



**SIÇANLARDA MONOKROTALİN İLE OLUŞTURULMUŞ
PULMONER HİPERTANSİYONDA SİLOMİLAST, TADALAFİL
VE HER İKİ İLAÇ KOMBİNASYONUNUN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Necip ERMİŞ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Hacı Ahmet ACET**

Doktora Tezi 2021

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA MONOKROTALİN İLE OLUŞTURULMUŞ PULMONER
HİPERTANSİYONDA SİLOMİLAST, TADALAFİL VE HER İKİ İLAÇ
KOMBİNASYONUNUN KARŞILAŞTIRILMASI**

Necip ERMİŞ

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Hacı Ahmet ACET**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Proje
No: TDK-2017-739 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2021**

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENELBİLGİLER.....	3
2.1. Hastalık Tanımı.....	3
2.2. Pulmoner Hipertansiyon Güncellenmiş Klinik Sınıflandırması.....	5
2.3. Epidemiyoloji.....	7
2.4. Patofizyoloji.....	8
2.4.1. Patoloji ve Laboratuvar Tıbbında Son Gelişmeler.....	8
2.4.2. Pleksiform Lezyonlar/Kompleks Lezyonlar.....	11
2.4.3. Pulmoner Vasküler Endotelyumun Disfonksiyonu.....	11
2.4.4. Nitrik Oksit.....	13
2.4.5. Pulmoner Arter Düz Kas Hücrelerinin ve Adventisyal Fibroblastların Birikmesi.....	15
2.4.6. Doğal ve Adaptif Bağışıklık Sisteminin Düzensizliği.....	16
2.4.7. Moleküler Mekanizmalardaki Son Gelişmeler ve Ortaya Çıkan Terapötik Hedefler.....	18
2.5. Pulmoner Hipertansiyonda Klinik.....	19
2.6. Güncel Pulmoner Hipertansiyon Tedavisi.....	22
2.6.1. Genel Destekleyici Önlemler.....	22
2.6.2. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyonda Farmakolojik Destekleyici Tedavi.....	23
2.6.3. Özgün Farmakolojik Tedavi.....	23
2.7. Fosfodiesteraz Enzim Sistemi.....	30
2.7.1. PDE-4 Enzimi.....	31
2.7.2. PDE-4 Enziminin Önemi.....	32
2.7.3. Bir PDE-4 Enzim İnhibitörü Silomilast.....	34
2.7.4. PDE-5 Enziminin Önemi.....	35
2.8. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon Modeli Oluşumunda Monokrotalin.....	36
3. MATERYAL VE METOT.....	39

3.1.	Deney Hayvanları ve Beslenmeleri.....	39
3.2.	Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar.....	39
3.3.	Ekokardiyografi Uygulaması.....	40
3.4.	Basınç Ölçümü ve Cerrahi İşlem.....	41
3.5.	Histokimyasal Analizler.....	44
3.6.	Biyokimyasal Değerlendirme.....	44
3.6.1	Katalaz (CAT) Aktivite Tayini.....	46
3.6.2.	Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini.....	46
3.6.3.	Total Glutasyon (tGSH) Ölçümü.....	47
3.6.4.	Malondialdehid (MDA) Ölçüm Yöntemi.....	47
3.6.5.	Nitrik Oksit Deneyi (NO).....	47
3.7.	İstatistik.....	47
4.	BULGULAR.....	48
4.1.	Sıçanların Ağırlığı.....	48
4.2.	Ekokardiyografik Bulgular.....	48
4.3.	Hemodinamik Bulgular.....	51
4.4.	Histolojik Bulgular.....	51
4.4.1.	Kalp.....	51
4.4.2.	Akciğer.....	53
4.5.	Biyokimyasal Parametreler.....	55
5.	TARTIŞMA.....	59
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
	KAYNAKLAR.....	69
	EKLER.....	90
	EK.1. ETİK KURUL ONAYI.....	90
	EK.2 ÖZGEÇMİŞ.....	91

TEŐEKKÜR

Çalışmalarım sırasında kıymetli bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, klinik bir branşta uzman olarak çalışmama rağmen temel tıbbı aıt bir alanda yeni baştan bir doktoranın yapılabileceği fikrini aşılayıp, beni cesaretlendiren tez danışmanım, sayın hocam Prof.Dr. H. Ahmet ACET'e en derin saygı ve teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca, çalışmalarım esnasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Hakan PARLAKPINAR, ve Dr. Öğr. Üyesi Onural ÖZHAN'a en derin saygı ve teőekkürlerimi sunarım.

TDK-2017-739 kodlu projeme destek olan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teőekkür ederim.

Son olarak, tez çalışmalarım sırasında manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşime teőekkür ederim.

ÖZET

Sıçanlarda Monokrotalin ile Oluşturulmuş Pulmoner Arteriyel Hipertansiyonda Silomilast, Tadalafil ve Her İki İlaç Kombinasyonunun Karşılaştırılması:

Amaç: Pulmoner arteriyel hipertansiyonun (PAH) patogenezi hala tam olarak anlaşılammış olup pulmoner endotel disfonksiyonu ve enflamasyon arasındaki karmaşık etkileşimin bu hastalığın gelişimindeki esas etkenlerdendir. Bu çalışmada antienflamatuvar etkili silomilast (SİL) ve vazodilatör etkili tadalafil (TAD)'in PAH'a etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Toplamda 40 rat; kontrol, monokrotalin (MCT), MCT+SİL, MCT+TAD ve MCT+SİL+TAD gruplarına bölünmüştür. Ratlara ekokardiyografi yapılmış, invazif olarak sağ ventrikül basınçları ölçülmüş, akciğer ve kalpteki histopatolojik bulgular değerlendirilmiştir.

Bulgular: MCT+SİL ve MCT+TAD gruplarında doku NO düzeyleri MCT grubu ile benzer, [61.22 (35.66-116.08) nmol/g ve 59.28 (46.68-75.81) nmol/g'a karşı 50.39 (34.54-69.42), $p>0.05$], MCT+SİL+TAD grubunda ise belirgin yüksek saptanmıştır [84.16 (51.39-93.53) nmol/g, $p=0.01$]. Sol ventrikülün sağ ventriküle oranı (LV/RV) ve pulmoner akselerasyon zamanı (PAT) açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.097$ ve $p=0.074$). Sağ ventrikül basınçları MCT+TAD ve MCT+SİL+TAD gruplarında MCT grubuna göre daha düşük saptandı [31(25-36) ve 33(26-42)'e karşı 43(39-59) mmHg, $p<0.05$]. MCT+SİL grubunda sağ ventrikül basıncı [38(31-45) mmHg], MCT grubu ile benzerdi ($p>0.05$). Histopatolojik olarak MCT+SİL ve MCT+TAD gruplarında infiltrasyonun, MCT grubuna benzer şekilde devam ettiği; MCT+SİL+TAD grubunda, MCT grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı saptandı ($p=0.022$). MCT+SİL grubunda ölçülen pulmoner arter duvar kalınlığı MCT grubu ile benzer, MCT+TAD ve MCT+SİL+TAD gruplarında ise belirgin azalmıştı ($p<0.001$ ve $p=0.005$).

Sonuç: MCT ile indüklenen PAH'da tek başına tek başına SİL'in sağ ventrikül sistolik basıncı ve distal pulmoner arter duvar kalınlaşması üzerine belirgin bir etkisi izlenmemiştir. Ancak, TAD'a ek olarak kullanımı, enflamasyonu ve doku NO düzeylerini iyileştirmektedir. Bu ajan ile ilgili farklı dozlar veya başka PAH modelleri, ileride yapılacak çalışmaların araştırma konusu olabilir.

Anahtar Kelimeler: Pulmoner arteriyel hipertansiyon, Silomilast, Tadalafil, Monokrotalin, Sıçan.

ABSTRACT

The Comparison of Silomilast, Tadalafil and Both Drug Combinations in Monocrotalin Induced Pulmonary Arterial Hypertension in Rats:

Aim: The pathogenesis of pulmonary arterial hypertension (PAH) is still not fully understood and the complex interaction between pulmonary endothelial dysfunction and inflammation is one of the main factors in the development of this disease. In this study, it was aimed to evaluate the effect of anti-inflammatory cilomilast (CIL) and vasodilator tadalafil (TAD) on PAH.

Method: A total of 40 rats were divided into control, monocrotaline (MCT), MCT+CIL, MCT+TAD and MCT+CIL+TAD groups. Echocardiographic evaluation was performed to rats, right ventricular pressures were measured invasively and histopathological findings in the lung and heart were evaluated.

Results: Tissue NO levels in MCT+CIL and MCT+TAD groups were similar to MCT group, [61.22 (35.66-116.08) and 59.28 (46.68-75.81) nmol/g versus 50.39 (34.54-69.42 nmol/g), $p > 0.05$], in the MCT+CIL+TAD group, it was found to be significantly higher [84.16 (51.39-93.53) nmol/g, $p=0.01$]. There was no difference between the groups in terms of left ventricle to right ventricle ratio (LV/RV) and pulmonary acceleration time (PAT) ($p=0.097$ and $p=0.074$). RV pressures were significantly lower in the MCT+TAD and MCT+CIL+TAD groups compared to MCT group [31(25-36), 33(26-42) and 43(39-59) mmHg respectively, $p < 0.05$]. RV pressures remained high in the MCT+CIL group [38(31-45) mmHg] just like MCT group ($p > 0.05$). Histopathologically, infiltration in the MCT+CIL and MCT+TAD groups was similar to the MCT group; in the MCT+CIL+TAD group, it was found to be significantly decreased compared to the MCT group ($p=0.022$). The pulmonary artery wall thickness measured in the MCT +CIL group was similar to that in the MCT group, but significantly decreased in the MCT+TAD and MCT+CIL+TAD groups ($p < 0.001$ and $p=0.005$).

Conclusion: In PAH induced by MCT, no significant effect of CIL alone on right ventricular systolic pressure and distal pulmonary artery wall thickening was observed. However, its use in addition to TAD improves inflammation and tissue NO levels. Different doses of this agent or other PAH models may be the subject of research for future studies.

Key words; Cilomilast, Pulmonary arterial hypertension, Tadalafil, Monocrotaline, Rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BMPR2	:Kemik morfogenetik protein reseptörü tip 2
BT	:Bilgisayarlı tomografi
CYP	:Sitokrom P450
DPG	:Diyastolik pulmoner gradient
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDT	:E dalgası deselerasyon zamanı
EF	:Ejeksiyon fraksiyonu
EKG	:Elektrokardiyografi
eNOS	:Endotelial nitrik oksit sentetaz
ERA	:Endotelin reseptör antagonisti
ET	:Endotelin
GM-CSF	:Granülosit/makrofaj koloni uyarıcı faktör
IL	:İnterlökin
IVC	:İnferior vena kava
IVSd	:İnterventriküler septal kalınlık
KB	:Kan basıncı
KH	:Kalp hızı
KKB	:Kalsiyum kanal blokerleri
KTEPH	:Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon
LA	:Sol atriyum çapı
LVED	:Sol ventrikül diyastolik çap
LVEF	:Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu
LVES	:Sol ventrikül sistolik çap
LV/RV	:Sol ventrikülün sağ ventriküle oranı
LVPd	:Sol ventrikül arka duvar çapı
MCP	:Monosit kemo-atraktan protein
MCT	:Monokrotalin
MCT+SİL	:Monokrotalin ve silomilastın beraber kullanıldığı grup
MCT+SİL+TAD	:Monokrotalin, silomilast ve tadalafilin beraber kullanıldığı grup
MCT+TAD	:Monokrotalin ve tadalafilin beraber kullanıldığı grup
MDH	:Malondialdehid

MMP	:Matriks metalloproteinaz
NO	:Nitrik Oksit
NT-proBNP	:N-terminal pro-brain natriüretik peptit
OHA	:Orak hücreli anemi
PA	:Pulmoner arter
PAB	:Pulmoner arter basıncı
PAH	:Pulmoner arteriyel hipertansiyon
PASMC	:Pulmoner arter düz kas hücreleri
PAT	:Pulmoner velosite akselasyon zamanı
PAWP	:Pulmoner arter saplama basıncı
PDE	:Fosfodiesteraz enzimi
PH	:Pulmoner hipertansiyon
PK	:Protein kinaz
PVR	:Pulmoner vasküler rezistansın
PVOD	:Pulmoner veno-oklüzif hastalık
RHC	:Sağ kalp kateterizasyonu
ROT	:Reaktif oksijen türleri
SKK	:Sağ kalp kateterizasyonu,
SOD	:Süperoksit dismutaz
tGSH	:Total Glutasyon
TNF	:Tümör nekroz faktörü
TGF	:Transforme edici büyüme faktörü
V/Q	:Ventilasyon/perfüzyon
WSPH	:Dünya Pulmoner Hipertansiyon Sempozyumu
6DYM	:Altı dakikalık yürüme mesafesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Pulmoner arter hipertansiyonlu (PAH) hastaların akciğerlerinde saptanan temsilci vasküler lezyonlar.....	9
Şekil 2.2. PAH veya pulmoner veno-oklüzif hastalığı (PVOD) olan hastaların akciğerlerinde mikrovasküler yatak, kılcak damarlar ve post kapiller damarlarda saptanan vasküler lezyonlar.....	10
Şekil 2.3. Pulmoner damar endoteli ve fonksiyonundaki değişim.....	12
Şekil 2.4. NO sentezi ve sinyal yolları.....	15
Şekil 2.5. Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) ve pulmoner vasküler yeniden şekillenme ile ilişkili immün bozukluğun şematik gösterimi.....	18
Şekil 2.6. Akciğerde siklik nükleotid sinyalizasyonu.....	30
Şekil 2.7. PDE enzimlerinin farklı doku ekspresyonları.....	31
Şekil 2.8. PDE-4 inhibisyonunun çeşitli hücreler üzerine etkisi.....	34
Şekil 3.1. Ekokardiyografide kalbin M mode parasternal uzun eksen görüntüsü.....	41
Şekil 3.2. Ekokardiyografide kalbin apikal 4 boşluk görüntüsü.....	41
Şekil 3.3. Deneyin cerrahi aşamadaki görüntüsü.....	42
Şekil 3.4. Sağ atriyum basıncı ve EKG kayıt tasesi.....	43
Şekil 3.5. Sağ ventrikül basıncı ve EKG kayıt tasesi.....	43
Şekil 3.6. Sistemik arterial kan basıncı ve EKG kayıt trasesi.....	44
Şekil 4.1. Ratların ağırlıklarının karşılaştırılması.....	48
Şekil 4.2. Sol ventrikülün sağ ventriküle oranının karşılaştırılması.....	50
Şekil 4.3. Pulmoner arter velositesi akselerasyon zamanı karşılaştırılması.....	50
Şekil 4.4. Kardiyak dokuların görünümü.....	52
Şekil 4.5. Akciğer dokuların görünümü (20'lik büyütme).....	53
Şekil 4.6. Akciğer dokuların görünümü (40'lık büyütme).....	54
Şekil 4.7. Akciğer dokularında bakılan NO düzeyleri.....	56
Şekil 4.8. Akciğer dokusu katalaz düzeyleri.....	56
Şekil 4.9. Akciğer dokusu malondialdehid düzeyleri.....	57
Şekil 4.10. Akciğer dokusu süperoksit dismutaz düzeyleri.....	58
Şekil 4.11. Akciğer dokusu total glutatyon düzeyleri.....	58

