



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**MİRABEGRON'UN PULMONER
HİPERTANSİYON ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Turgay ARSLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi İlknur ERKÖSEOĞLU

TRABZON-2021



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**MİRABEGRON'UN PULMONER
HİPERTANSİYON ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Turgay ARSLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi İlknur ERKÖSEOĞLU

TRABZON-2021

ONAY

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Turgay ARSLAN'ın hazırladığı “MİRABEGRON’UN PULMONER HİPERTANSİYON ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı çalışma Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05.05.2021



Sağlık Bilimleri Enstitüsü’ne/...../20..... tarihinde teslim edilen bu tez Enstitü Yönetim Kurulu’nun/...../20..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

19.05.2021
Turgay ARSLAN
(İmza)

İthaf

Yapmış olduğum bu tez çalışmamı, yüksek lisans eğitimimi tamamlama sürecinde beni her zaman motive eden çocuklarım Ali Uygar Arslan, Deniz Arslan ve sevgili eşim Emine Arslan'a ithaf ediyorum



TEŞEKKÜR

Farmakoloji yüksek lisans eğitimim boyunca, yüksek lisans sürecinin inceliklerini öğreten ve her daim yanımda yer alan başta danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi İlknur ERKÖSEOĞLU, Prof. Dr. Ersin YARIŞ, Prof. Dr. Mine DUMAN' a bir ömür minnettar kalarak teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmamda gerekli malzeme konusunda bölümün olanaklarını esirgemeyen Farmakoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Nuri KALYONCU hocama ve yine maddi manevi yönden yardımlarını esirgemeyen bölüm üyesi Prof. Dr. Murat KESİM, Prof. Dr. Feride Sena SEZEN, Dr. Öğr. Üyesi Yeşim KAYA, Tıp Fakültesi KVC Anabilim Dalı üyesi Doç. Dr. Zerrin PULATHAN ve üzerimde emeği olan tüm diğer hocalarıma, bölümde bulunduğum süre zarfında birlikte çalışma fırsatı bulduğum arkadaşlarıma,

Çalışmanın histopatolojik incelemelerini yapan KTÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı üyesi Doç. Dr. Gökçen KERİMOĞLU ve Arş. Gör. Tuğba ARICI' ya,

Çalışmanın yürütülmesinde maddi yönden TYL-2020-8493 numarası ile destekleyen KTÜ BAP birimine,

Her zaman yanımda olan, bana her daim yardım eden sevgili eşim Emine Arslan'a ve beni bu günlere dek yetiştiren çok sevdiğim aileme şükranlarımı sunarım.

Turgay ARSLAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

İthaf

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

vi

TABLolar DİZİNİ

viii

ŞEKİLLER DİZİNİ

ix

RESİMLER DİZİNİ

x

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

xi

ÖZET

xii

ABSTRACT

xiii

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

3

2.1. Pulmoner Hipertansiyon

3

2.2. Monokrotalin

8

2.3. Beta 3 Adrenerjik reseptör ($\beta 3AR$)

10

2.3.1. Kalp ve Damarlarda Beta 3 Adrenerjik reseptör

11

2.3.2. Beta 3 Adrenerjik reseptör Bağlanma ve Fonksiyonu

14

2.1.1.3. Beta 3 Adrenerjik reseptör ve Kalp Yeniden Modellenme

15

3. GEREÇ ve YÖNTEM

16

3.1. Çalışma Grubu

16

3.2. Malzemeler ve Deneyin Yapılışı

17

3.3. Monokrotalin ve Mirabegron Hazırlama

19

3.4. Kateterizasyon

19

3.5. Kalibrasyon ve Ölçüm

21

3.6. Histolojik İnceleme

22

3.7. İstatistiksel Analiz

23

4. BULGULAR

24

5. TARTIŞMA

35

6. SONUÇ ve ÖNERİLER	38
7. KAYNAKLAR	39
EKLER	50
EK 1. Deney Hayvanları Etik Kurul Onayı	51
ÖZGEÇMİŞ	52



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>		<u>Sayfa</u>
Tablo 1.	Dünya Sağlık Örgütü tarafından PH sınıflandırması	4
Tablo 2.	Hemodinamik parametreler açısından PH	5
Tablo 3.	Pulmoner arteriyel hipertansiyonun prognostik risk sınıflandırması	5
Tablo 4.	Deney gruplarının ağırlık değişimine ait veri ortalamaları ve standart sapmaları	24
Tablo 5.	Sağ ve sol ventrikül ağırlıkları ve Fulton indeksi ortalamaları ve standart sapmaları	24
Tablo 6.	Sağ ventrikül ve karotis arter basınç değerlerine ait veri ortalamaları ve standart sapmaları	24
Tablo 7.	Deney grup bireylerinin histolojik ölçümlerine ait ortalama veriler	25
Tablo 8.	Grupların histolojik ölçümlerine ait veri ortalamaları ve standart sapmaları	25
Tablo 9.	Deneklerin ortalama sağ ventrikül basınç ölçüm değerlerine ait veriler	29
Tablo 10.	Deneklerin ortalama karotis arter basınç ölçüm değerlerine ait veriler	29
Tablo 11.	Deneklerin ortalama pulmoner arter damar kalınlığı değerlerine ait veriler	30
Tablo 12.	Deneklerin ortalama pulmoner arter oklüzyon yüzdesi değerlerine ait veriler	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.	Pulmoner arteriyel hipertansiyon patogeneğinde yer alan belirlenmiş ve varsayılan araçlar ve etki yolları	7
Şekil 2.	Pulmoner arteriyel hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaç reseptör ve etki yolları	8
Şekil 3.	Monokrotalin'in elde edildiği <i>Crotalaria spectabilis</i> bitkisinin görünümü ve kimyasal yapısı	9
Şekil 4.	β 3AR'ün kardiyak miyosit ve makrovasküler endotel hücrelerdeki sinyal yolları	13
Şekil 5.	Gruplara ait ağırlık değişimlerinin karşılaştırılması	28
Şekil 6.	Grupların ventrikül hipertrofisi yönünden karşılaştırılması	29
Şekil 7.	Sağ ventrikül basınç değerlerinin gösterilmesi	30
Şekil 8.	Karotis arter basıncı ortalaması değerlerinin gösterilmesi	31
Şekil 9.	Deney hayvanlarına ait pulmoner arter damar duvarı kalınlığı değerlerinin gösterilmesi	32
Şekil 10.	Pulmoner arter oklüzyon yüzdesi değerlerinin gösterilmesi	33

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim No</u>		<u>Sayfa</u>
Resim 1.	Deneyin gerçekleřtięi laboratuvar	16
Resim 2.	Kateterizasyon	18
Resim 3.	Sağ ve Sol ventrikül ayırma	19
Resim 4.	Karotis kateterizasyonu	20
Resim 5.	Sağ v. jugularis eksterna kateterizasyonu	21
Resim 6.	Kontrol grubuna ait karotis ve sağ ventrikül trase örneği	26
Resim 7.	MCT_14 grubuna ait karotis ve sağ ventrikül trase örneği	26
Resim 8.	MCT_28 grubuna ait karotis ve sağ ventrikül trase örneği	27
Resim 9.	MCT_14_MRB_14 grubuna ait karotis arter ve sağ ventrikül trase örneği	27
Resim 10.	MCT_14_MRB_28 grubuna ait karotis arter ve sağ ventrikül trase örneği	28
Resim 11.	Deney gruplara ait histolojik görüntüler	34

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AC	Adeninilil siklaz
BMPR2	Kemik morfogenetik peptit reseptörü 2
BNP	Beyin natriüretik peptid
cAMP	Silik adenozin monofosfat
cEC	Mikrovasküler (kapiller) endotelyal hücre
CM	Kardiyak miyosit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDHF	Endotelyal kaynaklı hiperpolarizan faktör
EGF	Epidermal büyüme faktörü
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
ERA	Endotelin 1 reseptör antagonisti
ETA	Endotelin A
ETB	Endotelin B
FGF	Epidermal büyüme faktörü
GPCR	G proteini bağlı reseptör
HFpEF	Korunmuş ejeksiyon fraksiyonu
HFrEF	Azaltılmış ejeksiyon fraksiyonu
IL	İnterlökin
MCP	Monosit kemo-çekici protein
MCT	Monokrotalin
MEC	Makrovasküler endotelyal hücre
MRB	Mirabegron
NFAT	Aktif T hücrelerinin nükleer faktörü
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
NT-proBNP	N-terminal pro-beyin natriüretik peptid
PAEC	Pulmoner arteriyel endotelyal hücre
PAH	Pulmoner arteriyel hipertansiyon
PAPm	Ortalama pulmoner arter basıncı
PASMC	Pulmoner arteriyel düz kas hücresi

PDE5	Fosfodiesteraz 5
PDGF	Trombosit türevli büyüme faktörü
PDH	Piruvat dehidrojenaz
PDK	Piruvat dehidrojenaz kinaz
PH	Pulmoner hipertansiyon
PKA	Protein kinaz A
PKG	Protein kinaz G
PVR	Pulmoner vasküler direnç
RANTES	Normal T hücresi eksprese ve salgılanmasını aktivasyonunu düzenleyici
RGS2/4	G protein sinyal regülatörü 2/4
sGC	Siklik guanilat siklaz
SV	Sağ ventrikül
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü- β
TMD	Transmembran domain
TRP-C6	Geçici reseptör potansiyel katyon kanalı 6
VEGF	Vasküler epidermal büyüme faktörü
VIP	Vazoaktif bağırsak peptidi
VSMC	Vasküler düz kas hücre
β3AR	Adrenerjik beta-3 reseptörü
Simgeler	
<i>a</i>	Arter
<i>v</i>	Ven
β	Beta
Formüller	
VCO₂	Karbondioksit üretimi
VE/VCO₂	Karbondioksit için ventilasyon eşdeğerleri
VO₂	Oksijen tüketimi

ÖZET

Mirabegron'un Pulmoner Hipertansiyon Üzerine Etkisinin Araştırılması

Bu çalışmada güncel olarak aşırı aktif mesanede kullanılan selektif beta-3 adrenerjik reseptör agonisti olan Mirabegron'un deneysel pulmoner arterial hipertansiyon (PAH) rat modelinde hastalığın seyrini değiştirip değiştirmediğini araştırdık. Araştırmada, Mirabegron'un pumoner arterial hipertansiyonlu deneklerde kalbin sağ ventrikül büyümesini, pulmoner arter kalınlaşmasını ve basıncını azaltıcı etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır. 230-470 gr arasındaki Sprague Dawley cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma grupları Grup1: kontrol n=7; Grup 2: Monokrotalin (MCT) 14 gün n=10; Grup 3: Monokrotalin (MCT) 28 gün n=10; Grup 4: MCT 14 + Miragebron 14 gün n=10; Grup 5 MCT 28 + Mirabegron 14 gün n=10. Kontrol grubuna herhangi bir tedavi verilmeyip sağ ventrikül basıncı, karotis arter basıncı ölçülüp daha sonra kalp ve akciğer çıkartılarak kalbin sağ ventrikül / (sol ventrikül + septum) ağırlıkları (Fulton İndeksi) ölçülmüştür. Sol akciğer lobundan alınan örneklerde ise pulmoner arter kalınlaşması ve oklüzyon yüzdesine bakılmıştır. Grup 2'de tek doz Monokrotalin uygulanıp 14 gün sonra, Grup 3'de ise Monokrotalin uygulandıktan 28 gün sonra incelenen parametrelere bakılmıştır. Grup 4'e Monokrotalin uygulamasından 14 gün sonra 14 gün boyunca Mirabegron ile tedavi edilerek, Grup 5'e ise Monokrotalin uygulamasından 28 gün sonra 14 gün boyunca Mirabegron tedavisi uygulanarak incelenen parametrelere bakılmıştır. Grupların sırasıyla sağ ventrikül basınçları sırasıyla 6.67 ± 2.12 , 6.13 ± 0.83 , 14.95 ± 5.23 , 6.23 ± 1.86 ve 12.66 ± 4.88 olup $p < 0.05$ ile grup 3, grup 1'e göre anlamlı olarak daha yüksek, diğerlerinde anlamlı fark bulunmamıştır. Grupların pulmoner arter damar kalınlaşması sırasıyla; 4.22 ± 0.82 , 9.85 ± 0.90 , 14.59 ± 0.56 , 11.81 ± 0.56 ve 11.49 ± 0.73 olup grup 5'de grup 4'e göre anlamlı olarak ($p < 0.05$) daha az damar kalınlaşması bulunmuştur. Mirabegron'un PAH semptomlarını düzeltmeye yönelik pozitif bir etkisinin olduğu sonucu çıkartılabilir fakat daha geniş parametrelerin bakılacağı hem hayvan hem de insan deneylerine ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Adrenerjik Beta-3 Reseptör Agonisti, Hipertrofi, Monokrotalin, Nitrik Oksit, Sağ Ventrikül

ABSTRACT

Investigation of the Effect of Mirabegron on Pulmonary Hypertension

In this study, we investigated whether Mirabegron, a selective beta-3 adrenergic receptor agonist currently used in overactive bladder, changes the course of the disease in experimental pulmonary arterial hypertension (PAH) rat model. In the study, it was aimed to show the effect of Mirabegron in reducing right ventricular enlargement, pulmonary artery thickening and pressure in subjects with pulmonary arterial hypertension. Sprague Dawley rats between 230-470 g were used. Study groups Group1: control n=7; Group 2: Monocrotalin (MCT) 14 days n=10; Group 3: Monocrotalin (MCT) 28 days n = 10; Group 4: MCT 14 + Mirabegron 14 days n=10; Group 5 MCT 28 + Mirabegron 14 days n=10. The control group did not receive any therapy, and the right ventricle pressure, carotid artery pressure were measured, and then the heart and lung were removed and the right ventricle / (left ventricle + septum) weights (Fulton Index) of the heart were measured. Pulmonary artery thickening and occlusion percentage were measured in samples taken from the left lobe of the lung. The parameters to be examined were examined after 14 days with a single dose of Monocrotalin in Group 2 and 28 days after Monocrotalin was administered in Group 3. Group 4 was treated with Mirabegron for 14 days after 14 days of Monocrotalin administration, and group 5 was treated with Mirabegron for 14 days after Monocrotalin administration, and parameters to be examined were examined. The right ventricular pressures of the groups were 6.67 ± 2.12 , 6.13 ± 0.83 , 14.95 ± 5.23 , 6.23 ± 1.86 and 12.66 ± 4.88 , respectively, and with $p < 0.05$, group 3 was significantly higher than group 1, and there was no significant difference in the others. Pulmonary artery vascular thickening of the groups respectively; It was 4.22 ± 0.82 , 9.85 ± 0.90 , 14.59 ± 0.56 , 11.81 ± 0.56 and 11.49 ± 0.73 , and significantly ($p < 0.05$) less vascular thickening was found in group 5 compared to group 4. It can be concluded that Mirabegron has a positive effect on improving PAH symptoms, but it appears that both animal and human studies are needed to examine broader parameters.

Keywords: Adrenergic Beta-3 Receptor Agonists, Hypertrophy, Monocrotaline, Nitric Oxide, Right Ventricle

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Pulmoner hipertansiyon (PH) nadir olmakla birlikte, ilerleyici, sağ ventrikül (SV) yetmezliğine ve hatta ölüme kadar yol açan çok faktörlü bir hastalıktır. Solunum yolları ve kardiyovasküler hastalıkları daha da komplike hale getiren pulmoner arter ortalama kan basıncının, istirahatte 25 mmHg'ya eşit veya büyük, egzersizle birlikte 30 mmHg'den (1) daha büyük olduğu bir hastalıktır. PH, pulmoner arteriyolları tıkayan ve pulmoner arterlerden kan akışını sınırlandıran kompleks, çok hücreli vasküler lezyonların üretimi ile pulmoner arter damarlarının yeniden modellenmesi gibi histolojik paternlerin ve anormalliklerin geniş spektrumunu içeren farklı klinik durumlarla ilişkili olabilir. Sonuç olarak, SV sonrası yük önemli ölçüde artar, böylelikle SV disfonksiyonu ve yetmezliğinin gelişmesine neden olur. Pulmoner hipertansiyon idiyopatik, kalıtsal ve çeşitli hastalıklara bağlı olarak gelişebilmektedir. 1980'li yıllarda Amerika Ulusal Kayıtlarına göre PH hastalarının sağ kalım oranları 1 yıl için %68, 3 yıl için %48 ve 5 yıl için %34 7 yıl için %32 (2) iken yeni tedavilerin gelişmesi ile bu oranlar 2012 verilerine göre 1 yıl için %85, 3 yıl için %68, 5 yıl için %57 ve 7 yıl için %49 kadar yükselmiştir (3). Fransa'da ise 2003 yılında PH görülme insidansı yetişkinlerde milyonda 15 olarak kayıtlara geçmiştir (4). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından PH beş gruba ayrılmaktadır (5, 6).

Yakın zamana kadar Adrenerjik beta-3 reseptörlerinin ($\beta 3AR$) kardiyovasküler sistemdeki rolü hakkında çok az şey bilinmekteydi (7). 1989'daki ilk klonlanmasından sonra, $\beta 3AR$ başlangıçta yağ asitlerinin adrenerjik beta-oksidasyonuna aracılık ettiği kahverengi ve beyaz yağ dokularındaki adipositlerle sınırlı bir ekspresyona sahip olduğu düşünülmüştür (8). Daha sonra $\beta 3AR$ mesanenin düz kas hücrelerinde saptanmış, burada detrusor kasının gevşemesinde rol oynadığı, böylece mesanenin dolma kapasitesini arttırdığı bulunmuştur (7). Bu durum, aşırı aktif mesane hastalığının tedavisinde şu anda klinikte kullanılmakta olan spesifik $\beta 3AR$ agonisti Mirabegron'un (MRB) gelişimine yol açmıştır (9). Kardiyak dokuda ise, $\beta 3AR$ transkriptlerinin ekspresyonu ilk olarak 1996 yılında insan biyopsilerinde bildirilmiştir (10). Daha sonra, insan $\beta 3AR$ antikoru ile reseptörün insan atriyal ve ventriküler kardiyak miyositlerinde ve aynı zamanda küçük koroner dirençli damarların endotelial hücrelerinde immuno belirleme yöntemleriyle gösterilmiştir (11). Bununla birlikte, reseptörün ekspresyonu, farelerde düşük, ancak sıçanlar, tavşanlar ve köpeklerde daha yüksek olarak türlerden türlere değişmektedir (12). Moniotte ve arkadaşları kalp yetmezliği hastalarından insan kardiyak dokusunda $\beta 3AR$ ekspresyonunun arttığını

gözlemlemiş ve ilk kez üç adrenerjik izotipin ekspresyonunda bir fark olduğunu kanıtlamıştır (13). Daha sonra başka araştırmacılar tarafından β 3AR'ın fazla salgılanması diyabetik kalplerde de tanımlanmıştır (14, 15). Bu tanımlamalardan sonra ise reseptöre, kardiyak fizyolojisi ve fizyopatolojisi üzerindeki etkileri için giderek ilgi artmıştır.

