

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PULMONER ARTERİYAL HİPERTANSİYON TEDAVİSİNDE
KULLANILAN ILOPROST, BOSENTAN VE SİLDENAFİL'İN
ETKİLERİNDE VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME
FAKTÖRLERİNİN ROLÜ

Dr. Semra YİĞİTASLAN

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2009

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PULMONER ARTERİYAL HİPERTANSİYON TEDAVİSİNDE
KULLANILAN ILOPROST, BOSENTAN VE SİLDENAFİL'İN
ETKİLERİNDE VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME
FAKTÖRLERİNİN ROLÜ

Dr. Semra YİĞİTASLAN

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Doç. Dr. Başar SİRMAGÜL

ESKİŞEHİR
2009

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Semra YİĞİTASLAN' a ait "Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon Tedavisinde Kullanılan Iloprost, Bosentan ve Sildenafil'in Etkilerinde Vasküler Endotelial Büyüme Faktörlerinin Rolü" başlıklı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 01/12/2009

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Kevser EROL Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı
Üye	Prof. Dr. M. İpek CİNGİ Farmakoloji Anabilim Dalı
Üye	Doç. Dr. Başar SIRMAGÜL Farmakoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim boyunca bana bilgi ve tecrübeleri ile desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Kevser EROL'a, Prof. Dr. M. İpek CİNGİ'ye, Doç. Dr. Fatma Sultan KILIÇ'a, tez danışmanım Doç. Dr. Başar SIRMAGÜL'e, Yrd. Doç. Dr. Mahmut ÖZDEMİR'e, Yrd. Doç. Dr. Engin YILDIRIM'a; tez istatistiklerimin yapılmasında yardımlarını ve değerli zamanını bağışlayan Arş. Gör. Ahmet MUSMUL'a teşekkürlerimi sunarım. Tezimde kullandığım maddelerden Bosentan'ı bana hediye eden Actelion İlaç Ltd. Şti'ye ve sayın Marc IGLARZ'a teşekkür ederim.

ÖZET

Yiğitaslan, S. Pulmoner arteriyal hipertansiyon tedavisinde kullanılan İloprost, Bosentan ve Sildenafil'in etkilerinde vasküler endotelial büyüme faktörünün rolü. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2009. Pulmoner arteriyal hipertansiyon (PAH), pulmoner arter basıncında artış ile karakterize ve eğer tedavi edilmezse sağ ventrikül yetmezliğine ve sonuçta da ölüme yol açabilen bir hastalıktır. PAH patogenezinde önemli olan vasküler remodeling gelişiminde büyüme faktörlerinin önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda monokrotalin (MCT) ile pulmoner hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda İloprost, Bosentan ve Sildenafil tedavileri sonrasında serum ve pulmoner arter örneklerinde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeylerindeki değişiklikler incelenmiştir. Sağ ventrikül basınçları ve sağ ventrikül/vücut ağırlığı oranları kontrol gruplarına göre tedavisiz MCT gruplarında anlamlı derecede yüksek gözlenmiş; tedavili MCT gruplarında ise tedavisiz MCT gruplarına göre anlamlı bir düşüklük gözlenmiştir. Serum VEGF (sVEGF) ve pulmoner arter VEGF düzeyleri (paVEGF); kontrol gruplarına göre tedavisiz MCT gruplarında anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. Tedavili MCT gruplarında ise sVEGF ve paVEGF düzeyleri tedavisiz MCT gruplarına göre, İloprost grubunda ise ayrıca kontrol gruplarına göre de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak tedavisiz MCT gruplarında azalmış VEGF düzeyleri ve tedavili MCT gruplarında artmış VEGF düzeyleri sonuçlarımız; prognostik açıdan PH hemodinamisinin VEGF düzeyini artırmaya yönelik tedavi seçenekleri açısından değerlendirilmesinin uygun olacağını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: sıçan, pulmoner hipertansiyon, monokrotalin, vasküler endotelial büyüme faktörü, transforme edici büyüme faktörü-beta

ABSTRACT

Yigitaslan S. Role of vascular endothelial growth factor in effects of Iloprost, Bosentan and Sildenafil that are used in treatment of pulmonary arterial hypertension. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Pharmacology Department, Medical Speciality Thesis, Eskisehir, 2009. Pulmonary arterial hypertension (PAH) is characterized by increased pulmonary artery pressure and causes right ventricle failure and eventually death if left untreated. In vascular remodeling, which is important in PAH pathogenesis, growth factors are thought to play a key role. In our study, we investigated serum and pulmonary artery vascular endothelial growth factor (VEGF) levels after treatment with Iloprost, Bosentan and Sildenafil in monocrotaline (MCT) induced pulmonary hypertensive rats. Right ventricle pressures and right ventricle/body weight ratios were significantly increased in non-treated MCT groups compared with control groups and significantly decreased in treated MCT groups compared with non-treated MCT groups. Serum VEGF (sVEGF) and pulmonary artery VEGF levels (paVEGF) were found to be significantly decreased in non-treated MCT groups compared with control groups. In treated MCT groups, sVEGF and paVEGF levels were significantly increased compared with non-treated MCT groups and in Iloprost group also compared with control groups. In conclusion, our results, that was displaying decreased VEGF levels in non-treated MCT groups and increased VEGF levels in treated MCT groups, indicates that evaluating PAH hemodynamics in regard to therapeutic interventions intended for increasing VEGF levels seems to be acceptable.

Key words: rat, pulmonary hypertension, monocrotaline, vascular endothelial growth factor, transforming growth factor-beta

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon Tanımı	4
2.2. Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon Sınıflandırması	5
2.3. Pulmoner Hipertansiyon Epidemiyolojisi Ve Risk Faktörleri	7
2.4. Pulmoner Hipertansiyon Patolojisi	7
2.5. Pulmoner Hipertansiyon Patogenezi	8
2.6. Genetik Faktörler	8
2.7. Pulmoner Hipertansiyonun Hücresel Mekanizmaları	8
2.8. Pulmoner Hipertansiyonun Moleküler Mekanizmaları	11
2.9. Pulmoner Hipertansiyonun Bulguları	15
2.10. Pulmoner Hipertansiyon Tedavisi	15
2.11. Pulmoner Hipertansiyon Modelleri	22
2.12. Pulmoner Hipertansiyon Ve Büyüme Faktörleri	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Hayvanlar	26
3.2. DeneYlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler Ve Çözeltiler	26
3.3. DeneYlerde Kullanılan Cihazlar	26
3.4. DeneYlerde Kullanılan Çözeltiler Ve Konsantrasyonları	28
3.5. DeneYlerde Kullanılan Kitler	28
3.6. Deneysel Pulmoner Hipertansiyon Modelinin Oluşturulması	28
3.7. DeneY Protokolü	29

3.8. İstatistiksel Deęerlendirme	36
4. BULGULAR	37
4.1. Sağ Ventrikül Basınçları	38
4.2. Sağ Ventrikül/Vücut Ağırlığı Oranları	39
4.3. Serum VEGF Düzeyleri	40
4.4. Pulmoner Arter VEGF Düzeyleri	41
4.5. Serum TGF- β Düzeyleri	42
4.6. Pulmoner Arter TGF- β Düzeyleri	43
4.7. Korelasyon Analizleri	44
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	56

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT	5-Hidroksitriptamin
ANA	Antinükleer antikor
BH ₄	Tetrahidrobiyopterin
BMPR	Kemik morfojenik proteini reseptörü
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EGF	Epidermal büyüme faktörü
ELISA	Enzim-bağlantılı immün test
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
ERA	Endotelin reseptör antagonistleri
ET	Endotelin
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
IGF	İnsülin-benzeri büyüme faktörü
IL	İnterlökin
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
i.p.	İntraperitoneal
KGf	Keratinosit büyüme faktörü
KKB	Kalsiyum kanal blokörleri
KOAH	Kronik obstruktif akciğer hastalığı
Kv	Voltaj-kapılı potasyum kanalları
L-NMMA	NG-mono-metil-L-arjinin
MCT	Monokrotalin
MMP	Matriks metalloproteinazları
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NHYA	New York Kalp Birliği
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PAB	Pulmoner arter basıncı

PAF	Platelet aktive edici faktör
PAH	Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon
PDE-5	Fosfodiesteraz-5
PDGF	Platelet kökenli büyüme faktörü
PGF	Plasental büyüme faktörü
PH	Pulmoner hipertansiyon
SF	Serum fizyolojik
TGF- β	Transforme edici büyüme faktörü-beta
TNF	Tümör nekrotizan faktör
TxA ₂	Tromboksan A ₂
VEGF	Vasküler endotelial büyüme faktörü
VEGFR	Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü
VIP	Vazoaktif intestinal peptid

ŞEKİLLER

	Sayfa
3.1. Deneyleerde kullanılan cihazlar	27
3.2. İloprost infüzyonu için osmotik pompanın yerleştirilmesi	31
3.3. Pulmoner arter basıncı ölçümü	32
3.4. Pulmoner arter basıncı kayıtları	33
3.5. MP150 veri toplama sistemi	34
3.6. Pulmoner arter örneklerinin alınması ve sağ ventrikülün ayrılması	35
4.1. Sağ ventrikül basınçları	38
4.2. Sağ ventrikül/vücut ağırlığı oranları	39
4.3. Serum VEGF düzeyleri	40
4.4. Pulmoner arter homojenatında VEGF düzeyi	41
4.5. Serum TGF- β düzeyleri	42
4.6. Pulmoner arter homojenatlarında TGF- β düzeyleri	43
4.7. Sağ ventrikül basıncı ile sVEGF düzeylerinin karşılaştırılması	45
4.8. Sağ ventrikül basıncı ile paVEGF düzeylerinin karşılaştırılması	45
4.9. Sağ ventrikül basıncı ile sTGF- β düzeylerinin karşılaştırılması	46
4.10. Sağ ventrikül basıncı ile paTGF- β düzeylerinin karşılaştırılması	46

TABLULAR

Sayfa

4.1. Vücut, kalp ve sağ ventrikül ağırlığı ortalama değerleri	37
4.2. Tüm gruplarda değerlendirmeye alınan parametreler	37
4.3. Korelasyon analizi sonuçları	44

1. GİRİŞ

Pulmoner arteriyal hipertansiyon (PAH), sağ ventrikül yetmezliğine yol açan pulmoner arter basıncı artışı ile karakterize ilerleyici bir durumdur (1). PAH gelişiminde ve ilerlemesinde rol alan birçok patolojik olay vardır. Bunlar pulmoner vazokonstriksiyon (2), daha çok küçük arter ve arteriollerin muskularizasyonu ile pulmoner vasküler remodeling (3), inflamasyon, endotelial hücrelerin apoptozisi ve ardından apoptozise dirençli endotelial bir fenotipin gelişmesi (4), fibrozis ve in situ trombozudur (5-7). Pulmoner vazodilatörler PAH için önemli bir tedavidir. Bu ilaçlar PAH' da pulmoner arter basıncını düşürür, hemodinamik fonksiyonu düzeltir, akciğerlerde ventilasyon/perfüzyon uyumunu düzenler ve fonksiyonel hayat kalitesini, egzersiz intoleransını ve sağ kalımı düzeltir (8). Ancak yapılan çalışmalarda hastalığın gelişmesinde ve ilerlemesinde vazokonstriksiyondan ziyade vasküler remodeling'in daha önemli olduğu gösterilmiş ve pulmoner vasküler remodeling hedeflenerek yeni tedavi yaklaşımları geliştirilebileceği öne sürülmüştür (9). Pulmoner vasküler remodeling, damar her üç tabakasında da (adventisya, media ve intima) kalınlaşma ile karakterizedir. Bu kalınlaşma her bir tabakada baskın olan hücre tipinde (yani fibroblastlar, düz kas hücreleri ve endotelial hücreler) hipertrofiye (hücre büyümesi) ve hiperplaziye (proliferasyon), bunun yanı sıra ekstrasellüler matriks proteinlerinin (kollajen, elastin, fibronektin vb) depolanmasındaki artışa bağlıdır (2, 9-13). Pulmoner vasküler remodeling, mekanik gerilim ve shear stres (kayma gerilimi) gibi fiziksel uyarılara ve hipoksi, vazoaktif maddeler [anjiotensin-II, endotelin-I, serotonin (5-HT) ve serotonin taşıyıcısı, tromboksan A2 (TXA2) gibi], büyüme faktörleri (transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) vb] gibi kimyasal uyarılara cevap olarak meydana gelir (2, 9). Yapılan araştırmalarda PAH gelişimi ve ilerlemesinde düz kas ve endotelial hücre çoğalmasının ve yeni intimal oluşumun önemli rol oynadığı gösterilmiş olmasına rağmen PAH tedavisi için bu hedeflere yönelik stratejiler yeterince geliştirilmemiştir (9, 14, 15). Şu anda PAH

tedavisinde etkili oldukları gösterilen 3 ilaç sınıfı vardır: prostasiklinler, endotelin reseptör antagonistleri ve fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibitörleri (1, 8, 14, 16-18).

Prostasiklinler araşidonik asidin bir metabolitidir ve damar endotel tarafından endojen olarak üretilir (17). Damar düz kasında prostasiklinler solubl adenilat siklazı uyarır ve adenozin trifosfatı (ATP) siklik adenozin monofosfata (cAMP) dönüştürür. Bundan sonra protein kinazlar hücre içi kalsiyum düzeyinde cAMP-bağımlı bir düşüşe aracılık ederler ve vazodilatasyona yol açarlar (8, 19). Prostasiklinler bu vazodilatör etkilerinin yanı sıra antiproliferatif, anti-inflamatuar ve anti-trombotik etki de gösterir (14, 20). İn hale bir prostasiklin analogu olan iloprostun PAH hastalarında egzersiz kapasitesini, hemodinamik değişkenleri ve New York Kalp Birliği/Dünya Sağlık Örgütü (NYHA/WHO) fonksiyonel sınıfını düzelttiği gösterilmiştir (21).

Bosentan; PAH tedavisi için FDA tarafından onay almış, oral yolla uygulanan nonspesifik bir endotelin tip A ve tip B reseptör antagonistidir (8). Bosentan'ın PAH hastalarında kardiyopulmoner hemodinamik değişkenleri, NYHA/WHO fonksiyonel sınıfını, egzersiz kapasitesini ve klinik prognozu olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (21, 22).

Sildenafil, siklik guanozin monofosfat (cGMP) yıkımına yol açan fosfodiesteraz enzimini inhibe eder, nitrik oksit (NO)-bağımlı vazodilatasyonu güçlendirir ve PAH'da gözlenen hemodinamik anormallikleri düzeltir (8, 14, 17, 18). Birçok randomize çalışmada sildenafil kullanımı ile hemodinamik değişkenlerde, fonksiyonel sınıfta ve 6 dakikalık yürüme testinde düzeltilmeler gözlenmiştir (23, 24).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), akciğerlerde yüksek düzeylerde eksprese edilir ve endotelial hücreler için ana büyüme faktörüdür. Ayrıca PAH' da gözlenen pleksiform lezyonlardan da yüksek oranda eksprese edilmektedir (2). VEGF ligandının ana reseptörü olan VEGFR-2'nin tirozin kinaza bağlanması eNOS ekspresyonunu ve prostasiklin üretimini artırmaktadır (25). Yenidoğan sıçanlarda VEGFR-2 blokajı, sağ ventrikül hipertrofisi ile birlikte pulmoner hipertansiyona yol açmıştır (26).

VEGF ile tedavi ductus arteriozus parsiyel ligasyonu olan fetal koyunlarda pulmoner hipertansiyonun şiddetini azaltmış (27) ve VEGF gen transferi de sıçanlarda monokrotalin ile oluşturulan (28) veya immatür tavşanlarda bleomisin ile oluşturulan (29) pulmoner hipertansiyonu hafifletmiştir.

Çalışmamızda, pulmoner hipertansiyon sürecinde VEGF düzeyinde gözlenen değişikliklerin, pulmoner yataktaki etkilerinin ve PH tedavisinde kullanılmakta olan Bosentan, Sildenafil ve İloprost'un VEGF ile ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için monokrotalin ile pulmoner hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda sağ ventrikül basınçları, sağ ventrikül hipertrofisi ile serum ve pulmoner arter örneklerinde VEGF düzeyleri değerlendirilmiştir. PAH patogenezinde yer alan inflamasyonun da bu tedavilerden ve VEGF düzeylerinden etkilenme durumunu değerlendirmek amacıyla da serum ve pulmoner arter örneklerinde transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) düzeyleri çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon Tanımı

Pulmoner arteriyal hipertansiyon (PAH), tedavi edilmezse sağ ventrikül yetmezliğine ve ölüme yol açabilen, pulmoner arteriyal basınçta (PAB) artış ile karakterize ilerleyici bir hastalıktır (1, 3, 21). Hemodinamik olarak ise ortalama PAB'ın istirahatte 25 mm Hg veya egzersiz ile 30 mm Hg üzerinde, pulmoner kapiller wedge veya sol ventriküler diyastol-sonu basıncın 15 mm Hg altında ve pulmoner damar direncinin 3 Wood ünite üzerinde olması şeklinde tanımlanır (1, 7, 21, 30).

Pulmoner dolaşım düşük basınçlı, yüksek akımlı bir sistemdir ve normalde perfüze olmayan damarların açılma kapasitesi yüksektir. Bu nedenle pulmoner arterlerin duvarları, düşük transmural basınçlarına uygun olarak venöz yapıdadır (10). PAH, pulmoner damar direncinde ilerleyici bir artışa yol açan damar daralması ile karakterize küçük pulmoner arterlerin bir hastalığıdır. Bu sağ ventrikül art-yükünün artması sonucunda sağ ventrikül yetmezliği meydana gelir (10, 21). Bu hastalıkta gözlenen damar direnci artışına vazokonstriksiyon, damar proliferasyonu (remodeling) ve trombozis katkıda bulunmaktadır (6, 9, 31, 32). Ancak şu anda PAH patogenezinde en belirgin özelliğin vasküler remodeling nedeniyle pulmoner arteriyal obstruksiyon ve dolayısıyla da pulmoner vazokonstriksiyon olduğu kabul edilmektedir (9). Pulmoner vasküler remodelling gelişimi damar duvarının tüm tabakalarını içerir ve pulmoner arteriyal duvar kompartmanı içerisinde hücresel heterojenite bulunması ile daha da karmaşık bir hale gelmektedir (9). Endotelial hücreler, düz kas hücreleri, fibroblastlar ve trombositlerin hepsi PAH gelişiminde önemli rollere sahiptir (10, 33). Ayrıca vazokonstriktör ve vazodilatör faktörler, proliferasyonu uyarıcı ve baskılayıcı faktörler, koagulan ve antikoagulan maddeler, inflamatuvar hücreler ve farklı vazoaktif maddeler de bu hastalığın gelişiminde rol alır (10, 33).

PAH tedavisinde sıklıkla kullanılan farmakolojik ajanlar kalsiyum kanal blokörleri, prostanoidler, endotelin antagonistleri ve fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleridir. Bu ajanların hepsinin pulmoner vazodilatör etkisi ve kalsiyum kanal blokörleri hariç antiproliferatif özellikleri bulunmaktadır (1).

2.2. Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon Sınıflandırması

PAH, eskiden belirlenebilir nedenler veya risk faktörleri bulunup bulunmamasına göre primer pulmoner hipertansiyon (PPH) ve sekonder pulmoner hipertansiyon olarak sınıflandırılmaktaydı. 1998'de Fransa, Evian'da Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından düzenlenen Pulmoner Hipertansiyon II. Dünya Sempozyumu'nda pulmoner hipertansiyon için klinik bir sınıflandırma öne sürülmüştür. Bu sınıflandırmanın amacı, patofizyolojik mekanizmalar, klinik tablo ve tedavi seçenekleri açısından benzer özellikler taşıyan kategoriler oluşturmaktır. 2003'te yine DSÖ tarafından Venedik'te düzenlenen Pulmoner Hipertansiyon Dünya Sempozyumu'nda Evian Sınıflandırması'ndaki genel yapı korunup ufak değişiklikler yapılarak daha kapsamlı ve kolay anlaşılır Venedik sınıflandırması öne sürülmüştür (21, 30, 31).

Pulmoner Hipertansiyonun Sınıflandırılması (Venedik 2003) (21, 30, 31)

1. Pulmoner arteriyal hipertansiyon (PAH)

1.1. İdiyopatik PAH

1.2. Ailesel PAH

1.3. Diğer hastalıklar ile ilişkili PAH

1.3.1. Kollajen vasküler hastalıklar

1.3.2. Konjenital sistemik-pulmoner şantlar

1.3.3. Portal hipertansiyon

1.3.4. HIV enfeksiyonu

1.3.5. İlaçlar ve toksinler

1.3.6. Diğerleri (Tiroid hastalıkları, glikojen depo hastalığı, Gaucher hastalığı, herediter hemorajik telenjektazi, hemoglobinopatiler, myeloproliferatif hastalıklar, splenektomi)

1.4. Ciddi venöz veya kapiller tutulum ile ilişkili PAH

1.4.1. Pulmoner veno-okluziv hastalık

1.4.2. Pulmoner kapiller hemanjiyomatosis

1.5. Yenidoğanların persistan pulmoner hipertansiyonu

2. Sol kalp hastalığı ile birlikte pulmoner hipertansiyon

- 2.1. Sol taraflı atriyal veya ventriküler kalp hastalığı
- 2.2. Sol taraflı valvular kalp hastalığı
3. Akciğer hastalıkları ve/veya hipoksemi ile ilişkili PH
 - 3.1. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)
 - 3.2. İnterstisyel akciğer hastalıkları
 - 3.3. Uyku apnesi
 - 3.4. Alveoler hipoventilasyon bozuklukları
 - 3.5. Uzun süreli yüksek rakıma maruziyet
 - 3.6. Gelişimsel anormallikler
4. Kronik trombotik veya embolik hastalık sonucu gelişen PAH
 - 4.1. Proksimal pulmoner arterlerin tromboembolik obstrüksiyonu
 - 4.2. Distal pulmoner arterlerin tromboembolik obstrüksiyonu
 - 4.3. Trombotik olmayan pulmoner embolizm (tümör, parazitler, yabancı cisimler)
5. Diğerleri (sarkoidoz, histiyositozis X, lenfanjiomatozis, pulmoner damarlara bası)

PAH, pulmoner hipertansiyonun bir alt grubudur ve ortalama PAB'ın istirahatte 25 mm Hg ve egzersizle 30 mm Hg üzerinde olması, normal bir pulmoner kapiller wedge basıncı ve/veya sol ventrikül diyastol-sonu basıncı ve pulmoner arteriyole yerleşen bir lezyon bulunması olarak tanımlanır (31).