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Pulmoner hipertansiyonun (PH) hemodinamik tanımları.....	5
Tablo 2.2. 6.WSPH’da benimsenen PH klinik sınıflaması.....	6
Tablo 2.3. PAH tedavisinde kullanılan farklı endotelin reseptör antagonistlerinin karşılaştırılması.....	26
Tablo 3.1. Biyokimyasal değerlendirmede kullanılan kimyasallar.....	45
Tablo 3.2. Biyokimyasal değerlendirmede kullanılan cihazlar.....	45
Tablo 4.1. Ekokardiyografik bulgular.....	49
Tablo 4.2. İnvazif hemodinamik bulgular.....	51
Tablo 4.3. Gruplara ait kardiyak histopatolojik skor sonuçları.....	52
Tablo 4.4. Gruplara ait histopatolojik skor sonuçları ve pulmoner arter duvar kalınlığı.....	54
Tablo 4.5. P değerleri.....	54
Tablo 4.6. Serum biyokimyasal ölçümleri.....	55
Tablo 4.7. Akciğer dokularında bakılan NO düzeyleri.....	55

1.GİRİŞ

Günümüzde onaylanmış pulmoner hipertansiyon (PH)'a selektif ilaçlar temel olarak nitrik oksit (NO), prostasiklin ve endotelin (ET)'i etkileyerek tedavi edici özellik göstermektedir (1). Gün geçtikçe bu hastalığın karmaşık patofizyolojisi ile ilgili bilgilerimiz çok artsa da onaylanmış mevcut tedaviler bu 3 yolağın dışına çıkamamış, çok etkili olduğunu düşündüğümüz kombinasyon tedavilerine rağmen yeni tanı konmuş hastalarda 5 yıllık mortalite %40'a varan oranlarda kalmıştır (2).

Pulmoner arteriyel hipertansiyonun (PAH) başlamasına ve ilerlemesine yol açan mekanizmalar hala büyük ölçüde belirsizliğini korusa da, pulmoner endotel disfonksiyonu ve enflamasyon arasındaki karmaşık etkileşim hastalığın gelişimindeki esas etkenlerdendir (3). PAH'da lümen çapını daraltan pulmoner vasküler yeniden şekillenme (remodeling) sadece media tabakasının hipertrofisi ve pulmoner arter duvarındaki farklı vasküler hücrelerin [pulmoner arter düz kas hücreleri (PASMC'ler), endotel hücreleri, fibroblastlar, miyofibroblastlar ve perisitler vb.] birikmesi ile karakterize değildir. Bu hastalar ve hayvan modellerinde gösterilen pulmoner vasküler lezyonlarda T ve B lenfositleri, makrofajlar, dendritik hücreler ve mast hücrelerini içeren değişen derecelerde perivasküler enflamatuvar infiltratlar mevcuttur (3-6). Pulmoner vasküler lezyonlardaki bozulmuş T-düzenleyici hücre fonksiyonu, T-helper 17 hücresi immün polarizasyonunu içeren anormallikler, dendritik ve diğer enflamatuvar hücrelerin varlığı, bozulmuş immün yanıt adaptasyonunu işaret eden durumlara örneklerdir (3,4). Son zamanlarda ortalama perivasküler enflamasyon skorunun intima-media ve adventisya kalınlığı ve ortalama pulmoner arter basıncı ile korelasyonunun gösterilmiş olması, yine pulmoner vasküler yeniden şekillenme sürecindeki perivasküler enflamasyonun önemini desteklemektedir (5-7).

PAH'da artmış bağışıklık hücrelerinin pervasküler birikimi ve damar içi infiltrasyonlarının yanı sıra, belirli sitokinlerin ve kemokinlerin dolaşımdaki seviyeleri anormal bir şekilde yükselmektedir. Bunlar arasında interlökin (IL)-1, IL-6, IL-8, monosit kemo-atraktan protein (MCP)-1, fraktalkin, CCL5/RANTES ve tümör nekroz faktörü (TNF)- α sayılabilir (3). Bu sitokinlerin ve kemokinlerin bazıları PAH hastalarında daha kötü klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiş ve hastalık ilerlemesinde biyobelirteç olarak da kullanılmıştır. IL-1 β ve TNF α 'ın PAH lezyonlarında gözlenen fibronektin gibi hücre dışı matriks proteinlerinin birikimine neden olmaktadır, ayrıca

başta IL-6 ve diğer bazı sitokinler düz kas hücrelerinin çoğalmasıyla ilişkilendirilmiştir (8-10).

Her ne kadar PAH patogenezindeki enflamasyonun rolü ortaya konmuş olsa da, bu hastalık patogenezinde anahtar rol alan sitokinler ve kemokinleri hedef alan çalışmalara ilginin yüksek olmadığı söylenebilir.

Fosfodiesteraz enzimi (PDE)-4 enflamatuvar ve bağışıklık hücrelerinde (eozinofiller, nötrofiller, monositler, makrofajlar, T-lenfositler ve B-lenfositler) yaygın olarak eksprese edilmektedir ve uzun süredir çeşitli enflamatuvar hastalıkların tedavisinde potansiyel bir tedavi hedefi olarak kabul edilmektedir (11-13). PDE-4 akciğer dokusunda yoğun olarak bulunan bir enzimdir ve yapılan bir dizi çalışmada, PDE4 inhibisyonunun, hem akciğer dokusu hem de kanda matriks metalloproteinaz (MMP)-9, lökotrien B4, nötrofil elastaz, miyeloperoksidaz ve reaktif oksijen türleri (ROT) gibi çeşitli pro-enflamatuvar araçların salınımını baskıladığını göstermiştir (14-17). PDE4 inhibitörlerinin proliferasyonu (18) ve apoptozu (19) düzeltici etkileri de mevcut olup, PD-4 inhibisyonunun ilave olarak akciğerlerde eozinofil infiltrasyonunu engelleyebildiği, granülosit/makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), TNF- α ve trombosit aktive edici faktör degranülasyonunu azaltabildiği bildirilmiştir (12,16,17,20).

Bu anlamda PH gelişimi veya tedavisinde etkili olma potansiyeli olan enflamasyon ile ilgili olarak prostaglandinler, lökotrienler, kemokinler, sitokinler, proteazlar ve büyüme faktörleri dahil olmak üzere 100'den fazla aracıya ilave, bu hastalık patogenezinde rol oynayabilecek inflamatuvar hücreler, fibroblastlar ve düz kas hücrelerini tek tek hedef almak yerine geniş bir etki oluşturabilecek bir enzim ailesini hedef alıp inhibe etmek, hastalığı tedavi etmek adına fark yaratabilir. Böyle bir etkinin PAH'da zaten kullanılan vazodilatör tedaviye ek olarak verilmesi daha önce hiç denenmemiştir ve fark yaratıcı bir etki potansiyeli olduğu düşünülebilir. Bu çalışmada vazodilatör bir ajan PDE-5 selektif inhibitörü TAD'a ilave olarak sistemik etkili, ikinci nesil, selektif bir PDE-4 inhibitörü olan silomilast (SİL)'in kullanılması planlanmıştır. Ayrıca SİL'in olası etkisi ile ilgili olabilecek oksidatif stress parametrelerine de bakılmıştır. SİL, birinci nesil PDE-4 inhibitörlerinin terapötik aktivitesini korumasının yanı sıra, derin emetik etkilerinden yoksundur.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Hastalık Tanımı

Pulmoner hipertansiyon, başta sol kalp yetmezliği olmak üzere, yapısal kalp hastalıkları, akciğer hastalıkları, pulmoner trombo-emboli, romatizmal hastalıklar, kronik enfeksiyonlar, hematojik bozukluklar gibi bir dizi hastalık zemininde gelişen, bazen de kendisi primer bir hastalık olan klinik bir durumdur. Uzun vadede pulmoner hemodiyamini etkileyip sağ kalp yetmezliğine neden olarak ölümcül bir seyir gösterebilmektedir (1).

2019 yılında yapılan 6. Dünya PH sempozyumunda PH, sağ kalp kateterizasyonu (RHC) ile değerlendirilen istirahat ortalama pulmoner arter basıncının (oPAB) >20 mmHg artış olması olarak tanımlanmıştır (21). İstirahatte normal oPAB değeri 14 ± 3 mmHg olup üst sınırı 20 mmHg'dır (22,23) Egzersiz ile PAB artabilir, ancak bu artışın ne kadarı fizyolojik ne kadarı veya hangi eşikten sonraki değer patolojiktir tam bilinmediği için egzersiz PH ile ilgili bir tanımlama olmasa da 30 mmHg bir önceki Avrupa kardioloji derneği PH kılavuzunda anormal olarak kabul edilmiştir.

1961'de Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) Kronik Kor Pulmonale Uzman Komitesi'nin raporunda ortalama PAB'ın, yatar pozisyonda normalde 15 mmHg'yi geçmediği, bu değerın yaştan çok az etkilendiği ve hiçbir zaman 20 mmHg'yi aşmadığı bildirilmiştir (24). DSÖ tarafından 1973'te Cenevre'de düzenlenen 1. Dünya Pulmoner Hipertansiyon Sempozyumu'ndan (WSPH) beri PH, istirahatte yatar pozisyonda sağ kalp kateterizasyonu (RHC) ile ölçülen $oPAB \geq 25$ mmHg olarak tanımlanmıştır (29). Cenevre PH DSÖ toplantısı, anoreksik ilaç aminorex alınmasına bağlı oluşan pulmoner hipertansiyon salgınından birkaç yıl sonra düzenlenmiş, toplantının raporunda, belirlenen 25 mmHg'lik normal oPAB üst sınırın bir miktar ampirik ve keyfi bir şekilde tanımlandığı kabul edilmiştir (25). Bu konservatif sınır değeri (25 mmHg), hekimlerin primer PH nedeniyle ağır PH'yi, daha düşük bir oPAB ile karakterize edilen diğer PH formlarından (özellikle akciğer hastalıkları nedeniyle) ayırt etmesine izin vermiştir. Bu tanım, 1998'den 2013'e kadar olan sonraki WSPH toplantılarında, en azından kısmen potansiyel aşırı tanı ve PH'nin aşırı tedavisini engellemek için değişmeden kalmıştır.

2009 yılında Kovacs ve ark. (23) istirahat ve egzersiz sırasındaki normal mPAP değerlerini belirlemek için sağlıklı bireylerde RHC çalışmaları ile elde edilen tüm verileri

analiz etmişlerdir. Kırkyedi çalışmadaki 1187 normal denekten alınan veriler analiz edildiğinde istirahatte saptanan ortalama PAB'ın, 14.0 ± 3.3 mmHg olduğu, bu değer in cinsiyet ve etnik kökenden bağımsız olduğu, ancak yaş ve postürden biraz etkilendiği rapor edilmiştir. Bu 14 mmHg'lik oPAB dikkate alındığında, bu değer in iki standart sapma üstünün (yani, 97.5'inci yüzdelik değer in üstünde) normalin üst sınırı (mPAP>20) olarak kabul edilmesi gerektiği ileri sürülmüştür. Dolayısıyla bu tanım artık keyfi değil, bilimsel bir yaklaşıma dayandığı söylenebilir. PH (≥ 25 veya >20 mmHg) tanımlamak için düşünülen oPAB sınırı ne olursa olsun, izolasyonda kullanılan bu değer in klinik bir durumu karakterize edemediğini ve kendi başına patolojik süreci tanımlamadığını vurgulamak önemlidir.

PAB yükselmesinin, artmış kardiyak debi, sol-sağ kardiyak şant, artmış pulmoner arteriyel saptama basınçlı (PAWP) sol kalp yetmezliği ve viskozite artışını da içeren farklı tedavi ve sonuçları olan fazla sayıda nedeni olabilir. Bu anormal pulmoner arter basıncı artışı, küçük pulmoner arterlerin yapısal değişiklikleriyle ilişkili pulmoner vasküler hastalığa da bağlı olabilir. Pulmoner vasküler hastalığı işaret eden prekapiller PH'yi tanımlamak için, pulmoner vasküler direncin üst limitini tanımlamaya eklemek gerekir.

Pulmoner dolaşımın venöz tarafındaki basınç yükselmesi, geriye yansıyan basınç artışı nedeniyle (sol kalp hastalıkları) PH gelişimindeki en sık izlenen etkidir. Bu duruma sol kalp yetmezliği ile ilişkili PH (post kapiller) denilmektedir. Prekapiller PH'de ise PAWB normaldir. Prekapiller PH tanımına pulmoner vasküler rezistansın [$PVR = (oPAB - PAWP) / \text{kardiyak out-put}$] dahil edilmesi zorunludur. Bu sayede pulmoner vasküler hastalık nedeniyle artan PAB'ı PAWB yükselmesi veya yüksek kardiyak out-put kaynaklı PAB yükselmesinden ayırt etmek mümkün olmaktadır.

