

Tavşan karotis arterlerinde yapılan anastomozlarda bosentanın intima hiperplazisi üzerine olan etkisi

Effect of bosentan on intimal hyperplasia of carotid artery anastomoses in rabbits

Dr. Artan Jahollari, Dr. Anar Emrahov,[#] Dr. Murat Tavlaşoğlu,* Dr. Mustafa Kürklüoğlu,[#]
Dr. Mehmet Ali Şahin,[#] Dr. Adem Güler,[#] Dr. Ertuğrul Özal, Dr. Mehmet Arslan[#]

Medical Park Hastanesi, Kalp Damar Cerrahisi Kliniği, Samsun;

[#]Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara;

*Diyarbakır Asker Hastanesi, Kalp Damar Cerrahisi Kliniği, Diyarbakır

ÖZET

Amaç: Tavşan karotis arterlerinde yapılan anastomozlarda bosentanın intima hiperplazisi üzerine olan etkisi araştırıldı.

Çalışma planı: Çalışmamızda 18 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan ilaç alan (Grup B) ve almayan (Grup A) olmak üzere iki gruba randomize edildi. Tüm deneklerin sağ karotis arteri kesildikten sonra 10/0 polipropilen dikiş ipliği ile uç uca anastomoz yapıldı. Sol karotis arterine bu uygulama yapılmadı. Grup B deneklere ameliyattan üç gün önceden başlayarak ve 21 gün süre ile 30 mg/kg/gün oral bosentan verildi. Grup A deneklere ise herhangi bir ilaç verilmedi. Ameliyat sonrası 28. gününde anastomoz bölgesi ve karşı kontrol tarafı çıkartılıp parçalar hazırlanarak histomorfometrik olarak incelendi.

Bulgular: Anastomoz yapılan arterlerde anastomoz yapılmayan sol tarafa kıyasla anlamlı derecede intima hiperplazisi geliştiği saptandı. Bosentanın ilaç almayan gruba kıyasla intima alanını (Grup A: $48.3 \mu\text{m}^2$ [$37.1 \mu\text{m}^2 - 65.7 \mu\text{m}^2$], Grup B: $31.4 \mu\text{m}^2$ [$12.2 \mu\text{m}^2 - 63.2 \mu\text{m}^2$], $p=0.04$) ve intima/medya alan oranını (Grup A: 0.49 [0.13-0.74], Grup B: 0.22 [0.09-0.37], $p=0.024$) anlamlı şekilde azalttığı saptandı.

Sonuç: Bosentanın tavşan karotis arter modelinde gelişen intima hiperplazisini azalttığı görülmüştür. Damar girişimlerinde bosentanın klinik kullanımının yararını desteklemek amacıyla ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

ABSTRACT

Objectives: We investigated the effect of bosentan on intimal hyperplasia of carotid artery anastomoses in rabbits.

Study design: Eighteen New Zealand male rabbits were randomized into two groups, as drug (Group B) and non-drug (Group A). The right carotid artery of all the subjects was transected and anastomosed end-to-end with 10/0 polypropylene suture. The left carotid artery was left intact. Group B subjects received 30 mg/kg/day oral bosentan for 21 days, starting 3 days before the operation. Group A subjects did not receive any medication. After 28 days, the anastomoses site and the contralateral control site were removed, and samples were investigated histomorphometrically.

Results: Significant intimal hyperplasia was observed at all anastomoses compared to the non-anastomotic left side. Bosentan decreased significantly the intimal area [Group A: $48.3 \mu\text{m}^2$ ($37.1 \mu\text{m}^2 - 65.7 \mu\text{m}^2$), Group B: $31.4 \mu\text{m}^2$ ($12.2 \mu\text{m}^2 - 63.2 \mu\text{m}^2$), ($p=0.04$)] and intima/media area ratio [Group A: 0.49 (0.13-0.74), Group B: 0.22 (0.09-0.37), ($p=0.024$)] compared to the non-drug group.

Conclusion: According to our investigation, bosentan decreased the intimal hyperplasia developed in a rabbit carotid artery model. Further investigations are needed to support the potential clinical utilization of bosentan after vascular interventions.

Günümüzde tıkaçıcı arter hastalıkları ciddi mortalite ve morbidite nedenidir. Bu hastalıkların tedavisinde revaskülarizasyon girişimlerinin ve tıbbi tedavinin önemli bir yeri vardır. Revaskülarizasyon son-

rası erken dönemde gözlenen başarısızlığın en önemli nedeni anastomoz yerinde trombüs gelişmesidir. Buna karşılık geç dönemde gözlenen başarısızlıklardan sıklıkla intima hiperplazisi sorumlu tutulmaktadır. İntima

Geliş tarihi: 07.07.2013 Kabul tarihi: 04.10.2013

Yazışma adresi: Dr. Artan Jahollari, Medical Park Hastanesi, Kalp Damar Cerrahisi Kliniği, Samsun.

