

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

PULMONER ARTERİYAL HİPERTANSİYON TEDAVİSİNDE
SİLDENAFİL + EVEROLİMUS KOMBİNASYONUNUN
POTANSİYEL ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

SİNEM ILGIN

Doç.Dr. BAŞAR SIRMAGÜL

HAZİRAN-2009

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

PULMONER ARTERİYAL HİPERTANSİYON TEDAVİSİNDE
SİLDENAFİL + EVEROLİMUS KOMBİNASYONUNUN
POTANSİYEL ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

SİNEM ILGIN

Doç.Dr. BAŞAR SIRMAGÜL

HAZİRAN-2009

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sinem ILGIN' ın Doktora Tezi olarak hazırladığı "Pulmoner Arteriyal Hipertansiyon Tedavisinde Sildenafil+Everolimus Kombinasyonunun Potansiyel Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "KABUL" edilmiştir.

10.06.2009

Üye : Prof. Dr. M. İpek CİNGİ

Üye : Prof. Dr. Kevser EROL

Üye : Doç. Dr. F. Sultan KILIÇ

Üye : Doç. Dr. Bülent ERGUN

Üye : Doç. Dr. Başar SIRMAGÜL

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 16.10.6/2009 tarih ve ...787/3667.. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Ferruh YÜCEL
Enstitü Müdürü

ÖZET

PULMONER ARTERİYAL HİPERTANSİYON TEDAVİSİNDE SİLDENAFİL + EVEROLİMUS KOMBİNASYONUNUN POTANSİYEL ETKİSİ

Çalışmamızda sıçanlarda monokrotalin ile oluşturulan pulmoner hipertansiyon modelinde sildenafille eklenen everolimus kombinasyonlarının hemodinamik ve morfolojik değerlendirmeler sonucunda ne ölçüde etkili olduğu araştırılmıştır. Sağ ventrikül basınçları, sağ ventrikül hipertrofisi ve pulmoner arterlerde miyografta vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara alınan yanıtlar yanında histopatolojik değişimler gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Sağ ventrikül basınçları ve sağ ventrikül/kalp ağırlık oranları tedavisiz monokrotalin gruplarında kontrole oranla anlamlı şekilde artarken tedavili gruplarda bu artış azalarak kontrolden farksız değerlere ulaşmıştır. Everolimus eklenen gruplarda sildenafil tedavisine oranla bu parametrelerde anlamlı fark gözlenmemiştir. Pulmoner arterlerde potasyum klorür, endotelin-1 ve noradrenalin kasılma yanıtları tedavisiz monokrotalin gruplarında kontrole oranla azalırken serotonin kasılma yanıtları artmıştır. Tedavili gruplarda özellikle de everolimuslu gruplarda azalan kasılma yanıtlarının kontrolden farksız değerlere ulaştığı, serotonin yanıtlarının ise tedavisiz monokrotalin gruplarında olduğu gibi arttığı görülmüştür. Asetilkolin ve sodyum nitroprussid gevşeme yanıtlarının tedavisiz monokrotalin gruplarında azaldığı tedavili gruplarda özellikle de everolimuslu gruplarda belirgin şekilde düzeldiği saptanmıştır. Histopatolojik incelemelerde monokrotalin gruplarında meydana gelen vasküler ve kardiyak hipertrofinin tedavi ile düzeldiği görülmüştür. Özellikle de everolimuslu tedavi gruplarında bu düzelmeler inflamatuvar değişiklikleri de içine alacak şekilde daha ön plana çıkmıştır. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde monokrotalin ile indüklenen pulmoner hipertansiyon modelinde sildenafil+everolimus kombinasyonunun kardiyovasküler toksik etki oluşturmaksızın remodeling sürecinde salt sildenafil tedavisine oranla daha etkili olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Pulmoner hipertansiyon, vasküler remodeling, monokrotalin, sildenafil, everolimus

SUMMARY

THE POTENTIAL EFFECT OF THE SILDENAFIL+EVEROLIMUS COMBINATION ON THE PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION TREATMENT

In our study, we investigated the efficacy of everolimus combination treatment with sildenafil on hemodynamical and morphological parameters in the monocrotaline induced pulmonary hypertensive rats. Right ventricular pressure, right ventricular hypertrophy and the response to vasoconstrictor and vasodilator agents in pulmonary arteries by myograph and also the histopathological changes were compared between the groups. Right ventricular pressures and right ventricle/heart weight ratios were increased in non-treated monocrotaline groups versus the controls, these increased ratios were decreased in the treated groups and reached to similar values as controls. There is no significant difference between the everolimus added groups and sildenafil groups. The contractile responses to noradrenaline, potassium chloride and endothelin-1 were decreased in the non-treated monocrotaline groups versus controls; in contrast the contraction responses to serotonin were increased in pulmonary arteries. Reduced contractile responses were reached to control values and the contractile responses to serotonin were increased as non-treated monocrotaline groups in the treatment groups especially in the everolimus groups. Responses to acetylcholine and sodium nitroprusside relaxation were decreased in non-treated monocrotaline groups and improved significantly in the everolimus groups. At the histopathological examinations, vascular hypertrophy and cardiac hypertrophy occurred in monocrotaline groups was improved by the treatment. Particularly these improvements became remarkably, including the inflammatory changes in the everolimus treatment groups. In the light of these results sildenafil+everolimus combinations were more efficient than sildenafil treatment alone in the remodeling process without any cardiovascular toxic effects in the monocrotaline induced pulmonary hypertension.

Key words: Pulmonary hypertension, vascular remodeling, monocrotaline, sildenafil, everolimus

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	x
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
Pulmoner Hipertansiyonun Tanımı	3
Pulmoner Hipertansiyonun Patogenezi	3
<i>Endotel disfonksiyonu ve vazokonstriksiyon</i>	4
<i>Vasküler remodeling</i>	4
<i>Trombozis</i>	5
Pulmoner Hipertansiyonda Etkili Yolaklar	6
<i>Nitrik oksit yolağı</i>	6
<i>Prostanoid yolağı</i>	7
<i>Endotelin yolağı</i>	7
<i>Serotonin yolağı</i>	8
<i>İnflamasyon</i>	9
<i>Genetik faktörler</i>	10
Pulmoner Hipertansiyonun Belirtileri	11
Pulmoner Hipertansiyonun Sınıflandırılması	12
Pulmoner Hipertansiyonun Tedavisi	14
<i>Medikal yöntemler</i>	14
<i>Antikoagülan tedavisi</i>	14
<i>Diüretik tedavisi</i>	14
<i>Oksijen tedavisi</i>	15
<i>Digoksin tedavisi</i>	15

İÇİNDEKİLER (DEVAM)

	Sayfa No
<i>Kalsiyum kanal blokörleri ile tedavi</i>	15
<i>Entotelin reseptör antagonistleri</i>	16
<i>Prostasiklin analogları</i>	16
<i>Fosfodiesteraz-5 inhibitörleri</i>	17
<i>Kombinasyon tedavisi</i>	18
<i>Cerrahi yöntemler</i>	18
<i>Akciğer ve kalp-akciğer tranplantasyonu</i>	18
<i>Tromboendarterektomi</i>	19
<i>Atriyal septostomi</i>	19
<i>Pulmoner hipertansiyon tedavisinde yeni gelişmeler</i>	19
Pulmoner Hipertansiyon ve İmmünsüpresanlar	20
Pulmoner Hipertansiyon Modelleri	23
<i>Monokrotalin enjeksiyonu</i>	23
<i>Kronik hipoksi</i>	23
<i>Duktus arteriosusun bağlanması</i>	24
<i>Kronik embolik pulmoner hipertansiyon</i>	24
<i>Genetik olarak modifiye edilmiş hayvanlar</i>	24
GEREÇ ve YÖNTEM	25
Gereç	25
<i>Deneylerde kullanılan hayvanlar</i>	25
<i>Deneylerde kullanılan kimyasal madde ve çözeltiler</i>	25
<i>Deneylerde kullanılan cihazlar</i>	25
Yöntem	26
<i>Deneylerde kullanılan çözeltiler ve konsantrasyonları</i>	26
<i>Deneysel pulmoner hipertansiyon modelinin oluşturulması</i>	26
<i>Deney protokolü</i>	27
<i>Sıçanlarda pulmoner arter basıncının ölçülmesi</i>	27
<i>Sıçan pulmoner arterlerinde miyograf çalışması</i>	27
<i>Miyograf Protokolü</i>	29

İÇİNDEKİLER (DEVAM)

	Sayfa No
<i>Histopatolojik Işık Mikroskopisi İncelemesi</i>	30
<i>İstatistiksel Analiz</i>	30
BULGULAR	32
Sağ Ventrikül Basınçlarının Ölçümü	32
Sağ Ventrikül/Kalp Ağırlık Oranları	33
Miyografta Değerlendirilen Pulmoner Arter Yanıtları	34
<i>Potasyumklorür yanıtları</i>	34
<i>Potasyumklorür kasılma yanıtları</i>	34
<i>Potasyumklorür kasılma yanıtlarına karşı elde edilen asetilkolin gevşeme yanıtları</i>	35
<i>Potasyumklorür kasılma yanıtlarına karşı elde edilen sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları</i>	35
<i>Serotonin yanıtları</i>	35
<i>Serotonin kasılma yanıtları</i>	35
<i>Serotonin kasılma yanıtlarına karşı elde edilen asetilkolin gevşeme yanıtları</i>	35
<i>Serotonin kasılma yanıtlarına karşı elde edilen sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları</i>	36
<i>Endotelin-1 Yanıtları</i>	36
<i>Endotelin-1 kasılma yanıtları</i>	36
<i>Endotelin-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen asetilkolin gevşeme yanıtları</i>	36
<i>Endotelin-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları</i>	37
<i>Noradrenalin Yanıtları</i>	37
<i>Noradrenalin kasılma yanıtları</i>	37
<i>Noradrenalin kasılma yanıtlarına karşı elde edilen asetilkolin gevşeme yanıtları</i>	37

İÇİNDEKİLER (DEVAM)

	Sayfa No
<i>Noradrenalin kasılma yanıtlarına karşı</i>	37
<i>elde edilen sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları</i>	
Histopatolojik Işık Mikroskopisi Sonuçları	49
<i>Pulmoner arter histopatolojik ışık mikroskopisi sonuçları</i>	49
<i>Sağ ventrikül histopatolojik ışık mikroskopisi sonuçları</i>	56
<i>Akciğer histopatolojik ışık mikroskopisi sonuçları</i>	59
TARTIŞMA	62
SONUÇ VE ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR DİZİNİ	72
EK- 1	
ETİK KURUL ONAYI	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. KCl kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	38
Tablo 2. KCl kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	39
Tablo 3. 5-HT kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	40
Tablo 4. 5-HT kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	41
Tablo 5. 5-HT kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	42
Tablo 6. ET-1 kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	43
Tablo 7. ET-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	44
Tablo 8. ET-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	45
Tablo 9. NA kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	46
Tablo 10. NA kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	47
Tablo 11. NA kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Deney protokolü	31
Şekil 2. Sağ ventrikül basınçları	32
Şekil 3. Sağ ventrikül/kalp ağırlık oranları	33
Şekil 4. KCl kasılma yanıtları	34
Şekil 5. KCl kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtları	38
Şekil 6. KCl kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtları	39
Şekil 7. 5-HT kasılma yanıtları	40
Şekil 8. 5-HT kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtları	41
Şekil 9. 5-HT kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtları	42
Şekil 10. ET-1 kasılma yanıtları	43
Şekil 11. ET-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtları	44
Şekil 12. ET-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtları	45
Şekil 13. NA kasılma yanıtları	46
Şekil 14. NA kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtları	47
Şekil 15. NA yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtları	48
Şekil 16. Kontrol grubuna ait pulmoner arter örneği	49
Şekil 17. Kontrol grubuna ait pulmoner arter örneği	49
Şekil 18. Kontrol grubuna ait pulmoner arter örneği	50
Şekil 19. MCT grubuna ait pulmoner arter örneği	50
Şekil 20. MCT grubuna ait pulmoner arter örneği	51
Şekil 21. MCT grubuna ait pulmoner arter örneği	51
Şekil 22. Sildenafil grubuna ait pulmoner arter örneği	52
Şekil 23. Sildenafil grubuna ait pulmoner arter örneği	52
Şekil 24. Sildenafil grubuna ait pulmoner arter örneği	53
Şekil 25. Sildenafil+Everolimus (1mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği	53
Şekil 26. Sildenafil+Everolimus (1mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği	54
Şekil 27. Sildenafil+Everolimus (1mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği	54
Şekil 28. Sildenafil+Everolimus (3mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği	55
Şekil 29. Sildenafil+Everolimus (3mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği	55

ŞEKİLLER DİZİNİ (DEVAM)

	Sayfa No
Şekil 30. Sildenafil+Everolimus (3mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği	56
Şekil 31. Kontrol grubuna ait sağ ventrikül örneği	56
Şekil 32. MCT grubuna ait sağ ventrikül örneği	57
Şekil 33. Sildenafil grubuna ait sağ ventrikül örneği	57
Şekil 34. Sildenafil+Everolimus (1mg/kg) grubuna ait sağ ventrikül örneği	58
Şekil 35. Sildenafil+Everolimus (3mg/kg) grubuna ait sağ ventrikül örneği	58
Şekil 36. Kontrol grubuna ait akciğer örneği	59
Şekil 37. MCT grubuna ait akciğer örneği	59
Şekil 38. Sildenafil grubuna ait akciğer örneği	60
Şekil 39. Sildenafil+Everolimus (1 mg/kg) grubuna ait akciğer örneği	60
Şekil 40. Sildenafil+Everolimus (3 mg/kg) grubuna ait akciğer örneği	61

KISALTMALAR DİZİNİ

Pulmoner hipertansiyon	PH
Pulmoner arter basıncı	PAB
İdiyopatik pulmoner arteriyal hipertansiyon	İPAH
Ailesel pulmoner arteriyal hipertansiyon	FPAH
Primer pulmoner hipertansiyon	PPH
Sekonder pulmoner hipertansiyon	SPH
Nitrik oksit	NO
Endotelyal nitrik oksit	eNO
Endotelyal nitrik oksit sentaz	eNOS
Nitrik oksit sentaz	NOS
Asimetrik dimetil arjinin	ADMA
Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz	DDAH
Siklik guanozin monofosfat	s-GMP
Siklik adenozin monofosfat	s-AMP
Fosfodiesteraz	FDE
Dünya Sağlık Örgütü	DSÖ
Monokrotalin	MCT
Endotelin-1	ET-1
Endotelin reseptör antagonisti	ERA
Reaktif oksijen türleri	ROT
Vazointestinal peptid	VİP
Platelet aktive edici faktör	PAF
Platelet kaynaklı büyüme faktörü	PDGF
Vasküler endotelyal büyüme faktörü	VEGF
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı	KOAH
İnterlökin	IL
Monosit kemotaktik protein	MCP
Transforming büyüme faktör β	TGF- β
Fibroblast büyüme faktörü	FGF
Kemik morfogenetik protein reseptör tip 2	BMPR2

KISALTMALAR DİZİNİ (DEVAM)

Kalsiyum kanal blokörleri	KKB
Dikloroasetat	DKA
Memeli rapamisin hedefi	mTOR
Fosfoinozimid-3-kinaz	PI3K
Protein kinaz B	Akt
Potasyum klorür	KCl
Noradrenalin	NA
Serotonin	5-HT
Asetilkolin	Ach
Sodyumnitroprussid	SNP

GİRİŞ VE AMAÇ

Pulmoner hipertansiyon, pulmoner arter basıncının progresif artışı ile karakterize olup sıklıkla sağ kalp yetmezliğine ve ölüme yol açabilen ilerleyici bir tablodur (1, 2, 3). Son 10 yılda hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılması yeni ve daha etkili tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak sağlamıştır (4, 5, 6). Pulmoner vazokonstriksiyon ve pulmoner vasküler remodeling (yeniden yapılanma), pulmoner hipertansiyonun fizyopatolojik temelini oluşturmaktadır (1, 7, 8, 9, 10).

Pulmoner hipertansiyon tedavisinde vazodilatörler sıklıkla kullanılan ilaçlardır (1, 7, 8). Hastalığın gelişiminde ve ilerlemesinde artmış vazokonstriksiyonun yanında vasküler remodelingin de önemli olduğunun anlaşılması vasküler remodeling hedeflenerek yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilebileceğini düşündürmektedir (1, 11).

Pulmoner vasküler remodeling, fiziksel (mekanik stres, sürtünme stresi gibi) ve kimyasal (hipoksi, vazoaaktif maddeler (anjiotensin II, endotelin I gibi), büyüme faktörleri (özellikle transforming büyüme faktörü B, vasküler endotelial büyüme faktörü ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi)) uyaranlara karşı cevap olarak meydana gelmektedir (7, 8, 9, 10, 12). Remodeling, endotelial hücreler, fibroblastlar ve düz kas hücreleri gibi vasküler hücrelerin hiperplazisi ile hipertrofisini kapsar ve damar duvarının tüm tabakalarında kalınlaşma ile karakterizedir (7, 8, 9, 10).

Prostasiklin analogları, endotelin reseptör antagonistleri ve fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri pulmoner hipertansiyonun tedavisinde kullanılan ilaçlardır (13, 14). Sildenafil, fosfodiesteraz tip 5 enzimini inhibe ederek intraselüler sıklık guanozin monofosfat seviyesini artırarak damar düz kas hücrelerinde dilatasyona ve antiproliferatif etkiye neden olmaktadır (14, 15). Sildenafil, pulmoner hipertansiyon gelişimine karşı koruyucu ve tedavi edici etkiye sahiptir (15).

Everolimus, immünsüpresan ve antiproliferatif bir madde olan rapamisin oral yolla kullanılan bir türevidir (16). Rapamisin ve everolimus, hematopoietik ve düz kas hücreleri gibi hematopoietik olmayan hücrelerde büyüme faktörleri ile indüklenen proliferasyonu inhibe etmektedir (16, 17). Özellikle damar düz kas hücreleri ve fibroblastlar gibi diğer hücreler üzerindeki antiproliferatif etkisi ile ilgili olarak hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Everolimus kronik allograft disfonksiyonunda gözlenen vaskülopatinin engellenmesi amacı ile kullanılmaktadır (17, 18). Everolimus düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ederken neointimal

yapılanmayı da engeller ve vasküler yapılarıdaki çeşitli lümen obstrüksiyonlarına karşı koruyucu etkilidir (koroner stentlerdeki uygulama). Hayvan modellerinde soğuk iskemiyile indüklenen vasküler remodelingi doza bağlı olarak azaltmıştır (19). Ayrıca pnömonektomize sıçanlarda pulmoner arteriyal hipertansiyon ve neointimal oluşumu azalttığı gösterilmiştir (20).

Çalışmamızda, sildenafil tedavisine eklenen everolimus kombinasyonunun monokrotalin ile indüklenen sıçan pulmoner hipertansiyon modelinde tedavideki etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Direkt vazodilatör tedavinin bu patolojinin sağaltımında yeterli olmadığı, gelişen vasküler hipertrofinin de kontrol edilmesi gerektiği bilinmektedir. Pulmoner hipertansiyonda, pulmoner arterlerde meydana gelen remodelingin yansıması olan fonksiyonel ve yapısal parametreleri, sildenafil+everolimus kombinasyonunun salt sildenafil tedavisine oranla ne ölçüde geriletebileceği karşılaştırılmıştır. Bu amaçla gruplarımızda sağ ventrikül basınçları, sağ ventrikül hipertrofisi, pulmoner arterlerde vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara alınan yanıtlar ve histopatolojik sonuçlar değerlendirilmiştir.

GENEL BİLGİLER

Pulmoner Hipertansiyonun Tanımı

Pulmoner hipertansiyon (PH), pulmoner arteriyal basınçtaki (PAB) yükselmeler ile karakterize nadir görülen bir pulmoner damar hastalığıdır. PH tedavi edilmediği takdirde hastalarda sağ kalp yetmezliğine ve ölüme neden olabilmektedir (7, 11, 21, 22, 23, 24).

Akciğerlerde normal şartlar altında ortalama PAB, dinlenme sırasında en çok 25 mm Hg, egzersiz halinde ise en çok 30 mm Hg' dır ve bu değerlerin üzerinde ölçülen ortalama PAB değerleri PH olarak kabul edilmektedir (5, 6, 14, 22, 25, 26, 27).

Akciğerlerdeki kan akımı diğer organlardan daha fazla olduğu halde normal koşullarda ortalama PAB, ortalama sistemik arteriyal basıncın 1/6' sından daha azdır. Bu düşük basınçla ilişkili pulmoner arterler, geniş çaplı olup sistemik arterlerden daha ince damar duvarına sahip ve düşük vasküler tonüslüdür (22). Düşük pulmoner vasküler tonüsün korunması pulmoner endotelyumun birincil fonksiyonudur. Endotel kaynaklı vazodilatörler ve vazokonstriktörler, mitojenler ve antimitojenler, antitrombotik ve protrombotik mediyatörler ile kardiyak indeks arasındaki denge pulmoner vasküler tonüsü düzenler. Bu normal dengenin bozulması vazokonstriksiyona ve PH' nun patolojik belirtilerine neden olmaktadır (7, 8, 28). PAB artarken endotel hücreleri laminar akımda bozulma sonucu artmış sürtünme stresine maruz kalmaktadırlar. Bunun sonucunda damar duvarında kolajen birikimi ve düz kas hücre proliferasyonu uyarılmakta ve sonuçta pulmoner vasküler direnç artmaktadır. Artmış basınca sekonder olarak oluşan remodeling daha da artan basınçlar ile devam etmekte ve ileride sağ kalp yetmezliği gelişimine neden olmaktadır (28).

PH' nun radikal tedavisi bazı endikasyonlarda söz konusu olup genelde semptomatik tedavi uygulanmaktadır (7, 11, 21, 22, 24). PH' nun geleneksel tedavisi, vazodilatörler, antikoagülanlar, inotropik ajanlar, diüretikler ve oksijen ile yapılmaktadır (23).

Pulmoner Hipertansiyonun Patogenezi

PH patogenezinde genetik yatkınlık yanında toksinlere ve inflamatuvar mediyatörlere maruziyet gibi çeşitli faktörlerin sürecin başlamasında rol oynadığı düşünülmektedir. Bu başlatıcı faktörler; endotel hücre proliferasyonuna ve disfonksiyonuna, vasküler lümenin trombotik obstrüksiyonuna, anormal vazomotor

kontrole, damar duvarının kronik remodelingi gibi yapısal değişikliklere neden olmaktadır (7, 8, 22).

PH' da vazokonstriksiyon, pulmoner damar duvarının remodelingi ve trombozis temel patolojiyi oluşturmaktadır (3, 7, 25, 29, 30).

Endotel disfonksiyonu ve vazokonstriksiyon

Pulmoner endotelyum, pulmoner damarların fiziksel ve biyokimyasal özelliklerini, vasküler kontraktileti ve hücre büyümesini düzenleyen büyüme faktörleri ve vazoaktif mediyatörleri salıvermektedir (30, 31). PH' nun gelişiminde ve ilerlemesinde endotel disfonksiyonunun önemli bir patojenik rol oynadığını gösteren kanıtlar mevcuttur (28, 30).

Reaktif oksijen türleri (ROT), genetik mutasyonlar, sürtünme stresi, otoimmünite ve inflamasyon gibi faktörler endotel disfonksiyonuna neden olabilir. Endotel disfonksiyonu, endotel hücre proliferasyonuna, artan koagülopatiyeye, sitokin ve büyüme faktörleri aracılığı ile vazokonstriksiyona ve vasküler hipertrofiye neden olmaktadır (30, 31).

Normalde pulmoner damar sisteminde prostasiklin (prostaglandin I₂), vazoaktifintestinal peptid (VIP) ve nitrik oksit (NO) gibi hücrel mediyatörler güçlü vazodilatörlerdir ve trombosit agregasyonu ile düz kas hücre proliferasyonunu inhibe etmektedirler. Buna karşılık endotelin-1 (ET-1) ve tromboksan A₂ güçlü vazokonstriktör etkiye sahiptir ve damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu, fibrozisi ve adhezyon mediyatörlerinin sentezini arttırmaktadırlar (22, 25, 30). Disfonksiyonel pulmoner arter endotelinde prostasiklin ve NO sentezinin azaldığı buna karşılık ET-1 sentezinin ise arttığı görülmektedir (5, 22, 25, 31).

Vasküler remodeling

Endotelial hücreler, fibroblastlar ve düz kas hücreleri gibi damar hücrelerinin hipertrofisi ve hiperplazisini kapsayan remodeling, damar duvarının tüm tabakalarında oluşmakta ve sıklıkla vasküler yapıda lümen obstrüksiyonu ile seyretmektedir (1, 8, 22, 24, 30, 32). Buna ek olarak, kolajen, elastin ve fibronektin gibi konnektif doku matriks bileşenlerinin artışı söz konusudur (1, 8, 24, 30, 33).

Remodeling sürecinde mekanik stres ve sürtünme stresi gibi fiziksel faktörler yanında kimyasal stimulanlar, hipoksi, viral enfeksiyon, vazoaktif mediyatörler ve büyüme faktörleri de etkili olmaktadır. Yetersiz apoptozis ve antiproliferatif faktörler

remodelingin etiyolojisinde rol oynamaktadır (1, 8). Pulmoner vasküler remodeling intimal proliferasyonu, medial hipertrofiyi ve adventisiyal kalınlaşmayı kapsamaktadır (1, 21, 30, 33).

İntimal vasküler lezyonların patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu lezyonların endotel hasarını takiben düz kas hücre migrasyonunun aktivasyonu, ekstraselüler matriks yer değişimi ve endotel hücre proliferasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. İntimal lezyonlar küçük pulmoner arterlerin luminal alanının redüksiyonuyla oluşur ve pulmoner damar direncini büyük ölçüde etkiler. İntimal lezyonlar dış intimanın kalınlaşmasıyla pleksiform ve fibrotik olarak oluşmaktadır (6, 8, 34).

Medial düz kas hücre hipertrofisi, PH' nun karakteristik patolojik özelliği olup öncelikli olarak muskulerize arterler ile prekapiller damarları kapsamaktadır. PH' daki pulmoner arterlerin tunika mediasının genişlemesi hipertrofi ve hiperplazinin bir kombinasyonu sonucu oluşmaktadır. Ekstraselüler matriks birikimi ile birlikte düz kas hücre hipertrofisi, daha kalın elastik laminayı da kapsayan PH' daki medial kalınlaşmanın sebebinin oluşturmaktadır (8, 34). Pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde antimitojenik faktörlerin etkinliğinin azlığı hipertrofinin ilerleyişinde hız belirleyici faktör olarak değerlendirilmektedir (6).

Adventisiya çoğunlukla fibroblastlardan oluşmaktadır (8). Adventisiyal fibroblastlar, düz kas hücrelerine farklılaşmakta veya remodelinge uğramış mediaya göç etmekte, büyüme faktörleri salgılatarak düz kas hücre proliferasyonunu tetiklemekte, kemik iliği progenitor hücrelerinin ve inflamatuvar hücrelerin toplanmasına izin vermekte ve yeni oluşan damarların yayılması için anjiyojenik ve vaskülojenik kısım oluşturmaktadır (34).

Trombozis

Endotelyum, von Willebrand' s faktörü, plazma fibrinopeptid A, plazminojen aktivatör inhibitör-1, doku plazminojen aktivatör, trombomodulin, prostasiklin ve NO gibi çeşitli maddeler aracılığı ile normal koagülasyonu düzenlemektedir. Endotel disfonksiyonu PH' nun pek çok formunda trombotik sürece katkı sağlamaktadır. Histopatolojik incelemeler pulmoner vaskülopatide trombozisin rolünü desteklemektedir (6, 7, 28). Trombozis pulmoner damar lümenin obstrüksiyonuna neden olarak PH' nu şiddetlendirmektedir (31).

Hiperkoagüle durumlarda artan P-selektin seviyesi endotel disfonksiyonunun ve/veya trombosit aktivasyonunun bir belirteçidir. PH' lu hastalarda P-selektin seviyesinin arttığı ve trombomodulin seviyesinin azaldığı bulunmuştur (31). Buna ek olarak hasarlı endotel hücre seviyesinde trombosit agregasyonunu inhibe eden prostasiklin ve NO üretimi de azalmıştır. PH' lu hastalarda dolaşan trombositler sürekli aktif durumdadır ve hasarlı endotel hücrelerinde agregasyon ile protrombotik ortama katkıda bulunmaktadır (6).