2003 yılında düzenlenen 3. WSPH'den bu yana, grup 1 prekapiller PH (PAH); normal PAWB (≤ 15 mmHg) varlığında yüksek PVD (≥ 3 Wood ünitesi) ve PAB'nın ≥ 25 mmHg olması şeklinde tanımlanmıştır (22). $PVR \geq 3$ WU'nun sınır değer olarak kullanılması biraz keyfi uygulama olduğu söylenebilir. Çünkü bazı yeni veriler $PVR > 2$ WU'nun anormal olarak değerlendirilebileceğini öne sürmektedir (22). Bu anlamda, $PVR \geq 3$ WU değerinde bir sınır değeri aşık pulmoner vasküler hastalığı işaret eder. Hastaların stabil olduğu bir durumdaki PAB, PASB, kardiyak output, diyastolik pulmoner gradient (DPG) gibi değişik hemodinamik bileşenlerin kombinasyonlarına göre farklı PH alt grupları tanımlanmıştır. Bu durum Tablo 2.1 de belirtilmiştir, ayrıca bu hemodinamik sınıflamaya karşı gelen klinik sınıflama da Tablo 2.2 de verilmiştir.

Özetle; PH terimi genel bir ifade olup sadece PAB değeri (>20 mmHg) ile ilişkili bir durumdur. PAH ise kronik bir akciğer hastalığı veya kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon (KTEPH) gibi prekapiller PH yapabilecek bir sebep yokluğunda, PAWP'nin ≤ 15 mmHg, PVR'nin ≥ 3 wood ünitesi ve oPAB'ın >20 mmHg olduğu durumu ifade etmektedir (26).

Tablo 2.1. Pulmoner hipertansiyonun hemodinamik tanımları.

Tanımlama	Özellik	Klinik grup
Pre-kapiller	oPAB>20 mmHg	Grup 1, 3, 4 ve 5
	PAWP ≤ 15 mmHg	
	PVR ≥ 3 WU	
İzole post-kapiller PH	oPAB>20 mmHg	Grup 2 ve 5
	PAWP>15 mmHg	
	PVR<3 WU	
Kombine pre ve post kapiller	oPAB>20 mmHg	Grup 2 ve 5
	PAWP>15 mmHg	
	PVR ≥ 3 WU	

*oPAB: Ortalama pulmoner arter basıncı; PAWP: Pulmoner arter saplama basıncı; PVR: Pulmoner vasküler rezistans; WU: Wood Units. #: group 1: PAH; group 2: Sol kalp hastalığı ile ilişkili PH; group 3: Akciğer hastalığı ve/veya hipoksiye bağlı PH; group 4: Pulmoner arter tıkanıklığına bağlı PH; group 5: Sebebi açık olmayan ve/veya çok faktörlü mekanizması olan PH,

2.2. Pulmoner Hipertansiyon Güncellenmiş Klinik Sınıflandırması

PH'nin klinik sınıflandırmasının genel amacı PH ile ilişkili klinik durumları; benzer patofizyolojik mekanizmalar, klinik görünüm, hemodinamik özellikler ve terapötik yönetime göre sınıflandırmaktır. 1973'te DSÖ tarafından desteklenen ilk uluslararası primer PH konferansında tarif edilen ilk sınıflamadan sonra, PH sınıflandırılmasında bir dizi değişiklikler olmuştur. ESC-PAH kılavuzunun bundan

önceki versiyonunda, sırasıyla 1998 ve 2003'te gerçekleştirilen ikinci ve üçüncü dünya PAH konferanslarında önerilen Evian-Venice sınıflandırması benimsenmiştir (27). Bu sınıflandırmalarda PH saptanan klinik durumlar, patolojik, fizyopatolojik ve terapötik özelliklerine göre beş gruba ayrılmaktadır. Farklı klinik gruplardaki PAB ve PVR değerlerinde benzer düzeylerde artışlar olmasına karşın, altta yatan mekanizmalar, tanısal yaklaşımlar ve bunların prognostik ve terapötik sonuçları birbirinden bütünüyle farklı olabilmektedir. Fransa'nın Nice kentinde 2019 yılında gerçekleştirilen altıncı WSPH'da bu Evian-Venice sınıflandırması en son şeklini almıştır (26).

Tablo 2.2. 6.WSPH'da benimsenen PH klinik sınıflaması.

1. PAH
1.1 İdiopatik PAH
1.2 Kalıtsal PAH
1.3 İlaç ve toksinle indüklenmiş PAH
1.4 İlişkili PAH:
1.4.1 Bağ doku hastalığı
1.4.2 HIV enfeksiyonu
1.4.3 Portal hipertansiyon
1.4.4 Doğuştan kalp hastalığı
1.4.5 Şistozomiyazis
1.5 Uzun dönem kalsiyum kanal blokerlere cevap veren PAH
1.6 Aşkar venöz /kapiller tutulum özelliği gösteren PAH (PVOD/PCH)
1.7 Yeni doğanın persistan PH sendromu
2. Sol kalp hastalığına bağlı PH
2.1 Korunmuş LVEF'li kalp yetmezliğine bağlı PH
2.2 Azalmış LVEF'li kalp yetmezliğine bağlı PH
2.3 Valvüler kalp hastalığı
2.4 Post kapiller PH'den olan doğuştan/kazanılmış kardiyovasküler durumlar

3. Akciğer hastalığı ve/veya hipoksiye bağlı PH
3.1 Obstrüktif akciğer hastalığı
3.2 Restriktif akciğer hastalığı
3.3 Karışık restriktif/obstrüktif paternli diğer akciğer hastalıkları
3.4 Hipoksinin olmadığı akciğer hastalıkları
3.5 Gelişimsel akciğer hastalıkları
4. Pulmoner arter tıkanıklığına bağlı
4.1 Kronik tromboembolik PH
4.2 Diğer pulmoner arter obstrüksiyonları
5. Açık olmayan ve/veya çoklu faktörlü mekanizması olan PH
5.1 Hematolojik bozukluklar
5.2 Sistemik ve Metabolik Bozukluklar
5.3 Diğerleri
5.4 Kompleks konjenital kalp hastalıkları

*PAH: Pulmoner arteriyel hipertansiyon; PVOD: Pulmoner veno-oklüzif hastalık; PCH: Pulmoner kapiller hemanjiyomatoz; LVEF: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu.

2.3. Epidemiyoloji

Dünya genelinde PH sıklığının insidansına yönelik verilerin yetersiz olduğu söylenebilir. İngiltere’de prevalansı milyonda 97 vakadır, kadın: erkek oranının ise 1.8 olarak raporlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri’ndeki yaşa göre standardize edilmiş PH ölüm oranı, 100.000’de 4.5-12.3’dür (29). PH alt gruplarının prevalansına ilişkin karşılaştırmalı epidemiyolojik veriler ne yazık ki mevcut değildir. Ancak şiddetli PH’nin göreceli olarak daha seyrek görüldüğü sol kalp hastalıklarının (grup 2), PH’nin en sık rastlanan nedeni olduğu söylenebilir. Ayaktan tedavi gören sistolik kalp yetmezlikli ve sağ kalp kateterizasyonu yapılan hastalarda bildirilmiş en yüksek oran %73’dür (29). Korunmuş EF’li hastalarda yapılan kateter çalışmalarında ise PH insidansı % 36-83 olarak rapor edilmiştir (30).

Erişkin nüfusta hesaplanan en düşük PAH (Grup 1) ve idiyopatik PAH tahmini prevalansı her bir milyonluk nüfusta sırası ile 15 ve 5.9 olgudur (31). Avrupa’da PAH prevalansı ve insidansı, sırasıyla, bir milyonluk popülasyonda 15-60 hasta ve yıl başına milyonda 5-10 olgu aralığındadır (32). PAH insidansı kadınlarda erkeklere göre dört kat daha yüksektir, ancak sağkalım PAH’lı erkeklerde paradoksal olarak daha kötüdür (33).

2.4. Patofizyoloji

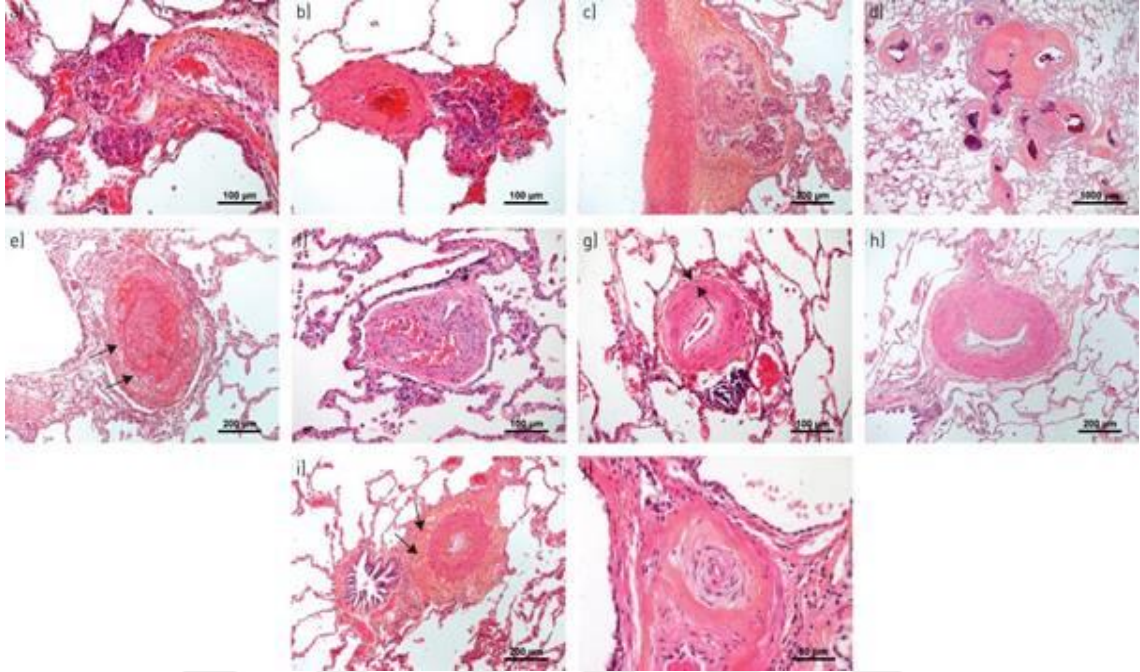
PAH patofizyolojisinde esas belirleyici değişiklikler, pulmoner damar yoğunluğu ve sayısındaki kayıplar ve damar lümen içi çapını azaltan tıkaçıcı pulmoner vasküler yeniden şekillenmelerdir (remodeling). Artmış pulmoner arter basıncı ve vasküler direnç (PVR) kaynaklı ilerletici sağ kalp yetmezliği ve fonksiyonel bozulmaya yol açmaktadır. PAH’da pulmoner vasküler yeniden şekillenme sadece pulmoner arter duvarındaki farklı vasküler hücrelerin (pulmoner arter düz kas hücreleri (PASMC’ler), endotel hücreleri, fibroblastlar, miyofibroblastlar ve perisitler vb.) birikmesi ile karakterize edilemez. Prekapiller küçük arterlerin kaybı ve abartılı perivasküler enflamatuvar (B- ve T-lenfositleri, mast hücrelerini, dendritik hücreleri, makrofajları vb.) hücre infiltrasyonu bu tablonun diğer komponentleridir.

2.4.1. Patoloji ve Laboratuvar Tıbbında Son Gelişmeler

PH’da artan pulmoner arter basıncı; büyük elastik ana, lobar ve segmental pulmoner arterlerin sertleşmesine ek olarak, esasen çapı 500-70 mikron arasında olan distal pulmoner arteriyal yatakta gelişen değişikliklere (Şekil 2.1) bağlanmaktadır. Distal pulmoner vasküler yatakta izlenen değişiklikler media tabakasındaki hipertrofi/hiperplaziyi, intimal ve adventisyal fibrozisi, insitu trombotik lezyonları ve pleksiform lezyonları içermektedir. Bu damarların (pulmoner arterler), akciğer içindeki topografileri nedeniyle pulmoner venlerden ayırımları kolaylıkla yapılabilir, ilaveten bir bronşiyole komşu seyretmektedirler. Ayrıca internal ve eksternal elastik lamina tarafından düzgün bir şekilde sınırlandırılan, genişlemiş hipertrofik media tabakası oldukça ayırt edici bir görüntü vermektedir.

