

164436

FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KALP DAMAR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

VASKÜLER İNJÜRİ SONRASI OLUŞAN İNTİMAL
HİPERPLAZİ ÜZERİNE NEBİVOLOLÜN ETKİSİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

DR. İLKER AKAR

DANIŞMAN

DOÇ. DR. ALİ RAHMAN

UZMANLIK TEZİ

ELAZIĞ 2005

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.....Özge ARDIÇDELU.....

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Melme

Doç.Dr. Ali RAHMAN

Kalp...Damar Cerrahi...Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Ali RAHMAN

Melme

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Doç.Dr. Ali RAHMAN

Doç.Dr. Ömer GAKIR

Doç.Dr. A. Feride BALCI

Yrd.Doç.Dr. Oktay BURMA

Yrd.Doç.Dr. Figen DEVECİ

Melme

Ömer GAKIR

A. Feride BALCI

Oktay BURMA

Figen DEVECİ

.....

TEŞEKKÜR

Fırat Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalıştığım 2000-2005 dönemi boyunca bilgi ve tecrübesi ile teorik ve pratik olarak yetişmemde her türlü destek ve yardımı gösteren Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım Doç. Dr. Ali Rahman'a teşekkür ederim.

İhtisas süresince bilgilerini benden esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Oktay Burma ve Uzm. Dr. Ayhan Uysal'a da teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tez çalışmamda bana yardımcı olan Prof. Dr. Erdoğan İlkey'a, Doç. Dr. Bilal Üstündag'a ve Doç. Dr. İbrahim H. Özercan'a teşekkür ederim.

Asistanlık hayatının her türlü zorluklarını benimle birlikte paylaşan ve desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşime teşekkür ederim.

Dr. İlker AKAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1.ÖZET	1
2.ABSTRACT	2
3.GİRİŞ	3
3.1. Normal Arteriyel Morfoloji	5
3.1.1. İntima	5
3.1.2. Media	7
3.1.3. Adventisya	8
3.2. İntimal Hiperplazi	9
3.2.1. Fizyolojik İntimal Kalınlaşma	9
3.2.2. Patolojik İntimal Kalınlaşma	9
3.2.3. İntimal Hiperplazi Teorileri	10
3.2.4. Deneyisel İntimal Hiperplazide Kullanılan Hayvan Modelleri	11
3.2.5. Deneyisel İntimal Hiperplazi Mekanizmaları	11
3.2.6. İntimal Hiperplazide Rol Oynayan Mitojenik Faktörler	13
3.2.7. İntimal Hiperplazinin Klinikteki Yeri ve Önemi	15
3.2.8. İntimal Hiperplazinin Klinik Kontrolü	17
3.3. Nitrik Oksit	20
3.3.1. Nitrik Oksit Tanımı ve Sentezi	20
3.3.2. Nitrik Oksitin Biyolojik Etkileri	21
3.3.3. Nitrik Oksitin Fizyopatolojik Rolü	23
3.3.4. Nitrik Oksit ve İntimal Hiperplazi	24
3.4. Endotelin Sistem	26
3.5. Nebivolol	28
3.5.1 .Kimyasal Özellikleri	29
3.5.2. Farmakokinetik Özellikleri	29
3.5.3. Temel Özellikleri	29
3.5.4. Nebivolol ve Nitrik Oksit Salınımının Modülasyonu	30
4. GEREÇ VE YÖNTEM	33
4.1. Anestezi Tekniği	33
4.2. Balon Kateter Hasarı	33

4.3. Hemodinamik Çalışmalar	35
4.4. Damar Örneklerinin Alınması	36
4.5. Histomorfolojik İnceleme	36
4.6. İmmunohistokimyasal İnceleme	36
4.7. Biyokimyasal İnceleme	37
4.8. İstatistiksel Değerlendirme	38
5. BULGULAR	39
5.1. Hemodinamik Veriler	39
5.2. Histomorfolojik Veriler	41
5.3. İmmunohistokimyasal Veriler	47
5.4. Biyokimyasal Veriler	59
6. TARTIŞMA	60
7. KAYNAKLAR	70
8. ÖZGEÇMİŞ	83

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1 Çeşitli Farmakolojik Ajanların İntimal Kalınlaşma ve Restenoz Üzerine Etkileri	19
Tablo 2 Gruplardaki Ortalama Arteriyel Basınç Değerleri	39
Tablo 3 Gruplardaki Ortalama Kalp Hızı Değerleri	40
Tablo 4 Arteriyel Kesitlerin Histomorfolojik Değerlendirme Sonuçları	42
Tablo 5 İmmunohistokimyasal Veriler	47

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1A	Normal muskuler arterin yapısı	5
Şekil 1B	Normal elastik arterin yapısı	7
Şekil 2	İnjüri sonrası intimal hiperplazi gelişiminin uyarılması	14
Şekil 3A	Nitrik oksit biyosentezi	20
Şekil 3B	Nitrik oksitin etkileri	21
Şekil 4	Sağ superficial femoral arter mobilizasyonu	34
Şekil 5	Tavşanların invazif moniterizasyonu	35
Şekil 6	Ortalama arteriyel basınç değerleri	40
Şekil 7	Ortalama kalp hızı değerleri	41
Şekil 8	Ortalama intimal alan oranları	43
Şekil 9	Ortalama medial alan oranları	43
Şekil 10	İntimal / Medial alan oranları	43
Şekil 11A	Kontrol grubundan aort histolojik kesiti (H+E X 40)	44
Şekil 11B	Kontrol grubundan aort histolojik kesiti (H+E X 200)	44
Şekil 12A	Solvent grubundan aort histolojik kesiti (H+E X 40)	45
Şekil 12B	Solvent grubundan aort histolojik kesiti (H+E X 200)	45
Şekil 13A	Nebivolol grubundan aort histolojik kesiti (H+E X 40)	46
Şekil 13B	Nebivolol grubundan aort histolojik kesiti (H+E X 200)	46
Şekil 14	PDGF-β boyanma skoru	48
Şekil 15A	Kontrol grubundan aort histolojik kesiti (PDGF-β X 40)	48
Şekil 15B	Kontrol grubundan aort histolojik kesiti (PDGF-β X 200)	49
Şekil 16A	Solvent grubundan aort histolojik kesiti (PDGF-β X 40)	49
Şekil 16B	Solvent grubundan aort histolojik kesiti (PDGF-β X 200)	50
Şekil 17A	Nebivolol grubundan aort histolojik kesiti (PDGF-β X 40)	50
Şekil 17B	Nebivolol grubundan aort histolojik kesiti (PDGF-β X 200)	51
Şekil 18	bFGF boyanma skoru	51
Şekil 19A	Kontrol grubundan aort histolojik kesiti (bFGF X 40)	52
Şekil 19B	Kontrol grubundan aort histolojik kesiti (bFGF X 200)	52
Şekil 20A	Solvent grubundan aort histolojik kesiti (bFGF X 40)	53
Şekil 20B	Solvent grubundan aort histolojik kesiti (bFGF X 200)	53

Şekil 21A	Nebivolol grubundan aort histolojik kesiti (bFGF X 40)	54
Şekil 21B	Nebivolol grubundan aort histolojik kesiti (bFGF X 200)	54
Şekil 22	Endotelin-1 boyanma skoru	55
Şekil 23A	Kontrol grubundan aort histolojik kesiti (endotelin-1 X 40)	56
Şekil 23B	Kontrol grubundan aort histolojik kesiti (endotelin-1 X 200)	56
Şekil 24A	Solvent grubundan aort histolojik kesiti (endotelin-1 X 40)	57
Şekil 24B	Solvent grubundan aort histolojik kesiti (endotelin-1 X 200)	57
Şekil 25A	Nebivolol grubundan aort histolojik kesiti (endotelin-1 X 40)	58
Şekil 25B	Nebivolol grubundan aort histolojik kesiti (endotelin-1 X 200)	58
Şekil 26	Doku nitrik oksit düzeyleri	59

KISALTMALAR

PI:	Prostosiklin
NO:	Nitrik Oksit
tFPI:	Doku faktörü plazminojen inhibitörü
tPA:	Doku plazminojen aktivatörü
iel:	İnternal elastik lamina
eel:	Eksternal elastik lamina
vWF:	von Willebrand faktör
PDGF:	Platelet derived growth faktör
bFGF:	Basic fibroblast growth faktör
TGF-β:	Transforming growth faktör-beta
EGF:	Epidermal growth faktör
IGF:	İnstülin-like growth faktör
PTA:	Perkütan transluminal anjiyoplasti
ATP:	Adenozin trifosfat
cGMP:	siklik guanozin monofosfat
cAMP:	siklik adenozin monofosfat
NOS:	Nitrik oksit sentaz
FMN:	Flavin mononukleotid
FAD:	Flavin adenin dinukleotid
EDRF:	Endotelin kaynaklı gevşetici faktör
ET:	Endotelin
ECE:	Endotelin dönüştürücü enzim
ISA:	İntrinsik semptomimetik aktivite
VDKİ:	Vasküler düz kas hücreleri
NLA:	nitr-L-arginin
L-NMMA:	L-nitro-mono-metil-arginin
ODC:	Ornitin dekarboksilaz
NNDA:	N-naftietilen diamin
H&E:	Hematoksilen Eosin
SIN:	3-morpholino-sydnominine

1. ÖZET

İntimal hiperplazi ateroskleroz fizyopatolojisinde yer alır ve invaziv vasküler girişimler sonrasında ise travmaya yanıt olarak gelişir. Vasküler duvarda düz kas hücre migrasyonu, proliferasyonu ile ekstrasellüler matris birikimi sonucu oluşan klinik bir sorundur. Fizyolojik olarak endotelden salınan nitrik oksit, vasküler intimal hiperplazinin engellenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada; vasküler nitrik oksit salınımını arttıran ve üçüncü kuşak β -bloker olan nebivololün hasarlanmış endotel dokusunda intimal hiperplazi gelişimine etkilerini araştırdık.

Çalışmada toplam 21 adet Yeni Zellanda türü erkek beyaz tavşan kullanıldı. Abdominal aortalarında balon ile endotel hasarı oluşturulan tavşanlarla 7'şerli 3 grup oluşturuldu: Grup 1'deki (kontrol grubu) tavşanlara sadece balon ile endotel hasarı uygulandı. Grup 2'deki (solvent grubu) tavşanlarda balon işleminden 2 gün önce başlanıp işlem sonrası 28. güne kadar devam edecek şekilde solvent, Grup 3'de (nebivolol grubu) ise işleminden 2 gün önce başlanıp işlem sonrası 28. güne kadar devam edecek şekilde günde 2.5 mg/kg nebivolol intraperitoneal olarak verildi. Deney süresinin bitiminde alınan abdominal aort kesitlerinde intimal ve medial alan ölçülerek her bir kesitteki intima / media oranı elde edildi. Kesitler endotelin-1, bFGF ve PDGF- β açısından immunohistokimyasal olarak incelendi. Ayrıca doku NO düzeyleri biyokimyasal olarak ölçüldü.

Kontrol ve solvent grupları arasında intimal alan, medial alan ile intima / media oranları, immunohistokimyasal boyanma ve doku NO düzeyleri yönünden anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). İntimal alan artışı nebivolol grubunda kontrol ve solvent gruplarına göre anlamlı derecede az iken ($p<0.001$), medial alanda anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p>0.05$). İntima / media oranı anlamlı olarak azaldı ($p<0.001$). Doku NO düzeylerinde ise nebivolol grubunda kontrol ve solvent gruplarına göre belirgin artış gözlemlendi ($p<0.01$). Endotelin-1 ($p<0.05$), bFGF ($p<0.01$) ve PDGF- β ($p<0.05$) ile immun boyanmanın nebivolol grubunda diğer iki gruba göre anlamlı derecede az olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak nebivolol kullanımının vasküler rekonstrüktif girişimlerden sonra erken restenoz gelişiminin engellenmesinde yararlı bir ajan olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler : İntimal hiperplazi, nitrik oksit, nebivolol

2.ABSTRACT

THE EFFECTS OF NEBIVOLOL ON INTIMAL HYPERPLASIA AFTER VASCULAR INJURY

Intimal hyperplasia plays role in the physiopathology of atherosclerosis and occurs as a response to trauma after invasive vascular procedures. It is a clinical problem which forms in vascular wall as a result of smooth muscle cell migration, proliferation and extracellular matrix accumulation. Nitric oxide that is secreted from endothelium plays an important role for preventing vascular intimal hyperplasia. At this study; we examined the effects of nebivolol which is third generation beta blocker and augments vascular nitric oxide, on intimal hyperplasia at denadue endothelial tissue.

At the study 21 New Zeland male white rabbit were used. They were divided into 3 groups which includes 7 rabbits at each one. The rabbits in group 1 (Control group) only underwent balloon injury on abdominal aorta. The rabbits in group 2 (solvent group) were treated with solvent solution and the rabbits in group 3 (nebivolol group) were treated with nebivolol (2.5 mg/kg/day) intraperitoneally two days before injury and were continued for 28 days. At the end of the study, the rabbits were killed and abdominal aortas were harvested. Upon them; intimal, medial areas were measured and intima/media ratios were calculated. For endothelin-1, bFGF and PDGF- β ; sections were detected as immunohistologically. And tissue nitric oxide levels were measured by Griess reaction.

Statistically there were no differences between control and solvent groups at intimal areas, medial areas, intima/media ratios, immunstaining and tissue NO levels ($p>0.05$). The neointimal thickening was significantly less in nebivolol group than in control and solvent group ($p<0.001$). There were no differences at medial areas ($p>0.05$). Intima/media ratio was decreased in nebivolol group ($p<0.001$). Tissue nitric oxide levels were greater in nebivolol group than in control and solvent group ($p<0.01$). The immunstaining with endothelin-1, bFGF and PDGF- β in nebivolol group is less than the other two groups.

In conclusion; nebivolol may be a useful agent at early restenosis after vascular reconstructive procedures.

Key words: Intimal hyperplasia, nitric oxide, nebivolol.

3. GİRİŞ

Tıkalıcı arteriyel hastalıkların tedavisinde revaskülarizasyon oldukça sık kullanılan bir yöntemdir. İlk zamanlarda sadece aorta ve büyük arter dallarında uygulanırken; bu alan giderek genişlemiş ve beyin, kalp, visseral ve ekstremitelerdeki nispeten küçük arterlerde de uygulanır hale gelmiştir. Günümüzde bu girişimlerin başarısı spontan tromboz gelişimi veya stenoz oluşumu nedeni ile beklenenden daha azdır.

Vasküler hasar sonrası oluşan restenoz; tromboz, inflamasyon, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü gibi büyümeyi düzenleyici moleküllerin salını ve düz kas hücre birikimi sonucu oluşur. Bu olay; damarın intimal tabakalarına kemotaktik migrasyon ve extrasellüler matriks proteinlerin sekresyonunu içerir. Hiperplazik kalınlaşma, arterlerin hemodinamik strese karşı normal adaptif bir özelliği olduğu kadar arteriyel hasarların iyileşmesinin de karakteristik bir özelliğidir.

Birçok cerrahi girişim normal damar yapısını bozar. Şişirilmiş embolektomi kataterinin damar boyunca çekilmesi, damar duvarında gerilmeye ve media tabakasında bazı düz kas hücrelerinin hasarına yol açar. Endarterektomi, balon anjioplasti ve vasküler by-pass greft anastomoz bölgelerinde görülen intimal hiperplazi vasküler rekonstrüktif girişimlerin uzun sürede yetersiz hale gelmesinde en önemli etkenlerden biridir. Hiperplazik yanıtın engellenmesi by-pass greftlerinde ve balon anjioplasti uygulamalarında damarın açık kalma süresinin belirgin olarak uzatılmasını ve organ kayıplarının azaltılmasını sağlayabilir, yaşam süresinin artırılmasında doğrudan etkili olabilir.

Restenozun bilinen fizyopatolojik özelliklerine dayanarak bu süreci önlemeye yönelik platelet inhibitörleri, hirudin, sentetik bir prostosiklin analogu olan ciprostone, antiproliferatif etkilerinden dolayı kalsiyum kanal blokerleri ve anjiotensin konverting enzim inhibitörleri, mitozu metafaz safhasında durduran bir ajan olan kolşisin gibi çeşitli antineoplastik ilaçlar, kortikosteroidler, çeşitli antioksidan ilaçlar ve daha birçok farmakolojik ajan hayvan modellerinde ve insanlarda denenmiştir. Ancak günümüzde intimal hiperplaziyi önlemede kesin etkili bir tedavi yöntemi bulunamamıştır.

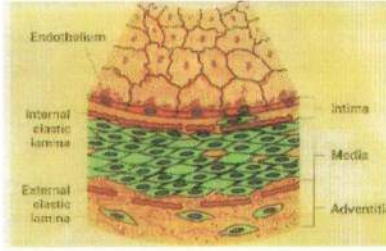
Anjioplastide uygulanan balon dilatasyonu; lokal platelet adezyonu ve trombus oluşumu ile sonuçlanan yüksek trombojenik subendotelial yapıların açığa çıkması ve internal elastik laminanın rüptürü ile karakterize arteriyel duvar hasarına yol açmaktadır. Lokal platelet aktivasyonu ve biyoaktif maddeler, platelet agregasyon ve vazokonstriksiyonu artırabilir. Normal endotel dokusundan salınan nitrik oksit; antitrombojenik, antiproliferatif ve lökosit adezyonunu inhibe edici etkilere sahiptir. Ayrıca platelet adezyon, agregasyon ve düz kas hücre proliferasyonunu da inhibe etmesi nedeniyle vasküler hasara karşı koruyucu özellik taşımaktadır.

Nebivolol, d-nebivolol (S,R,R,R) ve l-nebivolol (R,S,S,S) enantiyomerlerinin rasemik karışımı olup, hemodinamik profili klasik β -blokerinkinden farklı olan geniş ve selektif bir adrenerjik reseptör antagonistidir. Aynı zamanda vasküler nitrik oksit salınımını artırır.

Bu çalışmada; vasküler nitrik oksit salınımını artıran ve üçüncü kuşak β -bloker olan nebivololün intimal hiperplazi üzerindeki etkinlikleri araştırılacaktır.

3.1.NORMAL ARTERYEL MORFOLOJİ

Arterler karakteristik olarak intima, media ve adventisya olarak adlandırılan üç tabakadan oluşur (1) (Şekil 1A). Bu üç tabaka patolojik değişikliğe yol açan çeşitli faktörlere karşı farklı yanıtlar verirler (2,3).



Şekil 1.A Normal muskuler arterin yapısı

3.1.1. İNTİMA

Arter duvarının en iç tabakası olan intima, lümen yüzeyinden internal elastik laminaya kadar uzanır. Luminal yüzey; devamlı, tek katlı, poligonal hücrelerden oluşan endotel ile çevrelenmiştir (1,2). İntima, media tabakasından internal elastik lamina ile ayrılmıştır. İnternal elastik lamina ise boşlukları olan bir tabakadır ve bu boşluklardan hücreler yada diğer moleküller geçebilmektedir (1,2). Bu alanda çok az miktarda dağınık vaziyette lökositler, düz kas hücreleri ve konnektif doku fibrilleri bulunmaktadır (3,4).

Endotel Tabakası

Endotel, damar iç duvarını kaplayan ve kan ile direk etkileşim halinde bulunan tek katlı bir poligonal hücre dizisidir (5). Damar uzun eksenine paralel tek katman halinde bulunmakta, doku ile kan arasında bir bariyer görevi görmektedir. Damar lümeni tarafında birçok vezikülleri vardır. Bu veziküller, reseptöre bağlı endositozda ve büyük moleküllerin hücre içine alınmasında rol oynamaktadırlar (1). Endotelial hücreler, laminin adı verilen, internal elastik lamina ve bazal membranların hemen hemen her yerinde bulunan bir protein aracılığı ile tip 4 kollajene bağlanır (2). Bazal lamina kesintisiz, katlanabilir bir yapıdır. Endotel, altında uzanan internal elastik laminaya birçok fokal yapışıklıklar göstermektedir. Bu nispeten sıkı bağlantılar, endotelial hücrelerin shear stress (makaslanma gerilimi)

veya diğerk mekanik kuvvetler tarafından deendotelizasyonu engelleyerek stabiliteye katkıda bulunmaktadır (3,4). Bazal lamina internal elastik laminadan başlıca proteoglikanlardan oluşan ve diğerk konnektif doku elemanlarını da içeren morfolojik olarak çok küçük görünümde bir alanla ayrılabilir. Endotelial hücreler bütün damarlarda aynı morfolojiyi göstermekle birlikte fonksiyonel aktivitelerinde arterler, venler ve kapillerler arasında belirgin farklılıklar olduğuna dair bulgular tespit edilmiştir (1).

Normal şartlar altında endotel hücreleri kan akımının devamlılığını sağlayan antitrombotik ve antikoagülan bir yüzey oluşturmaktadır.

Endotel hücreleri antitrombotik etkilerini 2 şekilde gerçekleştirmektedir:

- 1) Endotel hücre membranı negatif yüklüdür, bu şekilde yine negatif yüklü membrana sahip olan eritrositleri damar duvarından uzaklaştırmaktadır.
- 2) Lokal olarak endotelden salgılanan prostosiklin (PI₂) ve nitrik oksit (NO⁺) güçlü birer trombosit agregasyon inhibitörüdür ve etkileri sinerjistiktir. Nitrik oksit aynı zamanda trombositlerin kollajene adezyonunu da inhibe etmektedir (6).

Antikoagülan etkileri ise 3 şekilde meydana gelmektedir:

- 1) Endotel yüzeyinde bulunan glikozaminoglikan tabaka heparan sülfat açısından zengindir. Heparan sülfat, antitrombin III'ü bağlayarak aktive etmekte ve bu şekilde damar iç yüzeyinde trombin, faktör Xa ve IXa aktivitesi engellenmektedir.
- 2) Endotel hücrelerinden salgılanan doku faktörü plazminojen inhibitörü (tFPI) ekstrasik pıhtılaşma yolunu inhibe etmektedir.
- 3) Endotel hücrelerinin membranında trombomodulin bulunmaktadır.

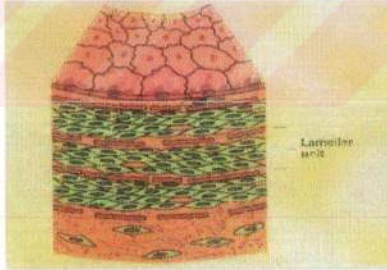
Trombomodulin spesifik bir trombin reseptörüdür. Trombin ile kompleks oluşturarak trombinin fibrinojene afinitesini azaltıp, protein C'ye afinitesini arttırmaktadır. Trombinle bağlanan protein C, aktif hale geçerek faktör Va veVIIIa'nın proteolizine neden olmaktadır (6).

Endotel hücreleri ayrıca fibrinolizde de rol oynamaktadırlar. Katekolaminler, vazopresin ve trombinin etkisiyle endotelden dolaşıma doku plasminojen aktivatörü (tPA) salgılanmaktadır. Doku plasminojen aktivatörü polimerize fibrinin yüzeyine etki ederek zimojen plasminojeni aktif plasminojene çevirmekte ve pıhtının çözülmesinde rol oynamaktadır (7).

3.1.2. MEDIA

Media, internal elastik laminadan adventisyaya kadar uzanan duvar bölümüdür (1,2). Birçok damarda media ve adventisya arasında belirgin bir eksternal elastik lamina oluşumu bulunmakla birlikte, özellikle kalın ve fibröz adventisyal tabakası olan arterlerde belirgin olmayabilir (3). Media; elastin, kollajen fibrilleri, proteoglikanlar ve düz kas hücre tabakalarından oluşmaktadır. Düz kas hücre tabakaları, benzer şekilde sıralanmış hücre gruplarından oluşur. Bu grupların her biri ortak bir bazal membran ile çevrelenmiştir. Bu konfigürasyon, hücre gruplarının bir arada tutulmasını sağlar ve aşırı gerilmeyi engelleme eğilimindedir (3). Ayrıca her bir hücresel alt grup veya fasikül, benzer şekilde düzenlenmiş elastik fibril sistemi ile sarılmıştır. Bu şekilde etkili bir muskulo-elastik fasikül yapısı meydana gelir. Arter duvarının şekli ile bağlantılı olarak her bir fasikül, damar duvarını etkileyen gerilim kuvvetleri ile aynı yönde düzenlenmiştir (1).

Aorta ve birincil dalları elastik arterler olarak adlandırılır. Bu damarlarda muskulo-elastik fasiküllerin (lamellar unit) elastik fibril sistemleri oldukça kalındır ve birbirine bitişik şekilde bir araya gelmiştir (Şekil 1.B). Elastik fibriller nispeten uzayabilir. Bu özellik kardiak siklus esnasında nabızın yayılmasında arterin kompliansına ve recoiline (elastik geri tepme) izin verir (3,10).