Pulmoner venöz hipertansiyon (PVH), ortalama PAB'ın istirahatte 25 mm Hg ve egzersizle 30 mm Hg üzerinde olması, yüksek bir pulmoner kapiller wedge basıncı ve/veya sol ventrikül diyastol-sonu basıncı bulunması olarak tanımlanır. Nedenleri sistolik ve diastolik kalp yetmezliği ve ayrıca sol-taraflı valvüler kalp hastalığıdır (31).

Solunum sistemi veya hipoksemi ile ilişkili pulmoner hipertansiyon, pulmoner arteriyal kanın yetersiz oksijenizasyonu nedeniyle gelişen kategoridir ve parenkimal akciğer hastalıklarına (amfizem, interstisyel akciğer hastalığı gibi), nefes kontrolünün bozulmasına (obezite hipoventilasyonu, obstrüktif uyku apnesi gibi) veya yüksek rakımda yaşama gibi nedenlere bağlı olabilir. Kural olarak, ortalama PAB daha ılımlı seyredir (35 mm Hg altında) (31).

Kronik trombotik veya embolik hastalığa bağlı pulmoner hipertansiyon dışlanması gereken önemli bir kategoridir, çünkü ana pulmoner arterlerde bulunan proksimal yerleşimli bir pıhtı pulmoner endarterektomi ile cerrahi olarak düzeltilebilir (31).

Aminoreks, deksfenfluramin ve fenfluramin içeren iştah kesici ilaçları kullanan kişilerde PAH gelişme riski yüksektir (34, 35). Bu riskin anoreksik ajanların uzun süreli kullanımı ile arttığı ve hatta üç aydan daha fazla kullanımlarda riskin 30 kata kadar artabileceği bildirilmiştir (34).

2.3. Pulmoner Hipertansiyon Epidemiyolojisi Ve Risk Faktörleri

Pulmoner hipertansiyonun genel popülasyondaki sıklığının milyonda 1-2 vaka olduğu (36) ve 2-3 kat olmak üzere erkeklere göre kadınlarda daha sık gözleendiği bildirilmiştir. Hastalık herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir, ama tanı sırasında ortalama yaş 36.4 olarak bulunmuştur. Etnik bir farklılık gözlenmemiştir (37).

Birçok farklı risk faktörü PAH gelişimine yatkınlık yaratabilir. PAH ile ilişkili olduğu gösterilen bu risk faktörleri; iştah kesici ilaçların kullanımı (34, 35), insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu, portal hipertansiyonlu siroz, bağ doku hastalıkları, konjenital sistemik-pulmoner şantlar, tiroid hastalıkları ve hemoglobinopatilerdir (38).

2.4. Pulmoner Hipertansiyon Patolojisi

Pulmoner arter normalde pulmoner damar yatağının yüksek-akımlı, düşük-basınçlı bir dolaşım olmasını sağlayacak şekilde az sayıda kas lifine sahiptir. PAH'da damarların patolojik yapısı özgün ve tanısız değildir ve düz kas hipertrofisi, intimal hiperplazi, fibrinoid dejenerasyon ve in situ tromboz gözlenir (6, 36). Arterit ve tipik pleksiform lezyonlar gibi daha karmaşık lezyonlar da görülebilir (36).

Pleksiform lezyonlar PAH'da klasik patolojik bulgudur ve fokal medial hasar, intimal proliferasyon ve anevrizmal dilatasyondan ibarettir (39).

PAH, üç farklı patolojik tipe sahiptir: pleksojenik arteriyopati, trombotik arteriyopati ve veno-okluziv hastalık (36).

2.5. Pulmoner Hipertansiyon Patogenezi

PAH gelişiminde ve hastalığın ilerlemesinde rol alan bazı patolojik olaylar vardır. Bunlar pulmoner vazokonstriksiyon (2), pulmoner damarlarda remodeling (3), inflamasyon, endotelial hücrelerin apoptozisi ve ardından apoptozise-dirençli endotelial bir fenotipin oluşması, fibrozis ve in situ trombozudur (4-7). Ancak PAH patogenezinde en önemli özelliğin remodeling ve damar proliferasyonu nedeniyle pulmoner arteriyal obstruksiyon olduğu kabul edilmektedir. Pulmoner vasküler remodelling, damar duvarının her üç tabakasını da içerir ve pulmoner arteriyal duvar kompartmanında hücrel heterojenite bulunmaktadır (40).

2.6. Genetik Faktörler

Ailesel PAH'da yapılan genetik çalışmalarda transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β /kemik morfojenik proteini (BMP) süperaillesinin bir reseptörü olan kemik morfojenik proteini tip II reseptöründe (BMPR-II) heterozigot germline mutasyonları görülmüştür (41, 42). BMPR-II genindeki mutasyonun idiyopatik PAH gelişiminde önemli olan BMPR-2 reseptöründe fonksiyonel bir yetersizliğe yol açtığı düşünülmektedir (33). BMPR-2'yi kodlayan gendeki germline mutasyonlar ailesel PAH vakalarının %70'den fazlasında ve idiyopatik PAH vakalarının %26'ya kadarında bulunmaktadır (41). Soyağacı analizlerinde otozomal dominant bir kalıtım gözlenmiştir, ama penetrans düşüktür, çünkü genetik taşıyıcıların sadece %10-20'sinde klinik PAH gelişmektedir (42).

2.7. Pulmoner Hipertansiyonun Hücrel Mekanizmaları

2.7.1. Endotel Disfonksiyonu Ve Pulmoner Vazokonstriksiyon

Sağlam bir damar endoteli normal fizyolojik koşullar altında düz kas hücreleri fenotipinin ve kan damarı yapısının korunmasında çok önemli bir role sahiptir (33). Hipoksi, mekanik hasarlar, inflamasyon, ilaçlar ve toksinler gibi bazı uyaranlar endotel hücre yapısını, fonksiyonunu ve metabolizmasını bozar (10, 33). Endotel hasarı, kendisinin bariyer fonksiyonunu ve düz kas hücreleri ile bağlantısını bozar, ayrıca vazokonstriksiyona, düz kas hücre proliferasyonuna ve pıhtılaşma bozukluklarına yol açar (33).

Pulmoner vazokonstriksiyonun pulmoner hipertansif sürecin erken görülen bileşenlerinden biri olduğu düşünülmektedir (10). Aşırı derecede vazokonstriksiyonun potasyum kanallarının anormal fonksiyonuna ve endotel disfonksiyonuna bağlı olduğu öne sürülmüştür (21, 40). Endotel disfonksiyonu; nitrik oksit (NO) ve prostasiklin gibi vazodilatörlerin yetersiz salınmasına ve serotonin (5-HT) ve endotelin (ET)-1 gibi vazokonstriktörlerin fazla salınmasına yol açar. Normal şartlar altında vazodilatörler ve vazokonstriktörler arasında bulunan bu dengenin bozulması da hem damar tonusunu bozar, hem de vasküler remodeling'e öncülük eder (6, 10, 32).

2.7.2. Vasküler Remodeling

Pulmoner vasküler remodeling, PAH'ın temel patolojik bulgusudur ve damar duvarının her üç tabakasında (adventisya, media ve intima) kalınlaşma ile karakterizedir (9, 33). Bu kalınlaşma, her bir tabakadaki baskın hücre tipinde (fibroblastlar, düz kas hücreleri ve endotelial hücreler) hipertrofi ve/veya hiperplaziye ve ayrıca ekstrasellüler matriks bileşenlerinin (kollajen, elastin ve fibronektin) depolanmasında artışa bağlıdır (9, 12).

PAH'da düz kas hücrelerinin normalde hareketsiz olan media tabakası proliferatif bir hale gelir ve düz kas hücreleri çoğalıp büyüyerek media hipertrofisine yol açar. Ayrıca normal koşullar altında farklılaşma göstermeyen düz kas öncü hücreleri yeni düz kas hücrelerine dönüşür ve buna neomuskularizasyon denir (9, 10, 12, 33).

Özellikle de PAH olmak üzere bazı PH tiplerinde görülen önemli bir özellik pleksiform lezyon olarak adlandırılan kompleks bir damar yapısının gözlenmesidir (9, 11). Pleksiform lezyonlar genelde küçük pulmoner arter dallarında, ana arterinden ayrılma yerinde görülür. Pleksiform lezyonlar, asellüler bir matriks içine gömülü atipik endotelial hücreler ve myofibroblast gibi çoğalan hücrelerce ayrılan kapiller-benzeri kanallar ağı içeren genişlemiş bir keseden ibarettir (43). Yine bazı PH tiplerinde görülen diğer bir anormallik ise internal elastik laminanın luminal tarafında yerleşmiş olan düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriksten oluşan neointimal lezyonlardır (9, 10).

Pulmoner vasküler remodeling; mekanik gerilme, kayma gerilimi, hipoksi, vazoaktif maddeler ve çeşitli büyüme faktörleri gibi bazı uyarılara

cevap olarak meydana gelir (9, 33). Oluşan bu remodelingin bazı fizyolojik sonuçları vardır. Birincisi muskuler arterlerin mediasında düz kas artışı ve distal arterlerin neomuskularizasyonu; vazokonstriktör ajanlar ve hipoksi gibi uyarılara karşı duvar geriminde aşırı bir artışa yol açar (9). İkincisi medial kalınlaşma ve intimal proliferasyon; pulmoner arter lümeninin daralmasına yol açar (44). Bu da pulmoner damar direncinde ve pulmoner arter basıncında artışa yol açar. Üçüncüsü media ve adventisyada kollajen depolanması; arter uyuncunda azalmaya yol açarak kardiyak outputtaki artışların soğurulamamasına ve sağ ventrikül basıncının artmasına yol açar (45). Son olarak da remodeling; pulmoner vazodilatörlerin pulmoner damar direncini düşürme yeteneğini azaltır (9).

2.7.3. İnflamasyon

İnflamatuvar mekanizmalar bazı PH tiplerinde önemli role sahip gibi görünmektedir. Bazı idiyopatik PAH hastalarında anti-nükleer antikor (ANA), interlökin (IL)-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar hücre faktörlerinin düzeyleri yüksek bulunmuştur (33). Ayrıca sistemik lupus'a bağlı bazı PH vakalarında immunosupresif tedavi ile iyileşme gözlenmesi de bu hasta grubunda inflamasyonun önemini vurgulamaktadır (10, 33).

2.7.4. Fibrozis

Kan damarlarının dış tabakasında bulunan fibroblastların proliferasyonu, bağ dokuda anormal birikimler ve ekstrasellüler matriks değişiklikleri remodeling'in önemli bileşenlerindedir (10, 33). Özellikle de hipoksi modellerinde pulmoner hipertansif uyarana karşı proliferere olmak ve matriks proteinlerini sentezlemek için ilk aktive olan hücre fibroblastlardır (46). Adventisyal fibroblastların mediaya ve daha sonra da intimaya göçünü sağlayan bu süreçte rol alan matriks metalloproteinazlarının (MMP2 ve MMP9) upregülasyonu olduğunu gösteren bulgular vardır (10, 33).

2.7.5. Trombozis

Trombotik lezyonlar ve trombosit disfonksiyonu PAH patogeneğinde önemlidir. Endotel hasarı, trombositlerin aktivasyonuna ve aglutinasyonuna yol açar (33). Trombomodulin ve fibrinoliz sistemlerindeki anormallik

pulmoner arterde in situ trombozu uyarır (10, 32, 47). Koagulyasyondaki rolünün yanı sıra trombositler, pulmoner vazokonstriksiyon ve remodeling'de rol alan tromboksan A2 (TXA2), trombosit aktive edici faktör (PAF), serotonin, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi maddeleri de depolar ve salgılar (10, 33).

2.8. Pulmoner Hipertansiyonun Moleküler Mekanizmaları

2.8.1. Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO), biyolojik sıvılarda kısa bir yarı-ömre sahip bir serbest radikaldir (48). NO, güçlü bir pulmoner arteriyal vazodilatör ve ayrıca trombosit aktivatörü ve damar düz kas proliferasyonunun inhibitörüdür (2, 13). NO, oksijenden ve L-arjinin'den hepsi de akciğerde eksprese edilen üç NO sentaz (NOS) ailesi aracılığıyla sentezlenir (48, 49). NOS izoformları NOS1 (nöronal/nNOS), NOS2 (indüklenebilir/iNOS) ve NOS3 (endotelial/eNOS)'dur. eNOS, tüm vücutta damar endotel hücrelerinde eksprese edilir ve pulmoner dolaşımdaki NO sentezinin ana kaynağıdır (49). NO, endotelial hücrelerde sentezlendikten sonra damar düz kas hücrelerinde hedefi olan çözünür guanilat siklazı aktive eder. Bu klasik NO yolağında çözünür guanilat siklaz aktivasyonu, siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretimini artırır, bu da vazodilatasyona yol açan cGMP-bağımlı protein kinazı aktive eder (48, 49).

PAH patogenezinde en önemli faktörlerden birinin NO biyoyararlanımının azalması olduğu düşünülmektedir. Ancak bunun endotelial disfonksiyonun nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu kesin olarak bilinmemektedir. NO sentezini ve NO biyoyararlanımını etkileyen bazı faktörler vardır (50). NOS fonksiyonunda önemli olan bir faktör substrat ve ko-faktörlerin mevcudiyetidir. L-arjinin'den NO sentezi, bazı arjinin analogları tarafından farmakolojik olarak inhibe edilebilir. Bu inhibitörlerden ikisi NG-mono-metil-L-arjinin (L-NMMA) ve asimetrik dimetilarjinindir (51). Bunun yanı sıra NOS için önemli bir ko-faktör olan tetrahidrobiopterin (BH4) biyoyararlanımının azalması, süperoksit düzeyinin artması ve NOS

stabilitesinde rol alan ısı şok proteini 90'ın farmakolojik inhibisyonu gibi faktörler de NOS biyoyararlanımının azalmasına yol açar (50).

PAH hastalarının pulmoner damarlarında gösterilen düşük eNOS düzeyleri vazokonstriksiyonda rol alabileceğini göstermektedir (52). Bu bulguya uygun olarak genetik olarak eNOS eksikliği bulunan bir kemirgen modelinde yabancı tip kontrollere göre diğer endojen uyaranlara cevap olarak PH gelişme yatkınlığının daha fazla olduğu gözlenmiştir (53). Diğer bir çalışmada ise inhalasyon yoluyla uygulanan NO, yavru sıçanlarda bir VEGF reseptör inhibitörü ile neonatal tedavi sonrasında PH'ü hafifletmiş ve akciğer patolojisini düzeltmiştir (54). PAH tedavisinde, fosfodiesteraz tip 5 ile siklik guanozin monofosfat yıkımının inhibisyonu ile NO-bağımlı, siklik guanozin monofosfat (cGMP) aracılı pulmoner vazodilatasyonu güçlendirmek amacıyla sildenafil kullanılmaktadır (8, 14, 16, 17).

PH tedavisinde inhalasyonla uygulanan NO oldukça etkili bulunmuştur, ama kullanımındaki teknik zorluklar ve toksik etki potansiyeli kullanımını kısıtlamaktadır (48).

2.8.2. Prostaglandinler Ve Tromboksan A2

Prostaglandin (PG_2), damar endotelinde siklooksijenaz enzimi ile araşidonik asitten üretilen endojen eikozanoittir. Damar düz kas hücrelerinde prostaglandinler çözünür adenilat siklazı uyarır ve adenozin trifosfatı siklik adenozin monofosfata (cAMP) dönüştürür. Ardından protein kinazlar hücre içi kalsiyum düzeyinde cAMP'ye bağlı bir düşüşe aracılık ederler ve vazodilatasyon gerçekleşir (10, 13, 14, 19, 20, 55). Bu vazodilatör etkisinin yanı sıra PG_2 damar düz kası hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder ve trombosit agregasyonunu azaltır (2, 10, 13, 14, 20, 33, 56). Yine araşidonik asitten trombositler içinde tromboksan sentazdan sentezlenen tromboksan A2 (TXA2) ise PG_2 'nin aksine vazokonstriksiyona ve trombosit agregasyonuna yol açar (33, 47, 57).

Kronik PH'da PG_2 sentezi azalırken fizyolojik antagonisti olan TXA2 sentezi artar (57). Ayrıca primer PH hastalarının akciğerlerinde prostaglandin sentaz ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (55). Yine PH hastalarında yapılan idrar analizlerinde PG_2 yıkım ürünü olan 6-keto-prostaglandin-F1-

alfa düzeylerinin azaldığı, bunun yanı sıra TXA2 metaboliti olan TXB2 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (57). PG₂ ve TXA2 arasındaki dengenin TXA2 lehine değişmesi vazokonstriksiyona, proliferasyona, trombozise ve inflamasyona yol açar ve PH gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rolü vardır (58).

Endojen PG₂ eksikliği, PAH patogenezinde önemli bir role sahip olduğundan PG₂ ve türevlerinin tedavide kullanımına dair birçok klinik çalışma yapılmış ve PAH hastalarında hemodinamik değişkenleri, klinik durumu ve sağ kalımı olumlu etkilediği gözlenmiştir (19).

2.8.3. Endotelin-1

Endotelin-1 (ET-1), endotelin dönüştürücü enzim tarafından prepro-ET-1'den sentezlenen 21 amino asitli bir peptiddir ve upregülasyonu, düz kas vazokonstriksiyonuna ve hipertrofisine ve ayrıca fibrozis ve inflamasyona katkıda bulunur (59, 60). ET_A ve ET_B olmak üzere iki farklı guanin nükleotid-bağlayıcı (G) proteine bağlanan reseptörü vardır. Bu iki reseptörün yerleşim yerleri ve endotelin peptidleri bağlama affiniteleri değişiktir (13, 60, 61). ET_A reseptörleri esasen damar düz kas hücrelerinde bulunur ve vazokonstriksiyonu uyarır. Bu vazokonstriktör cevap, G-proteine bağlı fosfolipaz C aktivasyonu aracılığıyla 1,4,5-inositol trifosfat oluşumu ve ardından hücre içi depolardan kalsiyum iyonu serbestleşmesi ile meydana gelmektedir (13, 40, 59, 62). ET_B reseptörleri ise esasen endotelial hücrelerde bulunur ve NO ve PG₂ üretimini artırmak yoluyla vazodilatasyona ve antiproliferatif etkilere yol açar (60-62). Fizyolojik koşullar altında ET_B reseptörü vazodilatör cevaba aracılık etmektedir, ama PAH gibi patolojik koşullar altında vazokonstriksiyonu ve damar düz kası proliferasyonunu uyarır (62). Sonuç olarak hem ET_A hem de ET_B reseptörleri, endotelinlerin fibrozis, vazokonstriksiyon, inflamasyon ve düz kas proliferasyonu cevaplarına aracılık etmektedir (13, 59, 60).

PAH hastalarında plazma ET-1 düzeylerinin yüksek olduğu ve ET-1 düzeyleri ile pulmoner damar direnci arasında bir korelasyon bulunduğu gösterilmiştir (63). Ayrıca nonselektif ET_{A/B} reseptör inhibitörü olan Bosentan

ile tedavinin PAH hastalarında hemodinamikleri, klinik durumu ve sağ kalımı düzeltmesi de patogeneizde ET'nin rolüne ışık tutmaktadır (22, 64).

2.8.4. Serotonin

Serotonin (5-Hidroksitriptamin/5-HT), mide-barsak kanalı enterokromafin hücreleri ve pulmoner nöroepitelial cisimler tarafından üretilir ve trombositlerde depolanır (10). 5-HT, pulmoner vazokonstriksiyon ve düz kas hücrelerinde proliferasyona yol açar (65). PAH patogenezinde 5-HT'nin rolü olduğu öne sürülmüştür (65). Öncelikle PAH hastalarında plazma 5-HT düzeyi yüksek bulunmuştur (66). 1960'lı yıllarda ise anoreksijen bir ajan olan aminoreks ile PAH arasında bir bağlantı olduğu saptanmıştır. Aminoreks trombosit 5-HT salınmasını uyarmakta ve monoamin oksidaz enzimini inhibe ederek 5-HT metabolizmasını baskılamakta ve böylece plazma 5-HT düzeylerini artırmaktadır (10, 13, 34, 35, 65). Daha sonradan fenfluramin türevlerinin de PAH gelişme riskini artırdığı gösterilmiştir (10, 13, 65). Ayrıca sıçanlarda 5-HT tedavisi hipoksinin pulmoner arteriyal basınç ve remodeling üzerine etkilerini güçlendirmektedir (10).

2.8.5. Vazoaktif İntestinal Peptid

Vazoaktif intestinal peptid (VIP) eksikliği de patogeneizde rol alabilir. VIP pulmoner bir vazodilatör, damar düz kas hücreleri proliferasyonunun inhibitörü ve trombosit agregasyonu inhibitörüdür (13). PAH hastalarının serum ve akciğer dokularında VIP konsantrasyonları düşük bulunurken inhale VIP tedavisi ile bu hastalarda hemodinamik değişkenlerde ve klinik durumda iyileşmeler gözlenmiştir (67).

2.8.6. Potasyum Kanalları

Voltaj-kapılı potasyum kanalları (Kv) da PAH patogenezinde önemlidir. Kv kanalları hipoksiye cevap olarak pulmoner arteriyal ağaçtaki dirençli damarların düz kaslarında inhibe olur ve hipoksik pulmoner vazokonstriksiyona yol açar (10, 12, 13, 33). Anoreksijen ajanlar aminoreks ve fenfluramin Kv kanallarının doğrudan inhibisyonuna da yol açabilir (68). Kv yolaklarının güçlendirilmesi pulmoner vazodilatasyon yapacak ve pulmoner

remodelingin gerilemesini sağlayacaktır. Dikloroasetat ve sildenafil, bu potasyum kanallarının ekspresyonunu ve fonksiyonunu artırabilir (10).