Tel: 0362 - 311 40 40 e-posta: artanjahollari@gmail.com

© 2014 Türk Kardiyoloji Derneği



hiperplazisi, arterlerin hemodinamik streslere karşı göstermiş olduğu bir uyum mekanizması olması yanında; ayrıca herhangi bir hasar sonrasında gözlenen iyileşme sürecinin de bir parçasıdır. İntima hiperplazisi histolojik olarak düz kas hücreleri ve miyofibroblastların ve az sayıda miyofibrillerin geniş bir stroma içerisinde bir arada bulunduğu uniform bir yapıdır.^[1]

Endotelin-1 (ET-1), başlıca endotel hücrelerinden salınan bir polipeptittir ve bilinen en güçlü vazokonstriktör ajandır.^[2] Bu peptit damar düz kas hücrelerinde bulunan endotelin A ve B reseptörleri (ETA ve ETB) üzerinden vazokonstriksiyon oluşturur. Yapılan *in vitro* çalışmalarda ET-1'in damar düz kas hücrelerinde proliferasyonu uyardığı saptanmıştır.^[3] Bunlara ek olarak, ET-A ve ET-B reseptörlerinin endotel hücresi zarlarında ve fibroblastlarda bulunması nedeniyle, bu hücrelerin ET-1 ile uyarılması sonucunda lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu da artmaktadır. Bu şekilde lökosit ve endotel hücrelerinin arasındaki etkileşime de aracılık etmektedir.^[4] ET-1'in proliferatif ve pro-enflamatuvar bir sitokin gibi davranmasından dolayı, çeşitli damar patolojilerinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Bu hipotez, intima hiperplazisinin eşlik ettiği aterosklerotik damar hastalığı bulunan kişilerde ET-1 seviyelerinin yüksek bulunması ile desteklenmektedir.^[5] ET reseptörlerini antagonize ederek ET-1'in sistemik inhibisyonuyla, neointima oluşumunun engellenebileceği literatürde pek çok çalışmada vurgulanmıştır.^[6]

Bosentan, oral yolla alınan, spesifik endotelin reseptör antagonistidir. *In vitro* çalışmalarda, bosentan gibi ET antagonistlerinin güçlü bir şekilde ET-1'i inhibe ettiği gösterilmiştir.^[5] Bu çalışmada anastomoz sonrası tavşan karotis arterinde gelişen intima hiperplazisi ve düz kas hücresi proliferasyonu üzerinde bosentanın olası inhibitör etkisini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma randomize, kontrollü deneysel bir araştırma niteliğindedir. Çalışmaya ilişkin deney hayvanları etik kurulu onayı ve etik kurul izinleri alındıktan sonra çalışma deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirildi.

Denekler

Çalışmamızda randomize olarak seçilen, ağırlıkları 2900-3100 g (3000±100 g) arasında değişen, 18 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Denekler

iki gruba randomize edildi; Grup A'daki tavşanlara herhangi bir ilaç verilmedi. Bu gruptaki tavşanlar sadece tavşan yemi ile beslendi. Grup B'deki tavşanlara ise ilk ameliyattan üç gün öncesinden başlayarak 21 gün süreyle oral gavaj yardımıyla 30 mg/kg/gün dozunda bosentan (Tracleer, Actelion Pharmaceuticals, USA) uygulandı. Çalışma süresi boyunca tüm denekler için barınma ve beslenme şartları standardize edildi (20±2°C sıcaklıkta, havalandırma tertibatı olan ve güneş ışığı alabilen laboratuvar ortamı).

Cerrahi işlem

Deney günü tavşanlara 50 mg/kg intramusküler ketamin ve 5 mg/kg ksilazin ile sedasyon yapıldı. Enfeksiyondan korunmak için kesi bölgesi traş edildikten sonra gerekli asepsi ve antisepsi şartlarına uyuldu. Cilt temizliğinin ardından deney hayvanlarına sırtüstü yatar konumda uzunlamasına boyun kesisi yapıldı. Bütün deneklerde anastomoz için sağ taraf karotis arteri kullanıldı. Heparinin 100 İÜ/kg dozunda internal juguler ven yolu ile verilmesinin ardından karotis arter proksimal ve distalinden atravmatik damar kısaçları kullanılarak kansız ortam sağlandı (Şekil 1). Karotis arterlere yatay kesiler yapıldı. Daha sonra kesilen karotis arterlere mikroskop altında tek-tek dikiş tekniği kullanılarak 10/0 polipropilen dikiş ipliği ile uç-uca anastomoz yapıldı. Ardından dokular anatomik plana uygun olarak kapatıldı (Şekil 1). Sol karotis arterlere herhangi bir işlem uygulanmadı. Yirmi sekizinci gün sonunda anastomoz yapılan sağ taraf (Grup A, Grup B) ve anastomoz yapılmayan sol taraf karotis arter