Şekil 1.B Normal bir elastik arterin yapısı

Daha küçük çaptaki muskuler arterler, elastik arterlere oranla daha az kollajen, elastin ve daha fazla düz kas hücresi içerir (1). Bu yapı artere çapını kasılma ve gevşeme şeklinde daha hızlı bir şekilde değiştirebilme özelliği kazandırmaktadır (2). Muskulo-elastik fasiküller musküler arterlerin de yapısal

birimleridir ve elastik arterlerde olduğu gibi genellikle gerici kuvvetlerin yönünde dizilmişlerdir. Bununla birlikte düz kas hücresi miktarının, elastin ve kollajen fibrillere göre daha fazla sayıda olması nedeni ile muskulo-elastik fasiküller daha az belirgindir (9). Medial kalınlık ve muskulo-elastik tabaka veya lamellar unitlerin sayısı, lümen yarıçapı ve yüzeyel gerilim ile yakından ilişkilidir. Arter duvarındaki yüzeyel gerilim, genel olarak oluşan basınç ve yarıçap ile orantılıdır (Laplace kanunu). Bununla birlikte her bir kesit alanındaki gerçek gerilim kuvveti duvar kalınlığı ile ters orantılıdır (8,10).

3.1.3. ADVENTİSYA

Adventisya, fibrosellüler konnektif dokudan oluşan değişik kalınlıkta ve organizasyonda bir yapıdır. Proksimal aortik, renal ve mezenterik arterlerde olduğu gibi bazı arterlerde adventisyal tabaka kollajen ve elastik fibriller içerir ve media tabakasından daha kalın olabilir (1,3). Normal aortada adventisya tabakasının çıkartılması basınç-volüm ve basınç-hacim ilişkisi üzerine oldukça az etki yapar (3). Aterosklerotik arterlerde ise intimal plak kalınlığının artışı alttaki medianın atrofisine neden olabilir (3,11). Bu durumda kalınlaşan adventisya tensil (gerilme) desteğine katkıda bulunur. İliak endarterektomiden sonra adventisyanın oluşturduğu gerici kuvvetlerin yeterli olduğu, intima ve medianın tamamına yakınının çıkarılmasına rağmen adventisyanın sağladığı destek sayesinde anevrizmal dejenerasyon gelişiminin oldukça nadir olduğu belirtilmektedir (12,13).

Vazo vazorumlar

Vazo vazorumlar, arter duvarının besleyici damarlarıdır ve arter en azından 29 düz kas hücresi lameli içerinceye kadar belirgin olarak görülmemektedir (1). Bu sayının altında lamel içeren arterlerde muhtemelen lümen basıncı sayesinde arter duvarının beslenmesi sağlanabilmekte iken, 29'dan fazla lamel içeren arterlerde arter duvarının dış tabakalarının oksijenizasyonu ve beslenmesi için vazo vazorumlara ihtiyaç duyulmaktadır (1). Vazo vazorumlar; afferent arterioller, kapiller plexus, efferent venüller ve venlerden oluşur (1,2).

3.2. İNTİMAL HİPERPLAZİ

İntimal hiperplazi, ateroskleroz fizyopatolojisinde yer alır ve vasküler rekonstrüktif girişimlerin sonrasında travmaya yanıt olarak gelişir. Damar duvarında media ve intima tabakalarındaki düz kas hücre proliferasyonu ile ekstrasellüler matriks sentezi luminal daralmaya yol açar. Genel olarak orta ve geç dönem rekonstrüksiyon başarısızlıklarının yaklaşık yarısında intimal hiperplazi sorumlu tutulmaktadır (14). İki yıl içinde intimal hiperplazi gelişme insidansı otolog safen ven ile yapılan revaskülarizasyonda %30, sentetik greftlerde %45-50, periferik arter transluminal anjioplasti sonrası ise %20-50'dir (15).

3.2.1. Fizyolojik İntimal Kalınlaşma

Yeni doğanda arterlerin intiması, sadece doğrudan internal elastik laminanın (IEL) üzerine oturan endotelial hücrelerden oluşur. Yaşamın erken dönemlerinde aorta ve büyük arterlerde, IEL ve endotelial hücreler arasında düz kas hücreleri görülmeye başlar. Fizyolojik intimal kalınlaşmanın diffüz veya fokal olabildiği ve duvar gerilimine karşı fizyolojik bir adaptasyon sağladığı düşünülmektedir. Ductus arteriosusun doğum sonrası kapanması, fizyolojik intimal kalınlaşmanın tipik bir örneğidir (16,17).

3.2.2. Patolojik İntimal Kalınlaşma

Birçok cerrahi girişim normal vasküler yapıyı bozucu etki gösterir. Örneğin şişirilmiş durumda bir embolectomi kateterinin damar boyunca çekilmesi; endotel yüzeyde soyulmaya, damar duvarında gerilmeye ve media tabakasındaki bazı düz kas hücrelerinin hasarına yol açar (18). Bu girişimin uygulandığı hayvan modellerinde soyulmuş yüzeyde trombositler birikmekte ve daha sonra bunlar sırası ile rejenere olmuş endotel ve proliferatif intimal düz kas hücreleri ile yer değiştirmekte, sonuçta düz kas hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimine bağlı olarak intima kalınlaşmaktadır (16,19,20). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar ve otopsi veya atarektomi ile elde edilen insan plak dokularının analizi bu yara iyileşmesinin aşamalı bir süreç olduğunu göstermiştir. Bu süreçte başlangıcında trombositler, endotelial hücreler, monositler, makrofajlar rol oynamakta; ardından düz kas hücreleri predominant hücreler olarak ön plana çıkmaktadır (16,20).

3.2.3. İntimal Hiperplazi Teorileri

Hayvanlar ve insanlarda yara iyileşmesi üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen veriler luminal daralmanın büyük oranda “düz kas hücre proliferasyonuna ve intimada konnektif doku birikimine” bağlı olarak geliştiğini göstermektedir (16,19).

Birçok araştırmacı intimal hiperplazinin gelişiminde “injüriye yanıt” hipotezi üzerinde odaklanmıştır (14,21,22). Bu hipotezde endotelial hasarın rolü, trombosit aderensi ve aktivasyonu, mitojenik faktörler, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunun önemi ayrı ayrı vurgulanmaktadır (21,23,24). Balon kateter hasarı deneyleri sayesinde arter duvarı biyolojisi, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonu hakkında çok önemli bilgiler sağlanmıştır (25). Deneysel hayvan modellerinde, çok sayıda değişik mekanik, sitotoksik, immunolojik ve termal hasar yapıcı ajana karşı arteriyel duvar yanıtı incelenmiştir (16,19). Bu tip hasarlarda uyarılan intimal düz kas proliferatif yanıtı genellikle kendini sınırlar, oklüzyon oluşturmaz (14,18).

Araştırmaların diğer bir kısmı ise, arterlerin biyomekanik ve metabolik faktörlere karşı “reaktif adaptif remodelling” yanıtı üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu tarzdaki araştırmalar (10,14,18), aterosklerotik plaklar, endarterektomi, anjioplasti veya by-pass greftlerinin oluşturduğu yeni geometrik konfigürasyonlarla tetiklenen ve kan akımındaki bölgesel farklılıklar ile oluşan wall shear stress (duvar kopma-makaslama kuvveti), wall tensile stress (duvar gerilme kuvveti), doku vibrasyonu ve arter duvarı kompiansındaki değişikliklerin, kan basıncındaki ve kan akımındaki lokal-sistemik değişimlerin arteriyel duvar yapısı, kompozisyonu ve fonksiyonu üzerindeki etkilerini göz önüne almaktadır. Bu kuvvetler intimal kalınlaşmayı, düz kas hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu uyabilir (18).

3.2.4. Deneysel İntimal Hiperplazide Kullanılan Hayvan Modelleri, Neointima, İntimal Kalınlaşma ve Restenoz

İntimal kalınlaşma mekanizmalarının açığa kavuşturulabilmesi açısından, uygun hayvan modellerine ihtiyaç vardır.

Restenoz modelleri ve neointima oluşumu iki kategoride toplanır:

1-) Normal bir arterde hasar oluşturan modeller de 2 grupta incelenebilir:

a) İntravasküler teknik uygulananlar: Bu tip modellerde balon embolektomi kateteri veya balon anjioplasti kateteri ile endotelial hücre soyulması ve gerilme oluşturulması, stent yerleştirilmesi, tel döndürülmesi (rotating wire), elektriksel stimülasyon, arter içine basınçlı hava verilmesi gibi yöntemlerle arter duvarında hasar oluşturulur (16,19).

b) Perivasküler teknik uygulananlar: Bu tip modellerde ise kompresyon veya perivasküler collar uygulaması ile hasar meydana getirilir (16).

İntravasküler teknik uygulanan modellerde orjinal intima hasara uğradığından veya ortadan kaldırıldığından; hasara yanıt olarak oluşan yeni intima “neointima” olarak adlandırılır. Yumuşak silikon collar kullanılarak yapılan çalışmalarda olduğu gibi orjinal intimada direk hasar oluşmadığı için bu tip injüriye yanıt olarak gelişen intimal proliferasyon “intimal kalınlaşma” olarak adlandırılır (16).

2-) Primer stenotik lezyon bölgesinde ikincil hasar oluşturulan yöntemlerde hasar genellikle balon anjioplasti kateteri ile meydana getirilir. Bu işlemten sonra gelişen lezyon “restenotik lezyon” olarak adlandırılır (16).

3.2.5. Deneysel İntimal Hiperplazide Mekanizmalar

Normal bir arter mediasında elastin, kollajen lifleri ve düz kas hücre tabakaları bulunur. Bunun üzerinde tek, devamlı bir tabaka halinde luminal yüzey bulunur. Vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücreler inaktif durumdadır ve bunların birbirine dönüşümü oldukça zor tespit edilebilir (2). Endotel bir kez hasar gördüğünde stereotipik ardışık olaylar başlar ve intimal kalınlaşma ile sonlanır.

Deneysel neointima modellerinde kısaca üç faz tanımlanabilir (15):

1-) Medial düz kas hücre replikasyonu (endotel hasarının 0-3. günü)

2-) Düz kas hücrelerinin media tabakasından lümen yüzeyine migrasyonu ve neointimaya dönüşümü (3-14. günler arası)

3-) Neointimal hücrelerin replikasyonu ve ekstrasellüler matriks sentezi (15. günden sonra)

Endoteli soyulmuş olan bölgeler hemen trombosit kümesi ile kaplanır. Trombositler daha sonraki günler içinde damar lümenine doğru ilerleyen rejenere endotel ile yer değiştirir. Trombosit birikimi ile aynı zamanda, media tabakası içinde yer alan düz kas hücreleri de proliferere olmaya başlar. Daha sonra bu hücreler intimaya doğru göç eder. Bir yandan proliferasyona devam ederken, diğer taraftan da çok miktarda ekstrasellüler matris sentezleyip salgırlar (16,19,26).

Endotelial hücreler dökülüp uzaklaştığında trombositler subendotelial tabakaya yapışmaya ve yayılmaya başlar. Trombositlerin bu yapışma ve yayılmasında, trombosit membranındaki glikoproteinler ve von Willebrand Faktör (vWF), fibrin, kollajen ve trombospondin gibi eksojen substratlar aracılık eder (27). Normal arterlerin soyulan yüzeyinde trombosit toplanması sınırlı bir süreç olup, 8 saatlik prostosiklin (PGI₂) infüzyonu ile inhibe edilebilir (28).

Adezyonu takiben trombositlerden granüller salgılanır. Bu granüller serotonin, fibrinojen, vWF gibi vazoaaktif ve trombojenik faktörleri dışında platelet derived growth faktör (PDGF), transforming growth faktör beta (TGF- β), epidermal growth faktör (EGF) gibi büyüme faktörlerini de içerirler. Bu büyüme faktörleri in vitro ortamda düz kas hücrelerinin potent aktivatörü olduğu için düz kas hücre proliferasyonunda ilk mitojenik uyarı olabilirler (29).

Hasarlı damara komşu, travmatize olmamış bölgedeki endotelial hücreler rejenere olarak travmatize bölgeye ilerler. Bir çok örnekte, bu hasar bölgesi tamamen endotel ile kaplanabilmektedir. Ancak hasara uğramış bölge ile sağlam damar duvarı arasındaki mesafe büyükse, yüzeyin endotel ile tamamen kaplanması oldukça güçleşmektedir (14,18,30).

Balonla hasar oluşturulmuş rat karotis arterlerinin media tabakasındaki düz kas hücrelerinde, hasardan yaklaşık 27 saat sonra DNA sentezlenmeye başlar. Bu hücreler 7 ile 14 gün boyunca proliferere olur. Bir kez proliferasyon periyoduna giren hücreler üç, dört kez bölünür ve sonuçta bölünme kendiliğinden durur (18). Luminal yüzeyde lokalize olmuş olan düz kas hücreleri hasardan 1 yıl sonrasına kadar proliferasyona devam etmektedir. Yüzey düz kas hücrelerinin bu proliferasyonu yaklaşık olarak ölen hücrelerin miktarına denktir (14,18).

Hasara uğramış rat karotis arterlerinde 12 haftadan sonra vasküler düz kas hücre miktarı değişmemekte ancak 2. ve 12. haftalar arasında intimal kalınlaşmanın miktarı 2 katına çıkmaktadır. İntimadaki bu artışın nedeni elastin, kollajen ve proteoglikandan oluşan ekstrasellüler matrikste ki artıştır (14,18).

Tüm bu veriler, hasar ile indüklenen intima kalınlaşmasında erken dönemde tromboz, bunu takiben düz kas hücre proliferasyonu ve en sonunda ekstrasellüler matriks birikiminin rol oynadığını desteklemektedir.

Hasara uğratılmış tavşan aortasında, antitrombosit antikollarının verilmesi ile oluşturulan deneysel trombositopeni varlığında intimal kalınlaşmanın daha az oranda olduğu gözlemlenmiştir. Trombositopeninin intimal kalınlaşma üzerindeki olumlu etkileri düz kas hücre migrasyonunun inhibisyonuna bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (18). Trombosit aderensinin intimal hiperplazinin erken döneminde rol oynadığı fakat intimal lezyonun ilerlemesinde gerekli olmadığı düşünülmektedir (18).

Vasküler greftlerin iyileşme periyodunda düz kas hücre proliferasyonu, yalnızca endotelin mevcut olduğu yerlerde olmaktadır. Greftlerde endotel, hasara maruz kalmış arterlerdeki endotelden farklı bir şekilde rejenere olmakta ve proliferere olmaya devam etmektedir (31). Deendotelizasyon yapılmadan kronik endotelial proliferasyon modellerinde (16,19), düz kas hücre büyümesini uyaran faktörler vasküler duvar hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Çünkü bu modellerde trombositler, endotelial tabakaya yapışmamaktadır. Bu nedenlerle düz kas hücre proliferasyonu için daha başka faktörlerin de gerekli olduğu düşünülmektedir. Daha önce ileri sürüldüğü gibi, vasküler duvar hücrelerinin kendisi veya damar duvarında bulunan makrofajlar bu olayda etkili olabilecek diğer elemanlardır (18).

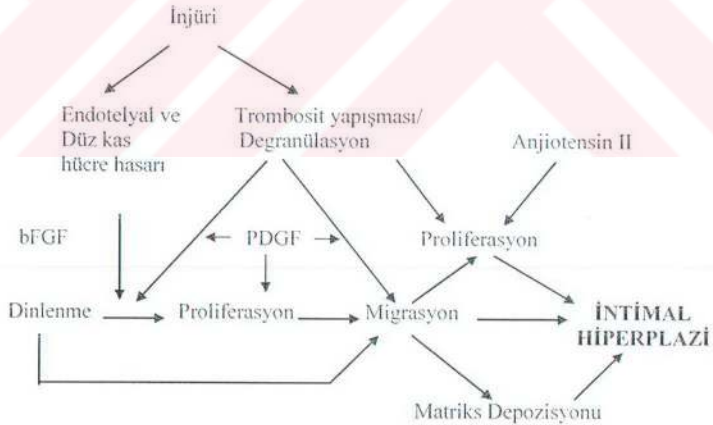
3.2.6. İntimal Hiperplazide Rol Oynayan Mitojenik Faktörler

Günümüzde endotelial hücrelerin, düz kas hücreleri ve makrofajlarla yapılmış hücre kültürü çalışmalarında çeşitli mitojenik faktörlerin sentezlenip salgılandıkları gösterilmiştir (32,15). Bu mitojenik faktörler içinde en önde gelenleri basic fibroblast growth faktör (bFGF) ve platelet derived growth faktör (PDGF)'dür. Media tabakasındaki düz kas hücre proliferasyonu ve intima tabakasına olan migrasyon bu iki faktör tarafından tetiklenir (Şekil 2).

Basic FGF endotelial ve düz kas hücreleri içinde depolanmıştır. Endotel hasarına cevap olarak salınır ve media tabakasında düz kas hücre proliferasyonunu uyarır. Medial düz kas hücre proliferasyonu, bFGF antikolları ile belirgin bir şekilde inhibe edilmektedir (33). Ayrıca bFGF'nin düz kas hücre migrasyonunda da etkili olduğu in vivo bir çalışmada saptanmıştır (34). Rat karotis arter deendotelizasyonu sonucu oluşan düz kas hücre migrasyonu sistemik bFGF ile

stimüle edilmiş, bFGF antikorları ile de bu migrasyonun önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Platelet derived growth faktör (PDGF), trombositlerin hasarlı vasküler yüzeye adezyon ve agregasyonu sonrası aktivasyonlarını takiben salgır. Trombosit kökenli olarak adlandırılmış olmasına karşın hasarlı endotel ve düz kas hücrelerinden de salgır, PDGF-A ve PDGF-B olmak üzere iki alt zinciri vardır. PDGF-A sadece düz kas hücre proliferasyonu üzerine etkili iken; PDGF-B hem proliferasyon hem de migrasyonda etkilidir (35,36,37,38). Ayrıca PDGF kültür ortamında düz kas hücrelerinde programlanmış hücre ölümü olarak bilinen apoptozu engellemektedir (39). PDGF ve PDGF blokleri kullanılarak yapılan deneysel çalışmalarda (36,37) trombosit kökenli PDGF'nin intimal hiperplazi başlangıcında muhtemelen mediadaki düz kas hücrelerinin uyarılmasında rol oynadıkları, uyarılmış düz kas hücrelerinin de başka farklı mediatörler salgılayarak diğer düz kas hücrelerini uyardıkları savunulmaktadır. Endotelizasyonun tamamlanmasından sonra da düz kas hücre proliferasyonunun devam etmesi bu görüşü desteklemektedir (40).



Şekil 2: İnşüri sonrası intimal hiperplazi gelişiminin uyarılması

İntimada proliferasyonu regüle eden faktörler yeni yeni tanımlanmaktadır. Transforming growth faktör α (TGF- α) ve epidermal growth faktör (EGF) yapısal olarak %30 oranında benzerlik gösteren, aynı reseptöre yapışan proliferatif faktörlerdir. TGF- α trombosit ve aktive makrofajlar tarafından salınan, kendi etkinliğini artırma özelliğine sahip anjiogenik potent bir mediatördür (41).

Transforming growth faktör β (TGF- β); yapısı, biyolojik aktivitesi ve reseptörleri bakımından TGF- α 'dan tamamen farklı olup ekstrasellüler matriks sentezini düzenleyen en önemli mediatördür. Proteoglikanların, kollajenin ve fibronektinin sentezini uyarır, bağ dokusunun proteolitik enzimler tarafından parçalanmasını önler. TGF- β , trombositler başta olmak üzere endotel ve düz kas hücreleri tarafından salınır (42).

İnstülin like growth faktör-I (IGF-I) ve trombostin, düz kas hücre proliferasyonunun uyarılmasında PDGF ile sinerjistik etkiye sahiptir. IGF-I, PDGF için bir progresyon faktörüdür ve PDGF'nin mitojenik özelliklerinin ortaya çıkmasında varlığı zorunludur. Trombostin ve IGF-I monoklonal antikorlarının eklendiği düz kas hücre kültürlerinde hücre proliferasyonu baskılanır (43).

3.2.7. İntimal Hiperplazinin Klinikteki Yeri ve Önemi

Perkütanöz transluminal anjioplasti (PTA), arterlerde stenotik segmentlerin dilatasyonunu amaçlayan bir yöntemdir. Bu işlemde plak içinde bir yırtık oluşturularak media kalıcı bir şekilde açılır, bu arada damarın yapısal bütünlüğü devam ettirilir (44,45). Plakın hasar verilmiş kesiminde nonoklüzif trombus oluşur ve birkaç hafta sonra bu trombus fibrotik bir lezyona dönüşür (45). İliak arterler gibi büyük damarlarda restenoz oluşumu büyük bir sorun oluşturmazken, koroner ve femoropopliteal arterler gibi nispeten daha küçük çaplı arterlerde kan akımının önemli derecede azalmasına ve iskemiyeye yol açabilmektedir (44,45,46). Dilate edilmiş koroner arterlerin yaklaşık %30'unda 6 ay içinde belirgin restenoz gelişmektedir. Restenoza neden olan lezyon çoğunlukla fibröz yapıdadır ve büyük oranda düz kas hücreleri içermektedir (45).

Başarılı bir PTA uygulamasından sonra lümen daralmasını etkileyen birbirinden bağımsız 3 faktör vardır (16,47,23):

- Elastik recoil (esnek geri tepme)
- Arteriyel remodelling
- İntimal kalınlaşma

Akut elastik recoile bağı olarak, başlangıçta oluşan lümen genişlemesi girişimden hemen sonra kaybolur. Bunu izleyen intimal hiperplazi ve arteriyel remodelling gibi daha yavaş gelişen süreçler arasındaki denge PTA'dan sonra lümen çapının son belirleyicisi olmaktadır (23). Arteriyel remodelling, eksternal elastik lamina tarafından çevrilen alan olarak tanımlanan toplam damar alanındaki değişikliklerle kendini gösterir. Arteriyel remodelling, arterin yeniden yapılanması veya kompensatuar genişlemesi şeklinde olabilir (47).

Intravasküler stentler, elastik recoile bağı lümen daralmasını büyük oranda engelleyebilir. Bununla birlikte stent yerleştirilen bölgelerde geç dönemde intimal hiperplaziye bağı restenoz görülme insidansı oldukça yüksektir (48,49). Anjioplasti esnasında damar hasarının boyutuna bağı olarak oluşan intimal kalınlaşma, lümen çapını etkileyen en önemli faktörlerden biridir (47,24).

Endarterektomi. travmatik bir vasküler rekonstrüksiyon formudur ve hiperplastik intimal lezyon gelişimi ile birlikte. Bu olay bazı yeterli rekonstrüksiyonlardan sonra damarda daralma oluşmasına ve kan akımının azalmasına neden olmaktadır (12,13,18). Endarterektomiden sonra oluşan stenotik lezyonlar en az iki farklı tipte morfolojiye sahiptir. Eğer lezyonlar cerrahiden sonraki ilk 2 yıl içinde değerlendirilirse, lezyonların düz, beyaz renkli, sert, fibröz yapıda olduğu ve büyük oranda düz kas hücreleri ile ekstrasellüler matris içerdği görülür. İki yıldan sonra bu lezyonlarda sıklıkla luminal yüzeyde lastiğe benzer bir trombus tabakası ile bunun altında uzanan bazı bölgelerde düz kas odakları ile birlikte lipid, kalsiyum birikimi ve hemoraji görülmektedir (18).

Vasküler greftlerin iyileşmesi sürecinde cerrahi girişim ile intimal hiperplazi arasında o kadar belirgin bir ilişki yoktur. Bununla birlikte bu greftlerde aylar sonra intimal kalınlaşma gelişebilmektedir (50,51). Ven grefti kullanılan periferik rekonstrüksiyonlarda, önemli derecede restenoz gelişimi yaklaşık olarak vakaların %10'unda gözlemlenir ve genellikle 6 ile 24. aylar arasında ortaya çıkar. Bu lezyonlar diffüz veya fokal olabilir. (50,52).

Zamanla bazı ven greftlerinde ateroskleroz gelişmektedir. Bu tip lezyonlar özellikle koroner arter by-pass greftlerinde yaygın olarak gözlemlenir (53). Sentetik greftlerde intimal kalınlaşma en fazla anastomoz yerlerinde veya anastomozun hemen ilerisinde distal damar içinde gelişmektedir. Bu lezyonlar, ven greftlerinde, erken dönemde görülen lezyonlara benzemekte ve genellikle cerrahiden sonraki ilk iki yıl içinde görülmektedir (50). İnsanlarda sentetik greftlerin iç yüzeyinin, endotel

ve subendotelyal konnektif doku ile kaplanması, her iki uca yalnızca ilk birkaç santimetre ile sınırlı olarak kalmaktadır. Bu hücrelerin tek kaynağı, bitişik arter dokusudur ve bunların migrasyon yeteneği tüm grefti kaplamaya yeterli düzeyde değildir (50,51).