2.9. Pulmoner Hipertansiyonun Bulguları

Pulmoner hipertansiyon genelde nonspesifik semptomlarla bulgu verir ve bunları genelde sık görülen diğer pulmoner ve kardiyak hastalıkların semptomlarından ayırt etmek zordur (21, 69, 70). Bu nedenle PAH tanısı genelde gecikmektedir. İlk semptomlar halsizlik, egzersizle ilerleyici dispne, çarpıntı, göğüs ağrısı, baş dönmesi, senkop ve öksürüktür (1, 6, 21, 36, 38, 69). PAH ilerledikçe hastalarda juguler venöz distansiyon, sağ ventriküler kabarıklık, triküspit regürjitasyonu, sağ ventriküler gallop, asit ve periferik ödem gibi sağ kalp yetmezliği semptomları ve bulguları gelişir (6, 21, 70).

DSÖ, pulmoner hipertansiyonu fonksiyonel kapasitesine göre sınıflandırmıştır (31). Bu sınıflandırmaya göre:

SINIF-I: PH' u olan, ancak fiziksel aktivitesi sınırlanmayan hastalar bu sınıfta yer alır. Günlük fiziksel aktivitede artan dispne, bitkinlik, göğüs ağrısı ya da senkop gelişimi yoktur.

SINIF-II: PH' u olan, fiziksel aktivitesi hafif kısıtlanmış hastalar bu sınıfta yer alır. Hastalar, istirahatta rahattır. Günlük fiziksel aktivitede artan dispne, bitkinlik, göğüs ağrısı ya da senkop meydana gelir.

SINIF-III: PH' u olan, fiziksel aktivitesi ciddi ölçüde kısıtlanan hastalar bu sınıfta yer alır. Hastalar istirahatta rahattır. Günlük fiziksel aktiviteden daha azı bile dispne, bitkinlik, göğüs ağrısı ya da senkop gelişimine neden olur.

SINIF-IV: PH' u olan ve hiç bir fiziksel aktiviteyi gerçekleştiremeyen hastalar bu sınıfta yer alır. Sağ kalp yetmezliği bulguları görülür. Dispne ve bitkinlik istirahatta dahi görülür. Rahatsızlık herhangi bir fiziksel aktiviteyle artar.

2.10. Pulmoner Hipertansiyon Tedavisi

Şu anda PAH için kesin bir tedavi bulunmamaktadır, ama spesifik moleküler mekanizmaları hedefleyen bazı tedaviler vardır ve hem medikal hem de cerrahi tedavi açısından birçok ilerleme kaydedilmiştir (21, 36). PAH

tedavisinde kullanılmakta olan farmakolojik ajanlar kalsiyum kanal blokörleri (KKB), prostanoidler, endotelin antagonistleri ve fosfodiesteraz tip-5 (PDE-5) inhibitörleridir. Bu ilaçların hepsinin pulmoner vazodilatör etkisi ve KKB hariç antiproliferatif etkileri vardır (1). PAH hastalarında fiziksel aktivite kısıtlanmalı ve PH'u kötüleştirebilecek vazoaktif dekonjestanlar, β -blokörler ve non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar gibi ajanlardan kaçınmak gerekir (36). Gebelik ve doğum, bu hastalarda kardiyovasküler sistem üzerindeki yükü artırıp mortalite riskine yol açacağından gebelik kontrendikedir ve etkin doğum kontrol yöntemleri kullanılmalıdır, ancak östrojen içeren oral kontraseptifler venöz tromboembolizm riski taşıdığından kullanılmamalıdır (21, 36).

Tedavi seçenekleri son yıllarda oldukça ilerleme kaydetmiş olmakla birlikte hala daha sadece hastaların semptomlarını hafifletmeye ve sağ kalımlarını uzatmaya yöneliktir. Kullanılacak tedaviyi belirleyen, PAH etyolojisi ve şiddetidir (21). Fonksiyonel sınıfı II ve III olan hastalarda oral tedavi kullanılırken, fonksiyonel sınıfı IV olan hastalarda tercih edilen intravenöz epoprostenoldür (71).

2.10.1. Diüretikler

Karaciğer konjesyonu, asit ve periferik ödem gibi sağ ventrikül yetmezliğine bağlı volüm yüklenmesi bulgu ve semptomlarını kontrol altına almak için kıvrım diüretikleri ve potasyum tutucu aldosteron inhibitörleri kullanılabilir (16, 17, 70). Ancak hızlı ve aşırı diürezis sistemik hipotansiyona ve böbrek yetmezliğine yol açabileceğinden dikkatli olunmalıdır (70).

2.10.2. Oksijen Tedavisi

Hipoksi güçlü bir pulmoner vazokonstriktör olduğundan saptanması ve düzeltilmesi önem taşımaktadır. Hipoksemisi olan tüm PAH hastalarında hem istirahatte hem de egzersizde oksijen saturasyonunu %90'ın üzerinde tutmak için oksijen tedavisi verilmesi önerilmektedir (16, 70, 71).

2.10.3. Digoksin

Sağ ventrikül yetmezliği olan PAH hastalarında digoksin, kardiyak outputta orta derecede bir artışla birlikte dolaşımdaki noradrenalin düzeylerinde önemli bir düşüş sağlamıştır (72), ancak uzun-süreli kullanımına

dair prospektif, randomize kontrollü çalışmalar bulunmadığından sağ kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanımı kısıtlıdır.

Bunun yanı sıra ileri evre sağ kalp yetmezliğinde atriyal flutter veya başka atrial disritmiler sıklıkla görülebildiğinden kalp hızını kontrol etmek için digoksin kullanılabilir (17, 70).

2.10.4. Antikoagulasyon

PAH hastalarında aktivite düzeylerinin düşük olması, kan akımının yavaş olması, sağ kalp boşluklarının genişlemiş olması ve bazen de PAH ilaçlarının uygulanması için bir santral kateter yerleştirildiğinden tromboembolik komplikasyon riski yüksektir. Zayıf hemodinamik durumları ve kısıtlı kardiyopulmoner rezervleri, bu hastaları küçük bir tromboembolizmden dolayı bile ölüm riskine sokmaktadır (16). Bu yüzden PAH hastalarında herhangi bir kontrendikasyon yoksa kronik antikoagulasyonun standart tedavi rejiminde bulunması önerilmektedir (16, 21). Antikoagulasyon, PAH hastalarında sıklıkla distal pulmoner arteriyal dolaşımda gözlenen in situ tromboza yatkınlığı da azaltır (16, 70).

Prospektif, randomize kontrollü çalışmalar bulunmamasına rağmen PAH hastalarında kronik antikoagulasyon tedavisinin sağ kalımı uzattığına dair bazı çalışmalar vardır (73, 74).

2.10.5. Kalsiyum Kanal Blokörleri

Kalsiyum kanal blokörleri (KKB), düz kas hücrelerine kalsiyum iyonlarının girişini inhibe ederek gevşemeye ve vazodilatasyona yol açar (8). Kateterizasyon laboratuvarında intravenöz epoprostenol, adenozin veya inhale NO gibi kısa-etkili ajanlarla yapılacak akut vazoreaktivite testi, uzun-sürelili KKB tedavisinden fayda görebilecek hastaları belirleyebilir (21). Vazoreaktivite testinin pozitif olması, normal bir kardiyak output ile birlikte ortalama PAB'da en azından 10 mm Hg bir düşüş olması ve bu değer 40 mm Hg altına inmesi olarak tanımlanır (21, 71). Ancak yapılan çalışmalarda PAH hastalarının sadece az bir kısmının uzun-sürelili oral KKB tedavisinden fayda gördüğü gözlenmiştir (71, 75).

KKB tedavisi verilen hastalar hipotansiyon, sağ ventrikül fonksiyonunda kötüleşme ve hipoksemi gibi sistemik vazodilatör yan etkiler açısından yakın takip edilmelidir (8). Negatif inotropik etkilerinden ötürü verapamil kullanılmamalıdır (71).

2.10.6. Prostaglandinler

Prostaglandin (PGI_2), damar endotelinde üretilen bir arakidonik asit metabolitidir (70). PGI_2 ; cAMP düzeylerini artırarak etki eden güçlü bir vazodilatör olmakla birlikte antiproliferatif ve antiagregan etkiye sahiptir ve dolaşımdaki yarı ömrü 6 dakikadan kısadır (1, 14, 70). Kronik intravenöz (IV) epoprostenol, kronik subkutanöz treprostinil, inhale iloprost ve oral beroprostat PAH tedavisinde kullanılan ana prostaglandinlerdir (21).

Kısa etki süreli bir PGI_2 analogu olan epoprostenolün ambulator hastalarda IV infüzyon ile PAH tedavisinde kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır (8, 16). İdiyopatik PAH'da IV epoprostenol tedavisi, 6 dakikalık yürüme testi ile değerlendirilen egzersiz kapasitesini, kardiyopulmoner hemodinamik değişkenleri ve sağ kalım süresini iyileştirmiştir (1, 76). Yarı ömrünün kısa olması, periferik venler üzerine irritan etkili olması ve infüzyon kesintiye uğrarsa rebound kötüleşme görülebileceği için epoprostenol santral bir kateterden uygulanmayı gerektirir (1, 16, 70). En sık gözlenen yan etkiler çene ağrısı, flushing, baş ağrısı, diyare ve artraljilerdir. Bu yan etkilerin çoğu doza bağımlıdır ve doz azaltılmasına veya konservatif önlemlere cevap verir. Bu hastalar ayrıca enfeksiyon ve trombozis gibi kateterle ilişkili komplikasyonlar açısından risk altındadır (16, 70). Epoprostenol sklerodermaya bağlı PAH ve idiyopatik PAH olan NYHA sınıf III ve IV hastalarda kullanım için FDA tarafından onay almış olsa da genelde oral tedavilere cevap vermeyen ilerlemiş hastalığa sahip hastalarda kullanım için saklanmaktadır (70).

Treprostinil, 3 saatlik bir yarı ömre sahip stabil bir PGI_2 analogudur ve subkutan veya IV yolla uygulanabilir (8, 14, 16, 70). PAH hastalarında subkutan infüze edilen treprostinilin 6 dakikalık yürüme testinde ve hemodinamik değişkenlerde plaseboya göre daha iyi bir iyileşme sağladığı gösterilmiştir (77). Yan etkileri epoprostenole benzer ve bunun yanı sıra

infüzyon bölgesinde görülen ağrı, kullanımını sınırlayan en önemli yan etkidir. Treprostinil NYHA sınıf II, III ve IV hastalarda PAH tedavisi için FDA tarafından onay almıştır (21, 70, 71).

İloprost, yarı ömrü 20-25 dakika olan stabil bir PGI_2 analogudur (14, 70). İloprostun IV kullanımı mümkün olmakla birlikte bu ilaç daha çok inhalasyon yoluyla kullanım olanağı açısından dikkat çekmektedir (16, 70). Yapılan çalışmaların çoğunda inhale iloprostun PAH hastalarında hemodinamik değişkenleri, egzersiz kapasitesini ve sağ kalım süresini olumlu etkilediği gösterilmiştir (56, 78). Yan etkileri öksürük, flushing, baş ağrısı ve senkop olarak bildirilmiştir (78). Kısa etki süresi nedeniyle inhale iloprost kullanımı günde her biri 5-10 dakika süren 6 ile 9 arası inhalasyon gerektirmektedir (16, 19-21, 56). İn hale iloprost Avrupa'da NYHA sınıf III PAH hastalarında kullanım onayına sahiptir ve ayrıca FDA tarafından NYHA sınıf III ve IV hastalarda kullanım için de yakın zamanda onay almıştır (14, 19, 20, 70, 71). İn hale iloprost, IV epoprostenol kullanımına bir alternatif sunabilir, çünkü klinik etkinlik açısından IV epoprostenole göre üstündür, ayrıca çok az sistemik yan etkiyle birlikte güçlü ve selektif bir pulmoner vazodilatasyon sağlar ve kateter komplikasyonu riski yoktur (19).

Beraprost, oral yolla uygulanabilen tek PGI_2 analogudur ve şu anda Japonya'da kullanım lisansına sahiptir (14). Beraprost uygulandıktan sonra hızla absorbe olur, pik konsantrasyonuna 30 dakika içinde ulaşır ve eliminasyon yarı ömrü 35-40 dakikadır (14, 17, 18, 20).

2.10.7. Endotelin Reseptör Antagonistleri

Pulmoner damar yapısında yerleşimleri ve fonksiyonları birbirinden farklı olan iki endotelin reseptörü vardır. ET-A ve ET-B reseptörlerinin her ikisinin birden bloke edilmesinin, selektif ET-A reseptör blokajına göre daha iyi olup olmadığı tartışmalı bir konudur, çünkü ET-B reseptörlerinin vazodilatör ve klerens fonksiyonlarının sürdürülmesi amacıyla selektif ET-A reseptör antagonizmasının PAH tedavisinde daha fazla fayda sağlayabileceği öne sürülmektedir (14, 16, 70). PAH tedavisinde kullanım açısından değerlendirilen mevcut endotelin reseptör antagonistleri (ERA), selektif etkili olmayan bosentan ve selektif etkili sitaxsentan ve ambrisentandır.

Bosentan, oral yolla etkili, günde iki kez alınan bir dual endotelin-reseptör antagonistidir ve hem ET-A hem de ET-B reseptör aktivitesini bloke eder. Bosentan'ın PAH hastalarında kardiyopulmoner hemodinamik değişkenleri, egzersiz kapasitesini ve klinik kötüleşme süresini olumlu etkilediği gösterilmiştir. Ancak bazı hastalarda asemptomatik, doza-bağımlı karaciğer aminotransferaz artışları gözlenmiştir (22, 79). Diğer potansiyel yan etkileri ise anemi, ödem, teratojenite, erkek infertilitesi ve testiküler atrofidir (21, 70). Bosentan, NYHA sınıf III ve IV hastalarda kullanım için FDA onayına sahiptir (21, 70, 71).

Ambrisentan ve sitaxsentan ET-A reseptörlerini selektif olarak bloke eden ajanlardır ve pilot çalışmalarda PAH hastalarında egzersiz kapasitesini ve hemodinamikleri düzelttikleri gösterilmiştir (21).

2.10.8. Fosfodiesteraz İnhibitörleri

Fosfodiesterazlar cGMP ve cAMP inaktivasyonuna yol açan enzimlerdir. Damar düz kas hücrelerinde cGMP ve cAMP yıkımını önlemek için PDE inhibitörlerinin kullanılması hem NO hem de PGI_2 'nin vazodilatör etkisini uzatır ve güçlendirir. PDE inhibitörleri cGMP yıkımını önler, NO-bağımlı vazodilatasyonu güçlendirir ve PAH'da gözlenen hemodinamik anormallikleri düzeltir (8, 14, 17, 18).

PDE-5 inhibitörü olan sildenafil ilk başta erektil disfonksiyon tedavisi için geliştirilmiş olmakla birlikte bazı çalışmalarda PAH için etkili bir tedavi olduğu gösterilmiştir (1, 8, 21, 70, 71, 23). Hayvan çalışmalarında sildenafilin gaz değişimini ve sistemik arteriyal basıncı etkilemeden sağ kalp hipertrofini ve PH gelişimini önlediği gösterilmiştir (80, 81). Birçok randomize çalışmada sildenafil kullanımı ile hemodinamik değişkenlerde, fonksiyonel sınıfta ve 6 dakikalık yürüme testinde düzelmeler gözlenmiştir (23, 24). Sildenafil iyi tolere edilebilir bir ilaç gibi görünmektedir ve en sık bildirilen yan etkisi baş ağrısıdır. Diğer yan etkileri ise dispepsi, sinüs konjesyonu, epistaksis ve sırt ağrısıdır (16). Sildenafil şu anda PAH tedavisinde kullanım için FDA onayına sahiptir (21, 70).

Erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan diğer PDE-5 inhibitörleri olan verdanafil ve taladafil, PAH hastalarında sildenafil ile karşılaştırılmıştır.

Etkisi en hızlı başlayan verdanafil olmuş, ama sildenafil ve taladafilde gözlenen pulmoner selektiviteye sahip bulunmamıştır. En uzun süreli pulmoner vazodilatasyon oluşturan ise taladafil olmuş. Ancak sildenafilin aksine verdanafil ve taladafil arteriyal oksijenizasyonu düzeltmemiştir (82).

2.10.9. Kombine Tedaviler

Farklı etki mekanizmalarına sahip pulmoner vazodilatörler bulunduğundan PAH'da çoklu patofizyolojik mekanizmaları hedeflemek için kombinasyon tedavilerinin kullanımı oldukça cazip görünmektedir. Kombinasyon tedavisi eşzamanlı başlanan tedaviler şeklinde veya daha önceden başlanmış bir tedaviye ikinci veya üçüncü ilacın eklenmesi şeklinde olabilir (8). Kombinasyon tedavisi sağ kalp yetmezliği bulgusu olan, 6 dakikalık yürüme mesafesi 380 m altında olan ve tek bir ilaçla tedavi sırasında persistan fonksiyonel sınıf III veya IV semptomları olan hastalara önerilmektedir (1).

2.10.10. Cerrahi Tedavi

PAH tedavisi için çeşitli cerrahi tedavi seçenekleri geliştirilmiştir ve bunların en önemlileri atriyal septostomi, pulmoner endarterektomi ve akciğer transplantasyonudur (21).

Atriyal septostomi ile kardiyak outputu artıran, sistemik oksijen taşınmasını güçlendiren, art-yükü azaltan ve sağ ventrikül yetmezliğini düzelden sağdan-sola bir şant oluşturulur. Atriyal septostomi daha çok palyatif bir çözüm olarak görülmektedir (21, 70).

Pulmoner endarterektomi, kronik tromboembolik PH hastalarında fonksiyonel bozulmanın derecesine, PAB şiddetine ve lezyonun ulaşılabilirliğine göre karar verilerek uygulanır. Bu girişim başarılı olduğunda hastalarda kesin tedavi sağlar, ama operatif mortalite riski de göz ardı edilmemelidir (21).

Konvansiyonel tedaviye cevap vermeyen hastalarda akciğer transplantasyonu düşünülmelidir. PAH hastalarında şu anda yapılmakta olan transplantasyon prosedürleri tek akciğer, bilateral akciğer ve kalp-akciğer transplantasyonudur (21, 70).

2.10.11. Gelecekteki Tedavi Seçenekleri

Pulmoner anjiogeneziste aracı rolüne sahip başka maddeler de PAH patogeneğinde rol alabilir ve bu nedenle de gelecekteki tedavi hedeflerini oluşturabilirler. Bunlar vazoaaktif intestinal peptid (VIP), trombosit-kökenli büyüme faktörü (PDGF), serotonin (5-HT) reseptörleri ve taşıyıcısı, Rho kinaz inhibitörleri, adrenomedüllin ve anjiopoetindir (1, 14, 70). Statinlerin de prelinik çalışmalarda PAH hastalarında umut verici sonuçlara sahip olduğu gösterilmiştir (14).

2.11. Pulmoner Hipertansiyon Modelleri

Çeşitli PH hayvan modelleri bulunmaktadır ve bunlardan en sık kullanılanları monokrotalin (MCT) enjeksiyonu ve hipoksidir. Bu hayvan modelleri, PH patofizyolojisini ve sağ ventriküler hipertrofi gibi sekellerini karakterize etmenin yanı sıra yeni terapötik stratejilerin denenmesi için de kullanılmaktadır (83).

Bitkisel kaynaklı bir pirolizidin alkaloidi olan MCT, tek bir subkutan veya intraperitoneal enjeksiyon sonrasında progresif PH indüksiyonu yapar (83). MCT uygulanan sıçanlarda pulmoner damar inflamasyonu geliştiği bilinmektedir (84). MCT enjeksiyonu yapay bir model olsa da pulmoner arterlerin disfonksiyonuna bağlı gelişen olayları oldukça iyi taklit etmektedir (83).

Alveolar oksijen basıncının 70 mm Hg altına düşürülmesi ile oluşturulan kronik hipoksi güçlü pulmoner arteriyal vazokonstriksiyona yol açar. Hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonun mekanizması kesinleştirilememiştir. Ama kısa süreli hipoksi akut pulmoner vazokonstriksiyona yol açarken uzun süreli hipoksi pulmoner arterlerin distal dallarında remodeling'e neden olur (83).

Ductus arteriosus ligasyonu, deneysel olarak, fetal koyunlarda yenidoğanların persistan PH'ünü oluşturmak için kullanılan bir yöntemdir ve intrauterin PAB artışı, sağ ventrikül hipertrofisi ve doğum sırasında pulmoner dirençteki normal düşüşün gözlenmemesi ile sonuçlanır (83).

Sephadex mikrotopları ile tekrarlayan mikroembolizasyonlar köpeklerde kronik PH oluşturur. Bu yöntemde yüksek pulmoner damar

direncine yol açan pulmoner damarlarda mekanik tıkanma ve vazokonstriksiyondur (83).

PH hayvan çalışmalarında genetik modifiye edilmiş hayvanlar da kullanılmaktadır. Bunlardan BMPR-II-defektli farelerde sadece hafif bir PH fenotipi elde edilmiştir ve bu fare modelinin insan PH'unu tam olarak taklit edemeyeceği düşünülmektedir. Serotonin ve taşıyıcısını genetik olarak içermeyen farelerin PH hayvan modellerinde kullanımı ile ilgili çalışmalar ise devam etmektedir (83).

2.12. Pulmoner Hipertansiyon Ve Büyüme Faktörleri

PH'da gözlenen endotelial hasar, hücre proliferasyonu ve apoptozisi etkilemenin yanı sıra endotelden büyüme faktörleri ve vazoaaktif ajanların salınmasını da etkiler (10). Plasenta kökenli büyüme faktörü (PDGF) (85), epidermal büyüme faktörü (EGF) (86) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) (87) gibi bazı büyüme faktörlerinin pulmoner arter vasküler hücrelerinin anormal proliferasyonunda ve migrasyonunda önemli olduğu belirtilmiştir. Bu büyüme faktörleri düz kas hücreleri, fibroblastlar ve endotelial hücreler için güçlü mitojenik ve kemoatraktan özelliklere sahiptir ve apoptozise direnç sağlarlar (88).