Kısaltmalar:

ET-1	Endotelin-1
ETA	Endotelin A
ETB	Endotelin B
GA	Gluteraldehid
MMP	Matriks metalloproteinaz



Şekil 1. Enlemesine kesili karotis arterin kısaçlanıp anastomoz yapılması (10/0 polipropilen dikiş ipliği ve tek-tek dikiş tekniği ile).

segmentleri çıkarılarak gluteraldehit içinde fikse edildi ve incelenmek üzere histopatoloji laboratuvarına gönderildi. Daha sonra hayvanlar yüksek doz pentotal verilerek öldürüldü.

Histolojik değerlendirme ve morfometri

Çıkarılan damar dokuları gluteraldehit (GA) ile fikse edilerek histoloji laboratuvarına gönderildi. Hazırlanan dokulardan Leica Reichert Supernova mikrotome (Reichert Microscope Services, USA) kullanılarak 0.5 μm kalınlığında kesitler alındı. Parçalar lama kondu ve Toluidine Blue boyası ile boyanarak incelenmeye hazır hale getirildiler. İncelemeler Nikon Eclipse E400 POL (Nikon Corporation, Japan) ışık mikroskobu kullanılarak yapıldı ve Zeiss AxioCam ICc3 R3 Digital Camera (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Germany) yardımı ile digital görüntüler elde edildi. Digital ortamda Image Tool 3.0 (UTSCSA; Image tool version 3.0) programıyla incelenen kesitlerin morfometrik özellikleri (lümen alanı, intima alanı, intima-medya alanı oranı) hesaplanarak sonuçlar değerlendirildi.

İstatistiksel yöntem

“SPSS for Windows 11.0” programı kullanılarak veriler değerlendirildi. Elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uymadığı çoklu gruplarda veriler Kruskal-Wallis testi, ikili gruplar arasında verilerin kıyaslanmasında ise Mann-Whitney U non-parametrik testleri kullanılarak istatistiksel olarak anlamlılık varlığı araştırıldı ve

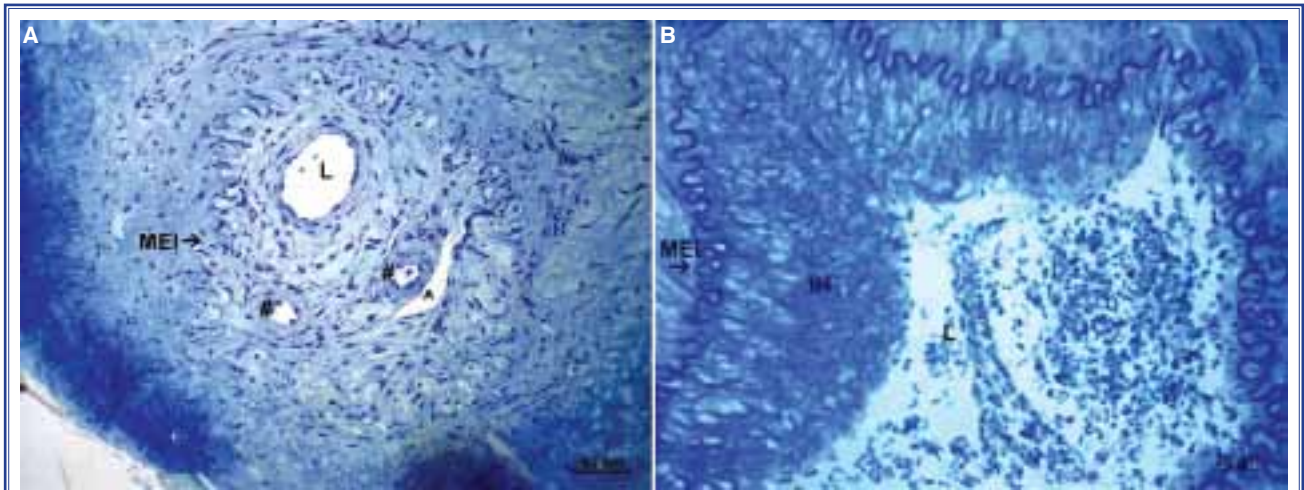
0.05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