3.2.8. İNTİMAL HİPERPLAZİNİN KLİNİK KONTROLÜ

Aşırı intimal kalınlaşmanın engellenmesinde veya tedavisinde genellikle iki yaklaşımdan biri kullanılmaktadır;

1-) Trombositlerin akümüasyonu ve pıhtılaşma faktörlerinin erken veya geç tromboz oluşumunda ve ayrıca muhtemelen intimal kalınlaşmada rol oynadığı düşüncesine dayanarak aspirin, dipiridamol gibi antiagregan veya heparin, kumadin gibi antikoagülan ilaçların verilmesi

2-) Yeniden oluşan veya devam eden intimal kalınlaşmanın engellenemez olduğu düşüncesi ile ileri cerrahi rekonstrüksiyon uygulanması (18).

Aspirin ve diğer non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar arasıdonik asit kaskadını baskırlarlar. Aspirin trombositlerde hücre oksijenazını geri dönüşümsüz olarak asetiller. Dipiridamol ise trombositlerde c-AMP düzeyini artırır, agregasyon prekürsörlerinden tromboksan A₂ ve B₂'nin miktarlarını dolayısı ile de trombositlerin adezyon ve agregasyonlarını azaltır (54).

Heparin vasküler rekonstrüktif girişimlerden sonra oldukça yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Antikoagülan etkileri, antitrombin III (ATIII) ün etkinleştirilmesi ile ortaya çıkmaktadır. Deneysel intimal hasardan sonra heparinin düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu engellediği gösterilmiştir. Ancak heparinin antiproliferatif etkinliği vasküler travmadan sonraki ilk 24 saat içinde verildiğinde geçerli olup daha geç verilmesi halinde intimal hiperplaziyi önlemede etkisi azalmaktadır (55).

İleri cerrahi girişimler, yetmezliğe uğramış greftlerin ve diğer vasküler rekonstrüksiyonların kurtarılmasında temel tedavi şekli olmaya devam etmektedir. Birçok çalışmada femoropopliteal hastalığın rekonstrüksiyonunda, ven greftinin kullanıldığı hastaların uzun süreli takiplerinde gerçek greft trombozu gelişiminde, intimal hiperplazinin önemli rolü olduğu tespit edilmiştir. Eğer bu lezyonlar tromboza yol açmadan önce tedavi edilirse uzun dönemli sonuçlar oldukça iyi olmaktadır. Diğer taraftan eğer greftte tromboz oluşmuş ve arteriografik olarak stenotik lezyon tanımlanmışsa yapılacak rekonstrüksiyonlar başarısız olmaktadır (18,51,52).

Daha önce bahsedildiği gibi endotel normal arter fonksiyonlarının sürdürülmesinde ve arteriyel rekonstrüksiyon sürecinde merkezi, komplike bir rol oynamaktadır. Hasarlanmış bir arterde rejenere olan endotel, düz kas hücre proliferasyonunu baskılar ve arter duvarına trombosit akümüülasyonunu inhibe eder (56). Bu gözlemler nedeni ile bir çok araştırmacı endotelial seeding uygulanmış greftlerin davranışları ile ilgilenmişlerdir. Bu greftler en azından hayvan modellerinde tromboza karşı dirençli ve daha az miktarda intimal kalınlaşma gelişme eğilimindedir (57,58,59).

Diğer bir alternatif yaklaşım, düz kas hücre proliferasyonunun ve ekstrasellüler matriks depozisyonunun intimal hiperplazi gelişiminde rol oynayan temel faktör olmasından dolayı spesifik düz kas hücre proliferasyonu inhibitörlerinin kullanılmasıdır. Bu amaçla hayvan modellerinde arteriyel hasar üzerinde ve koroner arterlerde transluminal anjioplasti uygulanan hastalar üzerinde birçok ilaç denenmiştir (16,18,19). Birçok ilacın hayvan modellerinde inhibitör etkisi olduğunun gösterilmesine rağmen bunlardan hiçbirinin insanlarda koroner restenozu engellemede başarılı olduğu tespit edilememiştir (16). Çeşitli farmakolojik ajanların hayvan modellerinde intimal kalınlaşma ve restenoz üzerine olan etkileri tablo 1 de özetlenmiştir (19).

Tablo 1: Çeşitli farmakolojik ajanların hayvan modellerinde intimal kalınlaşma ve restenoz üzerine olan etkileri

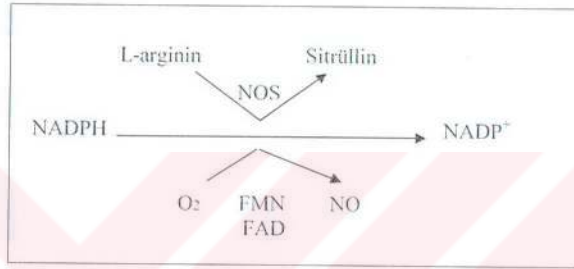
İLAC	ETKİ	DENEYSEL ÇALIŞMA				KLİNİK ÇALIŞMA
		Hayvan	Arter	Hasar	İntimal Kalınlaşma	
Aspirin	Antiagregan	Rat	Karotis	Deendotelizasyon	↓	=
Dipiridamol	Antiagregan	Tavşan	Kulak arteri	Kompresyon (ezme)	↓	=
Enoxoparin	Düşük molekül ağırlıklı heparin	Tavşan	İliak	Balon angioplasti	↓	=
Heparin	Antitrombotik	Rat	Karotis	Balon angioplasti	↓	=
Hirudin	Trombin inhibitörü	Tavşan Domuz	Femoral Karotis	Hava travması	↓ =	Kısa Sürekli Yarar
Warfarin	Antitrombotik	Rat	Karotis	Balon angioplasti	↓	=
Terapitil	PDGF reseptör Antagonisti	Rat	Aorta	Deendotelizasyon	↓	↓
		Tavşan	İliak		↓	↓
Vaptiprost	Tromboksan A2 res. antagonisti	Rat	Aorta	Deendotelizasyon	↓	=
Diltiazem	Kalsiyum antagonisti	Tavşan	Karotis	Rijid Collar	↓	=
Nifedipin	Kalsiyum antagonisti	Rat	Aorta	Deendotelizasyon	↓	=
Verapamil	Kalsiyum antagonisti	Tavşan	Aorta	Deendotelizasyon	↓	=
Cilazapril	ACE İnhibitörü	Rat	Karotis	Deendotelizasyon	↓	=
Lovastatin	HMG CoA redüktaz inhibitörü	Tavşan	Karotis	Silikon collar	↓	↓
Prednisolon	Kortikosteroid	Tavşan	Kulak arteri	Kompresyon (ezme)	↓	=

[(↓) Azalma, (=) Etki yok]

3.3 NİTRİK OKSİT

3.3.1. Nitrik Oksit Tanımı ve Sentezi

Nitrik oksit (NO^*), nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile yarı esansiyel bir aminoasit olan L-argininden terminal guanidin grubunun NO^* e çevrilmesi ile sentezlenen aktif bir bileşiktir (Şekil 3A). Bir hücre içi habercisidir ve vasküler tonusun fizyolojik düzenlenmesi, sinir iletimi, bağışıklık ve hücreler arası bağlarının düzenlenmesi gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir (60).



Şekil 3A. Nitrik oksit biyosentezi

FMN: Flavin mononükleotid, FAD: Flavin adenin dinükleotid

NOS: Nitrik oksit sentaz

Sağlam damar endotelinden, bazal bir hız ile NO^* üretilmektedir. Hücre içi kalsiyum artışı agonist etkiyle NOS'u aktive eder ve L-argininden şitrüllin ile birlikte sentezlenen NO^* endotel hücrelerinden düz kas hücresine diffüze olur. Nitrik oksit düz kas hücresinde solubl guanilat siklazı aktive ederek siklik guanozin monofosfatı (cGMP) artırır (61). Damar düz kas hücrelerinde artan cGMP, cGMP'a bağlı protein kinazları aktive etmekte ve membranda bulunan Ca^{2+} ATPaz pompası ile hücre içi kalsiyumun hücre dışına atılmasını sağlamaktadır. Bu şekilde cGMP hücre içi kalsiyum seviyelerini azaltarak vazodilatasyona neden olmaktadır (62)

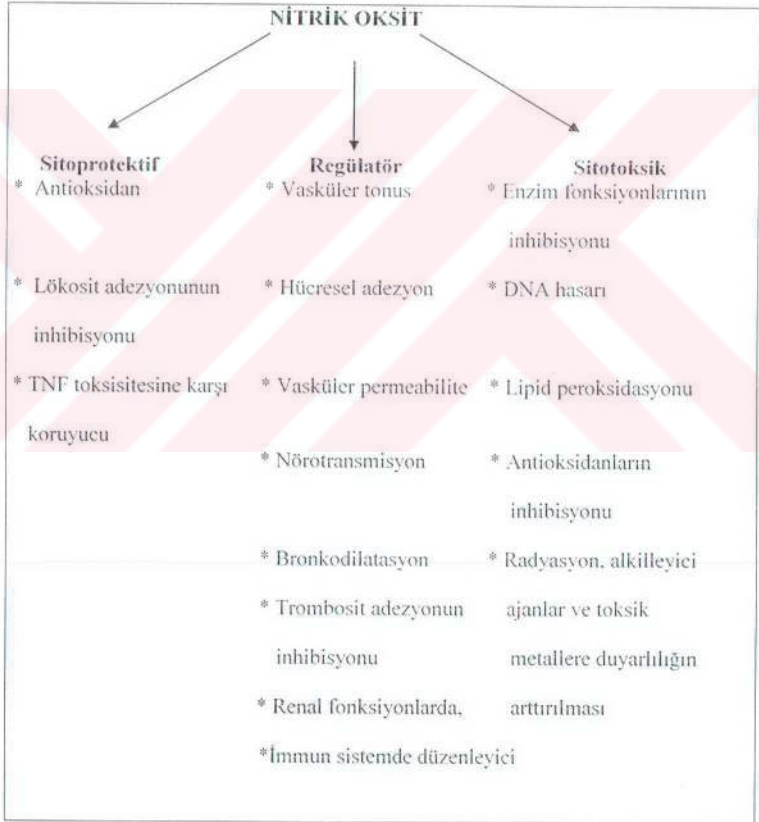
Nitrik oksit, L-argininden üç izoformu bulunan olan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimiyle sentezlenmektedir. Nitrik oksit sentaz-I (NOS-I) endotel hücrelerinde bulunmakta ve bazal NO^* sentezinde rol almaktadır. NOS-II ise immunolojik yanıtta rol alan makrofaj ve lökositlerde, ayrıca damar düz kas

hücrelerinde bulunmakta ve sitokinler tarafından uyarılmaktadır (63). NOS II tarafından sentezlenen NO[•], lökositlerin sitotoksitesinde görev almakta (64) ve septik şokta görülen hipotansiyondan bu yolla sentezlenen NO[•]'in sorumlu olduğu düşünülmektedir (63).

Ayrıca her iki NOS izoformunun değişik özelliklerine sahip üçüncü bir izoform (NOS III), nöral hücrelerde sentezini gerçekleştirmekte ve buradaki NO[•] uzun süreli hafıza etkinliğinde rol almaktadır (65).

3.3.2. Nitrik Oksitin Biyolojik Etkileri

Nitrik oksitin sitoprotektif, regülatör ve sitotoksik pekçok etkileri bulunmaktadır (66) (Şekil 3B).



Şekil 3B: Nitrik Oksitin Etkileri

Nitrik oksitin damar duvarında trombosit agregasyonu ve adezyonunun inhibisyonu, düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi ve vasküler büyümenin modülasyonu gibi önemli fonksiyonları vardır. NO^{*}, çözünebilir guanilat siklazı ve cGMP'yi stimüle ederek vazodilatasyon oluşturur (67).

Nitrik oksit, endotel yüzeyinde antitrombotik etkinliğe sahiptir. Vasküler düz kas relaksasyonu ile vazodilatasyon, trombosit adezyon ve agregasyonunda inhibisyon, doku plasminojen aktivatörü (tPA) artışı, fibrinoliz, lökosit adezyonunda inhibisyon, sitotoksik, sitostatik, endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etkileri vardır. NOS inhibisyonu mikrovasküler geçirgenliği artırarak lökositlerin göçünü ve adezyonunu arttırmaktadır (61).

Nitrik oksit santral sinir sisteminde ve periferde nonadrenerjik, nonkolinerjik sinirlerde nörotransmitter olarak etki gösterir. Öğrenme, bellek oluşumu, görme, koklama, ağrı algılanmasında rolü vardır. NO^{*} sempatolitik ajan gibi etki etmektedir. Sempatoksitatör beyin sapı nükleuslarında aktiviteyi azaltır, sempatik dışı akımı düşürür, sempatik uyarıya kardiyak cevapları azaltır (68,67). Ayrıca gastrointestinal sistem, mesane sfinkter fonksiyonları ve penil ereksiyonda da rol oynamaktadır (69).

Sürtünme stresi, pulsatil stres, yükselmiş intraluminal kan basıncı gibi farklı mekanik faktörler damarlarda NO^{*} üretimi için fizyolojik bir uyarıcı olmaktadır. Böylece kan damarlarında ve kalpte endotelial NOS ve NO^{*} üretimi artmaktadır (70,71,72).

Böbrekte oluşturulan NO^{*} glomerüler filtrasyon hızını, total renal kan akımını, basınç natriürezini, epitelial sodyum transportunu ve renin gibi vazoaktif ajanların sentezini kontrol etmektedir (70).

Nitrik oksit, oksijenden derive olan radikallerle etkileşerek peroksinitrit gibi toksik maddeler oluşturmaktadır. Peroksinitrit çok güçlü bir antioksidandır; buna karşın bunun uzaklaştırılması ve etkisiz hale getirilmesi için çok çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır (73).

Nitrik oksit, immunolojik konak savunmasında da rol oynamaktadır. Septik şok ve inflamasyon gibi durumların patogeneğinde de NO^{*}'in önemli yeri bulunmaktadır (73).

3.3.3. Nitrik Oksitin Fizyopatolojik Rolü

Nitrik oksit insan vücudunda hem dost hem düşman olarak davranabilir. NO[•] ile aşırı uyarılma sinir hücrelerinin tahribine yol açar. Kan basıncı NO[•]'deki fizyolojik artış ve azalışlarla sabit bir biçimde dengede tutulmaktadır. Bununla birlikte endotoksik şokta görüldüğü gibi aşırı miktarda NO[•] salgısı ölüme götüren dolaşım yetmezliği oluşturabilmektedir (61).

Nitrik oksitin güçlü bir vazodilatör etkiye sahip olmasının yanı sıra, ateroskleroz oluşumunda koruyucu etkilerinin de olduğu bilinmektedir. NO antiaterosklerotik etkilerini;

1-) Endotel hasarı sırasında gelişen hücre aktivasyonunu inhibe edip indirekt olarak monosit ve lökositlerin endotele yapışmasını engelleyerek (74)

2-) Trombosit aktivasyonunu baskılayarak (75)

3-) Damar düz kas hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunu engelleyerek (76,77)

4-) Ateroskleroz patogeneğinde olumsuz etkileri olan endotelin-1 üretimini ve endotelin-1'in mitojenik etkilerini baskılayarak gerçekleştirmektedir (78).

Nitrik oksit üretiminin azalması ve biyoaktivitesinin kaybı, ateroskleroz için risk faktörleri olarak kabul edilen hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diyabet ve sigara içimi gibi farklı durumların fizyopatolojisinde önemli rol oynamaktadır.

İnsan koroner arter aterosklerozunda ve aterosklerotik hayvan modellerinde endotelin NO[•] sentezleme kapasitesinin azaldığı gösterilmiştir. Hiperkolesterolemik hayvanlara ve insanlara L-arginin verilmesi bozulmuş olan endotelden kaynaklanan NO[•] üretimini düzeltmekte ve bu hastalıkla ilişkili vasküler lezyonları azaltmaktadır (79).

Koroner arter hastalığı için hipertansiyon da bir risk faktörüdür. Hafif koroner aterosklerozlu hastalarda hipertansiyon ve bozulmuş asetil kolin gevşemesi ile azalmış koroner NO[•] salınımı arasında kuvvetli bir birliktelik bulunmaktadır. Ek olarak, esansiyel hipertansiyonlu hastaların damarlarında ve trombositlerinde NO oluşumunda azalma olduğu gösterilmektedir (79). Böylece bu hastalığın vasküler ve trombotik komplikasyonlarına bozulmuş NO[•] üretiminin katkıda bulunabileceği ileri sürülmektedir.

İnsülin bağımlı diyabeti olan hastalarda da NO[•] salınımının yetersiz olduğuna dair çeşitli deliller bulunmaktadır ve NO[•] düzeylerindeki azalma trombotik mikroangiopatiye katkıda bulunabilmektedir (79,80). Azalmış NO[•] oluşumu

doğrudan tromboza yol açar. NO' salınımını inhibe eden in vivo laser uygulamasının oluşturduğu endotelial hasar trombositlerde agregasyonla sonuçlanmaktadır (79).

Serebral iskeni veya epilepside ise NOS III ile NO'in aşırı üretimi nörotoksisteye yol açmaktadır. Yine septik şok veya kronik inflamatuvar hastalıklarda NOS II'nin aktivitesi artmaktadır. Bu gibi hastalık durumlarında NO' inhibisyonu faydalı olabilir (73).

3.3.4. Nitrik Oksit ve İntimal Hiperplazi

Daha önce de geniş bir şekilde bahsedildiği üzere birçok cerrahi girişim normal vasküler yapıyı bozucu etki gösterir. Örneğin şişirilmiş durumda bir embolektomi kateterinin damar boyunca çekilmesi endotel yüzeyde soyulmaya, damar duvarında gerilmeye ve media tabakasındaki bazı düz kas hücrelerinin hasarına yol açar (18). Bu girişimin uygulandığı hayvan modellerinde, soyulmuş yüzeyde trombositler birikmekte ve daha sonra bunlar sırası ile rejenere olmuş endotel ve proliferatif intimal düz kas hücreleri ile yer değiştirmektedir. Sonuçta düz kas hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimine bağlı olarak intima kalınlaşmaktadır (16,19). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar ve otopsi veya atarektomi ile elde edilen insan plak dokularının analizi ile bu yara iyileşmesinin aşamalı bir süreç olduğunu göstermektedir. Bu süreçte başlangıçta trombositler, endotelial hücreler, monositler, makrofajlar rol oynamakta; ardından düz kas hücreleri predominant hücreler olarak öne çıkmaktadır (16,20).

Nitrik oksitin intimal hiperplazi gelişim basamaklarında rol oynayan bütün hücre ve süreçler üzerinde baskılayıcı yönde etki gösterdiğini belirten pek çok hayvan deneyleri mevcuttur. Bu çalışmalarda L-arginin veya NO' donörlerinin verilmesi yada NO' inhalasyonu ile arteriyel hasar sonrası gelişen intimal hiperplazi azaltılabilmektedir (77). İn vitro çalışmalarda trombosit agregasyonu, lökosit adezyonu ve düz kas hücre proliferasyonu gibi arteriyel hasar sonrası gelişen intimal kalınlaşma aşamaları NO' tarafından engellenebildiği gösterilmiştir (74,81,82,83). Radomsky ve arkadaşları (81), NO'in cGMP bağımlı mekanizma ile trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlar. Ayrıca nötrofil adezyonu, fonksiyon ve kemotaksisi de NO' tarafından engellendiği gösterilmiştir (74,82). Garg ve Hassid (83) ise ilk olarak NO'in kültüre vasküler düz kas hücre proliferasyonunu baskıladığını göstermişlerdir.

Sonuç olarak düz kas hücre proliferasyon ve migrasyonunu engellemesi, ekstrasellüler matriks sentezini baskılaması, trombosit ve lökosit fonksiyonlarının modülasyonunu sağlaması nedeniyle nitrik oksiti potansiyel antirestenotik molekül olarak tanımlamak oldukça doğru bir ifade olacaktır (77).

3.4.ENDOTELİN SİSTEM

Endotel kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF) tanımlanmasından sonra domuz aort ve pulmoner endotelinden kasıcı bir faktör izole edilmiştir. Gen yapısı ilk kez 1987'de Yanagisawa ve arkadaşları tarafından tariflenmiş olan bu faktör endotelin (ET) olarak isimlendirilmiştir (84).

Endotelin; ET-1, ET-2, ET-3 ve ET-4 (vazoaktif barsak kasıcı)'den oluşan 21 aminoasitli endojen peptid ailesidir (85).

ET-1, endotel hücreleri tarafından sentezlenip salgılanmakta ve vasküler düz kaslar üzerine etki etmektedir. Aynı zamanda lökosit, makrofaj ve kardiyomiyosit gibi vasküler hastalıklarda rol alan diğer hücreler tarafından da sentezlenmektedir (86).

Biyolojik olarak aktivite gösteren birçok peptid gibi ET-1 de prepropeptidlerden üretilmektedir. Prepro ET-1, 203 aminoasitten oluşur ve bir endopeptidaz aktivitesi ile 38 aminoasitli büyük (big) ET-1'e dönüştürülür. Daha sonra endotelin dönüştürücü enzim (ECE), mast ve düz kas hücre kinazları ve ECE olmayan metalloproteazlar ile 21 aminoasitli ET-1 haline gelmektedir (84).

Endotelin sentezi; pulsatil gerilme, duvar kopma stresi (shear stress) ve pH gibi fizikokimyasal faktörler tarafından düzenlenmektedir. Egzersiz, miyokardiyal ET-1 ekspresyonunu artırmaktadır. İskemi sırasında oluşan hipoksi de ET-1 sentezinin güçlü bir uyarıcısıdır. Ayrıca artmış okside LDL kolesterol, glukoz, östrojen eksikliği, obezite, kokain kullanımı, yaşlılık gibi kardiyovasküler risk faktörleri ve trombin gibi prokoagülan mediyatörler ile ET-1 sentezi artmaktadır. Bununla birlikte vazokonstriktör maddeler (adrenalin, anjiotensin II, vazopressin gibi), büyüme faktörleri, sitokinler ve adezyon molekülleri de ET-1 sentezini uyarır. NO⁺, prostosiklin, atriyal natriüretik peptidler ise ET-1 sentez inhibitörleridir (86).

ET-1; okside LDL, anjiotensin II gibi faktörlere cevap olarak endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde oluşur. Uyarı sonrası salgılanan ET-1 düz kas hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak fosfolipaz C'yi aktive etmekte, bunun sonucunda fosfatidilinozitol difosfat inositol trifosfat ve diasilgliserol oluşumuna neden olmaktadır. İnositolfosfat hücre içi depolardan kalsiyum salınımında rol oynarken, diasilgliserol proteinkinaz C'yi ve membrandaki kalsiyum kanallarını aktive ederek hücre dışından hücre içine kalsiyum akımını sağlamaktadır. Bu olay vazokonstriksiyonu başlatmaktadır (86,87).

ET-1'in ET_A ve ET_B olmak üzere iki reseptörü bulunmaktadır. ET_A reseptörü vasküler düz kas hücrelerinde, ET_B reseptörleri ise endotelial hücrelerin yanısıra düz kas hücreleri ve makrofajlarda lokalize olmuşlardır. ET_A reseptörlerinin aktivasyonu uzun süreli vazokonstriksiyona neden olmakta, ayrıca farklı dokularda hücre proliferasyonunu tetiklemektedir. Bunun aksine ET_B reseptörleri NO⁺ ve prostasiklin salınımını uyarmakta, apoptozu korumakta ve endotel hücrelerinde ECE-1'in ekspresyonunu inhibe etmektedir (86).

Hiperkolesterolemi endotel disfonksiyonuna yol açmaktadır. Bu durum artmış plazma ve doku endotelin seviyeleri ile ilişkilidir. Artmış ET-1 miktarları aterosklerotik damarlarda vazokonstriksiyonu arttırmakta, ayrıca vasküler düz kas hücreleri üzerinde proliferatif etki göstermektedir (88,89). Endotel disfonksiyonu sonucu NO⁺ miktarlarının azalması ile NO⁺'in ET-1 üzerindeki inhibisyonu azalmakta ve ET-1 aterosklerotik plak oluşumunda önemli rol oynamaktadır (85). Ayrıca ET-1 kan hücrelerini de etkilemekte ve nötrofil adezyonunu, trombosit agregasyonunu arttırmaktadır. Aynı zamanda da makrofajlar için kemotaktik bir faktördür (86).