Çapları 70 um ila 20 um arasında değişen küçük prekapiller pulmoner arterlerdeki (arterioller) kayıp ve obliterasyon, artmış muskularizasyon ve perivasküler enflamasyonu işaret eden değişiklikler hem insan hemde deneysel PAH modellerinde gösterilmiştir. Yani PAH’da tutulum hem arteriollerde hem de prekapiller yatakta mevcuttur. Prekapiller bölgedeki tutulum, musküler tip arterlerin aksine, seri kesit takibi veya mümkünse boya

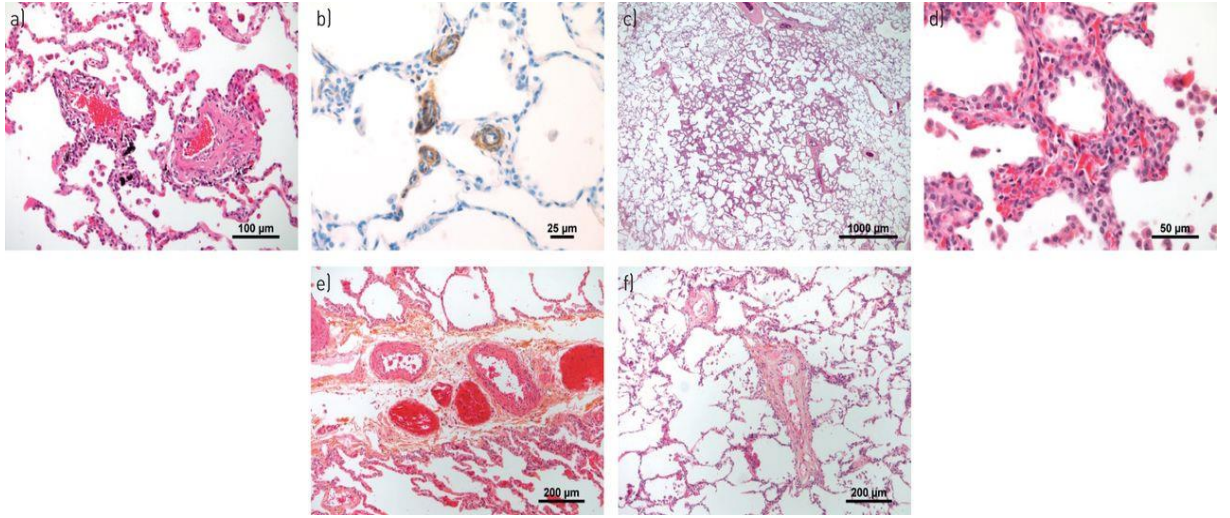
veya boncuklu enjeksiyon teknikleri ile aynı boyuttaki küçük pulmoner venüllerden ayırt edilebilir. Ayrıca, arteriyolar mikrovasküler yataktan kaynaklanan ve akciğer içindeki en büyük vasküler yüzeyi temsil eden kapiller bölme de PAH'da sıklıkla etkilenmektedir



Şekil 2.1. Pulmoner arter hipertansiyonlu (PAH) hastaların akciğerlerinde saptanan temsilci vasküler lezyonlar (3). *a – c) Pleksiform lezyonlar. Pleksiform çekirdek para arteriyel pozisyonda (a,b), adventisyaya bağlı görünümde hatta adventisyaya perimetrede (c, sistemik damar ağımı içerdiğini işaret eder şekilde-vazovazom) olabilir. d) Daha çok kalıtsal kemik morfogenetik protein tip 2 ile ilişkili form PAH'da bulunan milimetrik atipik fibrovasküler lezyonlar (ölçek barına dikkat). e) Çekirdeğinde taze fibrin içeren yeni trombotik lezyonlar ve organize olma durumunun başladığını işaret eden periferik yerleşimli bir çok fibroblast varlığı (oklar), f) Bir çok rekanalize damarlar içeren tam organize olmuş, belli belirsiz bir pleksiform lezyonu andıran trombotik lezyonlar (“Kevgir benzeri lezyon”), g) İntima'nın konsantrik, laminer olmayan fibrozisi; media (ok) tabakası hafifçe kalınlaşmış (damarın alt çevresinde lenfosit bakımından zengin infiltrasyona dikkat), h) Sıklıkla organize trombotik lezyon olarak yorumlanan, egzantrik, intimanın yastık benzeri fibrozisi, i) Media hiperplazisi ve adventisyanın kollojenden zengin fibrozisi (ok), j) Pulmoner arterin ilerleyici tıkanmasına yol açan konsantrik düzendeki multiple fibröz tabakalardan kaynaklanan, İntima'nın konsantrik laminer fibrozisi (“soğan derisi lezyonu”) (3).

İlaveten, son zamanlardaki kanıtlar değişen yoğunlukta tüm PH gruplarında postkapiller pulmoner venöz yatak tutulumunu da destekler niteliktedir. Sol kalp hastalığı ve kronik solunum yolu hastalığına bağlı PH'da, postkapiller tutulumun en azından

kısmen akciğer fibrozu ve amfizemi olan hastalardaki parankimal yıkıma ilave iltihaplanma ile ve sol kalpte, postkapiller damar basıncındaki kronik yükselme ile açıklanması muhtemeldir. İlginç bir şekilde, kalp yetmezliğinde PH'nin şiddeti, venöz ve küçük damar intimal kalınlaşması ile ilişkilidir ve pulmoner veno-oklüzif hastalıkta (PVOD) gözlenen paterni andırmaktadır (34). Görünüşe göre PAH ve tromboembolik PAH gibi saf prekapiller PH formlarında, postkapiller tutulum mekanizmaları açık değildir, çünkü postkapiller damarların teorik olarak arteriyel ve kılcal damar basıncı artmasından korunması gerekir. Günümüzde prekapiller yataktaki basıncı arttıran değişiklikler, venöz yatağa olan kan akımını artan direnç ile beraber sınırlandırıp bu bölgedeki basıncı düşürür görüşü patofizyolojide genel olarak kabul görmektedir.



Şekil 2.2. PAH veya pulmoner veno-oklüzif hastalığı (PVOD) olan hastaların akciğerlerinde mikrovasküler yatak, kılcal damarlar ve postkapiller damarlarda saptanan vasküler lezyonlar. *a) Hafif enflamatuvar ve fibröz yeniden şekillenme (PAH hastası) gösteren mikro damarlar (arterler veya venüller). b) PVOD'si olan bir hastanın akciğerlerinde α -düz kas aktin immünboyanma görüntüsü, pulmoner damarların önemli muskularizasyonunu vurgulamaktadır. c) PVOD'li bir hastada yuvarlak, iyi sınırlanmış interstisyel kalınlaşma alanı; bu alanlar PVOD hastalarının akciğerleri boyunca düzensiz bir şekilde dağılır ve muhtemelen bilgisayarlı tomografi taramasında buzlu cam opasitelerine karşılık gelir. d) Daha yüksek büyütmede, (c) 'deki interstisyel kalınlaşma, alveolar septa içinde çoklu katmanlar oluşturan alveolar kılcal damarların focal çoğalmasına bağlıdır; kılcal hemanjiyomatoz benzeri odaklar terimi bu düzensiz interstisyel paterni tarif eder. e) PAH'lı bir hastanın pulmoner septal venlerinde kas hiperplazisi ve fibröz yeniden şekillenme. f) PVOD'li bir hastada küçük septal venlerin fibröz intima kalınlaşması (3).

2.4.2. Pleksiform Lezyonlar/Kompleks Lezyonlar

Yakın topografik ilişki ile yaygın olarak gözlenen kompleks pulmoner arteriyel lezyonlar, soğan zarı lezyonları, pleksiform çekirdek lezyonlar ve dilatasyon lezyonları içerir (Şekil 2.1a-c). Bununla birlikte, PAH'daki bu tipik vasküler değişikliklerin patofizyolojik önemi henüz tam da aydınlatılmamıştır.

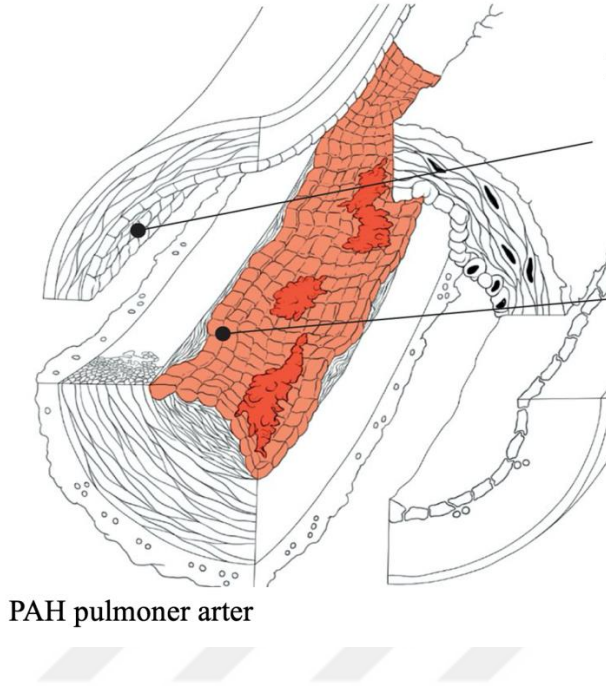
Bu bağlamda, son raporlar, sırasıyla vasa vasorum ve pulmoner arterlerin adventisyası içinde veya peribronşiyal bağ dokusu içinde bulunan bronş arterleri gibi sistemik damarların pleksiform vaskülopatide yer alabileceğini düşündürmektedir. Dijital üç boyutlu rekonstrüksiyonu olan PAH hastalarından alınan seri kesitlerin analizi, pleksiform lezyonların bronş mikrodamarları ile pulmoner arterler ve venler arasında anastomoz yapıları temsil ettiği bir şant hipotezini desteklemektedir (35). Bronşiyal ve pulmoner vasküler yatak arasındaki şant, BMPR2 (kemik morfogenetik protein reseptörü tip 2) mutasyonuna bağlı idiyopatik ve kalıtsal PAH dahil PAH hastalarından çıkarılmış akciğer dokusu kesitlerinin morfometrik analizi ile gösterilmiştir (36). BMPR2 mutasyon taşıyıcılarında bronşiyal arterlerin hipertrofi, dilatasyon ve bronşiyal mikrodamar yoğunluğundaki artışın pulmoner venöz yeniden şekillenme ile korele olduğu tespit edilmiştir (35,36). Ayrıca, büyük fibröz vasküler yapıların (tekil milimetrik fibrovasküler lezyonlar) sistemik damarları pulmoner arterlere ve venlere bağladığı görülmektedir (Şekil 2.2). PAH'da primer pulmoner arteriyel obstrüksiyonun kısa devre yapmasına izin verecek olan hipertrofik sistemik damarların fonksiyonel bir rolü henüz doğrulanmamıştır.

2.4.3. Pulmoner Vasküler Endotelyumun Disfonksiyonu

PAH'da, vazokonstriksiyon lehine endotel bağımlı vazodilatasyon bozukluğunu belirtmek için pulmoner endotelial disfonksiyon terimi kullanılmıştır. Bu terim aynı zamanda azalmış antikoagülan özellikleri, aktif metabolik değişiklikleri, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini, adezyon moleküllerinin [E-selektin, hücreler arası adezyon molekülü 1 (ICAM1 ve vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM1)] artan ekspresyonunu ve farklı kemokinlerin, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin lokal olarak uyumsuz bir şekilde salınımını ihtiva etmektedir. (Şekil 2.3). Bu değişiklikler, pulmoner vasküler yeniden şekillenmede birincil rol oynayan anjiyogenez ve onarım mekanizmalarında bozulmalara neden olur (37). PAH hastalarından in vitro olarak kültürlenmiş pulmoner endotel hücrelerindeki anormal fenotipik değişimler az ya da çok birçok çalışmada gösterilmiştir. Bunlar arasında dikkat çekici olanlar; in vitro vasküler

tüp formasyonu oluşum kapasitesi azalması, artmış aerobik glikoliz, bazı endotel hücre markırlarında azalma, mezenkimal hücre markırlarında belirginleşme olarak sayılabilir (38,39).

Normal pulmoner arter



Fonksiyonel damar endoteliumu

PAH'da fonksiyon bozukluğu gösteren pulmoner damar endoteliumu:

- Pulmoner vazodilatör ve vazokonstriktör salınımında değişim
- Proliferatif kapasite ve apoptoz duyarlılığında değişim
- Proinflamatuvar fenotip
- Düz kas benzeri mezenkimal fenotip
- Migratuvar potansiyelde değişim
- Metabolik prosesde değişim

Şekil 2.3. Pulmoner damar endoteli ve fonksiyonundaki değişim.

PAH'ta, E-selektin, ICAM1 ve VCAM1'in yüzey ekspresyonunda bir artış ile birlikte çeşitli anahtar sitokinlerin ve kemokinlerin aşırı salımı ile karakterize edilen pulmoner endotelial hücrelerin pro-enflamatuvar bir fenotipi bildirilmiştir (40). Yüksek glikoz, insülin direnci, bozulmuş kan akışı ve oksidatif stres gibi çeşitli uyaranlar endotel disfonksiyonuna yol açabilir. Bununla birlikte, PAH'da pulmoner endotelin işlev bozukluğundan sorumlu olan neden ve altta yatan mekanizmalar hala tam olarak anlaşılamamıştır. Son çalışmalar, PH/PAH ile ilişkili pulmoner vasküler yeniden şekillenmeyi başlatan ve sürdüren, yüksek kan akımının neden olduğu artmış akışkanlık stresinin (sheer stress) yanı sıra düşük oksijen basıncı (kronik hipoksi) gibi iki endotelial yapı ve fonksiyon modülatörüne odaklanmıştır. Normal olarak, vasküler endotelial hücreler, yüksek akışkanlık stresine parke taşı görünümünü kaybederek, akım yönünde uzama şeklinde (elongasyon) yanıt verir. Bu morfolojik değişimin sağlanamaması,

vasküler yeniden şekillenme eğiliminin artmasına sebep olur. İlginç bir şekilde, pulmoner arterin bantlaması ile pulmoner basınç yükünün azaltılmasının hipoksik sıçan modelinde bile tıkaçıcı vasküler yeniden şekillenmeyi önlediği, hatta tersine çevirdiği gösterilmiştir (41). Bu gözlem, PAH hastalarından izole edilen in vitro proksimal pulmoner arter endotel hücrelerinin değil de, mikrovasküler pulmoner endotel hücrelerinin gecikmiş morfolojik adaptasyon sergilediğini gösteren yeni çalışmalarla tutarlıdır (42).

Yüksek akışkanlık stresi ve kronik hipoksiye endotelial adaptasyonun altında yatan moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılması, PH/PAH patogenezinin daha iyi ortaya konmasını sağlayarak yeni terapötik stratejilerin belirlenmesine yardımcı olacaktır. Ayrıca, PH/PAH patogenezinin daha iyi anlaşılması için yerleşik vasküler hücreler (PA-SMC'ler, miyofibroblastlar, perisitler) ve dolaşımdaki hücreler (bağışıklık hücreleri) arası etkileşimin daha iyi bir şekilde ortaya konması bir başka önemli konudur (43-45). Endotelyum ayrıca bu süreci koordine etmekten sorumlu farklı hücre tipleri arasında değiş tokuş edilen sinyallere bağlı olan fonksiyonel bir vasküler ağın gelişimi için de kritiktir. Deneysel ve insan PH/PAH'ında, anjiyogenez, pulmoner vasküleritedeki azalma paternine ("ölü ağaç" resmi) yol açan kılcal damar arterlerinin kaybı ve ilerleyen obliterasyonu ile bozulur. Bu nedenle endotel mikro-çevrenin, pulmoner endotel bütünlüğünü ve PH/PAH'daki rejeneratif anjiyojenik kapasitesiyi nasıl etkilediğini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.4.4. Nitrik Oksit

Pulmoner vazodilatasyona neden olan faktörler arasında NO, adenozin, atriyal natriüretik faktör (ANP) ve eikosanoid, PGI₂ en çok çalışılanlarıdır (46). Bu faktörlerin bazıları endojendir, pulmoner damar endotelyumundan üretilirken diğerleri dolaşımdaki hücreler tarafından veya diğer vasküler yataklarda üretilir. NO esas olarak endotel tarafından moleküler oksijen gerektiren ve enzim NO sentaz (NOS) tarafından katalize edilen bir reaksiyonda L-arginin'in L-sitrülin'e oksidasyonu (Şekil 2.4) ile üretilir (48). Endotelial (eNOS) ve nöronal (nNOS) izoformları Ca²⁺a bağlıdır ve devamlı bir şekilde NO üretirler. Üçüncü form indüklenbilir NOS'tur (iNOS,) ve Ca²⁺ bağımsızdır; sitokinler, oksidanlar, shear stress gibi uyarılara yanıt olarak ekspresse edilir (48,49). iNOS epitel ve düz kas hücrelerinin yanı sıra nötrofiller, makrofajlar ve fibroblastlarda bulunur.