VEGF bazı fizyolojik olaylarda rol aldığı akciğerlerde yüksek düzeylerde bulunur. Pulmoner VEGF üretiminin ana kaynakları tip II pnömositler ve aktive alveolar makrofajlardır (89). VEGF akciğerde anjiogeneziste ve endotelial hücre farklılaşmasının düzenlenmesinde önemli rollere sahiptir (10, 13, 90-92). İnsan VEGF geni 6p21.3 kromozomu üzerindedir ve VEGF gen ailesinin VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plasental büyüme faktörü (PGF) olmak üzere çeşitli üyeleri vardır. VEGF ailesinin en çok çalışılan molekülü olan VEGF-A, VEGF olarak anılmaktadır (92). VEGF'nin biyolojik aktivitesi spesifik reseptörleri aracılığı ile olur. Tirozin kinaz reseptör ailesine ait üç farklı reseptörü bulunmaktadır: VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/Flk-1 (KDR) ve VEGFR-3 (Flt-4) (10, 90, 91). VEGF-A, sadece VEGFR-1 ve VEGFR-2 reseptörlerine bağlanır. Bu reseptörler spesifik damar yatağına ve hastalık durumuna göre VEGF'nin biyolojik etkilerini pozitif veya negatif olarak etkiler (25, 90). VEGF mRNA ve

VEGF proteini akciğerde bolca bulunur, oysa spesifik VEGF reseptörleri KDR ve Flt sadece endotelial hücrelerde bulunur (12). VEGF; endotelial hücre fonksiyonlarını etkilemekte ve NO ve PGI₂ sentezini uyararak vazodilatasyona yol açmaktadır (25).

VEGF gen ekspresyonu hipoksi, büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer ekstrasellüler moleküller tarafından düzenlenir (91, 93). VEGF üretimini uyarabilen büyüme faktörleri epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β), keratinosit büyüme faktörü (KGF) ve insülin benzeri büyüme faktörüdür (IGF) (93). Sitokinlerden interlökin (IL)-1 α ve IL-6 VEGF ekspresyonunu artırırken IL-10 ve IL-13 azaltır (92).

VEGF, pulmoner damar endotelial hücrelerin viabilitesinde çok önemlidir (94). Bazı çalışmalarda VEGF'nin PH patogenezinde önemli bir rolü olduğu öne sürülürken, diğer çalışmalarda VEGF'nin muhtemelen endotelial hücreleri hasardan ve apoptozisten koruyarak PH gelişiminden korumada önemli olduğu belirtilmiştir (25, 90, 91, 95). VEGF ve reseptörleri Flt-1 ve Flk-1, pleksiform lezyonlarda eksprese edilir ve anjiogenezisi uyararak PH patogenezinde rol alabilir (96). Bunun aksine Flk-1 aracılığıyla etki gösteren VEGF'nin koruyucu bir rolü olduğunu ve endotelial hücre ölümünü önlediğini bildiren çalışmalar da vardır.

VEGF damar endotelinden NO salınmasını uyarmakta ve bölgesel eNOS ekspresyonunu artırmaktadır (28). VEGF'ye bağlı eNOS aktivasyonu vazodilatasyonun yanı sıra anjiogenezise ve vasküler permeabilite artışına da aracılık eder. Ayrıca endotelial hücre apoptozisini inhibe eder ve dolaşımdaki endotelial progenitör hücrelerin mobilizasyonuna katılarak endotelial hasarın tamirine yardımcı olur (97, 98)

VEGF damar endotelinde PGI₂ salınmasını artırır, PGI₂ de bir feedback mekanizmasıyla VEGF ekspresyonunu artırır (25, 99, 100).

PH'da damar düz kası hücrelerinin büyümesinde matriks proteinleri önemlidir. İnterferon- γ , tümör nekrotizan faktör (TNF) ve IL-1 gibi inflamatuvar sitokinler ekstrasellüler matriks moleküllerinin yapımını inhibe ederken TGF- β bu matriks moleküllerinin oluşumunu uyarır. Güçlü bir inflamatuvar büyüme faktörü olan TGF- β 'nin ekspresyonu pulmoner hipertansif damarlarda

yüksektir (10, 101). İdiyopatik PH hastalarının pulmoner arter düz kas hücrelerinde TGF- β 'nın normal hücrelerde gözlenen büyümeyi inhibe edici etkisinin aksine hücre proliferasyonunu artırdığı bildirilmiştir (102).

Pulmoner vasküler remodelinge yol açan faktörlerden biri de inflamasyondur. PH'da endoteliyal hücre proliferasyonu nedeniyle yapısal değişikliğe uğramış damarların etrafında bulunan inflamatuvar hücreler bu hastalığın patogenezinde inflamatuvar hücre kökenli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin rolü olabileceğini göstermektedir (39, 88). VEGF ve TGF- β pleksiform lezyonların etrafında bulunan perivasküler inflamatuvar hücreler üzerinde sitokin benzeri etkilerde bulunurken (101, 103) inflamatuvar hücrelerin kendileri de VEGF ve TGF- β üreterek vasküler remodelinge yol açabilir (11). Yine TGF- β da VEGF üretimini artırmaktadır (103). Pleksiform lezyonlar içinde ve etrafında VEGF ve reseptörlerinin ekspresyonunun artışından pulmoner hipertansif akciğerlerde gözlenen TGF- β ekspresyonu değişiklikleri doğrudan veya dolaylı olarak etkili olabilir (96). PH'da TGF- β 'nın rolünü aydınlatmak üzere yapılan bir çalışmada, MCT ile PH oluşturulan sıçanlarda TGF- β reseptörü tip 1 inhibitörü olan SD-208'in PH gelişimini ve pulmoner vasküler remodellingi azalttığı görülmüş ve TGF- β 'nın MCT ile oluşturulan deneysel PH patogenezinde rol alabileceği sonucuna varılmıştır (104)

Tüm bu bilgilerden yola çıkarak PH patogenezinde rolü tam aydınlatılamamış olan VEGF düzeylerinin sıçanlarda MCT ile oluşturulan deneysel PH modelinde nasıl bir değişikliğe uğrayacağını ve bu değişikliğin tedavide kullanılan ana ilaçlar olan Bosentan, Sildenafil ve İloprost uygulamalarından nasıl etkileneceğini incelemeyi amaçladık. Ayrıca MCT ile oluşturulan PH'da ana faktör olan inflamasyonun da etkilerini değerlendirebilmek için inflamatuvar hücreler üzerinde VEGF ile birlikte etkili olduğu belirtilen TGF- β düzeylerinin de PH'dan ve tedaviden nasıl etkilendiğini incelemek istedik.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Deneyleerde yaklaşık 250–300 g ağırlığında 56 adet yetişkin dişi Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık döngüsünde ve 24 ± 1 °C sıcaklıkta, iyi havalandırılan odalarda barındırıldı. Standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile serbest beslenmeleri sağlandı. Sıçanlar bir hafta süre ile laboratuvar ortamına uyum için bekletildi. Tez çalışması süresince gerçekleştirilen tüm deneyler, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 14.10.2008 tarih ve 76 karar numarasıyla onay alındıktan sonra yapıldı.

3.2. Deneyleerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Monokrotalin	Sigma
Sildenafil	Actavis
Bosentan	Actelion
İloprost (İlomedin®)	Schering
Ketamin (Ketalar®)	Pfizer
Ksilazin	ICN Biomedicals
Tris HCl	Amresco
NaCl	Sigma
NaN ₃	Merck
Triton X-100	Acros Organics
CaCl ₂	Sigma
Arap zankı	A-Kim

3.3. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar

ELISA Okuyucu	ThermoLab (Şekil 3.1A)
Hassas terazi	Kern EW
Santrifüj	Nüve NF800R
Homojenizatör	IKA-Werke
Veri Toplama Sistemi	Biopac Systems MP150 (Şekil 3.1B)
Mikroskop	Olympus S261 (Şekil 3.1C)
Osmotic mini-pump	Alzet osmotic pump model 2ML2



Şekil 3.1. DeneYlerde kullanılan cihazlar.

3.4. Deneyleerde Kullanılan Çözeltiler Ve Konsantrasyonları

Monokrotalin çözeltilisi: 1 N HCl' de çözdürölüp pH' sı 1 N NaOH ile 7,4' e ayarlandı.

Bosentan çözeltilisi: %5 oranında hazırlanan ve 1 saat ultrasonik banyoda karıştırlılan arap zamkı solüsyonu filtre kağıdı ile süzölüp 100 mg/4 ml konsantrasyonda bosentan eklendi. Homojenizatör ile mikrosüspansiyon elde edildi.

Lysis buffer: 50 mmol/l Tris HCl, %0.1 wt/v Triton X-100, 10 mmol/l CaCl₂, 150 mmol/l NaCl ve 60 mmol/l NaN₃ distile suda hazırlandı.

3.5. Deneyleerde Kullanılan Kitler

VEGF ELISA kiti	RayBio ELR-VEGF-001
TGF-beta ELİSA kiti	Invitrogen KAC1688/KAC1689

3.6. Deneysel Pulmoner Hipertansiyon Modelinin Oluşturulması

Deneysel PH modeli oluşturmak için sıçanlara i.p. yolla 60 mg/kg MCT uygulandı. MCT uygulanan sıçanlarda 3 sonra PH gelişmektedir (105, 106).

Deneyleerde MCT ile PH oluşturulan sıçanlarda Bosentan, İloprost ve Sildenafil'in tedavi edici etkilerinin VEGF ile ilişkisini incelemek üzere sıçanlar her grupta 8 hayvan olmak üzere 7 gruba ayrıldı.

Grup 1 (K); herhangi bir işlem uygulanmayan kontrol sıçanlar

Grup 2 (MCT21); MCT ile PH oluşturulup tedavi edilmeyen ve 21 gün sonra ölçümleri yapılan sıçanlar

Grup 3 (MCT42); MCT ile PH oluşturulup tedavi edilmeyen ve 42 gün sonra ölçümleri yapılan sıçanlar

Grup 4 (SF); MCT ile PH oluşturulan ve 21 gün gavaj yoluyla serum fizyolojik uygulanan sıçanlar

Grup 5 (SLD); MCT ile PH oluşturulan ve 21 gün sildenafil (50 mg/kg/gün, gavaj) ile tedavi edilen sıçanlar

Grup 6 (BOS); MCT ile PH oluşturulan ve 21 gün bosentan (100 mg/kg/gün, gavaj) ile tedavi edilen sıçanlar

Grup 7 (ILO); MCT ile PH oluşturulan ve 14 gün iloprost (5 µL/saat, subkutan infüzyon) ile tedavi edilen sıçanlar

3.7. Deney Protokolü

3.7.1. İloprost İnfüzyonu

İLO grubundaki sıçanlara 60 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazin ile genel anestezi uygulandı. Üretici firmanın talimatlarına göre osmotik pompaların her biri steril şekilde iloprost ile dolduruldu. Bunun için akım moderatörü ile birlikte boş pompanın ağırlığı ölçüldü. 2 ml iloprost, pompa ile birlikte gelen 25 gauge künt uçlu enjektöre çekildi ve pompa dik tutularak üst taraftan solüsyon yavaşça dolduruldu. Solüsyon dışarı taşınca enjektör çıkarıldı ve fazla solüsyon temizlendi. Akım moderatörü aynı delikten yerleştirilerek yerine oturtuldu. Anestezi altındaki hayvanların scapula kemikleri arasındaki deriye ufak bir insizyon yapıldı. Subkutan bağ doku iki yana açılarak küçük bir cep oluşturularak akım moderatörü insizyonun ters tarafında olacak şekilde pompa bu cebe yerleştirildi. Deri insizyonu 4/0 ipek sütün ile kapatıldı. Sıçanların uyanması sorunsuz oldu. 14 günlük bekleme süresi boyunca sıçanlara günlük yara bakımı yapıldı (Şekil 3.2).

3.7.2. Pulmoner Arter Basınçlarının Ölçümü

Sıçanlarda belirtilen sürelerin bitiminde 60 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazin ile genel anestezi uygulandı. Anestezinin devamlılığı 15-20 dk'da bir, parmak kıstırma yanıtları veya iskelet kası tonusu takibi ile kontrol edildi.

Genel anestezi altında, sağ 3-4. interkostal aralıktan künt diseksiyonla sağ ventriküle ulaşılarak ucunda 23 gauge enjektör ucu olan PE 50 kateteri ile doğrudan sağ ventriküle girildi (Şekil 3.3) ve basınç kaydı alındı (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5). Eş zamanlı ölçülen karotis arter basınçları ile sağ ventriküldeki enjektörün sol ventriküle ilerletilmesiyle elde edilen basınç değerleri benzer olduğundan değerlendirmeye karotis basınçları yerine sol ventrikül direkt basınç ölçüm değerleri alındı. Bu değerlendirmede eş zamanlı sol ventrikül basınçları 90 mm Hg altında olan değerler kullanılmadı.

Basınç ölçümü için 21 gauge enjektör ile sağ ventriküle girilerek 5-6 ml kan örneği alındı ve kuru tüpe aktarıldı. Bu kanların 3000 rpm' de 15 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilen serum örnekleri -80 °C' de saklandı. Ardından sıçanların kalp ve akciğer dokuları alınarak mikroskop altında ana

pulmoner arter ve dallarının yeri belirlendi. Arterlerin etrafındaki yağ ve bağ dokuları, trakea, aorta ve pulmoner venler uzaklaştırıldı. Ana pulmoner arterden sol akciğere giden ilk pulmoner arter dalından 4-5 mm'lik bir arter örneği alındı ve homojenize edilerek -80 °C' de saklandı. Pulmoner arter örneği alındıktan sonra kalbin sağ ventrikülü, septum ve sol ventrikülünden ayrıldı ve tartılarak ağırlığı kaydedildi (Şekil 3.6).

3.7.3. Pulmoner Arter Homojenatlarının Hazırlanması

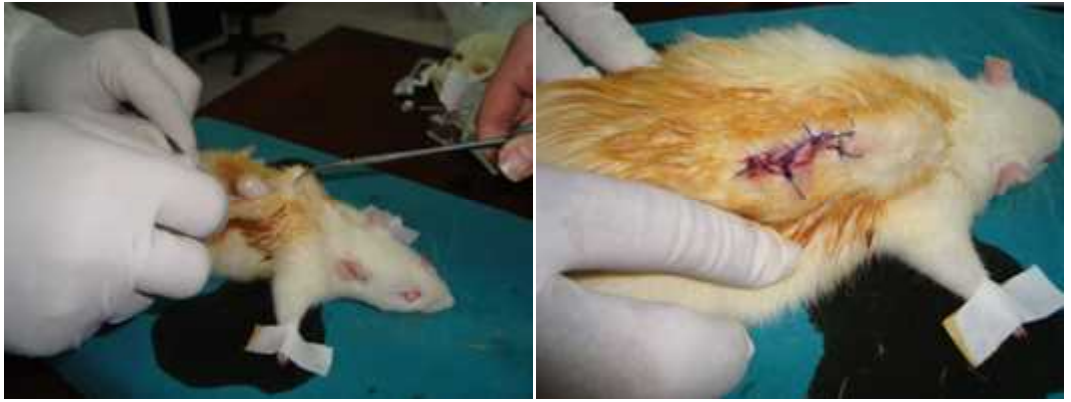
Pulmoner arter doku örnekleri, 10 g doku başına 500 µL Lysis buffer ile dilüe edildi ve homojenizatörle 1000 devir/dk'da 1 dk mekanik olarak homojenize edildi. Örnekler 5000 rpm' de 30 dk santrifüj edilerek supernatanlar elde edildi.

3.7.4. VEGF Düzeylerinin Ölçümü

Kalibrasyon için VEGF standart solüsyonlarından dilüsyon ile 200, 80, 32, 12.8, 5.12, 2.05, 0.82 ve 0 pg/ml standartlar elde edildi. Serum ve pulmoner arter homojenatı örneklerinin her birinden 100 µL alınarak 2.5 saat oda sıcaklığında bekletildi. Yıkama işlemi sonrasında 100 µL biotinile antikor eklenip 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Yıkama işlemi tekrarlanarak 100 µL Streptavidin solüsyonu eklendi ve 45 dk oda sıcaklığında bekletildi. Yıkama işlemi sonrasında 100 µL TMB substrat reaktifi eklenip 30 dk oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilip 50 µL stop solüsyonu eklendi ve 450 nm' de absorbans değerleri okundu.

3.7.5. TGF-β Düzeylerinin Ölçümü

Kalibrasyon için TGF-β1 standart solüsyonundan dilüsyon ile 1000, 500, 250, 125, 62.5 ve 31.2 pg/ml standartlar elde edildi. Ekstraksiyon solüsyonu ile serum örnekleri 40 kat ve pulmoner arter homojenat örnekleri 2.2 kat dilüe edildikten sonra örneklerin her birinden 200 µL alınarak 50 µL Biotin konjugatı eklendi ve oda sıcaklığında 3 saat bekletildi. Yıkama işlemi sonrasında 100 µL Streptavidin-HRP solüsyonu eklendi ve 30 dk oda sıcaklığında bekletildi. Yıkama işlemi sonrasında 100 µL stabilize kromojen eklendi. 30 dk oda sıcaklığında bekletilip 100 µL stop solüsyonu eklendi ve 450 nm' de absorbans değerleri okundu.

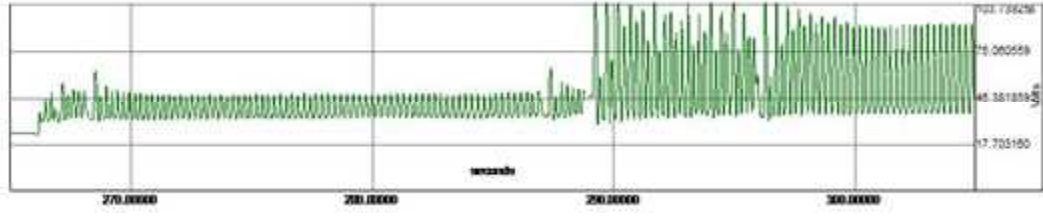


Şekil 3.2. Iloprost infüzyonu için osmotik pompanın yerleştirilmesi.

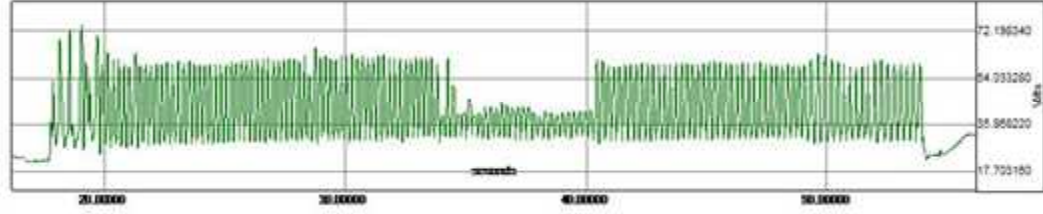


Şekil 3.3. Pulmoner arter basıncı ölçümü.