Pulmoner Hipertansiyonda Etkili Yolaklar

Nitrik oksit yolağı

Endotel kaynaklı NO (eNO) diyetle alınan L-arjininin endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aracılığıyla sitrulline dönüşümü esnasında açığa çıkan bir gazdır (6, 27, 28, 30, 31). eNO düz kaslarda dilatasyona neden olan siklik guanozin monofosfat (s-GMP) oluşumunu katalize eden çözünür guanilat siklazı aktive etmektedir. Artan s-GMP kalsiyuma bağlı potasyum kanallarını fosforlayan kinazları aktive ederek hiperpolarizasyona ve düz kaslarda relaksasyona sebep olmaktadır (3, 6, 28, 31). NO düz kasta antiproliferatif ve trombosit inhibitör etkiye de sahiptir (3, 28, 30, 31). Fosfodiesterazlar (FDE) özellikle de FDE-1 ve FDE-5, s-GMP' nin inaktif formuna dönüşümünü sağlamaktadır. Pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde bolca FDE-5 sentezlenmektedir. Bu yüzden PH tedavisinde FDE-5 inhibisyonu ile s-GMP' nin aktivitesinin artırılması amaçlanmaktadır (28, 30, 31).

PH gelişimine yol açan NO yolağındaki bozukluklar arasında ilk olarak NO sentezi için nitrojen donörü olan L-arjininin biyoyararlanımının azalması sayılmaktadır. Endotelial hücreler ve eritrositlerde bulunan arjinaz enzimi L-arjinini hidrolize etmekte ve bunun sonucunda NO üretimi azalmaktadır (28). NO yolağında potansiyel ikinci değişme eNOS aktivitesinin azalmasına bağlı olarak PAB' nda meydana gelen artmadır. eNOS sürekli olarak sentezlenmekte fakat bu sentez pulmoner kan akımı ve damar duvar stresi gibi bazı faktörler tarafından düzenlenmektedir. PH' da eNOS sentezinin ve eNO biyoyararlanımının azaldığı görülmüştür. eNOS immunoreaktivitesi PH' nun hemodinamik ve histolojik şiddeti ile ters orantılıdır (3, 28, 30). Asimetrikdimetil arjinin (ADMA), dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz enzimi (DDAH) tarafından metabolize edilen endojen bir eNOS inhibitörüdür. Sağlıklı yetişkin bireylerde ADMA infüzyonu pulmoner vasküler rezistansı arttırırken, kardiyak indeksi azaltmaktadır. PH'

lu hastalarda plazma DDAH seviyesinin azaldığı bulunmuş ve bu durum artan plazma ADMA seviyesi ile ilişkilendirilmiştir. ADMA plazma seviyesi ile pulmoner hemodinami ve yaşam süresi arasında ters bir orantı vardır (28, 35).

Eksojen NO inhalasyonu PH tedavisinde oldukça etkilidir. Ancak kullanımındaki teknik zorluklar ve potansiyel toksik etki nedeni ile kullanımı sınırlıdır (6, 36).

Prostanoid yolağı

Prostasiklin ve tromboksan A₂ membran araşidonik asitlerinden siklooksijenazlar tarafından sentezlenen zıt etkili eikozanoidlerdir. Prostasiklin güçlü bir vazodilatördür ve trombosit agregasyonu ile düz kas hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir (3, 5, 6, 8, 9, 21, 22, 27, 28, 30, 31). Hücre içi siklik adenosin monofosfat (s-AMP) oluşumunu artırarak vazodilatör etkinlik göstermektedir. Tüm bu etkileri nedeniyle PH modellerinde, pulmoner vazokonstriksiyona ve remodelinge karşı koruyucu etkiye sahiptir (3, 6, 28, 30, 31). Pulmoner arteriyal endotel hücrelerde prostasiklin sentaz enziminin formları prostasiklin oluşumunu düzenlemektedir. Çeşitli nedenlere bağlı olarak PH gelişen hastalarda akciğer dokusunda prostasiklin sentaz sentezinin azaldığı bulunmuştur. Bunun yanında prostasiklinin idrarla atılan metaboliti olan 6-ketoprostasiklin F₂ miktarı da azalmıştır (5, 6, 8, 21, 22, 28, 31). Farelerde prostasiklinin aşırı sentezi hipoksi ile indüklenen PH' a karşı koruyucu rol oynamaktadır. Prostasiklin reseptörü noksan farelerde kronik hipoksiye cevap olarak şiddetli PH gelişmektedir (31).

Prostasiklinin aksine tromboksan A₂ güçlü bir vazokonstriktördür, düz kas hücrelerinde proliferasyonu ve trombosit agregasyonunu indüklemekte ve pulmoner endotel hücreler ile trombositler tarafından üretilmektedir (9, 28, 30, 31). İdiopatik pulmoner arteriyal hipertansiyonlu (İPAH) hastalarda sağ kalpte tromboksan reseptör yoğunluğu ve tromboksan metabolitlerinin idrardaki seviyelerinin arttığı bulunmuştur. İPAH' lı hastalara uygulanan tromboksan A₂ inhibitörü, pulmoner hemodinamiği düzeltmiştir (28, 31).

Endotelin yolağı

ET' ler, endotel hücreleri tarafından sentezlenen, damar tonüsünü düzenleyen vazoaktif peptidlerdir. Damar düz kasları dahil olmak üzere pek çok hücre dizisinde proliferatif ve mitojenik aktiviteye sahiptirler (3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 21, 28, 30, 31).

Lokasyonları ve ET' e afinitesi farklı olan ve böylece farklı fizyolojik aktiviteye sahip 2 ET reseptörü aydınlatılmıştır. ET-A reseptörleri, pulmoner damar düz kas hücrelerinde bulunur ve aktive olduklarında sitozolik Ca^{+2} u arttırarak pulmoner vazokonstriksiyona neden olurlar. ET-B reseptörleri ise düz kas hücrelerinde daha az olmakla birlikte başlıca pulmoner vasküler endotelial hücrelerde bulunurlar. ET-B reseptörlerinin fonksiyonları çok kompleks olmakla birlikte akciğerde NO ve prostasiklin aracılıklı pulmoner vazodilatasyona aracılık etmektedir (4, 6, 7, 21, 22, 25, 28, 30, 31). Bu bilgiler doğrultusunda ET-A reseptörlerine spesifik veya spesifik olmayan endotelin reseptör antagonistleri (ERA), pulmoner vazodilatasyonu sağlamak için PH tedavisinde kullanılmaktadırlar (4, 7, 21, 22, 25).

PH hastalarında plazma ET seviyesinin yükseldiğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Hastalığın şiddeti plazma ET seviyesi ile ilişkilendirilmektedir (3, 5, 7, 10, 22, 30, 37). PH, damar endotelial hücrelerinin kaybı ile başlamaktadır ve bu durumu düzeltebilmek için endotel hücreleri de daha fazla ET üretmeye başlamaktadırlar. Ancak fazla sentez edilen ET vazokonstriksiyonun artmasına ve pulmoner damar düz kaslarının proliferasyonuna neden olarak PH' nun daha da şiddetlenmesine yol açmaktadır (37).

Serotonin yolağı

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) diyetle alınan L-triptofandan enterositlerde sentezlenen pulmoner bir vazokonstriktör ve düz kas mitojenidir. 5-HT için trombosit, nöronlar ve pulmoner endotelial hücreleri üzerinde bulunan 5-HT alımı ve atılımını kontrol eden taşıyıcılar (5-HTT) vardır (28). İPAH' lı hastalarda kanda 5-HT' nin artmış olan seviyesi, bu vazoaktif mediyatörün hastalığın patogenezinde rol oynadığına dikkat çekmektedir (10, 27, 28, 30, 35). 5-HT ile indüklenen vazokonstriksiyona aracılık eden 5-HT_{1B} reseptörünün sentezi PAH' lu hastaların pulmoner arterlerinde artmaktadır (10). Hipotalamusta 5-HTT' yi bloke eden ve 5-HT seviyesini arttıran anoreksinojenlerin uzun süreli kullanımı PAH gelişim riskini arttırmaktadır. Benzer şekilde deksfenfluramin kullanımına bağlı olarak PH gelişim riski de artmıştır (9, 28, 30).

İnflamasyon

İnflamasyon mediyatörlerinin pulmoner vazokonstriksiyona neden olmalarının yanında pulmoner vasküler remodeling gelişimine de katkıları olduğu düşünülmektedir. İnflamasyon, sitokin ve büyüme faktörleri aracılıklı inflamatuvar hücrelerin (lenfositler, makrofajlar, nötrofiller) aktivitesini içeren bir süreçtir. Parenkimal hücreler ve trombositlerin de sitokin ve büyüme faktörleri sentezledikleri bilinmektedir. İnflamatuvar hücrelerden salıverilen birçok sitokin hücre büyüme faktörleri gibi rol oynadığı ve inflamatuvar olmayan stimulusların da (hipoksi gibi) sitokin salıverilmesine neden olduğu gösterilmiştir. Trombositler inflamasyon ile indüklenen PH oluşumunda etkililerdir, çünkü aktive olmuş trombositler tromboksan, 5-HT, trombosit aktive edici faktör (PAF) gibi vazoaktif maddeler ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), 5-HT gibi mitojenler salıverirler (29).

İnflamasyon hem İPAH hem de diğer hastalıklar ile ilişkili PH gelişimine neden olan bir etken olarak tanımlanmaktadır. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) veya PH' u olan hastaların akciğerlerinde perivasküler inflamatuvar hücre infiltratları bulunmaktadır (2, 38). Sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında İPAH veya ilişkili PH' lu hastalarda interlökin-1B (IL-1B), IL-6, monosit kemotaktik protein (MCP-1) gibi farklı inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin dolaşımdaki seviyeleri ve pulmoner sentezlerinin daha fazla olduğu bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada IL-6 ve MCP-1' in dolaşımdaki seviyeleri ile PAB' larının orantılı olduğu KOAH' ta bulunmuştur. Bu hastalarda IL-6 gen polimorfizmi ile PH şiddeti arasındaki ilişki de gösterilmiştir (38).

PH' da pulmoner arter kas tabakasında transforming büyüme faktörünün (TGF- β) arttığı gözlenmiştir. Araştırmacılar, normal akciğerlerdeki alveolar makrofajlarda TGF- β ' nın 3 izoformunun baskın olduğuna dikkat çekmişlerdir. TGF- β fenotipik olarak değişmiş medial düz kas ve intimal miyofibroblast hücrelerde kolajen ekspresyonunu indükler. TGF- β vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde proliferasyonu indükleyen VEGF ve PDGF' yi stimüle ederek büyüme faktörü gibi rol oynamaktadır (29).

PDGF pulmoner damarların çevresinde sentezlenmekte, perivasküler fibroblastlar ve medial düz kas hücresinin hipertrofisini ve bu hücreler tarafından artan matriks üretimini sağlamaktadır (29). Akut ve kronik hipoksiye bağlı olarak gelişen PH

modelinde, PDGF reseptör antagonisti uygulaması histolojik ve hemodinamik bozuklukları düzeltmiştir (28).

Anjiyonezis, fibroblast büyüme faktörü (FGF), TGF- β , integrinler ve PDGF gibi büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir (29). VEGF hem sağlıklı pulmoner dolaşımında hem de PH' nun pleksiform lezyonlarında bolca sentezlenir. Artan VEGF sentezi ile bağlantılı olarak VEGF reseptör sentezinin değişmesi, PH' da pleksiform lezyonlarda anormal endotel hücre proliferasyonuna neden olmaktadır (29, 31). VEGF anjiyonez ve permeabilite üzerine etkili olmakla birlikte endotel hücrelere monosit adhezyonuna da aracılık etmektedir (29). VEGF' nin rolü sağlıklı ve hasta endotel hücrelerine bağlı olarak değişmektedir. PH' da artan VEGF seviyeleri hastalığa karşı koruyucu rol oynarken, VEGF blokajı şiddetli PH' a neden olmaktadır. Fakat hastalığın ilerleyen dönemlerinde VEGF büyümeyi stimüle ederek, endotel hücrelerde pleksiform lezyon oluşumuna katkı sağlamaktadır. VEGF aortik endotel hücrelerde NO ve prostasiklin üretimini indükler. Benzer etkilere pulmoner damar sisteminde de sahiptir, bu sebeple PH' nun patolojik değişmelerinin bir kısmına karşı koruyucu role sahip olduğu düşünülmektedir (31).

Genetik faktörler

PAH' nun genetik temeli ilk olarak hastalığın ailesel formunun aydınlatılması ile ortaya konulmuştur. Ailesel PAH (FPAH) 5 jenerasyona kadar bildirilen vertikal transmisyon ile karakterize olan otozomal dominant bir hastalıktır. Sporadik PAH' a sahip hastaların % 15' inden fazlasında FPAH hastaları ile benzer genetik mutasyonlar tanımlanmıştır (24, 28). En önemli mutasyon kemik morfogenetik protein reseptör tip II (bone morphogenetic protein receptor 2, (BMP2)) geninde meydana gelir. BMP2 geni TGF- β süperfamilyasına ait proteinlerin reseptörlerini kodlamaktadır ve bu proteinler küçük pulmoner arteriyollerde hücrelerin proliferasyonunu inhibe etmektedir (2, 9, 10, 24, 28, 30, 32). BMP2 genindeki mutasyonlar FPAH' lı hastaların % 50' sinde ve İPAH' lı hastaların % 26' sinda meydana gelmektedir. Ancak BMP2 mutasyonlu hastaların yaklaşık % 20' sinda PAH gelişmektedir. Bu durum hastalığın patogenezinde sadece genetik faktörlerin değil çevresel faktörlerin de önemli olduğunu işaret etmektedir (9, 14, 24, 27, 28).

Pulmoner Hipertansiyonun Belirtileri

PH' nun semptomları genellikle bozulmuş oksijen transportuna ve azalmış kalp debisine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Hastaların yaklaşık olarak % 60' ında görülen dispne PH' nun en önemli belirtisidir. PH' da görülen semptomların spesifik olmaması hastalığın teşhisini geciktirmektedir. Hastalık ilerledikçe PH' lu hastalarda dispneye egzersiz toleransında azalma, yorgunluk hali, göğüs ağrısı ve senkop da eşlik etmektedir. İlerleyen safhalarda sağ kalp yetmezliğinin gelişmesi ile birlikte periferik ödem, abdominal assit, iştah kaybı, erken doyma ve derin dispne meydana gelmektedir (4, 5, 14, 22, 37).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ, World Health Organization (WHO)), hastalığın evrelerini tanımlamak için fonksiyonel kapasite sınıflandırması hazırlamıştır (4, 5, 21, 22, 37).

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

SINIF-II: PH' u olan, fiziksel aktivitesi hafif kısıtlanmış hastalar bu sınıf içinde yer almaktadır. Hastalar, istirahatatta rahattır. Günlük fiziksel aktivitede artan dispne, bitkinlik, göğüs ağrısı ya da senkop meydana gelmektedir.

SINIF-III: PH' u olan, fiziksel aktivitesi ciddi ölçüde kısıtlanan hastalar bu sınıf içinde yer almaktadır. Hastalar istirahatatta rahattır. Günlük fiziksel aktiviteden daha azı bile dispne, bitkinlik, göğüs ağrısı ya da senkop gelişimine neden olmaktadır.

SINIF-IV: PH' u olan ve hiç bir fiziksel aktiviteyi gerçekleştiremeyen hastalar bu sınıfta yer almaktadır. Sağ kalp yetmezliği bulguları görülmektedir. Dispne ve bitkinlik istirahatatta dahi görülmektedir. Rahatsızlık herhangi bir fiziksel aktiviteyle artmaktadır (4, 5, 21, 22, 37).

PH' nun ciddi olup olmadığı ortalama PAB' ı değerlerine göre değerlendirilmektedir. Sağlıklı bireylerde istirahat halinde ortalama PAB' ı 25 mmHg' dan ve egzersiz halinde ise ortalama PAB' ı 30 mmHg' dan düşüken;

-Hafif PH: 25-35 mmHg

-Orta PH: 35-45 mmHg

-Ciddi PH: \geq 45 mmHg

olarak ölçülmektedir (37).

Pulmoner Hipertansiyonun Sınıflandırılması

1998 yılında DSÖ tarafından PH, oluşumundaki patofizyolojik farklılıklar açısından değerlendirilerek sınıflandırılmıştır. 2003 yılında ise yine DSÖ tarafından bu sınıflandırma yeniden düzenlenmiş, daha pratik ve anlaşılır olan yeni bir sınıflandırma yapılmıştır (7, 21, 22, 24).

Pulmoner Hipertansiyonun Sınıflandırılması (5, 7, 8, 10, 14, 21, 22, 24, 26)

1. Pulmoner arteriyal hipertansiyon (PAH)

1.1. İdiyopatik PAH (İPAH)

1.2. Ailesel PAH (FPAH)

1.3. Diğer hastalıklar ile ilişkili PAH

1.3.1. Kolajen vasküler hastalıklar

1.3.2. Konjenital kalp ve akciğer hastalığı

1.3.3. Porto PH

1.3.4. HIV enfeksiyonu

1.3.5. İlaç ve toksinler

1.3.6. Diğer (Tiroid rahatsızlıkları, glikojen depo hastalığı, gaucher hastalığı, hemorajik telanjiektazi, hemoglobinopati, miyeloproliferatif bozukluklar, splenektomi)

1.4. Ciddi venöz veya kapiller tutulumu ile ilişkili PAH

1.4.1. Pulmoner veno-oklusif hastalık

1.4.2. Pulmoner kapiller hemanjiyomatozis

2. Pulmoner venöz 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 ve hipoventilasyon

3.5. Uzun süreli yüksek rakıma maruziyet

4. Kronik trombotik veya embolik hastalık sonucu gelişen PH

4.1. Proksimal pulmoner arterlerin tromboembolik obstrüksiyonu

4.2. Distal pulmoner arterlerin tromboembolik obstrüksiyonu

4.3. Pulmoner embolizm (tümör, parazitler, yabancı materyaller)

5. Pulmoner dolaşımı etkileyen çeşitli hastalıklar

PAH, idiyopatik, ailesel ve diğer hastalıklar ile ilişkili PAH olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Benzer klinik, morfolojik ve histopatolojik özelliklere sahiptirler. Pulmoner vazodilatör tedaviye cevapları da benzerdir (8, 22). Bu grup, pulmoner vaskülopati, PAB' ında ciddi yükselmeler, hastalık ilerledikçe sağ ventrikül disfonksiyonu ve ölüm ile karakterizedir (8, 24). PAB' nın yükselmesinin belli bir nedene bağlı olmadığı durumlarda hastalar İPAH' lu olarak tanımlanmaktadır ve primer PH (PPH) teriminin yerini almaktadır (8, 22, 37). İPAH' ın görülme sıklığı milyonda 1-2' dir. Kadınlarda daha sık olarak görülmektedir (6, 22, 24). PAH vakalarının en az % 6-10' unda FPAH' a rastlanmaktadır (22, 37).

Diğer hastalıklarla ilişkili PAH, nedeni belli olan PAH' dur ve sekonder PH (SPH) teriminin yerini almaktadır (37). Bu kategoride kolajen vasküler hastalıklar, HIV enfeksiyonu, portal hipertansiyon gibi şiddetli PH gelişimine neden olabilen çeşitli hastalıklar ile ilişkili PH bulunmaktadır (8, 37). 200 HIV enfeksiyonlu hastaların yaklaşık 1' inde PAH gelişmektedir. Bu oran İPAH insidansından 6-12 kat daha fazladır. PAH ile HIV arasındaki bu ilişki açıklanamamakla birlikte HIV' in sitokin veya büyüme faktör yolağını aktive ettiği ileri sürülmektedir (22). PAH ile bazı ilaç ve toksinler arasındaki ilişkiler açıklanmıştır. Aminoreks, fenfluramin, deksfenfluramin gibi iştah kesiciler PAH gelişimi için önemli bir risk faktörü oluşturmaktadır. İştah kesici ilaçlar ile indüklenen PAH ilaç kullanan hastaların % 1' inde meydana gelmektedir. Ancak bu ilaçların 3 aylık süre ile kullanılması ile risk 10 kat artmaktadır (22, 24).

Sol kalp hastalığı ile ilişkili PH valvular ve miyokardiyal hastalıklar ile ilişkilidir. Uygun tedavi pulmoner vazodilatör tedaviden ziyade miyokardiyal performansı arttırmak veya valvular defektleri düzeltmektir. Akciğer hastalığı veya hipoksiye bağlı PH' nun nedeni akciğer hastalığından dolayı yeterli olmayan oksijenizasyondur. Ortalama PAB' ındaki yükselme hafiftir (35 mm Hg küçük). Kronik tromboembolik veya embolik PH' da pıhtı proksimal ise cerrahi müdahale ile alınmaktadır. Bu grup hastalar PAH hastaları gibi vazodilatör tedaviden benzer şekilde fayda sağlamaktadır (24). Bu vakalar, PH' nun %10' unu teşkil etmektedir (37).

PH teşhisi için ilk olarak invaziv olmayan teknikler kullanılmaktadır (ekokardiogram taraması). Bu bulgular daha sonra kalp kateterizasyonu gibi invazif teknikler ile doğrulanmaktadır. Sağ kalp kateterizasyonu hastalığın kesin tanısı ve şiddetinin değerlendirilmesi için kullanılan en güvenilir tekniktir (4, 22).

Pulmoner Hipertansiyonun Tedavisi

Son yıllarda PH' nun patogenezinin daha iyi anlaşılması ile yeni tedavi yaklaşımları geliştirilerek hastalığın tedavisinde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir (22). Tedavide öncelikle medikal yöntemlere başvurulmakta, eğer tedavide başarı sağlanamaz ise cerrahi yöntemlere başvurulmaktadır (5)

Tedavide kullanılacak olan ajan, PH' nun şiddetine bağlı olarak seçilmektedir. Fonksiyonel sınıfı 1 ve 2 olan hastalarda endotelin reseptör antagonisti veya fosfodiesteraz enzim inhibitörü gibi oral ajanlar ilk tercihtir ve bu ilaçlar hastalarda semptomatik düzelme sağlamaktadırlar. Ancak sağ kalp yetmezliği veya sağ ventrikül disfonksiyonu olan hastalarda prostasiklin analogları gibi parenteral ajanların kullanımı daha uygun olmakla beraber başlangıçta oral ajanlar da denenebilmektedir (7).

Medikal yöntemler

Antikoagülan tedavisi

PH' lu hastalarda pulmoner arterlerde trombozis gelişimini engellemek amacı ile antikoagülanlar kullanılmaktadır (5, 10, 11, 21, 22, 37). Antikoagülasyon, PH' lu hastalarda tromboembolik komplikasyon olasılığını azaltmaktadır (4, 10, 11, 22, 39).

İPAH' lu hastalarda varfarin tedavisinin hastaların yaşam süresini uzattığına dair çalışmalar bulunmaktadır (4, 5, 21, 22, 37). Aspirin ve klopidogrel ile epoprostenol kombinasyon tedavisi PH' lu hastalarda trombosit fonksiyonlarını düzeltmektedir ancak bu kombinasyon tedavisinin etkinliği açıkça gösterilmemiştir (7).

Diüretik tedavisi

Diüretikler ve diyetle alınan sodyum ve sıvı alımının kısıtlanması ile intravasküler volümün normale yakın seviyede tutulması PH' nun semptomatik tedavisi açısından önemlidir (5, 8, 22). PH' lu hastalarda sekonder olarak gelişen sağ kalp yetmezliğine bağlı ödem ve asitin semptomatik tedavisi için diüretikler kullanılmaktadır (4, 21, 22). Diüretikler preload' u azaltarak sağ ventrikül fonksiyonunu düzeltmekte ve hastaların yaşam kalitesinin yükselmesine katkı sağlamaktadır (21).

Oksijen tedavisi

PH' lu hastalar, hastalığın seyrinde yeterli oksijeni alamazlar. Hipoksi vazokonstriksiyonu stimüle etmektedir. Bu durum, yüksek olan PAB' nin daha da artmasına neden olmaktadır (5, 7, 21, 37). Dinlenme ve egzersiz halinde oksijen satürasyonunun yaklaşık % 90 seviyesinde tutulması için hastalara oksijen tedavisi uygulanmaktadır (4, 22, 37). Oksijen tedavisi, kısa dönemde hastaların oksijen satürasyonunu artırırken uzun dönemde de PH' nun progresyonunu yavaşlatmaktadır (4, 11, 22, 37).

Digoksin tedavisi

PH' nun uzun süreli tedavisinde digoksinin etkinliği üzerine çok fazla araştırma olmamasına rağmen bu ilaç, sağ kalp yetmezliği gelişmiş hastalarda kullanılmakta ve hastalarda kalp debisini artırarak tedaviye katkı sağlamaktadır (4, 7, 21, 37).

PH' a bağlı gelişen son safha sağ kalp yetmezliği olan hastalarda yararı açıkça ispatlanmış olmamasına rağmen dobutamin, milrinon veya dopamin gibi ajanlardan da faydalanılmaktadır. Son safha sağ kalp yetmezliği olan hastalarda ilaç tedavisi yerine akciğer veya akciğer-kalp transplantasyonu uygulanmaktadır (7).

Kalsiyum kanal blokörleri ile tedavi

İPAH' lu veya PAH' lu hastaların az bir kısmı kalsiyum kanal blokörleri (KKB) ile tedaviye cevap vermektedir. Hastalardaki vazoreaktivitenin değerlendirilmesi ile KKB' lerin tedavideki etkinlikleri değerlendirilmektedir (5, 7, 8, 11, 21, 37, 39). Vazoreaktivite testinde PAB' ı 10 mm Hg' dan yüksek, 40 mm Hg' dan düşük olan hastalar pozitif sonuçlu olarak değerlendirilmekte ve KKB' leri sadece bu hastaların tedavisinde etkili olmaktadır (4, 11, 22).

KKB' leri PAH' lu hastalarda uzun süreli kullanıldığında kronik vasküler remodellingden ziyade hastalarda vazokonstriksiyonu önemli ölçüde düzeltmektedir (4, 39). KKB' lerinin kullanımına bağlı olarak hastalarda görülen en belirgin yan etki ilaçların negatif inotropik etkisinden dolayı belirginleşen kalp yetmezliğidir, böylece sağ kalp yetmezliği olan hastalarda bu ilaçların kullanılması hastalığın daha da kötüleşmesine neden olmaktadır (8, 21).

Entotelin reseptör antagonistleri

Yerleşimleri ve ET' e afinitesi farklı olan ve böylece farklı fizyolojik aktiviteye sahip 2 endotelin reseptörü aydınlatılmıştır. Teorik olarak selektif ET-A reseptör antagonistleri PH tedavisinde selektif olmayan reseptör blokörlerinden daha etkilidir. Ancak PH' lu hayvan modellerinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar selektif olmayan reseptör blokörleri ile tedavinin selektif ET-A reseptör blokörleriyle yapılan tedaviye göre PH hastalarının yaşam süresini daha fazla uzattığını göstermektedir (28).

Bosentan, bu sınıfa ait PH tedavisinde oral olarak kullanılan FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylı tek ilaçtır (7, 8, 21, 37). Non-selektif ERA olan bosentan PH' lu hastalarda hemodinamik parametreleri düzeltir ve klinik kötüleşmeyi azaltır (1, 5, 10, 11, 22, 28). Bosentan, sınıf 3 ve 4 PAH' lu hastaların tedavisinde devamlı olarak kullanılmaktadır (7, 21, 37). Klinik düzelmeler tedaviye başladıktan 2-3 ay sonra meydana gelmektedir. Bosentan hastalar tarafından genellikle iyi tolere edilmektedir. Hastaların yaklaşık % 10' unda karaciğer transaminazlarında artışa, hafif anemiye, oral kontraseptiflerin etkinliğinde azalmaya ve fetal teratojenize neden olmaktadır (5, 8, 11, 21, 37).

Sitaksentan, PH tedavisi için oral olarak kullanılan selektif ET-A reseptör antagonistidir (7, 8, 21, 22). ET-A reseptörlerine olan afinitesi ET-B reseptörlerine olan afinitesinden 6000 kat daha yüksek olduğundan ET-B reseptörlerinin aktive olması ile meydana gelen NO ve protasiklin aracılıklı vazodilatasyonu ortadan kaldırmamaktadır. Sitaksentanın tedavideki etkinliği bosentana benzerdir ve daha az hepatotoksisite gelişimine neden olması tedavide bosentana karşı üstünlük sağlamaktadır (21).

Ambrisentan, PH tedavisinde etkili olan diğer uzun etkili ve oral yolla kullanılan spesifik ET-A reseptör antagonistidir (7, 8, 21). Bosentan ile karşılaştırıldığında daha az hepatik yan etki insidansına (% 3) sahiptir (7, 21).

Sitaksentan ve ambrisentan faz III klinik çalışmaları tamamlanmış, FDA tarafından onay bekleyen ajanlardır (22).