İntimal hiperplazi: balon anjioplasti, endarterektomi, trombektomi ve vasküler bypass gibi vasküler rekonstrüktif girişimlerin başarısını önemli derecede azaltan ciddi bir problemdir. Deneysel olarak ET sisteminin vasküler hasar sonrası aktive olduğu gösterilmiştir. İn vitro çalışmalarda ET-1; hücre hipertrofisini, hiperplazisini, matris sentezini, çeşitli kemotaktik ve büyüme faktörlerinin ekspresyonunu, salınımını arttırmaktadır (90).

Rat karotis arter balon anjioplasti ile yapılan çalışmalarda immunohistokimyasal olarak 1.haftadan 4. haftaya kadar olan sürede ET-1 seviyelerinin yükseldiği (91) ve bunun sonucunda da neointimal oluşumun arttığı gösterilmiştir (90). Endotelin reseptör antagonistlerinin verilmesi ile bu intimal kalınlaşmanın önleniği belirtilmiştir (86).

3.5. NEBİVOLOL

Spesifik adrenerjik reseptörlerinin uyarılmasının kardiyovasküler sistemde oluşturduğu fizyolojik yanıtlar oldukça iyi bilinmektedir (92):

Alfa 1 adrenerjik reseptörler: Arteriyel vazokonstriksiyon

Alfa 2 adrenerjik reseptörler : Sempatik sinirlerden norepinefrin salgısını inhibe eder.

Beta 1 adrenerjik reseptörler: Taşikardi, myokardiyal kontraktilitede artma

Beta 2 adrenerjik reseptörler: Arteriyel vazodilatasyon

Beta (β) reseptörler β_1 ve β_2 olmak üzere ikiye ayrılırlar. β_1 reseptörler kalpte, β_2 reseptörler ise bronşlarda ve vasküler düz kaslarda bulunurlar (92). Beta reseptör blokerleri klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Kalp hızını, ortalama arter basıncını azaltarak kalbin kullandığı oksijen ihtiyacını azaltmaktadırlar. Ayrıca sol ventrikül diyastol sonu basıncını azaltarak sol ventrikül fonksiyonunu düzenler dolayısı ile de subendokardiyal iskemiye önler (92). Fakat beta reseptör blokajının bronkokonstrüksiyon, bradikardi, düşük atımlı sol ventrikül yetmezliği, egzersiz toleransının azalması, soğuk ekstremiteler gibi yan etkileri vardır (93).

Acebutalol, atenolol, metoprolol gibi ikinci jenerasyon β reseptör blokerlerinin kardiyoselektivitesinin yüksek olması nedeniyle daha az oranda vazokonstriksiyon ve bronkokonstrüksiyon yapar (93).

Son yıllarda β reseptör blokajı ile vazodilatasyon yapan üçüncü jenerasyon β blokerler geliştirilmiştir. Bu grupta celiprolol, pindolol ve dilevalolün oluşturduğu vazodilatasyonun etki mekanizması intrinsik semptomimetik aktivite (ISA) yani β_2 reseptörünün uyarılması ile izah edilmektedir (93,94). Bir beta reseptör blokeri, bloke ettiği reseptörün aynı zamanda aktivasyonuna neden olabilir. Bu durum terminolojide parsiyel agonizma veya ISA (+) olarak tanımlanır (92). β_2 reseptörün uyarılması ATP'den siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumu, miyozin hafif zincir kinazın aktivasyonunun azalmasına bağlı kas gevşemesi ile sonuçlanır.

Karvedilol, labetalol, bevantolol, busindolol de üçüncü jenerasyon β blokerler arasında yer almakta ve ayrıca α_1 reseptör blokajı özellikleri ile de vazodilatasyon oluşturmaktadırlar (93).

Nebivolol; d-nebivolol (S,R,R,R) ve l-nebivolol (R,S,S,S) enantiyomerlerinin rasemik karışımı olup, hemodinamik profili klasik β -blokerinkinden farklı olan geniş ve selektif β_1 adrenerjik reseptör antagonistidir (95). Aynı zamanda da vasküler nitrik oksit salınımını artırır (96).

3.5.1. Kimyasal Özellikleri

Nebivolol molekülünün bir nitrojen atomu etrafında bir C₂ simetri eksenile 4 asimetric karbon atomu vardır; bu nedenle 10 farklı stereoisomer olasılığı mevcuttur (97).

Esasen nebivolol, d-nebivolol (SRRR) ile l-nebivolol (RSSS) enantiyomerlerinin eşit oranlı rasemik bir karışımıdır. Bu nedenle bu karışıma di nebivolol denir (91,93). Bazı çalışmalar d- ve l-nebivololün farklı özellikleri olduğunu ortaya koymuştur. Her ikisi de NO⁺ salınımı ile vazodilatasyon gerçekleştirir. d-nebivolol enantiyomeri yüksek β_1 adrenoreseptör seçiciliği ile karakterize iken l-nebivololde yüksek dozlarda bile β blokaj özelliği yoktur; l-nebivolol vazodilatasyon yapar ve d-izomerin negatif inotropik etkilerini azaltır (95,96,97).

3.5.2. Farmakokinetik Özellikleri

Nebivololün farmakokinetik özellikleri radioimmünassay teknikleri ile, bu bileşenin enantiyomerlerine karşı selektif antikorlar kullanılarak incelenmiştir. Oral uygulamadan sonra emilimi hızlıdır ve yemekten etkilenmez. Oral uygulama sonrasında pik plazma konsantrasyonlarına 0.5 ile 2 saat içinde ulaşır. Bu plazma konsantrasyonları 1 veya 2 saatlik yarılanma ömrü ve onu takiben 10-44 saatlik terminal yarılanma ömrü ile azalır. Aktif hidroksi-metabolitin yarı ömrü 20 saattir. Plazma konsantrasyonları, terapötik doz aralığında doza bağlıdır (97).

Nebivolol kısmen aktif hidroksi metabolitlere metabolize olur. Bu metabolizma genetik polimorfizme bağlıdır (zayıf yada güçlü metabolizmalılar). Diğer metabolik adımlar; N-dealkilasyon, asiklik mono-oksidasyon ve glukuronidasyondur. Aromatik hidroksi ve asiklik okside metabolitlerin farmakolojik ve bağlanma karakteristikleri nebivololünkilerle aynı iken, N-dealkile metabolitler ile glukoronidlerde az aktivite görülmüş veya hiç aktivite görülmemiştir (97).

Nebivololün plazma proteinine bağlanma oranı %98'dir; öncelikle albumine bağlanır. Uygulamadan bir hafta sonra dozun %38'i idrarla, %48'i feçesle atılır (97).

3.5.3. Temel Özellikleri

Nebivolol kompetitif ve yüksek düzeyde seçici bir β adrenoreseptör antagonistidir. Yapılan deneylerde nebivololün β_1 seçiciliğinin diğer mevcut β_1 ajanlardan daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır (98). Sağlıklı denekler ve ventrikül disfonksiyonlu hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda, nebivololün sol ventrikül fonksiyonunu koruduğu görülmüştür. Bu nedenle kardiyak fonksiyon üzerindeki

olumsuz etkileri bilinen mevcut bazı β adrenoreseptör antagonistlerine göre önemli farklılıklar taşır (99).

Nebivololün β bloker dozlarında alfa reseptör bloke etme özellikleri hem deney hayvanlarında hem de insanlardaki çalışmalarda dışlanmıştır (97). Her ne kadar alfa reseptör blokajı periferik vasküler direnci azaltsa da uzun dönemli tedavilerde sıklıkla ortostatik hipotansiyon ve taşiflaksi gibi yan etkiler görülmektedir.

Nebivololün β adrenerjik reseptörlerden başka reseptörlerle etkileşimi radyoaktif işaretlenmiş maddelerle yapılan deneylerde değerlendirilmiştir. Sıçan hipokampal membranlarında 5HT_{1A} reseptörlerine biraz bağlanma dışında, α_1 -adrenerjik, β_2 -adrenerjik, D₁-dopamin, D₂-dopamin, H₁-histamin, H₂-histamin, kolinerjik, muskarinik, benzodiazepin ve kalsiyum kanalları ile anlamlı bir bağlanma görülmemiştir (96).

Terapötik dozlarda nebivololün intrinsik semptomimetik aktivitesi yoktur (100).

Deneyisel modellerden elde edilen sonuçlara göre nebivolol insanda antianginal özelliğe sahiptir. Angina pectorisi olan hastalarda anginal ağrının oluşum sürecini geciktirdiği ve egzersiz toleransını iyileştirdiği gösterilmiştir (101,102).

Nebivololün ayrıca antiaritmik etkisi de bulunmaktadır (103).

3.5.4. Nebivolol ve Nitrik Oksit salınımının modülasyonu

Nitrik oksit vasküler homeostaziste düşünüldüğünden çok daha geniş yelpazeye yayılan biyolojik bir rol oynamaktadır. Gerçekte vasküler endotel hücrelerinden serbestlenen NO[•] kanda trombosit agregasyonunu azaltmakta (75) ve altta yatan vasküler düz kas hücreleri (VDKH) içine diffüze olarak vasküler gevşemeyi uyaramaktadır (76,95). NO[•] bu yoldan kan akımı ve basıncının modülasyonuna ve dolayısı ile aterosklerozun önlenmesine etkin bir şekilde katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, daha önce geniş biçimde anlatıldığı üzere bu hastalığın kilit olaylarından biri VDKH'lerin arterlerin media tabakasından intima tabakasına doğru migrasyonu ve proliferasyonudur. Bu nedenle VDKH proliferasyonunun kontrolü vasküler tedavinin başlıca amaçlarından biri olmaktadır.

Hayvan modelleri üzerindeki deneysel ve klinik çalışmalarda nebivololün damar tonusunu regüle etmede kilit rol oynayan endotel türevi nitrik oksitin aktivasyonu yoluyla doğrudan vazodilatatör etki gösterdiği saptanmıştır (104,105,106). Nebivololün koroner arterlerin endotele bağlı olarak gevşemesini

arttırma özelliğinin olup olmadığını in vitro saptamaya yönelik bir çalışma özellikle önem taşımaktadır (106). Bu amaca yönelik endoteliumlu veya endoteliumsuz izole köpek koroner arterlerinde PGF_2 ile daraltıcı uyarı sırasında izometrik gerilim ölçülmüş. Rasemik karışım dl-nebivololün, endotel korunduğunda koroner arterlerde daha yüksek düzeyde konsantrasyona bağımlı gevşemeyi harekete geçirdiği ve bu gevşemenin NO^+ sentaz inhibitörü olan nitr-L-arginin (NLA) tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (106).

Nitrik oksite bağılı vazodilatasyon nebivolol ile harekete geçirilmekte, ancak alpranolol, nadolol, propranolol, karvedilol, seliprolol gibi diğer beta-adrenoreseptör antagonistleriyle bu olay gerçekleşmemektedir. (106).

Dawes (107) ve Cockroft (104) birbirinin benzeri olan, nebivololün brakial arter içine uygulandığı iki ayrı klinik çalışma yaptılar. Her uygulamada doz bir öncekinin iki katına çıkarılırken, yapılan her infüzyondan sonra belirli bir süre ara verildi. Ön koldaki kan akımı pletismografi ile değerlendirildi. Kan akımının her doz uygulamasını takiben bir önceki değerin iki katına çıktığı saptandı.

İnsanlarda nebivolol tarafından endotele bağılı nitrik oksit (NO^+) sisteminin aktivasyonu yoluyla harekete geçirilen direkt vazodilatasyon, ilacın ön kol arterleri (104) ve dorsal el venleri (105) üzerindeki etkileri dikkate alınarak değerlendirilmiş ve nebivololün insanlarda kan akımını arttırdığı ve damar direncini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca nebivolol ile vasküler düz kas gevşemesinin NOS inhibitörü olan L-nitro-mono-metil-arginin (L-NMMA) ile birlikte infüzyonu sırasında bozulduğu gözlemi, nebivololün vazodilatasyonu endotelial metabolik sistem L-arginin / Nitrik oksitin aktivasyonu yoluyla harekete geçirdiği varsayımını desteklemektedir.

Son olarak insanlarda, nebivololün fenilefrinle önceden daraltılmış dorsal el venlerine lokal uygulanmasından sonra doza bağılı vazodilatasyona yol açtığı kanıtlanmıştır (105). Venöz kan akımındaki bu artışın L-NMMA ile birlikte infüzyonu sırasında anlamlı düzeyde azalması nebivololün NO^+ yoluyla etki ettiğini doğrulamaktadır (105).

Nebivololün hipertansiyon ve dolayısı ile ateroskleroz üzerinde kanıtlanmış etkinliği, yalnızca bu bileşiğin iyi bilinen vazodilatatör özellikleri ile ilişkili olmadığı görülmektedir. Gerçekten daha yakın tarihli çalışmalarda, nebivololün VDKH çoğalmasını inhibe etme yeteneği de olduğunu göstermiştir (108,109,110).

Nebivololün yeni ortaya çıkan bu niteliği, ilacın doğal özelliği dolayısıyla poliamin metabolizması ile etkileşime girebilmesi ile yakından ilişkilidir. Karbon zincirinde en az iki amin grubu bulunan bir bileşik sınıfı olan poliaminler, hücre siklüsünün ileri evrelere geçebilmesi için gerekli bileşenlerdir ve böylelikle hücre proliferasyonunda önemli bir rol oynarlar (109). Biyolojik önem taşıyan poliaminlerin prekürsörü NOS'ın da substratı olan L-arginindir. Gerçekten poliamin biyosentezinin ilk aşaması arginazın katalizlediği bir reaksiyon ile argininin üre ve ornitine hidrolizidir. Daha sonra ornitin ornitin dekarboksilaz (ODC) aracılığı ile pütresin oluşmaktadır. Sonrasında pütresinin spermidin sentetaz yoluyla dekarboksilasyonu spermidine ve onun sonrasında spermin sentetazın katalizlediği dekarboksilasyon sonucu spermine dönüşmesine yol açmaktadır. Bu yolun temel enzimleri arginaz ve ODC'dir (111).

Pütresin, spermidin ve spermin hücre büyümesi ile proliferasyonunda rol almaktadır. Nebivololün antiproliferatif etkisi bu döngüde NO' salınımını artırarak fakat cGMP'den bağımsız olarak ornitin dekarboksilazı inhibe etmek suretiyle vasküler düz kas hücrelerinde poliamin yapımının inhibisyonu ile meydana gelmektedir (109).

Bütün bu bulgular nebivololün trombosit agregasyonu (112) ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunu inhibe ederek, aynı zamanda da endotelin-1 sekresyonunu azaltarak (110) yalnızca kalbi değil vasküler sistemi de NO' aracılığı ile tromboz ve ateroskleroza karşı koruyucu etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

4.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Hamon ve arkadaşları (113) ile Ohkawa ve arkadaşları (114) tarafından tarif edilen balon katater hasarı modeli modifiye edilerek kullanıldı. Çalışma; fakültemiz etik kurul onayı alındıktan sonra T.C. Tarım Bakanlığı Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilen sağlıklı, erişkin, ortalama ağırlığı 2400-2850 gr ve ortalama yaşı 10 ay olan 21 adet Yeni Zellanda cinsi erkek beyaz tavşan üzerinde yapıldı. Deney süresince tüm tavşanlara, ortalama $20 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta , havalandırma tertibatı olan ve güneş ışığı alabilen bir odada bakıldı.

GRUPLAR: Denekler rastgele seçilerek, her grupta 7 denek olacak şekilde 3 gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol): Bu grup neбиволol verilmeyen 7 tavşandan oluşturuldu ve sadece vasküler balon katater hasarı işlemi uygulandı.

Grup 2 (Solvent) : Bu grup 7 tavşandan oluşturuldu ve işlemden 2 gün önce etken maddeyi çözmekte kullanılan solvent neбиволol grubundaki ile eşdeğer hacimde intraperitoneal (i.p) olarak verildi. İşlemden sonra 28 gün devam edildi.

Grup 3 (Nebivolol): Bu grup i.p yolla 2,5mg/kg/gün neбиволol verilen 7 tavşandan oluşturuldu. Nebivolol (Vasoxen, İ.E. Ulagay, Türkiye) verilmesine işlemden 2 gün önce başlanıp işlemden sonraki 28. güne kadar devam edildi.

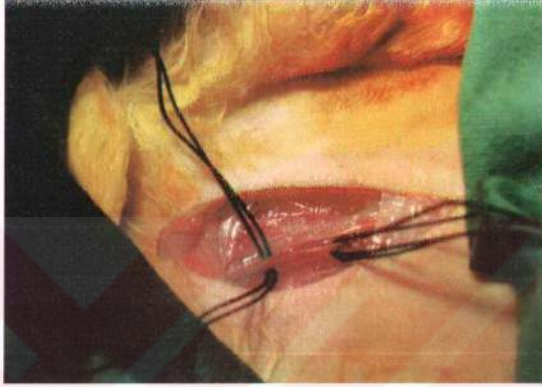
4.1. ANESTEZİ TEKNİĞİ:

Tüm deneklerde anestezi, Ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczaetbaşı, Türkiye) 50 mg/kg intramuskuler (i.m.) ve Xylazine hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) 5 mg/kg i.m. ile sağlandı. Bu dozun 1/3'ü gerektiğinde i.m. olarak tekrarlandı.

4.2. BALON KATATER HASARI:

İşlem floroskopik teknik altında yürütüldü. Anestezi verildikten sonra deneklerin dorsal kulak veni kullanılarak damar yolu açıldı ve bu yolla cerrahi girişimden 5 dk. önce amoksisilin (Ampisina, Mustafa Nevzat, Türkiye) 50 mg/kg intravenöz (i.v.) ve heparin sülfat (Liquemine®, Roche, Türkiye) 300 IU/kg i.v. verildi. Daha sonra steril şartlarda, sağ kasık bölgesine longitudinal bir kesi uygulanarak sağ superficial femoral arter mobilize edildi (Şekil 4). Vertikal femoral arteriotomi yapılarak 2.5 mm çapında 20 mm uzunluğunda balon anjioplasti katateri (Cordis-Europa, Hollanda), femoral arter içinden retrograt olarak abdominal aortaya ilerletildi. İnfrarenal abdominal aortada anjioplasti kataterinin balonu, içi serum fizyolojik ile doldurulmuş balon inflation device (Sedat SA, Fransa) kullanılmak

suretiyle 8 atmosfer basınçta şişirilerek femoral artere doğru çekildi. Bu işlem katater 120°'lik açılarla döndürülerek 3 kez tekrarlandı. Bu sayede damar duvarında intimal hasar oluşumu sağlandı. Katater çekildikten sonra femoral arter, arteriotominin distal ve proksimalinden bağlandı. Cilt kesisi eriyebilen sütür materyali ile kapatıldı.



Şekil 4: Sağ superficial femoral arter mobilizasyonu

Solüsyonun Hazırlanması: Lipofilik bir ajan olan nebivolol (Vasoxen®, 5 mg tb. Berlin-Chemie Menarini Group, İ.E. Ulagay) tablet formunda temin edildi. Hacim olarak %80 distile su, %20 polietilen glikol (Merck-Schuchardt) olacak şekilde solvent (çözücü karışım) hazırlandı. Tablet formundaki nebivolol steril şartlarda toz formu haline getirildi. Ardından hazırlanan solüsyona eklenerek santrifüj yardımı ile çözülmesi sağlandı. Mililitresinde 2.5 mg nebivolol olan karışım elde edildi (115). 28 gün süre ile tavşanlar beslendi ve bu süre boyunca solvent grubundaki tavşanlara eşdeğer hacimde çözücü karışım, nebivolol grubundaki tavşanlara ise 2,5 mg/kg/gün nebivolol intraperitoneal olarak uygulandı.

4.3. HEMODİNAMİK ÇALIŞMALAR

Tüm deneklerde sistolik, diastolik ve ortalama arteriyel basınçlar ile kalp hızları deney başlangıcında ve deney süresinin bitiminde ölçüldü. Bu değerlerin ölçümü için deney başlangıcında ve deney süresinin bitiminde deneklerin sağ orta kulak arteri 24 G branül (Mediflon™ , Hindistan) ile kanüle edildi. Daha sonra bu arteriyel yol bir transduserle (Abbot Critical Care System, İrlanda) konnekte edildi ve Siemens SC-600 (Siemens Medical Systems Industry-USA) invazif basınç monitörü kullanarak kaydedildi (Şekil 5). Tedavi grubundaki deneklerde deney sonundaki ölçümler ilaç verildikten 24 saat sonra yapıldı. Deneklerin çevresel faktörlerden etkilenmemeleri için hemodinamik değerlendirmeler aynı anesteziik yöntem ve dozları kullanılarak anesteziik maddenin verilışinden 20 dakika sonra yapıldı.



Şekil 5: Tavşanların invazif moniterizasyonu

4.4. DAMAR ÖRNEKLERİNİN ALINMASI VE HAZIRLANMASI

Deney süresinin sonunda tüm deneklerde aynı anestezi tekniği ile ksifoid altından abdominal aort serbestleştirilerek 22 G branül (Mediflon TM) ile kanüle edildi. Aynı seviyeden vena kava inferior kesilerek venöz kan drene edildi. Arterlerin histolojik inceleme anında, in vivo boyutlarının korunması için aortadaki kanül yolu ile 80 mmHg basınçta serum fizyolojik verildi ve vena kava inferiordan berrak mayii gelinceye kadar bu işleme devam edildi. Daha sonra yine aynı yoldan 80 mmHg basınçta 20 dakika süre ile %10 formaldehid solüsyonu infüze edilerek damarların fikse edilmesi sağlandı.

Abdominal aort, iliyak bifurkasyona kadar zedelenmeden çıkarıldı. Renal arter hizasından 3 cm'lik distal aort segmenti %10'luk formaldehid solüsyonu içinde histokimyasal ve immunohistokimyasal incelemeler için patoloji laboratuvarına, iliyak bifurkasyona kadar olan aort segmenti ise serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra alüminyum folyolara sarılarak biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı.

4.5. HISTOMORFOLOJİK İNCELEME:

Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom ile 4µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler deparafinize edilerek cam slaytlara monte edilip hematoksiyen – eosin, Verhoeff'un elastik boyası ve Masson Trichrome boyası ile boyandı. Preparatlar BH-2 Olympus fotomikroskop ile incelenerek fotoğraflandırıldı. Bu fotoğraflar üzerinde bilgisayar ortamında (Alan Hesaplama Programı Versiyon 1) her bir kesitteki intimal alan ve medial alan hesaplanarak intima / media oranları saptandı.

4.6. İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME:

Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4µm kalınlığındaki kesitlere avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal olarak PDGF-β, bFGF ve endotelin-1 uygulandı. Bu uygulamalar ile elde edilen 4 mikron kalınlığındaki kesitler deparafinize ve rehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini ölçmek için 5 dk. %3 hidrojen peroksitte tutuldu. Daha sonra distile su ile yıkanıp pH 6'da 650 mw (mikrodalga)'da Sitrat buffer'da PDGF-β, bFGF ve endotelin-1 için 1'er defa 5 dk. bekletildi. Kesitlere 10 dk Ultra V blok uygulandı. Benmaride 37°C nemli ortamda 30 dk süreyle PDGF-β (Neomakers, Fremont, CA), bFGF (Chemicon International), endotelin-1 (Chemicon Australia) antikorları uygulandı. Ardından 0.001 M, pH 7.4 olan PBS ile yıkanarak avidin- biotin peroksidaz ile

inkübe edildi. AEC kromojen ile boyandı. Bütün kesitlere Mayer Hematoksileni ile zıt boyama yapıldı ve özel kapatma maddesi (Ultra Mount Medium) ile kapatıldı.

Immunohistokimyasal boyanma uygulanan preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirildi. İntimal alandaki boyanma yoğunluğu yönünden:

- 0 (0) : Boyanma yok
- + (1): Zayıf boyanma
- ++ (2) : Orta derecede boyanma
- +++ (3) : Yoğun boyanma olarak 0'dan 3'e kadar skorlandı.

4.7. BİYOKİMYASAL İNCELEME :

Aort dokuları homojenizasyon tüpüne aktarıldı ve üzerine 9 ml Tris HCl tamponu (0.2 mM ve pH: 7,5) eklenerek 1/10 oranında dilüsyon yapıldı. Dilüe edilen doku örnekleri 16000 devir/dakika hızda homojenize edildi (116). Hazırlanan homojenatlarda nitrik oksit düzeyleri tayin edildi.

Vücutta endojen olarak üretilen nitrik oksitin doku ve vücut sıvılarındaki konsantrasyonu, pekçok çalışmada nitrit ve nitrat olarak tayin edilmiştir (117). Çünkü nitrik oksit, üretildiği bölgede önce nitrite daha sonrada nitrata dönüşür. Bununla beraber proteinden zengin homojenat, serum ve plazma gibi solüsyonlarda spesifik olmayan reaksiyonlar meydana gelebileceğinden, bu nonspesifik reaksiyonların önüne geçebilmek için homojenatları önce deproteinize edip daha sonra nitrit ve nitrat konsantrasyonlarını ölçtük. Dokuda nitrit ve nitrat miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlendi (118). Total nitrit (nitrit + nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile tayin edildi. pH 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri deproteinize numune supernatantı ile 90 dakikalık inkübasyona bırakılarak nitratın redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit, sülfanilamid ve buna bağlı N-naftiletilen diamin (NDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonu oluşan pembe bir rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile belirlendi.