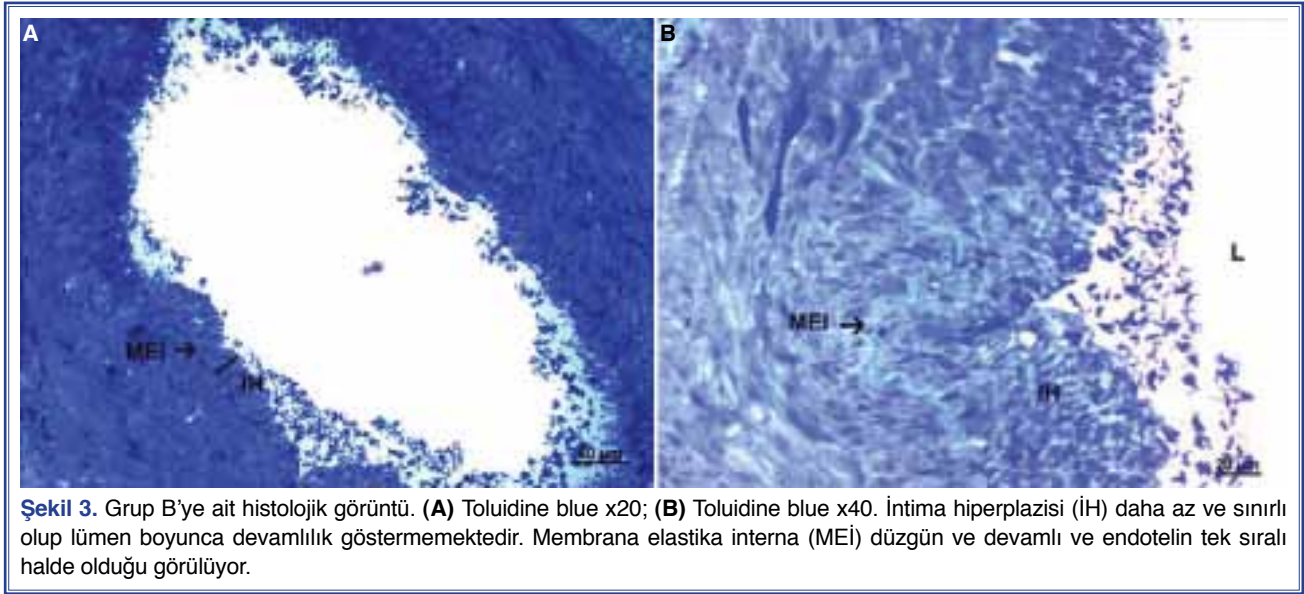
Çalışmada 18 adet Yeni Zelanda ırkı erkek tavşan kullanıldı. Çalışma süresi boyunca hiçbir denek kaybedilmedi. Deney hayvanlarının hiçbirinde 28. gün sonunda yara yeri enfeksiyonu ve nörolojik problem saptanmadı. Çalışmanın sonunda anastomoz yapılan ve yapılmayan sırasıyla sağ ve sol taraf karotis arterler çıkarılarak incelenmek üzere histopatoloji laboratuvarına gönderildi. Alınan karotis arterden yapılan kesitlerde, lümen ve intima tabakası, intima-medya kesit alanları kalınlık açısından incelendi.

Histopatolojik incelenme sonuçları

Grup A'daki deneklerden elde edilen örneklerin incelenmesinde damar lümeninin bazı kesitlerde tama yakın tıkalı olduğu, yer yer rekanalize bölgelerin bulunduğu tespit edildi (Şekil 2a). Seri kesitler değerlendirildiğinde lümenin oldukça girintili çıkıntılı ve pürüzlü olduğu ve çapının ise oldukça azaldığı, ilaveten yer yer yapışıklıkların olduğu görüldü (Şekil 2b). İntima alanında ise düz kas hücrelerinin proliferasyonuna ve yoğun bağ dokusu artışına bağlı olarak oldukça fazla miktarda intima hiperplazisinin olduğu görüldü (Şekil 2b). Grup B'deki deney hayvanlarında damar lümeninin daha düzgün ve geniş olduğu ve Grup A örnekleriyle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu tespit edildi ($p=0.014$). İntima



Şekil 2. Grup A'ya ait histolojik görüntü. (A) Yoğun intima hiperplazisi lümeni (L) tıkamaktadır. Hiperplastik dokunun arasında rekanalize alanların (#) varlığı görülmektedir. Düz kas hücre yoğunluğu ve devamlılığında bozulma (*) mevcut (Toluidine blue x20). (B) Membrana elastika interna'nın (MEI) üzerinde gelişen çok katlı yoğun intima hiperplazisi (IH) (Toluidine blue x40).



incelendiğinde ise düz kas hücre proliferasyonunun nisbeten daha az olduğu ve bağ dokusu artışına bağlı olarak intima hiperplazisi geliştiği görüldü (Şekil 3).