Prostasiklin analogları

Eksojen prostanoidlerin kronik olarak PH' lu hastalarda kullanımları hemodinamik parametreleri düzeltmekte ve hastaların egzersiz kapasitesini, yaşam kalitesini ve yaşam süresini arttırmaktadır (1, 11, 21). PH tedavisinde FDA' nın onayladığı prostanoidler mevcuttur. Epoprostenol kısa yarılanma ömrüne (6 dk' dan az)

sahip, intravenoz (İV) infüzyon şeklinde kullanılan bir prostasiklin analogudur (10, 21, 22, 37). PH' lu hastalarda epoprostenol kullanımı fonksiyonel sınıfı düzeltir ve hastaların yaşam süresini uzatır (5, 11, 39). Epoprostenolün, fonksiyonel sınıf 3 ve 4' lü hastalarda hemodinamik parametreleri düzelttiği ve egzersiz toleransını, yaşam kalitesini ve yaşam süresini aynı grup hastalardan oluşan ancak geleneksel tedavi uygulanan (diüretikler, kalp glikozitleri, oral vazodilatörler ve antikoagülanlar gibi) hastalar ile karşılaştırıldığında arttırdığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (7, 8, 21, 22). Epoprostenolün pulmoner vasküler remodeling üzerine sekonder etkisi de söz konusudur (7, 8). Epoprostenol tedavide etkili olmasına rağmen bazı dezavantajları vardır. Santral venöz kateter ile uygulandığı için uygulama şekli ile ilgili şiddetli komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır. İnfüzyonun kesilmesi ani pulmoner vasküler direncin yükselmesine, akut sağ kalp yetmezliğine, hemodinamik kollaps ve ölüme neden olmaktadır. Hastalar pnemotoraks, venöz trombozis, sepsis gibi kateterizasyonla ilgili komplikasyonlar için risk taşımaktadır (5, 7, 21, 22, 39).

Treprostinil epoprostenol ile benzer etkili, yarılanma ömrü daha uzun (3-4 saat) ve subkutan veya kateter ile İV infüzyon şeklinde kullanılabilen FDA tarafından onaylı diğer bir protasiklin analogudur (5, 7, 11, 21, 22, 37). Yan etkilerinin çoğu epoprostenole benzerdir (5, 7, 21, 37). Soğukta saklanmasına gerek yoktur, oda sıcaklığında da stabildir (22).

İloprost, FDA tarafından onaylı inhalasyon yolu ile de kullanılabilen, 20-30 dk yarılanma ömrüne sahip diğer bir prostasiklin analogudur (21, 22, 37). İloprostun tek inhalasyonu 45-60 dk sonra PAB' ını % 10-20 oranında azaltmaktadır (7, 21, 22). İloprost' un yan etkileri, epoprostenol ile benzerlik göstermektedir (22, 37).

Oral prostasiklin analogu olan beraprostun pilot çalışmalarda PH tedavisinde etkili olduğu görülmüştür. Fakat uzun süreli kullanımına bağlı etkileri henüz bilinmemektedir. Şu anda beraprost PH tedavisinde sadece Japonya ve Güney Kore' de kullanılmaktadır (7).

Fosfodiesteraz-5 inhibitörleri

FDE-5 enzimi vazodilatasyon ve damar düz kaslarında antiproliferatif etkiye aracılık eden ikinci haberci olan intraselüler s-GMP metabolizmasından sorumludur. Akciğerlerde FDE-5 sentezlenmekte ve artan FDE-5 sentezi kronik PAH' da dikkat çekmektedir. Spesifik FDE-5 inhibitörleri ile bu enzimin aşırı sentezinin inhibisyonu s-

GMP' nin intraselüler seviyesini arttırmaktadır. Böylelikle FDE-5 inhibitörleri vazodilatör ve antiproliferatif etkilerinden dolayı PAH tedavisinde kullanılmaktadır (1, 7, 21, 37).

Sildenafil PH tedavisinde oral olarak kullanılan FDA tarafından onaylı tek selektif FDE-5 inhibitörüdür. Sınıf 2 ve 4 arasındaki PH hastalarının tedavisi için kullanılmaktadır (7, 11, 21, 22, 37). Pulmoner vazodilatör etkisiyle hastalarda egzersiz kapasitesini arttırmakta ve hemodinamik parametreleri düzeltmektedir (5, 7, 10, 11, 21). Sildenafil PH hastaları tarafından genellikle iyi tolere edilmektedir (5, 21, 37). Nitratlar, nitrik oksit veya alfa reseptör blokörleri gibi ilaçlar ile birlikte kullanıldığında ise belirgin bir şekilde hipotansiyona neden olduğu için hastalarda bilinç kaybına hatta ölüme bile sebebiyet vermektedir (21, 37).

Son zamanlarda uzun etki süreli FDE-5 inhibitörleri PH tedavisi için araştırılmaktadır. Tadalafil uzun yarılanma ömrü ile teorik olarak günde 1 kez ilaç kullanımına olanak sağladığı için avantajlı olarak görülmektedir (21).

FDE-5 inhibitörü olan vardenafilin de PH tedavisindeki etkinliği araştırılmaktadır. Ancak bu ajanların hemodinami ve oksijenizasyon üzerine etkilerinin farklı olduğu bilinmektedir (11).

Kombinasyon tedavisi

Prostasiklin analogları ve ERA kombinasyonu ile yapılan sınırlı sayıda çalışmaları, kombinasyon tedavisinin genel olarak egzersiz kapasitesini arttırdığı ve fonksiyonel sınıfı düzelttiği görülmüştür (7, 21). Sildenafil ve inhale iloprost kombinasyonu ortalama PAB' ını azaltmaktadır. Subkutan treprostini ile sildenafil kombinasyonu ile yapılan hayvan çalışmalarında PAB ve mortalite insidasında azalma daha belirgindir. Benzer şekilde bosentan ile tadalafil kombinasyonu da aynı etkiyi sağlamaktadır (7). Bosentan ile sildenafil kombinasyonunun olumlu etkilerinin bildirildiği çalışmalar da mevcuttur (21).

Cerrahi yöntemler

Akciğer ve kalp-akciğer tranplantasyonu

PAH tedavisinde akciğer tranplantasyonunun etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (22, 37).

Tromboendarterektomi

Bu ameliyat yalnızca tromboembolik hastalıklar nedeniyle PH' u olan hastalara uygulanmaktadır (21, 37).

Atriyal septostomi

Yalnızca sınıf 3 ve 4' e dahil olan ciddi PH' lu hastalara uygulanmaktadır. Bu işlemde sağ ve sol atriyumların arasına bir delik açılmakta ve sağ kalpteki basınç azaltılarak sağ kalbin daha rahat çalışması sağlanmaktadır (21, 37).

Pulmoner hipertansiyon tedavisinde yeni gelişmeler

Hastalığın patogenezinde dikkat çeken vasküler remodelingin ve vazokonstriksiyonun daha etkili ajanlarla düzeltilmesi hedeflenmektedir (8).

Deneysel çalışmalar spesifik 5-HT reseptör antagonistlerinin tedavide etkili olduğunu göstermektedir (7, 8).

Voltaj kapılı K^+ (K_v) kanalları pulmoner arter düz kas hücre kontraksiyonu ve proliferasyonunda önemli bir role sahiptir. İnsanlarda K_v kanalları hipoksi ile ilişkili PH gelişiminde etkili olmaktadır (3, 7, 8). Dikloroasetat (DKA) çeşitli sinyal yolları ile K_v kanallarının aktivasyonuna ve upregülasyonuna neden olmaktadır. DKA tedavisinin insanlarda vasküler remodelingi düzelttiği gözlenmiştir (7, 8).

Rho-kinaz aracılıklı Ca^{+2} sensitizasyonu sıçan hipoksik model PAH' da vazokonstriksiyona ve artan vazoreaktiviteye aracılık etmektedir. Rho-kinaz inhibitörü olan fasudil PAB' nın azalmasına neden olmaktadır. İV fasudil kullanımı ile yapılan ilk denemelerde şiddetli PAH' lu hastalarda bu ajanın ortalama PAB' ını azalttığı bulunmuştur (8, 10).

Statinlerin, Rho inhibisyonu ile vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etki oluşturduğuna dair gözlemler mevcuttur (7, 8).

Pulmoner vasküler remodelingi hedef alan bazı ilaç grupları ile deneysel PH modellerinde umut veren sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, monokrotalin (MCT) ile indüklenen PH' lu sıçanlarda VEGF reseptör blokörleri ile remodelingi hedef alan çalışmalarda pulmoner vasküler düz kas hücrelerinin apoptozisi indüklenerek yaşam süresinin uzadığı tespit edilmiştir (9, 11).

Benzer şekilde PDGF reseptör antagonisti imatinibin pulmoner vasküler remodelingi düzelterek deneysel PH tedavisinde etkili olduğu gözlenmiştir (8, 9, 11).

Grelinin de pulmoner vazodilatör etkilerine dair gözlemler mevcuttur (7).

Bradikinin endotel hücre fonksiyonunu düzenlemektedir. Bradikinin agonisti ile yapılan bir çalışmada şiddetli PAH' nun ve sağ ventrikül hipertrofisinin azaldığı gözlenmiştir. Bu çalışmada bradikininin bu etkisinin hiperproliferatif hücrelerde eNO aktivasyonu, prostasiklin üretiminin artması ve apoptozisi indüklenmesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (7).

Güçlü bronkodilatör, sistemik ve pulmoner vazodilatör aktiviteye sahip bir nöropeptid olan VIP seviyesinin, PAH' lu hastaların serum ve akciğerlerinde azaldığı tespit edilmiştir (7, 9, 25).

Vasküler düz kas hipertrofisine ve proliferasyonuna neden olan anjiotensin 2' nin PAH' da rol oynaması olasıdır. Buradan hareketle anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri veya anjiotensin reseptör blokörlerinin de PH tedavisinde etkili olduğu ileri sürülmektedir (7).

Pulmoner Hipertansiyon ve İmmunosüpresanlar

PH' nun patogeneğinde vasküler remodelingin önemli olduğu bilinmektedir (40). Pulmoner vasküler remodeling medial hipertrofiyi, adventisiyal kalınlaşmayı ve endotelial hücrelerin anormal çoğalmasını kapsamaktadır (20, 40). Bu değişimler pulmoner vasküler dirençte artışa ve sağ kalp yetmezliğine neden olmaktadır (40). Remodelingi hedef alan deneysel çalışmalarda immunosüpresif ajanların kısmen etkili olabileceği gösterilmiştir (27). Kortikosteroidler ve immunosüpresanlar konnektif doku hastalığı ile ilişkili PH' nun tedavisinde etkilidir (2).

Siklosporin ve takrolimus gibi kalsinörin inhibitörleri uzun yıllardır immunosüpresyon için transplantasyondan sonra kullanılmaktadır (41, 42). Tedavide kullanılan bu ajanlar hiperlipidemi, hipertansiyon ve diyabet gibi kardiyovasküler risk faktörlerinde artışa neden olmaktadır. Bunun yanında kalsinörin inhibitörleri ciddi nefrotoksik etkiye de sahiptir (42). Proliferasyon sinyal inhibitörleri olan rapamisin ve everolimus transplantasyon sonrası doku reddi sürecinde kardiyovasküler yan etki oluşturmamaktadır (41, 42). Transplantasyon sonrası kalsinörin inhibitörleri ile tedavi edilen hastalarda, tedavinin kesilmesinden sonra everolimusa başlanması ile sistolik ve diyastolik basınçta düzelme ve neoplastik oluşumda iyileşme görülmektedir (42). Bu ajanların antiproliferatif etkilerine ilaveten ateroskleroz ve koroner arter hastalığı tedavi sürecindeki olumlu etkileri de gözlenmiştir (41).

Rapamisin, *Streptomyces hydropiscus* tarafından üretilen antifungal, antitümör ve immünsüpresan aktiteye sahip bir ajandır. FDA tarafından böbrek tranplantasyonu sonrası organ rejeksiyonunu önlemek için kullanımı onaylanmıştır (43). Rapamisin intraselüler FK bağlayan protein (FKBP) 12 olarak bilinen immunofilinle bağlanmaktadır. Rapamisin-FKBP 12 kompleksi, memeli rapamisin hedefine (mammalian target of rapamycin, m(TOR)) bağlanarak onu inhibe etmekte ve *in vivo* ve *in vitro* hücre döngü sisteminde mitojenle indüklenen fosfoinozid-3-kinaz (PI3K) ve protein kinaz B (Akt) sinyal yolağını bloke ederek antiproliferatif etkisini göstermektedir (20, 40, 43, 44, 45). Rapamisin hematopoitik ve vasküler düz kas hücreleri ile fibroblastlar gibi hematopoitik olmayan hücrelerde büyüme faktörleri aracılıklı proliferasyonu inhibe etmektedir (18, 20, 40, 46).

Rapamisin tedavide hastalar tarafından iyi tolere edilmektedir. Pek çok immünsüpresan ile meydana gelen renal toksisite rapamisin ile oluşmamaktadır. En önemli yan etkisi doza bağlı olarak serum kolesterol ve trigliserit seviyesinin artmasıdır. Klinik çalışmalarda kan basıncında, glomerüler filtrasyon gibi böbrek fonksiyonlarında ve karaciğer fonksiyonlarında önemli değişimlere neden olmadığı gözlenmiştir (43).

Rapamisin hipoksi ile indüklenen düz kas ve endotelial hücre proliferasyonunu kültür ortamında inhibe etmektedir (45). VEGF aracılıklı endotelial hücre proliferasyonuna karşı koruyucu etkiye sahiptir. Rapamisin domuzlarda anjioplasti sonrasında arteriyal proliferatif cevabı, intimal kalınlaşmayı ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunu azaltmaktadır (20). Bu özellikleri nedeniyle rapamisinin 2003 yılında FDA tarafından koroner arter stentlerinde antirestenotik ajan olarak kullanımı uygun bulunmuştur (43). Yapılan bir çalışmada MCT enjeksiyonu ile aynı zamanda başlanan rapamisin uygulaması (koruyucu), sıçanlarda MCT ile indüklenen PAB'ındaki artmaları ve neointimal oluşumu azaltmıştır (40). Başka bir çalışmada rapamisinin farelerde hipoksi ile indüklenen pulmoner vasküler remodelingi ve sağ ventriküler hipertrofiyi azalttığı bulunmuştur (45).

Rapamisinin umut vaad eden potansiyel etkilerinden dolayı farmakokinetik özellikleri düzeltilerek benzer etki mekanizmasına sahip türevleri sentezlenmiştir (18, 43).

Everolimus, rapamisinden sentezlenen oral olarak aktif immünsüpresan ve antiproliferatif bir ajandır (16, 43, 47, 48). Rapamisinin oral biyoyararlanımını arttırmak

ve yüksek polarite özelliği ile geniş doku dağılımını azaltmak amacıyla sentezlenmiştir. Rapamisine göre daha kısa yarılanma ömrüne sahiptir ve kararlı durum konsantrasyonuna daha kısa sürede ulaşmaktadır (47). Everolimus alındıktan 3 saat sonra plazma pik konsantrasyonuna ulaşmaktadır ve yaklaşık yarılanma ömrü 1 gündür. Kararlı durum konsantrasyonuna 4 ile 7 gün arasında ulaşmaktadır (17).

Everolimus hücre içine girdikten sonra rapamisin gibi FKBP 12 immunofiline bağlanmaktadır. Everolimus-FKBP 12 kompleksi mTOR' a bağlanarak, mTOR' un aracılık ettiği büyüme faktörleri aracılıklı hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir (16, 17, 47). Everolimus hematopoitik ve vasküler düz kas hücreleri ile fibroblastlar gibi hematopoitik olmayan hücrelerde büyüme faktörleri aracılıklı proliferasyonu inhibe etmektedir (16, 17, 46, 48). Everolimusun immunosupresif aktivitesi rapamisinden 2-5 kat daha az olsa da otoimmün hastalık ile kalp ve böbrek allotransplantasyon modellerinde en az rapamisin kadar etkilidir (16, 46).

Hastalar tarafından genellikle iyi tolere edilmektedir. Everolimus tedavisi alan hastalarda görülen en önemli yan etkiler; hiperlipidemi, trombositopeni, daha zayıf olarak hipertrigliseridemi ve doza bağlı olarak enfeksiyon insidansında artmadır (17, 48).

Oral olarak kullanılan everolimusun siklosporin ile sinerjistik etki göstererek hayvan modellerinde allograft reddine karşı koruyucu aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bu sayede siklosporinin renal toksitesinin azaldığı görülmüştür (43, 47). Everolimus insan vasküler endotelial hücrelerinin proliferasyonunun inhibisyonu ile bazı in vitro insan kanser hücrelerinde ve hayvan modellerinde tümörlere karşı antianjiyogenik aktiviteye sahiptir (43). In vitro everolimus subnanomolar konsantrasyonlarda sığır vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu rapamisine benzer derecede inhibe etmektedir. Oral olarak kullanılan everolimus ile yapılan bir çalışmada stent takılmış hayvanlarda neointimal kalınlaşmanın % 40-49 ve stent stenozisinin % 26 oranında azaldığı bulunmuştur (46). Yapılan araştırmalar everolimus ve rapamisinin vasküler düz kas hücreleri ve fibroblastlar üzerindeki antiproliferatif etkileri ve kronik allograft vasküler hasarı ile ilgili miyointimal proliferatif lezyonları azalttığını işaret etmektedir. Geniş sayıdaki hasta çalışmaları da mTOR inhibitörlerinin kronik graft aterosklerozisin etkilerini iyileştirmek için önemli terapötik bir yaklaşım olduğunu doğrulamaktadır (17). Yapılan bir çalışmada everolimusun sıçanlarda

bleomisin ile indüklenen pulmoner fibrozisi azalttığı gözlenmiştir. Bu modelde everolimusun akciğerde kolajen birikimini azalttığı bulunmuştur (18). Başka bir çalışmada everolimusun pnemonektomize sıçanlarda MCT ile indüklenen PH ve neointimal oluşuma karşı koruyucu etkili olduğu görülmüştür (20).

Nörohormonlar ve peptid büyüme faktörleri gibi çeşitli hipertrofik stimuluslar protein kinaz kaskadlarını harekete geçirerek kardiyak hipertrofiye neden olmaktadır. mTOR inhibitörü olan rapamisin değişik transjenik farelerde kardiyak hipertrofi oluşumuna karşı koruyucu aktiviteye sahiptir. Bu sonuçlar mTOR' un anormal kardiyak hipertrofide kritik rol oynadığını ve mTOR inhibitörlerinin kardiyak hipertrofinin inhibisyonunda umut vaat ettiğini göstermektedir (43).

Pulmoner Hipertansiyon Modelleri

Monokrotalin enjeksiyonu

MCT hayvanlarda deneysel PH gelişimi için kullanılan pirolizidin alkaloidi bir fitotoksindir (2, 23, 49, 50). İnsanlarda PH' nun ilerlemesi ile hayvanlarda MCT ile indüklenen PH arasındaki benzerliklerden dolayı çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (23). MCT arteriyoller ve muskuler arterlerin perivasküler alanlarında mononükleer infiltrasyona yol açan endotelial hücre hasarına neden olmaktadır (2, 23, 51). MCT ortalama PAB' ını yükseltir, sağ ventriküler hipertrofiyi indükler, muskuler arterlerde medial ve adventisiyal kalınlaşmayı artırır ve normalde muskuler olmayan arterlerde muskularizasyona neden olur (23). MCT ile indüklenen sıçan PH modellerinde inflamasyonun başlatıcı olay olduğu, inflamasyonun olmadığı durumlarda PH' nun oluşmadığı görülmektedir (2, 29). MCT' nin pulmoner arterlerde toksik etkisini gösterebilmesi için karaciğerde sitokrom P450 3A enzimi ile elektrofil monokrotalin pirole (MCTP) metabolize olması gerekmektedir (49, 51).

MCT genellikle 60 mg/kg dozda intraperitoneal veya subkutan olarak tek enjeksiyon olarak uygulanmaktadır. İntrinsik kalp ve akciğer hastalığının varlığında hızlıca şiddetli pulmoner vasküler hastalık gelişimine olanak sağlamaktadır (51).

Kronik hipoksi

Alveoler oksijen basıncı 70 mm Hg altına düştüğünde pulmoner vazokonstriksiyon meydana gelmektedir. Hayvan modellerinde aralıklı şiddetli hipoksi PH gelişimine neden olmaktadır. İnsanlarda aralıklı hipoksinin etkinliği sınırlı olmakla birlikte pulmoner hemodinamikler üzerindeki etkisi klinik olarak önemli değildir.

İnsanlarda PH' nun bazı formlarında hipoksi bir uyarandır. Hipoksinin süresi ve şiddeti hayvan modelleri ve insanlar arasında farklı olabilmektedir (51).

Duktus arteriosusun bağlanması

Yeni doğanlarda sürekli PH (persistent PH) yükselen pulmoner vasküler direnç ile karakterize klinik bir sendromdur. Fetal kuzularda duktus arteriosusun bağlanmasından dolayı oluşan kronik intrauterin PH bu durumu taklit ederek intrauterin PAB yükselmesine, sağ kalp hipertrofisine, PH' la ilişkili yapısal değişikliklere sebep olmaktadır (51).

Kronik embolik pulmoner hipertansiyon

Sephadeks micropheres ile tekrarlanan mikro embolizm köpeklerde kronik PH gelişimine neden olmaktadır. Enjekte edilen mikrosifer damarları hedef olarak vasküler lezyon gelişimine yol açmaktadır. Primer vasküler mekanik tıkanma ve vazokonstriksiyon yüksek pulmoner vasküler direncin mekanizmasını oluşturmaktadır (51).

Genetik olarak modifiye edilmiş hayvanlar

Genetik taramalar ile PH gelişiminde etkili olan gen mutasyonları aydınlatılmıştır. İPAH' lu hastalarda BMPR2 gen mutasyonları bulunmuştur. Fakat genetik model oluşturulmaya çalışan farelerde fenotipik özellikler PH' u tam olarak yansıtmamaktadır (51).

Son zamanlarda insanlarda ve deneysel modellerde PH patogenezinde 5-HT ve 5-HTT' nin rolü tespit edilmiştir. Farelerde 5-HTT' nin aşırı sentezi PH gelişimine neden olurken, genetik olarak 5-HTT' den yoksun farelerde hipoksi ile indüklenen PH' nun hafiflediği görülmüştür (51).

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızda, MCT ile indüklenen PH modelinde sildenafil tedavisine eklenen everolimusun bu hastalığın tedavisindeki etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Gereç

Deneylerde kullanılan hayvanlar

Deneylerde yaklaşık 250–300 g ağırlığında yetişkin dişi Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, 24 ± 1 °C sıcaklıktaki iyi havalandırılan odalarda barındırıldı, standart hayvan yemi ve çeşme suyu ile beslenmeleri sağlandı. Tez çalışması süresince gerçekleştirilen tüm deneyler, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Komisyonu'ndan onay alındıktan sonra yapıldı.

Deneylerde kullanılan kimyasal madde ve çözeltiler

Monokrotalin	Sigma
Sildenafil	Actavis
Everolimus	Novartis
Ketamin (Ketalar®)	Phizer
Ksilazin	Sigma
KCl	Riedel-de Haen
Noradrenalin	Sigma
Serotonin	Sigma
Endotelin-1	Sigma
NaCl	Riedel-de Haen
MgSO ₄	Merck
Na ₂ HPO ₄	Merck
Glukoz	Merck
NaHCO ₃	Sigma
CaCl ₂	Riedel-de Haen
Sodyum nitroprussid (Nipruss®)	Adeka

Deneylerde kullanılan cihazlar

Miyograf Sistemi	DMT Model 610
Mikroskop	Olympus S261
Veri Toplama Sistemi	Biopac Systems MP150

Işık Mikroskoku	Olympus BH-2
Dijital Kamera	Olympus DP-70

Yöntem

Deneylerde kullanılan çözeltiler ve konsantrasyonları

Monokrotalin Çözeltisi: 1 N HCl' de çözündürülerek pH' sı 1 N NaOH ile 7.4' e ayarlandı.

Krebs Henseleit Çözeltisi: NaCl 13.8 g, KCl 0.70 g, CaCl₂ 0.58 g, MgCl₂ 0.48 g, KH₂PO₄ 0.32 g, NaHCO₃ 4.2 g ve D glukoz 4 g tartılıp 2 L' ye distile su ile tamamlandı.

60 mM KCl' li Krebs Henseleit Çözeltisi: NaCl 3.45 g, KCl 4.2 g, CaCl₂ 0.29 g, MgCl₂ 0.24 g, KH₂PO₄ 0.16 g, NaHCO₃ 2.1 g ve D glukoz 2 g tartılıp 1 L' ye distile su ile tamamlandı.

KCL	80 mM
Serotonin (5-HT)	10 ⁻⁹ -10 ⁻³ M
Noradrenalin (NA)	10 ⁻⁹ -10 ⁻³ M
Endotelin-1 (ET-1)	10 ⁻⁹ -10 ⁻⁷ M
Asetilkolin (Ach)	10 ⁻⁹ -10 ⁻³ M
Sodyumnitroprussid (SNP)	10 ⁻⁹ -10 ⁻⁴ M

Deneysel pulmoner hipertansiyon modelinin oluşturulması

Sıçanlarda PH oluşturmak için 60 mg/kg dozda MCT i.p. olarak sıçanlara uygulandı. Uygulama esnasında ardışık 2 sıçan/gün enjeksiyonları ile deney başlatıldı ve böylece deney sonunda toplu ölçüm ve örnek alma problemi ile karşılaşılmadı. 3 haftalık bekleme periyodundan sonra MCT uygulanan sıçanlarda PH geliştiği bilinmektedir (15, 36, 52, 53, 54, 55).

PH tedavisinde sildenafil+everolimus kombinasyonunun etkinliğini araştırmak için çalışmada kullanılacak olan sıçanlar her grupta 10 hayvan olmak üzere 7 farklı gruba ayrıldı.

Grup 1; işlemsiz kontrol sıçanlar (K)

Grup 2; 21 gün serum fizyolojik (gavaj) uygulanan kontrol sıçanlar (SF)

Grup 3; MCT ile PH oluşturulan 21 gün sonunda ölçümleri yapılan tedavi edilmeyen

sıçanlar (MCT21)

Grup 4; MCT ile PH oluşturulan 42 gün sonunda ölçümleri yapılan tedavi edilmeyen sıçanlar (MCT42)

Grup 5; MCT ile PH oluşturulan 21 gün bekleme periyodundan sonra 21 gün sildenafil (50 mg/kg/gün, gavaj) tedavisi alan sıçanlar (SLD)

Grup 6; MCT ile PH oluşturulan 21 gün bekleme periyodundan sonra 21 gün sildenafil (50 mg/kg/gün, gavaj) + everolimus (1 mg/kg/gün, gavaj) tedavisi alan sıçanlar (SLD+E1)

Grup 7; MCT ile PH oluşturulan 21 gün bekleme periyodundan sonra 21 gün sildenafil (50 mg/kg/gün, gavaj) + everolimus (3 mg/kg/gün, gavaj) tedavisi alan sıçanlar (SLD+E3)

Deney protokolü (Şekil 1)

Sıçanlarda pulmoner arter basıncının ölçülmesi

Tedavili ve tedavisiz gruplarda belirtilen süreler sonunda sıçanlara, 60 mg/kg ketamin-5 mg/kg ksilazin anestezisi uygulandı. Anestezinin devamlılığı parmak kıstırma yanıtları ya da iskelet kası tonüsü izlenmesi ile her 15–20 dk' da bir kontrol edildi.

Anestezi altında, sağ 3-4 interkostal aralıktan künt diseksiyonla sağ ventriküle ulaşıp PE 50 kateteri ucuna yerleştirilen 23 numaralı enjektör ucu ile sağ ventriküle girildi, direkt basınç kayıtları alındı. Eş zamanlı karotis arter basınçları ile sağ ventriküldeki enjektörün sol ventriküle ilerletilerek alınan basınç kayıtlarının benzer olması nedeni ile karotis basınçları yerine sol ventrikül direkt ölçüm sonuçları değerlendirildi. Bu değerlendirmede eş zamanlı sol ventrikül basınçları 90 mm Hg' nın altında olan değerler kullanılmadı.

Sıçan pulmoner arterlerinde miyograf çalışması

Basınç ölçümleri yapılan sıçanların kalp ve akciğer dokuları alındı. Buzda bekletilen Krebs Henseleit çözeltisi ile yıkandıktan sonra kalp akciğer dokusundan pulmoner arterlerin izolasyonu için mikrodiseksiyon aşamasına geçildi.

Diseksiyon mikroskopu kullanılarak uygun büyütme derecesinde ana pulmoner arter ve dalları belirlendi. Arterler etrafındaki bağ ve yağ dokuları, trakea ve pulmoner venler uzaklaştırıldı. Ana pulmoner arterden sol akciğere giden ilk pulmoner arter

dalından 3-3.5 mm' yi geçmeyen boyda iki damar parçası örneği kesildi. İzole edilen pulmoner arterlerin çapı yaklaşık olarak 2-3 mm' dir (56). Pulmoner arter örneği alındıktan sonra kalbin sağ ventrikülü, septum ve sol ventrikülünden ayrıldı ve tartıldı.

Mikrodiseksiyon ile izole edilen pulmoner arter segmentleri miyograf sistemine yine mikroskop altında yerleştirildi. Damar örneği banyo hacmi 10 mL olan içinde soğuk Krebs Henseleit çözeltisi bulunan miyograf haznesine konuldu. Bir ucu düzeneğe vidalanarak sabitlenmiş 40 µm çapındaki tungsten tel damarın içinden geçirildi. Bu işlem sırasında özellikle telin serbest ucunun damar lümeni içindeki hareketi sırasında endotel tabakasını zedelememesine dikkat edildi. Tungsten telin serbest ucu da vidalandıktan sonra ikinci bir tel damarın lümeni boyunca ilerletildi. Telin serbest olan iki ucu da düzeneğe vidalandıktan sonra preparasyonun miyograf sistemine yerleştirilmeden önceki aşaması tamamlandı.

Hazırlanan preparasyon dışsal ısıtma ile içindeki çözeltinin sıcaklığı 37 °C' de sabit tutulan miyograf sistemine yerleştirildi ve sıcaklığı 37 °C olan Krebs Henseleit çözeltisi ile yıkandı. Miyograf haznesi çalışma protokolleri boyunca % 5 CO₂-% 95 O₂ gaz karışımıyla gazlandırıldı. Sabit gerim uygulanmadan önce 30 dk süresince damarlar organ banyosunda dinlendirildi. Her 15 dk' da bir damarlar sıcaklığı 37 °C olan Krebs Henseleit çözeltisi ile yıkandı. Beklenen süre sonunda damarlara literatürlerden elde edilen bilgiler doğrultusunda 1-2 mN' luk ön gerim uygulandı (57, 58, 59).

İstenilen ön gerime ulaşıldıktan sonra damarlar 30 dk dinlendirildi ve dinlenme periyodu sürecinde standart izlem protokolü uygulandı.

Süre sonunda damar için bir ön-uyarılma sayılan vitalizasyon aşamasına geçildi. Bunun için 60 mM KCl içeren Krebs Henseleit çözeltisi kullanıldı. Uygulamadan sonra normal Krebs Henseleit çözeltisiyle damarlar yıkandı. Takip eden süreçte 30 dk dinlenme periyodu sürecinde standart izlem protokolü uygulandı.

Bu aşamaya kadar aynı işlemlere maruz kalan damarlar için bundan sonra aşağıda tarif edilen protokoller uygulandı. Birbirini takip eden uygulamaların aralarında 45 dk dinlenme periyodu sürecinde standart izlem protokolü uygulandı.

Miyograf Protokolü

1. KCl: 80 mM konsantrasyonda damarlara uygulandı ve kasılma cevapları kaydedildi.

SNP: Damarlarda 80 mM KCl kasılmasını takiben kümülatif SNP konsantrasyonlarına verilen gevşeme yanıtları kaydedildi.

Ach: 80 mM KCl kasılmasını takiben kümülatif Ach konsantrasyonlarına verilen gevşeme cevapları kaydedildi.

2. 5-HT: 10^{-9} - 10^{-3} M artan konsantrasyonlarda kümülatif olarak uygulandı ve kasılma cevabı kaydedildi.

SNP: Damarlarda 10^{-3} M 5-HT ile kasılmasını takiben kümülatif SNP konsantrasyonlarına verilen gevşeme cevapları kaydedildi.

Ach: 10^{-3} M 5-HT ile kasılmasını takiben kümülatif Ach konsantrasyonlarına verilen gevşeme cevapları kaydedildi.

3. ET-1: 10^{-9} - 10^{-7} M artan konsantrasyonlarda kümülatif olarak uygulandı ve kasılma cevabı kaydedildi.

SNP: Damarlarda 10^{-7} M ET-1 ile kasılmasını takiben kümülatif SNP' nin konsantrasyonlarına verilen gevşeme cevapları kaydedildi.

Ach: 10^{-7} M ET-1 ile kasılmasını takiben kümülatif Ach konsantrasyonlarına verilen gevşeme cevapları kaydedildi.

4. NA: 10^{-9} - 10^{-3} M artan konsantrasyonlarda kümülatif olarak uygulandı ve kasılma cevabı kaydedildi.

SNP: Damarlarda 10^{-3} M NA ile kasılmasını takiben kümülatif SNP' nin konsantrasyonlarına verilen gevşeme cevapları kaydedildi.

Ach: 10^{-3} M NA ile kasılmasını takiben kümülatif Ach konsantrasyonlarına verilen gevşeme cevapları kaydedildi.

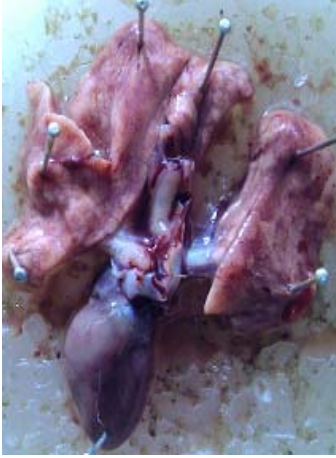
Damar cevaplarının sayısal değerlerini elde etmek için veri toplama sistemiyle bilgisayara kaydedilen miyogramlar kullanıldı. KCl, 5-HT, ET-1 ve NA' e verilen kasılma cevapları bu ajanların her konsantrasyonu için % kasılmaları hesaplanarak ifade edildi. Kasılma yanıtlarından sonra Ach ve SNP' ye verilen gevşeme yanıtları ise yine bu ajanların her konsantrasyonu için % gevşeme şeklinde hesaplanarak ifade edildi.

Histopatolojik Işık Mikroskopisi İncelemesi

Deney gruplarını oluşturan sıçanlardan alınan pulmoner arter, akciğer ve kalp doku örnekleri % 10' luk formalin fiksatifi içine alındı ve 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Örnekler, fiksatifin etkisini ortadan kaldırmak için 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Doku parçalarının daha sonra sırasıyla kademeli olarak % 70' lik, % 80' lik, % 90' lık ve % 96' lık alkol serilerinde 45' er dk bekletilmesi ile dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20 dk ksilolde bekletildi. Pulmoner arter, akciğer ve kalp doku örnekleri daha sonra etüv içinde 65 °C' de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dk süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafine gömüldüler ve parafin bloklar halinde kesit alınmaya hazır duruma getirildiler. Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağının buzdolabında soğutulmasının ardından, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5 µm kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitler 45 °C' de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletildi. Preparatların 1 saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Doku kesitleri 5 dk sürelerle % 96, % 90, % 80 ve % 70' lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilen ile 2 dk boyandı distile sudan geçirildi ve 10 dk Eosin ile boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler alkol serilerinden hızla geçirildi ve dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30 dk tutularak şeffaflandırıldı. Şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatıldı ve ışık mikroskopik düzeyde değerlendirmeleri yapılarak preparatların digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

İstatistiksel Analiz

Sağ ventrikül basınçları, sağ ventrikül/kalp ağırlık oranları ve KCl kasılma yanıtlarının istatistiksel analizi SPSS 15.0 programında tek yönlü ANOVA ve sonrasında Tukey HSD testi ile yapıldı. Diğer deney sonuçları SigmaStat 3.1 programında çift yönlü ANOVA tekrarlayan ölçümler ve sonrasında Holm-Sidak testi ile yapıldı. Tüm deney sonuçları ortalama±standart hata olarak verildi. 0.05'ten küçük *p* değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

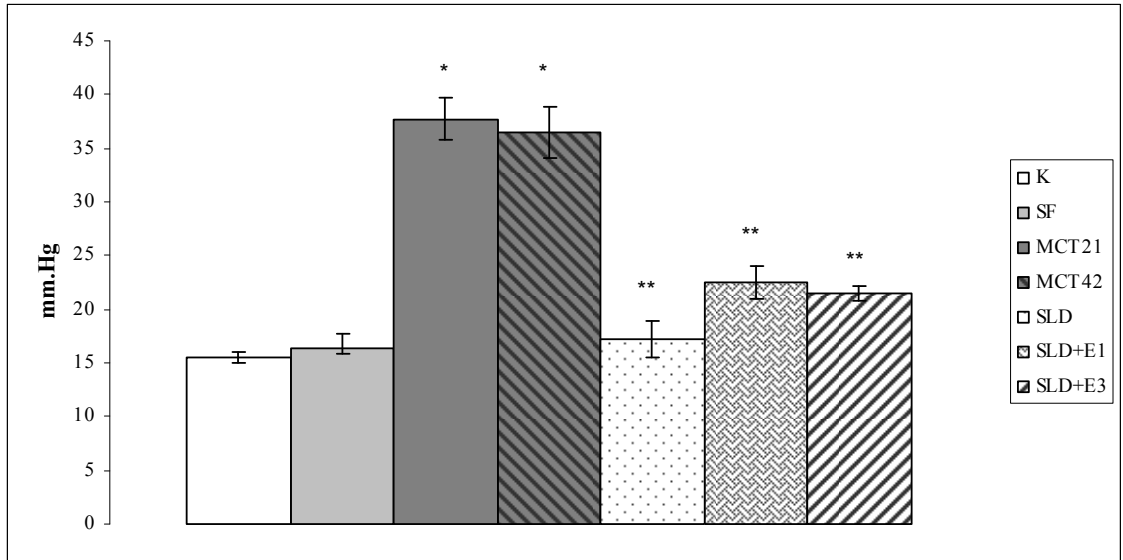


Şekil 1. Deney protokolü

BULGULAR

Sağ Ventrikül Basınçlarının Ölçümü

Kontrol gruplarına oranla tedavisiz MCT gruplarında sağ ventrikül (SV) basıncı istatistiksel olarak anlamlı derecede artmaktadır. Tedavili MCT grupları ile tedavisiz MCT grupları karşılaştırıldığında ise SV basınçlarının dolayısıyla pulmoner arter basınçlarının tedavili gruplarda anlamlı derecede azaldığı görülmektedir. Tedavili MCT grupları arasında SV basınçları açısından anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Şekil 2).



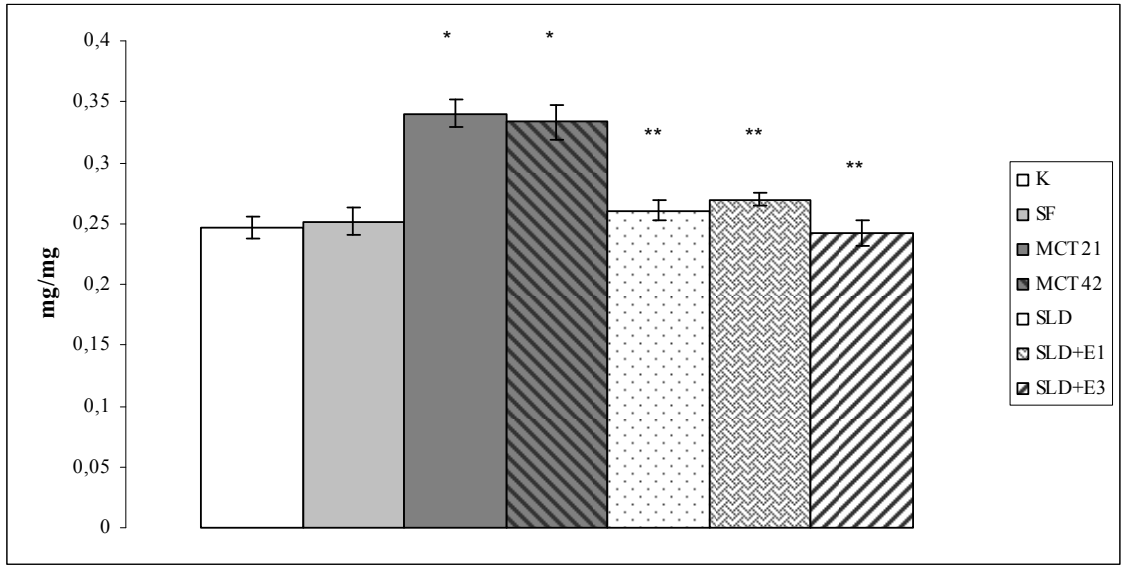
Şekil 2. Sağ ventrikül basınçları (n: 10)

(*) K ve SF' ten farklı ($p < 0.05$)

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

Sağ Ventrikül/Kalp Ağırlık Oranları

Kontrol grupları ile tedavisiz MCT grupları SV/kalp ağırlık oranları açısından karşılaştırıldığında, SV kitlesinin tedavisiz MCT gruplarında anlamlı derecede arttığı görülmektedir. Tedavili MCT gruplarında bu SV kitle artışı anlamlı derecede azalmaktadır ve kontrol gruplarından farksız değerlere ulaşmaktadır. Tedavili MCT grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. Sağ ventrikül/kalp ağırlık oranları (n: 10)

(*) K ve SF' ten farklı ($p < 0.05$)

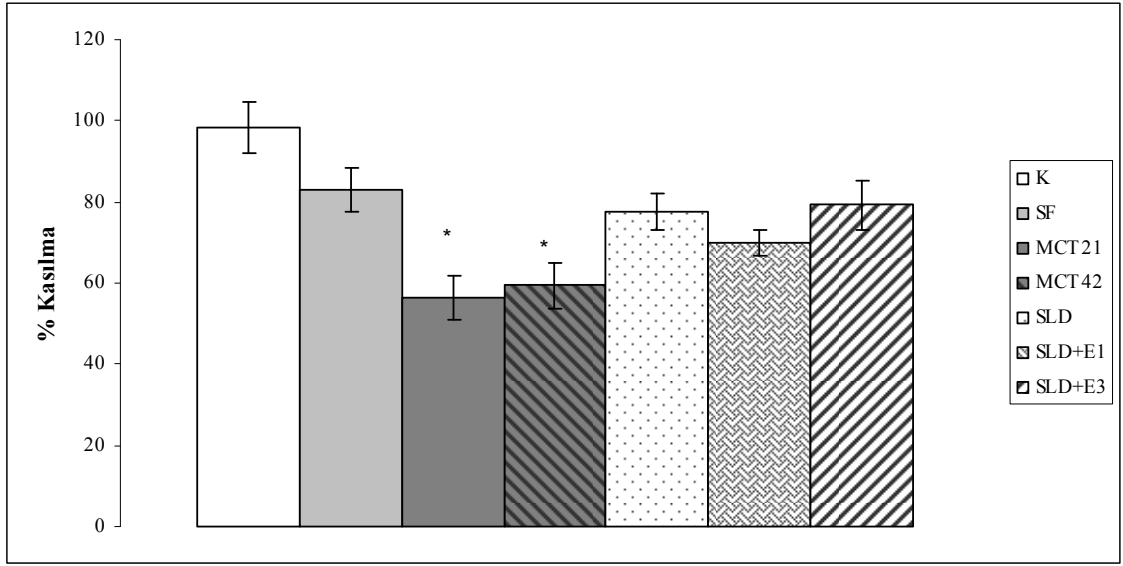
(**) MCT21 ve MCT42' den farklı ($p < 0.05$)

Miyografda Değerlendirilen Pulmoner Arter Yanıtları

Potasyumklorür yanıtları

Potasyumklorür kasılma yanıtları

KCl kasılma yanıtları, kontrol gruplarına oranla tedavisiz MCT gruplarında anlamlı olarak azalmaktadır. Tedavisiz MCT grupları ile tedavi MCT grupları arasında anlamlı bir fark görülmemektedir. Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında KCl kasılma yanıtları arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Şekil 4).



Şekil 4. KCl kasılma yanıtları (n: 14)

(*) K ve SF' ten farklı ($p < 0.05$)

Potasyumklorür kasılma yanıtlarına karşı elde edilen asetilkolin gevşeme yanıtları

KCl kasılma yanıtlarına karşı alınan Ach gevşeme yanıtlarının tedavisiz MCT gruplarında kontrol gruplarına oranla 10^{-5} - 10^{-3} M konsantrasyonlar arasında azaldığı görülmektedir. Tedavisiz MCT grupları ile tedavi MCT grupları karşılaştırıldığında ise 10^{-4} - 10^{-3} M Ach konsantrasyonlarında gevşeme yanıtlarında düzelme gözlenmektedir. Tedavi MCT grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde 10^{-4} - 10^{-3} M Ach konsantrasyonlarında SLD+E3 grubunun diğer tedavi gruplarına oranla gevşeme yanıtlarını anlamlı derecede arttırdığı görülmektedir (Şekil 5).

Potasyumklorür kasılma yanıtlarına karşı elde edilen sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları

KCl kasılma yanıtlarına karşı alınan SNP gevşeme yanıtlarının kontrol gruplarına oranla tedavisiz MCT gruplarında anlamlı olarak azaldığı görülmektedir. Tedavisiz MCT gruplarına oranla tedavi MCT gruplarında SNP gevşeme yanıtlarının anlamlı olarak düzeldiği ve SLD+E1 ve SLD+E3 gruplarında kontrolden farksız gevşeme yanıtlarının olduğu gözlenmektedir (Şekil 6).

Serotonin yanıtları

Serotonin kasılma yanıtları

5-HT ile elde edilen kasılma yanıtlarında kontrol gruplarına oranla tedavi ve tedavisiz MCT gruplarında artan konsantrasyonlarda daha da belirginleşen bir artma gözlenmektedir. Tedavi grupları kendi aralarında ve tedavisiz MCT grupları ile karşılaştırıldığında 5-HT kasılma yanıtları açısından anlamlı bir fark gözlenmemektedir (Şekil 7).

Serotonin kasılma yanıtlarına karşı elde edilen asetilkolin gevşeme yanıtları

5-HT ile kasılma yanıtlarına karşı alınan Ach gevşeme yanıtlarında, kontrol grupları ile tedavisiz MCT grupları arasında 10^{-9} - 10^{-8} M konsantrasyonlarda anlamlı bir fark bulunmazken, 10^{-7} - 10^{-3} M konsantrasyonlar arasında kontrole oranla tedavisiz MCT gruplarında gevşeme yanıtları anlamlı derecede azalmaktadır. Tedavisiz MCT grupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ise Ach' in 10^{-3} M konsantrasyonunda

MCT42 grubunda MCT21 grubuna oranla gevşeme yanıtlarında anlamlı bir artma gözlenmektedir. 10^{-5} - 10^{-3} M konsantrasyonlar arasında Ach gevşeme yanıtları tedavi MCT gruplarında tedavisiz MCT gruplarına oranla anlamlı olarak artmaktadır. Tedavi MCT grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde ise 10^{-7} - 10^{-4} M konsantrasyonlar arasında SLD ve SLD+E3 grupları ile SLD+E1 grubu arasında anlamlı bir fark varken 10^{-3} M konsantrasyonda anlamlı bir fark gözlenmemektedir (Şekil 8).

Serotonin kasılma yanıtlarına karşı elde edilen sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları

SNP' nin tüm konsantrasyonlarında, tedavisiz MCT gruplarının gevşeme yanıtları kontrole oranla belirgin bir şekilde azalmaktadır. 10^{-9} - 10^{-5} M konsantrasyon aralığında tedavi MCT grupları ile tedavisiz MCT grupları karşılaştırıldığında, tedavi gruplarda SNP gevşeme yanıtları anlamlı olarak artmaktadır. Özellikle 10^{-9} - 10^{-8} M gibi düşük konsantrasyonlarda, SLD+E3 grubunda diğer tedavi gruplarına oranla daha belirgin SNP gevşeme yanıtları gözlenmektedir (Şekil 9).

Endotelin-1 Yanıtları

Endotelin-1 kasılma yanıtları

ET-1 kasılma yanıtları, kontrol gruplarına oranla tedavisiz MCT gruplarında 10^{-7} M konsantrasyonda anlamlı şekilde azalmaktadır. Tedavi MCT gruplarından SLD+E1 ve SLD+E3 gruplarının kontrolden farksız, tedavisiz MCT gruplarından ise farklı kasılma yanıtları oluşturduğu görülmektedir (Şekil 10).

Endotelin-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen asetilkolin gevşeme yanıtları

ET-1 kasılma yanıtlarına karşı alınan Ach gevşeme yanıtlarının, 10^{-5} - 10^{-3} M konsantrasyonlar arasında kontrol gruplarına oranla tedavisiz MCT gruplarında azaldığı gözlenmektedir. Tedavi MCT grupları arasında SLD+E1 ve SLD+E3 gruplarında tedavisiz MCT gruplarına oranla gevşeme yanıtları anlamlı olarak artmaktadır ve kontrol gruplarından farksız gevşeme yanıtları oluşmaktadır (Şekil 11).

Endotelin-1 kasılma yanıtına karşı elde edilen sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları

ET-1 kasılma yanıtına karşı alınan SNP gevşeme yanıtları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir (Şekil 12).

Noradrenalin Yanıtları

Noradrenalin kasılma yanıtları

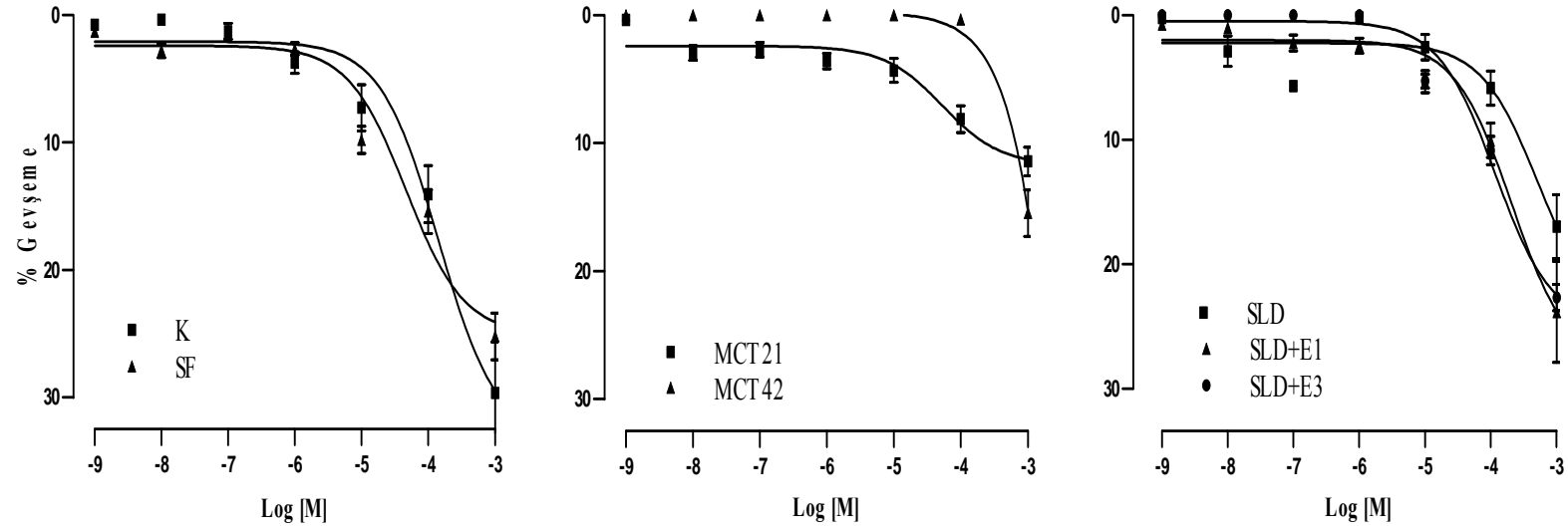
NA kasılma yanıtları tedavisiz MCT gruplarında kontrol gruplarına oranla anlamlı derecede azalmaktadır ve artan konsantrasyonlarda bu azalma daha da belirgin hale gelmektedir. Tedavili MCT gruplarında bu azalmanın ortadan kalktığı ve 10^{-4} - 10^{-3} M konsantrasyonlarda kontrol gruplarından farksız hale geldiği görülmektedir (Şekil 13).

Noradrenalin kasılma yanıtına karşı elde edilen asetilkolin gevşeme yanıtları

NA kasılma yanıtına karşı alınan Ach gevşeme yanıtları, kontrol gruplarına oranla tedavisiz MCT gruplarında anlamlı derecede azalmaktadır ve bu fark konsantrasyon arttıkça daha da belirginleşmektedir. Tedavili MCT gruplarında tedavisiz MCT gruplarına oranla Ach gevşeme yanıtlarının arttığı görülmektedir. Tedavi gruplarında ise SLD+E3 grubunda kontrolden farksız ve belirgin gevşeme yanıtlarının meydana geldiği görülmektedir (Şekil 14).

Noradrenalin kasılma yanıtına karşı elde edilen sodyum nitroprussid gevşeme yanıtları

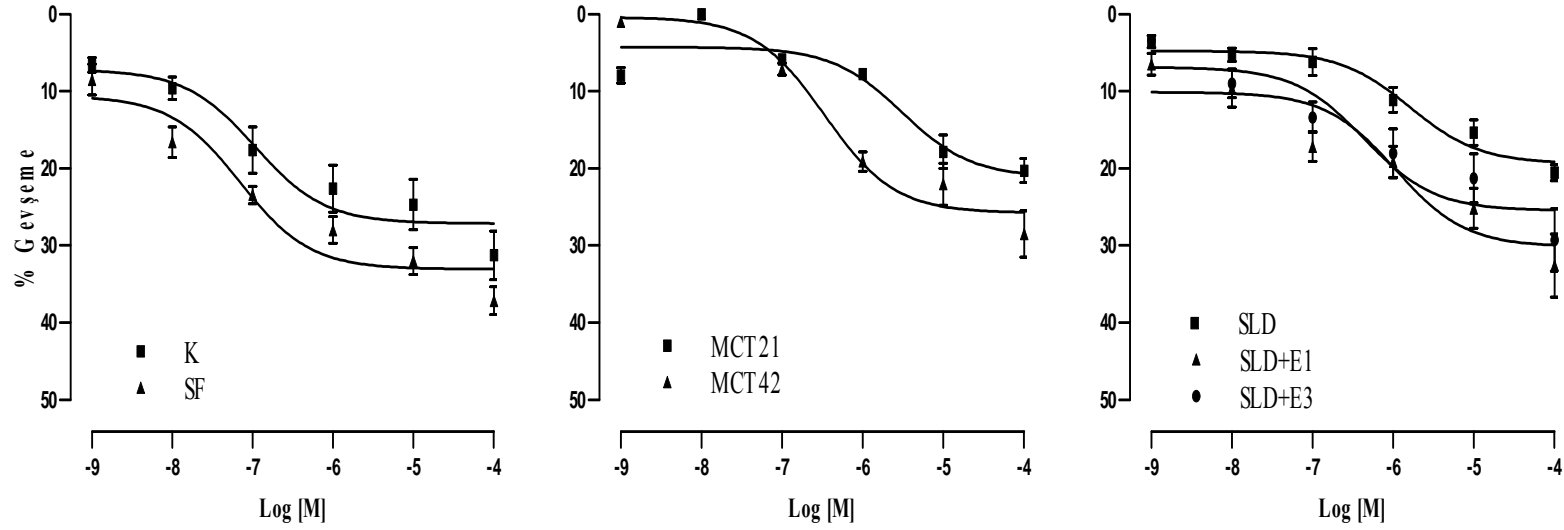
NA kasılma yanıtına karşı alınan SNP gevşeme yanıtları, 10^{-4} M konsantrasyon dışındaki diğer konsantrasyonlarda kontrole oranla tedavisiz MCT gruplarında anlamlı şekilde azalmaktadır. Tedavili MCT grupları ile tedavisiz MCT grupları karşılaştırıldığında ise SNP gevşeme yanıtlarının 10^{-9} - 10^{-5} M konsantrasyonlar arasında tedavili MCT gruplarında anlamlı derece arttığı ve bunun SLD+E3 grubunda daha belirgin şekilde olduğu görülmektedir (Şekil 15).



Şekil 5. KCl kasılma yanıtına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtları (n: 7)

Tablo 1. KCl kasılma yanıtına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

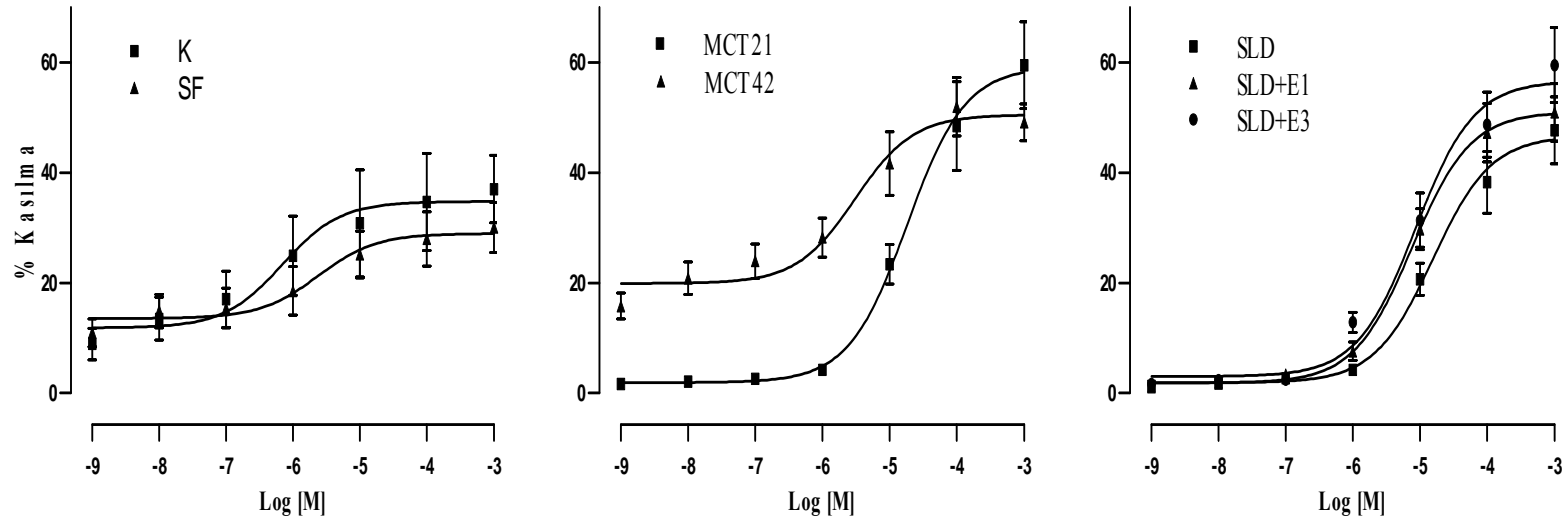
-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3
		SLD vs. MCT 42 SLD vs. SLD+E3		SF vs. MCT 42 K vs. MCT 42 SF vs. SLD SF vs. MCT 21 SLD+E1 vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 42	SF vs. MCT 42 K vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 42 SLD+E1 vs. MCT 42 SF vs. SLD K vs. SLD MCT 21 vs. MCT 42 SF vs. MCT 21 K vs. MCT 21 SLD vs. MCT 42 SF vs. SLD+E1 SLD+E3 vs. SLD	K vs. MCT 21 K vs. MCT 42 SF vs. MCT 21 K vs. SLD SLD+E1 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SLD+E1 vs. MCT 42 SF vs. SLD SLD+E3 vs. MCT 42 K vs. SLD+E3 SLD+E1 vs. SLD K vs. SLD+E1 SLD+E3 vs. SLD SLD vs. MCT 21



Şekil 6. KCl kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtları (n: 7)

Tablo 2. KCl kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

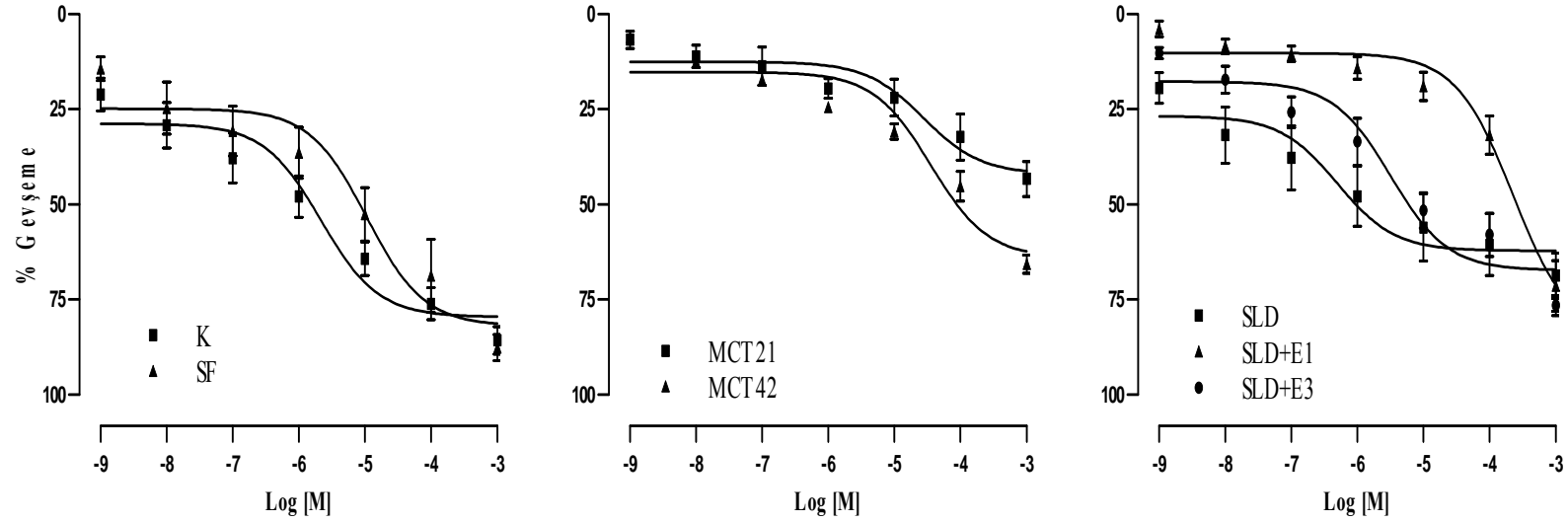
-9	-8	-7	-6	-5	-4
	SF vs. MCT 42 SF vs. MCT 21 SF vs. SLD SLD+E1 vs. MCT 21 SLD+E1 vs. MCT 42 K vs. MCT 21 K vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 42	SF vs. MCT 21 SF vs. SLD SF vs. MCT 42 K vs. MCT 21 K vs. SLD SLD+E1 vs. MCT 21 SLD+E1 vs. SLD K vs. MCT 42 SF vs. SLD+E3 SLD+E1 vs. MCT 42	SF vs. MCT 21 SF vs. SLD K vs. MCT 21 K vs. SLD SLD+E1 vs. MCT 21 MCT 42 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 SF vs. SLD+E3 SF vs. MCT 42 SF vs. SLD+E1	SF vs. SLD SF vs. MCT 21 SF vs. SLD+E3 SF vs. MCT 42 SLD+E1 vs. SLD K vs. SLD	SF vs. MCT 21 SF vs. SLD SLD+E1 vs. MCT 21 SLD+E1 vs. SLD K vs. MCT 21 K vs. SLD SLD+E3 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. SLD



Şekil 7. 5-HT kasılma yanıtları (n: 13)

Tablo 3. 5-HT kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

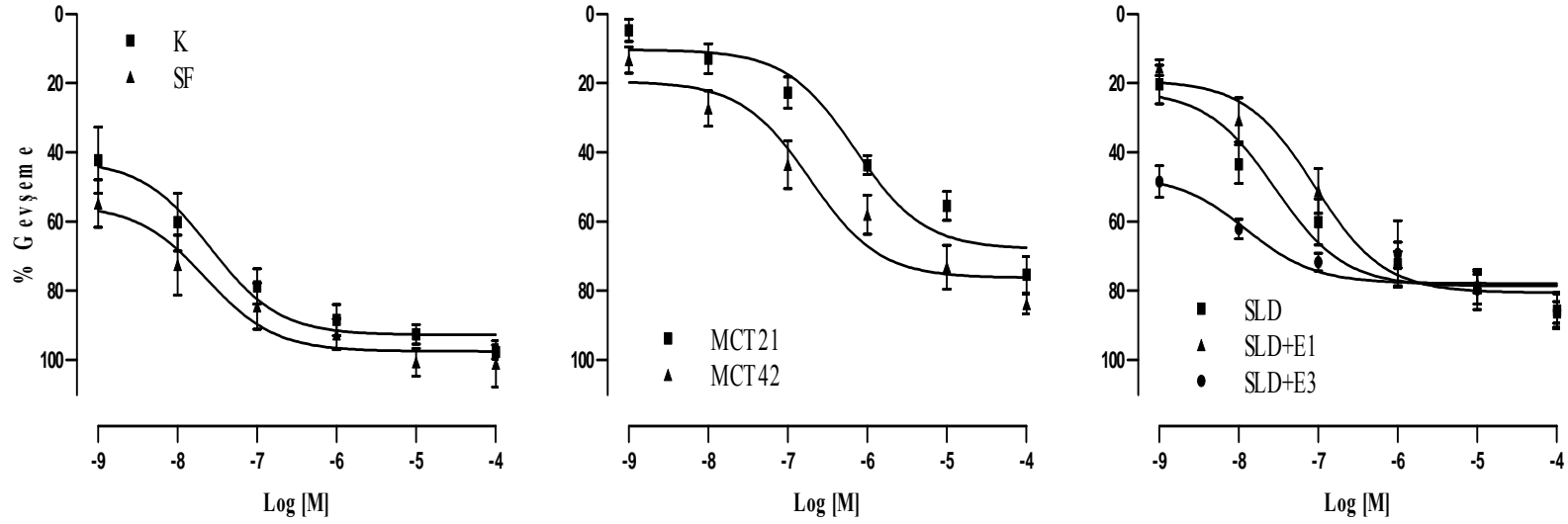
-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3
	MCT 42 vs. SLD+E1 MCT 42 vs. SLD MCT 42 vs. MCT 21	MCT 42 vs. SLD+E3 MCT 42 vs. MCT 21 MCT 42 vs. SLD MCT 42 vs. SLD+E1	MCT 42 vs. SLD MCT 42 vs. MCT 21 K vs. SLD K vs. MCT 21 MCT 42 vs. SLD+E1	MCT 42 vs. SLD	MCT 42 vs. SF SLD+E3 vs. SF MCT 21 vs. SF SLD+E1 vs. SF	SLD+E3 vs. SF MCT 21 vs. SF SLD+E3 vs. K MCT 21 vs. K SLD+E1 vs. SF MCT 42 vs. SF



Şekil 8. 5-HT kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtları (n: 7)

Tablo 4. 5-HT kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

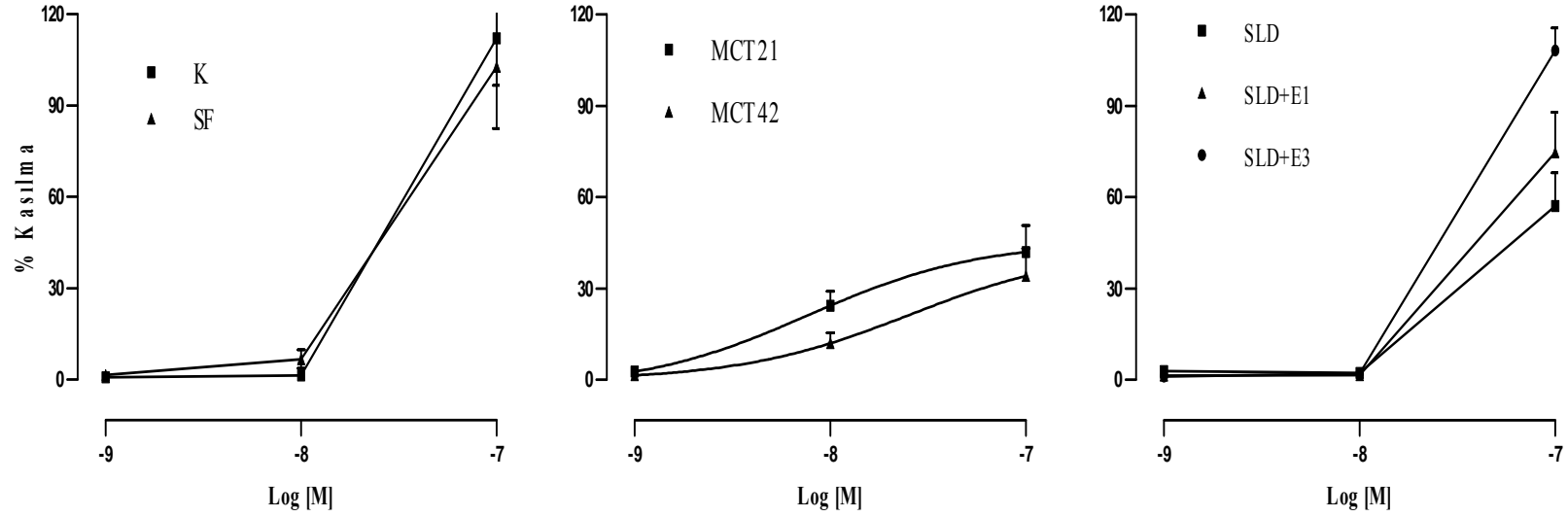
-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3
	SLD vs. SLD+E1	K vs. SLD+E1 SLD vs. SLD+E1 K vs. MCT 21 SLD vs. MCT 21	K vs. SLD+E1 SLD vs. SLD+E1 K vs. MCT 21 SLD vs. MCT 21 K vs. MCT 42 SLD vs. MCT 42 SF vs. SLD+E1	K vs. SLD+E1 K vs. MCT 21 SLD vs. SLD+E1 SLD vs. MCT 21 SF vs. SLD+E1 K vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SLD+E1 SF vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD vs. MCT 42 SF vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 42	K vs. SLD+E1 K vs. MCT 21 SF vs. SLD+E1 SF vs. MCT 21 K vs. MCT 42 SLD vs. SLD+E1 SLD vs. MCT 21 SLD+E3 vs. SLD+E1 SLD+E3 vs. MCT 21 SF vs. MCT 42	SF vs. MCT 21 K vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD+E1 vs. MCT 21 SLD vs. MCT 21 MCT 42 vs. MCT 21 SF vs. MCT 42



Şekil 9. 5-HT kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtları (n: 7)

Tablo 5. 5-HT kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

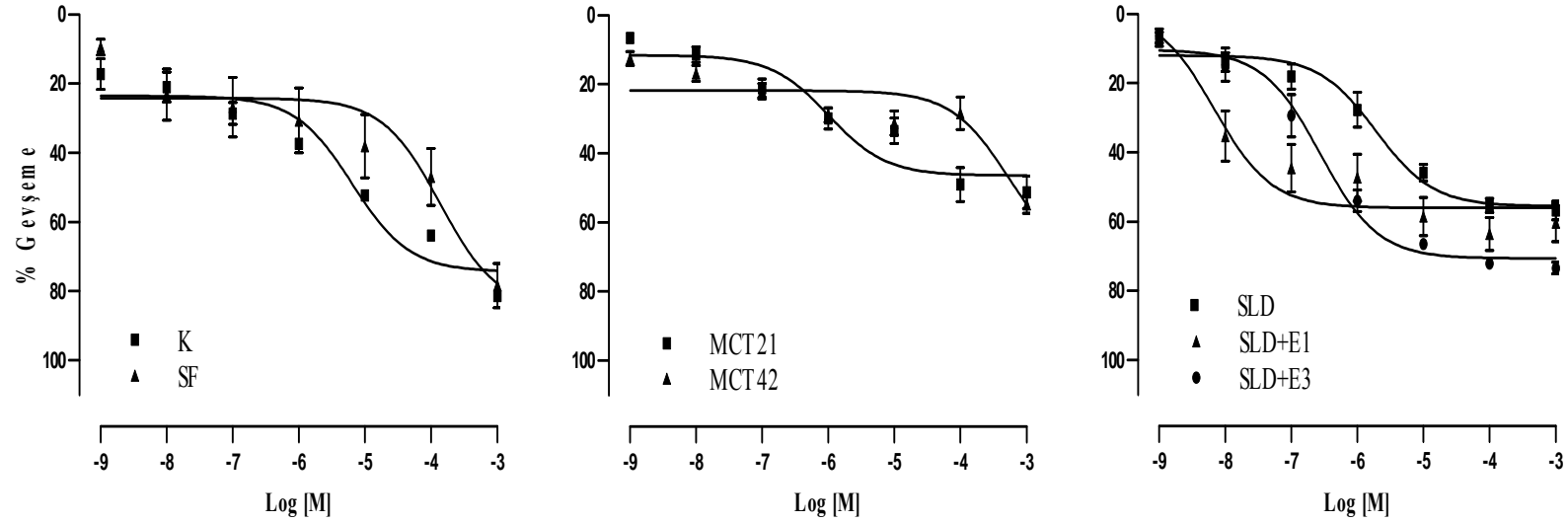
-9	-8	-7	-6	-5	-4
SF vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SF vs. SLD+E1 K vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 42 SF vs. SLD SLD+E3 vs. SLD+E1 K vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SLD K vs. SLD+E1	SF vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 K vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SF vs. SLD+E1 SLD+E3 vs. MCT 42 K vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SLD+E1 SLD vs. MCT 21 K vs. SLD+E1	SF vs. MCT 21 K vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SLD vs. MCT 21 K vs. MCT 42 SF vs. SLD+E1 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 42 K vs. SLD+E1 SF vs. SLD	SF vs. MCT 21 K vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 K vs. MCT 42 SLD vs. MCT 21 SLD+E1 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 SF vs. SLD+E3 SF vs. SLD+E1	SF vs. MCT 21 K vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD vs. MCT 21	



Şekil 10. ET-1 kasılma yanıtları (n: 11)

Tablo 6. ET-1 kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

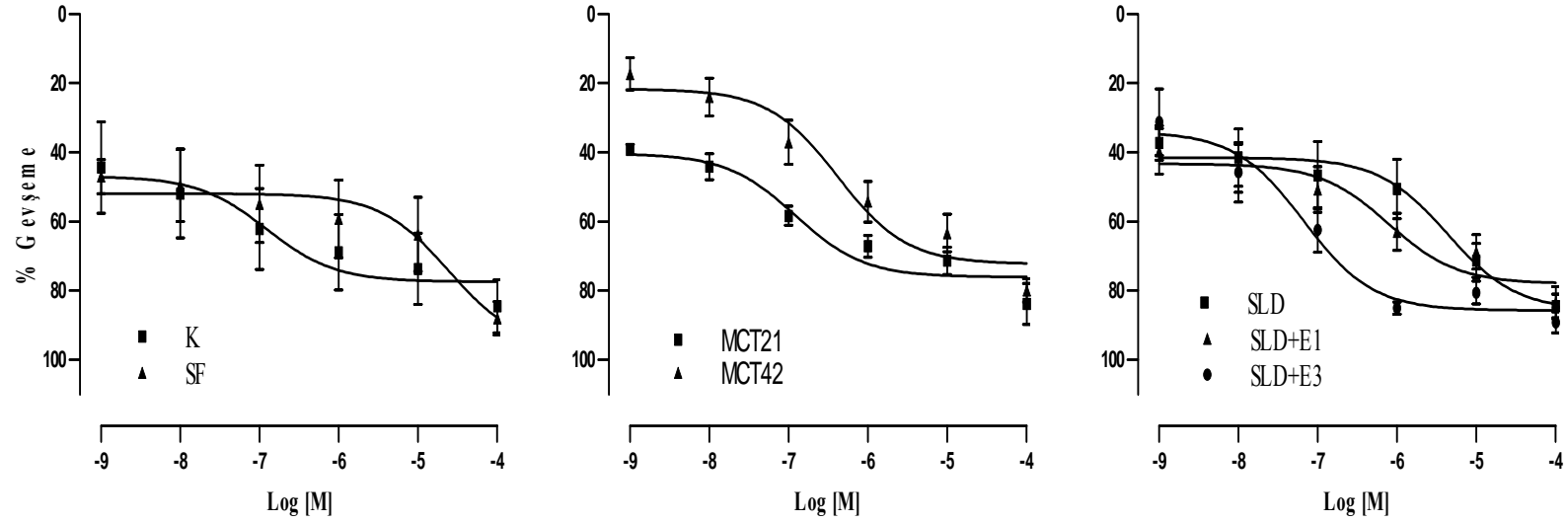
-9	-8	-7
		K vs. MCT 42 K vs. MCT 21 K vs. SLD SF vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 21 SF vs. MCT 21 SLD+E3 vs. SLD SF vs. SLD SLD+E1 vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SLD+E1 SLD+E1 vs. MCT 21



Şekil 11. ET-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtları (n: 7)

Tablo 7. ET-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

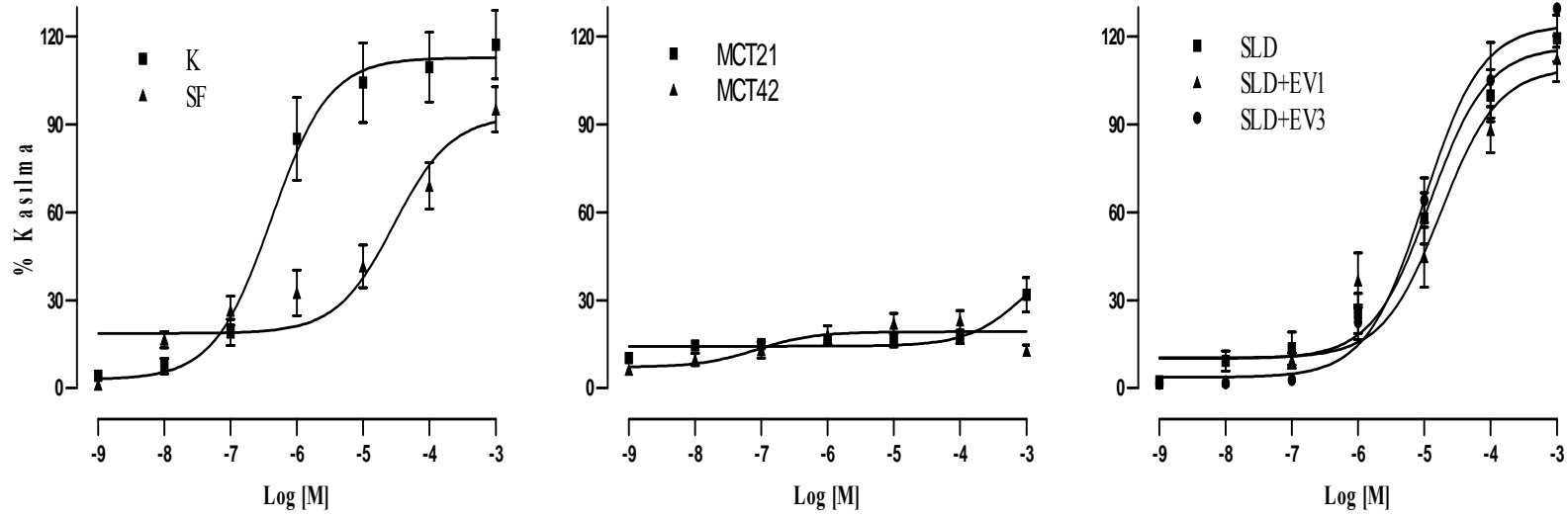
-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3
	SLD+E1 vs. MCT 21 SLD+E1 vs. SLD SLD+E1 vs. SLD+E3	SLD+E1 vs. SLD SLD+E1 vs. MCT 21 SLD+E1 vs. MCT 42	SLD+E3 vs. SLD SLD+E3 vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. SF SLD+E1 vs. SLD	SLD+E3 vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. SF SLD+E1 vs. MCT 42 SLD+E1 vs. MCT 21 K vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SLD SLD+E1 vs. SF K vs. MCT 21	SLD+E3 vs. MCT 42 K vs. MCT 42 SLD+E1 vs. MCT 42 SLD vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SF SLD+E3 vs. MCT 21 MCT 21 vs. MCT 42	K vs. MCT 21 SF vs. MCT 21 K vs. MCT 42 K vs. SLD SF vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 21 SF vs. SLD K vs. SLD+E1



Şekil 12. ET-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtları (n: 7)

Tablo 8. ET-1 kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

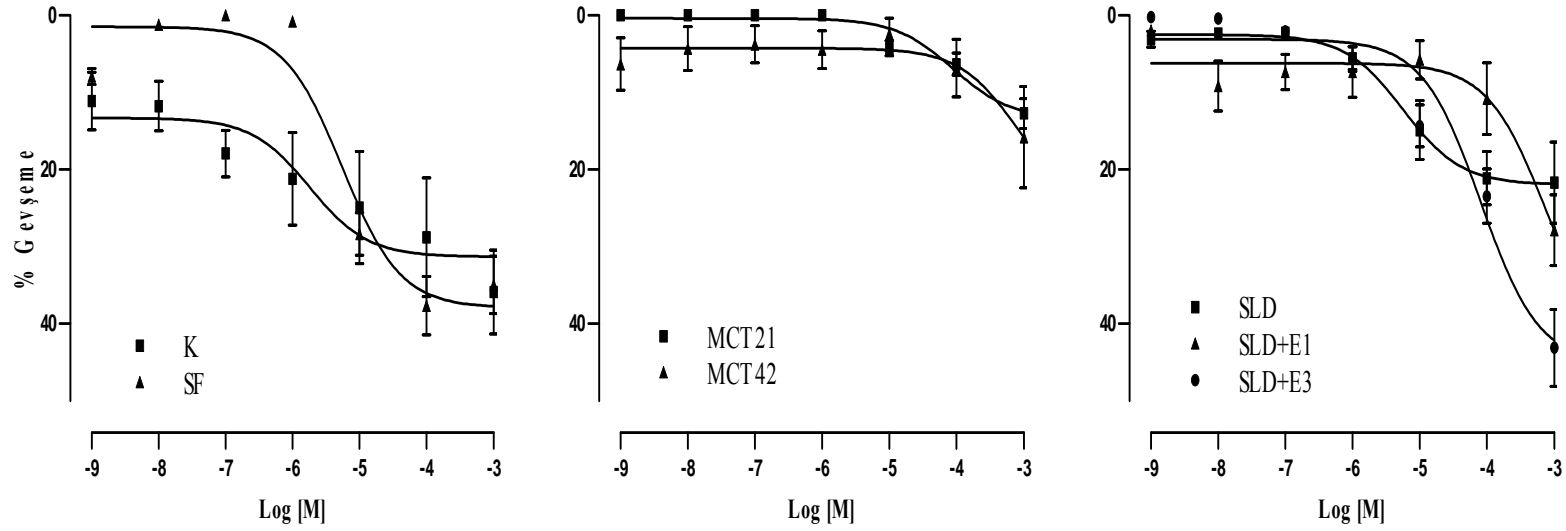
-9	-8	-7	-6	-5	-4
			SLD+E3 vs. SLD		



Şekil 13. NA kasılma yanıtları (n: 12)

Tablo 9. NA kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

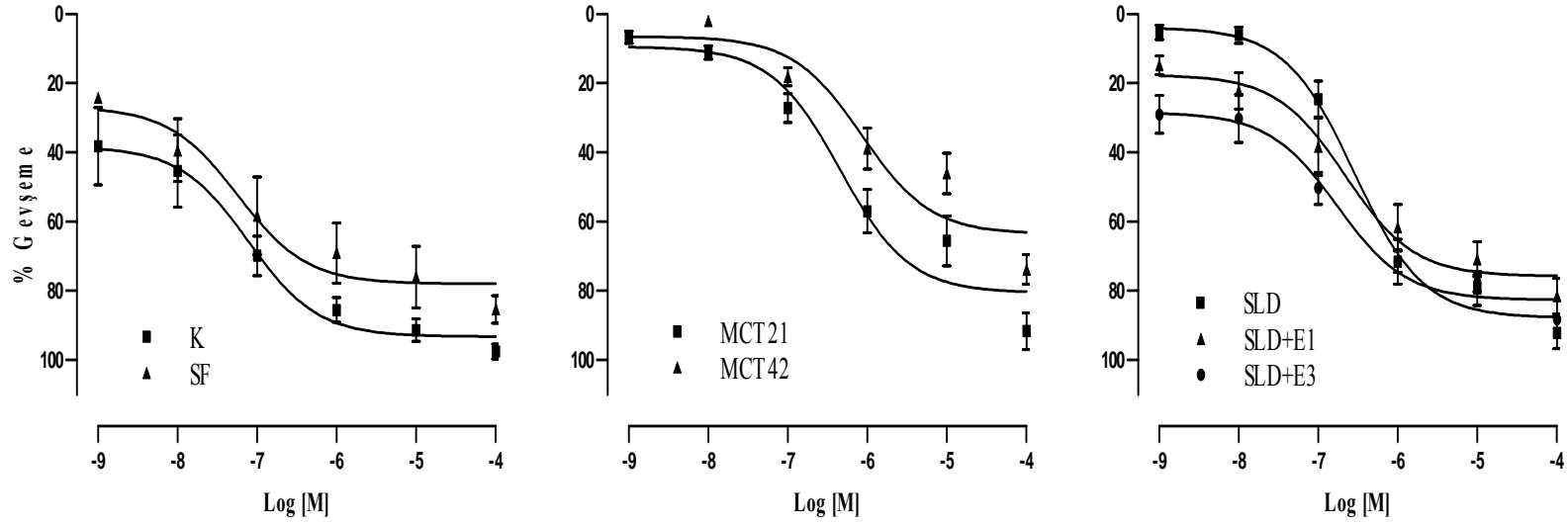
-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3
			K vs. MCT 21 K vs. MCT 42 K vs. SLD+E3 K vs. SLD K vs. SF K vs. SLD+E1	K vs. MCT 21 K vs. MCT 42 K vs. SF K vs. SLD+E1 SLD+E3 vs. MCT 21 K vs. SLD SLD+E3 vs. MCT 42 SLD vs. MCT 21 K vs. SLD+E3 SLD vs. MCT 42 SLD+E1 vs. MCT 21	K vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 21 K vs. MCT 42 SLD vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 42 SF vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SF SLD vs. SF SLD+E1 vs. MCT 21 SLD+E1 vs. SF	SLD+E3 vs. MCT 42 SLD vs. MCT 42 K vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD vs. MCT 21 K vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SF vs. MCT 21 SLD+E1 vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SF SLD+E1 vs. MCT 21



Şekil 14. NA kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtları (n: 7)

Tablo 10. NA kasılma yanıtlarına karşı elde edilen Ach gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3
		K vs. SF K vs. MCT 21 K vs. SLD+E3 K vs. SLD K vs. MCT 42	K vs. MCT 21 K vs. SF K vs. MCT 42 K vs. SLD K vs. SLD+E3	SF vs. MCT 42 SF vs. MCT 21 SF vs. SLD+E1 K vs. MCT 42 K vs. MCT 21 K vs. SLD+E1 SF vs. SLD+E3	SF vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SF vs. SLD+E1 K vs. MCT 21 K vs. MCT 42 K vs. SLD+E1 SLD+E3 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 42 SF vs. SLD SLD vs. MCT 21 SLD vs. MCT 42 SF vs. SLD+E3	SLD+E3 vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 42 K vs. MCT 21 SF vs. MCT 21 SLD+E3 vs. SLD K vs. MCT 42 SF vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SLD+E1 SLD+E1 vs. MCT 21 K vs. SLD



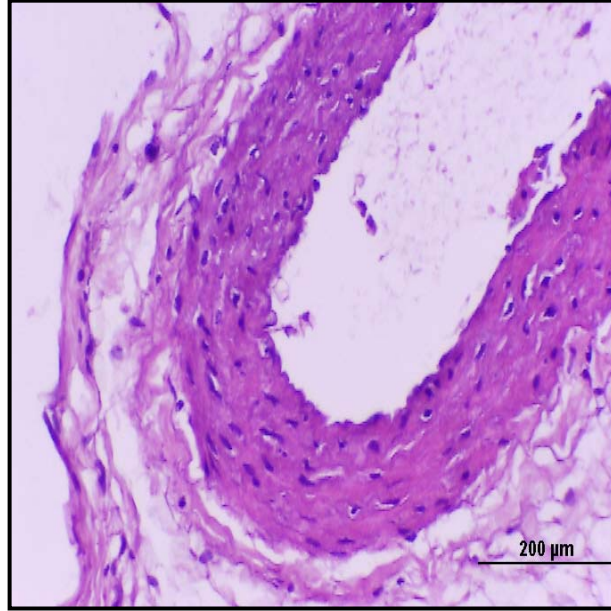
Şekil 15. NA yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtları (n: 7)

Tablo 12. NA kasılma yanıtlarına karşı elde edilen SNP gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar ($p < 0.05$)

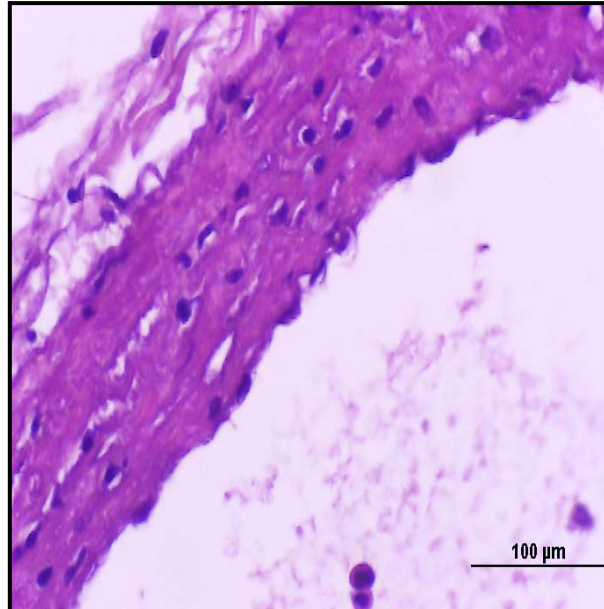
-9	-8	-7	-6	-5	-4
K vs. SLD K vs. MCT 21 K vs. MCT 42	K vs. MCT 42 K vs. SLD SF vs. MCT 42 K vs. MCT 21 SF vs. SLD SF vs. MCT 21 SLD+E3 vs. MCT 42 SLD+E3 vs. SLD	K vs. MCT 42 K vs. SLD K vs. MCT 21 SF vs. MCT 42 SF vs. SLD SLD+E3 vs. MCT 42 K vs. SLD+E1 SF vs. MCT 21 SLD+E3 vs. SLD	K vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 42 SLD vs. MCT 42 SF vs. MCT 42 K vs. MCT 21	K vs. MCT 42 SLD vs. MCT 42 SLD+E3 vs. MCT 42 SF vs. MCT 42 K vs. MCT 21 SLD+E1 vs. MCT 42	

Histopatolojik Işık Mikroskopisi Sonuçları

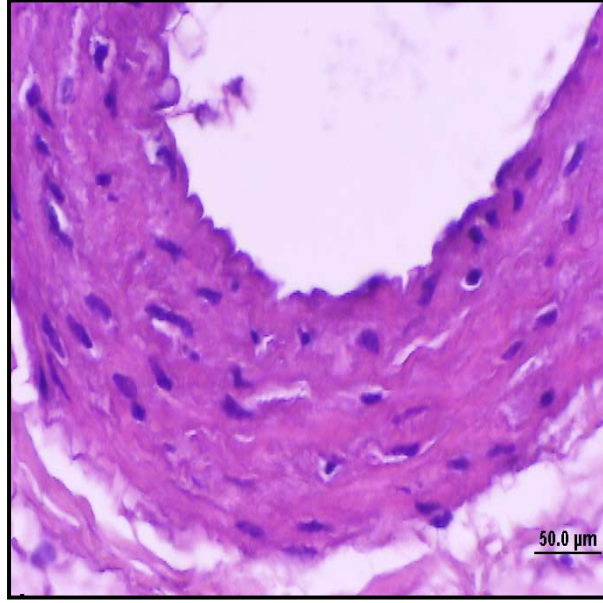
Pulmoner arter histopatolojik ışık mikroskopisi sonuçları



Şekil 16. Kontrol grubuna ait pulmoner arter örneği

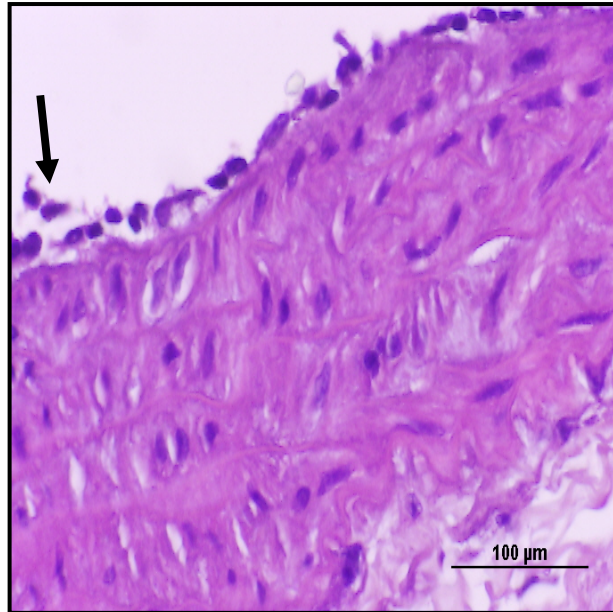


Şekil 17. Kontrol grubuna ait pulmoner arter örneği

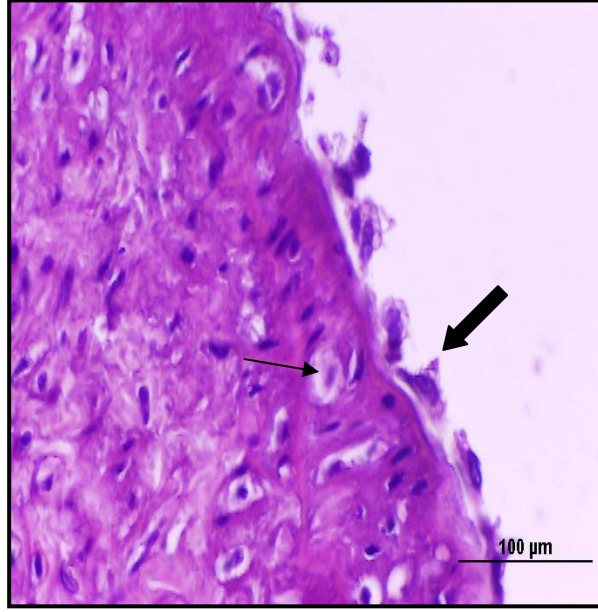


Şekil 18. Kontrol grubuna ait pulmoner arter örneği

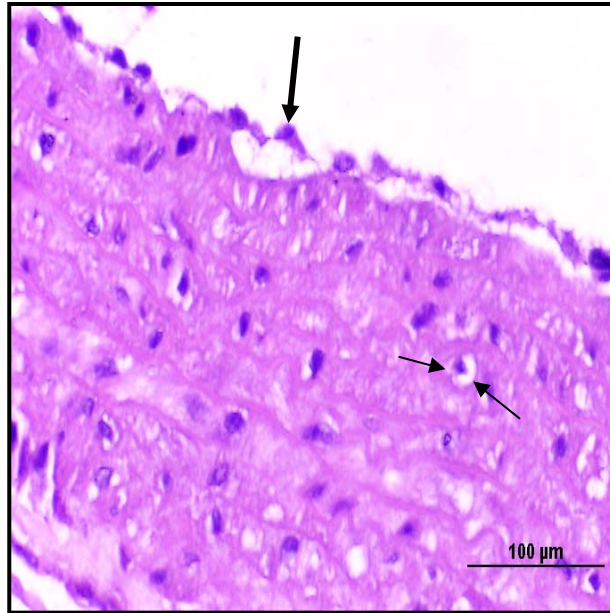
Endotel, tunika media ve tunika adventisiya tabakaları normal görünümündedir (Şekil 16, 17, 18).



Şekil 19. MCT grubuna ait pulmoner arter örneği

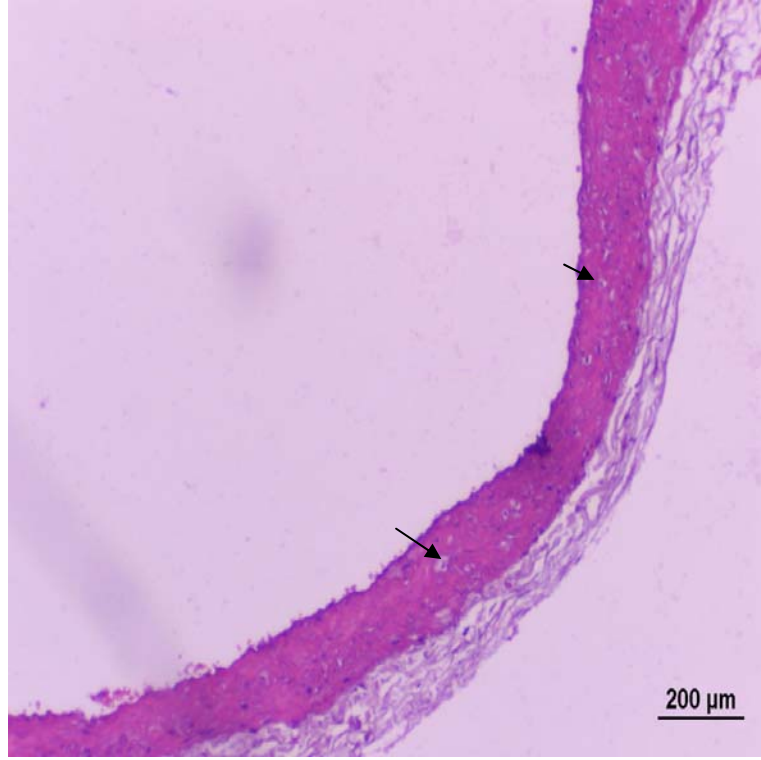


Şekil 20. MCT grubuna ait pulmoner arter örneği

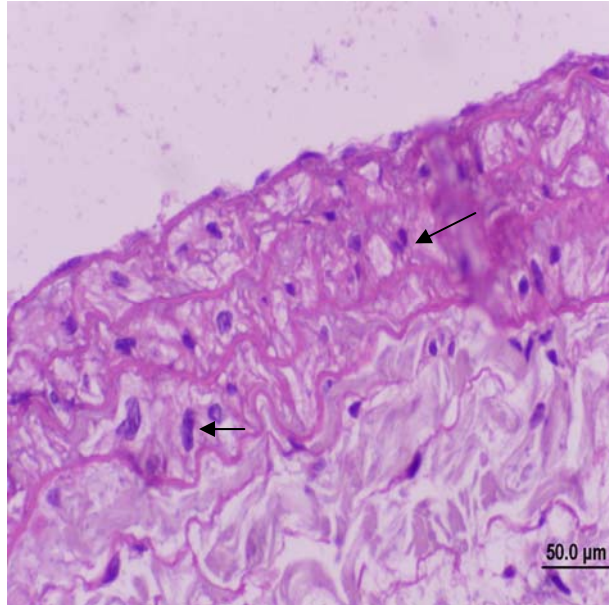


Şekil 21. MCT grubuna ait pulmoner arter örneği

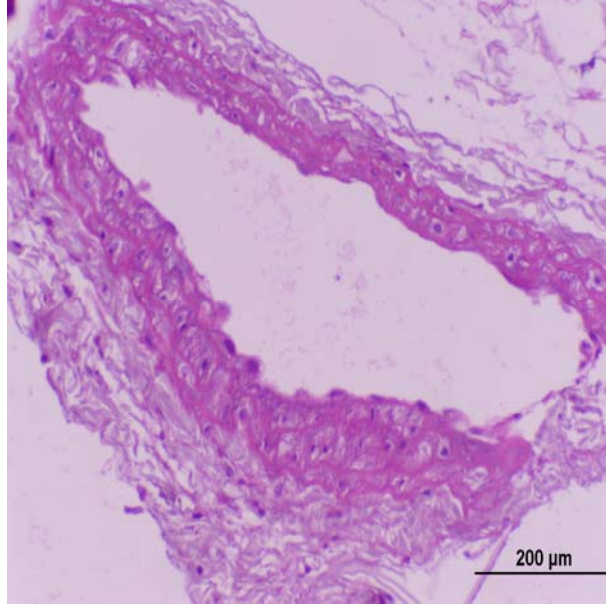
Endotel hücrelerinde yer yer dökülmeler ve tunika mediada yer alan kas hücrelerinde hipertrofi ve vakuolizasyon mevcuttur (Şekil 19, 20, 21).



Şekil 22. Sildenafil grubuna ait pulmoner arter örneği

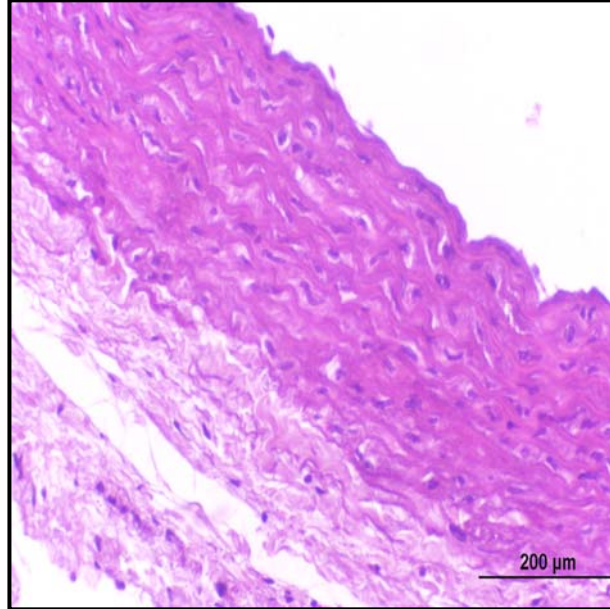


Şekil 23. Sildenafil grubuna ait pulmoner arter örneği

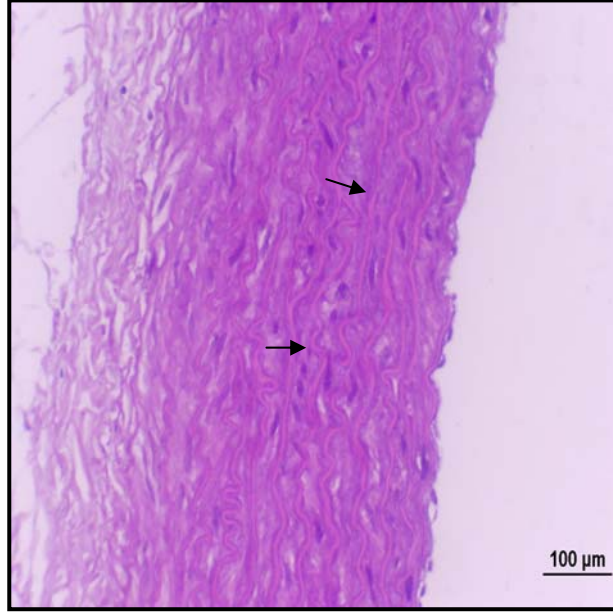


Şekil 24. Sildenafil grubuna ait pulmoner arter örneği

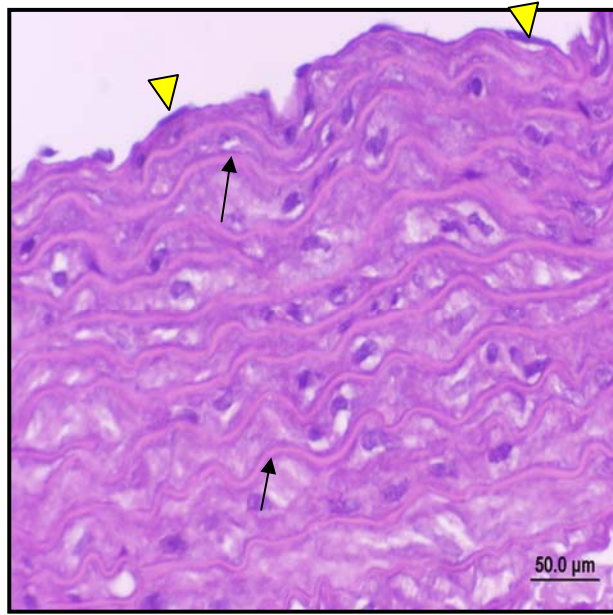
Endotel intakt görünümündür. Medial hipertrofide azalma söz konusu olup yer yer medial vakuolizasyon ve dezorganizasyon mevcuttur (Şekil 22, 23, 24).



Şekil 25. Sildenafil+Everolimus (1mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği

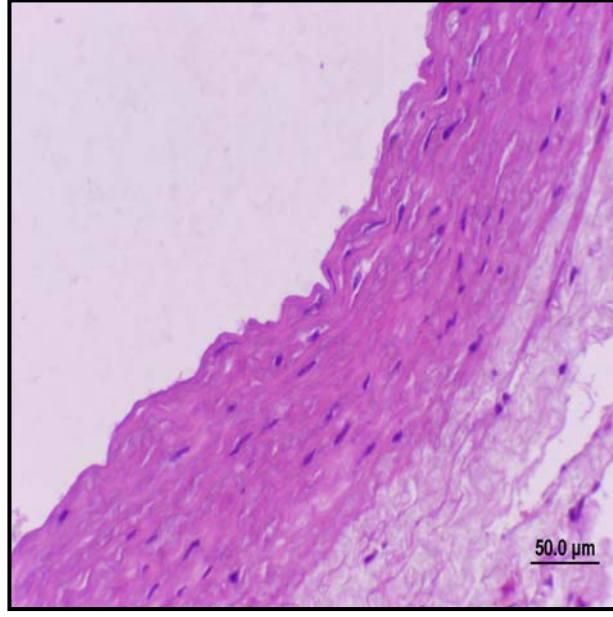


Şekil 26. Sildenafil+Everolimus (1mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği

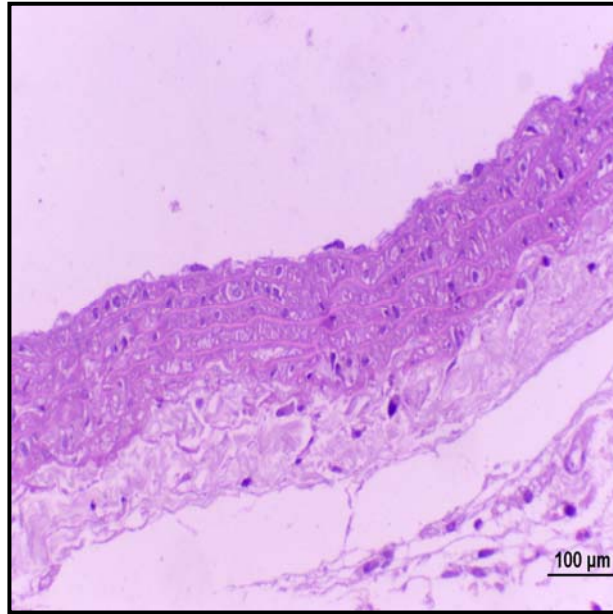


Şekil 27. Sildenafil+Everolimus (1mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği

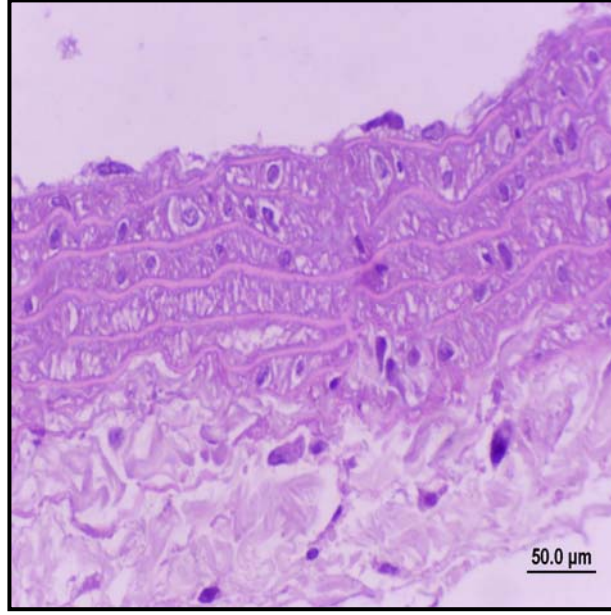
Pulmoner arter yapısı oldukça düzgün, endotel hücreleri intakt görünümündedir. Elastik lamina organizasyonları homojen, medial kas kitlesi non-hipertrofiyedir (Şekil 25, 26, 27).



Şekil 28. Sildenafil+Everolimus (3mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği



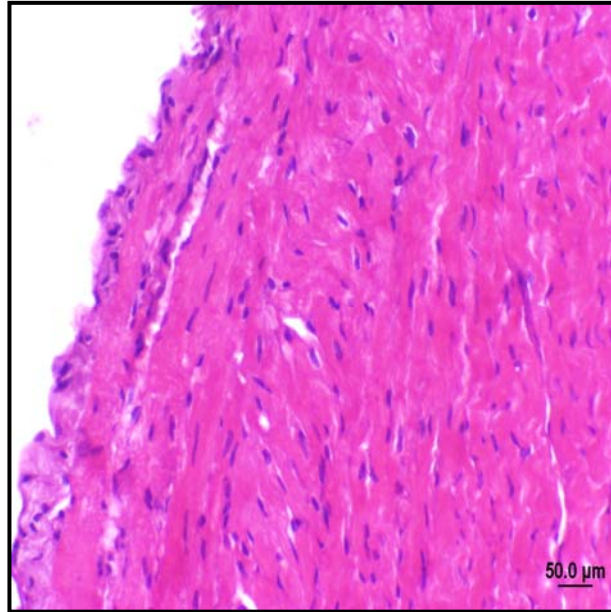
Şekil 29. Sildenafil+Everolimus (3mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği



Şekil 30. Sildenafil+Everolimus (3mg/kg) grubuna ait pulmoner arter örneği

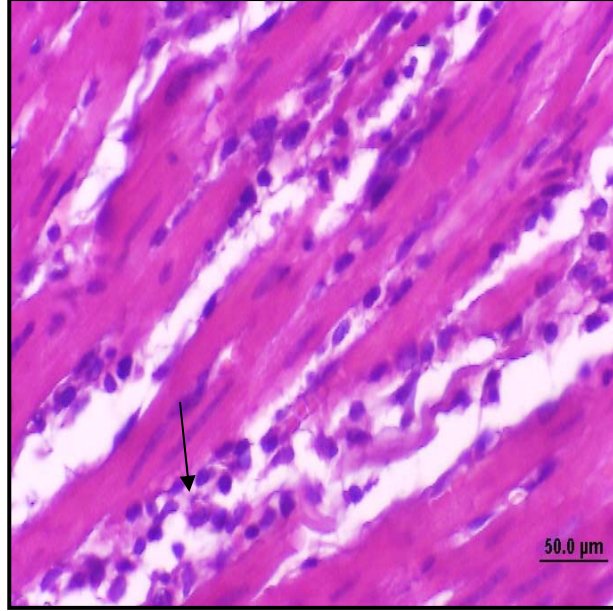
Pulmoner arter yapısı oldukça düzgün görünümüldür. Endotel hücrelerinde dökülme yoktur. Tunika media ve tunika adventisiya tabakaları normal yapıda gözlenmektedir (Şekil 28, 29, 30).

Sağ ventrikül histopatolojik ışık mikroskopisi sonuçları



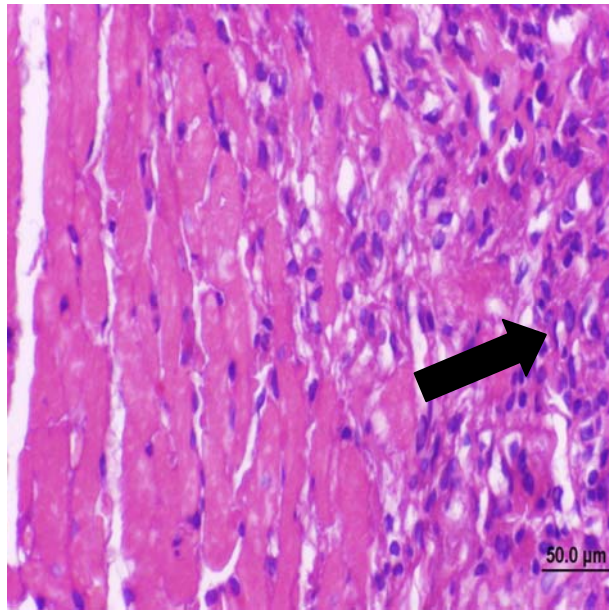
Şekil 31. Kontrol grubuna ait sağ ventrikül örneği

Sağ ventrikül miyositlerinin normal organizasyon ve konfigürasyonda olduğu görülmektedir (Şekil 31).



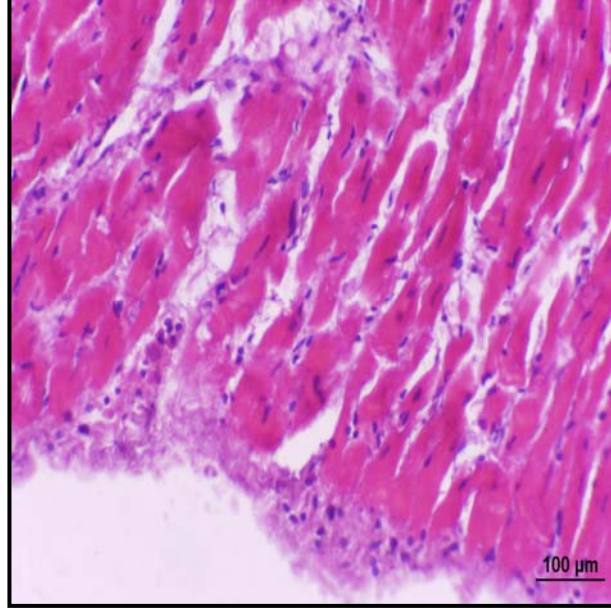
Şekil 32. MCT grubuna ait sağ ventrikül örneği

Kesitlerde yer yer nekrotik alanlar ve inflamasyon bölgeleri görülmektedir (Şekil 32).



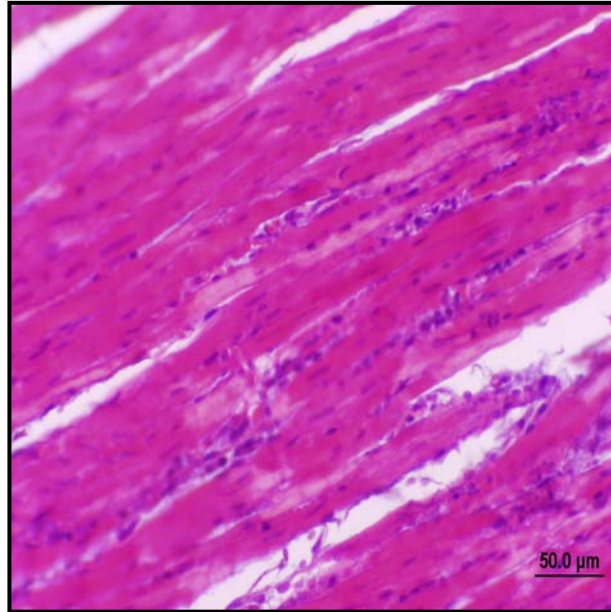
Şekil 33. Sildenafil grubuna ait sağ ventrikül örneği

Kardiyak hücresel inflamasyon devam etmekte, kas liflerinde yer yer dejenerasyon gözlenmektedir (Şekil 33).



Şekil 34. Sildenafil+Everolimus (1mg/kg) grubuna ait sağ ventrikül örneği

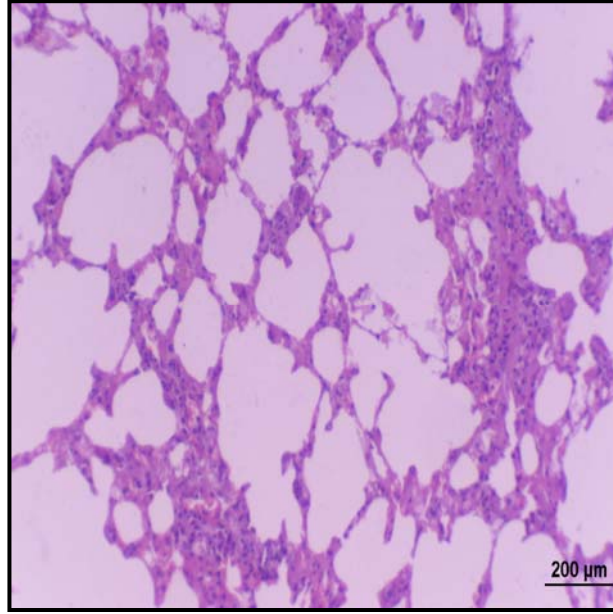
Minimal inflamasyon, normal miyositer görünüm izlenmektedir (Şekil 34).



Şekil 35. Sildenafil+Everolimus (3mg/kg) grubuna ait sağ ventrikül örneği

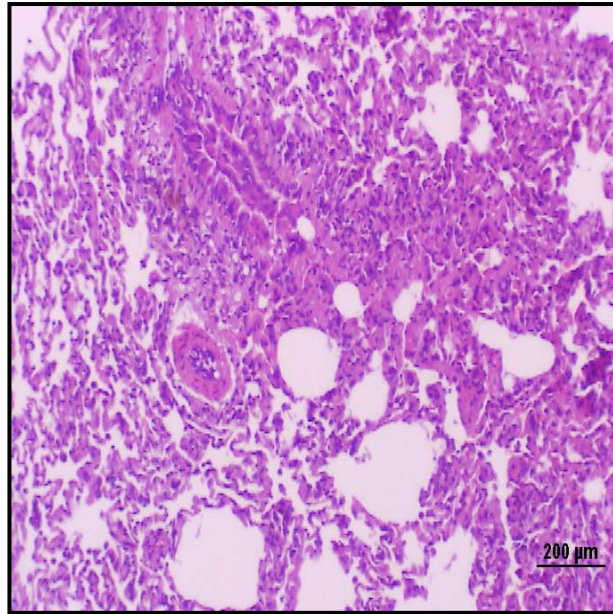
Sağ ventrikül minimal inflamasyon ve minimal sklerotik alanlar içermektedir. Hipertrofiye görünüm gözlenmemiştir (Şekil 35).

Akciğer histopatolojik ışık mikroskopisi sonuçları



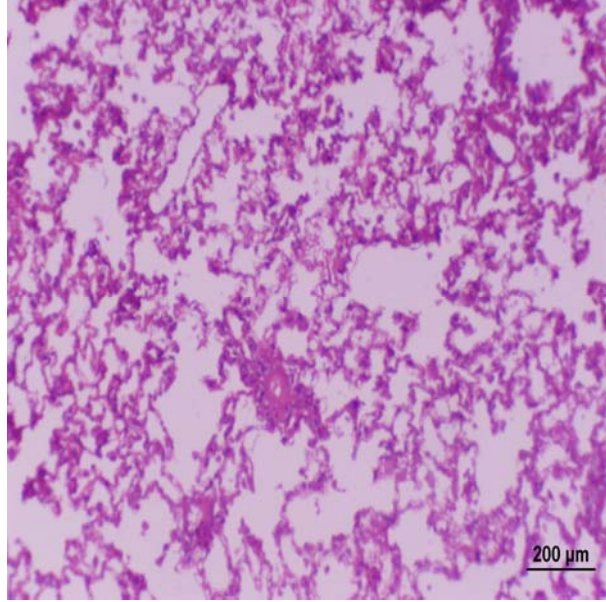
Şekil 36. Kontrol grubuna ait akciğer örneği

Akciğer dokusunda normal görümlü alveol yapıları gözlenmiştir (Şekil 36).



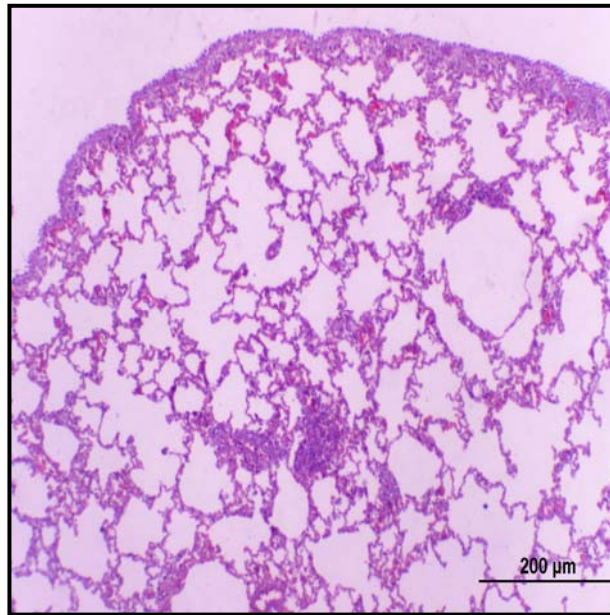
Şekil 37. MCT grubuna ait akciğer örneği

Akciğerler içinde arteriyollerde hipertrofi, intralobüler alanlarda yoğun hücresel inflamasyon gözlenmektedir. Ayrıca alveol duvarları oldukça kalınlaşmış durumdadır (Şekil 37).



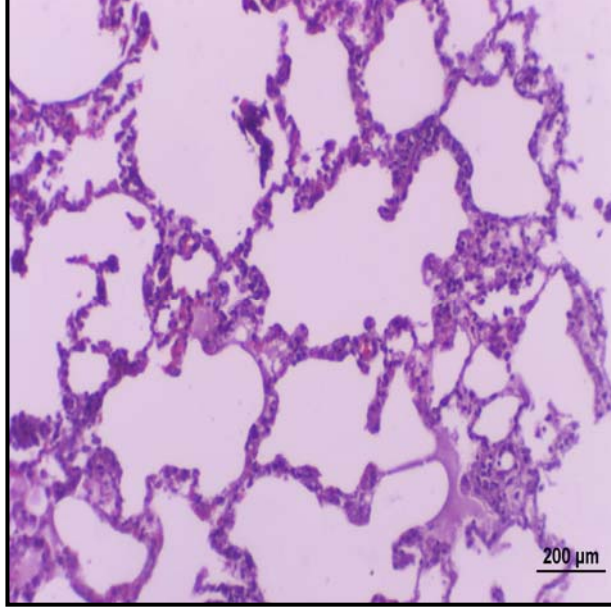
Şekil 38. Sildenafil grubuna ait akciğer örneği

Akciğerlerde oldukça düzgün alveol yapıları vardır. Minimal arteriyoler hipertrofi ve alveoler inflamasyon söz konusudur (Şekil 38).



Şekil 39. Sildenafil+Everolimus (1 mg/kg) grubuna ait akciğer örneği

Normal alveoler yapılar görülmektedir (Şekil 39).



Şekil 40. Sildenafil+Everolimus (3 mg/kg) grubuna ait akciğer örneği

Normal alveoler yapılar görülmektedir (Şekil 40).

TARTIŞMA

Pulmoner hipertansiyon, hastalığın teşhisinden sonra ortalama yaşam süresi 2.8 yıl olan pulmoner arter basıncında yükselmeler ile karakterize ilerleyici bir tablodur. Etiyolojisinden bağımsız olarak kronik pulmoner hipertansiyonda yapısal vasküler değişiklikler, sağ ventrikül hipertrofisi ve ilerleyen dönemlerde sıklıkla sağ ventrikül yetmezliği ve ölüm meydana gelmektedir (15, 35, 36, 60, 61). Vazokonstriksiyon ve inflamatuvar hücrelerin migrasyonu, düz kas hücrelerinin anormal proliferasyonu ve tromboz sonucu vasküler duvarda artan ekstraselüler matriks ile pulmoner arterlerin yapısal remodelingi pulmoner hipertansiyonun patogenezinin temelini oluşturmaktadır (62).

Prostasiklin, endotelin reseptör antagonistleri ve fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri pulmoner hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaç gruplarıdır. Ancak bu ilaçların güvenilirlikleri, etkinlikleri ve uygulama yöntemleri tedavideki kullanımlarını sınırlamaktadır. Pulmoner kan akımının azalmasını ve artan basınç yüküne sekonder ciddi kardiyak komplikasyonların gelişimini önlemeye yönelik agresif vazodilatör tedaviye ek olarak pulmoner damarların yapısal değişimlerini sınırlayabilecek ajanlara da ihtiyaç duyulmaktadır (62).

MCT, pulmoner arter basıncında artışa ve pulmoner vasküler remodeling oluşumu ile pulmoner hipertansiyon gelişimine neden olan ve deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir fitotoksindir (54, 63, 64, 65). MCT, pulmoner arterlerin neomuskularizasyonuna, düz kas hücrelerinin hiperplazisi ve hipertrofisine, inflamasyon ve endotelial hasar ile pulmoner damar sisteminin obliterasyonuna ve devamında sağ ventriküler hipertrofisine ve yetmezliğine neden olmaktadır (66, 67, 68, 69). Pulmoner arter basıncında artmaya zıt olarak, bu modelde sistemik arteriyal basınçta artma gözlenmemektedir (67). MCT ile indüklenen pulmoner vasküler endoteliumdaki hasar pulmoner hipertansiyonda kritik öneme sahiptir. Bu model ile 1. haftada endotelial hasar başlamakta, 2. haftada medial kas tabakasındaki değişimler ve pulmoner arter basıncında artış sonucu 3. haftada pulmoner hipertansiyon gelişmektedir (54, 69, 70). Klinik olarak pulmoner hipertansiyonu taklit etmesinden dolayı bu model, vazodilatörlerin etkileri ile antiinflamatuvar ve antiproliferatif ajanların kronik antiremodeling etkilerinin araştırılması için olanak sağlamaktadır (64).

MCT ile indüklenen hipertansif pulmoner arterlerde yapılan çalışmalar, endotelial hasara bağlı olarak serotonin reuptake' inin ve degradasyonunun azaldığını ve aktive olan trombositlerden serotonin salıverilmesine bağlı olarak bu modelde plazma serotonin seviyesinin arttığını göstermektedir. Güçlü vazokonstriktör ve mitojenik aktiviteye sahip olan serotonin bu model ile meydana gelen pulmoner hipertansiyonun patogenezinde rol oynamaktadır (66, 68). Buna ek olarak MCT ile indüklenen pulmoner hipertansif sıçanlarda plazma endotelin-1 seviyelerinin de arttığı bilinmekte ve tıpkı insanlardaki gibi endotelin-1' in bu modelde de pulmoner hipertansiyon patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (50, 52, 69). MCT uygulamasının plazma noradrenalin ve adrenalin seviyesini arttırdığı yapılan bir çalışma ile gösterilmiştir (50). Bu model ile indüklenen pulmoner hipertansiyon gelişiminde NO yetmezliğinin önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Büyüme faktörleri de pulmoner damarlar üzerinde sahip oldukları mitojenik etkileri ile MCT ile indüklenen pulmoner hipertansiyon patogenezinde katkı sağlamaktadır (69).

Çalışmamızda, tedavisiz MCT gruplarında kontrol gruplarına oranla anlamlı olarak artmış sağ ventrikül basınçları benzer çalışmalarda pulmoner hipertansiyon oluşturulan gruplardaki sağ ventrikül basınç artışı ile uyumluluk göstermektedir (23, 50, 63, 65, 66). Bilindiği gibi pulmoner endoteliumdan vasküler tonusun düzenlenmesinde rol oynayan vazokonstriktörler ve vazodilatörler ile mitojenik ve antimitojenik mediyatörler salıverilmektedir. Bu vasküler hücre mediyatörlerinin üretiminde meydana gelen devamlı değişimler homeostatik dengenin bozulmasına neden olarak vasküler tonusu etkilemekte ve vasküler remodeling gelişimini indüklemektedir (5, 22, 25, 31). Buna bilgilerden hareketle, MCT ile gelişen endotelial hasara bağlı olarak pulmoner damar sisteminde bozulan homeostaz sonucu sağ ventrikül basıncılarının arttığını söyleyebiliriz.

Sildenafil tedavi grubumuzda sağ ventrikül basınçlarının kontrol gruplarından farksız değerlerde olması bu ajanın pulmoner hipertansiyon tedavisindeki etkinliğini göstermektedir. Sildenafil ile yapılan başka çalışmalarda da MCT veya hipoksi ile indüklenen pulmoner hipertansif sıçanlarda artmış olan sağ ventrikül basınçları bu ajan ile anlamlı şekilde azalmaktadır. Sildenafil bu etkisini vasküler düz kas tonusunun düzenlenmesinde etkili olan s-GMP' yi inaktif formuna dönüştüren FDE-5 enzimini inhibe ederek intraselüler s-GMP konsantrasyonunun artması ile sağlamaktadır. Artan s-

GMP, s-GMP' ye bağımlı protein kinaz G yolağını aktive ederek pulmoner arterlerde vazodilatasyona neden olmakta ve pulmoner hipertansiyonda artmış olan pulmoner arter basıncını azaltmaktadır (15, 36, 50, 63, 71, 72, 73, 74).

Sildenafil tedavisine 1 ve 3 mg/kg dozlarda eklediğimiz everolimus gruplarında, tedavisiz MCT gruplarına oranla sağ ventrikül basınçları anlamlı şekilde azalmıştır. Ancak sadece sildenafil tedavisi alan gruptan farksız olarak ölçülen sağ ventrikül basınçları bu gruplarda meydana gelen azalmanın sildenafilden kaynaklandığını düşündürmektedir. Everolimus ile yapılan bir çalışmada da oturmuş pulmoner hipertansiyonda sağ ventrikül basınçlarının azalmadığı fakat bu ajanın koruyucu tedavide yer alması ile model oluşma sürecinde basınç artışına karşı koruyucu olduğu görülmektedir (20). Sonuç olarak everolimusun tek başına ortalama pulmoner arter basıncını düşürmede etkili olmadığını ancak pulmoner arter basıncını yükseltmeyerek de herhangi bir kardiyovasküler toksik etki oluşturmadığını söyleyebiliriz.

Pulmoner hipertansiyonda artmış olan pulmoner vasküler rezistansa karşı adaptif cevap olarak hastalığın ilerleyen dönemlerinde sağ ventriküler hipertrofi gelişmektedir. Çalışmamızda tedavisiz MCT gruplarında 21. ve 42. günün sonunda sağ ventrikül hipertrofisi belirteci olarak sağ ventrikül/kalp ağırlık oranları kontrole oranla anlamlı olarak artmış bulunmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda da MCT ile indüklenen sağ ventrikül hipertrofisi gösterilmiştir (23, 50, 53, 63, 65, 66).

Sildenafil tedavisi alan grubumuzda, tedavisiz MCT gruplarına oranla sağ ventrikül hipertrofisi gerilemekte ve kontrolden farksız değerlere ulaşmaktadır. Sildenafilin kronik hipoksi ve MCT ile indüklenen pulmoner hipertansiyon modellerinde sağ ventrikül hipertrofisini azalttığı yapılan değişik çalışmalarla gösterilmiştir (50, 63, 71, 74). Sildenafil s-GMP bağımlı protein kinaz G' nin etkinliğini artırarak vazodilatör aktivitesinin yanında antiremodeling aktivite de göstermektedir (15, 63, 64). Çalışmamızda sildenafil tedavisi alan grupta sağ ventrikül kesitlerinde ve pulmoner arterin histopatolojik görüntülerinde tedavisiz MCT gruplarına oranla belirgin olarak hipertrofinin gerilediği görülmüş ve yapısal iyileşmeler belirlenmiştir. Bu etkinin azalan pulmoner arter basıncına sekonder olarak gelişmesinin yanında, ilave antiremodeling aktivitesiyle de ilişkili olabileceğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızda sildenafil tedavisine eklenen 1 ve 3 mg/kg dozlardaki everolimusun sağ ventrikül hipertrofisini MCT gruplarına oranla anlamlı şekilde

azalttığı elde edilen sağ ventrikül/kalp ağırlık oranları ile gösterilmiştir. Ancak bu gruplarda sadece sildenafil tedavisi alan gruba oranla sağ ventrikül hipertrofisi istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmasa da yüksek doz everolimuslu grubumuzda kontrol gruplarına daha yakın değerler kaydedilmiştir. Everolimus ile yapılan bir çalışmada da MCT uygulanmış pulmoner hipertansiyonlu sıçanlarda sağ ventrikül hipertrofisinin tedavisiz gruba oranla anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür (20). Rapamisin de benzer şekilde MCT uygulanmış sıçanlarda sağ ventrikül hipertrofisi oluşumuna karşı koruyucu etki göstermiştir (40). Everolimusun hematopoietik hücreler yanında hematopoietik olmayan endotelial hücreler, düz kas hücreleri ve fibroblastlar üzerindeki büyüme faktörleri aracılığı ile indüklenen proliferasyonu inhibe ettiği bilinmektedir (16, 17, 46, 48). Histolojik kesitlerde, everolimuslu tedavi gruplarımızda pulmoner arter yapısında vasküler iyileşme açısından salt sildenafil grubumuza oranla daha belirgin iyileşme olduğu görülmektedir. Bu sonuç bize everolimusun yapısal remodeling parametrelerine ilave olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir. Everolimuslu tedavi gruplarında alveoler kesitlerdeki inflamasyonun gerileyerek antiremodeling etkiye katkı sağladığını söyleyebiliriz. Tedavisiz gruplarda gözlediğimiz hipertrofi süreci yanında inflamasyona ait bulguların varlığı ve tedavi ile bu inflamasyonun gerilemesi sebep veya sonuç kaskadında değerlendirilmesi gereken önemli bir nokta gibi görünmektedir. Bu noktada everolimuslu tedavi gruplarımızda salt sildenafil içeren gruba oranla basınç artışı ve hipertrofi regresyonu gibi parametrelerde anlamlı farklılıklar oluşmasa da histopatolojik inflamasyon görünümünde daha belirgin düzelmeler gözlenmiştir.

Çalışmamızın miyograf aşamasında pulmoner arterlerde kastırıcı ve gevşetici ajanlara karşı alınan cevaplar, MCT ile indüklenen pulmoner hipertansiyonun pulmoner damar sistemindeki fonksiyonel etkilerini yansıtmaktadır.

Çalışmamızda KCl kasılma yanıtları tedavisiz MCT gruplarında kontrole oranla azalmıştır. KCl, membran depolarizasyonu ve voltaja duyarlı Ca^{++} kanallarının açılması ile vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Ekstraselüler ortamdan hücre içine Ca^{++} akışı, intraselüler depolardan Ca^{++} iyonlarının saliverilmesine yol açmaktadır (75). Yapılan bir çalışmada MCT uygulanmış sıçanlarda KCl yanıtlarının kontrol gruplarına oranla azaldığı gösterilmiştir. Bu azalmanın MCT gruplarında kontrole oranla daha yüksek olan muskuler tonüsten kaynaklandığı ileri sürülmüştür (52). Fakat kronik hipoksik

sıçanların pulmoner arterlerinde KCl kasılma yanıtlarının kontrole oranla değişmediğini gösteren başka çalışmalar da mevcuttur (68, 76). Bu noktada MCT modeli ile oluşan vasküler hipertrofi ve inflamasyon süreçlerinin fonksiyonel yanıtlar üzerine ilave etkilerinin olabileceğini söyleyebiliriz. Bu farklılıklar pulmoner hipertansiyon modellerinde MCT uygulanmasının diğer modellere göre patogenezi yansıtması açısından daha uygun olma savını desteklemektedir.

İzole pulmoner arterlerde 5-HT kasılma yanıtları tedavisiz MCT gruplarımızda kontrole oranla anlamlı olarak artmıştır. Normal fizyolojik koşullarda 5-HT ile indüklenen vazokonstriksiyona G_q ’ ye bağlı 5-HT_{1B} reseptörleri aracılık etmektedir. Kronik hipoksida bu reseptörlere ek olarak G_q kenetli 5-HT_{2A} reseptörlerinin de vazokonstriksiyonu potansiyelize ettiği belirtilmektedir. Pulmoner arter örneklerinde 5-HT_{1B} reseptörlerinin mRNA’ sının arttığı tespit edilmiştir (56, 77). Yapılan çalışmalarda artmış bu serotonerjik vasküler yanıtlar, pulmoner arterlerde azalan s-GMP seviyeleri, artan intraselüler Ca^{++} , depolarizasyon, K^+ kanallarının inaktivasyonu ve artan G_q -reseptör aracılıklı stimülasyon ile ilişkilendirilmiştir (68, 77).

ET-1 kasılma cevapları MCT tedavisiz gruplarımızda kontrole oranla anlamlı olarak azalmıştır. ET-1’ in vazokonstriktör etkisine G_q kenetli ET_A reseptörleri aracılık etmektedir. ET-1 vasküler endotelyumdaki ET_B reseptörleri aracılığıyla NO ve prostasiklin salımı ile vazodilatasyona neden olurken vasküler düz kas hücreleri üzerinde ise vazokonstriksiyona neden olmaktadır (78). Kronik hipoksik sıçanlar ile yapılan bir çalışmada pulmoner arterlerde ET-1’ e kasılma yanıtlarının kontrole oranla arttığı görülmüştür. Bu artış ET_A reseptör aracılıklı vazokonstriksiyonun ET_B reseptörleri ile potansiyelize edilmesine dayandırılmıştır (76).

NA kasılma yanıtları da MCT tedavisiz gruplarımızda kontrole oranla azalmıştır. NA’ nin vazokonstriktör etkinliğine α_1 reseptörlerinin 3 alt tipi aracılık etmektedir. Pulmoner arterlerde ise bu etki özellikle α_{1B} reseptörleri aracılığı ile meydana gelmektedir. Yapılan bir çalışmada MCT uygulanmış sıçanların pulmoner arterlerinde kasılma cevaplarının azaldığı bulunmuştur. Bu kasılma yanıtlarındaki azalma pulmoner arterlerde meydana gelen hipertrofi, intravasküler basınç değişimleri ile MCT’ li modelde artan NA plazma seviyesine karşı pulmoner arterlerdeki α_{1B} reseptörlerinin down regülasyonu ve α_{1B} reseptör desensitizasyonu ile açıklanmıştır (67).

Çalışmamızda pulmoner arterlerde vazokonstriksiyona aracılık eden 4 farklı agoniste karşı alınan kasılma yanıtları değerlendirildiğinde KCl, ET-1 ve NA yanıtlarının MCT gruplarımızda kontrole oranla azaldığı görülmüştür. Bu durum MCT'li pulmoner arterlerin sağlıklı pulmoner arterlere oranla sahip olduğu vasküler tonusun bir sonucu olabileceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmalar, MCT ile indüklenen pulmoner hipertansif sıçanlardan elde edilen pulmoner arterlerin dinlenme durumunda kontrol grubuna oranla daha yüksek muskuler tonüsa sahip olduğunu göstermektedir (52, 70, 79). Membran gerilimi veya artan transmural basınç vasküler düz kas hücrelerinde muskuler tonüsta değişmelere neden olmaktadır (52). Bunun yanında endotel hasarına sekonder olarak bazal tonüsta artma meydana gelmektedir (70). MCT modelinde oluşan pulmoner hipertansiyon sonrası değişen endotelial ve düz kas membran potansiyelleri, pulmoner arterlerde oluşan vazokonstriksiyonun ve devam eden süreçte yapısal değişikliklerin ne yönde olacağı konusunda önemli bir belirleyici olmaktadır (79). Bu açıdan bakıldığında hipertrofiye pulmoner arterlerin vazokonstriktör ve vazodilatör ajanlara karşı alınan yanıtlarında duyarlılık azalmasının veya artmasının bu değişen membran potansiyelleri ile bağlantılı olduğunu söyleyebiliriz.

Kasılma yanıtlarında meydana gelen azalmanın pulmoner arter hipertrofisi ve artan pulmoner arter basıncının indirekt bir sonucu olduğu da düşünülebilir.

Kontraksiyondaki azalma reseptör defektleri, eksitasyon-kontraksiyon kenetlenmesindeki anormallikler veya damar düz kas hücrelerindeki kontraktıl proteinlerdeki değişimler ile de açıklanabilir.

MCT ile indüklenen pulmoner hipertansiyon modelinde ET-1 ve NA' nin artan plazma seviyelerine bağlı olarak bu mediyatörlerin etkilerine aracılık eden reseptörlerin down regülasyona uğraması pulmoner arter örneklerinde bu agonistlere karşı alınan cevaplardaki azalmanın diğer bir nedeni olarak düşünülebilir.

Tedavi gruplarımızda ise bu ajanlara karşı alınan kasılma yanıtlarının arttığı görülmüştür. Yapısal değişikliklerin bir yansıması olan fonksiyonel yanıtların tedavili gruplarda normalize olarak kontrol gruplarından farksız değerlere ulaşması, tedavinin pulmoner damar sisteminde remodeling sürecindeki başarısının bir işareti olarak sayılabilir.

5-HT kasılma yanıtları MCT' li gruplarımızda artmış ve tedavi gruplarımızda da bu artışın devam ettiği görülmüştür. Vazokonstriktörlere karşı azalmış olan yanıtları açıklamaya çalıştığımız nedenlerin hepsi 5-HT için de geçerlidir. Sonuçlarımıza benzer şekilde bazı çalışmalarda da pulmoner arterlerde 5-HT_{1B} ve 5-HT_{2A} reseptörleri arasındaki sinerjizmadan kaynaklanan artmış 5-HT kasılma yanıtlarından bahsedilmektedir. İlave olarak pulmoner arterlerde 5-HT_{1B} reseptör sentezinin artmış olması da mümkündür. Tedavi gruplarımızda ise bu sinerjizma ve artan reseptör sayısının devam ettiğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızda kasılma yanıtlarına karşı alınan endotel bağımlı Ach gevşeme yanıtlarının MCT gruplarında kontrole oranla anlamlı olarak azalması bu modelle gelişen pulmoner hipertansiyon patogenezinde önemli olan endotel hasarının bir göstergesidir. Ach vasküler endotel hücreleri üzerindeki M₃ reseptörlerine bağlanarak intraselüler Ca⁺⁺ seviyesinin artmasına neden olmaktadır. Ca⁺⁺-kalmoduline bağlı bir enzim olan eNOS bu kompleks ile aktive olmaktadır. eNOS intraselüler L-arjininden sitrullin sentezi esnasında NO oluşumunu indüklemektedir. NO vasküler düz kaslarda çözünür guanilat siklazı aktive ederek s-GMP oluşumuna neden olmaktadır. S-GMP de kendine özgü protein kinaz G' yi aktive ederek vazodilatasyona yol açmaktadır (80). Endotel hücrelerinden salıverilen NO miktarı düz kas hücrelerine difüze olan NO miktarının ana belirleyicisidir. Endotelial tabakadaki soyulma endotelial hücrelere Ca⁺⁺ girişinin azalmasına ve dolayısıyla NO üretiminde azalmaya neden olmaktadır (79). MCT' nin primer toksik etkisi pulmoner arterlerdeki endotelium üzerinedir ve endotelial hasar MCT uygulamasından 1-2 hafta sonra meydana gelmektedir. MCT modellenmiş pulmoner hipertansiyon çalışmalarında da endotele bağımlı gevşeme yanıtlarının kontrole oranla anlamlı ölçüde azaldığı gözlenmiştir (50, 53, 67, 68, 79). Ach gevşeme yanıtlarında meydana gelen bu azalma NO üretimindeki azalma ile ilişkilendirilmiştir (52, 53, 67). Endotel bağımlı azalan Ach gevşeme yanıtları vasküler tonüsün artması ile de açıklanmaktadır (67, 79).

Tedavi gruplarımızda özellikle de yüksek doz everolimus grubumuzda belirgin olmak üzere, tedavisiz MCT gruplarına oranla Ach' a karşı alınan gevşeme yanıtları düzelmiş ve artan konsantrasyonlarda kontrolden farksız hale gelmiştir. Antiinflamatuvar ve antiproliferatif etkili everolimusun klasik tedaviye eklenmesi ile endoteliumun

yapısal açıdan korunması yanında fonksiyonel gevşeme yanıtları açısından da ilave düzelmeler oluşturduğunu söyleyebiliriz.

SNP, NO donörü olan ve çözünür guanilat siklaz aracılığı ile endotelden bağımsız vazodilatasyona aracılık eden bir ajandır (70, 81). Çalışmamızda kullandığımız agonistlere karşı alınan 10^{-9} - 10^{-5} M arası konsantrasyonlarda, SNP gevşeme yanıtları tedavisiz MCT gruplarımızda kontrole göre anlamlı oranda azalmıştır. Yapılan başka çalışmalarda MCT veya kronik hipoksi ile indüklenen pulmoner hipertansif sıçanların pulmoner arterlerinde SNP gevşeme yanıtlarının azaldığı bulunmuştur. Bu durum, düz kas hücrelerinde s-GMP seviyesinin azalması veya çözünür guanilat siklaz desensitizasyonu ile açıklanmıştır (68, 70, 81). MCT' li modelde endotelden bağımsız yanıtların izole perfüze akciğer preparatlarında değerlendirildiği başka bir çalışmada, SNP' ye alınan gevşeme cevaplarının azaldığı gözlenmiştir. Bu çalışmada bazal tonüsta artma ve vasküler remodelingten dolayı NO' e pulmoner damar sisteminin yanıtının azaldığı düşünülmüştür (82). Başka çalışmalarda ise MCT ile indüklenmiş pulmoner hipertansif arterlerde endotele bağlı gevşeme yanıtları azalırken, NO donörü olan SNP gevşeme yanıtlarında bir değişiklik gözlenmemiştir (50, 53). Endotel dışı gevşeme yanıtlarının azalması, vasküler yapının endotel dışı organelleri ile de temsil edildiğinin ve bu modelin daha güvenilir olabileceğinin bir göstergesi olarak da değerlendirilebilir.

Tedavi gruplarımızda, özellikle de yüksek doz everolimus grubumuzda belirgin olmak üzere diğer tedavi gruplarımızda da SNP ile kontrole yakın gevşeme yanıtlarının olduğu görülmüştür. Bu da bize vasküler yapının antiproliferatif ve antiinflamatuvar özellikte ilaçlar ile desteklenmesinin bu patolojide endotel dışı gevşeme yanıtları açısından gözle görülür düzelmeler oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Deneysel olarak indüklenen pulmoner hipertansiyonlu sıçanlardan elde edilen pulmoner arterler, sağlıklı pulmoner arterlerden yapısal ve fonksiyonel olarak farklılık göstermektedir. Eşlik eden yapısal değişimler bu damarların fonksiyonel özelliklerini ve vazoaaktif ajanlara yanıtlarını etkilemektedir (70).

Sildenafil, endotelial NOS/NO/s-GMP yolağıyla sıçanlarda MCT ile indüklenen pulmoner hipertansiyon ve pulmoner remodelingi inhibe etmektedir (15, 63, 64). Çalışmamızda sildenafilin gerek vazodilatör aktivitesi gerekse yapısal parametreler üzerindeki düzeltici etkisi gözlenmiş ve yapılan diğer çalışmalarla benzer sonuçlar elde

edilmiştir. Standart tedavide kullanılan bu ajana immunsüpresif etkili everolimusu ekleyerek bu kombinasyon tedavisinin vasküler hipertrofi ve eşlik eden inflamatuvar değişiklikler üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir. Son zamanlarda everolimus ve benzeri immunsüpresifler farklı vasküler stenoz protokollerinde denenmektedir. Ancak bu gruptaki ajanların sistemik toksisiteleri ve vasküler yan etkilerinden dolayı ciddi uygulama zorlukları söz konusu olmaktadır. Yakın dönemde bu gruptan everolimusun düşük doz kullanımının bu tür sistemik yan etkilerden uzak olduğunun gözlenmesi pulmoner hipertansiyon gibi kompleks doku yapı değişimlerinin de eşlik ettiği patolojilerdeki büyüme paternlerini sınırlandırma açısından önemli avantajlar sağlayacağını düşündürmektedir.

Çalışmamızda oral olarak kullanılabilen everolimusun yine oral olarak kullanılabilen sildenafil ile birlikte uygulanabilirliğini değerlendirdiğimizde, kombinasyon tedavisinin vazodilatör aktivitenin mutlak olarak mevcut olması gereken pulmoner hipertansiyonda bu aktiviteyi engellemeden doku hipertrofik süreçlerine önemli katkıların olabileceğini söyleyebiliriz. Everolimusun pulmoner hipertansiyon tedavisinde hastalığın progresyonunda vasküler yapıdaki değişiklikleri düzelterek tedavide kullanılan vazodilatör ajanlara antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkileri ile önemli yapısal katkılar sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, pulmoner hipertansiyon tedavisinde sildenafil ile kombine edilen everolimusun, hemodinamik ve yapısal tedavi ölçütleri açısından ilave olumlu katkılarının olduğunu görmekteyiz. Tedaviye eklediğimiz 2 farklı everolimus dozunda kaşeksi, enfeksiyon ve lökosit sayısında düşme gibi potansiyel yan etkilerin görülmemesi ve bu dozlarda belirgin yapısal ve fonksiyonel katkıların söz konusu olması bu ajanın daha uzun süreli protokollerde kullanılması açısından umut verici olmaktadır.

Bu konu ile ilgili yapılacak olan ileriki çalışmalarda, everolimusun tolere edilebilir farklı dozlarının in vivo uygulanmasının yanında vasküler yapıya in vitro etkilerinin de değerlendirilmesi uygun olacaktır.

Deneysel model açısından yaptığımız ölçümlerin non-invaziv, doppler-basınç kayıtlarının alınmasına olanak sağlayacak cihazlarla kayıt alınması ve daha uzun süreli ilaç uygulaması ile bundan sonraki süreçte everolimus ve benzeri antihipertrofik ajanların hemodinamik etkileri daha net olarak değerlendirilebilecektir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Jeffery, T.K. and Wanstall, J.C., 2001, Pulmonary vascular remodeling: a target for therapeutic intervention in pulmonary hypertension, *Pharmacology and Therapeutics*, 92, 1-20 p.
2. Dorfmueller, P., Perros, F., Balabanian, K. and Humbert, M., 2003, Inflammation in pulmonary arterial hypertension, *European Respiratory Journal*, 22, 358-363 p.
3. Chan, S.Y. and Loscalzo, J., 2008, Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 44, 14-30 p.
4. Lee, S.H. and Rubin, L.J., 2005, Current treatment strategies for pulmonary arterial hypertension, *Journal of Internal Medicine*, 258, 199-215 p.
5. Toher, C.A., 2005, Update on pulmonary hypertension diagnosis, pathophysiology and treatment, *The Bulletin*, 47, 45-54 p.
6. Ghamra, Z.W. and Dweik, R.A., 2003, Primary pulmonary hypertension: An overview of epidemiology and pathogenesis, *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 70, 1, 1-8 p.
7. Puri, A., McGoon, M.D. and Kushwaha, S.S., 2007, Pulmonary arterial hypertension: Current therapeutic strategies, *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, 4, 6, 319-329 p.
8. Martin, K.B., Klinger, J.R. and Rounds, S.I.S., 2006, Pulmonary arterial hypertension: New insights and new hope, *Respirology*, 11, 6-17 p.
9. Said, S.M., 2006, Mediators and modulators of pulmonary arterial hypertension, *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 291, 547-558 p.
10. Fukumoto, Y., Tawara, S. and Shimokawa, H., 2007, Recent progress in the treatment of pulmonary arterial hypertension: Expectation for Rho-Kinase inhibitors, *Tohoku J. Exp. Med.*, 211, 309-320 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

11. Ulrich, S., Fischler, M. and Speich, R., 2007, Update on therapies for pulmonary hypertension, *Swiss. Med. Wkly.*, 137, 73-82 p.
12. Voelkel, N.F. and Tuder, R.M., 1997, Cellular and molecular biology of vascular smooth muscle cells in pulmonary hypertension, *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, 10, 231-241 p.
13. Galiè N., Manes A. and Branzi A., 2002, Emerging medical therapies for pulmonary arterial hypertension, *Prog Cardiovasc Dis.*, 45(3), 213-24 p.
14. Rubin, L.J. and Badesche, D.B., 2005, Evaluation and management of the patient with pulmonary arterial hypertension, *Ann. Intern. Med.*, 143, 282-292 p.
15. Liu, H., Liu, Z.Y. and Guan Q., 2007, Oral sildenafil prevents and reverses the development of pulmonary hypertension in monocrotaline-treated rats, *Interact Cardio vasc Thorac Surg*, 6, 608-613 p.
16. Waksman, R., Pakala, R., Baffour, R., Hellingia, D., Seabron, R., Kolodgie, F. and Virmani, R., 2006, Optimal dosing and duration of oral everolimus to inhibit in-stent neointimal growth in rabbit iliac arteries, *Cardiovascular Revascularization Medicine*, 7, 179-184 p.
17. Formica, R.N., Lorber, K.M., Friedman, A.L., Bia, F.J., Lakkis, F., Smith, J.D. and Lorber, M.I., 2004, The evolving experience using everolimus in clinical transplantation, *Transplantation Proceedings*, 36, 495-499 p.
18. Simler, N.R., Howell, D.C.J., Marshall, R.P., Goldsack, N.R., Hasleton, P.S., Laurent, R.C. and Egan, J.J., 2002, The rapamycin analogue SDZ RAD attenuates bleomycin induced pulmonary fibrosis in rats, *Eur. Respir. J.*, 19, 1124-1127 p.
19. Nashan, B., 2001, The role of certican (everolimus, RAD) in the many pathways of chronic rejection, *Transplantation Proceedings*, 33, 3215-3220 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

20. Nishimura, T., Faul, J.L., Berry, G.J., and I, Pearl, R.G. and Kao, P.N., 2001, 40-O-(2-hydroxyethyl)-rapamycin attenuates pulmonary arterial hypertension and neointimal formation in rats, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 163, 498-502 p.
21. Takaoka, S., Faul, J.L. and Doyle R., Current therapies for pulmonary arterial hypertension, *Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 11, 2, 137-148 p.
22. Levine, D.J, 2006, Diagnosis and management of pulmonary arterial hypertension: Implications for respiratory care, *Respiratory Care*, 51, 4, 368-381 p.
23. Latcham, S.L., 2005, Effects of treprostinil sodium in a monocrotaline induced rat model of pulmonary hypertension, Master of Science, Missouri-Columbia of University
24. Klinger, J.R., 2007, Pulmonary arterial hypertension: An overview, *Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 11, 2, 96-103 p.
25. Raiesdana A. and Loscalzo J., 2006, Pulmonary arterial hypertension, *Annals of Medicine*, 38, 95-110 p.
26. Wolferen, S.A., Grünberg, K. and Noordegraaf, A.V., 2007, Diagnosis and management of pulmonary hypertension over the past 100 years, *Respiratory Medicine*, 101, 389-398 p.
27. Rabinovitch, M., 2008, Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension, *The Journal of Clinical Investigation*, 118, 2372-2379 p.
28. Jain, S., Venture, H. and deBoisblanc, B., 2007, Pathophysiology of pulmonary arterial hypertension, *Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 11, 2, 104-109 p.
29. Tuder R.M. and Voelkel N.F., 1998, Pulmonary hypertension and inflammation, *J. Lab. Clin. Med.*, 132, 16-34 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

30. Yıldız, P., 2009, molecular mechanisms of pulmonary hypertension, Clinica Chimica Acta, 1-8 p.

31. Budhiraja, R., Tuder, R.M. and Hassoun, P.M., 2004, Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension, Circulation, 109, 159-165 p.

32. Cool, C.D., Groshong, S.D., Oakey, J. and Voelkel, N.F., 2005, Pulmonary hypertension: Cellular and molecular mechanisms, Chest, 128- 565-571 p.

33. Tuder, R.M., Lee, S.D. and Cool, C.C., 1998, Histopathology of pulmonary hypertension, Chest., 114, 1-6 p.

34. Tuder, R.M., Marecki, J.C., Richter, A., Fijalkowska, I. and Flores, S., 2007, Pathology of pulmonary hypertension, Clin. Chest. Med., 28, 1, 1-30 p.

35. Warwick, G., Thomas, P.S. and Yates, D.H., 2008, Biomarkers in pulmonary hypertension, European Respiratory Journal, 32, 503-512 p.

36. Kang, K.K., Ahn, G.J., Ahn, B. and Kim, W.B., 2003, DA-8159, a new PDE5 inhibitor, attenuates the development of compensatory right ventricular hypertrophy in a rat model of pulmonary hypertension, The Journal of International Medical Research, 31, 517-528 p.

37. <http://www.pha-turkey.com>, (2009-28-1)

38. Savale, L., Tu, L., Rideau, D., Izziki, M., Maitre, B., Adnot, S. and Eddahibi, S., 2009, Impact of interleukin-6 on hypoxia-induced pulmonary hypertension and lung inflammation in mice, Respiratory Research, 10 (6), 1-13 p.

39. Archer, S. and Rich, S., 2000, Primary pulmonary hypertension, Circulation, 102, 2781-2791 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

40. Zhou, H., Liu, H., Porvasnik, S.L., Terada, N., Agarwal, A., Cheng, Y. and Visner, G.A., 2006, Heme oxygenase-1 mediates the protective effects of rapamycin in monocrotaline induced pulmonary hypertension, *Laboratory Investigation*, 86, 62-71 p.
41. Sparacino, V. and Calabrese, 2006, Conversion to a proliferation signal inhibitor in a patient with coronary artery disease-a case report, *Nephrol. Dial. Transplant*, 21, 34-47 p.
42. Pascual, J., Fernandez, A.M., Marcen R. and Ortuno, J., 2006, Conversion to everolimus in a patient with arterial hypertension and recurrent cutaneous neoplasia-a case report, *Nephrol. Dial. Transplant*, 21, 38-41 p.
43. Tsang, C.K., Qi, H., Liu, L.F. and Zheng, X.F.S., 2007, Targeting mammalian target of rapamycin (mTOR) for health and diseases, *Drug Discovery Today*, 12, 112-122 p.
44. Butzal, M., Loges, S., Schweizer, M., Fischer, U., Gehling, U.M., Hossfeld, D.K. and Fiedler, W., 2004, Rapamycin inhibits proliferation and differentiation of human endothelial progenitor cells in vitro, *Experimental Cell Research*, 300, 65-71 p.
45. Paddenberg, R., Stieger, P., Lilien, A.L., Faulhammer, P., Goldenberg, A., Tillmanns, H.H., Kummer, W. and Braun-Dullaeus, R.C., 2007, Rapamycin attenuates hypoxia induced pulmonary vascular remodeling and right ventricular hypertrophy in mice, *Respiratory Research*, 8, 1-12 p.
46. Farb, A., John, M., Acampado, E., Kolodgie, F.D., Prescott, M.F. and Virmani, R., 2002, Oral everolimus inhibits in-stent neointimal growth, *Circulation*, 106, 2379-2384 p.
47. Augustine, J.J. and Hricik, D.E., 2004, Experience with everolimus, *Transplantation Proceedings*, 36, 500-503 p.
48. Budde, K., Neumayer, H.H., Lehne, G., Winkler, M., Hauser, I.A., Lison, A., Fritsche, L., Souillou, J.P., Fauchald, P. and Dantal, J., 2004, Tolerability and steady-state pharmacokinetics of everolimus in maintenance renal transplant patients, *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19, 2606-2614 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

49. Lame, M.W., Jones, A.D., Wilson, D.W., Dunston, S.K. and Segal, H.J., 2000, Protein targets of monocrotaline pyrrole in pulmonary artery endothelial cells, *The Journal of Biological Chemistry*, 276, 29091-29099 p.
50. Clozel, M., Hess, P., Rey, M., Iglarz, M., Binkert, C. and Qiu, C., 2006, Bosentan, sildenafil and their combination in the monocrotaline model of pulmonary hypertension in rats, *Exp Biol Med*, 231, 967-973 p.
51. Campian, M.E., Hardziyenka, M., Michel, M.C. and Tan, H.L., 2006, How valid are animal models to evaluate treatments for pulmonary hypertension?, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, 373, 391-400 p.
52. Nakazawa, H., Hori, M., Murata, T., Ozaki H. and Karaki, H., 2001, Contribution of chloride channel activation to the elevated muscular tone of the pulmonary artery in monocrotaline induced pulmonary hypertensive rats, *Jpn. J. Pharmacol.*, 86, 310-315 p.
53. Nakazawa, H., Hori, M., Murata, T., Ozaki H. and Karaki, H., 1999, Mechanisms underlying the impairment of endothelium-dependent relaxation in the pulmonary artery of monocrotaline induced pulmonary hypertensive rats, *British Journal of Pharmacology*, 128, 1098-1104 p.
54. Chen, M.J. and Lai, Y.L., 2003, Tachykinin dysfunction attenuates monocrotaline induced pulmonary hypertension, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 187, 178-185 p.
55. Nagaoka, T., Fagan, K.A., Gebb, S.A., Morris, K.G., Suzuki, T., Shimokawa, H., McMurty, I.F. and Oka M., 2005, Inhaled Rho kinase inhibitors are potent and selective vasodilators in rat pulmonary hypertension, *Am J Respir Crit Care Med.*, 171, 494-499 p.
56. Maclean, M.R., Sweeney, G., Baird, M., McCulloch, K.M., Houslay, M. and Morecroft, I., 1996, 5-Hydroxytryptamine receptors mediating vasoconstriction in pulmonary arteries from control and pulmonary hypertensive rats, *British Journal of Pharmacology*, 119, 917-930 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

57. Belik, J., Pan, J., Jankov, R.P. and Tanswell, A.K., 2004, Bronchial epithelium-associated pulmonary arterial muscle relaxation in the rat is absent in the fetus and suppressed by postnatal hypoxia, *Am. J. Lung Cell MolPhysiol*, 288, 384-389 p.
58. Belik, J., Pan, J., Jankov, R.P. and Tanswell, A.K., 2004, A bronchial epithelium-derived factor reduces pulmonary vascular tone in the newborn rat, *J. Appl. Physiol.*, 96, 1399-1405 p.
59. Chan, Y.C., Leung, F.P., Yao, X., Lau, C.W., Vanhoutte, P.M. and Huang, Y., 2005, Raloxifene relaxes rat pulmonary arteries and veins: Roles of gender, endothelium, and antagonism of Ca²⁺ influx, 312, 1266-1271 p.
60. Ricachinevsky, C.P. and Amantea, S.L., 2006, Treatment of pulmonary arterial hypertension, *Journal de Pediatria*, 82, 5, 153-165 p.
61. Suylen, R.J., Smits, F.M. and Diaemen, M.J.A.P., 1998, Pulmonary artery remodeling differs in hypoxia and monocrotaline induced pulmonary hypertension, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 157, 1423-1428 p.
62. Mawatari, E., Hongo, M., Sakai, A., Terasawa, F., Takahashi, M., Yazaki, Y., Kinoshita, O. and Ikeda, U., 2007, Amlodipine prevents monocrotaline induced pulmonary arterial hypertension and prolongs survival in rats independent of blood pressure lowering, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34, 594-600 p.
63. Itoh, T., Nagaya, N., Fuji, T., Iwase, T., Nakanishi, N., Hamada, K., Kangawa, K. and Kimura, H., 2003, A combination of oral sildenafil and beraprost ameliorates pulmonary hypertension in rats, *American Thoracic Society*, 303-346 p.
64. Schermuly, R.T., Kreisselmeier, K.P., Ghofrani, H.A., Yilmaz, H., Butrous, G., Ermert, L., Ermert, M., Weismann, N., Rose, F., Guenther, A., Walmrath, D., Seeger, W. and Grimminger, F., 2004, Chronic sildenafil treatment inhibits monocrotaline induced pulmonary hypertension in rats, 169, 39-45 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

65. Kodama, K. and Adachi, H., 1999, Improvement of mortality by long-term E4010 treatment in monocrotaline induced pulmonary hypertensive rats, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290, 748-752 p.
66. Li, X.Q., Hong, Y., Wang, Y., Zhang, X.H. and Wang, H.L., 2006, Sertraline protects against monocrotaline induced pulmonary hypertension in rats, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 33, 1047-1051 p.
67. Dhein, S., Giessler, C., Hoffmann, I.H., Leineweber, K., Seyfarth, T. and Brodde, O.E., 2002, Changes in α_1 -adrenergic vascular reactivity in monocrotaline-treated rats, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, 365- 87-95 p.
68. Morita, K., Ogawa, Y. and Tobise, K., 1996, Effect of endothelium of pulmonary artery vasoreactivity in monocrotaline induced pulmonary hypertensive rats, *Jpn. Circ. J.*, 60, 585-592 p.
69. Mathew, R., Gloster, E.S., Sundararajan, T., Thompson, C.I., Zeballos, A. and Gewitz, M.H., 1997, Role of inhibition of nitric oxide production in monocrotaline-induced pulmonary hypertension, *J. Appl. Physiol.*, 82 (5), 1493-1498 p.
70. Wanstall, J.C. and O' Donnell S.R., 1992, Responses to vasodilator drugs on pulmonary artery preparations from pulmonary hypertensive rats, *British Journal of Pharmacology*, 105, 152-158 p.
71. Guilluy, C., Sauzeau, V., Derkinderen, M.R., Guerin, P., Sagan, C., Pacaud, P. and Loirand, G., 2005, Inhibition of RhoA/Rho kinase pathway is involved in the beneficial effect of sildenafil on pulmonary hypertension, *British Journal of Pharmacology*, 146, 1010-1018 p.
72. Pauvert, O., Lugnier, C., Keravis, T., Marthan, R., Rousseau, E. and Savineau, J.P., 2003, Effect of sildenafil on cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, vascular tone and calcium signaling in rat pulmonary artery, *British Journal of Pharmacology*, 139, 513-522 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

73. Sebkhi, A., Strange, J.W., Phillips, S.C., Wharton, J. and Wilkins M.R., 2003, Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxia induced pulmonary hypertension, *Circulation*, 107, 3230-3235 p.

74. Zhao L., Mason, N.A., Morelli, N.W., Kojonazarow, B., Sadykov, A., Maripov, A., Mirrakhimov, M.M., Aldashev, A. and Wilkins, M.R., 2001, Sildenafil inhibits hypoxia induced pulmonary hypertension, *Circulation*, 104, 424-428 p.

75. Jones, R.D., Thompson, J.S. and Morice A.H., 1997, The effect of Hydrogen peroxide on hypoxia, prostaglandin F_{2α} and potassium chloride induced contractions in isolated rat pulmonary arteries, *Pulmonary Pharmacology- Therapeutics*, 10, 37-42 p.

76. McCulloch, K.M., Docherty, C. and Maclean, M.R., 1998, Endothelin receptors mediating contraction of rat and human pulmonary resistance arteries: effect of chronic hypoxia in the rat, *British Journal of Pharmacology*, 123, 1621-1630 p.

77. Maclean, M.R. and Morecroft, I., 2001, Increased contractile response to 5-Hydroxytryptamine₁ receptor stimulation in pulmonary arteries from chronic hypoxic rats: role of pharmacological synergy, *British Journal of Pharmacology*, 134, 614-620 p.

78. Maclean, M., 1999, Endothelin-1 and serotonin: Mediators of primary and secondary pulmonary hypertension, *J Lab Clin. Med.*, 134, 105-114 p.

79. Ito, K.M., Sato, M., Ushijima, K., Nakai, M. and Ito, K., 2000, Alterations of endothelium and smooth muscle function in monocrotaline induced pulmonary hypertensive arteries, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 279, 1786-1795 p.

80. Kayaalp, S.O., 2005, Kayaalp Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 11. Baskı, 932 s.

81. Ito, K.M., Sato, M., Ushijima, K., Nakai, M. and Ito, K., 2000, Alterations of endothelium and smooth muscle function in monocrotaline induced pulmonary hypertensive arteries, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 279, 1786-1795 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

82. Prie, S., Stewart, D.J. and Dupuid, J., 1998, Endothelin_A receptor blockade improves nitric oxide-mediated vasodilation in monocrotaline induced pulmonary hypertension, *Circulation*, 97, 2169-2174 p.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Sinem ILGIN

Doğum yeri ve tarihi: BURSA, 21.04.1980

Yabancı dil: İngilizce

Eğitim

İlkokul: Namık Kemal İlkokulu, BURSA, 1986 - 1991

Ortaokul: Cumhuriyet Lisesi, BURSA, 1991 - 1994

Lise: Cumhuriyet Lisesi, BURSA, 1994 - 1997

Lisans: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eskişehir, 1997 - 2001

Yüksek lisans: “Likopen' in ER (+) HeLa, LNCaP ve NIH3T3 Hücreleri Üzerinde Antikarsinojenik Aktivitesinin Değerlendirilmesi”, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR, 2002 - 2004

Doktora: “Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon Tedavisinde Sildenafil + Everolimus Kombinasyonunun Potansiyel Etkisi”, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR, 2005 - 2009

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

Validation of a Reversed-Phase HPLC Method for the Analysis of Sildenafil Citrate in Pharmaceutical Preparations and in Spiked Human Plasma, Journal of Liquid Chromatography, 2005

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

Determination of Basic Polyphenols by HPLC in Several Tea Types Present in Turkish Market, ” 7. European Congress of Pharmaceutical Sciences, EUFEPS 2002, European Journal of Pharmaceuticals Sciences, Stockholm, İsveç, Ekim 2002

A Validated HPLC Method For The Determination of Sildenafil Citrate in Pharmaceutical Dosage Forms, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 7. Uluslararası Eczacılık Bilimleri Sempozyumu, Ankara, Türkiye, Haziran 2003

Estrogenic Effects of Lycopene And Beta-Carotene on Er(+) HeLa and LNCaP Cancer Cells, 15. World Congress of Pharmacology, Beijing, Çin Halk Cumhuriyeti, Temmuz 2006

Consideration of Anticarcinogenic Activity of Lycopene On Er(+) HeLa And LNCaP Cancer Cells, Eurotox 2007, Amsterdam, Hollanda, Ekim 2007

Determination of Amiodarone Using a Single Channel FIA With No In-Line Reaction Process, FAPA 2008, Singapur, Ekim, 2008

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

Osmangazi Üniversitesi Acil Servisine 2003 - 2004 Yıllarında Başvuran İlaç Nedenli Olguların Değerlendirilmesi, I. Ulusal Farmasötik Bakım ve Klinik Eczacılık Kongresi, Eylül 2005

Sertralin' in Antidepresan ve Anksiyolitik Etkisinde NO' in Rolünün Farelerde Değerlendirilmesi, Türk Farmakoloji Derneği 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi, İZMİR, 2005

Diğer Sanatsal Etkinlikler

Moleküler Tanı ve Uygulamaları Yaz Okulu, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İzmir, Mayıs 2002

Ulusal Toksikoloji ve Klinik Toksikoloji Sempozyumu, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Mayıs 2003

IV. Deneysel Hayvan Çalışmaları Temel Eğitim Günleri, Osmangazi Üniversitesi Tıbbi-Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi, Eskişehir, Ekim 2005

Başarı ve Ödüller

I. Ulusal Farmasötik Bakım ve Klinik Eczacılık Kongresi En İyi Poster Ödülü, Eylül 2005

Adres: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
26470 Eskişehir

e-mail: silgin@anadolu.edu.tr

Tel: 0222 335 05 80- 3762