4.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME:

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 11.0 paket program ile yapıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Gruplar arasındaki farkların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis varyans analiz testi, ikili karşılaştırmalarda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Gruplarda uygulama öncesi ve sonrası verilerin değerlendirilmesinde Wilcoxon testi kullanıldı. Ayrıca gruplarda elde edilen patolojik verilerde; boyanma yoğunluklarının karşılaştırılmasında Ki-Kare (X^2) testi, gruplarda boyanma skorlarının karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

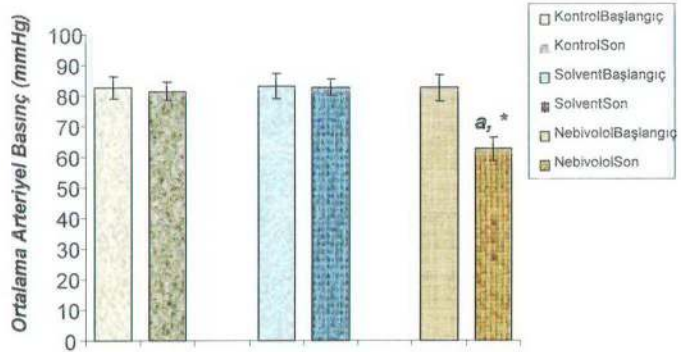
5.1. HEMODİNAMİK VERİLER:

Her 3 grubun çalışma öncesi ortalama arteriyel basınç değerleri (MAP) arasında fark bulunmadı. Nebivolol verilen grupta MAP değerlerinin; kontrol ve solvent gruplarına göre çalışma sonunda istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p<0.01$). Nebivolol verilen deneklerde tedavi öncesi MAP değeri $82,57\pm4,35$ mmHg iken tedavi süresinin sonunda $62,57\pm3,86$ mmHg'ya düştü ($p<0.01$). Kontrol ve solvent gruplarında ise çalışma öncesi ve sonrası MAP değerlerinde anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p>0.05$). Aynı zamanda her iki grup arasında da çalışma sonrasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 2) (Şekil 6).

Tablo 2 Gruplardaki Ortalama Arteriyel Basınç Değerleri

Ortalama Arteriyel Basınç (mmHg)			
GRUPLAR	ÇALIŞMA BAŞLANGICI	ÇALIŞMA SONU	P (Başlangıç-Sonuç)
KONTROL (n=7)	$82,71\pm3,48$	$81,57\pm3,15$	AD
SOLVENT (n=7)	$83,14\pm3,97$	$82,71\pm2,93$	AD
NEBIVOLOL (n=7)	$82,57\pm4,35$	$62,57\pm3,86^{*a}$	$^ap<0.01$
p (Gruplar arası)	AD	$^{*}p<0.01$ (Nebivolol- Kontrol) (Nebivolol- Solvent)	

AD: Anlamlı Değil



Şekil 6: Ortalama Arteriyel Basınç Değerleri

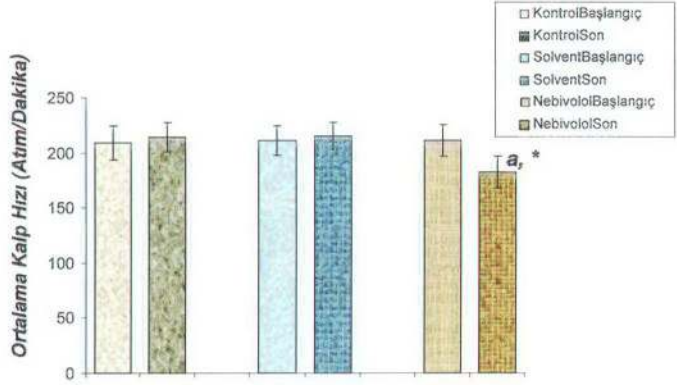
* $p < 0.01$ (Nebivolol - Kontrol) (Nebivolol - Solvent),

a $p < 0.01$ (Nebivolol - Başlangıç) (Nebivolol - Son)

Ortalama kalp hızı değerleri yönünden çalışma başlangıcında kontrol, solvent ve nebivolol grupları arasında anlamlı fark bulunmazken ($p > 0.05$); çalışma sonunda ortalama kalp hızı değerleri nebivolol grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak azaldı ($p < 0.01$). Ayrıca nebivolol verilen gruptaki deneklerin ortalama kalp hızı değerleri çalışma başlangıcında $211,01 \pm 14,12$ atım/dakika iken çalışma sonunda $182,85 \pm 14,25$ atım/dakika olarak saptandı. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Kontrol ve solvent grupları arasında çalışma öncesi ve sonrasında kalp hızı değerleri anlamlı değişiklik saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 3) (Şekil 7).

Tablo 3: Gruplardaki Ortalama Kalp Hızı Değerleri

Ortalama Kalp Hızı (Atım/Dakika)			
GRUPLAR	ÇALIŞMA	ÇALIŞMA	p
	BAŞLANGICI	SONU	(Başlangıç-Sonuç)
KONTROL (n=7)	209,57 ± 15,37	214,71 ± 13,87	AD
SOLVENT (n=7)	211,57 ± 13,57	215,42 ± 11,87	AD
NEBİVOLOL (n=7)	211,01 ± 14,12	182,85 ± 14,25* ^a	^a $p < 0.05$
p (Gruplar arası)	AD	* $p < 0.01$ (Nebivolol- Kontrol) (Nebivolol- Solvent)	



Şekil 7: Ortalama Kalp Hızı Değerleri

* $p < 0.01$ (Nebivolol- Kontrol) (Nebivolol- Solvent),

^a $p < 0.05$ (Nebivolol Başlangıç - Nebivolol Son)

5.2. HİSTOMORFOLOJİK VERİLER:

Kontrol grubunda ortalama intimal alan $0.754 \pm 0.27 \text{ mm}^2$ olarak tespit edilirken solvent grubundaki ortalama intimal alan $0.586 \pm 0.18 \text{ mm}^2$ olarak ölçüldü. Medial alanlar ise kontrol grubunda $1.34 \pm 0.37 \text{ mm}^2$, solvent grubunda $1.54 \pm 0.36 \text{ mm}^2$ idi. Her iki grupta intima / media oranları sırasıyla 0.557 ± 0.17 ve 0.378 ± 0.06 idi. Kontrol ve solvent grupları arasında intimal alan, medial alan ile intima / media oranları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 4) (Şekil 8,9,10). Kontrol ve solvent gruplarından birer tavşana ait aort histolojik kesitleri şekil 11,11A, 12,12A'da görülmektedir.

Nebivolol verilen grupta ortalama intimal alan $0.204 \pm 0.11 \text{ mm}^2$, medial alan $1.24 \pm 0.19 \text{ mm}^2$ ölçülürken intima /media oranı 0.158 ± 0.05 olarak hesaplandı. İntimal alandaki artış nebivolol grubunda kontrol ve solvent gruplarına göre anlamlı derecede az iken ($p < 0.001$), medial alanda anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p > 0.05$). İntima / media oranı anlamlı olarak azaldı ($p < 0.001$) (Tablo 4) (Şekil 8,9,10). Nebivolol grubundan bir aort histolojik kesiti şekil 13 ve 13A'da görülmektedir.

Tablo 4: Arteriyel Kesitlerin Histomorfolojik Değerlendirme Sonuçları

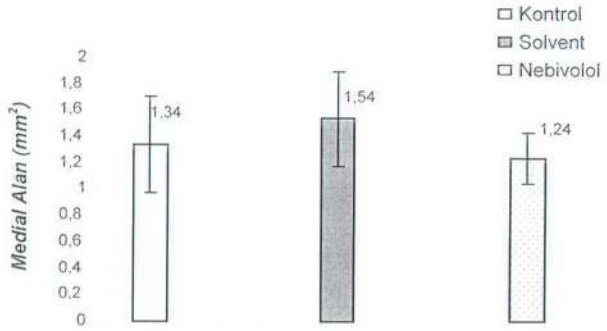
GRUPLAR		İntimal Alan (mm ²)	Medial Alan (mm ²)	İntima/Media oranı
KONTROL	(n=7)	0.754 ± 0.27	1.34 ± 0.37	0.557 ± 0.17
SOLVENT	(n=7)	0.586 ± 0.18	1.54 ± 0.36	0.378 ± 0.06
NEBIVOLOL	(n=7)	0.204 ± 0.11*	1.24 ± 0.19	0.158 ± 0.05*
p (Gruplar arası)		*p<0.001 (Nebivolol- Kontrol) (Nebivolol- Solvent)	AD	*p<0.001 (Nebivolol- Kontrol) (Nebivolol- Solvent)

AD: Anlamlı Değil

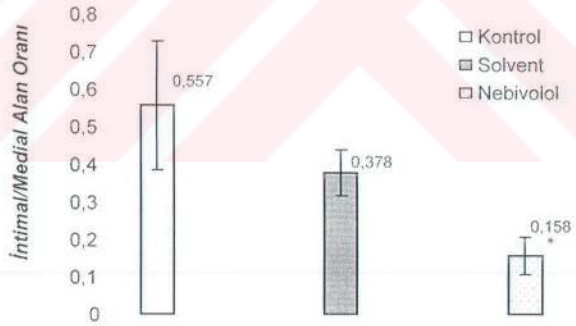


Şekil 8- Ortalama İntimal Alan Oranları

*p<0.001 (Nebivolol- Kontrol) (Nebivolol- Solvent)

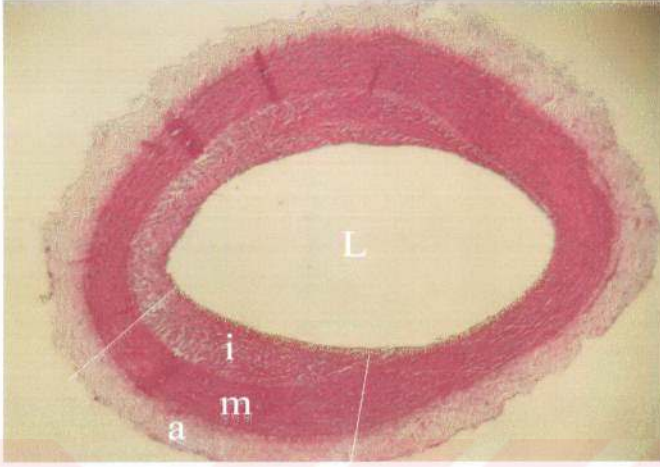


Şekil 9: Ortalama Medial Alan Oranları



Şekil 10: İntimal / Medial Alan Oranları

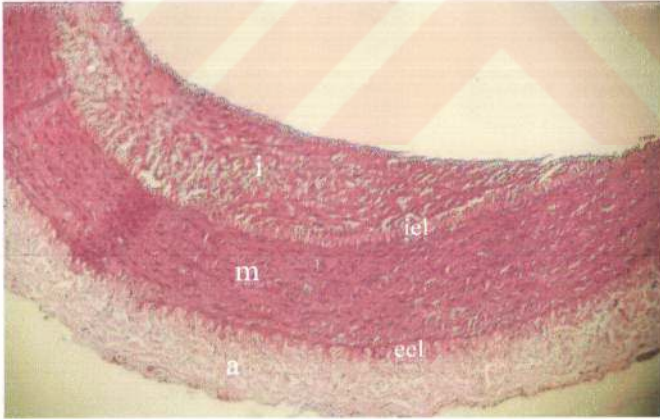
*p<0,001 (Nebivolol- Kontrol) (Nebivolol- Solvent)



Şekil 11.A : Kontrol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti

(Işık mikroskobu H&E X40)

L: lümen i: intima m:media a: adventisya

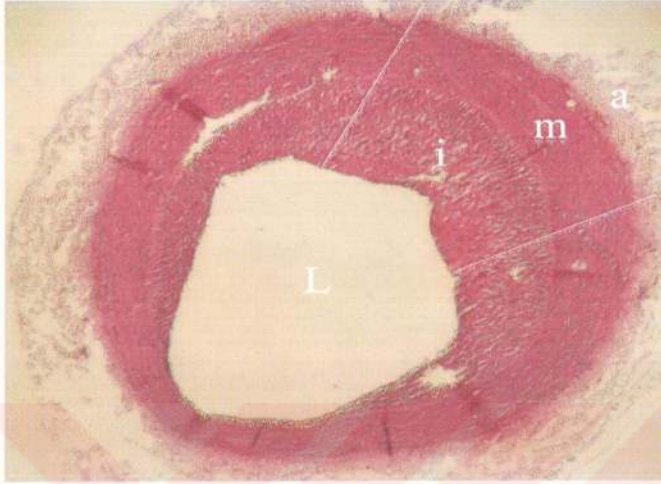


Şekil 11.B : Kontrol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti

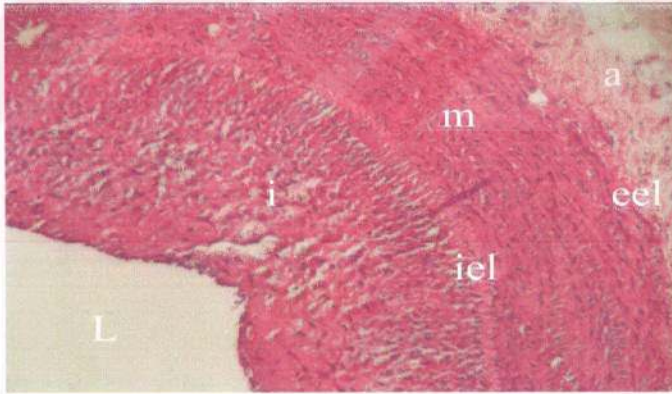
(Işık mikroskobu H&E X 200)

i: intima m:media a: adventisya

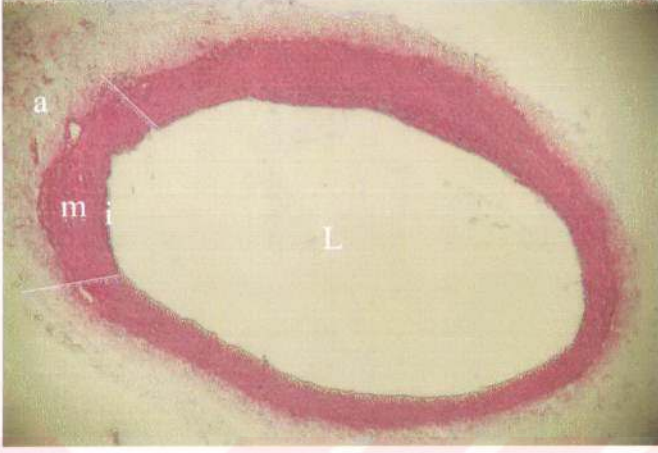
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina



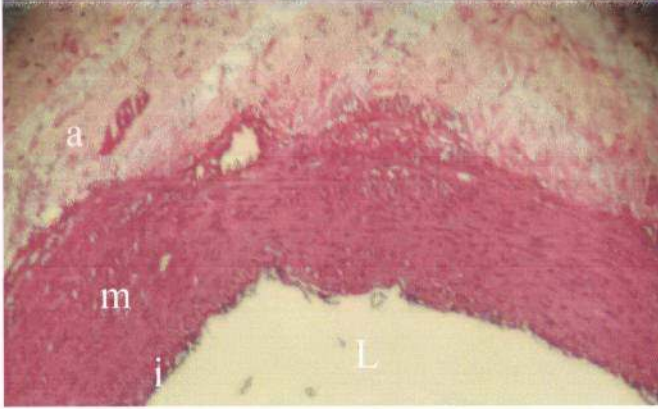
Şekil 12.A : Solvent grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(Işık mikroskobu H&E X40)
L: lümen i: intima m:media a: adventisya



Şekil 12.B: Solvent grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(Işık mikroskobu H&E X 200)
L: lümen i: intima m:media a: adventisya
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina



Şekil 13.A :Nebivolol grubundan bir tavşana ait aort histolojik kesiti
(Işık mikroskobu H&E X40)
L: lümen i: intima m:media a: adventisya



Şekil 13.B:Nebivolol grubundan bir tavşana ait aort histolojik kesiti
(Işık mikroskobu H&E X 200)
L: lümen i: intima m:media a: adventisya

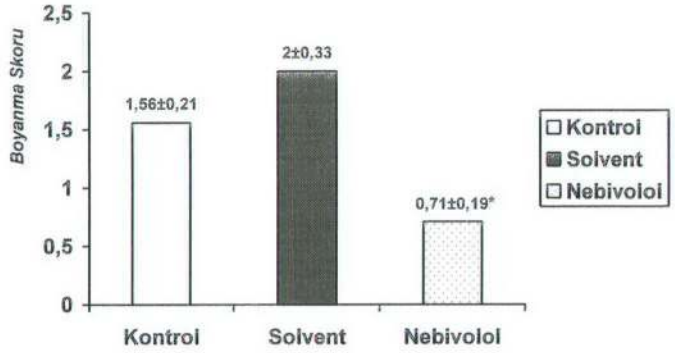
5.3. İMMUNOHİSTOKİMYASAL VERİLER:

Alınan kesitler PDGF- β , bFGF ve endotelin-I yönünden immunohistokimyasal olarak boyandılar. İntimal alandaki boyanma yoğunluğuna göre değerlendirildiler ve skorlandılar.

PDGF- β için nebivolol verilen grupta kontrol ve solvent gruplarına göre intimal alandaki boyanma yoğunluğu daha az olarak gözlenmiştir. (Tablo 5) (Şekil 15A, 15B, 16A, 16B, 17A, 17B). Kontrol grubunda skor 1.56 ± 0.21 , solvent grubunda 2 ± 0.33 olarak saptandı ve bunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P > 0.05$). Nebivolol verilen grupta ise skor 0.71 ± 0.19 bulundu ve her iki gruba göre boyanma yoğunluğunda anlamlı azalma olduğu tespit edildi. ($P < 0.05$) (Tablo 5) (Şekil 14).

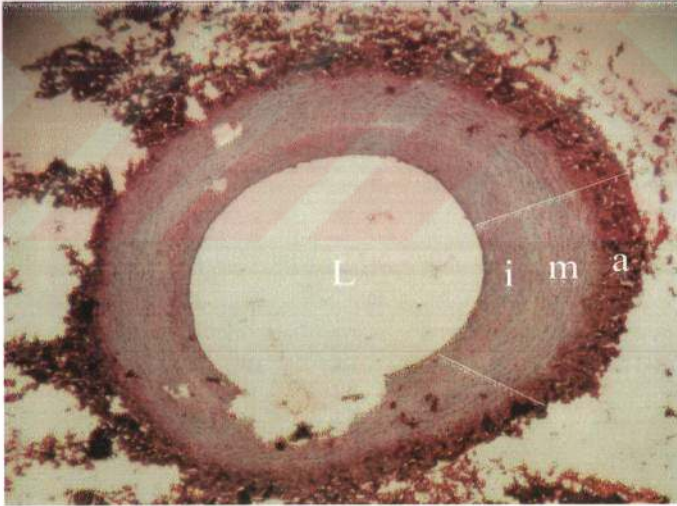
Tablo 5. İmmunohistokimyasal Veriler

	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Solvent)	Grup 3 (Nebivolol)	P
n	7	7	7	
PDGF				
0 (Boyanma yok)	-	-	2 (0)	P<0.05 (Kontrol-Nebivolol) (Solvent-Nebivolol) (Ki-Kare)
1 (Hafif Boyanma)	4 (4)	4 (4)	5 (5)	
2 (Orta Boyanma)	2 (4)	1 (2)	-	
3 (Yoğun Boyanma)	1 (3)	2 (6)	-	
	(11/7)	(14/7)	(5/7)	
SKOR	1.56$\pm$0.21	2$\pm$0.33	0.71$\pm$0.19	P<0.05 (Kontrol-Nebivolol) (Solvent-Nebivolol) (Mann Whitney-U)
bFGF				
0 (Boyanma yok)	-	-	2 (0)	P<0.01 (Kontrol-Nebivolol) (Solvent-Nebivolol) (Ki-Kare)
1 (Hafif Boyanma)	1 (1)	2 (2)	4 (4)	
2 (Orta Boyanma)	4 (8)	4 (8)	1 (2)	
3 (Yoğun Boyanma)	2 (6)	1 (3)	-	
	(15/7)	(13/7)	(6/7)	
SKOR	2.14$\pm$0.45	1.85$\pm$0.37	0.85$\pm$0.14	P<0.01 (Kontrol-Nebivolol) (Solvent-Nebivolol) (Mann Whitney-U)
Endotelin-I				
0 (Boyanma yok)	-	-	2 (0)	P<0.05 (Kontrol-Nebivolol, (Solvent-Nebivolol) (Ki-Kare)
1 (Hafif Boyanma)	2 (2)	3 (3)	4 (4)	
2 (Orta Boyanma)	4 (8)	3 (6)	1 (2)	
3 (Yoğun Boyanma)	1 (3)	1 (3)	-	
	(13/7)	(12/7)	(6/7)	
SKOR	1.85$\pm$0.29	1.71$\pm$0.16	0.85$\pm$0.17	P<0.05 (Kontrol-Nebivolol, (Solvent-Nebivolol) (Mann Whitney-U)



Şekil 14: PDGF- β Boyanma Skoru

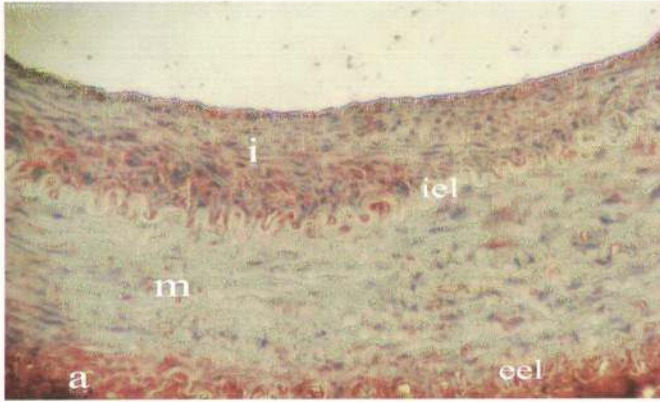
* $p<0.05$ (Nebivolol-Kontrol) (Nebivolol-Solvent)



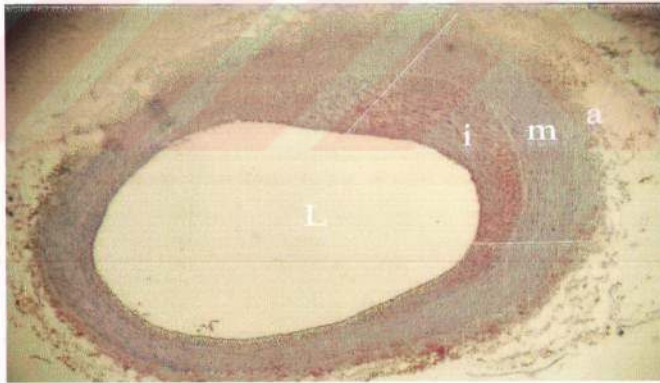
Şekil 15A: Kontrol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti

(PDGF- β ile intimal immunboyanma X 40)

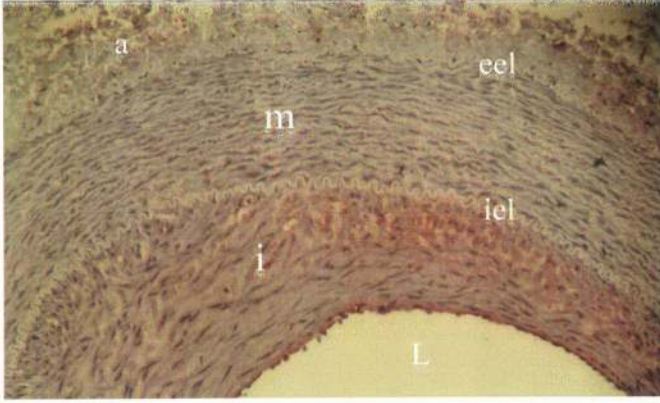
i: intima m:media a: adventisya



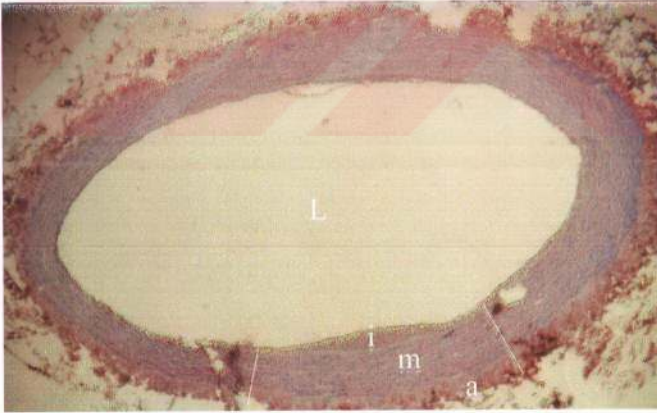
Şekil 15B: Kontrol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(PDGF- β ile (++) intimal immunboyanma X 200)
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina
i: intima m:media a: adventisya



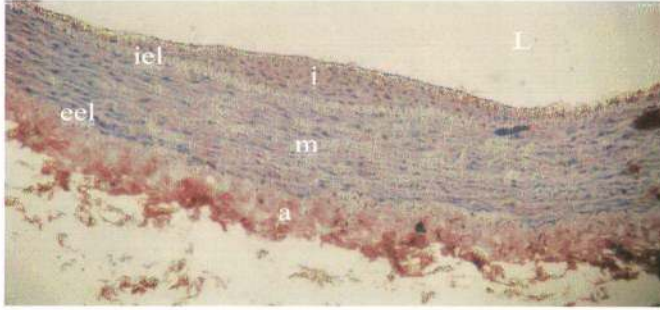
Şekil 16A: Solvent grubundan bir tavşana ait aort histolojik kesiti
(PDGF- β ile intimal immunboyanma X 40)
i: intima m:media a: adventisya



Şekil 16B: Solvent grubundan bir tavşana ait aort histolojik kesiti
(PDGF- β ile (++) intimal immunboyanma X200)
i: intima m:media a: adventisya
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina

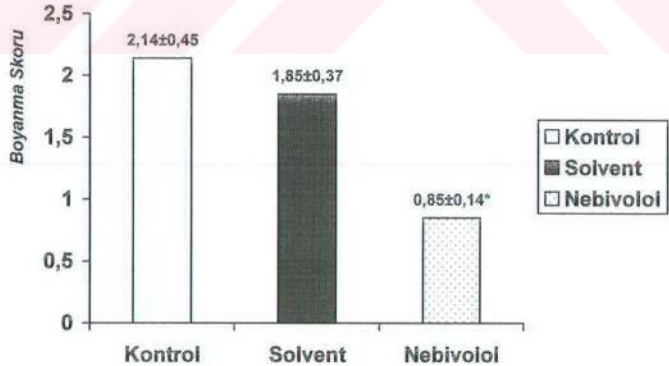


Şekil 17A: Nebivolol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(PDGF- β ile intimal immunboyanma X 40)
i: intima m:media a: adventisya



Şekil 17B: Nebivolol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(PDGF- β ile (+) intimal immunboyanma X 200)
i: intima m:media a: adventisya
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina

Basic FGF ile intimal alandaki boyanma yoğunluğu kontrol ve solvent gruplarında artmış olarak tespit edilirken nebivolol grubu ile karşılaştırıldığında; bu grupta yoğunluğun anlamlı derecede az olduğu görülmüştür ($P<0.01$) (Tablo 5) (Şekil 19A, 19B, 20A, 20B, 21A, 21B). Skorlama sistemine göre kontrol grubu 2.14 ± 0.45 , solvent grubu 1.85 ± 0.37 olarak hesaplanırken, nebivolol verilen grupta boyanma skoru 0.85 ± 0.14 bulundu (Tablo 5) (Şekil 18). Kontrol ve solvent grupları arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($P>0.05$) (Şekil 18, 19A, 19B, 20A,20B).