Histomorfometrik karşılaştırmalar (Tablo 1)

Lümen alanına bakıldığında Grup A'nın (bosentan verilmeyen grup) sağ karotis arter lümen alanının ($21.2 \mu\text{m}^2$ [$3.4 \mu\text{m}^2$ - $46.0 \mu\text{m}^2$]) aynı deneklerin sol karotis arter lümen alanına ($106.5 \mu\text{m}^2$ [$88.6 \mu\text{m}^2$ - $136.2 \mu\text{m}^2$]) göre belirgin olarak azalmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). İntima alanına bakıldığında ise Grup A'nın (bosentan verilmeyen grup) sağ karotis arter intima alanının ($48.3 \mu\text{m}^2$ [$37.1 \mu\text{m}^2$ - $65.7 \mu\text{m}^2$]) aynı deneklerin sol karotis arter intima alanına ($20.6 \mu\text{m}^2$ [$19.4 \mu\text{m}^2$ - $25.5 \mu\text{m}^2$]) göre belirgin olarak artmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). İntima/medya oranına bakıldığında ise Grup A'nın (bosentan verilmeyen grup) sağ karotis arter intima/medya oranının (0.49 [0.13 - 0.70]) aynı deneklerin sol karotis arter intima/medya oranına (0.10 [0.07 - 0.14]) göre belirgin olarak artmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$).

İlaç verilmeyen deneklerde (Grup A) anastomoz yapılan taraf (sağ) yapılmayan tarafla (sol) kıyaslandığında; sağ tarafın daha büyük intima alanı ve yüksek intima/medya oranı ($p<0.001$) ve daha küçük lümen alanına ($p<0.001$) sahip olduğu saptandı. Aynı zamanda bosentan verilen deney hayvanlarında (Grup B) anastomoz yapılan (sağ) ve yapılmayan (sol) taraflar kıyaslandığında; sağ tarafın daha büyük intima alanı ve yüksek intima/medya oranı ($p<0.001$) ve daha küçük lümen alanına ($p<0.001$) sahip olduğu saptandı. Bu bulgu, aynı denek hayvanlarında damara girişim ve anastomoz uygulamalarının intima hiperplazisine yol açtığını göstermektedir.

Grup A ve Grup B'yi karşılaştırdığımızda ise, bosentanın intima hiperplazisi gelişimini kısıtlayarak intima kalınlaşmasını azalttığı (Grup A: $48.3 \mu\text{m}^2$ [$37.1 \mu\text{m}^2$ - $65.7 \mu\text{m}^2$], Grup B: $31.4 \mu\text{m}^2$ [$12.2 \mu\text{m}^2$ - $65.7 \mu\text{m}^2$], $p=0.04$), intima/medya oranını azalttığı (Grup A: 0.49 [0.13 - 0.70], Grup B: 0.22 [0.09 - 0.37], $p=0.024$) ve lümen alanını artırdığı (Grup A: $21.2 \mu\text{m}^2$ [$3.4 \mu\text{m}^2$ - $46.0 \mu\text{m}^2$], Grup B: $73.9 \mu\text{m}^2$ [$15.0 \mu\text{m}^2$ - $112.2 \mu\text{m}^2$], $p=0.014$) görüldü.

Tablo 1. Lümen ve intima alanların karşılaştırılması, intima/media alan oranı

Grup	Ortanca (min-maks) lümen alanı (μm^2)	Ortanca (min-maks) intima alanı (μm^2)	İntima/media alan oranı
A	21.2 (3.4-46.0)	48.3 (37.1-65.7)	0.49 (0.13-0.74)
B	73.9 (15.0-112.2)	31.4 (12.2-65.7)	0.22 (0.09-0.37)

Grup A ve Grup B deneklerinin anastomoz yapılmayan tarafları (sol) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

TARTIŞMA

İntima hiperplazisi, damar sisteminde medya tabakasının iştirak ettiği, intima tabakasının kalınlaşması ile kendini gösteren, başlangıçta fizyolojik ancak tedricen artması durumunda istenmeyen patolojik bir gelişme olarak karşımıza çıkmaktadır. Revaskülarizasyon işlemlerinin (perkütan girişimler, anastomozlar) sonuçlarını etkileyen ve restenoza yol açarak işlemleri başarısız kılabilen, işlem kalitesini azaltan, ilave işlemlerin yapılmasını gerektirebilen intima hiperplazisinin azaltılması ya da engellenmesi halen tartışma konusudur.