Endotel hücrelerinde NO sentezi eNOS aktivitesi yoluyla gerçekleşir. Dokular ve hücreler, nitrozilasyon ve biyomoleküllerin nitrozizasyonu yoluyla NO'yu korur ve

NO'nun kendisi, S-nitrosotiyoller gibi fonksiyonel grupların indirgeyici ayrışması üzerine salınabilir (50). Kısa yarılanma ömrü nedeniyle, NO bir dolaşım faktörü olarak hareket etmeye uygun değildir. Bunun yerine, endotel hücreleri tarafından serbest bırakıldığında, hızlı bir şekilde altta yatan düz kasa nüfuz edip çözünür guanilat siklazı (sGC) aktive eder. Bu şekilde cGMP oluşumunu artırıp, hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu ve/veya miyofilaman Ca^{2+} duyarlılığını azaltarak devam eden kasılmayı sınırlar veya tersine çevirir (51). İlaveten cGMP'nin hücre zarını hiperpolarize eden K^+ kanalları aktivasyonu yapıcı etkisi vardır (52). Kısa biyolojik yarılanma ömrüne sahip oldukça reaktif bir gaz olan NO esas olarak bir otokrin / parakrin sinyal molekülü olarak işlev gördüğü düşünülse de, son bulgular NO'un daha uzun yarı ömürlü bir molekül olan Nitrit şeklinde depolanabildiğini göstermektedir. Yaklaşık 50 dakikalık yarı ömürle nitrit kolayca NO'ya indirgenebilir (53). Dolayısıyla NO'nun NOS'tan bağımsız olarak geri dönüştürülebileceği bir in vivo fizyolojik rezervuarı da mevcuttur (54).

Üç NOS izoformunun nispi katkısını değerlendirmek için transgenik fareler ve insanlarda yapılan çalışmalar, iNOS ve eNOS'un pulmoner dolaşımın tonusunun anahtar düzenleyicileri olduğunu göstermiştir (46). eNOS, endotel bağımlı pulmoner damar vazodilatasyonu yoluyla istirahat tonusunun anahtar medyatörü iken, iNOS pulmoner dolaşımın oksijene yanıtına aracılık edebilir (55,56).

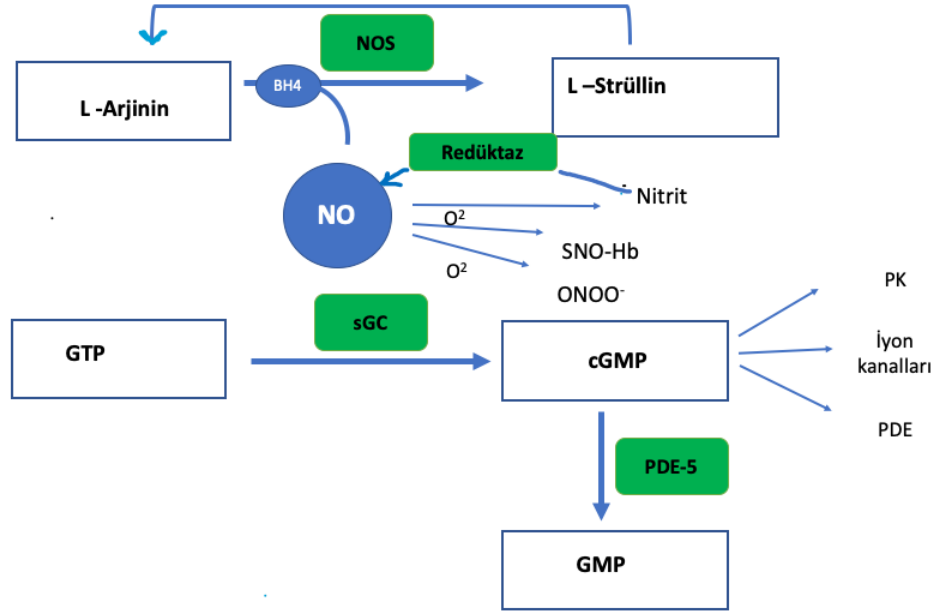
NO yolağının bozulması, PH patobiyolojisine katkıda bulunan önemli bir etkidir. Ekshale edilen havadaki NO ve bronkoalveolar lavajda NO biyokimyasal reaksiyon ürünleri PAH'lı hastaların akciğerlerinde kontrollere göre daha düşüktür ve düzeyleri PH derecesi ile ters orantılıdır (57,58). İdiyopatik PAH'lı bireylerin solunan nefesinde NO, sağlıklı sigara içmeyen kontrollerle ilişkili PH hastasından anlamlı derecede daha düşüktür (59).

Farelerde eNOS geninin hedeflenerek bozulması, pulmoner vasküler yeniden şekillenme kanıtı olmaksızın hafif PH ile ilişkilendirilmiştir. Bu durum muhtemelen, diğer NOS izoformlarınca ortaya konan telafiyi yansıtmaktadır (60).

NO'nun vazodilatasyon dışında yaptığı etkiler (61-63);

- 1- Vasküler düz kas hücresi proliferasyonu inhibisyonu,
- 2- DNA sentezi inhibisyonu,
- 3- Kollajen üretimi inhibisyonu,
- 4- Vasküler düz kas hücre migrasyonunun engellenmesi,
- 5- Hasar görmüş vasküler düz kaslarda apoptozun indüklenmesi,

6- Vasküler düz kas hücrelerinin metabolizmasını düzenleyerek anaerobik glikolizi desteklenmesi ve komşu endotel hücreleri üzerinde toksik etki gösterilmesi.



Şekil 2.4. NO sentezi ve sinyal yolları. BH4, tetrahidrobiopterin; cGMP: Siklik guanozin monofosfat; GMP: Guanosine monofosfat; GTP: Guanosine trifosfat; NO: Nitrik oksit; NOS: Nitrik oksit sentaz; ONOO-, peroksinitrit; PK: Protein kinazlar; sGC: Çözünür guanilat siklaz; SNO-Hb: S-nitrosotiyol - hemoglobin. L-arginin, iki enzim (argininosüksinat sentaz ve argininosüksinat liyaz) ile L-sitrülden yeniden üretilebilir.

2.4.5. Pulmoner Arter Düz Kas Hücrelerinin ve Adventisyal Fibroblastların Birikmesi

PAH'da, pulmoner arteriyel mikrovasküler yataktaki bazı içsel anormallikler ve bozulmuş sinyalizasyonun varlığı PASMC'lerin ve adventisyal fibroblastların progressif birikimini kısmen açıklamaktadır. Son yıllardaki prelinik ve erken dönem klinik çabalar PAH patofizyolojisinde bazı hedefleri öne çıkarmıştır. Endotel hücrelerinde olduğu gibi, PASMC ve fibroblast sağ kalımında DNA hasarına müdahale yolları PAH'da kritik rol oynar. Hem insan hem de deneysel PH/PAH'da BMPR2 aşağı regülasyonunu takiben BRCA1 (meme kanseri 1) proteinindeki azalma, DNA hasar oluşumundaki artışa yanıt olarak poli (ADP riboz) polimeraz 1'in (PARP1) yukarı regülasyonu ile ilişkilidir (64). PARP1'in PAH PA-SMC'lerde upregülasyonu, DNA hasar sonuçlarını azaltarak, mitokondriyal fonksiyonları canlı kalma moduna adapte ederek çevresel streslerle başa

çıkılmalarını sağlar (65). Deneysel PH modellerinde PARP1'in inhibisyonu, mevcut tedavi protokollerinin kombinasyonlarından daha fazla etki göstermiştir ve bu nedenle ABD Gıda ve İlaç İdaresi onaylı PARP1 inhibitörü olaparib ile ilgili devam eden bir klinik araştırma vardır (ClinicalTrials.gov, NCT03251872). Bu alanda bir başka ilerleme olarak miRNA-124'ün aşağı regülasyonundan bahsedilebilir. Bu durumda, PH damar ağındaki hem fibroblastlar hem de endotel hücrelerde RNA ekleme faktörü polipirimidin kanalı bağlayıcı proteinin 1'in (PTBP1) upregülasyonuna yol açmaktadır. PTBP1'deki artışlar, dimerik (aktif olmayan halde) aerobik ortamlarda bile glikoliz, proliferasyon ve apoptoz direncini destekleyen PKM2 izoformunun artmasına yol açar. İn vitro ve in vivo çalışmalarda, farmakolojik inhibitörler kullanılarak, normal bir PKM2/PKM1 oranı restorasyonun sağlanmasının fibroblast ve endotel hücre proliferasyonunu zayıflattığı gösterilmiştir (66,67). Ayrıca tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) 'nın BMPR2 ekspresyonunu inhibe ettiği ve PSMC'lerde “bir disintegrin ve metaloproteazlar” ADAM10 ve ADAM17 yoluyla translyasyon sonrası bölünmeyi desteklediği tespit edilmiştir. Bu durum alternatif aktivin reseptörleri yoluyla BMP aracılı proliferasyonun desteklenebileceğini ortaya koymaktadır (68). PSMC'lerde ve pulmoner endotel hücrelerde Smad3 tükenmesinin artmış proliferasyon ve migrasyona katkıda bulunduğu, bunun da miyokard ile ilişkili transkripsiyonel faktörün inhibisyonu ile zayıflatılabildiği bildirilmiştir (69).

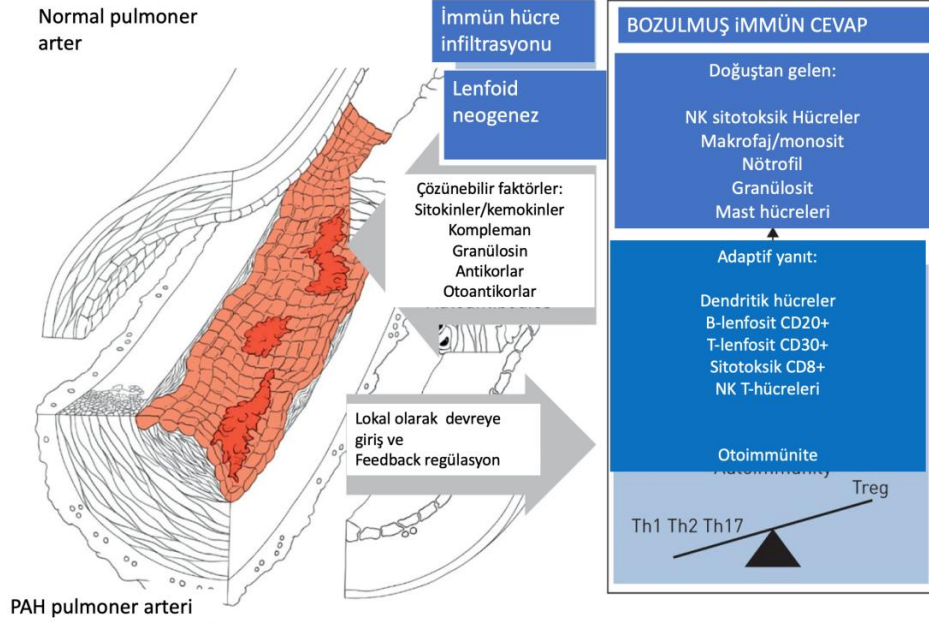
2.4.6. Doğal ve Adaptif Bağışıklık Sisteminin Düzensizliği

Deneysel PH'da, perivasküler enflamatuvar infiltratların genellikle yapısal pulmoner vasküler yeniden şekillenme öncesi izlenmesi, bu hastalıkta enflamatuvar ve bağışıklık sistemleri, uyumsuzluğunun var olduğunu ve yeniden şekillenmeye (remodeling) katkıda bulunduğu fikrini desteklemektedir. Bu görüşle uyumlu olarak, PAH hastalarının akciğerlerinde yüksek derecede organize lenfoid folliküllerini işaret eden büyük lenfosit birikimlerine rastlanabilmektedir. Benzer şekilde, dolaşımdaki enflamatuvar mediatör düzeylerinin PAH'da daha kötü bir klinik sonuç ile paralel seyir izlediği ve dolaşımdaki hücre alt gruplarında birtakım değişikliklerin gözlenebileceği rapor edilmiştir (70) (Şekil 2.5).

Sonuç olarak, enflamatuvar süreçleri doğrudan modüle eden terapiler, PAH'daki klinik çalışmaların yeni bir odak noktası haline gelmiştir. Ancak, steroid veya aspirin tedavisinin IPAH ve HPAH'da etkili olmadığı ve antienflamatuvar özelliklere sahip olan prostasiklinin (71) pulmoner vasküler yeniden şekillenmeyi tersine çeviremediği

bilinmektedir. Bu durum, bağışıklık hücreleri ve anahtar sitokinler/kemokinler tarafından oynanan rollere ilişkin ek kavrayışların, yeni terapötik stratejiler geliştirmek için bir ön koşul olduğunu vurgulamaktadır. Bu anlamda PAH gelişiminde önemli olduğu düşünülen anahtar sitokinler/kemokinleri hedef alan çalışmalara ilginin henüz yüksek olmadığı söylenebilir. Son araştırmalar, pulmoner vasküler hücrelerin PAH'da pulmoner vasküler yeniden şekillenmeye katkıda bulunan önemli lokal çözünür sinyal kaynakları olduğuna dair kanıt sunmaktadır. Gerçekte, PAH hastalarından alınan PSMC'ler, endotelial hücreler, fibroblastlar ve miyofibroblastlar, çeşitli sitokinlerin ve kemokinlerin ve ICAM1 gibi önemli enflamatuvar hücre adezyon moleküllerinin artmış ekspresyonu ile karakterize belirgin bir pro-enflamatuvar duruş sergilemektedirler (3). IL-1, IL-6, LTB₄, makrofaj migrasyon inhibitör faktörü, leptin ve TNF- α 'nın aşırı lokal sekresyonu ve FoxO1 inaktivasyonu, PAH'daki pulmoner vasküler ağda yapısal ve fonksiyonel değişikliklere aracılık etmede önemli bir rol oynuyor gibi görünmektedir (68,72).