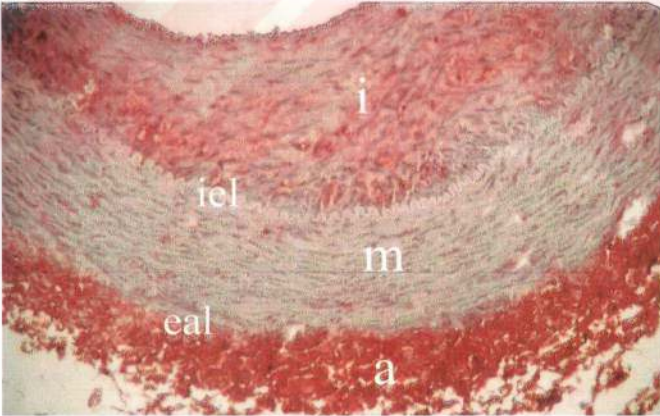


Şekil 18: bFGF Boyanma Skoru

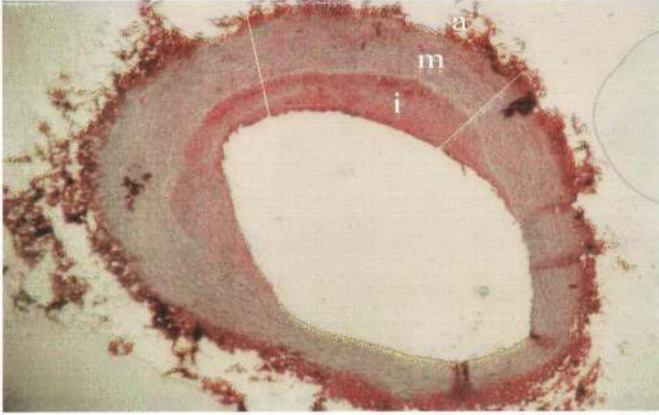
* $p<0.01$ (Nebivolol-Kontrol) (Nebivolol -Solvent)



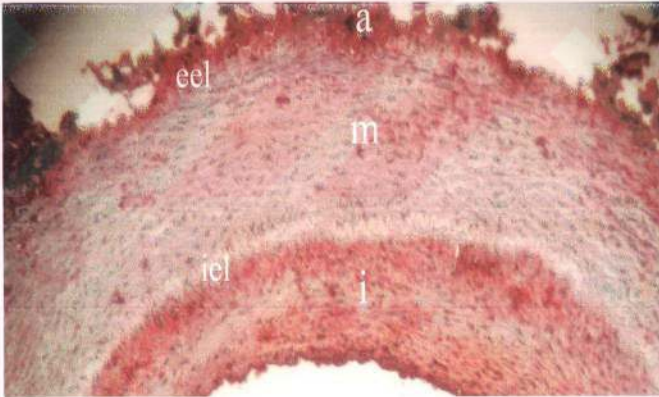
Şekil 19A: Kontrol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(bFGF ile intimal immunboyanma X 40)
i: intima m:media a: adventisya



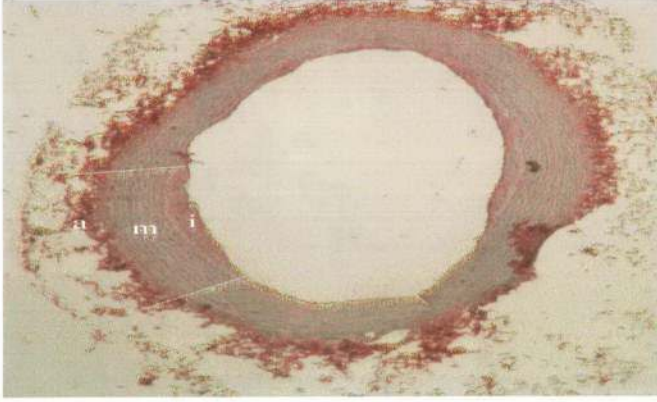
Şekil 19B: Kontrol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(bFGF (+++) intimal immunboyanma X 200)
i: intima m:media a: adventisya
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina



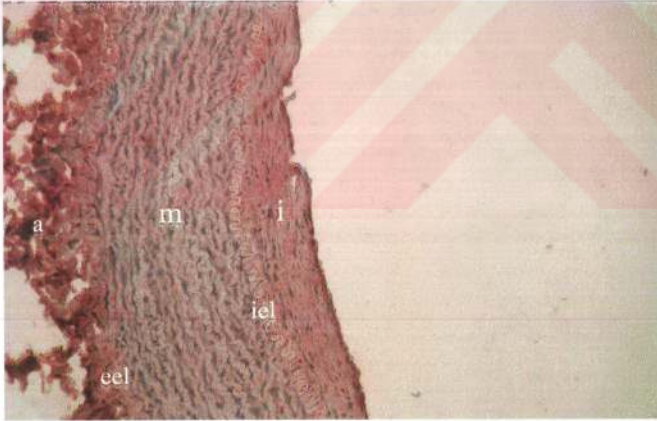
Şekil 20A: Solvent grubundan bir tavşana ait aort histolojik kesiti
(bFGF ile intimal immunboyanma X 40)
i: intima m:media a: adventisya



Şekil 20B: Solvent grubundan bir tavşana ait aort histolojik kesiti
(bFGF (+++) intimal immunboyanma X 200)
i: intima m:media a: adventisya
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina

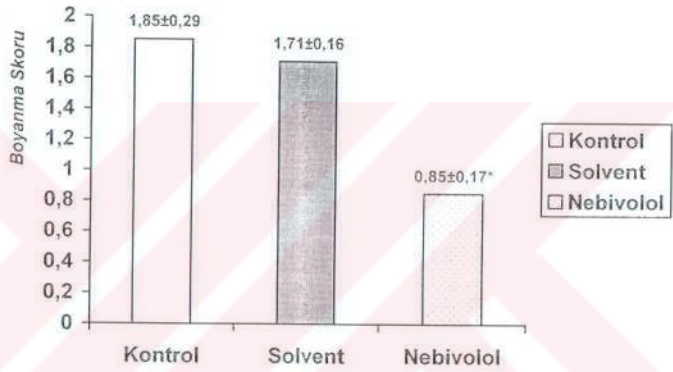


Şekil 21A: Nebivolol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(bFGF ile intimal immunboyanma X 40)
i: intima m:media a: adventisya



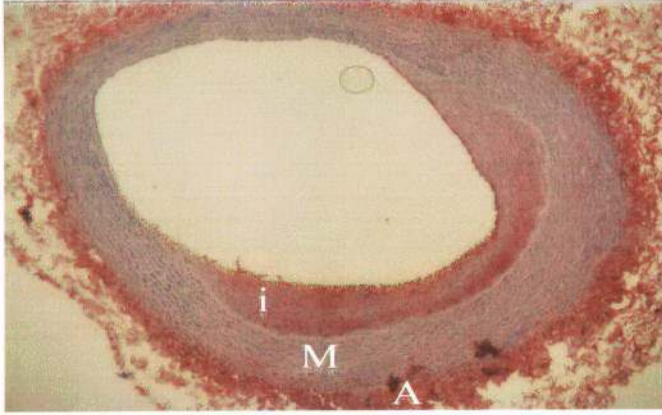
Şekil 21B: Nebivolol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(bFGF (+) intimal immunboyanma X 200)
i: intima m:media a: adventisya
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina

Endotelin-1 ile boyanmada diğer iki parametrede olduğu gibi kontrol ve solvent grupları arasında boyanma yoğunluğu açısından anlamlı bir fark tespit edilmezken ($p>0.05$) (Şekil 23A, 23B, 24A, 24B), nebivolol grubunda hem intimal kalınlaşmanın hem de intimal immün boyanmanın daha az yoğunlukta olduğu görüldü ($p<0.05$) (Şekil 25A,25B). Kontrol grubunda 1.85 ± 0.29 olan boyanma skoru, solvent grubunda 1.71 ± 0.16 , nebivolol grubunda ise 0.85 ± 0.17 idi (Tablo 5) (Şekil 22).

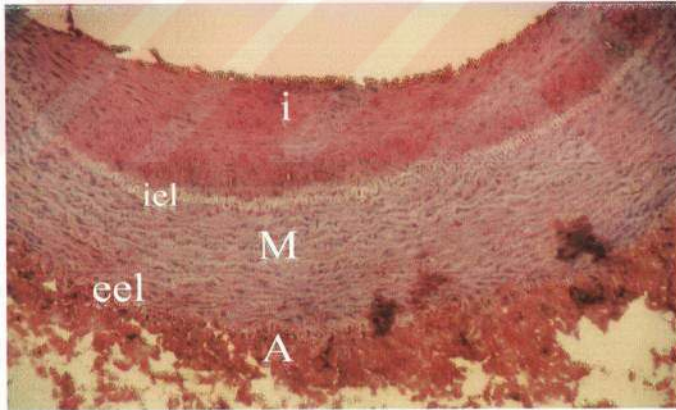


Şekil 22: Endotelin-1 Boyanma Skoru

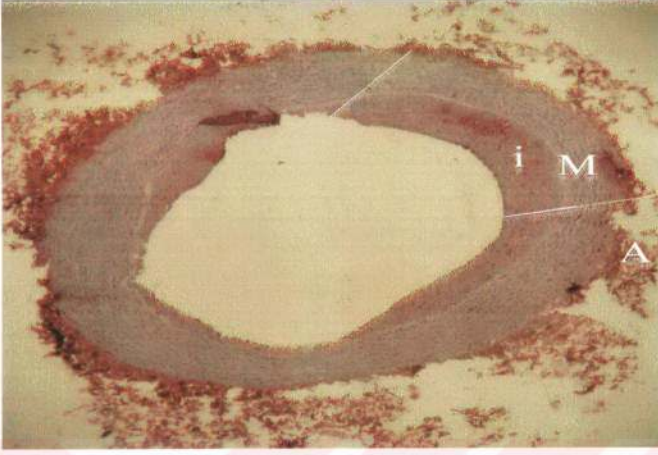
* $p<0.05$ (Nebivolol-Kontrol) (Nebivolol-Solvent)



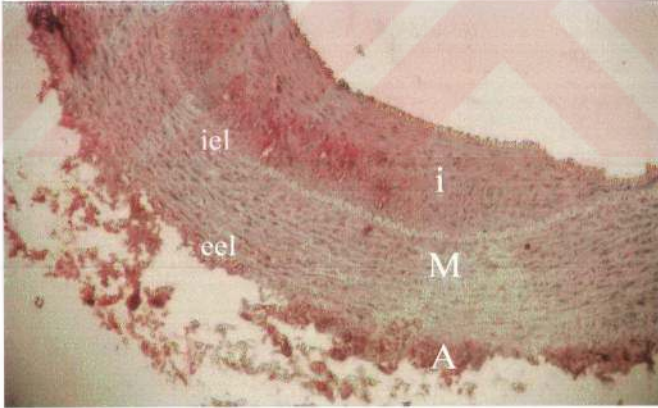
Şekil 23A: Kontrol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(endotelin-1 ile intimal immunboyanma X 40)
İ: intima M:media A: adventisya



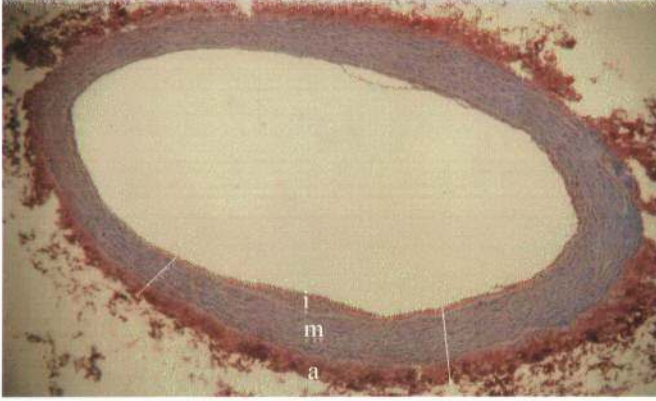
Şekil 23B: Kontrol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(endotelin-1 ile (+++) intimal immunboyanma X 200)
İ: intima M:media A: adventisya
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina



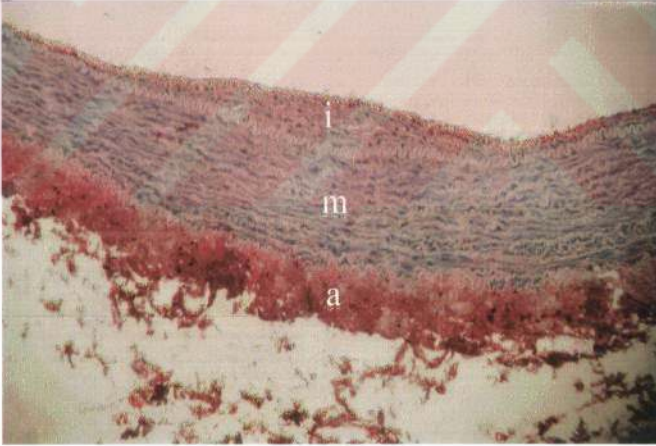
Şekil 24A: Solvent grubundan bir tavşana ait aort histolojik kesiti
(endotelin-1 ile intimal immunboyanma X 40)
İ: intima M:media A: adventisya



Şekil 24B: Solvent grubundan bir tavşana ait aort histolojik kesiti
(endotelin-1 ile (+++) intimal immunboyanma X 200)
İ: intima M:media A: adventisya
iel: internal elastik lamina, eel: eksternal elastik lamina



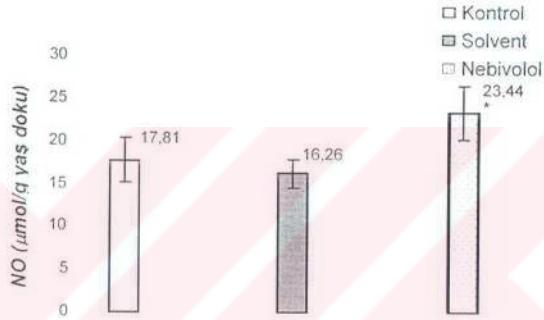
Şekil 25A: Nebivolol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(endotelin-1 ile intimal immunboyanma X 40)
i: intima m:media a: adventisya



Şekil 25B: Nebivolol grubundan bir tavşanın aort histolojik kesiti
(endotelin-1 ile (+) intimal immunboyanma X 200)
i: intima m:media a: adventisya

5.4. BİYOKİMYASAL VERİLER:

Kontrol grubunda 17.81 ± 2.55 $\mu\text{mol/gr}$ yaş doku olan doku nitrik oksit düzeyleri, solvent grubunda 16.26 ± 1.63 $\mu\text{mol/gr}$ yaş doku, nebivolol verilen grupta ise 23.44 ± 3.18 $\mu\text{mol/gr}$ yaş doku bulunmuştur. Kontrol ve solvent grupları arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0.05$), nebivolol grubunda diğer iki gruba göre doku nitrik oksit düzeyleri anlamlı olarak artmıştır ($p<0.01$) (Şekil 27).



Şekil 26: Doku Nitrik Oksit Düzeyleri

* $p<0.01$ (Nebivolol- Kontrol) (Nebivolol- Solvent)

6.TARTIŞMA

Tıkalıcı arter hastalıklarının tedavisinde çeşitli rekonstrüktif girişimler sık kullanılan yöntemlerdir. Arteriyel rekonstrüksiyonlarda başarı şansını engelleyen en önemli sorun erken ve geç dönemde ortaya çıkan tromboz, intimal kalınlaşma ve luminal daralmadır (30). Arteriyel rekonstrüksiyonların nasıl yetersiz hale geldiği tam bilinmemekle birlikte muhtemel sebep normal yara iyileşmesi zemininde oluşan bir ateroskleroz formunun varlığıdır (12,13,14). Yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre intimal hiperplazi gelişiminde endotelial hücreler önemli bir rol oynamaktadır. İntimal kalınlaşma büyük oranda düz kas hücre proliferasyonuna ve intimada konnektif doku birikimine bağlı olarak oluşmaktadır (16,18,20). İntimada kalınlaşma oluşumu arter veya greftin hasara karşı verdiği normal onarıcı yanıtın bir parçasıdır (14,18).

Vasküler girişimlerin bütün formları damar duvarında hasara neden olur. Yara iyileşmesindeki aşırı yanıt veya intimal hiperplazi sonuçta luminal daralmaya ve vasküler girişimin yetersiz hale gelmesine neden olmaktadır. Bu olay balon anjioplasti sonrası 6 ay içinde koroner arterlerin %30'unda (18). ven grefti kullanılan periferel arteriyel by-passlarda 6-24 ay içinde vakaların %10'unda (50,52), koroner by-pass greftlerinin 10 yıl içinde %52 ile %75'inde (18). endarterektomiden sonra ise %10 ile %20 oranında gözlenmektedir (12,13).

Arteriyel rekonstrüksiyon girişimlerinin başarısızlığında bu kadar önemli yeri olan intimal hiperplazinin önlenmesinde bu sürecin basamaklarına etkili olabilecek çeşitli farmakolojik ajanlar denemiş fakat kesin etkili bir tedavi yöntemi bulunamamıştır.

Nitrik oksit damar endotelinden sentezlenen, sitoprotektif, regülatör ve sitotoksik etkileri olan aktif bir bileşiktir (61,66). Etkileri arasında; endotel hasarı sırasında gelişen hücre aktivasyonunu inhibe ederek ve dolayısı ile monosit ve lökositlerin endotele yapışmasını önlemek, damar düz kas hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunu engellemek yer almaktadır (75,76,77). Bütün bu olaylar intimal hiperplazi gelişim sürecinde karşımıza çıkmaktadır. Dolayısı ile vasküler nitrik oksit salınımını arttıran farmakolojik bir ajanın intimal kalınlaşmayı azaltacağı düşüncesi ile üçüncü kuşak β -bloker olan ve vasküler nitrik oksit salınımını arttıran nebivololü Hamon ve arkadaşları (113) ile Ohkawa ve arkadaşlarının (114) yaptığı deneysel intimal hiperplazi modelini modifiye ederek kullandık.

Nebivololün intimal hiperplazi üzerine etkisi ile ilgili in vivo yapılmış bir çalışma bulunmaması nedeniyle doz belirlemek amacı ile geniş bir literatür taraması yapıldı. Antiaritmik etkinin araştırıldığı çalışmalarda sıçanlarda 1.25 mg/kg dozunda, Gine domuzlarında 2.5 mg/kg dozunda i.v. bolus olarak kullanılmış (103). Antihipertansif etkinliğinin saptanması için hipertansif sıçanlara intraperitoneal 1.25 mg/kg dozunda verilmiş (97). D'Agostino ve arkadaşlarının (119) tavşanlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada; nebivololün hava yolu yanıtına etkileri diğer beta blokerler (atenolol, pindolol ve propranolol) ile karşılaştırarak değerlendirilmiş. Beta blokerler ile akut ve kronik tedavi uygulamışlar. Kronik tedavide 30 gün süreyle 2.5 mg/kg/gün nebivolol uygulamasının tavşanlarda hava yolu direncini arttırmadığını saptamışlardır. Nebivololün diğer β -blokerler ile karşılaştırıldığında hava yolu direncini arttırmamasının sadece sempatik sinir sisteminin blokajı ile tam olarak açıklanamayacağı ve başka düzenleyici mekanizmaları da içerdiği görüşüne varmışlardır. Daha önce yapılan vazodilatör etkisi ile ilişkili çalışmalara istinaden (97,104,105) nebivololün NO⁺ aracılığı olarak kolinerjik sinir uçlarından asetil kolin salınımının inhibisyonu ile asetil kolin bağımlı bronkokonstrüksiyonu önlediği sonucuna varmışlardır. Yapılan bu çalışmadaki nebivolol dozunun NO⁺ artışı üzerinde etkili olduğu düşüncesiyle biz de çalışmamızda nebivololü 2.5mg/kg/gün dozunda kullandık. Günlük intravenöz uygulamanın zor olması, lipofilik olması ve daha önce hipertansif ratlarda intraperitoneal (97) kullanılması nedeniyle biz de bu yolu tercih ettik.

Damar duvarının yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin sürdürülmesinde düz kas hücreleri ve endotel hücrelerinin bütünlüğü kritik rol oynamaktadır (56). Balon kataterizasyonu ile oluşturulan hasar arterlerin intimasında trombosit adezyonunu ve progresif düz kas hücre proliferasyonunu uyarmaktadır (16,18,20). Vasküler yüzey deendotelize edildiğinde bir dizi olay birbirini takip eder ve sonuçta intimal kalınlaşma oluşur. Deendotelize edilmiş bölgeler derhal trombosit kümeleri ile kaplanır. Trombositler daha sonraki günler içinde damar lümenine doğru ilerleyen rejenere endotel ile yer değiştirir. Aynı zamanda mediada prolifer olmaya başlayan düz kas hücreleri intima doğru göç eder. Bu hücreler bir taraftan proliferasyona devam ederken diğer taraftan çok miktarda ekstrasellüler matriks sentezleyip sekrete ederler (14,16,18).