Güçlü bir vazokonstriktör ve mitojen olan ET-1 intima hiperplazisi ve restenoz patogenezi ile ilişkilendirilmektedir.^[6] Literatürde intima hiperplazisinin azaltılmasına yönelik çalışmaların büyük bir kısmı selektif ETA blokajına odaklanmış ve çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Douglas ve ark.^[7] sıçan karotis arter modelinde oluşturulan intima hiperplazisinin azaltılmasında selektif olarak ETA blokajını etkisiz bulmuşlardır. Benzer şekilde, Azuma ve ark.^[8] selektif ETA blokajı ile tavşan karotis arterinde oluşturulan intima hiperplazisinin azaltılamayacağını göstermişlerdir. Domuz modellerinde ise selektif ETA antagonizmasının olumlu sonuçları bildirilmiştir.^[9] Buna karşın, Kitada ve ark.^[10] yaptıkları çalışmada balon ile arter hasarı oluşturulan sıçanlarda selektif ETB antagonizmasının intima hiperplazisini artırdığını göstermişlerdir. Bu durumu, ETB'nin selektif blokajı sonrasında dolaşımında yüksek miktarlara ulaşan ET-1'in ETA reseptörleri üzerinden gerçekleştiğini savunmuşlardır.

İkili nonselektif ETA/ETB reseptör antagonistleri ile yapılan çalışmalarda ise sıçan ve domuz modellerinde olumlu sonuçlar rapor edilmiştir.^[11,12] İlginç olarak, insan hücreleri ile yapılan çalışmalarda ETA/ETB ikili antagonizmasının ve selektif ETB antagonizmasının intima hiperplazisini azalttığı, ancak selektif ETA blokajının neointima üzerinde herhangi bir etki oluşturmadığı saptanmıştır.^[13] Bu çalışmadan elde edilen sonuçların literatürdeki farklılıkların giderilmesine katkı sağlayabileceği umulmaktadır.

DeneySEL intima hiperplazisi oluşturulması ile ilgili literatürde farklı modeller sunulmuştur. Endotel

hasarı oluşturmak ve intima hiperplazisini uyarma amacıyla kullanılan bazı yöntemler; arter lümeni içerisinde balon şişirilmesi, arter çevresine halka takılması, arterin bağlanması ya da lümenin kateterle çizilmesi sayılabilir. Karotis arterlere yapılan sentetik greftle baypas ve ven greft interpozisyonu intima hiperplazisi oluşturulmasında etkili yöntemler olarak tarif edilmiştir.^[14] Karotis arterin tam enlemesine kesisinin damarın tüm katmanlarını etkileyeceği ve çepeçevre bir hasar oluşturacağı dolayısı ile daha yüksek bir intima hiperplazisi potansiyeli taşıyabileceği düşünülerek çalışmada 'transeksiyon ve anastomoz' modeli tercih edilmiştir. Ayrıca anastomoz çevresindeki intima hiperplazisine bağlı restenoz kalp ve damar cerrahisini çok yakından ilgilendiren bir konudur. Tavşanlarda karotis arterin enlemesine kesisini takiben uç-uca anastomoz modeli farklı ilaçlarla denenmiştir ve intima hiperplazisi oluşturmada başarılı ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.^[15]

More ve ark.^[16] yaptıkları bir çalışmada tavşanlarda balonla oluşturulan intima hasarından sonra hücre proliferasyonunun birinci gününde başladığını, intimada yedinci günde, medyada ise 14. günde en üst seviyeye ulaştığını, daha sonra tedricen azalma eğilimi gösterdiğini bildirmişlerdir. İntima hiperplazisi nedeniyle gelişen intima kalınlaşmasının ise yedinci günde başlayıp birinci ayın sonunda en üst seviye ulaştığı saptanmıştır. Ayrıca yeniden endotelizasyon 14. günde tamamlanmıştır. Schwartz ve ark.^[17] oluşan bu neointimanın gelecekte aterosklerozun ve restenozun habercisi olabileceğini savunmaktadırlar. Bu bilgiler ışığında intima hiperplazisinin en üst seviyeye ulaştığı 28. gün histopatolojik ve histomorfometrik incelemeler için özellikle tercih edilmiştir.