PAH hastalarının pulmoner vasküler lezyonlarında bozulmuş T-düzenleyici hücre fonksiyonu, T-helper 17 hücresi immün polarizasyonu ve dendritik hücre tutulumu gösterilmiş olup, bu durum PAH'da immün yanıtın bozulmuş adaptasyonunu işaret etmektedir (4). Buna göre, PAH hastalarında dolaşımdaki otoantikorlar, ilişkili bir otoimmün durum kanıtı olmaksızın yaygın olarak tespit edilir. Ayrıca PH/PAH akciğerlerinde lenfoid neogenez de bildirilmiştir (73). İleride, PAH'da bağışıklık ve tolerans arasındaki dengede değişikliğe yol açan mekanizmaların daha iyi anlaşılması, PAH yönetimine yönelik immünopatolojik yaklaşımların tanımlanmasına izin verebilir.



Şekil 2.5. PAH ve pulmoner vasküler yeniden şekillenme ile ilişkili immün bozukluğun şematik gösterimi.

*NK: Doğal Öldürücü; Th:T-yardımcı, Treg:T-regulatör

2.4.7. Moleküler Mekanizmalardaki Son Gelişmeler ve Ortaya Çıkan Terapötik Hedefler

Anlaşılması gereken çok şey olmasına rağmen; onlarca yıllık kapsamlı çalışmalar, PAH patobiyolojisini pulmoner vasküler yatağın geri dönüşsüz yeniden şekillenmesine neden olabilecek veya hızlandırabilecek genetik, epigenetik ve çevresel faktörlerle (virüsler, ilaçlar, toksinler, hipoksi ve enflamasyon) ilişkilendirmiştir. Şimdiye kadar ortaya konulan verilerde, genetik, epigenetik ve çevresel faktörlerin hepsinin çoğalma, farklılaşma ve iltihaplanma da dahil olmak üzere vasküler hücre fenotipinde anormalliklere neden olan karmaşık sinyal yollarını aktive eden büyüme faktörlerinde, iyon kanallarında, hormonlarda ve sitokinlerde düzensizleşmeye neden olduğunu işaret etmektedir. Bu pulmoner damar ağındaki transkripsiyonel düzensizlik, pulmoner vasküler transkriptomu şekillendiren en erken olaydır diye düşünülebilir. Netice itibariyle bu sürecin hücre içi değişim ve buna bağlı olumsuz vasküler yeniden şekillenmeye yol açan bazı gen ürünlerinin, hem tükenmesine hem de ektopik aktivasyonuna neden olacağı muhakkaktır (74). Hücrelerin transkripsiyonel düzensizliğe yol açan çevresel tetikleyicileri nasıl algıladığı ve bunlara nasıl tepki verdiği, pulmoner vasküler araştırmaların temel sorunu olmaya devam etmektedir. Son çalışmalar bu konu ile ilgili yeni görüşler sunmaktadır:

- 1- Non-reseptör kinazların rolü,
- 2- İyon kanallarının pulmoner arteriyel tonu ve vasküler yeniden şekillenme süreçlerini kontrol etme potansiyeli (75),
- 3- Gen ekspresyon regülatörlerinin aktivitesindeki bozulma (yani transkripsiyon faktörleri ve transkripsiyonel çekirdek düzenleyiciler (76),
- 4- Kromatini yeniden şekillendiren protein ve mikroRNA'ların anormal aktivasyonu, kodlamanın değişimi ile sonuçlanan epigenetik süreçler (77),
- 5- Transkripsiyon, transkripsiyon sonrası süreçler ve sinyal yollarını etkileyen ciddi metabolik bozulmalar (78).

PH/PAH'da, farklı büyüme faktörleri ve bunlarla ilişkili reseptör tirozin kinazlar (örn. Fibroblast büyüme faktörü 2, vasküler endotelial büyüme faktörü, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü ve sinir büyüme faktörü) ile birlikte enflamatuvar mediatörlerde (örn. sitokinler, kemokinler, dolaşan otoantikolar ve bağışıklık kompleksleri) değişim distal pulmoner yataktaki fenotipik değişime katkıda bulunan esas etkenlerdir.

2.5. Pulmoner Hipertansiyonda Klinik

Semptomlar esas olarak pulmoner dolaşıma kanı gönderen sağ ventrikülün kondüsyonuna ve kardiyak outputun hastalıktan ne kadar etkilendiğine bağlıdır. Efor dispnesi genelde ilk semptomdur. Hastalarda, nefes darlığı, çarpıntı, halsizlik, bitkinlik, göğüs ağrısı ve senkop görülebilir. Daha seyrek olarak, hastalar egzersizle ortaya çıkan mide bulantısı ve kusmadan da yakınabilir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde, dinlenme durumunda da semptom görülmektedir. Sağ ventrikül sistolik fonksiyonları iyice bozulduğunda, karında şişlik ve ayak bileğinde ödem gelişir. Semptomlar arasında ayrıca, dilate pulmoner artere bağlı sol rekürren laringeal sinir basısı sonucu oluşan ses kısıklığı, büyük hava yollarına bası sonucu oluşan hırıltılı solunum ve nadiren sol ana koroner artere bası sonucu oluşan kardiyak iskeminin yol açtığı angina da sayılabilir. PH bulguları altta yatan hastalığa göre de şekillenebilir. Örneğin altta yan hastalık konjenital kalp hastalığı ise çomak parmak ve siyanoz belirgin olabilir. Hemoptizi özellikle KTEPH ve veno okluzif hastalık için sık rastlanan bir şikayettir. Sklerodaktili, parmak uçlarında ülserler sklerodermalı bir hastayı işaret edebilir.

Bu hastalığın fizik muayene bulguları erken dönemde çok silik olabilir. Sıklıkla saptanan bulgular arasında; sol parasternal kabarma, ikinci kalp sesinin pulmoner komponentinin şiddetli duyulması, sağ ventriküle ait S3, triküspit yetersizliğine bağlı inspriyumla şiddetlenen pansistolik üfürüm ve pulmoner yetersizliğe bağlı erken diyastolik üfürüm bulunur. Hastalık ilerlediğinde ise artmış jüğüler venöz basınç artışı-dolgunluğu, hepatomegali, asit ve pretibial ödem saptanır. Genellikle grup 3 PH harici dinlemekle akciğerlerde bir bulguya rastlanmaz.

Elektrokardiyogram da (EKG), eğer pulmoner arter basıncı belirgin yüksek ise, sağ ventrikül hipertrofisi ve sağ atriyal dilatasyon bulguları sıklıkla izlenir. Ancak EKG'nin normal olması hastalığı dışlamaz.

PAH hastalarının %90'ında tanı sırasında akciğer grafisinde bulgular vardır (79). Bunlar arasında, ana pulmoner arterde genişleme, pulmoner konusda belirginleşme, periferik damarlarında tam tersi silikleşme (budanma) gözlemlenir. Daha ileri olgularda sağ atriyum ve ventrikülde genişleme görülebilir.

Solunum fonksiyon testleri ve arter kan gazları, altta yatan hava yolu ya da akciğer parankim hastalığının PH nedeni veya hastalığın bir komponenti olup olmadığını gösterir. PAH hastalarında genellikle, hastalığın ağırlık derecesine bağlı olarak akciğer volümlerinde hafif ila orta derecede azalma vardır (80). PAH'de difüzyon kapasitesi normal olabilse de, çoğu hastanın akciğer karbon monoksit difüzyon kapasitesi düşüktür. Beklenenin <%45'i olarak tanımlanan anormal derecede düşük bir değer, kötü sonlanım ile ilişkilidir.

Transtoraksal ekokardiyografi, hastalığın tanısının konulmasında ilk baş vurulacak detaylı test aracıdır. Çünkü PH'nin hem sağ kalp, hem de sol kalp üzerindeki etkilerini görüntülemek ve Doppler ölçümleri ile PAB'nı tahmin etmek ekokardiyografi ile mümkündür. Ekokardiyografik Sistolik PAB tahmini; basitleştirilmiş Bernoulli denklemi ile sağ atriyal basınç dikkate alınarak ölçülen pik triküspid yetersizlik hızına göre yapılmaktadır. Ekokardiyografide PHT bulgularını destekliyen yardımcı bulgular aşağıdaki gibidir (81).

- a- Sağ ventrikül/sol ventrikül bazal çap oranının >1.0 olması
- b- İntraventriküler septumun düzleşmesi (sol ventrikül eksantrisite indeksi sistol ve/veya diyastolde > 1,1

- c- Sağ ventrikül çıkış akımı Doppler hızlanma zamanı <105 m/sn ve/veya midsistolik çentiklenme olması
- d- Erken diyastolik pulmoner yetersizlik akımı hızının >2,2 m/sn olması
- e- Pulmoner arter çapının >25 mm olması
- f- Azalmış inspiratuar kollapsla birlikte inferior kava çapının >21 mm olması (bir burun çekmeyle <%50 ya da sessiz solunumla <%20)
- g- Sağ atriyum alanının (sistol sonu) >18 cm² olması
- h- Perikardiyal efüzyon varlığı.

PH tanı algoritmasında, KTEPH'yi araştırmak-dışlamak maksadıyla, PH hastalarında akciğer ventilasyon/perfüzyon (V/Q) sintigrafisi mutlaka çekilmelidir. V/Q sintigrafisi, özellikle PH için bilgisayarlı tomografinin çok iyi değerlendirilemediği veya deneyimin düşük olduğu merkezlerde, BT anjiyografiye kıyasla daha yüksek duyarlılığa sahip olması nedeniyle, tercih edilmesi gerekli tarama yöntemidir. V/Q akciğer sintigrafisi "normal" ya da "düşük olasılık" gibi bir sonuç verdiğinde, KTEPH tanısı %90-100 duyarlılık ve %94-100 özgüllükle dışlanabilir.

Yüksek çözünürlüklü BT, kontrastlı BT ve pulmoner anjiyografi BT görüntülemesi, pulmoner damarlar, kardiyak, mediastinal ve parankimal anormallikler hakkında önemli bilgiler sağlayan ve yaygın olarak kullanılan tetkik aracıdır. PH tanısını düşündürülen bulguları ortaya koyabilir pulmoner arter ya da sağ ventrikülde genişleme), KTEPH ya da PH nedeni olabilecek akciğer hastalıklarını gösterebilir, PAH tipleri hakkında ipuçları sağlayabilir (örn. Sistemik sklerozisde özofagusun dilatasyonu ya da pulmoner venöz dönüş anomalisi gibi doğuştan kalp defektleri) ve ayrıca prognostik bilgiler verebilir (82).

Kan testleri PH tanısında yararlı değildir, ancak bazı PH formlarının etiyolojisini ve uç organ hasarını tanımlamak için gereklidir. Tüm hastalarda rutin biyokimya, hematoloji ve tiroid fonksiyon testleri ve bir dizi diğer spesifik kan testi yapılmalıdır. Karaciğer fonksiyon testleri, yüksek hepatik venöz basınç, karaciğer hastalığı ve/veya endotelin reseptör antagonisti tedavisi nedeniyle anormal olabilir. Klinik anormallikler görülürse hepatit serolojisi bakılmalıdır. Tiroid hastalığı PAH'da yaygındır ve hastalığın seyri sırasında gelişebilir. Ani klinik bozulma olması durumlarında her zaman dikkate

alınmalıdır. Altta yatan bağ doku hastalığı, hepatit ve immün yetmezlik virüsünü (HIV) tespit etmek için serolojik test gereklidir.

PH saptanan hastaların bir kısmında (sol kalp hastalığı yokluğu ve akciğer haslığının dışlandığı durumlar) sağ kalp kateterizasyonu (SKK), PAH ve KTEPH tanısını doğrulamak, hemodinamik bozukluk derecesini saptamak ve pulmoner dolaşımın vazoreaktivitesini test etmek için yapılmalıdır. İnvaziv hemodinamik değerlendirmede ölçülen basınç, direnç hesapları ve kardiyak output bulguları hastanın klinik özellikleri, diğer yapılan tetkikler ve özellikle ekokardiyografik değerlendirme ile beraber yorumlanmalı, doğru tedavi kategorisine bunlara göre karar verilmelidir. SKK hastanın değerlendirilmesinde son basamak olarak kabul edilmelidir. Normal basınç kayıtları, pulmoner arterden, pulmoner arter uç konumundan, sağ ventrikül ve atriyumdan alınmalıdır. Balonlu kateter kullanıldığında, balon PAWP pozisyonuna ulaşana kadar ilerletilmeli ve bu noktada şişirilmelidir. Distal pulmoner arterlerde balonun tekrar tekrar şişirilmesinden kaçınılmalıdır. Pulmoner arter saplama basıncının yüksek çıkması (≥ 15 mmHg) pulmoner dolaşımın venöz tarafındaki yüksek basıncın (yani sol kalp dolum basıncının yüksek olduğu) pasif olarak pulmoner arteryal dolaşıma yansıdığını, yani sol kalp hastalığı ile ilişkili bir PH ile karşı karşıya olunduğunu işaret eder.

2.6. Güncel Pulmoner Hipertansiyon Tedavisi

PAH'lı hastalarda genel tedavi hedefleri; egzersiz kapasitesini iyileştirmek, yaşam kalitesini düzeltmek, iyi bir sağ ventrikül fonksiyonu sağlamak ve mortalite riski düşük bir duruma ulaşmayı içerir. Bu durum aynı zamanda, mümkün olduğunca hastayı DSÖ-fonksiyonel sınıf 2'ye getirmek ve/veya tutmak anlamındadır. PAH hastalarının tedavisinde, geçtiğimiz 15 yılda giderek artan gelişmeler kaydedilmiştir.