Deneysel Pulmoner Hipertansiyon, günümüze kadar yapılan birçok çalışmalar neticesinde fizyolojik, kimyasal, genetik ve çoklu situmulanlar ile deneysel hayvan PH' nu geliştirmek mümkündür (16). Bunlardan en yaygın olarak kullanılanlardan bir tanesi ise Monokrotalin (MCT)'dir. Tek doz MCT ile vasküler yeniden şekillenme, artmış musküler tabaka, vasküler inflamasyon ve sağ ventrikül hipertrofisi ile karakterize PH gelişebilmektedir (17-23)

Pulmoner Hipertansiyon nadir bir hastalıktır fakat ilerleyen ve tedavisiz yaşam süresi oldukça kısadır. Mevcut tedavilerle birlikte yaşam süresi uzatılabilmektedir ancak tam bir tedavisi yoktur. Ayrıca güncel tedavi seçenekleri hem oldukça kısıtlı hem de maliyetlidir. MRB günümüzde aşırı aktif mesane tedavisinde kullanılan adrenerjik beta-3 reseptör agonistidir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarla birlikte beta-3 reseptörlerinin kalp ve pulmoner arterlerde de mevcut olduğu çalışmalarla birlikte kalp yetmezliği sonucu kalbin yeniden yapılanması ile ilgili araştırmalar artmakla birlikte PH da yeterince çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı, beta-3 reseptör agonisti olan MRB'nin sağ ventrikül hipertrofisi, pulmoner arter kalınlaşması ve pulmoner arter basıncı üzerine etkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pulmoner Hipertansiyon

Pulmoner hipertansiyon, birden fazla klinik durumu içerebilen ve kardiyovasküler ve solunum yolu hastalıklarının çoğunu zorlaştırabilen patofizyolojik bir hastalıktır. Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH), pulmoner vasküler direncin (PVR) ilerleyen bir artışıyla sonuçlanan küçük pulmoner arterlerin hücresel proliferasyonu ve fibrozunun neden olduğu kronik ve ciddi bir kardiyopulmoner bozukluktur (1). Her ne kadar PAH patogenezi pulmoner dolaşımında başlasada sağ kalp yetmezliği morbidite ve mortalitenin ana nedenidir (24, 25). PH, sağ kalp kateterizasyonu ile değerlendirilir ve istirahat halindeyken ortalama pulmoner arter basıncında (PAPm) ≥ 25 mmHg bir artış olarak tanımlanır (1). Mevcut veriler, istirahat sırasında normal PAPm'nin 14 ± 3 mmHg olduğunu ve üst sınırın yaklaşık 20 mmHg olduğunu göstermiştir (1, 26). Pulmoner hipertansiyon hastalıkları DSÖ tarafında beş ana gruba ayırmış olup alt gruplarıyla birlikte tablo 1.'deki gibidir. Fonksiyonel yönden ise aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (27).

Sınıf I- Pulmoner hipertansiyonu olan, ancak fiziksel aktivite sınırlaması olmayan hastalar; sıradan fiziksel aktivite aşırı dispne veya yorgunluk, göğüs ağrısı veya senkoplara neden olmaz.

Sınıf II- Fiziksel aktivitenin hafif sınırlılığına yol açan pulmoner hipertansiyonu olan hastalar; istirahat halindeyken rahattırlar, ancak sıradan fiziksel aktivite aşırı dispne veya yorgunluğa, göğüs ağrısına veya senkopa neden olur.

Sınıf III- Pulmoner hipertansiyonu olan ve fiziksel aktivitenin belirgin sınırlaması olan hastalar; istirahatte rahattırlar, ancak normalden daha az aktivite bile aşırı dispne veya yorgunluğa, göğüs ağrısına veya senkopa neden olur.

Sınıf IV- Semptomları olmadan herhangi bir fiziksel aktivite gerçekleştiremeyen pulmoner hipertansiyonu olan hastalar; bu hastalar sağ taraflı kalp yetmezliği belirtileri gösterir; dispne veya yorgunluk istirahatte bile olabilir ve herhangi bir fiziksel aktivite ile rahatsızlık artar.

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü tarafından PH sınıflandırması (Simonneau'dan, 5)

1- Pulmonary arterial hypertension (PAH)	2- Sol Kalp Hastalıklarından kaynaklı Pulmonary hipertansiyon	3- Hipoksi ve/veya Akciğer hastalıklarından kaynaklı	4- Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon ve diğer pulmoner arter tıkanıklıkları	5- Belirsiz çok faktörlü mekanizmalarla pulmoner hipertansiyon
Kalıtsal PAH	Sol ventriküler sistolik disfonksiyon	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı	Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon	Hematolojik bozukluklar
Edinsel PAH	Sol ventriküler diastolik disfonksiyon	İnterstisyel akciğer hastalığı	Diğer pulmoner arter tıkanıklıkları	Sistemik bozukluklar
- BMPR2 mutasyonları	Kalp kapak hastalıkları	Karışık tanımlayıcı ve obstrüktif paternli diğer akciğer hastalıkları		Metabolik bozukluklar
- Diğer mutasyonlar	Konjenital ve edinilmiş sol kalp giriş-çıkış tıkanıklığı ve konjenital kardiyomiyopatiler	Uyku-solunum bozukluğu		Diğer
İlaç veya toksinlerin indüklediği		Alveoler hipoventilasyon bozuklukları		
Başka hastalıklarla ilişkili:		Yüksek rakımda kronik maruziyet		
-Konnektif doku hastalıkları		Gelişimsel akciğer hastalığı		
-HIV enfeksiyonu				
-Portal hipertansiyon				
-Doğuşsal kalp hastalıkları				
-Şistozomiazis				
Pulmoner veno-oklüzif hastalık ve / veya pulmoner kapiller hemanjiyomatoz				
Yenidoğan kalıcı pulmoner hipertansiyonu				

Pulmoner hipertansiyon Tablo 1'deki sınıflandırmanın dışında aynı zamanda hemodinamik parametreler yönünden arter, ven veya kapiller damarların basınç artışına göre de Tablo 2'de gösterildiği gibi de sınıflandırılmaktadır (28). Ayrıca bu hemodinamik yönden sınıflandırmada DSÖ sınıflandırmasına göre hangi gruplara karşılık geldiği Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Hemodinamik parametreler açısından PH (Rich ve Abenhail'den, 28)

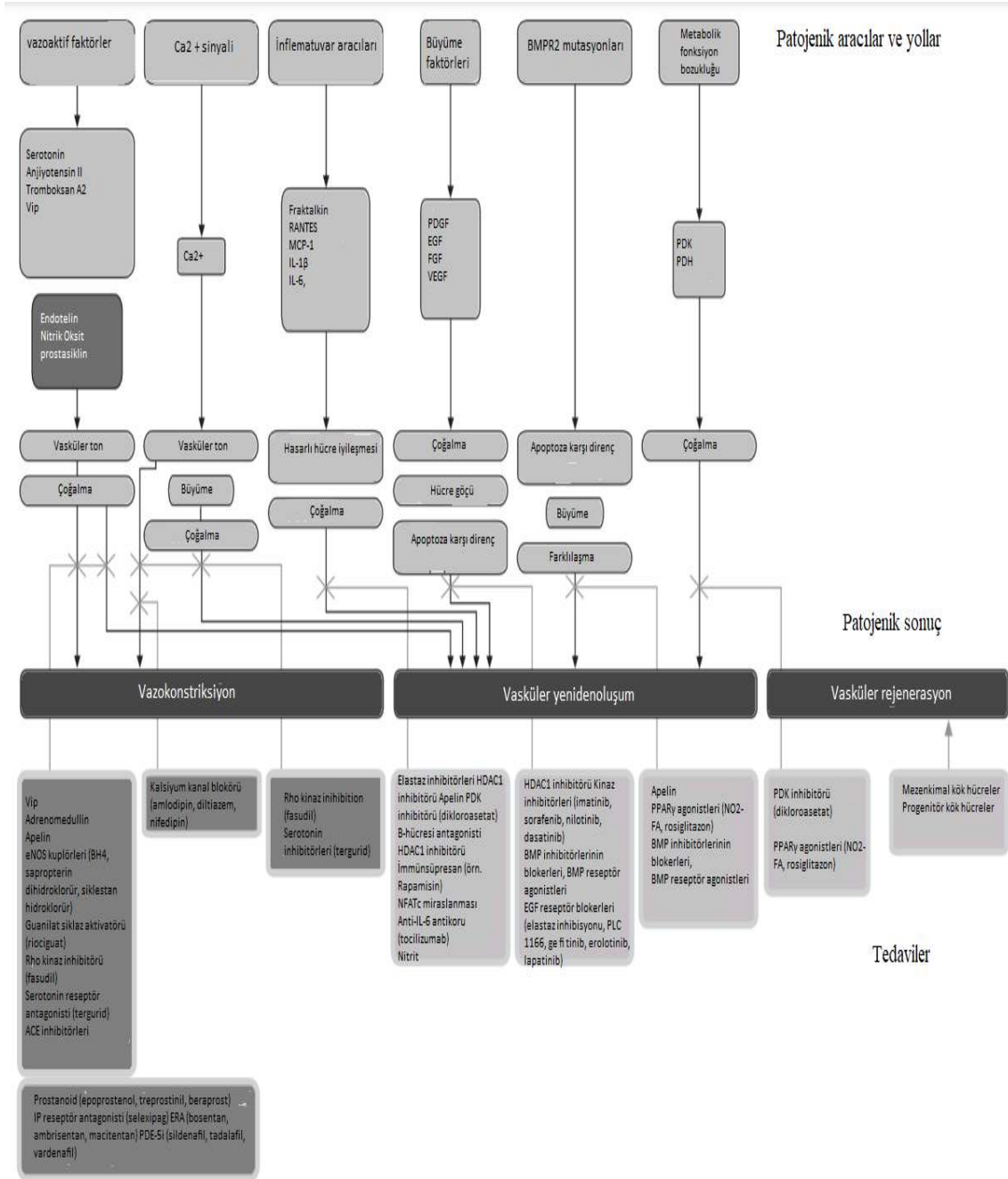
Tanımlama	Özellikler	Klinik grup
PH	Ortalama Pulmoner arteriyel basınç ≥ 25 mmHg	Tüm Gruplar
Pre-kapiller PH	Ortalama Pulmoner arteriyel basınç ≥ 25 mmHg Pulmoner arteriyel oklüzyon basıncı ≤ 15 mmHg	Grup 1, 3, 4, 5
Post-kapiller PH	Ortalama Pulmoner arteriyel basınç ≥ 25 mmHg Pulmoner arteriyel oklüzyon basıncı >15 mmHg	Grup 2, 5
İzole Post-kapiller PH	Diastolik basınç gradienti <7 mmHg ve /veya Pulmoner vasküler direnç ≤ 3 WU (Woods Unit)	Grup 2, 5
Kombine post-kapiller ve pre-kapiller PH	Diastolik basınç gradienti ≥ 7 mmHg ve /veya Pulmoner vasküler direnç > 3 WU (Woods Unit)	Grup 2, 5

Klinik değerlendirme açısından pulmoner arteriyel hipertansiyonun yeterli tanı ve prognostik bilgi sağlayan tek bir değişken olmadığından kapsamlı bir değerlendirmem gereklidir. Bu kapsamlı değerlendirme Tablo 3’de gösterilen prognoz durumu için risk faktörlerini gösteren kriterler yer almaktadır.

Tablo 3. Pulmoner arteriyel hipertansiyonun prognostik risk sınıflandırması (Galie'den, 29)

Prognoz Belirleyicileri	Düşük Risk: $<5\%$	Orta Risk: $5-10\%$	Yüksek Risk: $>10\%$
Sağ kalp yetmezliğinin klinik bulguları	Yok	Var	Var
Semptomların ilerlemesi	Yok	Yavaş	Hızlı
Senkop atakları	Yok	Ara sıra senkop- yalnızca yüksek yoğunluklu egzersizle ortaya çıkan senkop	Tekrarlayan senkop- orta ile düşük yoğunluklu egzersizle oluşan senkop
DSÖ fonksiyonel sınıfı	I, II	III	IV
6 dakikalık yürüme mesafesi	> 440 m	165–440 m	<165 m
	Pik (oksijen tüketimi) VO ₂ : > 15 mL / dak / kg (>65 tahmin edilir)	Pik (oksijen tüketimi) VO ₂ : 11-15 mL / dak / kg ($35-65$ tahmin edilir)	Pik (oksijen tüketimi) VO ₂ : < 15 mL / dak / kg (<35 tahmin edilir)
Kardiyopulmoner egzersiz testi	VE / VCO ₂ (dakika havalandırma / karbondioksit üretimi): eğim <36	VE / VCO ₂ (dakika havalandırma / karbondioksit üretimi): eğim 36-44.9	VE / VCO ₂ (dakika havalandırma / karbondioksit üretimi): eğim ≥ 45

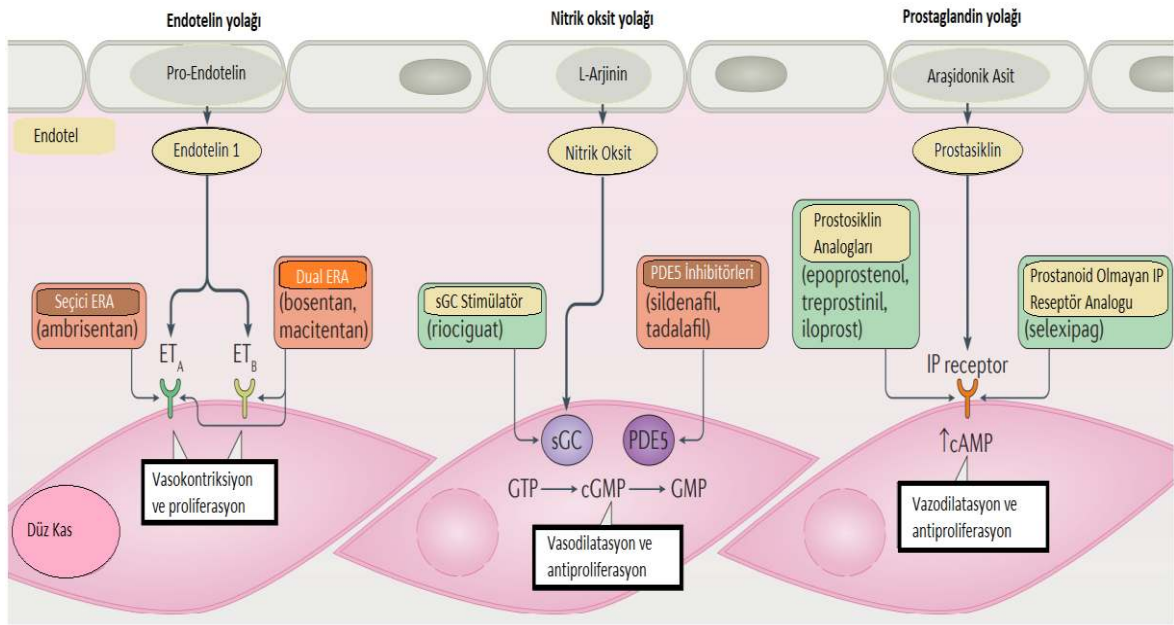
N-terminal pro-beyin natriüretik peptid plazma seviyeleri (NT-proBNP)	Beyin natriüretik peptidi (BNP): <50 ng / L	Beyin natriüretik peptidi (BNP): 50-300 ng / L	Beyin natriüretik peptidi (BNP): >300 ng / L
	N-terminal pro-beyin natriüretik peptidi (NT-proBNP): <300 ng / L	N-terminal pro-beyin natriüretik peptidi (NT-proBNP): 300-1400 ng / L	N-terminal pro-beyin natriüretik peptidi (NT-proBNP): >1400 ng / L
Görüntüleme (Ekokardiyogram, kardiyak manyetik rezonans görüntüleme)	Sağ atrium alanı: <18 cm ²	Sağ atrium alanı: 18-26 cm ²	Sağ atrium alanı: 18-26 cm ²
	Perikardiyal efüzyon yok	Perikardiyal efüzyon yok veya minimal	Perikardiyal efüzyon
Hemodinami	Sağ atriyal basınç: <8 mmHg	Sağ atriyal basınç: 8-14 mmHg	Sağ atriyal basınç: >14 mmHg
	Kardiyak indeks: ≥2.5 L / dak / m ²	Kardiyak indeks: 2.0-2.4 L / dak / m ²	Kardiyak indeks: <2.0 L / dak / m ²
	Karışık venöz oksijen doygunluğu SvO ₂ : >%65	Karışık venöz oksijen doygunluğu SvO ₂ : %60-65	Karışık venöz oksijen doygunluğu SvO ₂ : <%60



Şekil 1. Pulmoner arteriyel hipertansiyon patogenezinde yer alan belirlenmiş ve varsayılan araçlar ve etki yolları. BMPR2: kemik morfogenetik peptit reseptörü 2; VIP: vazoaktif bağırsak peptidi; NO: nitrik oksit; RANTES: normal T hücresi ekspresyonu ve salgılanmasını aktivasyonunu düzenleyici; MCP: monosit kemoçekici protein; IL: interlökin; PDGF: trombosit türevli büyüme faktörü; EGF: epidermal büyüme faktörü; FGF: fibroblast büyüme faktörü; VEGF: vasküler epidermal büyüme faktörü; PDK: piruvat dehidrojenaz kinaz; PDH: piruvat dehidrojenaz (Galie ve Ghofrani'den, 30).

Endotelin 1, nitrik oksit ve prostasiklin sinyal yolları, pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) için önemli terapötik hedeflerdir. Bu hastalık, vazokonstriktör

endotelin 1'in yukarı doğru regülasyonu ve vazodilatör nitrik oksit ve prostasiklin üretimini azalması ile karakterizedir. Endotelin 1 yolu, seçici veya seçici olmayan endotelin 1 reseptör antagonistleri (ERA'lar) tarafından bloke edilebilir; nitrik oksit yolu, fosfodiesteraz 5'in (PDE5) inhibisyonu veya siklik guanilat siklazın (sGC) uyarılmasıyla artırılabilir ve prostasiklin yolu, prostanoid analoglarının veya prostanoid olmayan IP reseptör agonistlerinin uygulanmasıyla güçlendirilebilir (31).

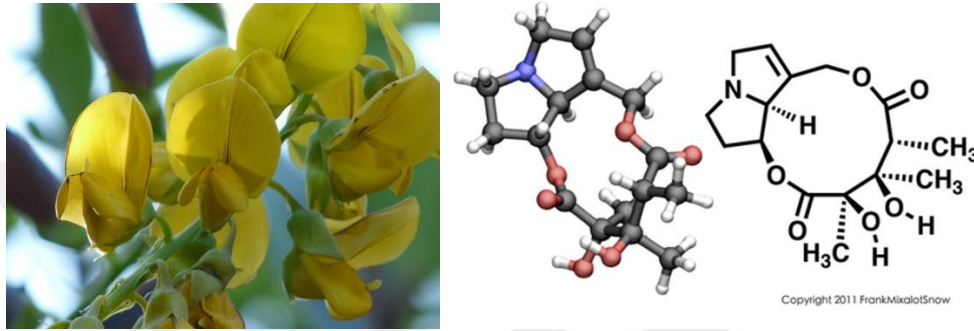


Şekil 2. Pulmoner arteriyel hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaç reseptör ve etki yolları (Lau'den, 32). Fosfodiesteraz 5 in (PDE5); Siklik guanilat siklazın (sGC); Endotelin A (ETA); endotelin B (ETB); Endotelin 1 reseptör antagonisti (ERA).