Sanmartín ve ark.^[12] domuz koroner arter modelinde yaptıkları çalışmada bosentanın intima hiperplazisi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Önceki başarılı çalışmalar ve üretici firma prospektüs bilgileri referans alınarak bosentan kullanım süresi ve dozu ayarlanmış ve ilacın kullanım süresi 21 gün ve dozu 30 mg/kg/gün olacak şekilde planlama yapılmıştır. Çalışmamızda, ilaç verilmeyen tavşan grubunda (Grup A) karotis arter anastomozlarında ciddi intima hiperplazisi geliştiği saptanmıştır. Aynı deneklerde anastomoz yapılan tarafla (sağ) yapılmayan taraf (sol) kıyaslandığında; sağ taraf karotis arterlerinde daha kalın intima tabakası ve daha yüksek intima/medya oranının olduğu saptanmıştır (p<0.05). Buna bağlı olarak lümen çapında

azalma meydana gelmiştir. ETA/ETB reseptörlerinin ikili antagonisti olan bosentan tedavisinin (Grup B) tavşan karotis arter anastomozlarında intima kalınlaşmasını engelleyerek hiperplaziyi azalttığı gösterilmiştir. Bu azalma ilaç almayan grupla (Grup A) karşılaştırılınca elde edilen farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı zamanda bosentan alan grup (Grup B) ilaç verilmeyen grupla (Grup A) karşılaştırılınca intima/medya oranında azalma ($p=0.024$) lümen kesit alanında ise artma ($p=0.014$) olduğu görülmüştür. Bu sonuç, bosentanın intima hiperplazisinin gelişmesini engellediği görüşünü desteklemektedir.

Reel ve ark.^[18] tavşan karotis arter modelinde yaptıkları bir çalışmada matriks metalloproteinaz (MMP) olan jelatinazların (MMP-2, MMP-9) aktivasyonunun intima hiperplazisinde arttığını göstermişlerdir. Bu enzimlerin düz kas hücrelerinin proliferasyonunda ve özellikle intersellüler matriksin hasarlanmasından sonra migrasyonunda çok etkili oldukları iddia edilmiştir. Reel ve ark. non-selektif endotelin reseptör antagonisti olan TAK-044 kullanarak bu enzimlerin aktivasyonunda, seviyelerinde ve intima hiperplazisi oluşumunda önemli miktarda azalmanın varlığını gözlemlenmişlerdir. Non-selektif endotelin reseptör antagonisti olan bosentan da, MMP inhibitörü gibi davranışı onların antiproliferatif etkilerini güçlendirir.

Bu çalışmada arter sisteminde oluşan intima hiperplazisi araştırılmıştır. Damar greftlerinin önemli bir kısmı venöz sistemden alınmaktadır. Dashwood ve ark.^[19] domuzların safen venlerinde ETA reseptörlerinin dağılımının karotis arterlere göre daha fazla olduğunu göstermiştir. Buna dayanarak, arter sisteminde implante edildikten sonra artere kıyasla safen ven greftlerinin endotelin yolağı ile gelişen intima hiperplazisine daha eğilimli olabileceğini düşünmek doğrudur. Koroner baypaslarda kullanılan otojen arter greftlerinde neointima formasyonunun insidansı otojen venlerdeki göre oldukça az olması bu tezi desteklemektedir.^[20]

İntima hiperplazisini engellemek amacıyla çalışmalarda pek çok farmakolojik ajan denenmiştir. Bunların arasında kalsiyum kanal blokleri, β -bloker, statin, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü, gen transferi, bifosfonat intima hiperplazisi inhibisyonunda olumlu sonuçlar vermişlerdir. Fakat klinik uygulamalarda aynı başarı gösterilememiştir. İntima hiperplazisi gelişiminde birden fazla yolların bu-

lunması ve şu ana kadar edinilmiş bilgilerin bu patolojik süreci tamamen aydınlatmamış olması, doğru tedavi yaklaşımının bulunmasını engellemektedir.

Sonuç olarak tavşan karotis arter modelinde, damar anastomozu ile intima hiperplazisi olduğu ve oral bosentan kullanımının intima hiperplazisini anlamlı derecede azalttığı kanıtlanmıştır. Bosentanın bu etkisinin ET-1'in intima hiperplazisi ve restenoz patogenezinde önemli rol oynadığı tezini destekleyen bir bulgu olduğu düşünülmüştür. Gelecekte bosentanın damar girişimleri sonrası klinik kullanımını desteklemek amacıyla, uzun dönem ve geniş çaplı çalışmalara ihtiyacı vardır.

Yazar(lar) ya da yazı ile ilgili bildirilen herhangi bir ilgi çakışması (conflict of interest) yoktur.