Bu yanıtın zamana göre gelişimi ratlarda ve tavşanlarda iyi bir şekilde karakterize edilmiştir (14,18, 120). More ve arkadaşları (120) yaptıkları bir çalışmada tavşanlarda balon hasarından 3 gün sonra reendotelizasyonun başladığını ve bunun 14. günde tamamlandığını, bu kalınlaşmanın daha ziyade ekzantrik tarzda olduğunu rapor etmişler, yine aynı çalışmada ekstrasellüler matriks birikimine bağlı olarak 1. ayda intimal kalınlaşmanın maksimum seviyeye ulaştığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da deney süresi balon hasarı işlemi sonrası 28 gün olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda Hamon ve arkadaşları (113) ile Ohkawa ve arkadaşlarının (114) kullandığı balon katater hasarı modelini modifiye ederek kullandık. Ayrıca damar duvarında hasar oluşturulmasında Fogarty katateri yerine daha önce Strauss ve arkadaşları (121) ile Li ve arkadaşlarının (122) uyguladıkları şekilde balon anjioplasti katateri kullanıldı. Balon şişirme basınçlarının elle ayarlanması yerine ise inflation device kullanıldı. Bu modelin çeşitli çalışmalarda intimada deendotelizasyon ve media tabakasında gerilme oluşturduğu ve ardından intimal hiperplaziye sebep olduğu gösterilmiştir (120,122). Hasar şiddetinin sabit tutulması açısından aynı tip ve ebatta balon kullanıldı. Ayrıca balon şişirme basınçları tüm hayvanlarda 8 atmosfer basıncı seviyesinde tutuldu (123). Yaş faktörü ve hayvanlar arasındaki damar çap farklarının minimal düzeyde tutulması açısından yaklaşık olarak aynı yaş ve kiloda tavşanların kullanılmasına özen gösterildi.

Rat karotis arterinde balon hasarından sonra neointimal formasyonun cinsiyete göre farklılıklar göstermesi (16) ve östrojenin balon hasarına karşı oluşan neointimal yanıtı azaltması nedeniyle (124) çalışmamızda erkek tavşanlar kullanıldı.

Çalışmamızda kontrol grubu tavşanlarda balon katater hasarından 4 hafta sonra intimal kalınlaşmanın $0.754 \pm 0.27 \text{ mm}^2$ olduğunu, solvent grubunda ise ortalama intimal alanın $0.586 \pm 0.18 \text{ mm}^2$ olduğunu tespit ettik. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p < 0.05$). Bu sonuç kullanılan solventin intima üzerinde etkisinin olmadığını göstermektedir. Bu oran More ve arkadaşları (120) tarafından yapılan çalışmada $0.293 \pm 0.13 \text{ mm}^2$, Ohkawa ve arkadaşları tarafından yapılan ayrı bir çalışmada ise $0.4 \pm 0.14 \text{ mm}^2$ (114) olarak belirtilmiştir. Bizim kontrol grubumuzdaki intimal kalınlaşmanın bu çalışmalara göre daha fazla bulunması, bu çalışmalarda balon anjioplasti katateri yerine Fogarty kataterinin kullanılması ve balon şişirme basınçlarının elle ayarlanması nedeniyle damar duvarındaki hasarın daha az seviyede olmasıyla açıklanabilir. Bu bulgu bazı klinik ve

hayvan çalışmalarında vasküler yüksek balon şişirme basınçlarının restenozu arttırdığı görüşünü desteklemektedir (125,126). Ayrıca bu çalışmalarda süre 14 gün ile sınırlı iken bizim çalışmamızda intimal hiperplazinin maksimum olduğu 28. güne kadar beklenilmiştir. Bu da bizim çalışmamızdaki intimal kalınlaşmanın daha fazla olmasını izah etmektedir.

Deneyssel ve klinik çalışmalarda nebivololün damar tonusunu regüle etmekte kilit rol oynayan endotel türevi nitrik oksitün aktivasyonu yoluyla doğrudan vazodilatatör etki gösterdiği saptanmıştır (104,105,106). Nebivolol ile vasküler düz kas gevşemesinin, bir nitrik oksit sentaz inhibitörü olan L-nitromonometilarginin (L-NMMA) ile birlikte infüzyonu sırasında bozulduğunun gözlemlenmesi (104) nebivololün vazodilatasyonu endotelial metabolik sistem L-arginin/nitrik oksitün aktivasyonu yoluyla harekete geçirdiği varsayımını desteklemektedir. Bununla birlikte nebivololün fenilefrin ile önceden daraltılmış dorsal el venlerine lokal uygulanmasından sonra vazodilatasyona yol açması ve venöz kan akımındaki artışın L-NMMA ile anlamlı düzeyde azalmış olması yine nebivololün NO⁺ yoluyla etki ettiğini doğrulamaktadır (106).

Broeders ve arkadaşlarının (96) fare torasik aorta hücre kültürleri düzeyinde yapmış oldukları in vivo bir çalışmada nebivololün endotelial kalsiyumu β_2 adrenerejik reseptör aracılığıyla olarak arttırdığı ve bunun da NO⁺ üretiminde artışa yol açtığı gösterilmiştir.

Brehm ve arkadaşlarının (110) yapmış oldukları hücre kültürü düzeyindeki bir başka çalışmada ise nebivololün insan endotel hücrelerinde nitrik oksiti arttırdığı ve bunun L-NMMA ile inhibe edildiği gösterilmiştir. Yine Kakoki ve arkadaşları nebivololün potent bir nitrik oksit sentaz stimülatörü olduğunu ileri sürmüşlerdir (94).

Çalışmamızda abdominal aortlarına balon hasarı uygulanan kontrol grubundaki deneklerde doku nitrik oksit düzeylerini $17.81 \pm 2.55 \mu\text{mol/gr}$ yaş doku olarak tespit ettik. Solvent grubunda ise bu değer $16.26 \pm 1.63 \mu\text{mol/gr}$ yaş doku idi. Her iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Fakat 2.5 mg/kg/gün i.p. nebivolol uygulanan grupta tedavi süresi sonunda doku nitrik oksit düzeyleri $23.44 \pm 3.18 \mu\text{mol/gr}$ yaş doku olarak bulundu. Nebivolol grubunda kontrol ve solvent gruplarına göre doku nitrik oksit miktarlarında anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p<0.01$).

Endojen nitrik oksit sağlam damar endotelinden bazal bir hızda NO sentaz ile L-argininden üretilmektedir (61). Üretilen bu nitrik oksitin sitoprotektif, regülatör ve sitotoksik etkileri mevcuttur (66). Damar duvarında tomboosit adezyon ve agregasyonunun inhibisyonu, düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi, vasküler büyümenin modülasyonu, ekstrasellüler matriks sentezinin inhibisyonunun gerçekleştirilmesi (67,77) nitrik oksiti arteriyel hasar sonrası gelişen intimal hiperplazinin önlenmesinde tedavi seçeneği olarak ön plana çıkarmıştır. Bu amaçla yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Provost ve arkadaşları (75) nitrik oksit donörü olan 3-morpholino-sydnonimine (SIN-1)'in domuz balon anjioplasti modelinde antiadesif ve antitrombotik etkilerini araştırmışlar ve SIN-1'in hasarlı olan intimal bölgeye mural trombosit ve nötrofil adezyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Tourneau ve arkadaşları (77) tavşan iliak arterlerinde deneysel balon hasarı oluşturmuşlar, bir gruba nitrik oksit vericisi olan L-arginin, diğer bir gruba ise nitrik oksit sentaz inhibitörü olan N-nitro-L-arginin-metil-ester (L-NAME)'i oral olarak vermişlerdir. Deney süresinin sonunda L-arginin verilen grupta intimal alandaki artışın kontrol grubuna göre anlamlı olarak az olduğu ($p<0.05$) gözlenmiştir.

Hamon ve arkadaşlarının (113) tavşan iliak arterlerinde, Holm ve arkadaşlarının (76) ve Chen ve arkadaşlarının (82) rat karotis arterlerinde oluşturdukları intimal hiperplazi çalışmalarında oral olarak verilen L-argininin intimal kalınlaşmayı belirgin bir şekilde azalttığı bulunmuştur. Ayrıca Lee ve arkadaşlarının (127) yapmış oldukları bir diğer çalışmada da kronik nitrik oksit inhalasyonunun arteriyel balon hasarı sonrası oluşan intimal kalınlaşmayı azalttığı gösterilmiştir.

Bu çalışmaların dışında insan umbilikal ven endotel hücreleri ve insan koroner arter endotel hücreleri üzerinde Heller ve arkadaşlarının yaptıkları hücre kültürü düzeyindeki bir çalışmada 3 farklı nitrik oksit bileşiği (sodyum nitroprussit, S-nitroso-glutayon ve S-nitroso-asetilpenisillamin) kullanılmış ve bunların endotelial hücre proliferasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır (128).

Doku nitrik oksit seviyelerini arttıran nebirololün insan ve kemirgen düz kas hücreleri üzerinde antiproliferatif etkileri bulunmaktadır (108,109,110). Ignarro ve arkadaşları (109) nebirololün antiproliferatif etkisinin cGMP'den bağımsız olarak düz kas hücrelerinde poliamin yapımının inhibisyonu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Andre ve arkadaşları (108) ise hücre siklüsü düzenleyici proteini olan

CdK2'nin inhibisyonuna bağılı olarak hücre siklüsünün G1 fazından S fazına geçişin engellenmesi sonucu düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonunun gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir.

Çalışmamızda nebivolol verilen grupta intimal alandaki artışın kontrol ve solvent gruplarına göre anlamlı olarak daha az olduğu ($p<0.001$), medial alanda anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). İntimal / medial alan oranları ise nebivolol grubunda, kontrol ve solvent gruplarına göre anlamlı derecede azaldı ($p<0.001$).

Endotelinler (Ets) memelilerde ET-1, ET-2, ve ET-3'ü içeren 21 aminoasitli peptid ailesidir. ET-1 vasküler duvar hasarını takiben doku remodeling süreçlerini etkiler. İn vitro olarak ET-1 hücre hipertrofisini, hiperplazisini, matris sentezini, çeşitli kemotaktik ve büyüme faktörlerini, adezyon moleküllerinin salınımını uyarır (90). Yapılan çeşitli çalışmalarda eksojen ET-1 verilmesinin rat karotis arter balon anjiyoplasti modelinde neointimal formasyonu artırdığı gösterilmiştir (129,130). Ayrıca immunohistokimyasal çalışmalarda endojen ET-1 seviyelerinin karotis arter balon anjiyoplastisinden 4 hafta sonra artmış olduğu gösterilmiştir (91).

Wang ve arkadaşlarının (90) yaptıkları rat karotis arter balon anjiyoplasti modelinde endotel hasarı sonrası 14. günde immunohistokimyasal olarak anti-ET antikorları ile yapılan immunohistokimyasal boyamada neointimal alanda güçlü immun reaktivite gösterilmiş, balon hasarı uygulanmamış arter kesitlerinin anti-ET antikorları ile inkubasyonunda immun boyanmanın olmadığı tespit edilmiştir. Medial alanda sadece birkaç düz kas hücresinde boyanma görülmüş fakat bunun neointima ile karşılaştırıldığında çok düşük seviyede olduğu belirtilmiştir. Tavşan abdominal aortlarında yapmış olduğumuz balon hasarı modelinde kontrol ve solvent gruplarında neointimal alanda belirgin ET-1 immun boyanmanın olduğu görülmüştür.

Endotelin reseptör antagonistleri ile yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Azuma ve arkadaşları (131) oral aktif ve nonpeptid endotelin reseptör antagonisti olan ATZ1993'ü tavşan karotis arter balon hasarı modelinde kullanmışlar. 6 hafta sonra kontrol grubuna göre intimal kalınlaşmanın daha az olduğunu göstermişlerdir. ET_A/ET_B reseptör antagonisti olan L-749,329 ile yapılan diğer bir çalışmada ise intimal kalınlaşmanın azaltılabildiği gösterilmiştir (132).

Bütün bu çalışmalar ET-1'in intimal hiperplazide önemli rol oynadığını ve bunun etkisini azaltabilecek bir ilacın vasküler rekonstrüktif girişimler sonrası gelişen intimal hiperplaziyi azaltma şansı yüksektir.

Çalışmamızda kullandığımız nebiivolol ile yapılan insan koroner arter düz kas ve endotel hücre kültürü çalışmasında nebiivololün preproendotelin-1 mRNA seviyelerini azaltarak endotelin-1 sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir (110). Nebiivolol doku nitrik oksit seviyelerini arttırmakta, nitrik oksitin de endotelin-1 seviyelerini azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Mitsutomi ve arkadaşlarının (133) vasküler endotel hücre kültürü çalışmasında endojen nitrik oksitin guanilat siklaz / cGMP bağımlı mekanizmalarla endotelin-1 sentezini inhibe ettiği; yine eksojen nitrik oksitin endotel hücrelerinde ET-1 sentezi üzerinde inhibitör etkisinin olduğu gösterilmiş ve NO sentaz inhibitörü olan L-NAME kullanıldığında endotelin-1 salınımında azalma olmadığı görülmüştür.

Rizvi ve arkadaşlarının (134) nitrik oksitin, endotelinin indüklediği koroner arter vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve kollajen seviyelerine etkisi ile ilgili çalışmalarında NO⁺'in bazal kollajen seviyeleri ve hücre bölünmesini, ek olarak da NO⁺'in ET-1'in uyardığı düz kas hücre proliferasyonu, protein sentezi ve ekstrasellüler matris üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir.

Çalışmamızda kontrol ve solvent gruplarında intimal alanda ET-1 ile belirgin immunboyanma olduğu tespit edilmiştir. Nebiivolol grubunda hem intimal kalınlaşmanın hem de ET-1 immunboyanma yoğunluğunun daha az olduğu görülmüştür. Kontrol ve solvent grupları ile karşılaştırıldığında ET-1'deki bu boyanma yoğunluğundaki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Hasarlanmış bir arterde patolojik intimal hiperplazi gelişiminde esas olay düz kas hücrelerinin replikasyonu ve migrasyonudur. Günümüzde yapılmış hücre kültürü çalışmalarında makrofajların, endotelial ve düz kas hücrelerinin çeşitli mitojenik faktörleri sentezleyip salgıladıkları gösterilmiştir (15,18). Bu mitojenik faktörler içinde en önde gelenleri bFGF ve PDGF'dür. Çünkü media tabakasındaki düz kas hücre proliferasyonu ve intima migrasyonu bu iki faktör tarafından tetiklenmektedir. (15).

Basic fibroblast growth faktör (bFGF); vazoaktif aktiviteye sahip kompleks bir büyüme faktörüdür. Hücrelerin ve vasküler dokuların proliferasyonunu direkt ve indirekt mekanizmalarla sağlamaktadır. Vasküler düz kas hücreleri üzerindeki proliferatif aktivitesi için endotel hasarı gerekmektedir. Edelman ve arkadaşlarının (135) yaptıkları bir çalışmada balon hasarı uygulanmamış rat karotis arterinde eksojen bFGF verilmesinin düz kas hücre proliferasyonunu uyardığı ve intimal

hiperplazinin oluşmadığı gözlenmiştir. Balon hasarı uygulanan deneklerde ise bFGF'ün intimal kalınlaşmayı arttırdığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada bFGF'ün düz kas hücreleri üzerindeki aktivitesini gösterebilmesi için endotel hasarının gerekli olduğu sonucuna varılmış ve endotel tabakanın bFGF'e karşı mekanik bir bariyer görevi gördüğü belirtilmiştir.

Lindner ve arkadaşlarının (33) yaptıkları vasküler hasar sonrası düz kas hücre proliferasyonu üzerine bFGF etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; hasar sonrasında endotelial ve düz kas hücrelerin nükleuslarında lokalize olan bFGF'ün açığa çıktığı; intimal kalınlaşmaya neden olduğu, anti-bFGF antikorunun verilmesi ile de intimal kalınlaşmanın daha az olduğu gösterilmiştir.

Chen ve arkadaşları (136) endarterektomize köpek karotis arterlerinde yapmış oldukları çalışmada yine bFGF'ün düz kas ve endotelial hücrelerin proliferasyon ve migrasyonunda etkili olduğunu, eksojen bFGF'ün lokal infüzyonun vasküler hasar sonrası hücre proliferasyonunu ve intimal hiperplazi oluşumunu arttırdığını göstermişlerdir.

Basic fibroblast growth faktör sentezini veya salınımını azaltacak tedavi yolunun restenotik süreçlerin engellenmesinde etkili olabileceği inancındayız. Yaptığımız literatür araştırmalarında Alfke ve arkadaşlarının (137) in vitro yaptıkları bir çalışmada nitrik oksit, bFGF'ün uyardığı bovin vasküler düz kas hücre migrasyonunu inhibe ettiği tespit edilmiş. Ayrıca nebulol ile yapılmış diğer bir in vitro çalışmada (110); nebulolün bFGF ile stimüle edilmiş insan koroner düz kas hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

Doku nitrik oksit düzeyini arttıran nebulol ile yapmış olduğumuz bu çalışmamızda nebulol grubundaki deneklerde intimal alanın ve buradaki bFGF ile immünboyanmanın kontrol ve solvent gruplarına göre anlamlı derecede az olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

İntimal hiperplazi gelişiminde medial düz kas hücre proliferasyonu ve intimal migrasyonunda PDGF'ün önemli rolü olduğu daha önce belirtilmişti. A-, B- ve C- zincirlerinin disülfid bağı ile bağlanması sonucu PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB şeklinde 3 dimerik izoformları meydana gelmektedir. PDGF; PDGF- α ve PDGF- β reseptörlerine bağlanarak etkisini göstermektedir. İntimal hiperplazide oluşan vasküler düz kas hücre proliferasyon ve migrasyonunda PDGF- β reseptörleri rol oynamaktadır (38,138,139).

Jawien ve arkadaşlarının (36) rat karotis balon anjiyoplasti modelinde intimal kalınlaşmanın PDGF-BB infüzyonu ile arttığını ve bunun da düz kas hücre replikasyonu ve migrasyonu ile gerçekleştiğini göstermişlerdir. Nabel ve arkadaşları (140) da balon hasarı uyguladıkları iliyo-femoral artere in vivo olarak rekombinant PDGF gen transferi yapmışlar. İşlemden 3 hafta sonra kontrol gen grubu ile karşılaştırıldığında intimadaki kalınlaşmanın daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Spesifik PDGF antagonistlerinin geliştirilmesi farklı hayvan modellerinde intimal hiperplazi oluşumu ile ilgili çeşitli çalışmaların yapılmasına neden olmuştur. Ferns ve arkadaşları (37) PDGF'nin 3 izomeri ile de etkileşebilen goat poliklonal antikorunun verilmesi ile rat karotis arter balon hasarı sonrasında gelişen intimal hiperplazinin inhibe edildiğini göstermişlerdir. Bununla birlikte Leppanen ve arkadaşları (141) ise rat karotis arter balon hasarı modelinde PDGF-B zincir aptameri olan NX1975'i kullanmışlar ve 2 haftalık bu ajan ile tedaviden sonra intimal kalınlaşmada ve intima-media oranında azalma olduğunu tespit etmiştir. Bu olayın PDGF reseptör antagonistleri ile yapılan diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiğini saptamışlar ve NX1975'in PDGF antagonisti olarak davrandığı sonucuna varmışlardır.

Noiseux ve arkadaşlarının (142) yapmış oldukları rat karotis arter injury modelinde PDGF- β antisense tedavisinin intimal ve medial düz kas hücre proliferatif aktivitesini azalttığını, ayrıca vasküler düz kas hücrelerinin intimaya migrasyonunu engellediğini göstermişlerdir.

Bütün bu çalışmalar PDGF'nin intimal hiperplazi gelişiminde ne kadar etkili olduğunu ve spesifik PDGF veya reseptör antagonistleri ile bu neointimal oluşumun engellenebilirliğini bize göstermektedir.

Literatürde çalışmamızda kullandığımız nebivololün PDGF üzerine etkisi ile ilgili in vivo çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat Brehm ve arkadaşlarının hücre kültürü düzeyinde yaptıkları bir çalışmada (110); nebivololün PDGF ile uyarılan insan koroner düz kas hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

PDGF; trombositlerin hasarlı vasküler yüzeye adezyon ve agregasyonu sonucu aktivasyonlarını takiben salınır (36,38). Nitrik oksit'in de trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (75). Provost ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada domuz anjiyoplasti modelinde NO donörü olan SIN-1'in hasarlı olan intimal bölgeye mural trombosit adezyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir (75).

Falciani ve arkadaşları (112) nebivololün insan trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini ve nitrik oksit inhibitörü olan L-NMMA ile bu inhibisyonun azaldığını göstermişlerdir. Nebivololün beta adrenajik antagonist özelliğinden ziyade NO⁺ yapımını artırması ile bu etkiyi gerçekleştirdiğı sonucuna varmışlardır. Nitekim nebivololün NO⁺ salınımını artırarak trombosit adezyon ve agregasyonunu engelleyebilmesi, dolaylı yoldan PDGF salınımını azalttığı fikrini doğurmaktadır. Çalışmamızda sadece balon hasarı uyguladığımız kontrol grubundaki ve polietilenglikol uyguladığımız solvent grubundaki tavşanların intimal alanlarında yoğun PDGF-β immunboyanmanın olduğu görüldü. 30 gün süreyle nebivolol verilen grupta ise hem intimal kalınlaşmanın hem de PDGF-β immunboyanma yoğunluğunun daha az olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak; balon katater hasarı arterlerde belirgin intimal kalınlaşmaya yol açmaktadır. Nebivolol vasküler nitrik oksit salınımını arttırmakta, vasküler hasar sonrası endotelin-1 artışını baskılamakta, düz kas hücre proliferasyon ve migrasyonunda etkili olan bFGF ve PDGF salınımını azaltmakta ve bunların sonucu olarak da intimal kalınlaşmada azalmaya sebep olmaktadır.

Bütün bu özellikleri nedeniyle nebivolol kullanımının vasküler girişimlerden sonra erken restenoz gelişiminin engellenmesinde yararlı bir ajan olabileceğı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Ross R. The circulatory system. McGee JO, Isaacson PG, Wright NA (editors). Oxford Textbook of Pathology. New York, USA Oxford University Press 1992: 795-798.
2. Haimovici H, De Palma RG. Atherosclerosis: Biologic and Surgical Considerations. Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques. 4.Baskı, Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996: 127-157.
3. Zarins C, Glagov S. Artery wall pathology in atherosclerosis. Rutherford RB (editor). Vascular Surgery. 4. Baskı, Philadelphia USA W.B. Saunders Co. 1995: 204-221.
4. Erbenli T. Kalp Damar Sistemi. Erbenli T (editör). Histoloji 2. Güneş Kitabevi Ankara Türkiye. 1990: 1-29.
5. Pearson JD. Endothelial cell biology. Radiology. 1991; 179:9-14.
6. Verrier ED, Boyle EM. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery. Ann Thorac Surg. 1996; 62(3):915-922.
7. Kooistra T, Schrauwen Y, Arts J, Emeis JJ. Regulation of endothelial cell t-PA synthesis and release. Int J Hematol. 1994; 59(4):233-255.
8. Arıncı K, Elhan A. Dolaşım Sistemi. Arıncı K (editör). Anatomi . 1.Baskı, Ankara Türkiye Klinikleri Yayınevi 1994: 1-24
9. Clark JM, Glagov S. Transmural organisation of arterial wall. Arteriosclerosis. 1985; 5(1):19-23.
10. Summer DS. Hemodynamics and rheology of vascular disease: Applications to diagnosis and treatment. Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques. 4.Baskı, Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996: 104-123.
11. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Arteriosclerosis. Kumar V, Cotran RS (editors). Basic Pathology Kumar Cotran Robbins Philadelphia USA W.B. Saunders Co 1992: 287-285
12. Stoney RJ, Thompson RW. Fundamentals techniques in vascular surgery: Endarterectomy. Rutherford RB (editor). Vascular Surgery. 4. Baskı, Philadelphia USA W.B. Saunders Co. 1995: 414-420.

13. Haimovici H. Endarterectomy. Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). *Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques*. 4.Baski, Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996: 294-303
14. Zarinsk CK, Bassiony HS, Glagov S. Intimal Hyperplasia. Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). *Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques*. 4.Baski, Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996: 678-687
15. Zubilewicz T, Wronski J, Bourriez A, Terlecki P, Guinault A, Michalac J, et al. Injury in vascular surgery- the intimal hyperplastic response. *Med Sci Monit*. 2001; 7(2):316-324.
16. De Meyer GR, Bult H. Mechanisms of neointima formation - lessons from experimental models. *Vase Med*. 1997;2(3):179-189
17. Kirklin Jw, Barrat-Boyes BG. Patent Ductus Arteriosus: Morphology of normal ductal closure. Kirklin JW, Barrat-Boyes (editors). *Cardiac Surgery*. İkinci Baskı, New York USA Churchill Livingstone Inc. 1995: 841-859.
18. Clowes AW. Pathologic intimal hyperplasia as a response to vascular injury and reconstruction. Rutherford RB (editor). *Vascular Surgery*. 4. Baski, Philadelphia USA W.B. Saunders Co. 1995: 285-293.
19. Schwartz RS, Henry TD. Pathophysiology of coronary artery restenosis. *Rev Cardiovasc Med*. 2002;3:4-9
20. Mach F. Toward new therapeutic strategies against neointimal formation in restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1699-1700
21. Schachter M. The pathogenesis of atherosclerosis. *Int J Card*. 1997; 62:S3-S7.
22. Fuchs JCA. Atherogenesis and medical management of atherosclerosis. *Vascular Surgery*. 4. Baski, Philadelphia, USA W.B. Saunders Co. 1995: 222-234.
23. Currier JW, Faxon DP. Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty: Have been aiming at the wrong target? *J AM Coll Cardiol*. 1995;25(2):516-520.
24. Randolph L, Geary J, Kordy W, Deborah G, Deanna G, Marshall E, et al. Time course of cellular proliferation, intimal hyperplasia and remodelling following angioplasty in monkeys with atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 1996;16:34-43.