2.6.1. Genel Destekleyici Önlemler

1-Sınırlı sağ ventrikül rezervleri ileri dönem hastalarda sıklıkla görülür. Bu nedenle hastalara hacim aşırı yükünü azaltmak için tuz ve sıvı alımının kısıtlanması tavsiye edilmektedir.

2-Egzersiz kapasitesini arttırdığı için sistemik O₂ saturasyonunu %90'ın üzerinde tutmak için gerekirse ek oksijen tedavisi kullanılmalıdır (83).

3-Egzersiz eğitimi PAH'da hastalara tavsiye edilir. Egzersiz eğitimi PAH'da altı dakikalık yürüme mesafesini (+52 m), pik oksijen alımını ve yaşam kalitesini artırır (84).

Düşük seviyeli, semptom sınırlı aerobik egzersizler tercih edilir, yoğun izometrik egzersizlerin senkoplara yol açabileceği unutulmamalıdır.

4- Enfeksiyonlardan korunma; İnfluenza ve pnömokok pnömonisine karşı aşılama

5-Üreme çağındaki kadınlara kontraseptif önlemleri kullanma şiddetle tavsiye edilir. Hamilelik PAH'da önemli bir mortalite ile ilişkilidir. Histeroskopik sterilizasyon tercih edilen kontrasepsiyon yöntemidir, ancak diğer seçenekler sadece progesteron içeren intrauterin cihazları ve hapları ve tubal ligasyonu içerir. Östrojen içeren kontraseptifler ve enjekte edilebilir progesteron tromboz riskini arttırdığı için kontrendikedir.

6-Anemi ve demir eksikliğinin düzeltilmesi,

7-Psikososyal destek, tedavi uyumunun sağlanması

8-Genetik danışmanlık,

9-Seyahat önerileri

2.6.2. Pulmoner Arteryal Hipertansiyonda Farmakolojik Destekleyici Tedavi

a-Diüretikler: Sağ ventrikül yetmezliği kaynaklı venöz kojeksiyonu, ödemi tedavi etmek maksatlı kullanılır.

b-Digoksin: Akut hemodinamik çalışmalarda sağ ventrikül kasılmasını ve kardiyak debiyi artırdığı gösterilmiştir (85), ancak PAH'da uzun süreli kullanımını hiçbir veri desteklememektedir. Faydalar ve riskler göz önüne alınmalıdır.

c-Antikoagülasyon: PAH hastalarının küçük pulmoner damarlarında in situ tromboz eşlik eden bir patolojidir. Retrospektif ve prospektif çalışmalar PAH'da uzun süreli varfarin tedavisi ile sağ kalımın iyileştiğini bildirmiştir (86). Son kayıt çalışmaları ile antikoagülan kullanımı tartışmalı bir hale gelmiştir. COMPERA çalışmasında antikoagülasyon kullanımı, idiopatik PAH hastalarında sağ kalımda %21'lik bir iyileşme sağlamış, ilişkili PAH'ı olanlarda ise hiçbir fayda sağlamamıştır (87). REVEAL kayıt çalışmasında, IPAH'da antikoagülasyon kullanımının sağ kalım yararı bulunamamışken ilişkili PAH'da sağ kalımda olumsuz bir etki saptanmıştır (88).

2.6.3. Özgün Farmakolojik Tedavi

Hastaların vazo reaktif olup olmadıkları belirlendikten sonra tüm grup 1 hastalara ve grup 4 PH'U olup cerrahi/balon anjiyoplastinin yapılamadığı veya etkili olmadığı

hastalara PAH spesifik tedavi başlanmalıdır. PAH spesifik ilaçlar tekli veya kombinasyon halinde başlanabilir.

Kalsiyum kanal blokerleri (KKB): Küçük pulmoner arterlerin yeniden modellenmesi PAH'da ana patolojik bulgu olmasına rağmen, pulmoner vazokonstriksiyon PAH patofizyolojisinde, özellikle vazo reaktif hastalarda önemli bir rol oynamaktadır. 2005 yılında Sitbon ve ark. 557 PH hastasından oluşan geniş bir seride idiopatik PAH'ın %12,5'inde akut vazodilatör yanıtının görülebildiğini ve hastaların %6,8'inin KKB'lerle uzun süreli klinik ve hemodinamik iyileşme gösterdiğini saptadılar (89). Bu çalışmada, akut vazodilatör yanıtı tanımlamak için kullanılan 3 kriter; ortalama PAB değerinin ≥ 10 mmHg'nin azalması, aynı zamanda mPAP ≤ 40 mmHg'nin olması ve test sırasında değişmemiş bir kardiyak output varlığı olarak tarif edilmiştir. Vazoreaktivite testi için, 10-20 ppm'de inhale nitrik oksit tercih edilen ajandır, ancak i.v epoprostenol, i.v adenosin veya inhale iloprost alternatif olarak kullanılabilir.

Bildirilen çalışmalarda en çok kullanılan KKB'ler nifedipin, diltiazem ve amlodipindir (89,90). Bu ilaçların idiopatik PAH'da etkililiği gösterilmiş, günlük dozları görece yüksektir: nifedipin günde 120-240 mg, diltiazem ise 240-720 mg uygulanmakta ve amlodipin dozunda ise 20 mg'a kadar çıkılmaktadır. Pozitif vazodilatör yanıt kriterine uyan ve KKB tedavisi uygulanan IPAH hastaları gerek güvenlilik gerekse etkililik açılarından yakından izlenmelidir. Tedavinin 3-4. ayından sonra SKK yapılması etkililiği değerlendirmede yaygın kabul gören bir yaklaşımdır.

Endotelin Reseptör Antagonistleri (ERA): ET1 esas olarak vasküler endotelial hücreler tarafından üretilen bir polipeptittir. Yüksek ET1 salınımı, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu indükleyebilen güçlü vazokonstriksiyon ile sonuçlanır. PAH'lı hastalarda, endotel hücrelerindeki ET1 üretim artışı ve öncelikle akciğerde (klerens) ET1'in eliminasyonunun inhibisyonu nedeniyle yüksek ET1 plazma seviyeleri belgelenmiştir. ET1'in biyolojik etkisine, reseptörlerin iki G-protein-bağlı alt tipi aracılık eder. ETA ve ETB olarak ETA reseptörleri, pulmoner düz kas hücreleri üzerinde eksprese edilir ve güçlü vazokonstriksiyona aracılık edip hücre proliferasyonunu teşvik eder. ETB reseptörleri ağırlıklı olarak damarların endotel yüzeyinde eksprese edilir ve nitrik oksit ve prostasiklin üretimi yoluyla vazodilatasyona aracılık eder; aynı zamanda, eliminasyonunu desteklemek için dolaşımdaki ET1'in pulmoner klerensini uyarırlar. ETB reseptörleri sadece "koruyucu" etkilere sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda ETA

reseptörleriyle (vazokonstrüksiyon ve hücre çoğalması) aynı etkilere sahip oldukları vasküler duvarların kas hücrelerinde de bulunurlar. Sistemik ve pulmoner hipertansiyonda, kan damarlarındaki ETB reseptörlerinin ekspresyonu yukarı yönde regüle edilir, ETA ve ETB reseptörleri ET1'in zararlı etkilerine katkıda bulunur (91). ET1'in zararlı etkilerini antagonize etmek için en etkili farmakolojik mekanizma, ERA'ların kullanımıdır. İki tip ERA'dan bahsedilebilir; selektif ilaçlar (örn. Ambrisentan) ve selektif olmayan (örn. Bosentan ve masitentan). ETA reseptörlerinin selektif blokajı için gerekçe, ETA reseptörlerinin sadece olumsuz etkilerini (vazokonstriksiyon ve proliferasyon) bloke ederek ETB reseptörlerinin (vazodilatasyon ve ET1 klerensi) aracılık ettiği potansiyel faydalı etkileri koruma düşüncesidir. Ancak gerçekte, kas hücreleri üzerinde bulunan ETB reseptörlerinin de ETA reseptörleri gibi olumsuz etkileri mevcuttur (92). ETA selektif antagonist ambrisentan 2007'de PAH'a karşı kullanım için endikasyon almıştır. Bunu yine yüksek selektif etkili sitaksentan takip etmiştir (93). Ne var ki 2010 yılında sitaksentan, ölümle sonuçlanan idiyosenkratik hepatit nedeniyle Thelin, Encysive Pharmaceuticals ve Pfeizer, ABD tarafından gönüllü olarak piyasadan geri çekilmiştir (94). Bosentan, masitentanın gelişimindeki yapısal temel olduğu söylenebilir ve 2013 yılında klinik kullanım için onay almıştır. Daha güçlü, daha uzun reseptör afinitesi, aktif bir metabolit ve daha fazla farmakodinamik/farmakokinetik etkiye katkıda bulunan güçlü özellikleri mevcuttur (95). Masitentan etkililik ve güvenliliği arttırmak için bosentanın yapısı değiştirilerek geliştirilen bir "dual ERA"dır. "Miks antagonist" olarak sınıflandırılmasına rağmen; masitentanın ETA reseptörü üzerine etkisi daha fazladır (96).

Tablo 2.3. PAH tedavisinde kullanılan farklı endotelin reseptör antagonistlerinin karşılaştırılması.

Parametre	Ambrisentan	Bosentan	Masitentan
Kullanım	Günde tek doz	Dünde iki doz	Günde tek doz
Karaciğer transaminaz monitorizasyonu	++-	+++	-++
Hemoglobin takibi	+++	+++	+++
Selektivite (ETA/ETB)	200:1	20:1	50:1
Nonselektif ETA ve ETB antagonizmi	---	+++	+++
Eliminasyon	Biliyer sistem	Biliyer sistem	Biliyer sistem
Periferik ödem	+++-	++-	+--
İlaç etkilişimi	+--	+++-	+++-
Kontrendikasyonları	Child-Pugh C, gebelik, süt emzirme idiopatik pulmoner fibrozis	Child-Pugh C, gebelik, Siklosporin A kullanımı	Child-Pugh C, gebelik, süt emzirme
Sonuçları birleşik sonlanım noktası (morbidite ve mortalite) ile kanıtlanmış çalışmaları olma	+++	---	+++

Prostasiklin Yolunu Hedefleyen İlaçlar: Prostasiklin ve prostanoidler, seçici olmayan pulmoner vazodilatasyona neden olan siklik adenosin monofosfat konsantrasyonlarını artıran IP reseptörlerini bağlarlar (97). Ayrıca PAH'lı hastaların akciğerlerinde antiplatelet, antitrombotik, antiproliferatif ve antienflamatuvar özelliklere sahiptirler (98). Preparasyona ve spesifik moleküle bağlı olarak, prostanoidler sürekli bir infüzyon [intravenöz olarak (epoprostenol ve treprostini) veya deri altından (treprostini)], inhalasyon (iloprost ve treprostini) veya oral yoldan (treprostini ve beraprost) verilebilir.

Epoprostenol, sentetik bir prostasiklin analogudur. Pulmoner hipertansiyon tedavisinde ilk kullanıma giren PAH spesifik moleküldür. Çok kısa bir yarılanma ömrüne

sahiptir (beş dak.dan az) ve oda sıcaklığında kararsızdır. Bu nedenle, soğutulmalı ve sürekli intravenöz infüzyonla uygulanmalıdır. Epoprostenol, egzersiz kapasitesini, ortalama PAB, pulmoner vasküler direnç, kardiyak output, yaşam kalitesi ve hayatta kalmayı olumlu yönde etkiler (99). Epoprostenol uygulaması, sıcaklığı korumak için sürekli bir infüzyon pompası, merkezi venöz kateter ve buz paketleri içeren karmaşık bir uygulama sistemi gerektirir. Periferik damarları tahriş ettiği için santral venöz kateter yoluyla uygulanmalıdır. Epoprostenol genellikle 2 ng/kg/dak.'da başlanır ve doz yavaş yavaş arttırılır. PAH için kullanılan ortalama epoprostenol dozu 25 ila 40 ng/kg/dakika arasında değişir. En sık görülen yan tesirler gastrointestinal semptomlar (bulantı, kusma ve ishal), baş ağrısı, kızarma ve çene ağrısıdır.

İloprost, i.v. oral veya aerosol uygulaması olan kimyasal olarak stabil bir prostasiklin analogudur. İn hale edilen iloprost bir randomize çift kontrollü çalışmada değerlendirilmiştir (100). Bu çalışmada inhale iloprost günde 6-9 kez 2.5-5 mg dozu ile (günde ortalama 30 mg) PAH ve KTEPH hastalarında kullanılmış, egzersiz kapasitesinde, semptomlarda ve klinik olaylarda iyileşme, pulmoner vaküler dirençte azalmaya yol açmıştır. Bosentan ile tedavi edilmiş 60 hastayı içeren ikinci bir çalışmada inhale iloprost ilave edilen hastalarda plaseboya kıyasla egzersiz kapasitesinde bir artış kayıt edilmiştir (101).

Treprostini, daha uzun bir yarı ömür (üç saat) ve oda sıcaklığında stabilite de dahil olmak üzere çeşitli avantajlara sahip bir prostasiklin analogudur. Pulmoner arterial hipertansiyonu (deri altı, intravenöz, inhalasyon ve oral) tedavi etmek için çeşitli treprostini formülasyonları onaylanmıştır. Subkütan treprostini, 6DYM, hemodinamik bulgular ve yaşam kalitesini iyileştirir (102). Subkütan uygulamada en büyük sınırlama hastaların %85'inde meydana gelen infüzyon bölgesi ağrısıdır. Subkütan veya i.v treprostini, 2 ng/kg dk'da başlatılır ve yavaş yavaş ortalama hedef doz olan 60-80 ng/kg/dak.ya çıkarılır. Treprostini ve epoprostenolün olumsuz etkileri benzerdir.

Seleksipag, IP reseptörlerinin oral yoldan temin edilebilen, prostanoid olmayan bir aktivatörüdür. Hem ana ilaç hem de metaboliti, IP reseptörlerine yüksek bir afiniteye sahiptir. Bu seçicilik, olumsuz etkileri en aza indirir ve doz artışını kolaylaştırır. Olay güdümlü uzun takip süreli bir çalışmada seleksipag, birleşik sonlanım noktası olarak; ölüm, akciğer transplantasyonunu, atriyal septostomiye ve kötüleşen PAH nedeniyle hastaneye yatışı içeren bir çalışmada değerlendirilmiştir. Birleşik sonlanım noktasını % 40 oranında azaltmayı başarmıştır (103). Ancak tek başına mortalite azaltıcı etkisi belirgin bulunamamıştır. Seleksipag günde iki kez 200 µg'de başlatılır ve haftalık olarak

günde iki kez maksimum 1600 µg'ye çıkar. Yaygın yan tesirler arasında bulantı, kusma, ishal, baş ağrısı ve çene ağrısı bulunur.