KAYNAKLAR

1. Zarins CK, Xu C, Bassiouny HS, Glagov S. Intimal hyperplasia. In: Ascher E, editor. Haimovici's vascular surgery. 5th ed. Malden, Massachusetts, USA: Blackwell Science; 2004. p. 165-7. [CrossRef](#)
2. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-5.
3. Miyachi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol* 1999;61:391-415.
4. Hayasaki Y, Nakajima M, Kitano Y, Iwasaki T, Shimamura T, Iwaki K. ICAM-1 expression on cardiac myocytes and aortic endothelial cells via their specific endothelin receptor subtype. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;229:817-24.
5. Eguchi S, Hirata Y, Ihara M, Yano M, Marumo F. A novel ETA antagonist (BQ-123) inhibits endothelin-1-induced phosphoinositide breakdown and DNA synthesis in rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1992;302:243-6. [CrossRef](#)
6. Kirchengast M, Münter K. Endothelin and restenosis. *Cardiovasc Res* 1998;39:550-5. [CrossRef](#)
7. Douglas SA, Vickery-Clark LM, Loudon C, Elliott JD, Ohlstein EH. Endothelin receptor subtypes in the pathogenesis of angioplasty-induced neointima formation in the rat: a comparison of selective ETA receptor antagonism and dual ETA/ETB receptor antagonism using BQ-123 and SB 209670. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26 Suppl 3:186-9. [CrossRef](#)
8. Azuma H, Hamasaki H, Niimi Y, Terada T, Matsubara O. Role of endothelin-1 in neointima formation after endothelial removal in rabbit carotid arteries. *Am J Physiol* 1994;267:2259-67.
9. Burke SE, Lubbers NL, Gagne GD, Wessale JL, Dayton BD, Wegner CD, et al. Selective antagonism of the ET(A) receptor reduces neointimal hyperplasia after balloon-induced vascular injury in pigs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997;30:33-41.

10. Kitada K, Yui N, Matsumoto C, Mori T, Ohkita M, Matsumura Y. Inhibition of endothelin ETB receptor system aggravates neointimal hyperplasia after balloon injury of rat carotid artery. *J Pharmacol Exp Ther* 2009;331:998-1004. [CrossRef](#)
11. Tsujino M, Hirata Y, Eguchi S, Watanabe T, Chatani F, Marumo F. Nonselective ETA/ETB receptor antagonist blocks proliferation of rat vascular smooth muscle cells after balloon angioplasty. *Life Sci* 1995;56:449-54. [CrossRef](#)
12. Sanmartín M, Fernández-Ortiz A, Fantidis P, Aragoncillo P, Fernández-Durango R, Rollín R, et al. Effects of bosentan on neointimal response following coronary angioplasty. *Eur J Clin Invest* 2003;33:762-8. [CrossRef](#)
13. Porter KE, Olojugba DH, Masood I, Pemberton M, Bell PR, London NJ. Endothelin-B receptors mediate intimal hyperplasia in an organ culture of human saphenous vein. *J Vasc Surg* 1998;28:695-701. [CrossRef](#)
14. Zhang L, Hagen PO, Kisslo J, Peppel K, Freedman NJ. Neointimal hyperplasia rapidly reaches steady state in a novel murine vein graft model. *J Vasc Surg* 2002;36:824-32. [CrossRef](#)
15. Güzeloğlu M, Gül M, Reel B, Yürekli I, Aykut K, Hazan E. The effects of zoledronic acid on neointimal hyperplasia: a rabbit carotid anastomosis model. *Anadolu Kardiyol Derg* 2011;11:93-100. [CrossRef](#)
16. More RS, Ruddy G, Underwood MJ, Brack MJ, Gershlick AH. A time sequence of vessel wall changes in an experimental model of angioplasty. *J Pathol* 1994;172:287-92. [CrossRef](#)
17. Schwartz SM, deBlois D, O'Brien ER. The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ Res* 1995;77:445-65. [CrossRef](#)
18. Reel B, Oktay G, Ozkal S, Islek H, Ozer E, Ozsarlak-Sozer G, et al. MMP-2 and MMP-9 alteration in response to collaring in rabbits: the effects of endothelin receptor antagonism. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2009;14:292-301.
19. Dashwood MR, Jeremy JY, Mehta D, Izzat MB, Timm M, Bryan AJ, et al. Endothelin-1 and endothelin receptors in porcine saphenous vein-carotid artery grafts. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31 Suppl 1:328-30. [CrossRef](#)
20. Bryan AJ, Angelini GD. The biology of saphenous vein graft occlusion: etiology and strategies for prevention. *Curr Opin Cardiol* 1994;9:641-9. [CrossRef](#)

Anahtar sözcükler: Bosentan; endotelin-1; endotelin reseptör antagonisti; hayvanlar; hiperplazi; immünohistokimya; karotis arterler/büyüme ve gelişme; reseptör, endotelin; tavşanlar, Yeni Zelanda.

Key words: Bosentan; endothelin-1; endothelin receptor antagonist; animals; hyperplasia; immunohistochemistry; carotid arteries/growth & development; receptors, endothelin; rabbits, New Zealand.