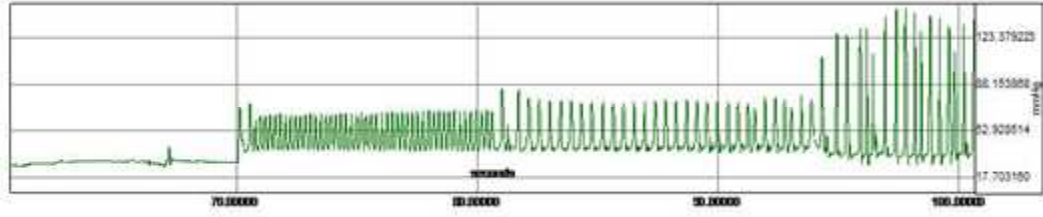
Kontrol



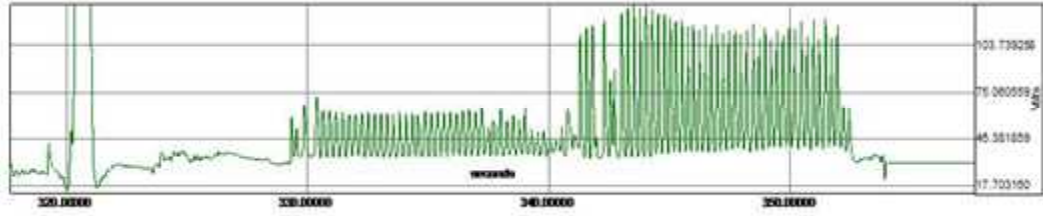
MCT



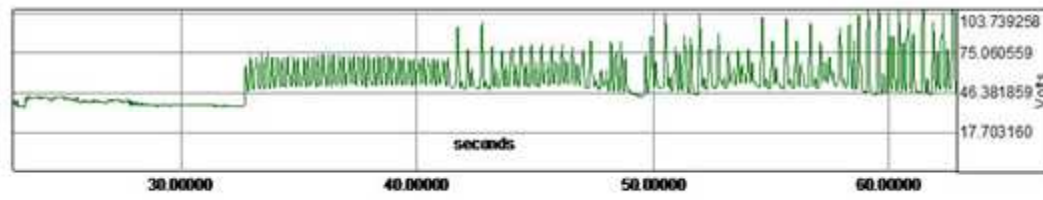
Sildenafil



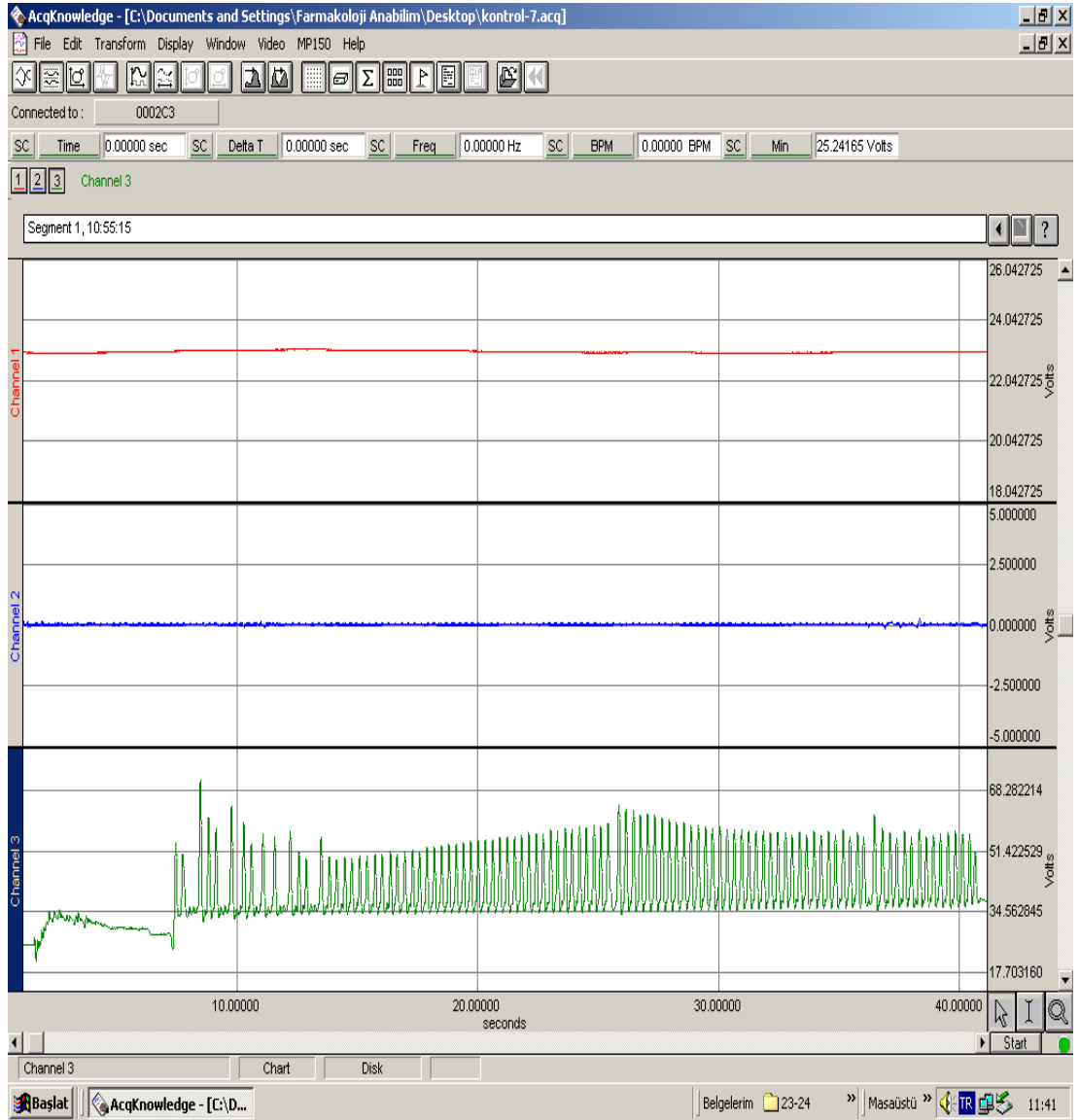
Bosentan



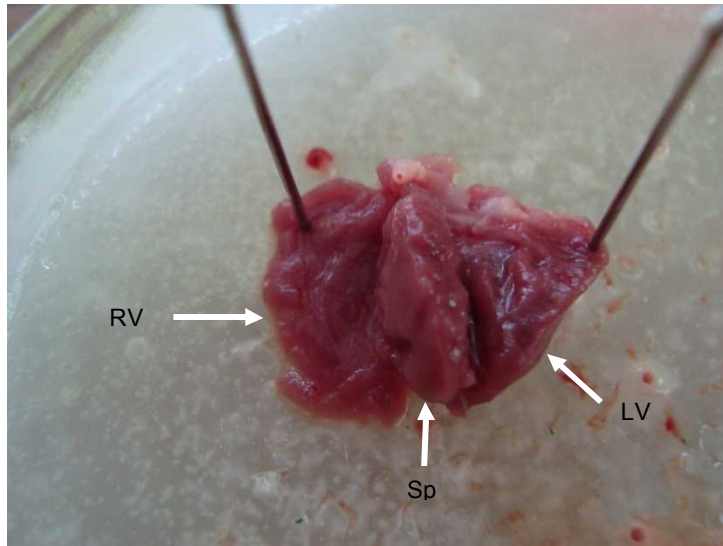
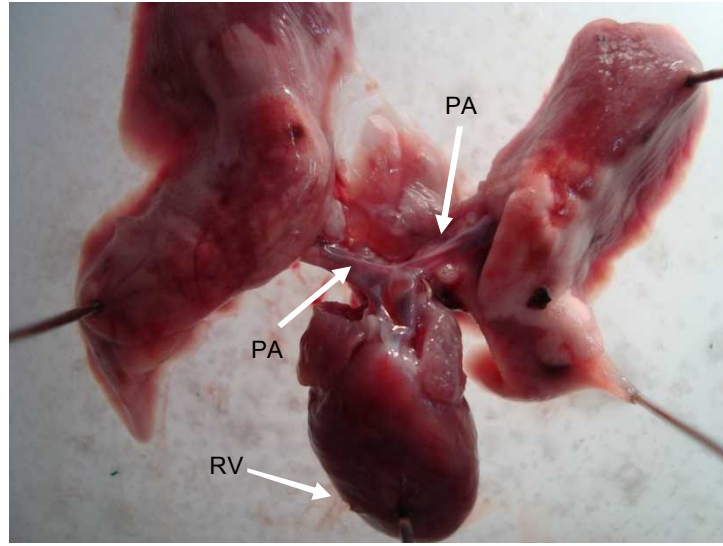
İloprost



Şekil 3.4. Pulmoner arter basıncı kayıtları.



Şekil 3.5. MP150 veri toplama sistemi.



Şekil 3.6. Pulmoner arter örneklerinin alınması ve sağ ventrikülün ayrılması (PA: pulmoner arter dalları; RV: sağ ventrikül; LV: sol ventrikül; Sp: septum).

3.8. İstatistiksel Deęerlendirme

Tüm veri analizleri SPSS 15.0 ve SigmaStat 3.1 paket programları ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak, nitel veriler ise n ve oran olarak ifade edilmiştir. Bağımsız gruptan oluşan ve normal dağılım gösteren sürekli veri grupları, One-Way ANOVA ile analiz edilmiş olup normal dağılım göstermeyen değişkenlerden oluşan veri gruplarına Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. $P < 0.05$ olasılık değerleri önemli olarak kabul edilmiştir. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada yedi grubun her birinde 8'er hayvan olmak üzere toplam 56 dişi Sprague-Dawley sıçan kullanılmıştır. MCT uygulamaları sonrasında ve tedavi süresince hayvanlarda herhangi bir komplikasyon veya ölüm gelişmemiştir. Gruplara göre sıçanlarda vücut ağırlığı, kalp ağırlığı ve sağ ventrikül ağırlığı ortalama değerleri tablo 4.1'de yer almaktadır.

Tablo 4.1. Vücut, kalp ve sağ ventrikül ağırlığı ortalama değerleri.

	<i>Vücut ağırlığı (g)</i>	<i>Kalp ağırlığı (mg)</i>	<i>Sağ ventrikül ağırlığı (mg)</i>
K	276.25±1.57	880.5±4.20	219±1.15
SF	272.5±4.53	879.75±11.72	219.25±1.37
MCT21	285±1.64	1000.5±3.83	341.875±1.57
MCT42	287.5±1.34	1001.25±6.06	342.625±1.32
SLD	275.625±1.75	882.75±4.61	221.125±2.22
BOS	273.75±3.75	881.75±3.32	220.75±4.57
ILO	276.875±1.32	882.375±3.36	221.625±3.29

Kontrol ve SF gruplarında ve ayrıca tedavili ve tedavisiz MCT gruplarında sağ ventrikül basıncı (SVB), sağ ventrikül/vücut ağırlığı oranı (SV/VA), serum ve pulmoner arter örneklerinde VEGF ve TGF- β düzeyleri (sVEGF, paVEGF, sTGF- β , paTGF- β) Tablo 4.2'dedir.

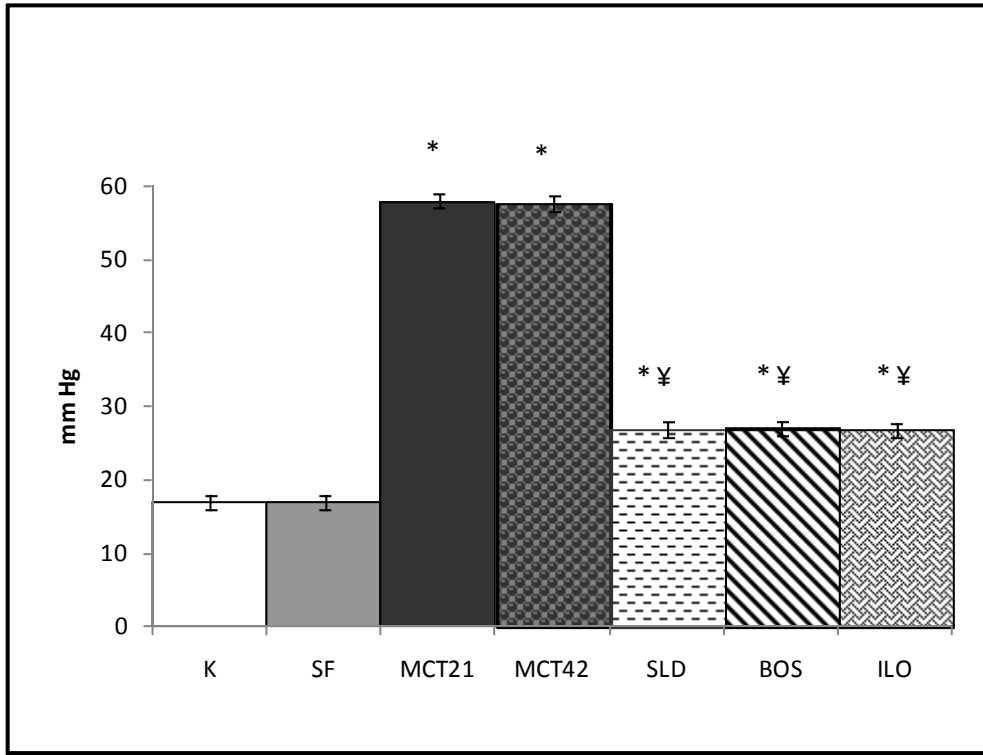
Tablo 4.2. Tüm gruplarda değerlendirilmeye alınan parametreler.

	SVB (mmHg)	SV/VA (mg/g)	sVEGF (pg/ml)	paVEGF (pg/g)	sTGF-β (pg/ml)	paTGF-β (pg/g)
Kontrol	16.88±0.09	0.79±0.01	112.2±1.9	119±1.2	7765.8±49.8	3710.7±127.5
SF	16.86±0.13	0.81±0.02	112.9±1.9	120.2±1.4	7718±32.4	3747±18.9
MCT21	57.92±0.40	1.20±0.01	89.6±1.5	97.1±0.8	8988.7±199.4	4245.7±55.1
MCT42	57.61±0.45	1.19±0.01	89.3±0.7	96.9±0.5	8764.9±96.8	4197±29
Sildenafil	26.84±0.17	0.80±0.01	131.3±1.8	141.9±1.9	7816.7±41.6	3838±21.5

Bosentan	26.91±0.13	0.81±0.01	135.7±2.9	145.9±1.7	7816.5±36.1	3817±28.3
iloprost	26.75±0.13	0.80±0.01	161.9±1.8	194.6±1.8	7815.7±13.9	3813.2±38.8

4.1. Sağ Ventrikül Basınçları

Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında tedavisiz MCT gruplarında pulmoner arteriyel basıncı yansıtan sağ ventrikül (SV) basınçları istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. Tedavili MCT gruplarında ise SV basınçları tedavisiz MCT gruplarına göre anlamlı derecede azalmış ve kontrol grupları değerlerine yaklaşmakla birlikte kontrol gruplarına göre anlamlı derecede



yüksek kalmıştır. Tedavi grupları arasında SV basınçları açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.1).

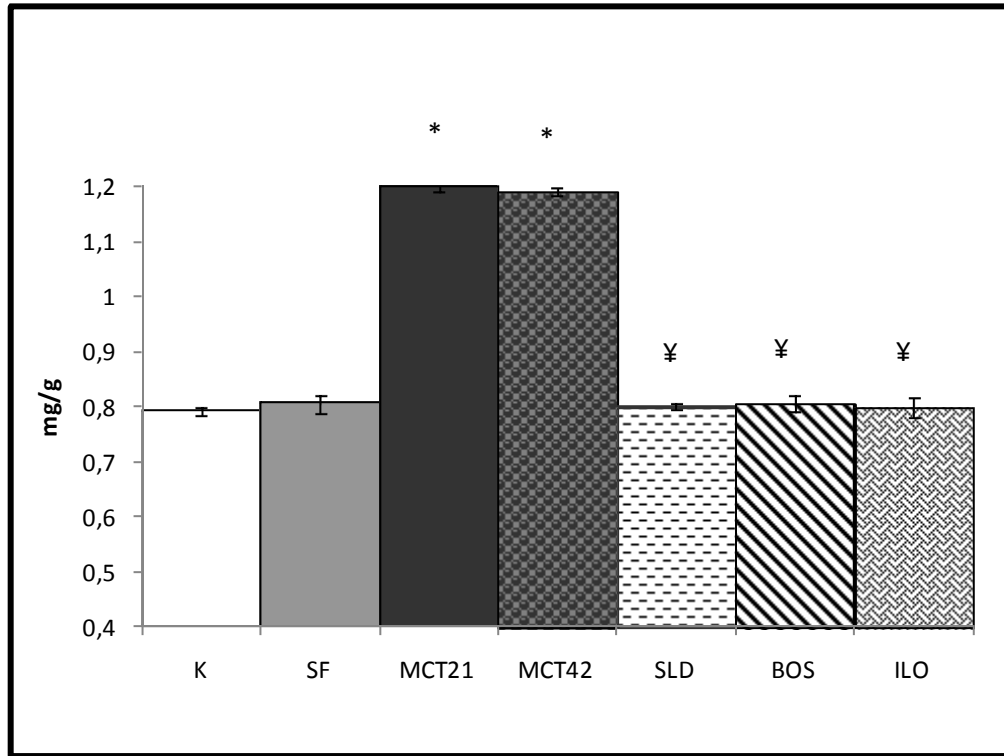
Şekil 4.1. Sağ ventrikül basınçları (n: 8).

(*) K ve SF' den farklı ($p < 0.05$)

(¥) MCT21 ve MCT42' den farklı ($p < 0.05$)

4.2. Sağ Ventrikül/Vücut Ağırlığı Oranları

Kontrol gruplarına göre tedavisiz MCT gruplarında SV kitesindeki değişiklikleri yansıtan SV/vücut ağırlığı (VA) oranları istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı. Tedavili MCT gruplarında ise tedavisiz MCT gruplarına oranla SV/VA oranları anlamlı derecede azalmıştır. Her 3 tedavili MCT grubu kendi arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.2).



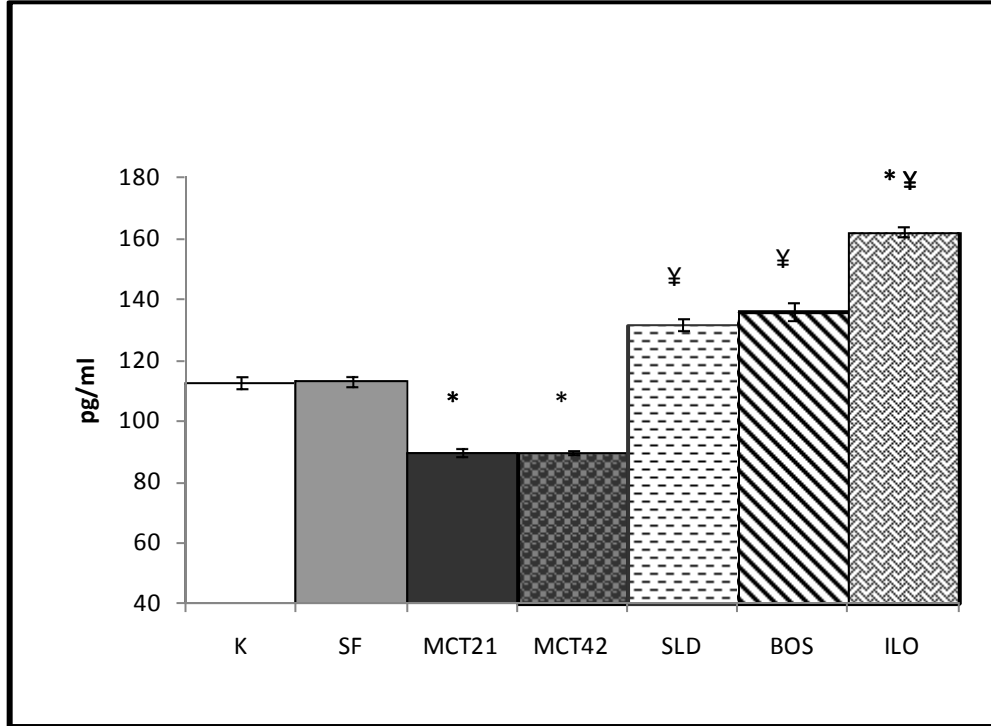
Şekil 4.2. Sağ ventrikül/vücut ağırlığı oranları (n:8).

(*) K ve SF' den farklı ($p < 0.001$)

(¥) MCT21 ve MCT42' den farklı ($p < 0.001$)

4.3. Serum VEGF Düzeyleri

Serum örneklerinde ölçülen VEGF düzeyleri (sVEGF), kontrol gruplarına göre tedavisiz MCT gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı. SLD ve BOS gruplarındaki sVEGF düzeyleri, kontrol gruplarına göre değil, ama tedavisiz MCT gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış sergilerken ILO grubundaki sVEGF düzeyleri hem kontrol gruplarına hem de tedavisiz MCT gruplarına göre anlamlı derecede artmıştı. Her üç tedavi grubu arasında ise sVEGF düzeyi açısından anlamlı bir fark yoktu (Şekil 4.3).



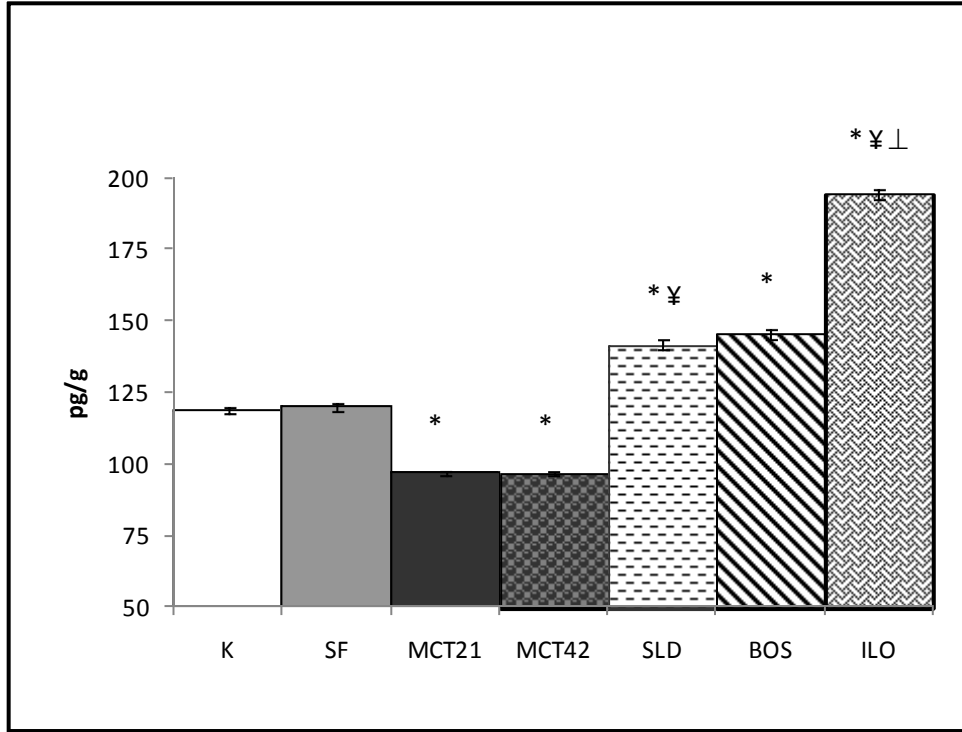
Şekil 4.3. Serum VEGF düzeyleri (n:8).

(*) K ve SF' den farklı ($p < 0.05$)

(¥) MCT21 ve MCT42' den farklı ($p < 0.05$)

4.4. Pulmoner Arter VEGF Düzeyleri

Pulmoner arter homojenat örneklerinde ölçülen VEGF düzeyi (paVEGF), kontrollere göre tedavisiz MCT gruplarında anlamlı derecede daha düşüktü. SLD ve BOS gruplarındaki paVEGF düzeyleri hem kontrol gruplarına hem de tedavisiz MCT gruplarına göre anlamlı derecede yüksekti. ILO grubunda ise paVEGF düzeyi hem kontrol gruplarına hem de tedavisiz MCT gruplarına göre anlamlı derecede artmış olmanın yanı sıra SLD ve BOS gruplarına göre anlamlı yükseklik gösteriyordu (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Pulmoner arter homojenatında VEGF düzeyi (n:8).

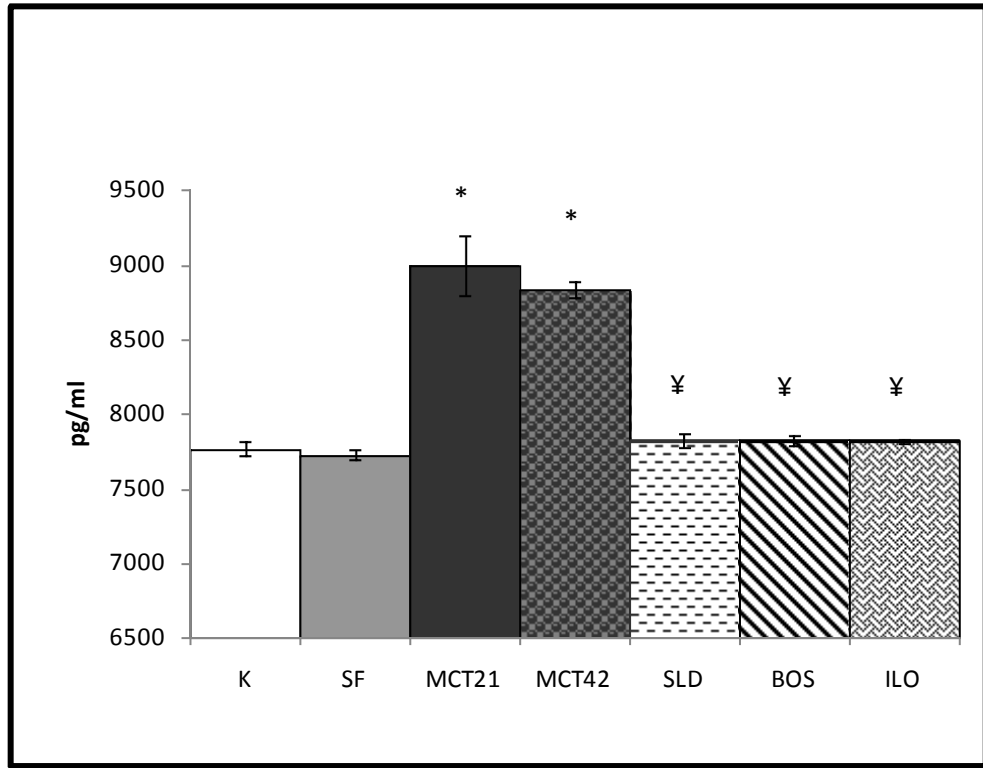
(*) K ve SF' den farklı ($p < 0.001$)

(¥) MCT21 ve MCT42' den farklı ($p < 0.001$)

(⊥) SLD ve BOS' dan farklı ($p < 0.001$)

4.5. Serum TGF- β Düzeyleri

Serum örneklerinde ölçülen TGF- β düzeyleri (sTGF), kontrol gruplarına göre tedavisiz MCT gruplarında anlamlı derecede artmıştı. Tedavili MCT gruplarında ise sTGF düzeyleri, her iki tedavisiz MCT grubuna göre anlamlı derecede düşmüş ve kontrol gruplarındaki sTGF düzeylerine yaklaşmıştı. Tedavili MCT gruplarının arasında sTGF düzeyleri açısından anlamlı bir fark yoktu (Şekil 4.5).



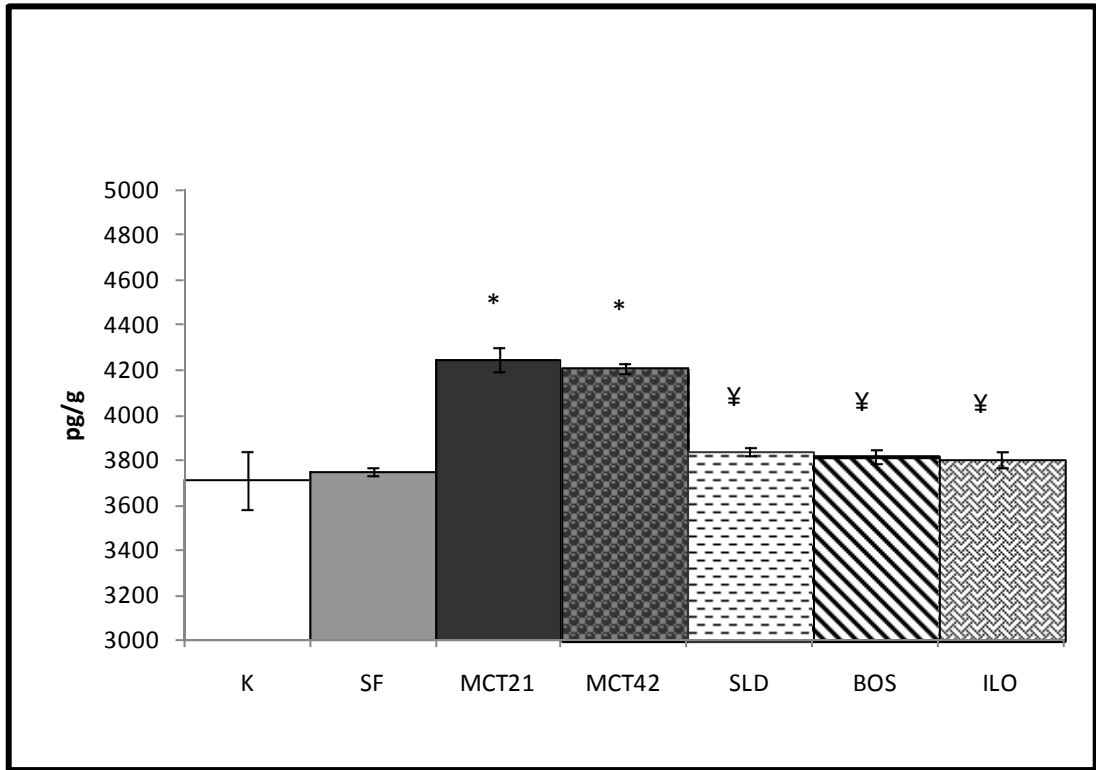
Şekil 4.5. Serum TGF- β düzeyleri (n:8).

(*) K ve SF' den farklı ($p < 0.05$)

(¥) MCT21 ve MCT42' den farklı ($p < 0.05$)

4.6. Pulmoner Arter TGF- β Düzeyleri

Pulmoner arter homojenatı örneklerinde ölçülen TGF- β düzeyleri (paTGF), kontrollere göre tedavisiz MCT gruplarında anlamlı derecede artarken tedavili MCT gruplarında tedavisiz MCT gruplarına göre anlamlı derecede azalmıştı. Tedavili MCT gruplarındaki paTGF düzeyleri kendi aralarında ve kontrol grupları ile anlamlı bir fark göstermemiştir. (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Pulmoner arter homojenatlarında TGF- β düzeyleri (n:8).

(*) K ve SF' den farklı ($p < 0.05$)

(¥) MCT21 ve MCT42'den farklı ($p < 0.05$)

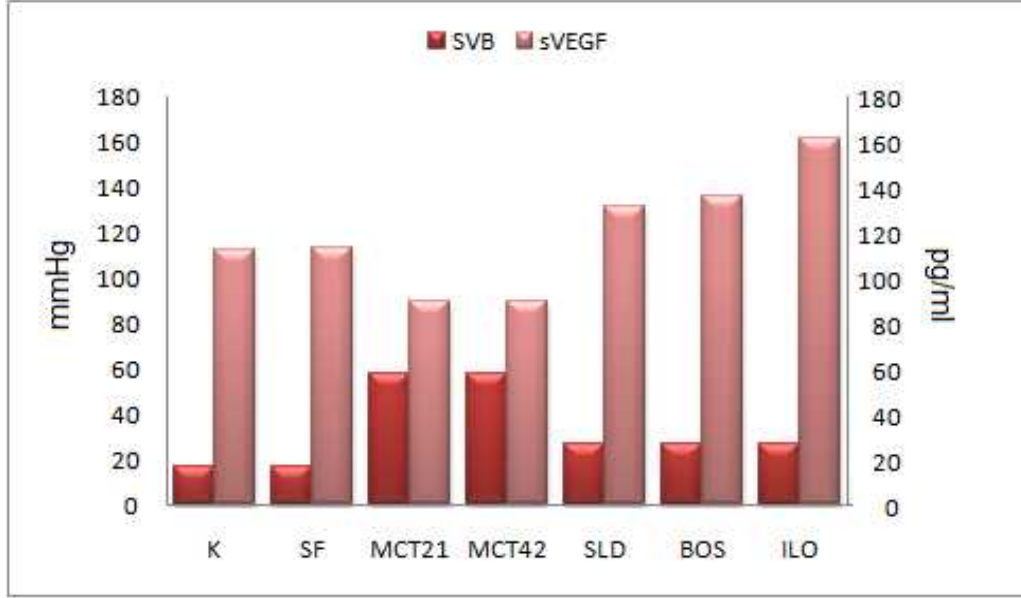
4.7. Korelasyon Analizleri

Sağ ventrikül basınçları; tedavisiz ve tedavili MCT gruplarında serum ve pulmoner arter VEGF düzeyleri ile düşük derecede negatif korelasyon (sırasıyla $r = -0.358$ ve $r = -0.358$), serum ve pulmoner arter TGF- β düzeyleri ile yüksek derecede pozitif korelasyon göstermiştir (sırasıyla $r = 0.723$ ve $r = 0.702$). Tüm gruplarda serum ve pulmoner arter VEGF düzeyleri birbirleriyle ($r = 0.938$) ve serum ve pulmoner arter TGF- β düzeyleri birbirleriyle ($r = 0.730$) yüksek derecede pozitif korelasyon göstermiştir. Serum ve pulmoner arter VEGF düzeyleri; serum ve pulmoner arter TGF- β düzeyleri ile düşük derecede negatif korelasyon göstermiştir (sırasıyla $r = -0.508$ ve $r = -0.475$). Tüm gruplarda yapılan korelasyon analizlerin sonuçları Tablo 4.3'te özetlenmiştir. Bu korelasyonların grafik üzerinde karşılaştırmalı gösterimleri şekil 4.7 - 4.10 arasında yer almaktadır.

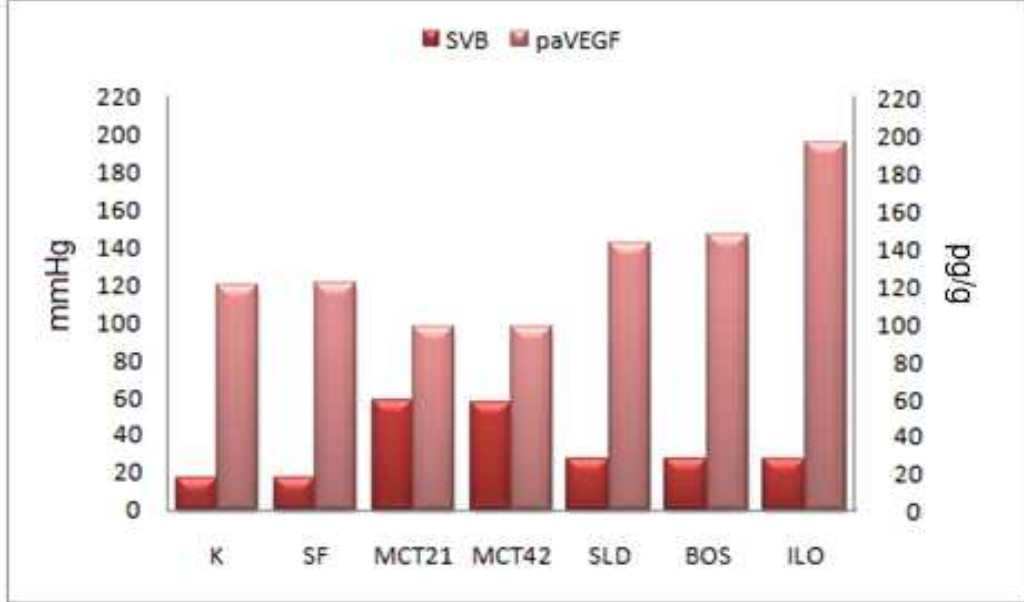
Tablo 4.3. Korelasyon analizi sonuçları.

Spearman'ın sıralama korelasyon katsayısı	SVB	sVEGF	paVEGF	sTGF- β	paTGF- β
SVB	—	-,358(*)	-,358(*)	,723(*)	,702(*)
sVEGF	-,358(*)	—	,938(*)	-,508(*)	-,484(*)
paVEGF	-,358(*)	,938(*)	—	-,494(*)	-,475(*)
sTGF- β	,723(*)	-,508(*)	-,494(*)	—	,730(*)
paTGF- β	,702(*)	-,484(*)	-,475(*)	,730(*)	—

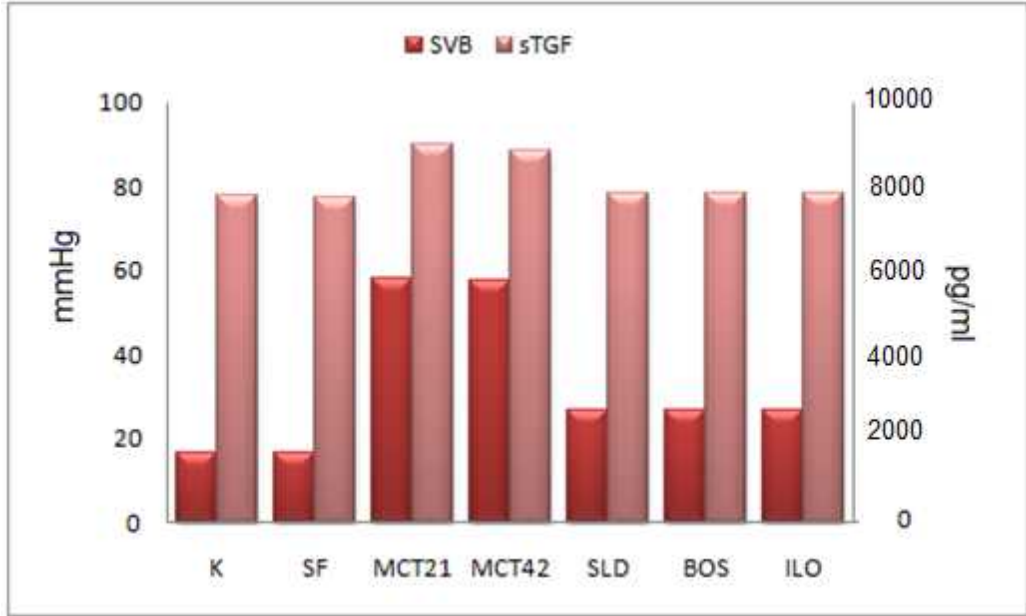
* $p < 0.01$



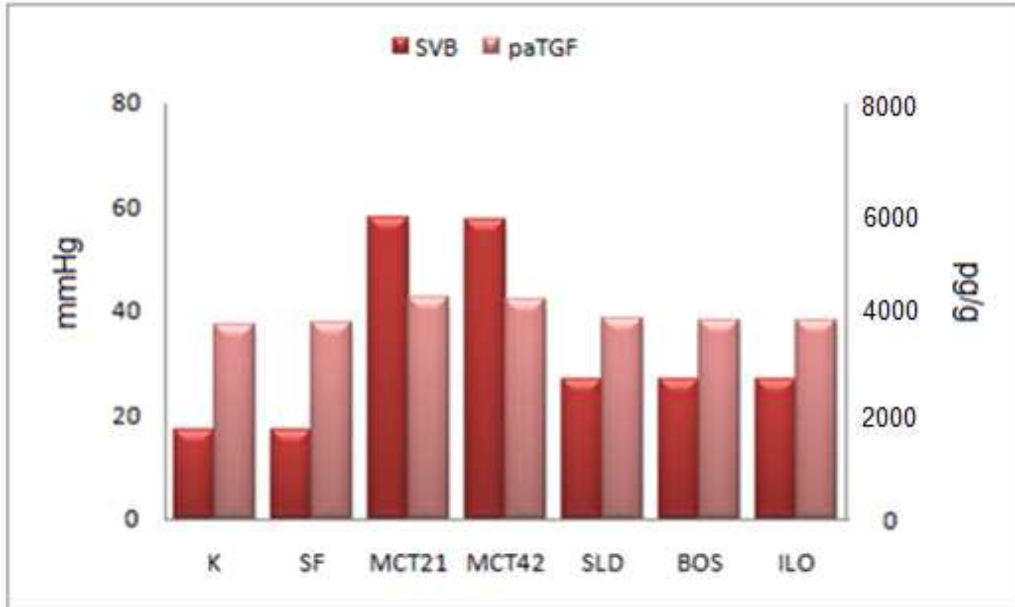
Şekil 4.7. Sağ ventrikül basıncı ile sVEGF düzeylerinin karşılaştırılması. SVB: sağ ventrikül basıncı (mmHg)
sVEGF: serum VEGF düzeyi (pg/ml).



Şekil 4.8. Sağ ventrikül basıncı değerleri ile paVEGF düzeylerinin karşılaştırılması. SVB: sağ ventrikül basıncı (mmHg)
paVEGF: pulmoner arter VEGF düzeyi (pg/g).



Şekil 4.9. Sağ ventrikül basıncı değerleri ile sTGF- β düzeylerinin karşılaştırılması. SVB: sağ ventrikül basıncı (mmHg)
sTGF- β : serum TGF- β düzeyi (pg/ml).



Şekil 4.10. Sağ ventrikül basıncı değerleri ile paTGF- β düzeylerinin karşılaştırılması. SVB: sağ ventrikül basıncı (mmHg)
paTGF- β : pulmoner arter TGF- β düzeyi (pg/g).

5. TARTIŞMA

Pulmoner arteriyal hipertansiyon (PAH), pulmoner arter basıncında artış ile karakterize ve eğer tedavi edilmezse sağ ventrikül yetmezliğine ve sonuçta da prematür ölüme yol açabilen bir hastalıktır. PAH patogeneğinde rol alan ana olaylar pulmoner vazokonstriksiyon, pulmoner vasküler remodeling ve inflamasyondur (1-4, 13, 21). Önceleri PAH'da en önemli patogenetik olayın pulmoner vazokonstriksiyon olduğu düşünülüyordu, tedavi için vazodilatör ajanlar geliştirilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır, ancak şu anda vasküler remodeling'in çok daha önemli bir faktör olduğu ve bu konuda yapılacak çalışmalar sonucunda geliştirilecek antiremodeling ajanların bu hastalığın tedavisinde önemli ilerlemeler kaydettireceği kabul edilmektedir.

Pulmoner vazokonstriksiyon, PAH'ın en erken görülen bulgularındandır. Bu vazokonstriksiyonun yetersiz vazodilatör salınmasına ve fazladan vazokonstriktör salınmasına yol açan endotel disfonksiyonuna ve potasyum kanalları disfonksiyonuna bağlı olduğu kabul edilmektedir (6, 10, 21, 32, 40). PAH'da gözlenen bu vazodilatör/vazokonstriktör salınması dengesizliğine yönelik olarak da tedavide en önemlileri Sildenafil, Bosentan ve İloprost olan pulmoner vazodilatör ajanlar kullanılmaktadır.

PAH'ın ilerlemesiyle görülen vasküler remodeling'de adventisya, media ve intima tabakalarından oluşan damar duvarının bu her üç tabakasında da kalınlaşma söz konusudur. Remodeling'in gelişimine yol açan en önemli faktörlerin mekanik gerilme, kayma gerilimi ve büyüme faktörleri olduğu belirtilmektedir (9, 33). PAH'da rol aldığı düşünülen en önemli büyüme faktörleri VEGF, PDGF ve EGF'dir (85-87). Remodeling'e yol açtığı öne sürülen diğer bir patogenetik faktör de inflamasyondur, zira bu yapısal değişikliğe uğrayan damarların etrafında gözlenen perivasküler inflamatuvar hücreler de bunu desteklemektedir (88).

Çalışmamızda deneysel PAH modeli oluşturmak için kullanılan monokrotalin (MCT); bir pirolizidin alkaloididir ve tek bir enjeksiyon sonrasında Sprague Dawley sıçanlarda proliferatif pulmoner vaskülit, ardından vasküler remodeling ile PAH'a yol açtığı bilinmektedir (106).

MCT'nin kendisinin intrinsik olarak toksik olmadığı, ama hepatik sitokrom P4503A ile reaktif metaboliti MCT pirole dönüştürülmesi gerektiği belirtilmektedir (105). MCT enjeksiyonu yapay bir model olsa da pulmoner arterlerin disfonksiyonuna sekonder gelişen olayları iyi taklit ettiğinden uzun zamandır deneysel PH çalışmalarında kullanılmaktadır (83). İnsanlarda olduğu gibi deneysel PAH gelişiminde de pulmoner vasküler endotelial hücre disfonksiyonunun önemli olduğu düşünülmektedir (105). MCT modelinde hayvanlarda 1-4. günlerde gözlenen en erken değişiklikler endotelial hücre hasarı iken, ardından 8-12. günlerde küçük pulmoner arterlerin media tabakasında kalınlaşma ve 12. günden sonra da pulmoner arter basıncında yükselme gözlenir (107). Endotelial hasar sonrasında intertisyel inflamasyon ve fokal alveolar ödem de gözlenir (106).

Çalışmamızda tedavisiz MCT gruplarında (MCT21 ve MCT42) kontrol gruplarına göre sağ ventrikül basınçlarının istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması bu konuda yapılan diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlarla uyumludur (80, 81, 84, 108, 109). MCT'nin pulmoner vasküler endotelial hücrelerde inflamasyona bağlı hasar oluşturduğu (105, 106) ve bu hücrelerin normal pulmoner arter yapısı içinde vasküler tonusun korunmasında önemli rolü olduğu bilinmektedir (6, 10, 32). Dolayısıyla tedavisiz MCT gruplarında gözlenen sağ ventrikül basıncı yüksekliklerinin pulmoner vasküler endotel hücrelerinde gelişen hasara bağlı olarak, bu hücrelerden salınan vazodilatör ve vazokonstriktör maddeler arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olduğu söylenebilir.

Tedavili MCT gruplarında sağ ventrikül basınçlarının tedavisiz MCT gruplarına göre anlamlı derecede azalmış olması kullandığımız ajanların tedavide etkili olduğunu göstermektedir. Bu bulgular MCT ile sıçanlarda oluşturulan PH'da çeşitli dozlarda uygulanan sildenafil (80, 81, 84), bosentan (84, 109) ve iloprost (108) tedavileri ile gözlenen sağ ventrikül basınçları üzerine olumlu etkilerle uyumlu görünmektedir. Her üç tedavi grubu arasında sağ ventrikül basınçları açısından anlamlı bir fark gözlenmemesi, bu ilaçların MCT ile oluşturulan PH modelinde her ne kadar farklı etki mekanizmalarına sahip olsalar da benzer bir etkinlik derecesine sahip olduklarını

göstermektedir. Tedavi gruplarında SV basınçları tedavisiz MCT gruplarına göre anlamlı derecede azalmış olsa da yine de kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek kalması çalışmamızda tedavi için tek ilaç kullanılmış olmasına bağlı olabilir. Çünkü bu ilaçların farklı kombinasyonlarla kullanılmalarının, tek ilaç kullanımına göre SV basıncının düşürülmesi açısından daha etkili oldukları gösterilmiştir (84, 108).

SV kitlesindeki değişikliklerin ölçütü olarak değerlendirilen SV/VA oranları, tüm gruplarımızda SV basıncı değerleri ile paralellik göstermiştir. Tedavisiz MCT gruplarında kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulunan değerler, sıçanlarda MCT'nin yol açtığı sağ ventrikül hipertrofinin değerlendirilmesinde sağ ventrikül ağırlığının vücut ağırlığına oranı (SV/VA) değerinin kullanıldığı çalışmalarda elde edilenlere benzerdir (84, 109, 110). Verilerimiz, sıçanlarda sağ ventrikül hipertrofinin değerlendirilmesinde diğer bir parametre olan sağ ventrikül ağırlığının sol ventrikül ve septum ağırlığına oranının kullanıldığı çalışmalar ile de paralellik göstermektedir (80, 108, 111). Ventriküler hipertrofi, kardiyak yükün artmasına cevap olarak kalpte ilk gelişen kompensatuvar mekanizmadır ve kardiyak hastalıkların çoğunda ilk başta adaptif bir cevap olarak hipertrofi, ardından da kalp yetmezliği gelişir (112). MCT ile oluşturulan PH'da da artmış pulmoner arter basıncı ve pulmoner vasküler dirence karşı adaptasyon için sağ ventrikül hipertrofisi bulguları gelişmiş olabileceği söylenebilir.

Tedavili MCT gruplarında tedavisiz MCT gruplarına göre SV/VA oranlarında görülen anlamlı düşme de bu konuda sildenafil (81, 84), bosentan (84, 109) ve iloprost (108, 111) ile yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Tedavi gruplarında SV/VA oranlarındaki düşüşün sağ ventrikül basıncı değerlerindeki düşüşle paralel olması da tedavi edici ajanların, bu yolla pulmoner vasküler direnci azaltarak sağ ventrikül hipertrofisini geriletmiş olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) serum ve pulmoner arter doku düzeylerine bakılmış ve literatürdeki diğer çalışmalarda olduğu gibi (113, 114) her ikisinin de tedavisiz MCT gruplarında kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görülmüştür.

Bilindiği üzere MCT uygulanan sıçanlarda vasküler endotelial hücrelerde inflamasyon bulguları gözlenmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda da intraalveolar boşlukta inflamatuvar hücreler biriktiği ve proinflamatuvar sitokinlerin sentezlendiği gözlenmiştir (113, 115). Tuder ve ark. (116) ise endotoksin verilen sıçanlarda VEGF mRNA düzeyinin azaldığını, NOS inhibitörlerinin ise VEGF mRNA düzeyini artırdığını göstermiş ve endotoksin verilen sıçanlarda iNOS aracılığıyla sentezlenen NO'nin VEGF ekspresyonunu azaltmış olabileceğini öne sürmüştür. Diğer çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da MCT uygulaması ile VEGF düzeyinde gözlenen düşüş de endotoksin uygulamasında gözlenene benzer bir inflamatuvar mekanizma ile gerçekleşmiş olabilir.

Tedavili MCT gruplarında ise serum ve pulmoner arterde VEGF düzeyleri tedavisiz MCT grubuna göre anlamlı derecede artmış ve hatta kontrollere göre daha yüksek bir seviyeye ulaşmıştır. Bu artış iloprost grubunda daha belirgindi ve sadece tedavisiz MCT gruplarına değil, aynı zamanda kontrol gruplarına göre de anlamlı bir yükseklik sergiliyordu.

Nitekim yapılan çalışmalar da iloprost ve VEGF arasında pozitif bir feed-back mekanizması olabileceğini göstermektedir. Hooper ve ark. (117), endotelial hücre kültürlerine VEGF eklenmesinin prostasiklin (PGI_2) sentezini artırdığını, ayrıca PGI_2 ve stabil analogu iloprostun da in vitro olarak cAMP-bağımlı bir yolakla VEGF sentezini uyardığını göstermiştir. VEGF'nin ana reseptörü olan VEGFR-2' ye bağlanmasının hem eNOS ekspresyonunu hem de PGI_2 sentezini artırdığı da bildirilmiştir (25). Yine 21 PH hastasında yapılan bir çalışmada, trombosit VEGF düzeyinin yüksek olduğu ve PGI_2 tedavisi verilmesinin bu hastalarda trombosit VEGF içeriğini daha da artırdığı gösterilmiştir (99). Bizim çalışmamızda da MCT ile PH oluşturulmuş sıçanlarda, iloprost infüzyonu cAMP aracılığıyla vazodilatasyon yapmanın yanı sıra VEGF düzeyini artırmış olabilir VEGF de kollateral dolaşımı artırmış, vazodilatasyona yol açmış veya NO üretimi yoluyla da PDGF ve endotelin gibi vasküler büyüme faktörlerinin etkilerini baskılamış olabilir.

İloprost'un aksine Sildenafil ve Bosentan'ın PH tedavisinde VEGF ile ilişkilerine dair çok az çalışma bulunmaktadır. Bir PH modeli olarak

oversirkülasyon ile domuzlarda yapılan iki çalışmada pulmoner VEGF ekspresyonunun arttığı ve Sildenafil tedavisi ile VEGF düzeyi normale dönerken (118), Bosentan tedavisinden etkilenmediği gözlenmiştir (119). Bu çalışmalarda elde edilen verilerin bizim çalışmamızda elde edilenlerden oldukça farklı olması kısmen de olsa gereç ve yöntemdeki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Nitekim MCT uygulaması sonrasında VEGF düzeyinde azalma görüldüğü bilinmekle birlikte oversirkülasyon uygulanan hayvanlarda VEGF düzeyi artmaktadır. NO donörü sodyum nitroprussid uygulamasının VEGF düzeyini azalttığı gösterilmiş olduğundan (116), PDE enzimini inhibe etmek yoluyla NO düzeyini artıran Sildenafil' in de VEGF düzeyini düşürmesi gerektiği beklenebilir. Sistemik sklerozlu 24 hastada serum VEGF düzeyinin Bosentan tedavisiyle anlamlı bir farklılık göstermediği çalışma da Bosentan' ın veya endotelin yolağının VEGF düzeyi ile bir ilgisi olmayabileceğini göstermektedir. Her ne kadar çeşitli modellerde ve farklı dokularda Sildenafil (120) ve Bosentan (121) uygulamalarına VEGF artışının eşlik ettiği gösterilmiş olsa da bizim çalışmamızda bu ajanlarla gözlenen serum ve pulmoner arter VEGF düzeyleri artışı ajanların etki mekanizmaları dışında bir nedene bağlı olarak gelişmiş olabilir. Zaten serum VEGF düzeylerinin diğer iki tedavi ajanına göre iloprost grubunda daha yüksek olma eğiliminde olması ve pulmoner arter VEGF düzeylerinin ise diğer iki ajana göre iloprost grubunda anlamlı derecede daha yüksek olması da bunu desteklemektedir. Sildenafil ve Bosentan grubunda etkin vazodilatasyona bağlı artan pulmoner kanlanma nedeniyle vasküler dokunun anjiogenezisi için gerekli VEGF artışına zemin hazırlanmış olabilir. İloprost ise daha önceden belirtildiği şekilde cAMP-bağımlı bir yolla bu artışı daha da güçlendirmiş olabilir.

Daha önceden de belirtildiği gibi VEGF'nin PH'daki rolüne dair çelişkili açıklamalar vardır. Remodeling olan arterlerde VEGF ekspresyonunun (25) ve pleksiform lezyonlarda hem VEGF hem de VEGFR-2 ekspresyonunun (122) yüksek olduğunun gösterilmesi bu büyüme faktörünün PH patogenezinde rol alabileceğini düşündürmektedir. Ancak buna rağmen hem MCT hem de hipoksi modellerinde VEGF'nin PH gelişimi ve ilerlemesine karşı koruyucu olduğuna dair çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Gen

transferi ile sağlanan VEGF overekspresyonunun hipoksik (123) ve MCT (28) ile oluşturulan PH' a karşı koruyucu olduğu gösterilmiş ve VEGF gen transferinin muhtemelen mikrovasküler rejenerasyon ve endotelial hücre fonksiyonunun düzeltilmesi yoluyla bu etkiyi ortaya çıkardığı öne sürülmüştür. Bir VEGFR-2 inhibitörü olan SU5416'nın kronik hipoksi ile birlikte uygulanmasının şiddetli PH'a yol açtığı bildirilmiştir (124). Ayrıca SU5416 uygulamasının yenidoğan sıçanlarda sağ ventrikül hipertrofiyle birlikte PH gelişimine yol açtığı da belirtilmiştir (26). Yine haptomerler ile VEGF inhibisyonu bir koyun modelinde neonatal PH'a yol açmış (125) ve VEGF tedavisi, ductus arteriosus parsiyel ligasyonu yapılan fetal koyunlarda PH şiddetini azaltmıştır (27). Adenovirüs-aracılı TGF β 1 overekspresyonu ile oluşturulan deneysel pulmoner fibrozis modelinde ise VEGF ekspresyonunun azaldığı ve ortalama sağ ventrikül basıncı değerleri ile ters bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. TGF- β 1'in yanı sıra VEGF overekspresyonu da sağladıklarında ise VEGF artışının pulmoner arter endotelial hücre apoptozisini ve remodeling'i azalttığını ve PH'u hafiflettiğini görmüşlerdir (126). TNF α -overekspresyonu yapılan farelerde ise VEGF gen ekspresyonunun azalmasıyla birlikte PH gelişmiştir (95).

Her ne kadar literatürdeki çoğu çalışma VEGF eksikliğinin PH'a yol açtığını ve VEGF yüksekliğinin de PH gelişimini veya ilerlemesini önleyici olduğunu destekleyen bulgular sunsa da VEGF'nin PH'u olumsuz etkilediği çalışmalar da göz ardı edilmemelidir. Aslında VEGF, PH'da erken ve geç dönemlerde farklı rollere sahip olabilir ve ilk zamanlarda, henüz pleksiform lezyonların gelişmediği dönemde koruyucu olabilirken şiddetli anjiyoproliferatif hastalık durumuna ilerlendiğinde artık zararlı olup remodeling'i şiddetlendirebilir.

Serum ve pulmoner arter örneklerinde ölçülen TGF- β düzeylerinin kontrol grupları ile karşılaştırıldığında tedavisiz MCT gruplarında anlamlı derecede yüksek gözlenmesi Arcot ve ark. (113) tarafından MCT uygulanan sıçanlarda gözlenen TGF- β mRNA düzeyi yüksekliği ile uyumludur. Botney ve ark (101) ise normal akciğerler ile karşılaştırıldığında pulmoner hipertansiyonda kaslı arterlerde TGF- β immunoreaktivitesinin yüksek

olduğunu bildirmiştir. Yine Park ve ark. (127) MCT tedavisi sonrasında sağ ventrikülde TGF- β 1 mRNA düzeyinin arttığını görmüş ve sağ ventrikül hipertrofisi gelişiminde bu ajanın rolü olabileceğini öne sürmüştür. Çalışmamızda MCT uygulaması sonrasında, inflamatuvar cevapta yer alan makrofajlardan salınan TGF- β , bu sıçanlarda gözlenen sağ ventrikül basıncı artışında ve sağ ventrikül hipertrofisinde önemli bir rol almış olabilir. Çünkü kollajen gibi ekstrasellüler matriks moleküllerinin sentezinde rol alan TGF- β , pulmoner hipertansif damar düz kas hücrelerinin proliferasyonuna ve remodeling'e yol açmış olabilir (12, 32, 101, 102). Nitekim adenovirüs-aracılı TGF- β overekspresyonu ile oluşturulan pulmoner fibrozisin pulmoner vasküler remodelinge ve PH'a yol açtığı gösterilmiştir (126). Yine Zaiman ve ark (104), küçük molekülü bir TGF- β reseptörü-1 inhibitörü SD-208 ile TGF sinyalinin inhibe edilmesi ile PH gelişiminin ve pulmoner vasküler remodelingin azaldığını görmüş ve TGF- β sinyalinin MCT ile oluşturulan PH patogeneziinde rol alabileceği sonucuna varmışlardır.

TGF- β 'nın PH patogeneziinde ekstrasellüler matriks moleküllerinin sentezini artırmanın yanı sıra insan pulmoner arter düz kas hücrelerinde iloprost'a bağlı cAMP birikimini azaltmak (128), insan pulmoner arter hücrelerinde protein kinaz A aktivasyonu ile endotelin-1 düzeyini artırmak (129) ve pleksiform lezyonlar içinde ve civarında VEGF ve VEGFR ekspresyonunu artırmak (103) yoluyla da etkide bulunabileceği düşünülmektedir.

Tedavili MCT gruplarında tedavisiz MCT gruplarına göre serum ve pulmoner arter TGF- β düzeylerinin anlamlı derecede düşük olması ve kontrol gruplarındaki bazal değerlere yaklaşmış olması da her üç tedavi ajanının antiinflamatuvar etki potansiyeline bağlı olabileceğini göstermektedir. Bu konuda yapılan çok fazla çalışma olmamakla birlikte sıçanlarda oluşturulan bir sol ventrikül myokard infarktüsü modelinde Bosentan uygulaması ile infarkt bölgesinde TGF- β 1 dağılımında anlamlı bir düşme gözlenmiş ve bunun o bölgede monosit/makrofaj sayısında bir azalmaya bağlı olabileceği düşünülmüştür (130). Çalışmamızda tedavili MCT gruplarında gözlenen TGF- β düşüklüğü de pulmoner arter civarında MCT uygulamasına bağlı olarak

gözlener monosit/makrofaj gibi TGF- β salgılayan hücrelerin sayısının bu ajanların antiinflamatuvar etkilerinden dolayı azalmış olmasına bağlı olabilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre tedavisiz ve tedavili MCT gruplarındaki sağ ventrikül basıncı değerleri serum ve pulmoner arter VEGF düzeyleri ile negatif korele iken serum ve pulmoner arter TGF- β düzeyleri ile pozitif koreleydi. Bu da yukarıda bahsedilenlere uygun olarak, VEGF'nin PH patogenezinde olumlu bir etkisi bulunurken TGF- β 'nin aksi bir etkiye sahip olduğu düşüncemizi desteklemektedir.

PH patogenezinin gün geçtikçe daha da aydınlatılması, ileride doğrudan vasküler endotelial hücrelerin ve düz kas hücrelerinin anormal proliferasyonuna yönelik tedavilerin geliştirilebilmesini sağlayacaktır. Nitekim yapılan hayvan çalışmaları, PH tedavisinde remodelingi hedeflemenin mantıklı bir terapötik yaklaşım olabileceği, çünkü remodelingin geriletilmesinin hemen her zaman pulmoner arter basıncında ve/veya pulmoner damar direncinde düşme ile birlikte olduğu gösterilmiştir (9).

Çalışmamızda saptadığımız en önemli bulgu tedavili ve tedavisiz MCT gruplarında serum ve pulmoner arter VEGF düzeylerinin sağ ventrikül basıncı ile negatif bir korelasyon göstermesidir. Bu bulgu, ileride PH'da gözlener remodeling'in mekanizmasının aydınlatılması ve bu remodeling'i hedefleyen tedavilerin geliştirilmesi konusunda yapılacak çalışmalara bir ışık tutabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

MCT uygulaması ile PH oluşturduğumuz sıçanlarda Sildenafil, Bosentan ve İloprost uygulamalarının serum ve pulmoner arter örneklerinde VEGF ve TGF- β düzeyi üzerine olası etkilerini araştırmak için yaptığımız bu çalışmanın sonucunda elde ettiğimiz verilere göre, özellikle de iloprost olmak üzere her üç ajan da kısmen de olsa VEGF düzeyini artırmak suretiyle etki etmiş veya MCT uygulamasına bağlı inflamatuvar cevap nedeniyle VEGF düzeyleri yükselmiş olabilir. İleride yapılacak çalışmalarda, PH'da VEGF ile bu ajanlar arasında tam olarak nasıl bir ilişki olduğunu açıklamaya yönelik çalışmalar bu belirsizliği çözebilecektir.

Tedavisiz MCT gruplarında azalmış VEGF düzeyleri ve tedavili MCT gruplarında artmış VEGF düzeyleri sonuçlarımız; prognostik açıdan PH hemodinamisinin VEGF düzeyini artırmaya yönelik tedavi seçenekleri açısından değerlendirilmesi uygun olacağını göstermektedir.

Aksini iddia eden az sayıda çalışma bulunsa da PH'un özellikle de erken evrelerinde olumlu etkilere veya koruyucu bir role sahip olabileceği düşünülen VEGF'nin tedavide kullanımının PH'da nasıl bir etki oluşturacağına dair yapılacak çalışmalar bu konuda yaşanan belirsizliklere ışık tutacaktır. VEGF gen tedavisinin kullanıldığı bazı hayvan çalışmaları (28, 123, 126) olsa da insan PH'da VEGF'nin terapötik kullanımına dair veri bulunmamaktadır. Şiddetli, anjiyoproliferatif hastalıkta kullanımı mantıklı görünmeyen VEGF tedavisinin erken, nonproliferatif PH'da ve PH gelişme riski yüksek hastalarda kullanımına dair çalışmalar gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Chin KM, Rubin LJ. Pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 51: 1527-1538.
2. Said SI. Mediators and modulators of pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 291: L547-L558.
3. Fishman AP. Changing concepts of the pulmonary plexiform lesion. *Physiol Res.* 2000; 49:485-492.
4. Taraseviciene-Stewart L, Gera L, Hirth P, Voelkel NF, Tuder RM, Stewart JM. A bradykinin antagonist and a caspase inhibitor prevent severe pulmonary hypertension in a rat model. *Can J. Physiol Pharmacol.* 2002; 80(4):269–274.
5. Newman JH. Pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172: 1072-1077.
6. Runo JR, Loyd JE. Primary pulmonary hypertension. *Lancet* 2003; 361:1533-44.
7. Zaiman A, Fijalkowska I, Hassoun PM, Tuder RM. One hundred years of research in the pathogenesis of pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005; 33: 425-431.
8. Siobal MS. Pulmonary vasodilators. *Respir Care.* 2007 Jul;52(7):885-99.
9. Jeffery TK, Wanstall JC. Pulmonary vascular remodeling: a target for therapeutic intervention in pulmonary hypertension. *Pharmacology & Therapeutics* 92 (2001) 1-20.
10. Humbert M, Morrell NW, Archer SL, Stenmark KR, MacLean MR, Lang IM, Christman BW, Weir EK, Eickelberg O, Voelkel NF, Rabinovitch M. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43:13S-24S.

11. Voelkel NF, Tuder RM. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of severe pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 1995 8, 2129-2138.
12. Voelkel NF, Tuder RM. Cellular and molecular biology of vascular smooth muscle cells in pulmonary hypertension. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* (1997) 10, 231-241.
13. Chan SY, Loscalzo J. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension. *J Mol Cell Cardiol*. 2008 January; 44(1):14-30.
14. Howard LS, Morrell NW. New therapeutic agents for pulmonary vascular disease. *Paed Resp Rev* (2005) 6, 285-291.
15. Balloira A. Pulmonary hypertension treatment: future prospects. *Arch Bronconeumol*. 2007;43(3): 131-5.
16. Lee SH, Rubin LJ. Current treatment strategies for pulmonary arterial hypertension. *J Int Med* 2005; 258: 199-215.
17. Liu C, Liu K, Ji Z, Liu G. Treatments for pulmonary arterial hypertension. *Resp Med* (2006) 100, 765-774.
18. Hoeper M, Galie N, Simonneau G, Rubin LJ. New treatments for pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 165: 1209-1216.
19. Badesch DB, McLaughlin VV, Delcroix M, Vizza CD, Olschewski H, Sitbon O, Barst RJ. Prostanoid therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(12):S56-S61.
20. Gombert-Maitland M, Olschewski H. Prostacyclin therapies for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2008; 31:891-901.
21. Raiesdana A, Loscalzo J. Pulmonary arterial hypertension. *Annals of Medicine*. 2006; 38: 95-110.
22. Channick RN, Simonneau G, Sitbon O, Robbins IM, Frost A, Tapson VF, Badesch DB, Roux S, Rainisio M, Bodin F, Rubin LJ. Effects of the

dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomised placebo-controlled study. *Lancet* 2001; 358: 1119-23.

23. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, Fleming T, Parpia T, Burgess G, Branzi A, Grimminger F, Kurzyna M, Simonneau G; Sildenafil Use in Pulmonary Arterial Hypertension (SUPER) Study Group. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med.* 2005 Nov 17;353(20):2148-57.
24. Spring RM, Ulrich S, Huber LC, Speich R, Maggiorini M, Treder U, Fischler M. Sildenafil for pulmonary hypertension: dose-dependent improvement in exercise performance. *Pulm Pharmacol Ther.* 2008;21(3):516-21.
25. Voelkel NF, Vandivier RW, Tuder RM. Vascular endothelial growth factor in the lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 290: L209-L221.
26. Le Cras TD, Markham NE, Tuder RM, Voelkel NF, Abman SH. Treatment of newborn rats with a VEGF receptor inhibitor causes pulmonary hypertension and abnormal lung structure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002; 283: L555-L562.
27. Grover TR, Parker TA, Markham NE, Abman SH. rhVEGF treatment preserves pulmonary vascular reactivity and structure in an experimental model of pulmonary hypertension in fetal sheep. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005; 289: L315-L321.
28. Campbell AI, Zhao Y, Sandhu R, Stewart DJ. Cell-based gene transfer of vascular endothelial growth factor attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Circulation.* 2001; 104: 2242-2248.
29. Gong F, Tang H, Lin Y, Gu W, Wang W, Kang M. Gene transfer of vascular endothelial growth factor reduces bleomycin-induced pulmonary hypertension in immature rabbits. *Pediatr Int.*2005; 47: 242-247.