Nitrik Oksit (NO) Yolunu Hedefleyen İlaçlar: NO, endotel hücrelerinde oksijen, NADPH ve diğer kofaktörlerin varlığında, L-argininin L-sitrüline oksidasyonunu katalize eden endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) tarafından üretilir. Guanilat siklazı aktive ederken cGMP düzeylerini artırır ve pulmoner damarlarda güçlü bir vazodilatör etkiye neden olur. Siklik GMP, pulmoner arter düz kaslarında oluşturduğu gevşetici etkisini, cGMP bağlı protein kinazları aktive etmek suretiyle gösterir. cGMP, protein kinaz G'yi aktive eder, bu da sarkolemmal potasyum kanallarını aktive eder. Bu, hücre içi hiperpolarizasyona ve sonuçta vazorelaksasyona yol açan voltaj kapılı kalsiyum kanallarının inhibisyonuna neden olur (52).

Günümüzde nitrik oksit yolağına etki eden ve PAH tedavisinde kullanılan onaylı iki tane ilaç sınıfı mevcuttur; fosfodiesteraz 5 (PDE-5) inhibitörleri ve guanilat siklaz stimülatörleri. PDE-5 inhibitörleri, cGMP'nin yıkılmasını önler, böylece plazma konsantrasyonunu artırır ve NO'nun vazodilatör ve çoğalmayı önleyici etkilerini teşvik eder. Guanilat siklaz stimülatörleri, cGMP konsantrasyonunda benzer artışlar sağlayarak, NO olmadan bile doğrudan guanilat siklaz üzerine etki ederler (104).

SIL, oral yoldan kullanılan aktif, güçlü ve seçici bir PDE-5 inhibitörüdür. SIL'in farklı dozlarının (günde üç kez 20 mg, 40 mg ve 80 mg) PAH'lı hastalarda altı dakikalık yürüme mesafesi (6DYM), fonksiyonel sınıf ve ortalama PAB'ı iyileştirdiği gösterilmiştir (105). Epoprostenole SIL eklemenin etkilerini ele alan bir kombinasyon çalışmasında, 12. hafta sonunda; 6DYM ve klinik tablonun kötüleşmesine kadar geçen sürede düzelmeye saptanmıştır. Dikkate değer bir şekilde bu çalışmada, plasebo grubunda ölümler izlenirken, SIL grubunda hiçbir ölüm saptanmamıştır (106).

TAD, PAH tedavisinde endikasyon almış, ikinci PDE-5 inhibitörüdür. SIL'den farmakokinetik ve farmakodinamik olarak bir takım farklı yönleri mevcuttur. İlki, uzun yarılanma ömrünün olmasıdır. Ortalama 17,5 saat olup bu sayede günde bir kez kullanılmasına imkan sağlar. TAD sitokrom P450 3A (CYP3A) tarafından metabolize edilir. Bu nedenle, CYP3A'yı indükleyen veya inhibe eden ilaçlarla birlikte uygulanması, önemli ilaç-ilaç etkileşimlerine neden olabilir (107). PDE-5 için PDE-1-4 ve PDE-7-10'dan 1000 kat daha seçicidir. PDE-6 sadece retinada eksprese edilir ve görsel transdüksiyon için önemlidir. PDE-6'nın inhibisyonu, SIL ile TAD'dan daha sık bildirilen görme bozuklukları ile sonuçlanabilir. Buna karşın TAD PDE-11 için SIL'den

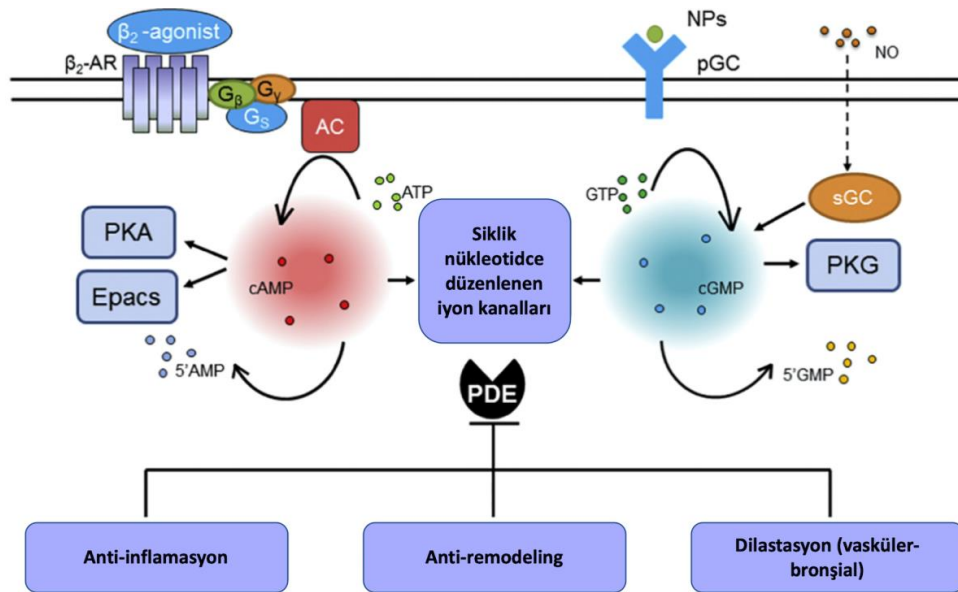
daha az seçicidir ve SIL'den daha fazla sırt ağrısı ve miyaljiye neden olur. Sonuçları 2009 yılında yayınlanan, Pulmoner Arter Hipertansiyonu ve TAD (PHIRST) -1 çalışması TAD'ın ilk randomize kontrollü faz III klinik çalışmasıdır (108). Bu çalışmada 405 hasta 4 farklı doz kollarına randomize edilmiş, prostasiklin tedavisi alan hastalar çalışma dışı bırakılmış, bosentan alanlar ise çalışmadan dışlanmamıştır. Birincil sonlanım noktası, 16. hafta sonundaki 6DYM'deki değişim olarak belirlenmiştir. İkincil sonlanım noktaları ise; DSÖ fonksiyonel sınıfındaki değişim, randomizasyondan klinik kötüleşmeye kadar geçen süre, Borg dispne skoru, yaşam kalitesi, kardiyopulmoner hemodinamik değişiklikler ve ilaç güvenliliğidir. 16. Hafta sonunda, 10 mg, 20 mg ve 40 mg'lık TAD dozları, 6DYM'ni 20 m, 27 m ve 33 m olarak önemli ölçüde arttırmış, DSÖ fonksiyonel sınıfında veya Borg dispne skorlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Klinik kötüleşmeye kadar geçen süre anlamlı derecede uzamış, klinik kötüleşme insidansı ise sadece TAD 40 mg grubunda plasebo ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalmıştır. Kontrolsüz bir süre uzatma çalışması olan PHIRST-2 çalışması 357 hasta üzerinde devam etmiş ve hastalar 52. hafta sonunda değerlendirilmiştir (109). PHIRST-1 çalışmasının sonunda gözlemlenen 6DYM'deki iyileşmelerin 52. haftada hala devam ettiği saptanmıştır. Ancak ilk çalışma sonundaki 20 mg veya 40 mg'lık TAD dozlarının düşük doz ve plaseboya karşı ortaya koydukları anlamlı farkta, 52. haftada bir miktar azalma bildirilmiştir. Güncel tedavi kılavuzları semptom sınıf 2-3 olan hastalarda TAD monoterapisi ya da kombinasyon tedavisini sınıf 1 endikasyon düzeyinde tavsiye etmektedirler (1).

Riociguat, SIL ve TAD gibi PDE-5 inhibitörleri, cGMP bozulmasını yavaşlatırken, çözünebilir guanilat siklaz stimülatörleri cGMP üretimini artırarak vazodilatör gösterir (104,110). Ayrıca, çeşitli hayvan modellerinde antiproliferatif ve antiremodelling özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir. Riociguatın egzersiz toleransını artırıcı etkisi ve klinik kötüleşmeye kadar giden süreyi uzatıcı etkisi hem PAH hem de KTEPH'de 2 farklı çalışma ile kanıtlanmıştır. PATENT-1, PAH popülasyonunda bir sGC stimülatörü, riociguat rolünü değerlendiren büyük, randomize, çift kör bir çalışmadır (111). 12 haftanın sonunda, 3x2.5 mg/gün dozunda özellikle DSÖ sınıf III-IV hastalarda, 6DYM'ye dayalı egzersiz kapasitesinde iyileşme olmuş, ortalama 30 metre artmıştır. Bu faydalı etki hem daha önce tedavi almamış hem de ERA kullanan hastalarda gösterilmiştir. KTEPH'li hastaların değerlendirildiği çalışma CHEST-1 çalışmasıdır (112). 16 haftanın sonunda riociguat grubunda başlangıca göre 6DKYM'de 39 metrelik bir

artışla egzersiz kapasitesinde iyileşme olmuştur. Ayrıca, NT-proBNP seviyelerindeki düşüş, hemodinamik olarak periferik vasküler dirençte azalma ve DSÖ fonksiyonel sınıfındaki iyileşme gibi ikincil sonlanım noktalarında da faydalı değişiklikler olmuştur. İlaçla ilişkili en ciddi yan tesir hastaların %2'sinde izlenen senkoptur.

2.7. Fosfodiesteraz Enzim (PDE) Sistemi

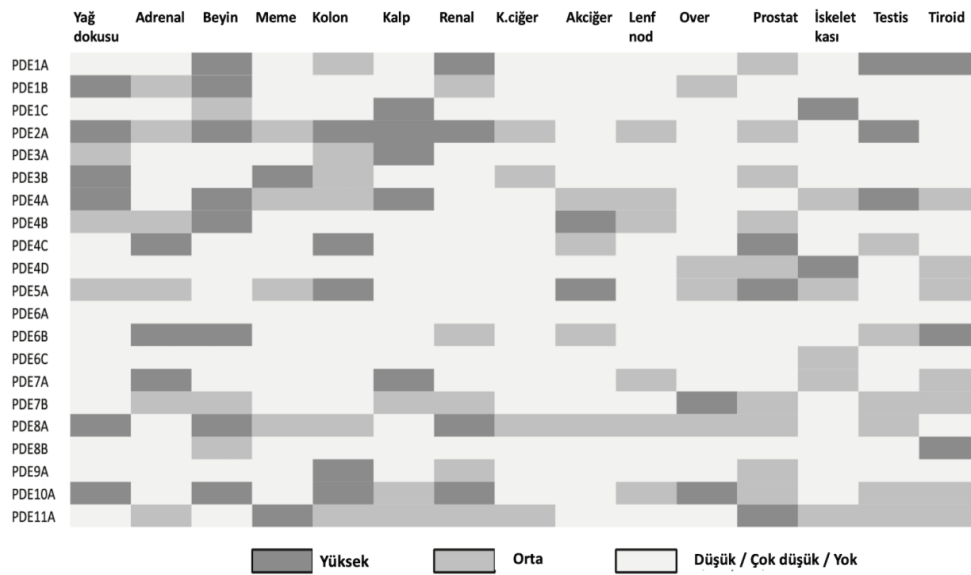
cAMP-PDE ilişkisi ilk olarak Butcher ve Sutherland tarafından 1962 yılında bulunmuş, Bu 1970-1980'li yıllarda PDE enziminin biyokimyasal yapısı, etkileşimi ve fonksiyonel rolünün belirlenmesi ilgili çok fazla sayıda çalışma yapılmıştır (113). PDE'ler, cAMP ve cGMP'yi 5-AMP ve 5-GMP'ye hidrolize ederek siklik nükleotitlerin hücre içi seviyelerini kontrol eden, geniş bir hidroksil ailesini temsil ederler. Siklik nükleotid sinyallerini sonlandırmak için bilinen tek enzimatik reaksiyonu katalizledikleri için PDE'ler, siklik nükleotid kontrolü altındaki sayısız fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerin kritik düzenleyicileridir. Siklik AMP ve GMP, hücre büyüme, farklılaşma ve proliferasyon dahil birçok kritik fizyolojik ve patofizyolojik süreci düzenleyen Ca^{2+} bağımlı sinyalleşme, üreme, kalp fonksiyonu, görme, enflamasyon ve tümör gelişimini içeren transdüksiyon kaskadlarında merkezi bir rol oynayan hücre içi ikinci habercilerdir. Sinyal iletimi, cAMP ve cGMP'ye bağlı protein kinazların (sırasıyla PKA ve PKG) aktivasyonuna neden olur, böylece anahtar proteinler fosforile olarak alt yolak aktive edilir (114) (Şekil 2.6). Ayrıca, siklik nükleotid bağlayıcı proteinlere direkt bağlanarak doğrudan sinyal iletimi sağlayabilirler, örneğin cAMP ile aktive olan guanine nükleotid değiştirici proteini Rap GTPasları regüle eder (115).



Şekil 2.6. Akciğerde siklik nükleotid sinyalizasyonu.

*Akciğerde siklik nükleotid sinyalizasyonu; cAMP, adenosin trifosfattan adenil siklaz (AC) ile sentezlenir. AC, uyarıcı heterotrimerik G-protein alt birimleri yoluyla bir dizi molekül tarafından aktive edilir. Benzer şekilde cGMP, guanozin trifosfattan guanilat siklaz (GC) ile sentezlenir. Çözünebilir GC, nitrik oksit tarafından doğrudan aktive edilirken, partikül GC, natriüretik peptitler tarafından aktive edilir. Siklik nükleotidleri bağlayan proteinler, siklik nükleotid-geçitli iyon kanalları, cAMP-bağımlı protein kinaz A, cGMP-bağımlı protein kinaz G ve doğrudan cAMP (Epacs) tarafından aktive edilen değişim proteinleridir. cAMP ve cGMP, fosfodiesterazlar ile hidrolize edilir. