated evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 78-84.
 104. Rich S, Seidlitz M, Dodin E, et al., The short-term effects of digoxin in patients with right ventricular dysfunction from pulmonary hypertension. *Chest* 1998; 114: 787-792.
 105. Rich S, Kaufmann E, Levy P, The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992; 327: 76-81.
 106. Jones DA, Benjamin CW, Linseman D, Activation of thromboxane and prostacyclin receptors elicits opposing effects on vascular smooth muscle cell growth and mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Mol Pharmacol* 1995; 48: 890-896.
 107. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, et al., A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1996; 334: 296-301.
 108. Hallioglu O, Dilber E, Celiker A, Comparison of acute hemodynamic effects of aerosolized and intravenous iloprost in secondary pulmonary hypertension in children with congenital heart disease. *Am J Cardiol* 2003; 92: 1007-1009.

109. ŞEN HS, İdyopatik Pulmoner Arter Hipertansiyonu Tedavisi: Güncel Durum ve Gelecekteki Yönelişler. Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi 2015; 3: 100-118.
110. Cacoub P, Dorent R, Nataf P, et al., Endothelin-1 in pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1993; 329: 1967.
111. Galiè N, Rubin L, Hoeper M, et al., Treatment of patients with mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension with bosentan (EARLY study): a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 2093-2100.
112. Sitbon O, Gressin V, Speich R, et al., Bosentan for the treatment of human immunodeficiency virus-associated pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 1212-1217.
113. Galiè N, Beghetti M, Gatzoulis MA, et al., Bosentan therapy in patients with Eisenmenger syndrome: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Circulation* 2006; 114: 48-54.
114. Beghetti M, Haworth SG, Bonnet D, et al., Pharmacokinetic and clinical profile of a novel formulation of bosentan in children with pulmonary arterial hypertension: the FUTURE-1 study. *J Clin Pharmacol* 2009; 68: 948-955.
115. Galiè N, Olschewski H, Oudiz RJ, et al., Ambrisentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension: results of the ambrisentan in pulmonary arterial hypertension, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, efficacy (ARIES) study 1 and 2. *Circulation* 2008; 117: 3010-3019.
116. Pulido T, Adzerikho I, Channick RN, et al., Macitentan and morbidity and mortality in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2013; 369: 809-818.
117. Wharton J, Strange JW, Møller GM, et al., Antiproliferative effects of phosphodiesterase type 5 inhibition in human pulmonary artery cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 105-113.
118. Ghofrani HA, Voswinckel R, Reichenberger F, et al., Differences in hemodynamic and oxygenation responses to three different

phosphodiesterase-5 inhibitors in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1488-1496.

119. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, et al., Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *New Engl J Med* 2005; 353: 2148-2157.
120. Galiè N, Brundage BH, Ghofrani HA, et al., Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol* 2009; 119: 2894-2903.
121. Ghofrani HA, Galiè N, Grimminger F, et al., Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *Eur* 2013; 369: 330-340.
122. Ivy DD, Abman SH, Barst RJ, et al., Pediatric pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62: 117-126.
123. Rozkovec A, Montanes P, Oakley C, Factors that influence the outcome of primary pulmonary hypertension. *Br Heart J* 1986; 55: 449-458.
124. Blanc J, Vouhé P, Bonnet D, Potts shunt in patients with pulmonary hypertension. *New Engl J Med* 2004; 350: 623-623.
125. Karpuz D, Hallıoğlu O, Yılmaz D, Increased microvolt T-wave alternans in children and adolescents with Eisenmenger syndrome. *Anatol J Cardiol* 2018; 19: 303.
126. Ma L, Chung W, The role of genetics in pulmonary arterial hypertension. *J Pathol* 2017; 241: 273-280.
127. Koc Y, Korkmaz H, Skleroderma hastalarında BMPR2 ekspresyonunun Real-Time PCR yöntemiyle saptanması ve hastaların klinik seyri ile ilişkilendirilmesi. *Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 2014; 31-2.
128. Bryant AJ, Robinson LJ, Moore CS, et al., Expression of mutant bone morphogenetic protein receptor II worsens pulmonary hypertension secondary to pulmonary fibrosis. *Pulm Circ* 2015; 5: 681-690.
129. West J, Cogan J, Geraci M, et al., Gene expression in BMPR2 mutation carriers with and without evidence of pulmonary arterial hypertension suggests pathways relevant to disease penetrance. *BMC Med Genomics* 2008; 1: 45.