2.2. Monokrotalin

Monokrotalin, *Crotalaria spectabilis* bitkisinin tohumlarından elde edilen 11 üyeli bir makrosiklik pirolizidin alkaloididir ve bitkinin Şekil 3'de morfolojik görünümü ve MCT alkaloidinin kimyasal yapısı sunulmuştur. MCT alımını takiben PH belirtilerinin yanı sıra pulmoner mononükleer vaskülit (hayvanların yaklaşık üçte birinde akut nekrotizan pulmoner arterit) ve SV hipertrofisi ile karakterize bir sendromu indükler (33, 34). MCT'nin pulmoner endotelial hücrelerini (33, 35) zedelediği bildirilmiş olmasına rağmen, MCT'nin akciğer toksisitesini başlattığı kesin toksikolojik mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır. Lee ve arkadaşları, MCT'ye maruz kalan pulmoner arteriyel endotelial hücrelerinin (PAEC) genişlemiş bir Golgi aparatı, endotelial nitrik oksit sentazın yer değiştirmesi ve hücre

yüzeyindeki/caveolar nitrik oksidin azalması ile karakterize megalositozu geliştirdiğini göstermişlerdir (36). MCT'ye maruz kalan endotelial hücreler, çeşitli hücre membran proteinlerini etkileyen hücre içi membran alışveriş kesintilerine neden olur (37). Huang ve arkadaşları MCT ile indüklenen membran proteinleri kaybının, proliferatif ve antiapoptotik faktörlerin aktivasyonuna ve nitrik oksit sinyalleşme serbestleşmesi ve akciğer vasküler değişikliklerine yol açtığını bildirmişlerdir (38).



Şekil 3. MCT'in elde edildiği *Crotalaria spectabilis* bitkisinin görünümü ve kimyasal yapısı

Monokrotalin tek doz (60-80 mg/kg) subkutan veya intraperitonel enjeksiyonu ile sıçanlarda PH indüklemek mümkün ve genel bir uygulamadır (17). MCT'nin PH'a neden olduğu mekanizma, sitokrom-P450 enzimi tarafından karaciğerde MCT metabolizmasını, pulmoner vasküler endotel hasarını başlatan pirol türevlerini içerir (39). Endotel hasarı, vasküler lümenin daralması veya parçalanması ile karakterize olan, pulmoner vaskülit ve obstrüktif pulmoner vasküler yeniden modelleme için ilk tetikleyicidir. PH'da pulmoner vaskülatürün histolojik incelemesi, intimal hiperplazi, medial hipertrofi ve adventeryal kalınlaşma gibi özellikleri gösterir (40). MCT modelindeki PH ayrıca endotel hücrelerinin artan apoptozu, pulmoner arteriyel düz kas hücrelerinin (PASMC'ler) çoğalması ve PASMC'lerin apoptoza direnci ile karakterizedir (17, 33, 39, 41, 42).

MCT modeli araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır, tekrarlanabilir ve ucuzdur ve titiz teknik beceriler gerektirmez (17). Bu nedenle, bu modelin en büyük faydalarından biri, pulmoner vasküler remodeling sürecini ve patofizyolojisini anlamamıza yardımcı olmasıdır. Bu çoğunlukla endotel hücresi ve PASMC apoptozu ve proliferasyonunun düzenlenmesinden sorumlu olan genlerde genetik mutasyonun rolünü araştıran çalışmalarla gösterilmiştir. Araştırmacılar, gende kemik morfogenetik protein

reseptörü 2'yi (BMPR-2) kodlayan ve proteinlerin dönüştürücü büyüme faktörü süper ailesinin bir parçasını oluşturan bir mutasyon keşfetmişlerdir (43-46). Normal olarak transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) sinyalleme, SMAD moleküllerinden iletilen sinyaller ve TGF- β ligandlarının TGF- β reseptörüne bağlanmasıyla başlatılır (47-49). Daha sonra, smad 2,3 veya smad 1, 5 ve 8 fosforile edilir ve çekirdek'e yerleşen smad 4 ile kolokelize edilir, burada hedef genlerin transkripsiyonunu modüle eder. Ayrıca MCT modelinin kullanımı ile TGF-y reseptörü, aktivin-A reseptörü benzeri kinaz-1 ve smad 3,4 ekspresyonunun MCT'ye maruz kalmış sıçanların akciğerlerinde azaldığı gösterilmiştir. Bu, MCT sıçanlarının akciğerlerindeki tam BMPR-2 proteininin ekspresyonunda bir azalma ile ilişkilidir, bu da TGF-smad ve BMPR-2 sinyalleme sisteminin insan PH ile paylaşılan bir karakteristik olan MCT kaynaklı PH'da bozulduğunu gösterir (43-46). MCT modelinde yapılan diğer çalışmalar, PH'da gözlenen pulmoner vasküler yeniden şekillenmenin erken evrelerinde hasar veren hücrelerin (makrofajlar, dendritik hücreler ve mast hücreleri) ve sitokinlerin (interlökin-6, interlökin-1) önemli rolünü vurgulamıştır (50-52). Her iki antijen sunan hücrenin de makrofajların ve dendritik hücrelerin PH'daki hasar verici yanıtı kolaylaştırdığına ve böylece pulmoner vasküler yeniden şekillenmeye katkıda bulunduğuna inanılmaktadır. Mast hücreleri, doğrudan vazoaktif etkilere sahip olması ve matris metaloproteinazların artan üretimi ile yeniden modellemeyi uyarması önerilen özel miyeloid hematopoietik hücrelerdir. PH'daki hasarlı hücrelerde bunların tam rolü tam olarak aydınlatılamamıştır (53-55).

2.3. Beta 3 Adrenerjik reseptör (β 3AR)

Beta 3 adrenerjik reseptörler G proteini bağlı reseptörlerdir. G proteini bağlı reseptörler (GPCR'ler), memeli hücre fizyolojisinin nodal düzenleyicileridir, çünkü bunlar, nörohormonlar, duyu uyaranlar ve iyonlar gibi çeşitli ligandlardan heterotrimerik G proteinleri yoluyla hücre sinyalleri üretir. Memeli β 3AR, sekansı yaklaşık 400-408 amino asitten oluşan tüm GPCR'lerin tipik yapısına sahip bir proteindir. Reseptör yedi transmembran domainli (TMD) olup hücre dışında glikolize N-terminal kısmı ve hücre içinde C- terminal alanı bulunmaktadır (56). Ayrıca, dördüncü hücre içi alandaki Cys361 kısmı olup palmitoillenmiştir ki bu özellik, reseptörün agonist uyarımını takiben G proteini bağlanması ve adenilil siklaz uyarımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (57). Farklı memeli türleri arasındaki protein dizisi hizalaması, β 3AR amino asit dizileri arasındaki homolojinin çoğunun, 7-TMD'lerde ve hücre içi döngülerin membran-proksimal bölgelerinde

yoğunlaştığını gösterir. İlginç bir şekilde, $\beta 3AR$ protein sekansı diğer βAR ($\beta 1$ ve $\beta 2AR$) izoformları ile karşılaştırıldığında, 7-TMD sekansında yüksek düzeyde bir homoloji gözlemlemek hala mümkündür, ancak hem üçüncü hücre içi döngüde hem de C-terminal etki alanında önemli bir sapma mevcuttur (58). Bu fark muhtemelen reseptörlerin farmakolojik regülasyonunu ve bunların bir ligand cevabını etkileyen ana faktörü temsil eder. Bu bağlamda hem $\beta 1$ hem de $2AR$ 'ların C-terminali serin ve treonin bakımından zengindir ve fosforilasyon yoluyla GPCR kinaz (GRK) aracılı düzenlemeye tabi tutulur. Dahası, bu reseptörler aynı zamanda protein kinaz A (PKA) için bir konsensüs sekansı içerir (56). Dikkat çekici bir şekilde, $\beta 3AR$ bu alanların hepsinden yoksundur ve agonist kaynaklı duyarsızlaştırma/azaltma düzenlemelerine karşı daha dirençlidir. Son olarak, bu dizi sapmaları aynı zamanda fizyoloji ve hastalıktaki göreceli rollerini belirleyebilen 3 βAR izoformları arasındaki diferansiyel ve hücre içi sinyalleri (G protein-bağlantısı dahil) destekler (58).

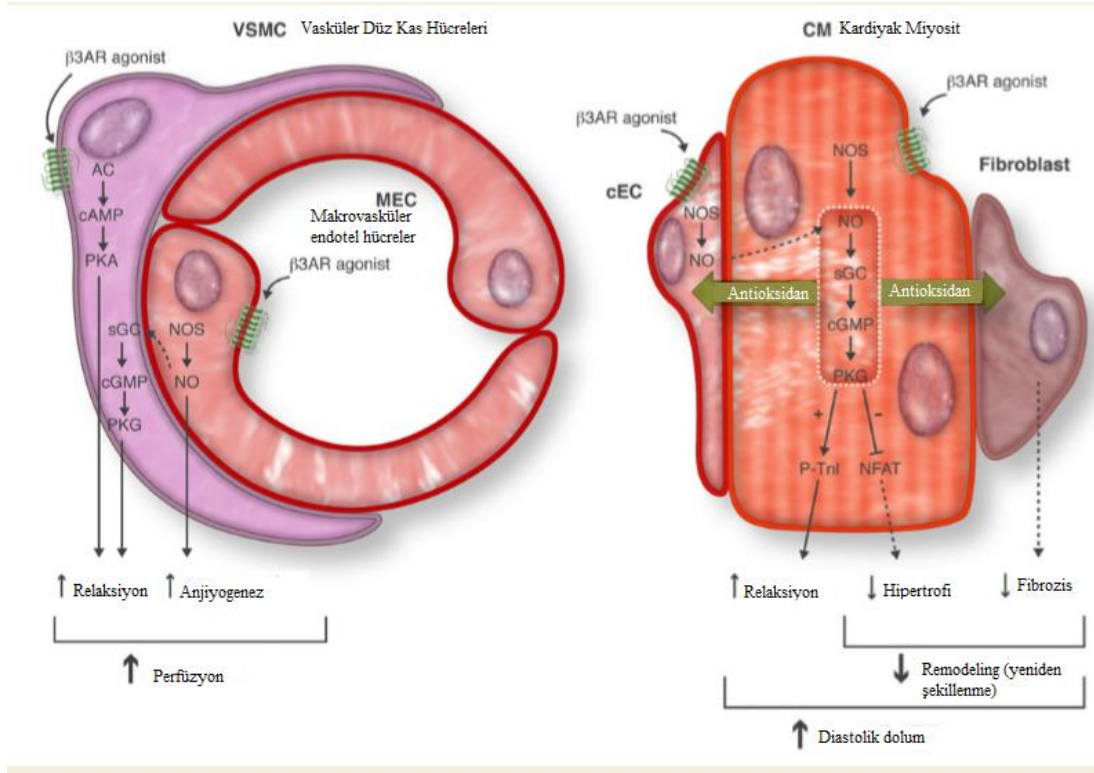
2.3.1. Kalp ve Damarlarda Beta 3 Adrenerjik reseptör

Kalp, βAR hem fonksiyon hem de morfolojinin ana modülatörlerini temsil ederler ve bu nedenle kardiyovasküler sistemdeki en önemli moleküler hedefler olarak kabul edilirler (59-61). $\beta 3AR$ G proteinine bağlı reseptörün R7G süper familyasına aittir ve primer sekansta %40-50 benzerliğe ek olarak diğer beta-adrenerjik izotiplerle çoklu yapısal özellikleri paylaşır (62, 63).

Kardiyovasküler Dokuda $\beta 3AR$, $\beta 1AR$ ve $\beta 2AR$ 'ın aksine, reseptörün C terminal kuyruğundaki G proteinine kenetli reseptör kinaz (GRK) fosforilasyon bölgelerinin yokluğuna bağlı olarak kısa süreli homolog duyarsızlaşmaya maruz kalmaz (64). Bu nedenle, diğer beta izotiplerden farklı olarak, $\beta 3AR$, beta arrestinin güçlendirilmesi ve daha sonra reseptörün internalizasyonu ile bağlantılı olan ilerleyici eşleşme ve etkinlik kaybına daha az eğilimlidir. GRK fosforilasyonu ile bağlantılı agonist ile indüklenen duyarsızlaşmanın olmaması, kimerik (yanılsamalı) reseptörler kullanılarak kardiyak miyositler bağlamında daha da kanıtlanmıştır (7). $\beta 1$ izotipinden farklı olarak $\beta 3AR$ epinefrine, norepinefrine göre daha yüksek bir afiniteye sahiptir. $\beta 3AR$ 'ın hücre içi sinyalleme efektörlerine bağlanması, dokular ve hücre tipleri arasında değişir.

Damarlarda $\beta 3AR$ ekspresyonu, vasküler yataklar, damarların büyüklüğü ve türlere göre farklılık gösterir. Bazı damarlarda, $\beta 3AR$ hem vasküler düz kas hücrelerinde hem de endotelial hücrelerde veya sadece endotelyumda ekspresyonu edilir. $\beta 3AR$ aktivasyonu

genellikle vazorelaksasyon üretmesine rağmen (bu kullanılan konstriksiyon öncesi ajana bağlı olsa da), $\beta 3AR$ 'ın hücre içi efektörlere bağlanması da hücre tipine göre değişir. $\beta 3AR$ vasodilatasyon yapıcı etkisi, vasküler düz kas hücrelerinde gözlenen $\beta 2AR$ 'nin klasik cAMP / Protein kinaz A (PKA) damar gevşetici etkisine benzer ve $\beta 3AR$ 'nin G-alfa-s'ye bağlanmasını düşündüren, pulmoner arterlerindeki cAMP seviyelerinde bir artışa bağlanır (7). İnsan koroner direnç damarlarında, $\beta 3AR$ ile indüklenen gevşemeye NO ve Endotelyal Kaynaklı Hiperpolarizan Faktör (EDHF)'e bağlı tepkilerin aracılık ettiğini gösterilmiştir (65). EDHF'nin ne olduğu tam olarak bilinmesede bir olası aracı $Na^+-K^+-ATPaz$ 'ın aktivasyonu sonucu K^+ 'ın hücre dışına çıkması sonucu hücre içi hiperpolarizasyon oluşumudur (66). $\beta 3AR$ 'ın, $Na^+-K^+-ATPaz$ 'ın beta1 alt birimini oksidatif S-glutasyonilleme ile inaktivasyondan koruduğu ve böylece oksidan stres karşısında pompa aktivitesini koruduğunu gösteren ilginç çalışmalarda mevcuttur (67). Bu etki aynı zamanda akut iskemide $\beta 3AR$ 'ın antioksidan etkilerini göstermesi ile uyumlu bir durumdur (68). Bu özellik hem NO hem de EDHF vazodilatör yanıtlarının yanı sıra altta yatan parankimal kardiyak dokuya önemli parakrin koruyucu sinyalizasyonunun (örneğin NO yoluyla) korunmasına katkıda bulunduğu ifade edilmektedir ve Şekil 4'de yolaklar gösterilmektedir (69). Şekle göre; $\beta 3AR$ agonistleri (veya endojen katekolaminler) kardiyak miyositlerde (CM), kardiyak mikrovasküler (kılcal) endotelyal hücrelerde (cEC), makrovasküler endotelyal hücrelerde (MEC) ve koroner arterlerden vasküler düz kas hücrelerinde (VSMC) $\beta 3AR$ 'ı aktive eder. CM ve EC'lerde, $\beta 3AR$, sırasıyla kardiyak ve vasküler kasın otokrin (CM) veya parakrin (EC'ler) gevşemesini üreten NOS ve down regüle olmuş çözünür guanilil siklaz (sGC) / siklik GMP (cGMP) / protein kinaz G (PKG) yolunu aktive eder. Bazı damar yataklarında $\beta 3AR$, damarları doğrudan gevşetmek için Adenilil Siklaz (AC) / siklikAMP (cAMP) / proteinkinaz A'ya (PKA) da bağlanır. Endotelyal hücrelerde NO ile indüklenen pro-anjiyojenik etkilere ek olarak, bu vazorelaksasyon etkileri gelişmiş miyokard perfüzyonuna katkıda bulunur. CM'de $\beta 3AR$, CM'deki ve fibroblastlar gibi komşu hücrelerdeki antioksidan etkilerle birlikte hipertrofik ve fibrotik yeniden şekillenmeyi önler ve böylece diyastolik dolumu korur. Ek olarak, endotelyal hücrelerde reseptörün aktivasyonu ve birçok hayvan türünden elde edilen aortik ve dirençli damarlarda ölçülen endotele bağlı gevşeme, hem nitrik oksit sentaz (NOS) bağımlı hem de NOS bağımsız yollara bağlıdır (70).



Şekil 4. $\beta 3AR$ 'ün kardiyak miyosit ve makrovasküler endotel hücrelerdeki sinyal yolları (Balligand'dan, 69)

İnsan kardiyak biyopsilerinde $\beta 3AR$ ile NO üretiminin benzer şekilde birleştiği gözlenmiştir (71). Hüresel düzeyde, $\beta 3AR$ insan kardiyak miyositlerinde açıkça ifade edilmesine rağmen, reseptörün ekspresyonu türlerden türe değişir, farelerde düşük ekspresyonla, ancak sıçanlarda, tavşanlarda veya köpeklerde daha yüksektir (12). Bununla birlikte, üretimin hastalık ile arttığını hatırlamak önemlidir (14). İnsan ventriküler biyopsilerinde, $\beta 3AR$ ile indüklenen NO üretimi, boğmaca toksine duyarlı olduğu ve bunun $\beta 3AR$ 'ın G-alfa-i protein eşleşmesine ve cGMP'nin NOS'a bağımlı üretimine bağlandığı ifade edilmiştir (71). İnsan biyopsilerinde gözlemlenenlere benzer fonksiyonel bir tepki veren seviyelerde insan $\beta 3AR$ 'ı özellikle kardiyak miyositlerde ekspresyonunu eden transgenik fare modeli çalışmasında gösterilmiştir (69). Reseptörün, hipertrofik ve hipertrofik olmayan kalplerde caveola ile zenginleştirilmiş membran fraksiyonlarında caveolin 3, eNOS ve nNOS ile kolokalize olduğu (69). Aynı zamanda başka bir çalışmada, $\beta 3AR$ 'ın sıçan yenidoğan kardiyak miyositlerinde Ser1412 üzerinde fosforilasyon ve Ser847'nin fosforilasyonu yoluyla nNOS'u aktive ettiğini insan biyopsilerinde olduğu gibi, bu $\beta 3AR$ ile indüklenen post-translasyonel modifikasyonlar da G-alfa-i / o inhibisyonuna duyarlı olduğu göstermiştir (72). $\beta 3AR$ 'ın G-alfa-i'ye ek olarak (bazı durumlarda $\beta 2AR$ 'ın

yaptığı gibi) G-alfa-s'ye (ve Adenilil Siklaz / cAMP) bağlanıp bağlanmadığı hala çözülmemiştir, ancak $\beta 3AR$ 'ın spesifik alt hücre bölümlerindeki efektörlerle birlikte uzamsal bağlamına bağlı olabileceği ifade edilmiştir (69).