30. Stewart S, Rassl D. Advances in the understanding and classification of pulmonary hypertension. *Histopathology*. 2009 Jan;54(1):104-16.
31. Simonneau G, Galiè N, Rubin LJ, Langleben D, Seeger W, Domenighetti G, Gibbs S, Lebrec D, Speich R, Beghetti M, Rich S, Fishman A. Clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Jun 16;43: 5S-12S.
32. Ghamra ZW, Dweik RA. Primary pulmonary hypertension: an overview of epidemiology and pathogenesis. *Cleve Clin J Med*. 2003 Apr;70 Suppl 1:S2-8.
33. Prabha M, Jin HF, Tian Y, Tang CS, DU JB. Mechanisms responsible for pulmonary hypertension. *Chin Med J*. 2008 Dec 20;121(24):2604-9.
34. Abenhaim L, Moride Y, Brenot F, Rich S, Benichou J, Kurz X, Higenbottam T, Oakley C, Wouters E, Aubier M, Simonneau G, Bégaud B. Appetite-suppressant drugs and the risk of primary pulmonary hypertension. International Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *N Engl J Med*. 1996 Aug 29;335(9):609-16.
35. Rich S, Rubin L, Walker AM, Schneeweiss S, Abenhaim L. Anorexigens and pulmonary hypertension in the United States: results from the surveillance of North American pulmonary hypertension. *Chest*. 2000 Mar;117(3):870-4.
36. Gaine SP, Rubin LJ. Primary pulmonary hypertension. *Lancet*. 1998 Aug 29;352(9129):719-25.
37. Rich S, Dantzker DR, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Koerner SK. Primary pulmonary hypertension. A national prospective study. *Ann Intern Med*. 1987 Aug;107(2):216-23.
38. Highland KB. Pulmonary arterial hypertension. *Am J Med Sci*. 2008 Jan;335(1):40-5.
39. Tuder RM, Groves B, Badesch DB, Voelkel NF. Exuberant endothelial cell growth and elements of inflammation are present in plexiform

- lesions of pulmonary hypertension. *Am J Pathol.* 1994 Feb;144(2):275-85.
40. Jeffery TK, Morrell NW. Molecular and cellular basis of pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Prog Cardiovasc Dis.* 2002 Nov-Dec;45(3):173-202.
 41. Lane KB, Machado RD, Pauciulo MW, Thomson JR, Phillips JA 3rd, Loyd JE, Nichols WC, Trembath RC. Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF-beta receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. The International PPH Consortium. *Nat Genet.* 2000 Sep;26(1):81-4.
 42. Deng Z, Morse JH, Slager SL, Cuervo N, Moore KJ, Venetos G, Kalachikov S, Cayanis E, Fischer SG, Barst RJ, Hodge SE, Knowles JA. Familial primary pulmonary hypertension (gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am J Hum Genet.* 2000 Sep;67(3):737-44.
 43. Cool CD, Stewart JS, Werahera P, Miller GJ, Williams RL, Voelkel NF, Tuder RM. Three-dimensional reconstruction of pulmonary arteries in plexiform pulmonary hypertension using cell-specific markers. Evidence for a dynamic and heterogeneous process of pulmonary endothelial cell growth. *Am J Pathol.* 1999 Aug;155(2):411-9.
 44. Rounds S, Hill NS. Pulmonary hypertensive diseases. *Chest.* 1984 Mar;85(3):397-405.
 45. Tozzi CA, Christiansen DL, Poiani GJ, Riley DJ. Excess collagen in hypertensive pulmonary arteries decreases vascular distensibility. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994 May;149(5):1317-26.
 46. Stenmark KR, Gerasimovskaya E, Nemenoff RA, Das M. Hypoxic activation of adventitial fibroblasts: role in vascular remodeling. *Chest.* 2002 Dec;122(6 Suppl):326S-334S.

47. Welsh CH, Hassell KL, Badesch DB, Kressin DC, Marlar RA. Coagulation and fibrinolytic profiles in patients with severe pulmonary hypertension. *Chest*. 1996 Sep;110(3):710-7.
48. Bloch KD, Ichinose F, Roberts JD Jr, Zapol WM. Inhaled NO as a therapeutic agent. *Cardiovasc Res*. 2007 Jul 15;75(2):339-48.
49. Coggins MP, Bloch KD. Nitric oxide in the pulmonary vasculature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Sep;27(9):1877-85.
50. Chatterjee A, Catravas JD. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul Pharmacol*. 2008 Oct-Dec;49(4-6):134-40.
51. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine:dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Jun;24(6):1023-30.
52. Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1995 Jul 27;333(4):214-21.
53. Champion HC, Bivalacqua TJ, Greenberg SS, Giles TD, Hyman AL, Kadowitz PJ. Adenoviral gene transfer of endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) partially restores normal pulmonary arterial pressure in eNOS-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Oct 1;99(20):13248-53.
54. Tang JR, Markham NE, Lin YJ, McMurtry IF, Maxey A, Kinsella JP, Abman SH. Inhaled nitric oxide attenuates pulmonary hypertension and improves lung growth in infant rats after neonatal treatment with a VEGF receptor inhibitor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004 Aug;287(2):L344-51.
55. Tuder RM, Cool CD, Geraci MW, Wang J, Abman SH, Wright L, Badesch D, Voelkel NF. Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Jun;159(6):1925-32.

56. Krug S, Sablotzki A, Hammerschmidt S, Wirtz H, Seyfarth HJ. Inhaled iloprost for the control of pulmonary hypertension. *Vasc Health Risk Manag.* 2009;5(1):465-74.
57. Christman BW, McPherson CD, Newman JH, King GA, Bernard GR, Groves BM, Loyd JE. An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 1992 Jul 9;327(2):70-5.
58. Olschewski H, Rose F, Schermuly R, Ghofrani HA, Enke B, Olschewski A, Seeger W. Prostacyclin and its analogues in the treatment of pulmonary hypertension. *Pharmacol Ther.* 2004 May;102(2):139-53.
59. Raja SG, Dreyfus GD. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. *Ann Card Anaesth.* 2008 Jan-Jun;11(1):6-14.
60. Gabbay E, Fraser J, McNeil K. Review of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension. *sc Health Risk Manag.* 2007;3(6):887-900.
61. Masaki T. The discovery of endothelins. *Cardiovasc Res.* 1998 Sep;39(3):530-3.
62. Benigni A, Remuzzi G. Endothelin antagonists. *Lancet.* 1999 Jan 9;353(9147):133-8.
63. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med.* 1993 Jun 17;328(24):1732-9.
64. Faoro V, Boldingh S, Moreels M, Martinez S, Lamotte M, Unger P, Brimiouille S, Huez S, Naeije R. Bosentan decreases pulmonary vascular resistance and improves exercise capacity in acute hypoxia. *Chest.* 2009 May;135(5):1215-22.
65. MacLean MR, Herve P, Eddahibi S, Adnot S. 5-hydroxytryptamine and the pulmonary circulation: receptors, transporters and relevance to

- pulmonary arterial hypertension. *Br J Pharmacol*. 2000 Sep;131(2):161-8.
66. Hervé P, Launay JM, Scrobohaci ML, Brenot F, Simonneau G, Petitpretz P, Poubeau P, Cerrina J, Duroux P, Drouet L. Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension. *Am J Med*. 1995 Sep;99(3):249-54.
 67. Petkov V, Mosgoeller W, Ziesche R, Raderer M, Stiebellehner L, Vonbank K, Funk GC, Hamilton G, Novotny C, Burian B, Block LH. Vasoactive intestinal peptide as a new drug for treatment of primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest*. 2003 May;111(9):1339-46.
 68. Weir EK, Reeve HL, Huang JM, Michelakis E, Nelson DP, Hampl V, Archer SL. Anorexic agents aminorex, fenfluramine, and dexfenfluramine inhibit potassium current in rat pulmonary vascular smooth muscle and cause pulmonary vasoconstriction. *Circulation*. 1996 Nov 1;94(9):2216-20.
 69. Nauser TD, Stites SW. Diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Am Fam Physician*. 2001 May 1;63(9):1789-98.
 70. Rubin LJ, Badesch DB. Evaluation and management of the patient with pulmonary arterial hypertension. *Ann Intern Med*. 2005 Aug 16;143(4):282-92.
 71. Badesch DB, Abman SH, Simonneau G, Rubin LJ, McLaughlin VV. Medical therapy for pulmonary arterial hypertension: updated ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2007 Jun;131(6):1917-28.
 72. Rich S, Seidlitz M, Dodin E, Osimani D, Judd D, Genthner D, McLaughlin V, Francis G. The short-term effects of digoxin in patients with right ventricular dysfunction from pulmonary hypertension. *Chest*. 1998 Sep;114(3):787-92.

73. Frank H, Mlczoch J, Huber K, Schuster E, Gurtner HP, Kneussl M. The effect of anticoagulant therapy in primary and anorectic drug-induced pulmonary hypertension. *Chest*. 1997 Sep;112(3):714-21.
74. Rich S, Kaufmann E, Levy PS. The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1992 Jul 9;327(2):76-81.
75. Sitbon O, Humbert M, Jaïs X, loos V, Hamid AM, Provencher S, Garcia G, Parent F, Hervé P, Simonneau G. Long-term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2005 Jun 14;111(23):3105-11.
76. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, McGoon MD, Rich S, Badesch DB, Groves BM, Tapson VF, Bourge RC, Brundage BH, et al. A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. The Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *N Engl J Med*. 1996 Feb 1;334(5):296-302.
77. Simonneau G, Barst RJ, Galie N, Naeije R, Rich S, Bourge RC, Keogh A, Oudiz R, Frost A, Blackburn SD, Crow JW, Rubin LJ ve Group., Treprostinil Study. Continuous subcutaneous infusion of treprostinil, a prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Mar 15;165(6):800-4.
78. Olschewski H, Simonneau G, Galie N, et al. Inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 2002 Aug 1;347(5):322-9.
79. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A, Pulido T, Frost A, Roux S, Leconte I, Landzberg M, Simonneau G. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2002 Mar 21;346(12):896-903.
80. Schermuly RT, Kreisselmeier KP, Ghofrani HA, Yilmaz H, Butrous G, Ermert L, Ermert M, Weissmann N, Rose F, Guenther A, Walmrath D, Seeger W, Grimminger F. Chronic sildenafil treatment inhibits

monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Jan 1;169(1):39-45.

81. Liu H, Liu ZY, Guan Q. Oral sildenafil prevents and reverses the development of pulmonary hypertension in monocrotaline-treated rats. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2007 Oct;6(5):608-13.
82. Ghofrani HA, Voswinckel R, Reichenberger F, Olschewski H, Haredza P, Karadaş B, Schermuly RT, Weissmann N, Seeger W, Grimminger F. 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 Oct 6;44(7):1488-96.
83. Campian ME, Hardziyenka M, Michel MC, Tan HL. How valid are animal models to evaluate treatments for pulmonary hypertension? *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2006 Sep;373(6):391-400.
84. Clozel M, Hess P, Rey M, Iglarz M, Binkert C, Qiu C. Bosentan, sildenafil, and their combination in the monocrotaline model of pulmonary hypertension in rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2006 Jun;231(6):967-73.
85. Schermuly RT, Dony E, Ghofrani HA, Pullamsetti S, Savai R, Roth M, Sydykov A, Lai YJ, Weissmann N, Seeger W, Grimminger F. Reversal of experimental pulmonary hypertension by PDGF inhibition. *J Clin Invest*. 2005 Oct;115(10):2811-21.
86. Merklinger SL, Jones PL, Martinez EC, Rabinovitch M. Epidermal growth factor receptor blockade mediates smooth muscle cell apoptosis and improves survival in rats with pulmonary hypertension. *Circulation*. 2005 Jul 19;112(3):423-31.
87. Sakao S, Taraseviciene-Stewart L, Cool CD, Tada Y, Kasahara Y, Kurosu K, Tanabe N, Takiguchi Y, Tatsumi K, Kuriyama T, Voelkel NF. VEGF-R blockade causes endothelial cell apoptosis, expansion of surviving CD34+ precursor cells and transdifferentiation to smooth

muscle-like and neuronal-like cells. *FASEB J.* 2007 Nov;21(13):3640-52.

88. Hassoun PM, Mouthon L, Barberà JA, Eddahibi S, Flores SC, Grimminger F, Jones PL, Maitland ML, Michelakis ED, Morrell NW, Newman JH, Rabinovitch M, Schermuly R, Stenmark KR, Voelkel NF, Yuan JX, Humbert M. Inflammation, growth factors, and pulmonary vascular remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2009 Jun 30;54(1 Suppl):S10-9.
89. Monacci WT, Merrill MJ, Oldfield EH. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *Am J Physiol.* 1993;264:C995-1002.
90. Tuder RM, Yun JH. Vascular endothelial growth factor of the lung: friend or foe. *Curr Opin Pharmacol.* 2008 Jun;8(3):255-60.
91. Papaioannou AI, Kostikas K, Kollia P, Gourgoulisanis KI. Clinical implications for vascular endothelial growth factor in the lung: friend or foe? *Respir Res.* 2006 Oct 17;7:128.
92. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.* 2003 Jun;9(6):669-76.
93. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999 Jan;13(1):9-22.
94. Voelkel NF, Cool C, Taraceviene-Stewart L, Geraci MW, Yeager M, Bull T, Kasper M, Tuder RM. Janus face of vascular endothelial growth factor: the obligatory survival factor for lung vascular endothelium controls precapillary artery remodeling in severe pulmonary hypertension. *Crit Care Med.* 2002 May;30(5 Suppl):S251-6.
95. Fujita M, Mason RJ, Cool C, Shannon JM, Hara N, Fagan KA. Pulmonary hypertension in TNF-alpha-overexpressing mice is associated with decreased VEGF gene expression. *J Appl Physiol.* 2002 Dec;93(6):2162-70.

96. Hirose S, Hosoda Y, Furuya S, Otsuki T, Ikeda E. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors correlates closely with formation of the plexiform lesion in human pulmonary hypertension. *Pathol Int.* 2000 Jun;50(6):472-9.
97. Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, Izumi Y, Ang J, Yun CO, Buerk DG, Huang PL, Jain RK. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Feb 27;98(5):2604-9.
98. Dimmeler S, Zeiher AM. Vascular repair by circulating endothelial progenitor cells: the missing link in atherosclerosis? *J Mol Med.* 2004 Oct;82(10):671-7.
99. Eddahibi S, Humbert M, Sediame S, Chouaid C, Partovian C, Maître B, Teiger E, Rideau D, Simonneau G, Sitbon O, Adnot S. Imbalance between platelet vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor in pulmonary hypertension. Effect of prostacyclin therapy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:1493-9.
100. Hoeper MM, Voelkel NF, Bates TO, Allard JD, Horan M, Shepherd D, Tuder RM. Prostaglandins induce vascular endothelial growth factor in a human monocytic cell line and rat lungs via cAMP. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997;17(6):748-56.
101. Botney MD, Bahadori L, Gold LI. Vascular remodeling in primary pulmonary hypertension. Potential role for transforming growth factor-beta. *Am J Pathol.* 1994 Feb;144(2):286-95.
102. Morrell NW, Yang X, Upton PD, Jourdan KB, Morgan N, Sheares KK, Trembath RC. Altered growth responses of pulmonary artery smooth muscle cells from patients with primary pulmonary hypertension to transforming growth factor-beta(1) and bone morphogenetic proteins. *Circulation.* 2001 Aug 14;104(7):790-5.

103. Pertovaara L, Kaipainen A, Mustonen T, Orpana A, Ferrara N, Saksela O, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells. *J Biol Chem*. 1994 Mar 4;269(9):6271-4.
104. Zaiman AL, Podowski M, Medicherla S, Gordy K, Xu F, Zhen L, Shimoda LA, Neptune E, Higgins L, Murphy A, Chakravarty S, Protter A, Sehgal PB, Champion HC, Tudor RM. Role of the TGF-beta/Alk5 signaling pathway in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Apr 15;177(8):896-905.
105. Roth RA, Reindel JF. Lung vascular injury from monocrotaline pyrrole, a putative hepatic metabolite. *Adv Exp Med Biol*. 1991;283:477-87.
106. Wilson DW, Segall HJ, Pan LC, Lamé MW, Estep JE, Morin D. Mechanisms and pathology of monocrotaline pulmonary toxicity. *Crit Rev Toxicol*. 1992;22(5-6):307-25.
107. Rosenberg HC, Rabinovitch M. Endothelial injury and vascular reactivity in monocrotaline pulmonary hypertension. *Am J Physiol*. 1988 Dec;255(6 Pt 2):H1484-91.
108. Schemuly RT, Kreisselmeier KP, Ghofrani HA, Samidurai A, Pullamsetti S, Weissmann N, Schudt C, Ermert L, Seeger W, Grimminger F. Antiremodeling effects of iloprost and the dual-selective phosphodiesterase 3/4 inhibitor tolafentrine in chronic experimental pulmonary hypertension. *Circ Res*. 2004 Apr 30;94(8):1101-8.
109. Hill NS, Warburton RR, Pietras L, Klinger JR. Nonspecific endothelin-receptor antagonist blunts monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *J Appl Physiol*. 1997 Oct;83(4):1209-15.
110. Itoh T, Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Nakanishi N, Hamada K, Kangawa K, Kimura H. A combination of oral sildenafil and beraprost ameliorates pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Jan 1;169(1):34-8.

111. Schermuly RT, Yilmaz H, Ghofrani HA, Woyda K, Pullamsetti S, Schulz A, Gessler T, Dumitrascu R, Weissmann N, Grimminger F, Seeger W. Inhaled iloprost reverses vascular remodeling in chronic experimental pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Aug 1;172(3):358-63.
112. Chen EP, Akhter SA, Bittner HB, Koch WJ, Davis RD, Van Trigt P 3rd. Molecular and functional mechanisms of right ventricular adaptation in chronic pulmonary hypertension. *Ann Thorac Surg*. 1999 Apr;67(4):1053-8.
113. Arcot SS, Lipke DW, Gillespie MN, Olson JW. Alterations of growth factor transcripts in rat lungs during development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Biochem Pharmacol*. 1993 Sep 14;46(6):1086-91.
114. Partovian C, Adnot S, Eddahibi S, Teiger E, Levame M, Dreyfus P, Raffestin B, Frelin C. Heart and lung VEGF mRNA expression in rats with monocrotaline- or hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Am J Physiol*. 1998 Dec;275(6 Pt 2):H1948-56.
115. Boor PJ, Gotlieb AI, Joseph EC, Kerns WD, Roth RA, Tomaszewski KE. Chemical-induced vasculature injury. Summary of the symposium presented at the 32nd annual meeting of the Society of Toxicology, New Orleans, Louisiana, March 1993. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1995 Jun;132(2):177-95.
116. Tuder RM, Flook BE, Voelkel NF. Increased gene expression for VEGF and the VEGF receptors KDR/Fik and Flt in lungs exposed to acute or to chronic hypoxia. Modulation of gene expression by nitric oxide. *J Clin Invest*. 1995 Apr;95(4):1798-807.
117. Hoeper MM, Voelkel NF, Bates TO, Allard JD, Horan M, Shepherd D, Tuder RM. Prostaglandins induce vascular endothelial growth factor in a human monocytic cell line and rat lungs via cAMP. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1997 Dec;17(6):748-56.

118. Rondelet B, Kerbaul F, Van Beneden R, Motte S, Fesler P, Hubloue I, Rimmelink M, Brimiouille S, Salmon I, Ketelslegers JM, Naeije R. Signaling molecules in overcirculation-induced pulmonary hypertension in piglets: effects of sildenafil therapy. *Circulation*. 2004 Oct 12;110(15):2220-5.
119. Rondelet B, Kerbaul F, Motte S, van Beneden R, Rimmelink M, Brimiouille S, McEntee K, Wauthy P, Salmon I, Ketelslegers JM, Naeije R. Bosentan for the prevention of overcirculation-induced experimental pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2003 Mar 11;107(9):1329-35.
120. Vidavalur R, Penumathsa SV, Zhan L, Thirunavukkarasu M, Maulik N. Sildenafil induces angiogenic response in human coronary arteriolar endothelial cells through the expression of thioredoxin, hemeoxygenase and vascular endothelial growth factor. *Vascul Pharmacol*. 2006 Aug;45(2):91-5.
121. Iglarz M, Silvestre JS, Duriez M, Henrion D, Lévy BI. Chronic blockade of endothelin receptors improves ischemia-induced angiogenesis in rat hindlimbs through activation of vascular endothelial growth factor-NO pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Oct;21(10):1598-603.
122. Tuder RM, Chacon M, Alger L, Wang J, Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Cool CD, Bishop AE, Geraci M, Semenza GL, Yacoub M, Polak JM, Voelkel NF. Expression of angiogenesis-related molecules in plexiform lesions in severe pulmonary hypertension: evidence for a process of disordered angiogenesis. *J Pathol*. 2001 Oct;195(3):367-74.
123. Partovian C, Adnot S, Raffestin B, Louzier V, Levame M, Mavier IM, Lemarchand P, Eddahibi S. Adenovirus-mediated lung vascular endothelial growth factor overexpression protects against hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000 Dec;23(6):762-71.
124. Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Alger L, Hirth P, Mc Mahon G, Waltenberger J, Voelkel NF, Tuder RM. Inhibition of the VEGF receptor

2 combined with chronic hypoxia causes cell death-dependent pulmonary endothelial cell proliferation and severe pulmonary hypertension. *FASEB J.* 2001 Feb;15(2):427-38.

125. Grover TR, Parker TA, Zenge JP, Markham NE, Kinsella JP, Abman SH. Intrauterine hypertension decreases lung VEGF expression and VEGF inhibition causes pulmonary hypertension in the ovine fetus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003 Mar;284(3):L508-17.
126. Farkas L, Farkas D, Ask K, Möller A, Gaudie J, Margetts P, Inman M, Kolb M. VEGF ameliorates pulmonary hypertension through inhibition of endothelial apoptosis in experimental lung fibrosis in rats. *J Clin Invest.* 2009 May;119(5):1298-311.
127. Park HK, Park SJ, Kim CS, Paek YW, Lee JU, Lee WJ. Enhanced gene expression of renin-angiotensin system, TGF-beta1, endothelin-1 and nitric oxide synthase in right-ventricular hypertrophy. *Pharmacol Res.* 2001 Mar;43(3):265-73.
128. El-Haroun H, Clarke DL, Deacon K, Bradbury D, Clayton A, Sutcliffe A, Knox AJ. IL-1beta, BK, and TGF-beta1 attenuate PGI2-mediated cAMP formation in human pulmonary artery smooth muscle cells by multiple mechanisms involving p38 MAP kinase and PKA. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008 Mar;294(3):L553-62.
129. Markewitz BA, Farrukh IS, Chen Y, Li Y, Michael JR. Regulation of endothelin-1 synthesis in human pulmonary arterial smooth muscle cells. Effects of transforming growth factor-beta and hypoxia. *Cardiovasc Res.* 2001 Jan;49(1):200-6.
130. Tzanidis A, Lim S, Hannan RD, See F, Ugoni AM, Krum H. Combined angiotensin and endothelin receptor blockade attenuates adverse cardiac remodeling post-myocardial infarction in the rat: possible role of transforming growth factor beta(1). *J Mol Cell Cardiol.* 2001 May;33(5):969-81.