130. Shintani M, Yagi H, Nakayama T, et al., A new nonsense mutation of SMAD8 associated with pulmonary arterial hypertension. *J Med Genet* 2009; 46: 331-337.
131. Yan P, Klingbiel D, Saridaki Z, et al., Reduced expression of SMAD4 is associated with poor survival in colon cancer. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 3037-3047.
132. Demirseren DD, Akoglu G, Emre S, et al., Herediter Hemorajik Telanjiektazi: Geç Tani Almis Bir Olgu/A Case of Late Diagnosed Hereditary Haemorrhagic Telangiectasia. *Türk Dermatoloji Dergisi* 2013; 7: 257.
133. Uznańska-Loch B, Wikło K, Kulczycka-Wojdala D, et al., Genetic variants in the Polish population of patients with pulmonary arterial hypertension sequencing of BMPR2, ALK1 and ENG genes. *Kardiol Pol* 2018; 76: 852-859.
134. Gore B, Izikki M, Mercier O, et al., Key role of the endothelial TGF- β /ALK1/endothelin signaling pathway in humans and rodents pulmonary hypertension. *P LoS One* 2014; 9: 10-31.
135. Sahoo S, Meijles DN, Al Ghouleh I, et al., MEF2C-MYOCD and Leiomodin1 suppression by miRNA-214 promotes smooth muscle cell phenotype switching in pulmonary arterial hypertension. *P LoS One* 2016; 11: 15-37.
136. Hoffmann J, Wilhelm J, Olschewski A, et al., Microarray analysis in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2016; 48: 229-241.

8. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

6DYM:	6 dakika yürüme mesafesi
ACCP:	Amerikan Göğüs Hekimleri Koleji
AHA:	Amerikan Kalp Derneği
ALK1:	Aktivin reseptörü benzeri kinaz tip-1
ASD:	Atriyal septal defekt
ATS:	Amerikan Göğüs Topluluğu
BMPR2:	Kemik morfogenez protein reseptör tip 2
BT:	Bilgisayarlı tomografi
cAMP:	Siklik adenozin monofosfat
CAV-1:	Kaveolin-1
cDNA:	Komplementer deoksiribonükleik asit
cGMP:	Siklik guanozin monofosfat
DKH:	Doğumsal kalp hastalığı
DLCO:	Karbonmonoksit difüzyon kapasitesi
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
DSÖ-FS:	Dünya sağlık örgütü fonksiyonel sınıflandırması
EF:	Ejeksiyon fraksiyonu
EIF2AK4:	Ökaryotik çeviri başlatma faktörü 2-alfa kinaz 4
EKG:	Elektrokardiyografi
EKO:	Ekokardiyografi
ENG:	Endoglin tip III
ERA:	Endotelin reseptör antagonisti
ESC:	Avrupa Kardiyoloji Derneği
ET-1:	Endotelin-1
ET-A:	Endotelin-A reseptörü
ET-B:	Endotelin-B reseptörü
FS:	Fraksiyon kısaltması
HHT:	Hereditör hemorajik telenjiyektazi