2.3.2. Beta 3 Adrenerjik reseptör Bağlanma ve Fonksiyonu

Beta 3 Adrenerjik reseptör kasılma kuvveti üzerindeki etkilerine ilişkin erken çalışmalar, kontrolsüz ön yükleme koşulları olan ve yüksek dozlarda agonistlerin kullanıldığı izole kalp kası örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Bu koşullar altında, BRL 37344 (1 mM'ye kadar) yüksüz insan kardiyak biyopsilerinde kasılma kuvvetinde bir azalma meydana getirmiştir (10). Benzer bir etki, birkaç memeli ve hatta omurgalı türün özdeş modellerinde de üretilmiştir (12, 73). $\beta 3AR$ 'ın ayırt edici bir özelliği, $\beta 1-2AR$ 'ın klasik pozitif inotropik etkisine karşı çıkmak, böylece adrenerjik aşırı aktivasyonu önlemek için dengeleyici bir “fren” olarak hareket etmektir (10, 74). Bu, kullanılan türlere bağlı olarak (ve yukarıda belirtildiği gibi $\beta 3AR$ ekspresyonu) bir miktar değişkenlik gösterse de birkaç grup tarafından kardiyak preparatlarda doğrulanmıştır (14, 75, 76). $\beta 3AR$ ayrıca kardiyak miyositler içinde NO'dan cGMP/PKG'ye bağlı fosforilasyon yoluyla veya kardiyak endotelden parakrinal olarak salınan kardiyak kas gevşemesini düzenleyebilir (77). Daha sonra, birkaç grup sağlıklı büyük hayvanlarda veya kalp yetmezliği modellerinde $\beta 3AR$ agonistlerinin in vivo etkisini biraz farklı sonuçlar ile incelemiştir. Negatif inotropik etki bulanlar (75, 78) ve bulmayanlar da (79, 80) mevcuttur. Tutarsızlığın nedenleri muhtemelen kullanılan agonistin tipini ve dozunu (karşıt pozitif inotropik etkiler üreten yüksek dozda belirsiz agonistler ile) ve yoğun periferik vazodilatasyona karşı yeniden ortosempatik reaksiyonun kontrolünü içerir (79). Bir çalışma, sağlıklı koyunlarda küçük bir negatif inotropik etki olduğu, ancak kalp yetmezliği olan koyunlarda inotropik parametrelerin iyileştirildiği sonucuna varmıştır (80). Bu, hücre içi Na^+ içeriğini azaltabilecek başarısız kalp miyositlerinde Na^+-K^+ -ATPaz fonksiyonunun korunmasına bağlandı. İlginç bir şekilde, Na^+ içeriğinde ve geç Na^+ akımında azalma, özellikle korunmuş ejeksiyon fraksiyonu (HFpEF) ile kalp yetmezliğinde faydalı olacak şekilde gevşemeyi arttırmak için önerilmiştir (81). Miyosit EC ve $\beta 3AR$ eşleşmesinin doğrudan düzenlenmesine ek olarak, koroner endotelyumdan parakrin etkileri yoluyla kardiyak fonksiyonu düzenleyebileceği ifade edilmiştir. $\beta 3AR$ NO saldığı için, NO salım yapan diğer agonistlerinkine benzer etkiler (gevşeme gibi) öngörülebilir (82). $\beta 3AR$, bazı türlerde pulmoner vazokonstriksiyonu

hafifletmeye ve kılcal damar öncesi pulmoner hipertansiyonu azaltmaya katkıda bulunacak olan pulmoner arteriyel vaskülatürde de ekspresyonu edilir (83, 84).

2.3.3. Beta 3 Adrenerjik reseptör ve Kalp Yeniden Modellenme

Kalbin ana işlevi hem normal hem de stres koşulları sırasında taleplerini karşılayan periferik organların perfüzyonunu korumaktır. Bu görevi artmış ön yük veya son yük varlığında gerçekleştirmek için, kalp ve bireysel kardiyomiyositler sıklıkla hipertrofi olarak adlandırılan bir durum olan genişleme geçirir. Kardiyak hipertrofi, en azından başlangıçta sarkomerlerin artışına paralel olarak kasılmayı arttırır. Ek olarak, sol ventrikül duvar kalınlığındaki artışlar Laplace yasasını takiben sol ventrikül duvar stresini azaltır ve böylece kalp verimliliğini korur. Kardiyak hipertrofiye metabolizma, kontraktilite ve kardiyomiyositlerin hayatta kalmasının indüklediği gen ekspresyonundaki değişiklikler eşlik eder. İki tip hipertrofi vardır: fizyolojik ve patolojik. Her iki hipertrofi tipi başlangıçta kardiyak strese adaptif bir cevap olarak gelişir, ancak altta yatan moleküler mekanizmalar, kardiyak fenotip ve prognoz açısından büyük farklılıklar gösterirler. Fizyolojik hipertrofide zamanla kalp fonksiyonu devam ederken, patolojik hipertrofide, kalp yetmezliği, aritmiler ve ölüm gibi olumsuz kardiyovasküler olaylar eşlik eder. Patolojik hipertrofide kardiyak fenotip değişir ve korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu (HFpEF) kalp yetmezliği veya azaltılmış ejeksiyon fraksiyonlu (HFrEF) kalp yetmezliği olarak ortaya çıkabilir (85).

Kalbin sol veya sağ ventrikülünde farklı nedenlerden dolayı hipertrofi gerçekleşir. Pulmoner hipertansiyon gibi patolojilerde sağ ventrikül hipertrofisi eşlik etmektedir. $\beta 3AR$ 'lerin kardiyak hipertrofi ile ilgili ilişkisi ise aşağıdaki gibidir:

Remodeling'e aracılık etmede NOS'un nedenselliği, in vitro ve in vivo inhibitörlerle incelenebilir. İzole kardiyak miyositlerde, NOS inhibisyonu, birkaç nörohumoral agoniste yanıt olarak hipertrofidan korumayı kaldırmaktadır. PKG inhibitörleri ile benzer sonuçlar elde edilmiş ve bu da korumanın cGMP/PKG yolunun down regülesinin, NOS tarafından aracılık edileceğini düşündürmektedir. PKG aracılı koruma için olası mekanizmalar arasında, son çalışmalar, geçici reseptör potansiyel katyon kanalı 6'nın (TRP-C6) yanı sıra Kalsiyum-Kalimodulin ve Aktif T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) pro-hipertrofik yol G Protein Sinyal Regülatörü 2/4 (RGS2/4) modülasyonunu tanımlamıştır (86). Benzer şekilde, $\beta 3AR$ aktivasyonunun yararlı etkilerine, egzersiz ve iskemi / reperfüzyonda sırasıyla genetik olarak eksik fareler kullanılarak tanımlandığı gibi nitrosotiyollerin (87) veya nNOS (88) aktivasyonu yoluyla aracılık edildiği gösterilmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Planlanan çalışma grupları etkisini araştırdığımız β 3AR agonisti Mirabegron'un oluşturduğumuz grup 1 PH modelinde hastalığın oluşumunu ve oluşan hastalığın gerilemesine etkisinin araştırılmasına uygun olarak beş grup olarak planlanmıştır. Çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiş (Resim 1) olup KTÜ BAP birimi tarafından TYL-2020-8493 nolu proje ile desteklenmiştir.

3.1. Çalışma Grubu

1. Kontrol (n=7)
2. MCT_14 (n=10) (Monokrotalin uygulaması sonrası 14 gün)
3. MCT_28 (n=10) (Monokrotalin uygulaması sonrası 28 gün)
4. MCT_14_MRB_14 (n=10) (Monokrotalin uygulamasından 14 gün sonra, 14 gün Mirabegron uygulaması)
5. MCT_28_MRB_14 (n=10) (Monokrotalin uygulamasından 28 gün sonra, 14 gün Mirabegron uygulaması)



Resim 1. Deneyin gerçekleştirildiği laboratuvar

3.2. Malzemeler ve Deneyin Yapılışı

1. 230-470 gr arası 47 adet Rat (Sprague Dawley)
2. Ksilazin 25 ml (Vet ilaç)

3. Ketamin 500 mg 4 flakon (Pfizer İlaçları Ltd.Şti.)
4. MCT 1 gr (Sigma-Aldrich)
5. Kan basınç ölçüm sistemi (PE 50 kanül ve Harvard Apparatus Kan Basınç transduser)
6. MRB (Selektif β 3AR agonisti) (Betmiga 50 mg/ 30 tablet toplam 10 kutu ASTELLAS PHARMA)
7. Karboksi Metil Selüloz
8. Biopac Student Lab System MP35 (Biopac Systems Inc, USA)
9. Bidistile su cihazı (Sartorius Stedim Arium pro UV)
10. Data kayıt sistemi (BIOPAC recording system MP35)
11. Analysing Research 5 (Olympus Soft Imaging Solution, Almanya)
12. Vorteks (ISOLAB)
13. Hassas Terazı (Ohaus Pioneer)
14. Cerrahi forseps ve vasküler klemp (F.S.T.)
15. LEICA RM 2255 model mikrotom (Nussloch, Germany)
16. Olympus DP 71 (Japan) kameralı ışık mikroskobu (Olympus, BX51, Japan)
17. Buzdolabı (Arçelik)
18. Ultrasonik ısıtıcı karıştırıcı
19. Diğer sarf malzemeleri (Eldiven, enjektör, lam, lamel, parafin, %0,9 izotonik serum, heparin, formalin %10 çözeltisi, hematoksilen & eosin boyası)

Çalışmada oluşturulan gruplardan birinci grup; kontrol grubu olup herhangi bir ilaç uygulaması yapılmamıştır, ikinci grupta 60 mg/kg tek doz intraperitoneal (ip) MCT uygulamasını takiben 14 gün sonra, üçüncü grupta ise 28 gün sonra hemodinamik ölçümler yapılmıştır. Dördüncü grupta tek doz MCT uygulamasından 14 gün sonra 14 gün MRB uygulandıktan sonra, beşinci grupta ise MCT uygulamasından 28 gün sonra 14 gün MRB tedavisinden sonra hemodinamik ölçümler yapılmıştır.

Tüm hayvanlar tedavi sonrası akciğer ve kalp incelemesi için organları çıkartılıp sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyon öncesi; 60 mg/kg Ketamin ve 10 mg/kg Ksilazin ile anestezi uygulanıp, *sağ a. carotis interna*'dan (Resim 2) PE50 kanül ile kanülasyon yapılarak sistemik arter basıncı, basınç transdüseri kullanılarak monitörize edilmiştir. Ayrıca yine *sağ v. jugularis eksterna*'dan sağ ventrikül kateterizasyonu (Resim 2) yapılarak ise pulmonor arter basıncını yansıtan sağ ventrikül basıncı ölçülmüştür. Çalışma boyunca ratların

normotermik (37 °C) olması için uygun çevre koşulları sağlanmıştır. Torakotomi yapılarak kalp ve akciğer çıkartılıp %10 formolin ile yıkanarak fikse edilmiştir. Kalp dokularında Fulton indeks ölçümü için sağ ventrikül duvarı, sol ventrikül ve septumdan ayrılarak (Resim 3) hassas terazi ile ölçüldü. Pulmoner arterlerden 5 mikrometrelik kesitler alınarak hematoxilen & eosin boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Her bir pulmoner arterin muskuler tabakasının kalınlığı morfometrik olarak ölçülmüştür (89-91).



Resim 2. Kateterizasyon. (a) Sağ v. jugularis eksterna. (b) Sağ a. carotis interna ve sağ v. jugularis eksterna kateterizasyonu.



Resim 3. Sağ ve sol ventrikül ayırma

3.3. Monokrotalin ve Mirabegron Hazırlama

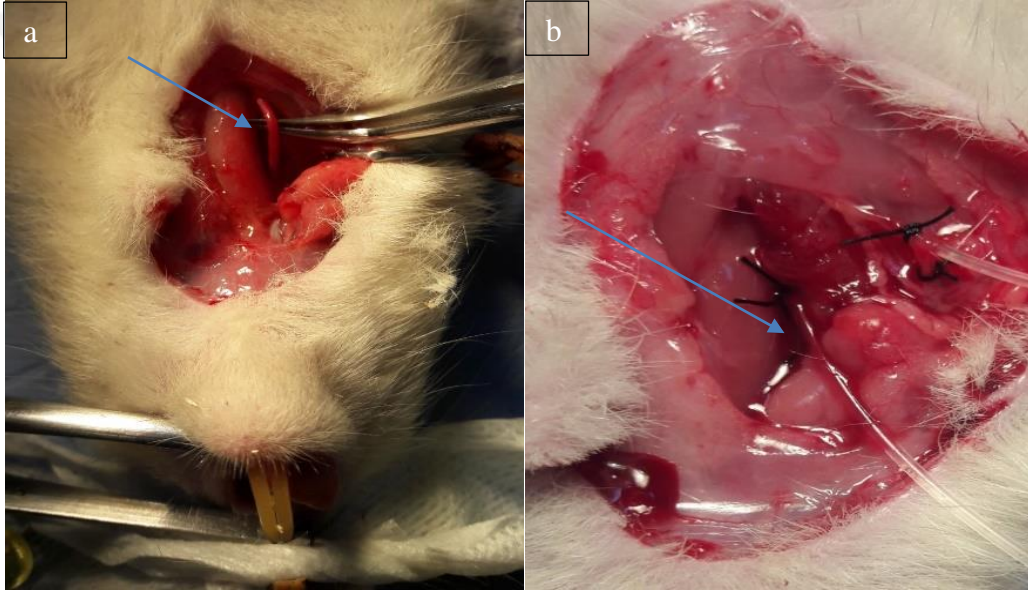
MCT toz halinde olduğu için Deney hayvanlarına intraperitoneal (ip) olarak uygulanacağı için önce Deney hayvanlarının ağırlıklarına göre 60 mg/kg olacak şekilde %5 Etanolde ısıtılarak (35-39°C) ve maksimum 10 mg/ml içerisinde hazırlanıp ip şeklinde uygulanmıştır.

Çalışmada kullanmış olduğumuz mirabegron etken maddesi, Betmiga ticari markalı 50 mg uzun salınımlı tabletler şeklinde olduğu için Deney hayvanlarına oral gavaj yolu ile uygulanması için havanda kırılıp toz haline getirilmiştir daha sonra %0,25'lik Karboksi Metil Selüloz ve distile su ile her bir denek için 2,5 ml olacak şekilde hazırlanmış ve oral gavaj olarak uygulanmıştır.

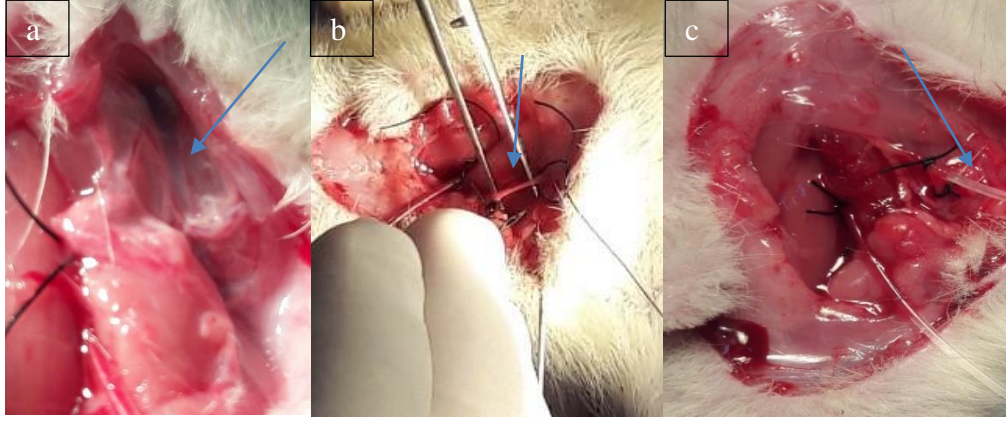
3.4. Kateterizasyon

Kateterizasyon işlemi önce karotis daha sonra ise juguler ven kateterizasyonu şeklinde yapılmıştır. Karotis kateterizasyonu yapmak için anestezi sonrası ciltaltı dokular ve en alttaki karotise ulaştıktan sonra etrafındaki doku ve vagus sinir bağlantıları temizlenerek önce damarın üst kısmı 4.0 cerrahi iplikle en az üç düğüm olacak şekilde bağlandıktan sonra inferior kısmı klemplenmiştir. Klemplenme işleminden sonra 22 G'lik iğne ile delme işlemi

gerçekleştirilmiş ve daha sonra P50 kateter damara içine yerleştirilerek cerrahi 4.0 iplikle sabitlenmiş ve klemp çıkartılarak akım sağlanmış ve basınç ölçümü gerçekleştirilmiştir (Resim 4). Juguler ven kateterizasyonu da benzer şekilde gerçekleştirilmiş fakat süperior kısmına düğüm attıktan sonra inferior kısmına klemp yerleştirilmemiştir. Damara P50 kateterizasyonu ile girdikten sonra yavaş bir şekilde ilerleyerek sağ ventriküle girilmiştir. Sağ ventriküle doğru bir şekilde girildiği hem basınç trasesinden hem de damar içinde ilerlerken çok düşük basınç olduğu için (sıfıra yakın) kateter içine herhangi bir kan geri kaçması yaşanmazken sağ ventriküle girildiği zaman kateter içine kan geri kaçmakta ve ventrikül atımı hissedilmektedir (Resim 5).



Resim 4. Karotis kateterizasyonu. (a) Sağ *a. carotis interna* kateterizasyon için temizlenmesi. (b) Sağ *a. carotis interna* kateterizasyonu.



Resim 5. Sağ v. jugularis eksterna kateterizasyonu. (a) Sağ v. jugularis eksterna yerinin gösterilmesi. (b) Sağ v. jugularis eksterna'nın kateterizasyon için temizlenmesi. (c) Sağ v. jugularis eksterna'nın kateterizasyonu.

3.5. Kalibrasyon ve Ölçüm

Basıç transduserinin kalibrasyon ayarı yapılmadan önce kateter ve kanallar heparinli %0,9 luk serum fizyolojik ile doldurulmuştur. Kalibrasyon ayarı aşağıdaki basamaklar şeklinde yapılmıştır;

- MP35 kayıt cihazının yazılımı olan BSL programı yeni kayıt olarak açılır.
- Transdusererin bağlı olduğu kanal numaraları *arterial basınç* olarak seçilir.
- Seçili kanallara istediğiniz bir isim verilir (Örneğin, Karotis gibi)
- MP35 sekmesi seçilir ve *set up channels* ekranından ilgili kanalın *ayarlar* simgesinin olduğu bölme seçilir.
- Açılan *set up* ayarında *scalling* seçilir ve açılan ekranda *cal 1* kısmının *scale value* değeri 0 ve *cal 2* kısmının *scale value* değerine 100 yazılır. *Cal 1* kısmın *input value* değeri için *cal 1* sekmesine çift tıklama yapılarak otomatik olarak kateterin (içi 250 İU/ml heparin ve %0,9 serum fizyolojik dolu) mevcut durumdaki basınç değeri hesaplanır. *Cal 2 input* değerine ise manuel olarak otomatik kalibreli transduser numarasına (transduser bağlantı kablosunda yazmaktadır) *cal 1 input* değeri pozitif ise eklenir, negatif ise çıkartılarak hesaplanan değer yazılır.
- Kayıt başlatılırken *start* imgesine tıklanır ve eğer yeni dosyadan açıldı ise uyarı gelmez fakat başka bir dosya üzerinden açıp kalibrasyon yapıldı ise bir uyarı gelir bu uyarıda *replace* yeni kayıt yapar fakat *revert* açılan dosya üzerine kayıt işlemini devam ettirir.

Kalibrasyon işlemini gerçekleştirdikten sonra denek hemodinamik parametrelerin ölçümünü ise;

Anestezi yapıldıktan sonra sıçan sırt üstü yatırılıp çene orta hizasından 5-7 cm kadar kesi işlemi yapıldı. Kesi yapıldıktan sonra önce *Sağ a. carotis interna* kateterizasyonu yapıp kayıt cihazı ölçüm için başlatıldı. Beş-On dakika kadar kayıt yaptıktan sonra *Sağ v. jugularis eksterna* kateterizasyonu gerçekleştirdik. Her iki kataterizasyon işlemi yapıp kayıt alma işlemini bir süre daha devam ettirdik (10-15 dk). Kayıt işlemi gerçekleştirildikten sonra akciğer ve kalp çıkartılarak doku örnekleri ve gerekli incelemeleri gerçekleştirdik (akciğer doku örneği, kalp ventrikül hipertrofi için ağırlık ölçümü). Daha sonra elde edilen hemodinamik parametrelerin basıç değerlerini en az beş dakikalık (300 sn) kayıtlardan ortalama olarak ölçtük. Her bir grup için ölçülen karotis ve sağ ventrikül traselerine ait 4 sn'lik görüntüler Resim 6-10'da sunulmuştur

3.6. Histolojik İnceleme

Her bir denekte sakrifikasyon sonrası trakea, bronşial bifurkasyonun 5 mm üzerinden kesilerek akciğerler dışarı alındı. 50 mililitrelik enjektör içindeki %10 luk formalin solüsyonu; bifurkasyodan kesilen sol ana bronş içine yerleştirilen kanül yardımıyla pasif olarak sol akciğere verildi. Sol akciğerler %10 luk formalin solüsyonu içinde tespit edildikten sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilenele şeffaflaştırılarak parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan yarı otomatik mikrotom ile 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen & Eozin (H&E) boyası ile boyandı. Elde edilen preparatlar, ışık mikroskobunda X 400'lük büyütmede değerlendirilerek mikroskoba entegre kamera ile fotoğraflandı ve ölçümler Analysing Research 5 programı kullanılarak yapıldı. Her akciğerde dört kadranda çapı 50 μm 'den büyük 10 adet ve 50 μm 'den küçük 10 damar değerlendirmeye alındı. En uzun/en kısa çap oranı 2'den büyük olan, tam sirküler şekilde olmayan veya damar duvarının 1/4'ünden fazlası kollabe olan damarlar değerlendirmeye alınmadı. Değerlendirmeye alınan her damar için damar lümen çapı ve dış elastik membran sınırları baz alınarak damar dış çapı belirlendikten sonra damar duvar kalınlığı $[(\text{Dış çap-lümen çapı}) / 2]$ ve oklüzyon skoru $(100 \times (\text{dış çap-lümen çapı}) / \text{dış çap})$ ayrı ayrı hesaplandı (92).

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen interval verilerilerden sağ karotis ve sağ ventrikül basınçlarının ortalama değerleri, fulton indeksi (sağ ventrikül ağırlığı / sol ventrikül + septum ağırlık oranları), pulmoner arter oklüzyon skoru ve pulmoner arter medial tabaka kalınlık değerleri gruplara göre normal dağılıp dağılmadığına bakıldı ve normal dağılım gösterenler ANOVA ile normal dağılım göstermeyenler ise Kruskal Wallis Varyans Analizi testi uygulanarak SPSS programı ile gruplararası anlamlı bir farklılığın olup olmadığına bakıldı, $p < 0,05$ anlamlılığı ile değerlendirildi. Bağımlı verilerden deney hayvanlarının kilo değişimi, başlangıç ve işlem öncesi ölçüm değerlerinin normal dağılım gösterip göstermeme durumuna göre; normal dağılım gösterenler İki Eş Arasındaki Farkın Önemlilik Testi (t testi) ile normal dağılım göstermeyenler ise Non-Parametrik testlerden Wilcoxon testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Uygulanan testlerde ve grafiklerde ortalama değerler ve standart sapmalar kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Elde edilen verilerden başlangıç ağırlıkları, ölçüm esnasındaki ağırlıkları, sağ ve sol ventrikül ağırlıkları, fulton indeksi, ortalama sağ ventrikül basıncı ve ortalama karotis basınç ölçüm verileri sırasıyla Tablo 4-8’de, gruplara ait basınç trase örnekleri ise Resim 6-10’da sunulmuştur.

Tablo 4. Deney gruplarının ağırlık değişimine ait veri ortalamaları ve standart sapmaları

Grup		Başlangıç ağırlık (gr)		Ölçüm öncesi ağırlık (gr)	
		N	Ortalama ± (SD)	N	Ortalama ± (SD)
Ağırlıklar (gr)	Kontrol	10	253.88±22.50	7	256.43±21.87
	MCT_14	10	367.70 ±19.34	10	365.80±27.17
	MCT_28	10	369.20 ±43.47	10	377.30±47.94
	MCT_14_MRB_14	10	379.20±23.28	7	309.50±50.20
	MCT_28_MRB_14	10	368.40±37.12	7	327.40±41.22

Tablo 5. Sağ ve sol ventrikül ağırlıkları ve fulton indeksi ortalamaları ve standart sapmaları

Grup		Sağ ventrikül (gr)		Sol ventrikül (gr)		Fulton İndeksi
		N	Ortalama ± SD	N	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD
Ventrikül ağırlıkları (gr)	Kontrol	7	0.16±0.03	7	0.56±0.08	0.29±0.03
	MCT_14	10	0.21±0.03	10	0.72±0.06	0.30±0.03
	MCT_28	10	0.26±0.04	10	0.73±0.08	0.36±0.03
	MCT_14_MRB_14	7	0.23±0.06	7	0.78±0.09	0.29±0.05
	MCT_28_MRB_14	7	0.25±0.02	7	0.68±0.07	0.38±0.05

Tablo 6. Sağ ventrikül ve karotis arter basınç değerlerine ait veri ortalamaları ve standart sapmaları

Grup		Sağ ventrikül		Karotis arter	
		N	Ortalama ± SD	N	Ortalama ± SD
Basınçlar (mmHg)	Kontrol	6	6.67±2.12	7	79.89±11.10
	MCT_14	6	6.13±0.83	7	80.42±11.63
	MCT_28	6	14.95±5.23	7	76.09±9.17
	MCT_14_MRB_14	6	6.23±1.86	7	80.56±13.61
	MCT_28_MRB_14	6	12.66±4.88	7	73.79±14.7

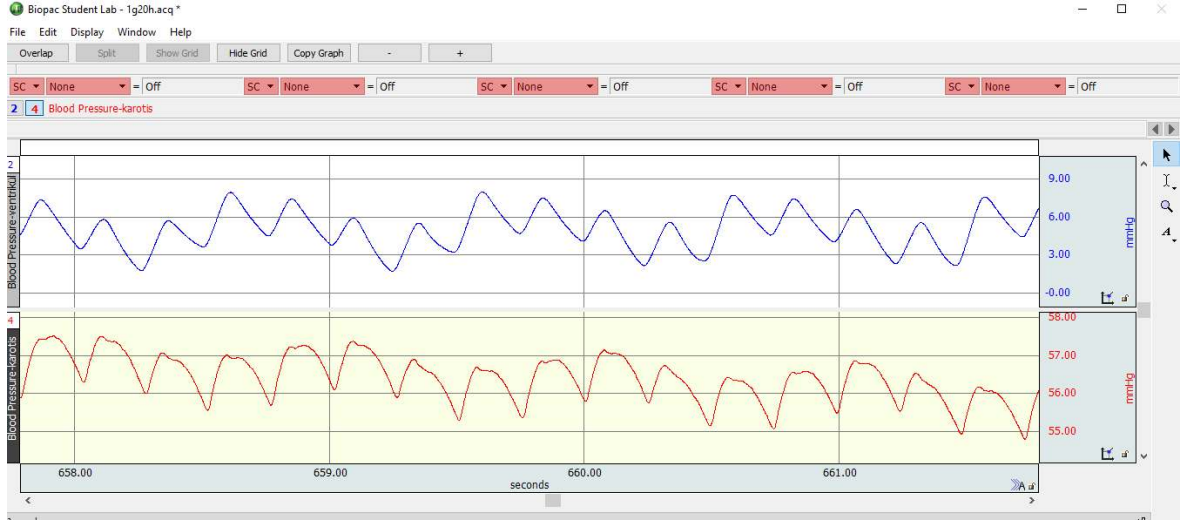
Tablo 7. Deney grup bireylerinin histolojik ölçümlerine ait ortalama veriler*

Grup	No	Pulmoner arter duvar kalınlığı	Oklüzyon yüzdesi
Kontrol	1	4.06	7.81
	2	3.45	8.02
	3	3.15	7.08
	4	4.64	8.86
	5	4.69	8.30
	6	5.30	7.47
MCT_14	1	8.94	17.42
	2	11.46	20.25
	3	9.69	19.71
	4	9.50	20.35
	5	10.23	26.39
	6	9.27	21.56
MCT_14_MRB_14	1	11.53	25.12
	2	11.91	23.19
	3	12.7	21.6
	4	11.2	27.3
	5	11.7	19.7
MCT_28	1	15.36	42.72
	2	14.39	46.42
	3	14.31	43.61
	4	13.86	74.92
	5	14.47	45.89
	6	15.15	47.07
MCT_28_MRB_14	1	10.88	25.10
	2	11.72	23.33
	3	11.40	26.29
	4	12.62	21.65
	5	10.85	23.69

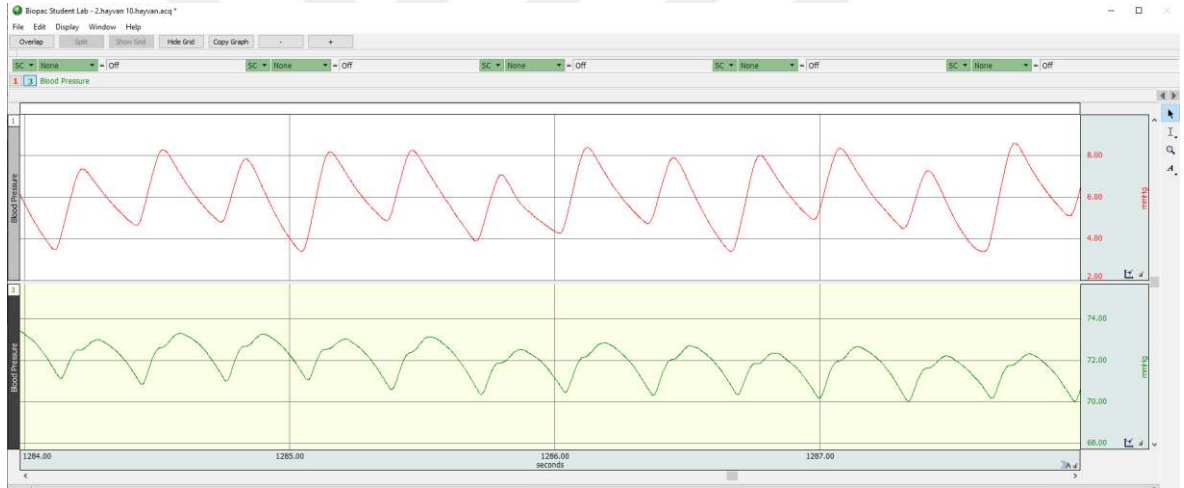
*: Ortalama veriler; herbir grup bireyinin 40 farklı damar ölçümünden elde edilmiştir

Tablo 8. Grupların histolojik ölçümlerine ait veri ortalamaları ve standart sapmaları

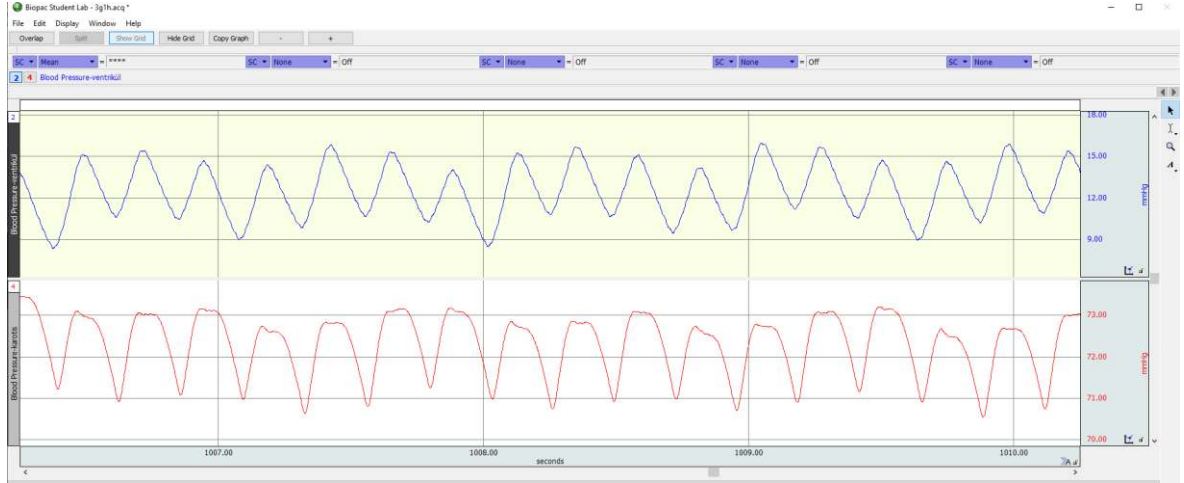
Grup	Pulmoner arter damar kalınlığı (µm)		Pulmoner arter oklüzyon yüzdesi	
	N	Ortalama ± SD	N	Ortalama ± SD
Kontrol	6	4.22±0.82	6	7.92±0.63
MCT_14	6	9.85±0.90	6	20.95±2.99
MCT_28	6	14.59±0.56	6	45.61±2.03
MCT_14_MRB_14	5	11.81±0.56	5	23.38±2.96
MCT_28_MRB_14	5	11.49±0.73	5	24.01±1.77



Resim 6. Kontrol grubuna ait karotis arter (alt trase) ve sağ ventrikül (üst trase) trase örneği (iki dikey çizgi arası 1 sn'dir)



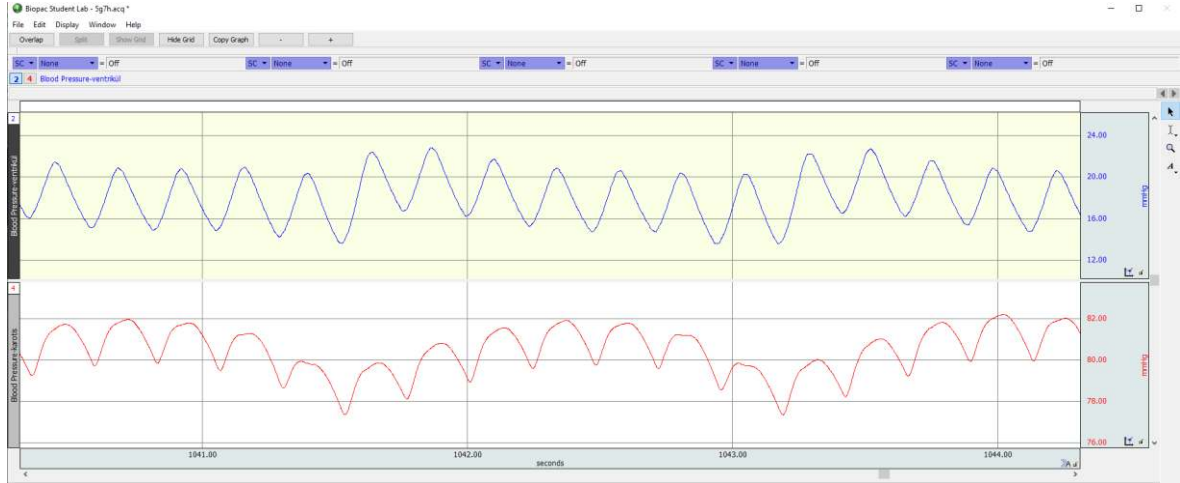
Resim 7. MCT_14 grubuna ait karotis arter ve sağ ventrikül trase örneği (iki dikey çizgi arası 1 sn'dir)



Resim 8. MCT_28 grubuna ait karotis arter ve sağ ventrikul trase 6rneđi (iki dikey çizgi arası 1 sn'dir)

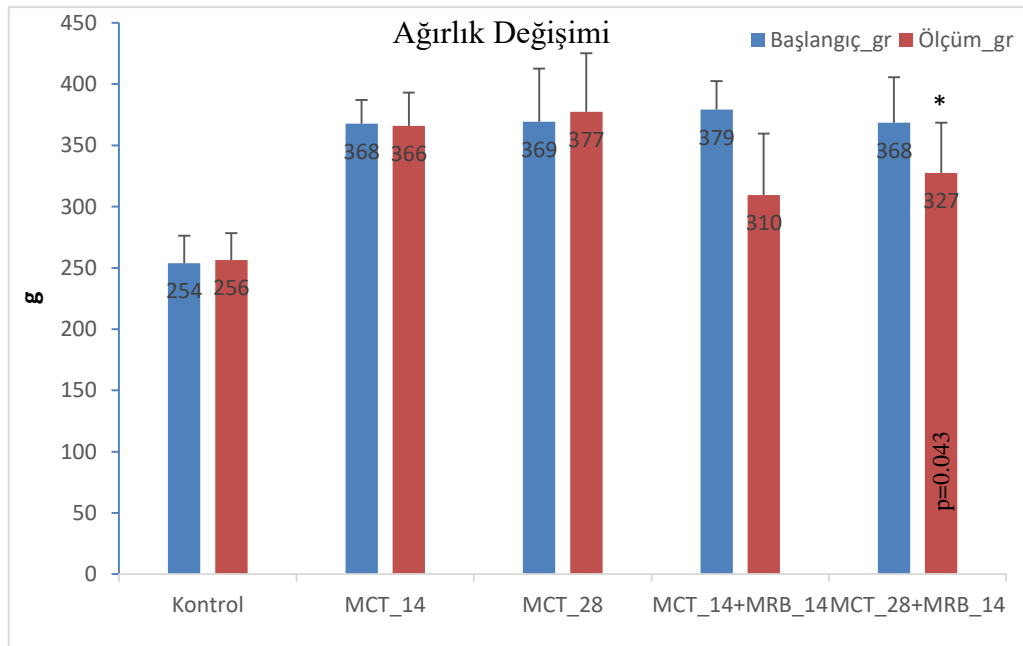


Resim 9. MCT_14_MRB_14 grubuna ait karotis arter ve sağ ventrikul trase 6rneđi (iki dikey çizgi arası 1 sn'dir)



Resim 10. MCT_28_MRB_14 grubuna ait karotid arter ve sağ ventrikül trase örneği (iki dikey çizgi arası 1 sn'dir)

Grup içi ağırlık değişimi; deney başlangıç ağırlıkları ve ölçüm zamanı ağırlıkları yönünden karşılaştırılmıştır. Ölçümler arasında bir fark olup olmadığı önce her bir grup, iki ölçüm açısından normal dağılıp dağılmadığına bakıldı. Gruplardan MCT_28_MRB_14 grubu normal dağılım göstermediği için ($p < 0.05$) Wilcoxon işaret testi ile diğer gruplar ise t testi ile anlamlı farklılığın olup olmadığı değerlendirildi ve MCT_28_MRB_14 grubunda iki ölçüm arasında $p < 0.05$ ile anlamlı farklılık göstermiş olup sonuçlar Şekil 5'de sunulmuştur.

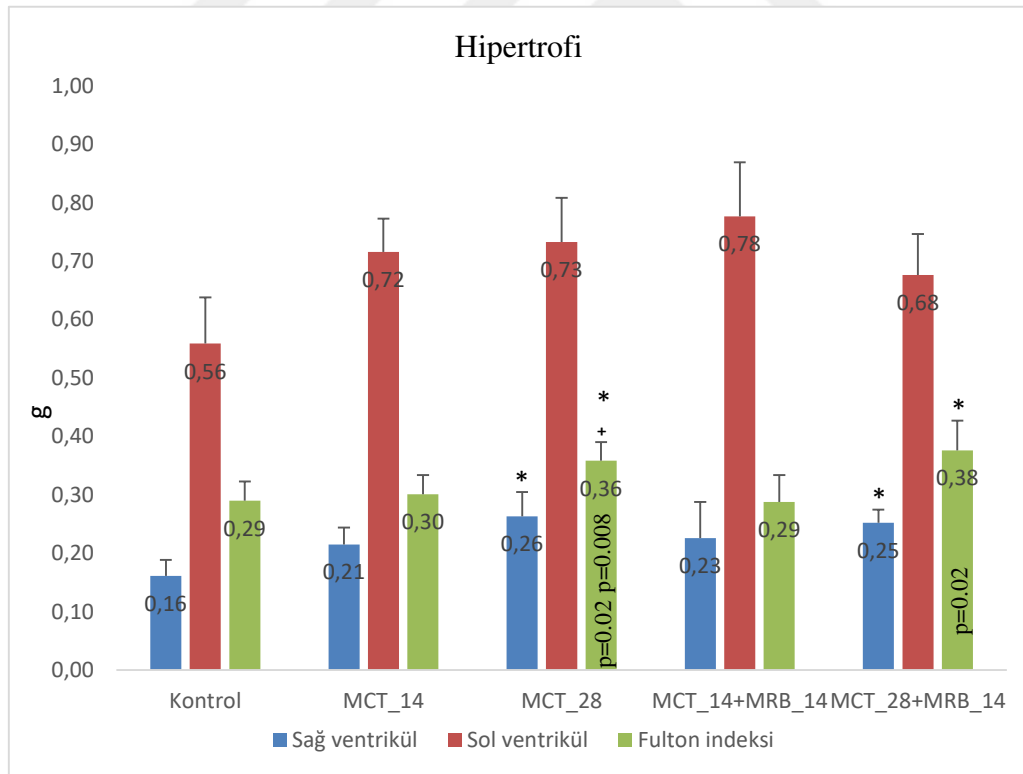


Şekil 5. Gruplara ait ağırlık değişimlerinin karşılaştırılması. Grafikte ortalama değer ve $\pm$ SD değerleri kullanılmıştır. *: Başlangıç ağırlığına göre grup içinde anlamlı farklılığı işaret etmektedir.