25. Nikol S. Possible uses of gene therapy in reducing coronary restenosis. *Heart*. 1997;78(5):426-428.
26. Strauss BH, Chisholm RJ, Keeley FW, Gottlieb AI, Logan RA, Armstrong PW. Extracellular matrix remodelling after balloon angioplasty injury in a rabbit model of restenosis. *Circ Res*. 1994;75(4):650-658.
27. Ni H, Denis CV, Subbarao S, Degen JL, Sato TX, Hynes RO, Wagner DD. Persistence of platelet thrombus formation in arterioles of mice lacking both Von Willebrand factor and fibrinogen. *J Clin Invest*. 2000;106(3):385-392.
28. Groves HM, Kinlough-Rathbone RL, Mustard JF. Development of nonthrombogenicity of injured rabbit aortas despite inhibition of platelet adherence. *Arteriosclerosis*. 1986;6(2):189-195.
29. Ward M. The pathobiology of restenosis after percutaneous revascularisation: Current concepts and therapeutic objectives. *The Asia Pacific Heart Journal*. 1997;6(3):162-172.
30. Allaire E, Clowes A. The intimal hyperplastic response. *Ann Thorac Surg*. 1997;64:38-46.
31. Lemson MS, Tordoir JHM, Daemen JAP, Kitslaar M. Intimal hyperplasia in vascular grafts. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2000;19(4):336-350.
32. Steed DL, Webster M. Growth factors and wound healing. Haimovici H, Acler E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). *Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques*. 4. Baski, Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996:230-236.
33. Lindner V, Reidy MA. Proliferation of smooth muscle cells after vascular injury is inhibited by an antibody against basic fibroblast growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88(9):3739-3743.
34. Jackson CL, Reidy MA. Basic fibroblast growth factor: its role in the control of smooth muscle cell migration. *Am J Pathol*. 1993;143(3):1024-1031.
35. Cambria RP, Abbot WM. Translocated autogenous vein grafts. Rutherford RB (editor). *Vascular Surgery*. 4. Baski, Philadelphia USA W.B. Saunders Co. 1995: 425-433.

36. Jawien A, Bowen-Pope DF, Lindner V, Schwartz SM, Clowes AW. Platelet-derived growth factor promotes smooth muscle migration and intimal thickening in a rat model of balloon angioplasty. *J Clin Invest.* 1992;89(2):507-511.
37. Ferns GA, Raines EW, Sprugel KH, Motani AS, Reidy MA, Ross R. Inhibition of neointimal smooth muscle accumulation after angioplasty by an antibody to PDGF. *Science.* 1991;253:1129-1132.
38. Koyama N, Hart CE, Clowes AW. Different functions of the platelet-derived growth factor- α and - β receptors for the migration and proliferation of cultured baboon smooth muscle cells. *Circulation Research.* 1994;75(4):682-691.
39. Bennet MR, Evan GI, Schwartz SM. Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived from normal vessels and coronary atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1995;95(5):2266-2274.
40. Levitzky A. PDGF receptor kinase inhibitors for the treatment of restenosis. *Cardiovasc Research.* 2005;65(3):581-586.
41. Chan AK, Kolmes A, Hawkins S, Daum G, Clowes AW. Blockade of the epidermal growth factor receptor decreases intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery. *J Vase Surg.* 2003;37(3):644-649.
42. Wolf YG, Rasmussen LM, Ruoslahti E. Antibodies against transforming growth factor-beta suppress intimal hyperplasia in a rat model. *J Clin Invest.* 1993;93(3):1172-1178.
43. Zhu B, Zhou G, Witte DP, Hui DY, Fagin JA. Targeted overexpression of IGF-1 in smooth muscle cells of transgenic mice enhances neointimal formation through increased proliferation and cell migration after intraarterial injury. *Endocrinology.* 2001;142:3598-3606.
44. Donald SB. Interventional catheterization techniques: Percutaneous transluminal balloon angioplasty, valvuloplasty and related procedures. Braunwald E (editor). *Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine* 4. Baskin, Philadelphia, USA WB Saunders Company 1992;1365-1381.
45. Kump DA, Becker GJ. Percutaneous transluminal angioplasty and other endovascular technologies. Rutherford RB (editor). *Vascular Surgery.* 4. Baskin, Philadelphia USA W.B. Saunders Co. 1995;352-369.

46. Dietrich EB. Percutaneous interventions for abdominal aortic occlusive disease. Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques. 4. Baski, Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996;278-293.
47. Schwartz RS. Pathophysiology of restenosis: Interaction of thrombosis, hyperplasia, and/or remodelling. Am J Cardiol. 1998;81(7A):14E-17-E.
48. Castenada F. Intravascular stents. Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques. Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996;311-313.
49. Endo A, Hirayama H, Yshido O, Arakawa T, Akima J, Yamada T, et al. Arterial remodelling influences the development of intimal hyperplasia after stent implantation. Journal of The American College of Cardiology. 2001;37(1):70-75.
50. Sauvage LR. Biologic behavior of grafts in the arterial system. Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB (editors). Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques. Cambridge Massachusetts, USA Blackwell Science Inc. 1996;158-193.
51. Brewster CD. Prosthetic Grafts. Rutherford RB (editor). Vascular Surgery. 4. Baski, Philadelphia USA W.B. Saunders Co. 1995;492-521.
52. Towne JB. Autogenous Vein. Rutherford RB (editor). Vascular Surgery. 4. Baski, Philadelphia USA W.B. Saunders Co. 1995;482-491.
53. Cimolici BL, Geha AS. Coronary artery operations and reoperations: Saphenous vein grafts. Baue EA (editor). Gleen's Thoracic and Cardiovascular Surgery. 6. Baski, Stanford Connecticut USA Appleton&Lange A. Simon&Schuster Comp. 1996;2081-2093.
54. Cassar K, Bachoo P, Brittenden J. The role of platelets in peripheral vascular disease. European Journal of Vascular and Endovascular Surgery. 2003;25(1):6-15.
55. Gilbertson JJ, Pettengill OS, Cronenwett JL. Antiproliferative effect of heparin on human smooth muscle cells cultured from intimal hyperplastic lesions of vein grafts. Ann Vasc Surg. 1992;6(3):265-271.

56. Kipshidze N, Dangas G, Tsapenko M, Moses J, Leon MB, Kutryk M. Role of endothelium in modulating neointimal formation: Vasculoprotective approaches to attenuate restenosis after percutaneous coronary interventions. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(4):733-739.
57. Darçın OT, Tetik Ö, Rahman A, Gezen MR, Çekirdekçi A. İntima harabiyeti oluşturulan arterde açık kalma oranını artırıcı bir yöntem olarak endotel hücre yerleştirilmesi (Deneyisel çalışma). *GKDC Dergisi* 1998;6:229-235.
58. Herring M, Smith J, Dalsing M. Endothelial seeding of polytetrafluoroethylene femoral popliteal bypasses: the failure of low-density seeding to improve patency. *J Vase Surg*. 1994;20(4):650-655.
59. Pasic M, Muller-Glauser W, Odermatt B, Lachat M, Seifert B, Turina M. Seeding with omental cells prevents late neointimal hyperplasia in small diameter Dacron grafts. *Circulation*. 1995;92(9):2605-2616.
60. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87(4):1620-1624.
61. Prof. Dr. Sezen Koşay. Nitrik oksitin patolojik olaylardaki rolü. *Ayın Kitabı* 1996;83:1-89.
62. Singh S, Evans TW. Nitric oxide, the biological mediator of the decade: fact or fiction. *Eur Respir J*. 1997;10(3):699-707.
63. Liu Z, Wildhirt SM, Weismüller S, Schulze C, Conrad N, Reichard B. Nitric oxide and endothelin in the development of cardiac allograft vasculopathy. Potential targets for therapeutic interventions. *Atherosclerosis* 1998;140(1):1-14.
64. Yui Y, Hattori R, Kosugo K. Calmodulin independent nitric oxide synthase from rat polymorphonuclear neutrophils. *J Biol Chem*. 1991;266(6):3369-3371.
65. Griendling KK, Alexander RW. Endothelial control of cardiovascular system: Recent advances. *The FASEB Journal*. 1996;10(2):283-292.
66. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med*. 1998;25(4-5):434-456.

67. Egashira K. Clinical importance of endothelial function in arteriosclerosis and ischemic heart disease. *Circ J.* 2002;66(6):529-533.
68. Chowdhary S, Vaile JC, Fletcher J, Ross HF, Coote JH, Townend JN. Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. *Hypertension.* 2000;36(2):264-269.
69. Henrion D, Dowell FJ, Levy BI, Michel JB. In vitro alteration of aortic vascular reactivity in hypertension induced by chronic NG-nitro-L-arginine methyl ester. *Hypertension.* 1996;28(3):361-366.
70. Vapaatalo H, Mervaala E, Nurminen ML. Role of endothelium and nitric oxide in experimental hypertension. *Physiol Res.* 2000;49(1):1-10.
71. Kanai AJ, Strauss HC, Truskey GA, Crews AL, Grunfeld S, Malinsky T. Shear stress induces ATP-independent transient nitric oxide release from vascular endothelial cells, measured directly with a porphyrinic microsensor. *Circ Res.* 1995;77(2):284-293.
72. Nava E, Noll G, Luscher TF. Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in spontaneous hypertension. *Circulation.* 1995;91(9):2310-2313.
73. Moncada S, Higgs A, Furchgott R. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacol Rev.* 1997;49(2):137-142.
74. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1991;88(11):4651-4655.
75. Provost P, Tremblay J, Merhi Y. The antiadhesive and antithrombotic effects of the nitric oxide donor SIN-1 are combined with a decreased vasoconstriction in a porcine model of balloon angioplasty. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.* 1997;17(9):1806-1812.
76. Holm AM, Anderson CB, Hauns S, Hansen PR. Effects of L-arginine on vascular smooth muscle cell proliferation and apoptosis after balloon injury. *Scand Cardiovasc J.* 2000;34:28-32.
77. Tourneau T, Belle EV, Corseaux D, Vallet B, Lebuffe G, Dupuis B, et al. Role of nitric oxide in restenosis after experimental balloon angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit: effects on neointimal hyperplasia and vascular remodelling. *J Am Coll Cardiol.* 1999;33:876-882.

78. Boulanger C, Lüscher TF. Release of endothelin from the porcine aorta: inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest.* 1990;85(2):587-590.
79. Radomsky MV, Moncada S. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide. *Thromb Haemost.* 1993;70:36-41.
80. Nakaike R, Shimokawa H, Yasutake H, Sumimoto H, Ito A, Numaguchi K, et al. Effects of L-arginine analogues on vasomotion of isolated porcine coronary arteries. *Am J Physiol.* 1995;268:H1966-1972.
81. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:5193.
82. Chen C, Mattar SG, Lumsden AB. Oral administration of L-arginine reduces intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid arteries. *Journal of Surgical Research.* 1999;82:17-23.
83. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1989;83:1774-1777.
84. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-415.
85. Kishi F, Minami K, Okishima N. Novel 31-amino acid-length endothelins cause vasoconstriction of vascular smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;248:387-390.
86. Lüscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists. *Circulation.* 2000;102:2434-2440.
87. Chen Y, Mc Carron RM, Golech S, Bembry J, Ford B, Lenz FA, et al. ET-1 and NO-mediated signal transduction in human brain capillary endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003;284(2):243-249.
88. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME. Impaired vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest.* 1990;86:228-234.
89. Lerman A, Holmes DJ, Bell MR. Endothelin in coronary endothelial dysfunction and early atherosclerosis in humans. *Circulation.* 1995;92:2426-2431.

90. Wang X, Douglas SA, Loudon C, Vickery-Clark LM, Feuerstein GZ, Ohlstein EH. Expression of endothelin-1, endothelin-3, endothelin-converting enzyme-1 and endothelin-A and endothelin-B receptor mRNA after angioplasty-induced neointimal formation in the rat. *Circ Res.* 1996;78:322-328.
91. Azuma H, Hamasaki H, Niimi Y, Terada T, Matsubara O. Endothelin-1 plays a role in the intimal hyperplasia after endothelial removal. *Am J Physiol.* 1994;267:2259-2267.
92. Chatterjee K, Gersh BJ, Kaplan NM, Marcus FI, Poole-Wilson P, Singh BN, Sonnenblich EH, Thadani U. *Drugs for The Heart.* 3.Baski. 1990;1-25.
93. Rosendorff C. Beta blocking agents with vasodilator activity. *J Hypertens Suppl.* 1993;11(4):37-40.
94. Kakoki M, Hirata Y, Hayakawa H, Nishimatsu H, Suzuki Y, Nagata D, et al. Effects of vasodilatory beta-adrenoreceptor antagonists on endothelium-derived nitric oxide release in rat kidney. *Hypertension.* 1999;33:467-471.
95. Ignarro LJ, Bryns RE, Trinh K, Sisodia M, Buga GM. Nebivolol: a selective β_1 adrenergic receptor antagonist that relaxes vascular smooth muscle by nitric oxide and cyclic Gmp-dependent mechanisms. *Nitric Oxide.* 2002;7:75-82.
96. Broeders MAW, Doevendans PA, Bekkers BC, Bronsaeer R, Gorsel E, Heemskerck JWM, et al. Nebivolol: A third-generation β blocker that augment vascular nitric oxide release. *Circulation.* 2000;102:677-682.
97. Mangrella M, Rossi F, Fici F. Pharmacology of nebivolol. *Pharmacological Research.* 1998;38:419-431.
98. Leysen JE, Pauwels PJ, Gommeren W, Van Lommen G, Janssen PAJ. The receptor binding profile of the new antihypertensive agent nebivolol and its stereoisomers compared with various β -adrenergic blockers. *Drug Invest.* 1991;3(1):120-121.
99. Goldstein M, Vincent JL, De Smet JM, Barvais L, Van Nueten L, Scheijgrond H, et al. Administration of nebivolol after coronary artery bypass in patients with altered left ventricular function. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1993;22(2):253-258.
100. Janssens WJ, Van de Water A, Xhonneux R, Reneman RS, Van Nueten JM, Janssen PA. Nebivolol is devoid of intrinsic sympathomimetic activity. *Eur J Pharmacol.* 1989;159(1):89-95.

101. Cherchi A. Antianginal and anti-ischæmic activity of nebivolol in stable angina of effort. *Drug Invest.* 1991;3:86-98.
102. Ruf G. Determination of the anti-ischæmic activity of nebivolol in comparison with atenolol. *Int J Cardiol.* 1994;43:279-285.
103. Lu HR, Remeysen P, De Clerck F. Antifibrillatory action of class I-IV antiarrhythmic agents in the model of ventricular fibrillation threshold of anesthetized guinea pigs. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995;26(1):132-136.
104. Cockcroft JR, Chowieczyk PJ, Brett SE, Chen C, Dupont AG, Van Nueten L, et al. Nebivolol vasodilates human forearm vasculature: evidence for an L-arginine/NO dependent mechanism. *J Pharmacol Experiment Therapeutics.* 1995;274(3):1067-1071.
105. Bowman AJ, Chen C, Ford GA. Nitric oxide mediated venodilator effects of nebivolol. *Br J Clin Pharmacol.* 1994;38:199-204.
106. Gao Y, Nagao T, Bond RA, Janssens WJ, Vanhoutte PM. Nebivolol induces endothelium-dependent relations of canine arteries. *Drug Invest.* 1991;3:118-119.
107. Dawes M, Brett SE, Chowieczyk PJ, Mant TG, Ritter JM. The vasodilator action of nebivolol in forearm vasculature of subjects with essential hypertension. *Br J Clin Pharmacol.* 1999;48(3):460-463.
108. Andre DE, Arnet U, Yang Z, Luscher TF. Nebivolol inhibits human aortic smooth muscle cell growth: effects on cell cycle regulatory proteins. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2000;35(6):845-848.
109. Ignarro LJ, Sisodia M, Trinh K, Bedrood S, Wu G, Wei LH, et al. Nebivolol inhibits vascular smooth muscle cell proliferation by mechanisms involving nitric oxide but not cyclic GMP. *Nitric Oxide.* 2002;7:83-90.
110. Brehm BR, Wolf SC, Bertsch D, Klaussner M, Wesselborg S, Schüler S, et al. Effects of nebivolol on proliferation and apoptosis of human coronary artery smooth muscle and endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2001;49:430-439.
111. Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1990;30:535-560.
112. Falciani M, Rinaldi B, D'Agostino B, Mazzeo F, Rossi S, Nobili B, et al. Effects of nebivolol on human platelet aggregation. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2001;38(6):922-929.

113. Hamon M, Vallet B, Bauters C, Wernert N, Mc Fadden N. Long term oral administration of L-arginin reduces intimal thickening and enhances neoendothelium-dependent acetylcholine-induced relaxation after arterial injury. *Circulation* 1994;90:1357-1362.
114. Ohkawa H, Ito M, Shigeno K, Gupta PC, Matsushita M, Nishikimi N, et al. Suppression by tranilast of fetal myosin heavy chains and intimal hyperplasia in rabbits. *Current Therapeutic Research* 1997;58(10):764-770.
115. Güleş İ. Tavşanlarda oluşturulan subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazmıda nitik oksit donörü ve beta 1 reseptör antagonisti olan nebivololün etkisi. Uzmanlık Tezi, İstanbul:İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, 2000.
116. Akkuş İ. Klinik biyokimya laboratuvarı el kitabı. Öz Eğitim Bas Yay Dağ.. Konya, 1997;1-354.
117. Mueller AR, Platz KP, Langrehr JM, Hoffman RA, Nussler AK, Nalesnik M, et.al. The effects of administration of nitric oxide inhibitors during small bowel preservation and reperfusion. *Transplantation*. 1994;58:1309-1316.
118. Cortas NK, Wakid N. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem*. 1990;36:1440-1443.
119. D'Agostino B, Gallelli L, Falciani M, Fici F, Mangrella M, Rossi F, Filipelli A. Nebivolo and airway responsiveness in the rabbit. *Life Sciences*. 2001;6:2159-2168.
120. More RS, Underwood MJ, Brack MJ, Gershlick AH. A time sequence of vessel wall changes in an experimental model of angioplasty. *J Pathol*. 1994; 172:281-292.
121. Strauss BH, Chiholm RJ, Keeley FW, Gottlieb AJ, Logan RA, Armstrong PW. Extracellular matrix remodelling after balloon angioplasty injury in a rabbit model of restenosis. *Circ Res*. 1994;75:650-658.
122. Li J, Wanchum CJ. Benazepril on tissue angiotensin converting enzyme and cellular proliferation in restenosis after experimental angioplasty. *Vasc Pharmacol*. 1997;30:790-797.
123. Kipshidze N, Facc PD, Sahota H, Komorowski R, Nikolaychik V, Keelan MH. Photoremodelling of arterial wall reduces restenosis after balloon angioplasty in an atherosclerotic rabbit model. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:1152-1157.

124. Watanabe T, Miyahara Y, Akishita A, Nakaoka T, Yamashita N, Iijima K, et al. Inhibitory effect of low-dose estrogen on neointimal formation after balloon injury of rat carotid artery. *European Journal of Pharmacology*. 2004;502:265-270.
125. Asada Y, Kisanuki A, Tsuneyoshi A, Marustuka K, Hatakeyama K. Effects of inflation pressure of balloon catheter on vascular injuries and subsequent development of intimal hyperplasia in rabbit aorta. *Atherosclerosis*. 1996;121:43-45.
126. Sarembock IJ, La Veau PJ, Sigal SL, Timms J. Influence of inflation pressure and balloon size on development of intimal hyperplasia after balloon angioplasty. *Circulation*. 1989;80:1029-1035.
127. Lee JS, Adrie C, Jacob HJ, Roberts JD, Zapol WM, Bloch KD. Chronic inhalation of nitric oxide inhibits neointimal formation after balloon-induced arterial injury. *Circulation Research*. 1996;78:337-342.
128. Heller R, Polack T, Grabner R, Till U. Nitric oxide inhibits proliferation of human endothelial cells via a mechanism independent of cGMP. *Atherosclerosis*. 1999;144:49-57.
129. Douglas SA, Loudon C, Vickery-Clark LM, Storer BL, Hart T, Feoerstein GZ, et al. A role for endogenous endothelin-1 in neointimal formation after rat carotid artery balloon angioplasty: protective effects of the novel non peptide endothelin receptor antagonist SB 209670. *Circ Res*. 1994;75:190-197.
130. Trachtenberg JD, Sun S, Choi ET, Callow AD, Ryan US. Effect of endothelin-1 infusion on the development of intimal hyperplasia after balloon catheter injury. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1993;22:355-359.
131. Azuma H, Sato J, Masuda H, Goto M, Tamaoki S, Sugimoto A, et al. ATZ1993 an orally active and novel nonpeptide antagonist for endothelin receptors and inhibition of intimal hyperplasia after balloon denudation of the rabbit carotid artery. *Jpn J Pharmacol*. 1999;81:21-28.
132. Huckle WR, Drag MD, Acker RW, Powers M, McFall RC, Holder DJ, et al. Effects of L-749,329 an ETA / ETB endothelin receptor antagonist, in a porcine coronary artery injury model of vascular restenosis. *Circulation*. 2001;103:1899-1905.

133. Mitsutomi N, Akashi C, Odagiri J, Matsumuro Y. Effects of endogenous and exogenous nitric oxide on endothelin-1 production in cultured vascular endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 1999;364:65-73.
134. Rizvi AD, Myers PR. Nitric oxide modulates basal and endothelin-induced coronary artery vascular smooth muscle cell proliferation and collagen levels. *J Mol Cell Cardiol*. 1997;29:1779-1789.
135. Edelman ER, Nugent AM, Smith LT, Karnovsky MJ. Basic fibroblast growth factor enhances the coupling of intimal hyperplasia and proliferation of vasa vasorum in injured rat arteries. *J Clin Invest*. 1992;89:465-473.
136. Chen C, Li J, Mattar SG, Pierce GF, Aukerman L, Hanson SR, Lumsden AB. Boundary layer infusion of basic fibroblast growth factor accelerates intimal hyperplasia in endarterectomized canine artery. *J Surg Res*. 1997;69:300-306.
137. Allike H, Kleb B, Klose KJ. Nitric oxide inhibits the basic fibroblast growth factor-stimulated migration of bovine vascular smooth muscle cells in vitro. *Vasa*. 2000;29(2):99-102.
138. Sirois MG, Simons M, Edelman ER. Antisense oligonucleotide inhibition of PDGF- β receptor subunit expression directs suppression of intimal thickening. *Circulation*. 1997;95:669-676.
139. Davies MG, Owens EL, Mason DP, Lea H, Tran PK, Vergel S, et al. Effect of platelet-derived growth factor receptor- α and - β blockade on flow induced neointimal formation in endothelialized baboon vascular grafts. *Circ Res*. 2000;86:779-786.
140. Nabel E, Yang Z, Liptay S, San H, Gordon D, Haudenschild CC et al. Recombinant platelet-derived growth factor B gene expression in porcine arteries induces intimal hyperplasia in vivo. *J Clin Invest*. 1993;91:1822-1829.
141. Leppanen O, Janjic N, Carlsson MA, Pietras K, Levin M, Vargeese C et al. Intimal hyperplasia recurs after removal of PDGF-AB and -BB inhibition in the rat carotid artery injury model. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2000;20:89-101.
142. Noiseux N, Boucher CH, Cartier R, Sirois MG. Bolus endovascular PDGFR- β antisense treatment suppressed intimal hyperplasia in a rat carotid injury model. *Circulation*. 2000;102:1330-1336.

8.ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Bursa'da doğdum. İlk öğrenimimi Bursa'da, orta öğrenimimi Amasya'da, lise öğrenimimi ise Bursa'da tamamladım.1992 yılında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'ne girdim ve 1998 yılında tıp eğitimimi tamamladım. 1 yıl Amasya Devlet Hastanesi acil servisinde pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2000 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavını kazanarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahi Anabilim Dalında Uzmanlık eğitime başladım ve halen burada eğitime devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk babasıyım.