HIV:	İnsan immün yetmezlik virüsü
HPAH:	Hereditör pulmoner arteriyel hipertansiyon
IL-6:	İnterlökin-6
IPAH:	İdiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon
KCNK3:	Potasyum kanalı alt ailesi K üyesi 3
KKB:	Kalsiyum kanal blokörleri
KTEPH:	Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon
LA:	Sol atriyum
LV:	Sol ventrikül
LVEDD:	Sol ventrikül diyastol sonu çapı
LVEDS:	Sol ventrikül sistol sonu çapı
MEF2C:	Myosit Arttırıcı Faktör 2C
miRNA:	Mikroribonükleik asitler
mPAB:	Ortalama pulmoner arteriyel basınç
MRG:	Manyetik rezonans görüntüleme
MVP:	Mitral valv prolapsusu
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentaz
PA:	Pulmoner arter
PAB:	Pulmoner arter basıncı
PABd:	Diyastolik pulmoner arter basıncı
PABort:	Ortalama pulmoner arter basıncı
PABs:	Sistolik pulmoner arter basıncı
PAH:	Pulmoner arteriyel hipertansiyon
PAWP:	Ekspiryum sonu pulmoner arter kama basıncı
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDA:	Patent duktus arteriyozus
PDE5-İ:	Fosfodiesteraz-5 inhibitörü
PGI2:	Prostasiklin
PH:	Pulmoner hipertansiyon
PHVH:	Pulmoner hipertansif vasküler hastalık
PVOH:	Pulmoner vasküler obstruktif hastalık

PVR:	Pulmoner vasküler rezistans
PVRI:	Pulmoner vasküler rezistans indeksi
RA:	Sağ atriyum
RV:	Sağ ventrikül
TAPSE:	Triküspit anüler yüzey sistolik sapma
TBX4:	T-Kutusu-4
TGF- β:	Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TGFB_{ACBP1}:	Transforme Edici Büyüme Faktörü β Aktive Kinaz Bağlayıcı Protein 1
TPG:	Transpulmoner basınç gradiyenti
TTE:	Transtorasik ekokardiyografi
TXA2:	Tromboksan A2
TY:	Triküspit yetmezlik
USG:	Ultrason görüntüleme
V/Q:	Ventilasyon/perfüzyon
VEGF:	Vasküler endotelial büyüme faktörü
VSD:	Ventriküler septal defekt

9. ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1:** PAH patofizyolojisi
- Şekil 2:** Pulmoner hipertansiyon patogenezi.
- Şekil 3:** Soldan sağa geęiŐli DKH'de oluşan PAH'ın patogenezi.
- Şekil 4:** TGF- β ve BMPR2 mutasyonlarının etkileri
- Şekil 5:** PAH gelişiminde TGF- β ailesi
- Şekil 6:** TGF- β / BMP yolağı ve SMAD ailesi
- Şekil 7:** Tanısal Algoritma
- Şekil 8:** PH tedavisinde hedeflenen mekanizmalar.
- Şekil 9:** PH tedavi algoritması

10. TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: Pulmoner hipertansiyonda güncel tanımlamalar

Tablo 2: Pulmoner hipertansiyon klinik sınıflandırması

Tablo 3: Pulmoner damar direncini değiştiren etkenler

Tablo 4: Pulmoner hipertansiyonun fonksiyonel sınıflandırılması

Tablo 5: Pulmoner hipertansiyon risk değerlendirilmesi

Tablo 6: cDNA reaksiyon bileşenleri ve miktarları

Tablo 7: cDNA oluşturmak için PCR döngüsü

Tablo 8: Real-Time PCR bileşenleri

Tablo 9: Real-Time PCR döngüsü

Tablo 10: Demografik veriler ve ekokardiyografik parametreler

Tablo 11: Pulmoner hipertansiyona neden olan kalp hastalıkları

Tablo 12: Gen ekspresyon düzeylerinin hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması

Tablo 13: Gen ekspresyon düzeylerinin cinsiyetlerde karşılaştırılması

Tablo 14: Gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 15: Hasta ve kontrol gruplarında gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 16: Kalp kateterizasyonu uygulanan hastalarda gen ekspresyon düzeyleri ve işlem sırasında ölçülen PAB'ları arasında karşılaştırma

11. GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: BMPR2 ve SMAD4 genlerinin hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılması

Grafik 2: MEF2C ve ALK1 genlerinin ortalama PAB ile karşılaştırılması