Sağ ventrikül ağırlıkları arasında herhangi bir farklılık olup olmadığını; önce verilerin normal dağılıp dağılmadığına homejenite testi ile baktık. Daha sonra tüm grup verileri $p<0.05$ olduğu, yani normal dağılım göstermedikleri için Non-Parametrik testlerden Kuruskal-Wallis testi uyguladık. MCT_28 ve MCT_28_MRB_14 grubu verileri $p<0.05$ ile kontrol grubu verilerine anlamlı farklılık göstermiş olup sonuçlar Şekil 6’de sunulmuştur.

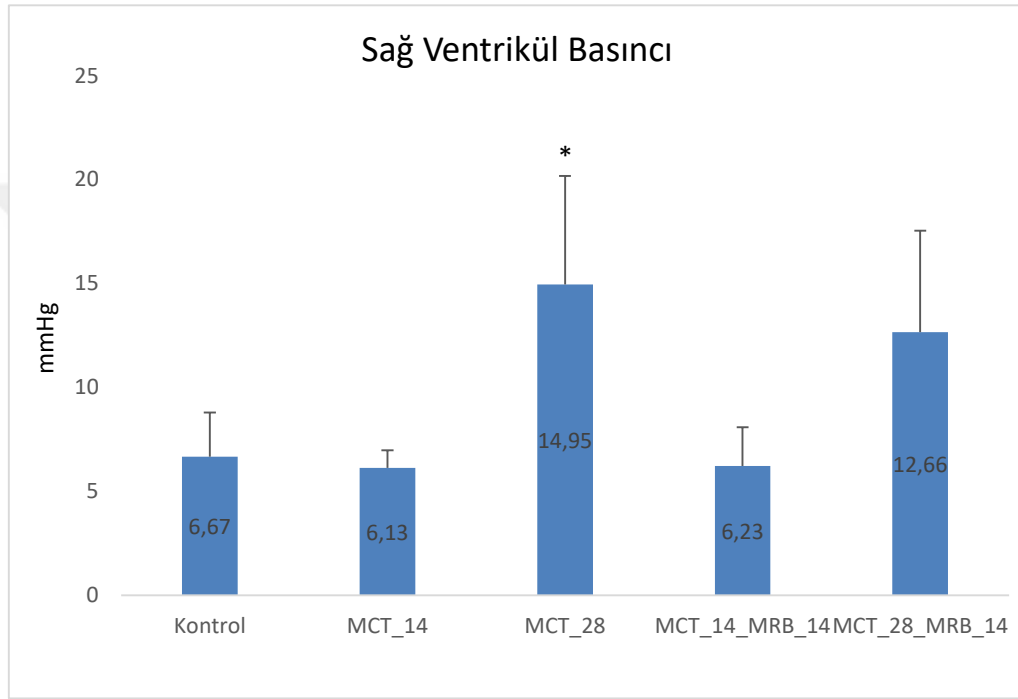
Grupların sol ventrikül ağırlıkları arasında herhangi bir farklılık olup olmadığını; önce verilerin normal dağılıp dağılmadığına baktık, daha sonra tüm grup verileri $p>0.05$ olduğu, yani normal dağılım gösterdikleri için ANOVA testi uyguladık ve gruplar arasında $p=0.392$ ile anlamlı farklılık olmadığını bulunmuş olup sonuçlar Şekil 6’de sunulmuştur.

Fulton indeksi karşılaştırmasında tüm grup verileri $p<0.05$ ile normal dağılım göstermedikleri için Non-Parametrik testlerden Kuruskal-Wallis testi uyguladık. Kontrol grubu ile MCT_28, MCT_28_MRB_14 grubu ve MCT_14 ile MCT_28 grupları verilerinin $p<0.05$ ile anlamlı olarak farklı olduğunu bulunmuş olup sonuçlar Şekil 6’de sunulmuştur.



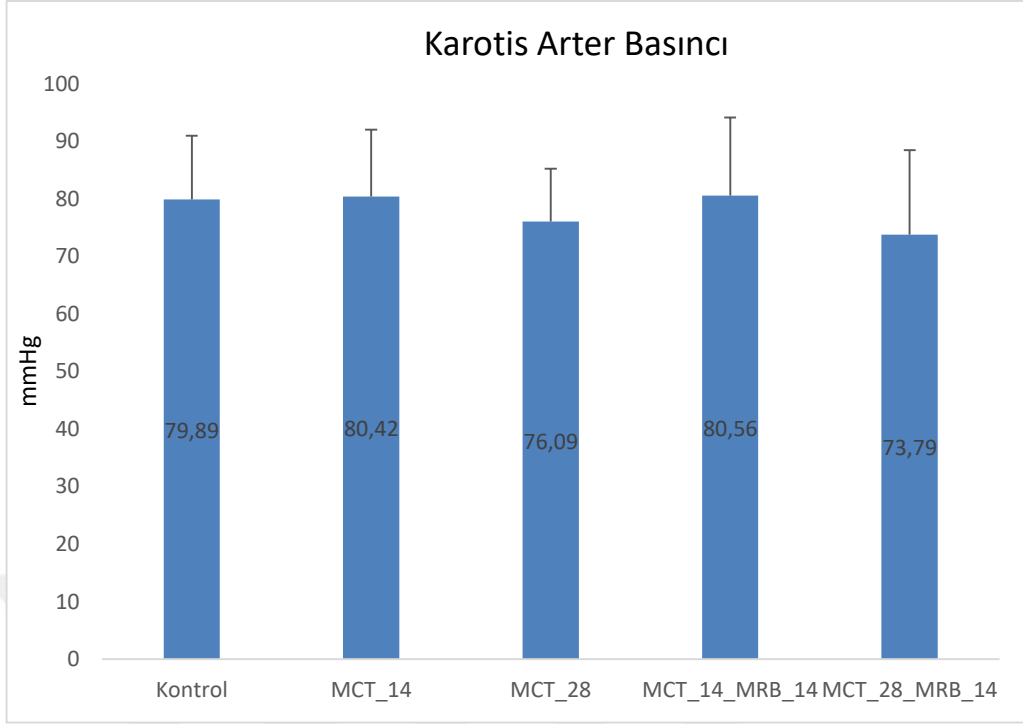
Şekil 6. Grupların ventrikül hipertrofisi yönünden karşılaştırılması. Grafikte ortalama değer ve $\pm$ SD değerleri kullanılmıştır. *: Kontrol grubuna göre, +: MCT 14 grubuna göre anlamlı farklılığını işaret etmektedir.

Grupların sağ ventrikül basınçları arasında herhangi bir farklılık olup olmadığını; verilerin normal dağılıp dağılmadığına baktık. Tüm grup verileri $p>0,05$ olduğu için yani normal dağılım gösterdikleri için ANOVA testi uyguladık, gruplar arasında $p<0,05$ ile anlamlı farklılık olduğu ve homojen olduğu için ($p>0,05$) Post Hoc testlerinden Bonferroni testi uyguladık. Test sonucu $p<0,05$ ile MCT_28 ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olduğunu bulunmuş olup sonuçlar Şekil 7’de sunulmuştur.



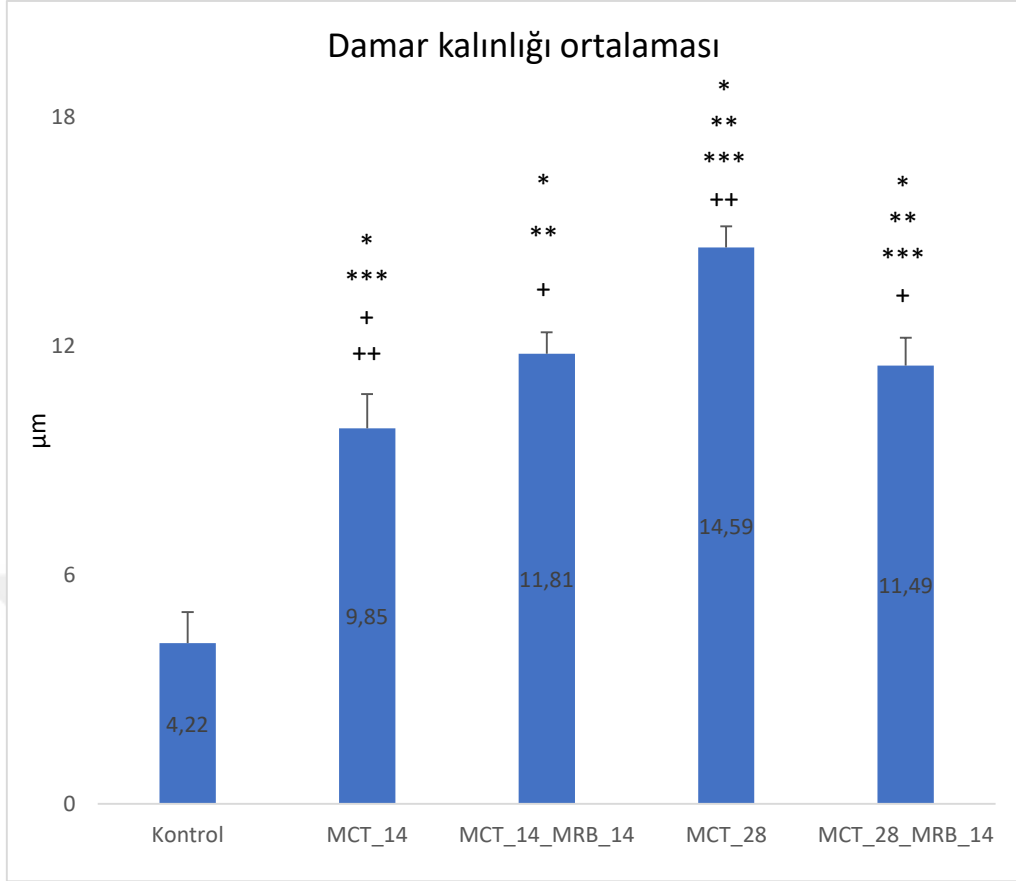
Şekil 7. Sağ ventrikül basınç değerlerinin gösterilmesi. Grafikte ortalama değer ve $\pm$ SD değerleri kullanılmıştır. *: Kontrol grubuna göre anlamlı farklılığı işaret etmektedir.

Karotis basınçları arasında herhangi bir farklılık olup olmadığını; önce verilerin normal dağılıp dağılmadığına baktık. Daha sonra tüm grup verileri $p>0,05$ olduğu için yani normal dağılım gösterdikleri için ANOVA testi uyguladık ve gruplar arasında $p>0,05$ ile anlamlı farklılık olmadığını bulunmuş olup sonuçlar Şekil 8’de sunulmuştur.



Şekil 8. Karotis arter basıncı ortalaması değerlerinin gösterilmesi. Grafikte ortalama değer ve $\pm$ SD değerleri kullanılmıştır.

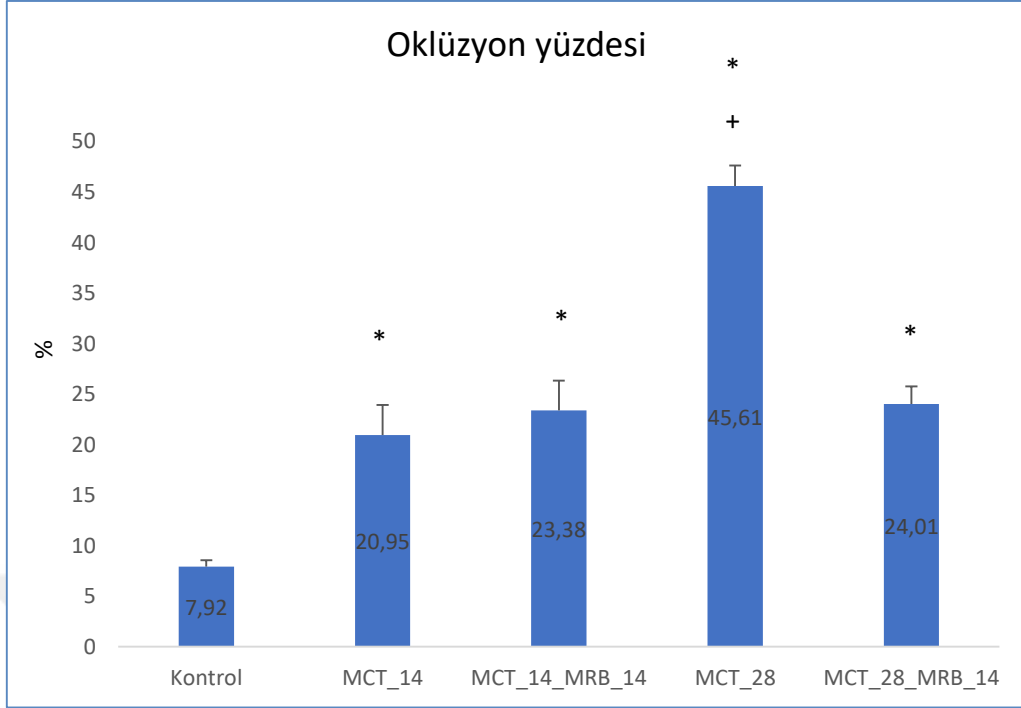
Ortalama pulmoner arter damar duvarları kalınlığı arasında herhangi bir farklılık olup olmadığını; önce verilerin normal dağılıp dağılmadığına baktık. Daha sonra tüm grup verileri $p>0,05$ olduğu için yani normal dağılım gösterdikleri için ANOVA testi uyguladık. Gruplar arasında $p>0,05$ ile anlamlı farklılık olduğu ve dağılım homojen olduğu için ($p>0,05$) Post Hoc testlerinden Bonferroni testi $p<0,05$ ile tüm grupların kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösterdiğini bulduk. Ayrıca; MCT_14 ve MCT_28 grupları diğer tüm gruplar ile MCT_14_MRB_14 ve MCT_28_MRB_14 grupları MCT_14 ve MCT_28 grupları aralarında anlamlı farklılık bulunmuş olup sonuçlar Şekil 9’da sunulmuştur.



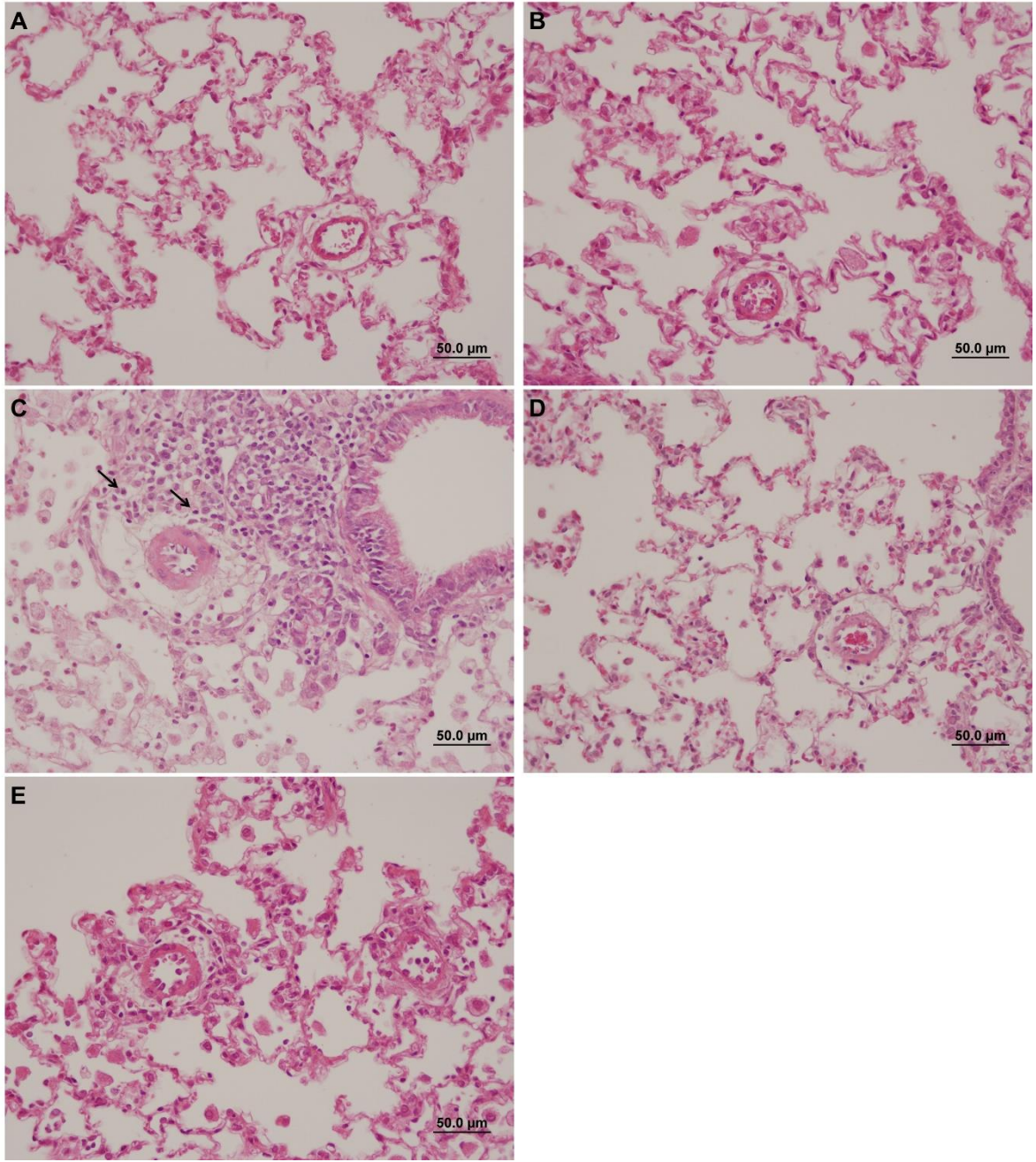
Şekil 9. Deney hayvanlarına ait pulmoner arter damar duvarı kalınlığı değerlerinin gösterilmesi. Damar kalınlığı, (damar dış çap-lümen çapı)/2) şeklinde hesaplanmıştır. Grafikte ortalama değer ve $\pm$ SD değerleri kullanılmıştır. *: Kontrol grubuna, **: MCT_14 grubuna, ***: MCT_14_MRB_14 grubuna, +:MCT_28 grubuna, ++: MCT_14_MRB_28 grubuna göre anlamlı farklılığı işaret etmektedir.

Pulmoner arter damar oklüzyon yüzdesi değerleri arasında herhangi bir farklılık olup olmadığını ise; verilerin normal dağılıp dağılmadığına baktık. Tüm grup verileri $p > 0,05$ ile normal dağılım gösterdikleri için ANOVA testi uyguladık ve gruplar arasında $p > 0,05$ ile anlamlı farklılık ve dağılımın homojen olmasından dolayı ($p > 0,05$) Post Hoc testlerinden Bonferroni testi yaptık ve $p < 0,05$ ile tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı fark olduğu bulunmuş olup sonuçlar Şekil 10’da sunulmuştur.

Ayrıca histopatolojik olarak dokuların görüntüleri incelendiğinde; kontrol grubu akciğer kesitlerinde damarların normal yapıda olduğu ve tunika adventisyalarda az sayıda hücre, MCT_28 grubunda belirgin, MCT_14 ve MCT_28_MRB_14 gruplarında ise hafif olmak üzere; damarların tunika adventisyalı ve çevrelerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu bulgularına rastlanmış olup görüntüler Resim 11’de sunulmuştur.



Şekil 10. Pulmoner arter oklüzyon yüzdesi değerlerinin gösterilmesi. Oklüzyon yüzdesi, $(100 \times (\text{dış çap} - \text{lümen çap}) / \text{dış çap})$ şeklinde hesaplanmıştır. Grafikte ortalama değer ve $\pm$ SD değerleri kullanılmıştır. *: kontrol grubuna, +: Diğer tüm guruplara göre anlamlı farklılığını işaret etmektedir.



Resim 11. Deney gruplarına ait x400 büyütmeli histolojik görüntüler. (A) Kontrol, (B) MCT_14, (C) MCT_28, (D) MCT_28_MRB_14 ve (E) MCT_14_MRB_14 grubunu ait görüntülerdir. “Ok” Damarların tunika adventisyalı ve çevrelerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonunu göstermektedir. Histolojik incelemeler Hematoksilen & Eozin boyaması ile yapılmıştır.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, β 3AR selektif agonisti olan MRB'nin Pulmoner Arterial Hipertansiyon sıçan modeli oluşturularak hastalığın belirtilerinden olan pulmoner arter basınç artışı, sağ ventrikül hipertrofisi ve pulmoner arter medial tabaka hipertrofisi üzerine düzeltici bir etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

Elde edilen verilerden sağ ventrikül basınçlarında, model oluşturmak için uygulanan MCT 60 mg/kg tek doz uygulamasını takiben 28 gün sonra (15 mmHg) kontrol grubuna göre (7 mmHg) anlamlı bir şekilde sağ ventrikül basınç artışı ortaya çıkmıştır (Şekil 7). Sztuka ve arkadaşlarının yapmış olduğu meta analiz çalışmasında pulmoner hipertansiyon hayvan modellerinde MCT 60 mg/kg uygulamasını takiben basınç ölçümler 28 gün sonra sağ ventrikül sistolik basınç ortalamasını 32,97 mmHg (28.75–37.18 mmHg) olarak bulmuş olup (93) bizim bulgularımız daha düşük olup kontrol grubuna göre fark ise 10-45 mmHg arasında değişmektedir. Bizim bulgularımızda ise fark 8 mmHg dır. Pankey ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise pulmoner arter basıncını 56 mmHg gibi yüksek bulmakla birlikte kontrol grubunun değeri ise 22 mmHg'dır (94). Yapılan çalışmalarda basınç farklılıklarının görülmesi ölçüm yapılan deney düzeneklerinden kaynaklanabilmekte olup kontrol ve MCT uygulan grup arasında anlamlı farklılığın oluşması modelin oluşumunu desteklemektedir.

Yaptığımız bu çalışmada, tedavi amaçlı verdiğimiz MRB 50 mg/gün sağ ventrikül basıncını MCT_28 grubunda 15 mmHg iken MCT_14_MRB_14 grubunda 13 mmHg değerlerin bulunmuştur (Şekil 7). MRB daha önce grup 1 PH modelinde çalışılmamakla birlikte Ana Garcia-Alvarez ve arkadaşları tarafından, MRB 100 mg/gün olarak, elma içinde, 14 gün boyunca besleyerek grup 2 PH domuz modelinde çalışmıştır (95). Çalışmada ortalama pulmoner arter basıncında anlamlı bir değişim göstermemekle birlikte kardiyak indekste (Kalp debisinin vücut yüzey alanının her bir metrekaresi başına düşen miktarıdır) artışa neden olmuştur. Bizim yaptığımız bu çalışmada grup 1 PH modeli olup, tedavi amaçlı verdiğimiz MRB 50 mg/gün sağ ventrikül basıncını 15 mmHg'den 13 mmHg değerlerine düşürmüş ve kontrol grubuyla kıyaslandığında da aralarında anlamlı farkın olmaması sağ ventrikül basınç düşürme yönünden etkiye sahip olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Sistemik basıncı yansıtan karotis arter basıç verilerinde ölçülen tüm gruplar benzerlik göstermekte ve aralarında herhangi bir anlamlı farklılık görülmemektedir (Şekil 8). Bununla birlikte MCT uygulamasının 28.gününden sonra 14 gün boyunca MRB uygulanan grupta

diğerlerine göre bir miktar daha düşük bulunmuştur. Ana Garcia-Alvarez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MRB'nin sistemik kan basıncı üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (domuzlarda tedavi öncesi 116 mmHg olan basınç, tedavi sonrası 118 mmHg'lere yükselmiştir) (95). Pankey ve ark. (94) yapmış olduğu çalışmada ise MRB'nin 0,3 mg/kg iv enjeksiyonu sonrası ortalama arteriöl kan basıncında azalmaya sebep olduğunu göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise karotis arter basıncı kontrol grubuna göre bir miktar (kontrol 80 mmHg – MRB 76 mmHg) daha düşük olmakla birlikte aralarında anlamlı farklılık görülmemiştir.

Sağ ventrikül hipertrofinin olup olmadığını yansıtan Fulton indeksi; MCT_28 grubunda, hem kontrol hem de MCT_14 grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda MCT'ye maruz kalma süresine bağlı olarak hipertrofi oranının artış gösterdiği verileri mevcuttur (93). Şekil 6'daki sonuçlar MCT 60 mg/kg tek doz uygulaması sonrasında 14 gün sonunda sağ ventrikülün anlamlı bir şekilde hipertrofiye uğramadığını fakat 28 gün sonra ise anlamlı bir şekilde sağ ventrikül hipertrofinin geliştiğini göstermektedir. MCT uygulamasından 28 gün sonra 14 günlük MRB 50 mg/gün uygulamasında da benzer şekilde kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu sonuç ise MCT'ye maruz kalma süresinin uzayıp hipertrofinin artması sonrasında MRB'nin tedavisinin geriye döndürme açısından olumlu bir etkisinin olmadığını göstermektedir. MCT uygulamasının 14.günüden sonra 14 günlük MRB 50 mg/gün tedavi uygulanmasının ise hipertrofi indeks ortalamasının (0,30) kontrol grubuyla (0,29) benzer olması hipertrofiyi önlemede etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Histolojik olarak, pulmoner arter medial tabaka musküler kalınlaşması (Şekil 9) ve intima tabakasında ise lümeneye doğru oklüzyon oluşumu yüzdesi açısından (Şekil 10) incelemede bulunduk. Musküler kalınlaşma yönünden, MCT uygulamasını takiben 14 gün ve 28 günlük gruplarda kontrol grubuna göre literatürlerde (96) de olduğu gibi anlamlı olarak damar kalınlaşması gerçekleşmiş olup MCT 28 günlük grupta 14 günlük gruba göre ise anlamlı olarak daha fazla musküler kalınlaşma oluşmuş olup MCT maruziyetinin zamanla kalınlaşmayı artırdığını göstermektedir. MCT_28_MRB_14 ve MCT_14_MRB_14 gruplarında ise MCT_28 grubuna göre anlamlı olarak musküler kalınlaşma daha az bulunmuştur. Bu sonuç ise oluşan musküler kalınlaşmanın MRB uygulamasıyla azaltılabileceğini göstermiştir. Pulmoner arter damar lümeninde oluşan oklüzyon yüzdesi, MCT 14 günlük ve 28 günlük uygulama sonrası gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı

olarak literatürlerdeki bulgulara (96, 92) paralel olarak fazla bulunmuştur. Ayrıca MCT_28 grubunda MCT_14 grubuna göre anlamlı olarak oklüzyon yüzdesi fazla bulunmuş olup bu da damar kanlışmasında ki durum gibi MCT maruziyet süresiyle arttığını göstermektedir. MCT_28_MRB_14 ve MC_14_MRB_14 gruplarında MCT_28 grubuna göre anlamlı olarak daha az oklüzyon görülmüştür ve ayrıca MCT_14 grubu ile de aralarında bir fark görülmemiştir. Ana Garcia-Alvarez ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada (95) MRB'nin pulmoner arter lümeninde oluşan parankim hücre kaynaklı oklüzyonu azaltmada etkinliğinin olduğunu göstermiştir. MRB'un 14 gün boyunca pulmoner arterial hipertansiyon gelişen hayvanlarda hem pulmoner arter damar lümenine doğru oluşan oklüzyonu hem de pulmoner arter damar kalınlaşmasını azaltma yönünden pozitif bir etki gösterdiğini ve literatürlerle benzer olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca MCT uygulamasını takiben 28 gün sonra damarların tunika adventisyalı ve çevrelerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonunun görülüp MCT_28_MRB_14 grubunda görülmemesi (Resim 11) MRB'nin iyileşmeye yönelik pozitif yönde etkisinin olabileceği yönünde yorumlayabiliriz.

Yaptığımız çalışmada deney hayvanları üzerinde grup 1 PH hastalık modelinin oluşumunu sağlayan MCT ve oluşan hastalığın üzerine etkisinin olup olmadığını incelediğimiz MRB maddesinin deney hayvanlarında kilo kaybına sebep olup olmadığını ise ağırlık değişimlerine bakılarak incelenmiştir (Şekil 5). Ağırlık değişimi için geçen süre kontrol grubu için; birinci hayvanda 1 gün, ikincide 2 gün şeklinde orantısal olarak yedinci hayvanda 7 gün şeklindedir. Her ne kadar istatistiksel değerlendirme yapsakta bu bulgular kontrol grubu içinde sürelerin eşit olmamasından dolayı doğru bir değerlendirme olmaktadır. MCT_14 grubunda; 14 günlük bir değişim süresi, MCT_14_MRB_14 grubunda; 28 gün, MCT_28 grubunda; 28 gün ve MCT_28_MRB_14 grubunda; 42 gündür. Gruplar içerisinde anlamlı olarak MCT_28_MRB_14 günlük grupta kilo kaybı yaşanması yönünden anlamlı fark bulunmuştur. Diğer MCT'li gruplarda anlamlılığın olmaması kilo kayıp nedeninin MRB'den kaynaklandığını işaret etmektedir. Bunu literatürler ışığında ele aldığımızda ise β 3AR'lerin obezite ve metabolik hastalıklarla mücadelede uzun zamandan beri terapötik bir hedef olduğu bilinmektedir (97). MRB'nin bir selektif β 3AR agonisti olduğu ve onaylı endikasyonunun dışında da farklı endikasyon çalışmalarının yer aldığına dayanarak (tip-2 diyabet, Obesite) (98-100) kilo kayıp sebeplerinin adipoz doku lipoliz etkisinden kaynaklı olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmada, selektif β AR3 agonisti olan Mirabegron'un pulmoner hipertansiyonun alt gruplarından biri olan Pulmoner Arterial Hipertansiyon'a etkisi sıçanlarda monokrotalin ile oluşturulmuş deneysel modelde araştırılmıştır. Mirabegron sıçanlarda 50 mg/gün dozunda 14 gün oral gavaj olarak uygulanmış olup etkisi pulmoner arter basıncına, sağ ventrikül hipertrofisine, pulmoner arter muskularizasyona ve pulmoner arter oklüzyon yüzdesine bakılarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmelere göre;

1. Pulmoner arter basıncına etkisi sağ ventrikül basıncına bakılarak değerlendirilmiş ve anlamlı olarak basınç düşürmesi yapmamakla birlikte bir miktar azalma sağladığı söylenebilir.
2. Sağ ventrikül hipertrofisini geri çevirmeye yönelik bir etkisinin olmadığı fakat hipertrofiyi önlemede etkisinin olabildiği söylenebilir.
3. Pulmoner arter musküler tabaka kalınlaşmasını azaltıcı veya geriye döndürme yönünde anlamlı bir etki göstermediği söylenebilir.
4. Pulmoner arter lümen daralmasını azaltıcı etkisi oklüzyon yüzdesi ile değerlendirilmiş olup lümenin daralmasını düzeltme yönünden bir etki gösterdiği söylenebilir.
5. Pulmoner arterlerin tunika adventisyalı ve çevrelerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonunu ortadan kaldırma yönünde de bir etkisinin olduğu söylenebilir.

Bu sonuçlar doğrultusunda; Mirabegron'un pulmoner arterial hipertansiyonun semptomlarını düzeltmeye yönelik pozitif bir etkisinin olduğu sonucu çıkartılabilir fakat klinikte PAH'lu insanlarda kullanılabilmesi için incelenmeyen başka hemodinamik parametreler yönünden veya yapılan çalışmanın bir hayvan deneyi olmasından kaynaklı daha fazla ve daha geniş parametrelerin bakılacağı hem hayvan hem de insan deneylerine gereksinim olduğu görülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Hoeper MM, Bogaard HJ, Condliffe R, Frantz R, Khanna D, Kurzyna M, Langleben D, Manes A, Satoh T, Torres F, Wilkins MR, Badesch DB (2013). Definitions and diagnosis of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 62: 42-50.
2. D'Alonzo GE, Barst RJ, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Kernis JT, et al. (1991). Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. *Ann Intern Med* 115: 343-349.
3. Benza RL, Miller DP, Barst RJ, Badesch DB, Frost AE, McGoon MD (2012). An evaluation of long-term survival from time of diagnosis in pulmonary arterial hypertension from the REVEAL Registry. *Chest* 142: 448-456.
4. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, Bertocchi M, Habib G, Gressin V, Yaici A, Weitzenblum E, Cordier JF, Chabot F, Dromer C, Pison C, Reynaud-Gaubert M, Haloun A, Laurent M, Hachulla E, Simonneau G (2006). Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry. *Am J Respir Crit Care Med* 173: 1023-1030.
5. Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, Celermajer D, Denton C, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Krishna Kumar R, Landzberg M, Machado RF, Olschewski H, Robbins IM, Souza R (2013). Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 62: 34-41.
6. McLaughlin VV, Shah SJ, Souza R, Humbert M (2015). Management of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 65: 1976-1997.
7. Michel LYM, Balligand JL (2017). New and Emerging Therapies and Targets: Beta-3 Agonists. *Handb Exp Pharmacol* 243: 205-223.
8. Emorine LJ, Marullo S, Briand-Sutren MM, Patey G, Tate K, Delavie-Klutchko C, Strosberg AD (1989). Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor. *Science* 245: 1118-1121.
9. Vij M, Drake MJ (2015). Clinical use of the beta3 adrenoceptor agonist mirabegron in patients with overactive bladder syndrome. *Ther Adv Urol* 7: 241-248.

10. Gauthier C, Tavernier G, Charpentier F, Langin D, Le Marec H (1996). Functional beta3-adrenoceptor in the human heart. *J Clin Invest* 98: 556-562.
11. Massion PB, Dessy C, Desjardins F, Pelat M, Havaux X, Belge C, Moulin P, Guiot Y, Feron O, Janssens S, Balligand JL (2004). Cardiomyocyte-restricted overexpression of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) attenuates beta-adrenergic stimulation and reinforces vagal inhibition of cardiac contraction. *Circulation* 110: 2666-2672.
12. Gauthier C, Tavernier G, Trochu JN, Leblais V, Laurent K, Langin D, Escande D, Le Marec H (1999). Interspecies differences in the cardiac negative inotropic effects of beta(3)-adrenoceptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 290: 687-693.
13. Moniotte S, Vaerman JL, Kockx MM, Larrouy D, Langin D, Noirhomme P, Balligand JL (2001). Real-time RT-PCR for the detection of beta-adrenoceptor messenger RNAs in small human endomyocardial biopsies. *J Mol Cell Cardiol* 33: 2121-2133.
14. Amour J, Loyer X, Le Guen M, Mabrouk N, David JS, Camors E, Carusio N, Vivien B, Andriantsitohaina R, Heymes C, Riou B (2007). Altered contractile response due to increased beta3-adrenoceptor stimulation in diabetic cardiomyopathy: the role of nitric oxide synthase 1-derived nitric oxide. *Anesthesiology* 107: 452-460.
15. Dincer UD, Bidasee KR, Guner S, Tay A, Ozcelikay AT, Altan VM (2001). The effect of diabetes on expression of beta1-, beta2-, and beta3-adrenoreceptors in rat hearts. *Diabetes* 50: 455-461.
16. Rita Nogueira-Ferreira GF-C, Rita Ferreira, Tiago Henriques-Coelho (2016). Animal Models for the Study of Pulmonary Hypertension: Potential and Limitations. *Cardiology and Cardiovascular Medicine* (1): 1-22. 10.26502/fccm.9292001.
17. Guang-qiao Zeng RL, Hai-xing Liao, Xin-feng Zhang, Yuan-xin Qian, Bao-hua Liu, Qing-hong Wu, Jin Zhao, Wei-wang Gu, and Hong-tao Li (2013). Single Intraperitoneal Injection of Monocrotaline as a Novel Large Animal Model of Chronic Pulmonary Hypertension in Tibet Minipigs. *PLoS One* 8: 78965.

18. Jose G Gomez-Arroyo LF, Aysar A Alhussaini, Daniela Farkas, Donatas Kraskauskas, Norbert F Voelkel, Harm J Bogaard (2011). The Monocrotaline Model of Pulmonary Hypertension in Perspective *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 302: 363-369.
19. Glenn R.Marsboom SPJ (2004). Models for pulmonary hypertension. *Models for pulmonary hypertension* 1(3): 289-296.
20. Katherine S. Hilliker TGB, Robert A. Roth (1982). Pneumotoxicity and thrombocytopenia after single injection of monocrotaline. *Am J Physiol* 242: 573-579.
21. T Sugita TMH, I M Dauber, W W Wagner, I F McMurtry, J T Reeves (1983). Lung Vessel Leak Precedes Right Ventricular Hypertrophy in Monocrotaline-Treated Rats *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 54: 371-374.
22. H C Rosenberg MR (1988). Endothelial Injury and Vascular Reactivity in Monocrotaline Pulmonary Hypertension. *Am J Physiol* 255: 1484-1491.
23. K M Ito MS, K Ushijima, M Nakai, K Ito (2000). Alterations of Endothelium and Smooth Muscle Function in Monocrotaline-Induced Pulmonary Hypertensive Arteries *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279: 1786-1795.
24. Laszlo Farkas DF, Kjetil Ask, Antje Möller, Jack Gauldie, Peter Margetts, Mark Inman, Martin Kolb (2009). VEGF ameliorates pulmonary hypertension through inhibition of endothelial apoptosis in experimental lung fibrosis in rats. *J Clin Invest* 119: 1298-1311.
25. Tonelli AR, Arelli V, Minai OA, Newman J, Bair N, Heresi GA, Dweik RA (2013). Aug 1. Causes and circumstances of death in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 188: 365-369.
26. Vonk-Noordegraaf A, Haddad F, Chin KM, Forfia PR, Kawut SM, Lumens J, Naeije R, Newman J, Oudiz RJ, Provencher S, Torbicki A, Voelkel NF, Hassoun PM (2013). Right heart adaptation to pulmonary arterial hypertension: physiology and pathobiology. *J Am Coll Cardiol* 62: 22-33.
27. Kovacs G, Berghold A, Scheidl S, Olschewski H (2009). Oct. Pulmonary arterial pressure during rest and exercise in healthy subjects: a systematic review. *Eur Respir J* 34: 888-894.

28. Rich S RL, Abenhail L, (1998). Executive Summary From the World Symposium on Primary Pulmonary Hypertension Geneva, Switzerland: World Health Organization, Evian, France. September 6–10.
29. Galiè N HM, Vachieri JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Hansmann G, Klepetko W, Lancellotti P, Matucci M, McDonagh T, Pierard LA, Trindade PT, Zompatori M, Hoeper M (2016). 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *European Heart Journal* 67-119.
30. Galie N, Ghofrani AH (2013). New horizons in pulmonary arterial hypertension therapies. *Eur Respir Rev* 22: 503-514.
31. Benisty JI (2002). Cardiology patient page. Pulmonary hypertension. *Circulation* 106: 192-194.
32. Lau EMT, Giannoulatou E, Celermajer DS, Humbert M (2017). Epidemiology and treatment of pulmonary arterial hypertension. *Nat Rev Cardiol* 14: 603-614.
33. Kay JM, Harris P, Heath D (1967). Pulmonary hypertension produced in rats by ingestion of *Crotalaria spectabilis* seeds. *Thorax* 22: 176-179.
34. Lalich JJ, Merkow L (1961). Pulmonary arteritis produced in rat by feeding *Crotalaria spectabilis*. *Lab Invest* 10: 744-750.
35. Rosenberg HC, Rabinovitch M (1988). Endothelial injury and vascular reactivity in monocrotaline pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 255: 1484-1491.
36. Jason Lee RR, Fang Xu, Pravin B Sehgal (2009). Golgi, Trafficking, and Mitosis Dysfunctions in Pulmonary Arterial Endothelial Cells Exposed to Monocrotaline Pyrrole and NO Scavenging *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 297: 715-728.
37. Ramos M, Lame MW, Segall HJ, Wilson DW (2007). Monocrotaline pyrrole induces Smad nuclear accumulation and altered signaling expression in human pulmonary arterial endothelial cells. *Vascul Pharmacol* 46: 439-448.

38. Huang J, Wolk JH, Gewitz MH, Mathew R (2010). Progressive endothelial cell damage in an inflammatory model of pulmonary hypertension. *Exp Lung Res* 36: 57-66.
39. Chesney CF, Allen JR (1973). Endocardial fibrosis associated with monocrotaline-induced pulmonary hypertension in nonhuman primates (*Macaca arctoides*). *Am J Vet Res* 34: 1577-1581.
40. Shah M, Patel K, Sehgal PB (2005). Monocrotaline pyrrole-induced endothelial cell megalocytosis involves a Golgi blockade mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 288: 850-862.
41. Heath D, Shaba J, Williams A, Smith P, Kombe A (1975). A pulmonary hypertension-producing plant from Tanzania. *Thorax* 30: 399-404.
42. Chesney CF, Allen JR (1973). Monocrotaline induced pulmonary vascular lesions in non-human primates. *Cardiovasc Res* 7: 508-518.
43. Gerald Maarman SL, Ghazwan Butrous , Friedrich Thienemann , Karen Sliwa 1 (2013). A Comprehensive Review: The Evolution of Animal Models in Pulmonary Hypertension Research; Are We There Yet? . *Pulm Circ* 3: 739-756.
44. Morrell NW, Yang X, Upton PD, Jourdan KB, Morgan N, Sheares KK, Trembath RC (2001). Altered growth responses of pulmonary artery smooth muscle cells from patients with primary pulmonary hypertension to transforming growth factor-beta(1) and bone morphogenetic proteins. *Circulation* 104: 790-795.
45. Atkinson C, Stewart S, Upton PD, Machado R, Thomson JR, Trembath RC, Morrell NW (2002). Primary pulmonary hypertension is associated with reduced pulmonary vascular expression of type II bone morphogenetic protein receptor. *Circulation* 105: 1672-1678.
46. Talati M, West J, Blackwell TR, Loyd JE, Meyrick B (2010). BMPR2 mutation alters the lung macrophage endothelin-1 cascade in a mouse model and patients with heritable pulmonary artery hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 299: 363-373.
47. Humbert M, Deng Z, Simonneau G, Barst RJ, Sitbon O, Wolf M, Cuervo N, Moore KJ, Hodge SE, Knowles JA, Morse JH (2002). BMPR2 germline mutations in pulmonary hypertension associated with fenfluramine derivatives. *Eur Respir J* 20: 518-523.

48. Zakrzewicz A, Kouri FM, Nejman B, Kwapiszewska G, Hecker M, Sandu R, Dony E, Seeger W, Schermuly RT, Eickelberg O, Morty RE (2007). The transforming growth factor-beta/Smad2,3 signalling axis is impaired in experimental pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 29: 1094-1104.
49. Zaiman AL, Podowski M, Medicherla S, Gordy K, Xu F, Zhen L, Shimoda LA, Neptune E, Higgins L, Murphy A, Chakravarty S, Protter A, Sehgal PB, Champion HC, Tudor RM (2008). Role of the TGF-beta/Alk5 signaling pathway in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 177: 896-905.
50. Ramos MF, Lame MW, Segall HJ, Wilson DW (2008). Smad signaling in the rat model of monocrotaline pulmonary hypertension. *Toxicol Pathol* 36: 311-320.
51. Savai R, Pullamsetti SS, Kolbe J, Bieniek E, Voswinckel R, Fink L, Scheed A, Ritter C, Dahal BK, Vater A, Klusmann S, Ghofrani HA, Weissmann N, Klepetko W, Banat GA, Seeger W, Grimminger F, Schermuly RT (2012). Immune and inflammatory cell involvement in the pathology of idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 186: 897-908.
52. Dahal BK, Kosanovic D, Kaulen C, Cornitescu T, Savai R, Hoffmann J, Reiss I, Ghofrani HA, Weissmann N, Kuebler WM, Seeger W, Grimminger F, Schermuly RT (2011). Involvement of mast cells in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Respir Res* 12: 60.
53. Henriques-Coelho T, Oliveira SM, Moura RS, Roncon-Albuquerque R, Jr., Neves AL, Santos M, Nogueira-Silva C, La Fuente Carvalho F, Brandao-Nogueira A, Correia-Pinto J, Leite-Moreira AF (2008). Thymulin inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension modulating interleukin-6 expression and suppressing p38 pathway. *Endocrinology* 149: 4367-4373.
54. Dorfmüller P, Perros F, Balabanian K, Humbert M (2003). Inflammation in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 22: 358-363.
55. Price LC, Wort SJ, Perros F, Dorfmüller P, Huertas A, Montani D, Cohen-Kaminsky S, Humbert M (2012). Inflammation in pulmonary arterial hypertension. *Chest* 141: 210-221.
56. Skeberdis VA (2004). Structure and function of beta3-adrenergic receptors. *Medicina (Kaunas)* 40: 407-413.

57. Moffett S, Mouillac B, Bonin H, Bouvier M (1993). Altered phosphorylation and desensitization patterns of a human beta 2-adrenergic receptor lacking the palmitoylated Cys341. *EMBO J* 12: 349-356.
58. Cannavo A, Koch WJ (2017). Targeting beta3-Adrenergic Receptors in the Heart: Selective Agonism and beta-Blockade. *J Cardiovasc Pharmacol* 69: 71-78.
59. Lin H-H (2013). G-protein-coupled Receptors and Their (Bio) Chemical Significance Win 2012 Nobel Prize in Chemistry *Biomed J* 36: 118-124.
60. Port JD, Bristow MR (2001). Altered beta-adrenergic receptor gene regulation and signaling in chronic heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 33: 887-905.
61. Bristow MR (1993). Changes in myocardial and vascular receptors in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 22: 61-71.
62. Cannavo A, Liccardo D, Koch WJ (2013). Targeting cardiac beta-adrenergic signaling via GRK2 inhibition for heart failure therapy. *Front Physiol* 4: 264.
63. Gauthier C, Langin D, Balligand JL (2000). Beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system. *Trends Pharmacol Sci* 21: 426-431.
64. Liggett SB, Freedman NJ, Schwinn DA, Lefkowitz RJ (1993). Structural basis for receptor subtype-specific regulation revealed by a chimeric beta 3/beta 2-adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 3665-3669.
65. Dessy C, Moniotte S, Ghisda P, Havaux X, Noirhomme P, Balligand JL (2004). Endothelial beta3-adrenoceptors mediate vasorelaxation of human coronary microarteries through nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization. *Circulation* 110: 948-954.
66. Edwards G, Feletou M, Weston AH (2010). Endothelium-derived hyperpolarising factors and associated pathways: a synopsis. *Pflügers Arch* 459: 863-879.
67. Karimi Galougahi K, Liu CC, Garcia A, Fry NA, Hamilton EJ, Figtree GA, Rasmussen HH (2015). beta3-Adrenoceptor activation relieves oxidative inhibition of the cardiac Na⁺-K⁺ pump in hyperglycemia induced by insulin receptor blockade. *Am J Physiol Cell Physiol* 309: C286-295.

68. Sorrentino SA, Doerries C, Manes C, Speer T, Dessy C, Lobysheva I, Mohmand W, Akbar R, Bahlmann F, Besler C, Schaefer A, Hilfiker-Kleiner D, Luscher TF, Balligand JL, Drexler H, Landmesser U (2011). Nebivolol exerts beneficial effects on endothelial function, early endothelial progenitor cells, myocardial neovascularization, and left ventricular dysfunction early after myocardial infarction beyond conventional beta1-blockade. *J Am Coll Cardiol* 57: 601-611.
69. Balligand JL (2016). Cardiac salvage by tweaking with beta-3-adrenergic receptors. *Cardiovasc Res* 111: 128-133.
70. Dessy C, Balligand JL (2010). Beta3-adrenergic receptors in cardiac and vascular tissues emerging concepts and therapeutic perspectives. *Adv Pharmacol* 59: 135-163..
71. Gauthier C, Leblais V, Kobzik L, Trochu JN, Khandoudi N, Bril A, Balligand JL, Le Marec H (1998). The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J Clin Invest* 102: 1377-1384.
72. Watts VL, Sepulveda FM, Cingolani OH, Ho AS, Niu X, Kim R, Miller KL, Vandegaer K, Bedja D, Gabrielson KL, Rameau G, O'Rourke B, Kass DA, Barouch LA (2013). Anti-hypertrophic and anti-oxidant effect of beta3-adrenergic stimulation in myocytes requires differential neuronal NOS phosphorylation. *J Mol Cell Cardiol* 62: 8-17.
73. Imbrogno S, Gattuso A, Mazza R, Angelone T, Cerra MC (2015). beta3 -AR and the vertebrate heart: a comparative view. *Acta Physiol (Oxf)* 214: 158-175.
74. Moniotte S, Kobzik L, Feron O, Trochu JN, Gauthier C, Balligand JL (2001). Upregulation of beta(3)-adrenoceptors and altered contractile response to inotropic amines in human failing myocardium. *Circulation* 103: 1649-1655.
75. Cheng HJ, Zhang ZS, Onishi K, Ukai T, Sane DC, Cheng CP (2001). Upregulation of functional beta(3)-adrenergic receptor in the failing canine myocardium. *Circ Res* 89: 599-606.
76. Idigo WO, Reilly S, Zhang MH, Zhang YH, Jayaram R, Carnicer R, Crabtree MJ, Balligand JL, Casadei B (2012). Regulation of endothelial nitric-oxide synthase (NOS) S-glutathionylation by neuronal NOS: evidence of a functional interaction between myocardial constitutive NOS isoforms. *J Biol Chem* 287: 43665-43673.

77. Angelone T, Filice E, Quintieri AM, Imbrogno S, Recchia A, Pulera E, Mannarino C, Pellegrino D, Cerra MC (2008). Beta3-adrenoceptors modulate left ventricular relaxation in the rat heart via the NO-cGMP-PKG pathway. *Acta Physiol (Oxf)* 193: 229-239.
78. Morimoto A, Hasegawa H, Cheng HJ, Little WC, Cheng CP (2004). Endogenous beta3-adrenoreceptor activation contributes to left ventricular and cardiomyocyte dysfunction in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: 2425-2433.
79. Donckier JE, Massart PE, Van Mechelen H, Heyndrickx GR, Gauthier C, Balligand JL (2001). Cardiovascular effects of beta 3-adrenoceptor stimulation in perinephritic hypertension. *Eur J Clin Invest* 31: 681-689.
80. Bundgaard H, Liu CC, Garcia A, Hamilton EJ, Huang Y, Chia KK, Hunyor SN, Figtree GA, Rasmussen HH (2010). beta(3) adrenergic stimulation of the cardiac Na⁺-K⁺ pump by reversal of an inhibitory oxidative modification. *Circulation* 122: 2699-2708.
81. Maier LS (2009). A novel mechanism for the treatment of angina, arrhythmias, and diastolic dysfunction: inhibition of late I(Na) using ranolazine. *J Cardiovasc Pharmacol* 54: 279-286.
82. Brutsaert DL (2003). Cardiac endothelial-myocardial signaling: its role in cardiac growth, contractile performance, and rhythmicity. *Physiol Rev* 83: 59-115.
83. Tagaya E, Tamaoki J, Takemura H, Isono K, Nagai A (1999). Atypical adrenoceptor-mediated relaxation of canine pulmonary artery through a cyclic adenosine monophosphate-dependent pathway. *Lung* 177: 321-332.
84. Dumas M, Dumas JP, Bardou M, Rochette L, Advenier C, Giudicelli JF (1998). Influence of beta-adrenoceptor agonists on the pulmonary circulation. Effects of a beta3-adrenoceptor antagonist, SR 59230A. *Eur J Pharmacol* 348: 223-228.
85. Braunwald E (2013). Heart failure. *JACC Heart Fail* 1: 1-20.
86. Hammond J, Balligand JL (2012). Nitric oxide synthase and cyclic GMP signaling in cardiac myocytes: from contractility to remodeling. *J Mol Cell Cardiol* 52: 330-340.

87. Calvert JW, Condit ME, Aragon JP, Nicholson CK, Moody BF, Hood RL, Sindler AL, Gundewar S, Seals DR, Barouch LA, Lefer DJ (2011). Exercise protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via stimulation of beta(3)-adrenergic receptors and increased nitric oxide signaling: role of nitrite and nitrosothiols. *Circ Res* 108: 1448-1458.
88. Aragon JP, Condit ME, Bhushan S, Predmore BL, Patel SS, Grinsfelder DB, Gundewar S, Jha S, Calvert JW, Barouch LA, Lavu M, Wright HM, Lefer DJ (2011). Beta3-adrenoreceptor stimulation ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury via endothelial nitric oxide synthase and neuronal nitric oxide synthase activation. *J Am Coll Cardiol* 58: 2683-2691.
89. Thienemann F, Henz BM, Babina M (2004). Regulation of mast cell characteristics by cytokines: divergent effects of interleukin-4 on immature mast cell lines versus mature human skin mast cells. *Arch Dermatol Res* 296: 134-138.
90. Partovian C, Adnot S, Raffestin B, Louzier V, Levame M, Mavier IM, Lemarchand P, Eddahibi S (2000). Adenovirus-mediated lung vascular endothelial growth factor overexpression protects against hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Cell Mol Biol* 23: 762-771.
91. Partovian C, Adnot S, Eddahibi S, Teiger E, Levame M, Dreyfus P, Raffestin B, Frelin C (1998). Heart and lung VEGF mRNA expression in rats with monocrotaline- or hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 275: 1948-1956.
92. van der Feen DE, Weij M, Smit-van Oosten A, Jorna LM, Hagdorn QA, Bartelds B, Berger RM (2017). Shunt Surgery, Right Heart Catheterization, and Vascular Morphometry in a Rat Model for Flow-induced Pulmonary Arterial Hypertension. *J Vis Exp* (120). 10.3791/55065.
93. Sztuka K, Jasinska-Stroschein M (2017). Animal models of pulmonary arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis of data from 6126 animals. *Pharmacol Res* 125: 201-214.
94. Pankey EA, Edward JA, Swan KW, Bourgeois CR, Bartow MJ, Yoo D, Peak TA, Song BM, Chan RA, Murthy SN, Prieto MC, Giles TD, Kadowitz PJ (2016). Nebivolol has a beneficial effect in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* 94: 758-768.

95. Garcia-Alvarez A, Pereda D, Garcia-Lunar I, Sanz-Rosa D, Fernandez-Jimenez R, Garcia-Prieto J, Nuno-Ayala M, Sierra F, Santiago E, Sandoval E, Campelos P, Agüero J, Pizarro G, Peinado VI, Fernandez-Friera L, Garcia-Ruiz JM, Barbera JA, Castella M, Sabate M, Fuster V, Ibanez B (2016). Beta-3 adrenergic agonists reduce pulmonary vascular resistance and improve right ventricular performance in a porcine model of chronic pulmonary hypertension. *Basic Res Cardiol* 111: 49.
96. Huber LC, Bye H, Brock M, Swiss Society of Pulmonary H (2015). The pathogenesis of pulmonary hypertension--an update. *Swiss Med Wkly* 145: 14202.
97. Dehvari N, da Silva Junior ED, Bengtsson T, Hutchinson DS (2018). Mirabegron: potential off target effects and uses beyond the bladder. *Br J Pharmacol* 175: 4072-4082.
98. Hao L, Scott S, Abbasi M, Zu Y, Khan MSH, Yang Y, Wu D, Zhao L, Wang S (2019). Beneficial Metabolic Effects of Mirabegron In Vitro and in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *J Pharmacol Exp Ther* 369: 419-427.
99. Finlin BS, Memetimin H, Zhu B, Confides AL, Vekaria HJ, El Khouli RH, Johnson ZR, Westgate PM, Chen J, Morris AJ, Sullivan PG, Dupont-Versteegden EE, Kern PA (2020). The beta3-adrenergic receptor agonist mirabegron improves glucose homeostasis in obese humans. *J Clin Invest* 130: 2319-2331.
100. O'Mara AE, Johnson JW, Linderman JD, Brychta RJ, McGehee S, Fletcher LA, Fink YA, Kapuria D, Cassimatis TM, Kelsey N, Cero C, Sater ZA, Piccinini F, Baskin AS, Leitner BP, Cai H, Mollo CM, Dieckmann W, Walter M, Javitt NB, Rotman Y, Walter PJ, Ader M, Bergman RN, Herscovitch P, Chen KY, Cypess AM (2020). Chronic mirabegron treatment increases human brown fat, HDL cholesterol, and insulin sensitivity. *J Clin Invest* 130: 2209-2219.



EKLER



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : ARSLAN, Turgay

Uyruğu :

Doğum Tarihi ve Yeri

Telefon (İş)

E-Posta

Yazışma Adresi (İş)

Bölümü- Bahçelievler Kampüsü Yenişehir/Mersin

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Fizyoloji Anabilim Dalı	2016
Lisans	KTÜ Fen Edebiyat Fakültesi/Biyoloji Bölümü	2006
Lise	Kadriye Moroğlu Lisesi/İstanbul	2001

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Öğr. Gör.	Toros Üniversitesi	2020-
2. Tıbbi Tanıtım Temsilcisi	Vefa İlaç San.	2019-2020
3. Tıbbi Tanıtım Temsilcisi	Dem İlaç San.	2008-2019

YABANCI DİL

Yök Dil: 76.25

UZMANLIK ALANI

Anjiyogenez, Pulmoner Hipertansiyon

YAYINLAR

BİLDİRİLER

ÖDÜLLER/ TEŞVİKLER/ BURSLAR

1. Burs: TÜBİTAK 3001 Projesi (218S257 Oksitosin Desensitizasyonu Oluşturulmuş Gebe ve Gebe Olmayan Sıçan Uterus Dokusunda TRPV4 Kanallarının Etkisi)

HOBİLER

Gitar

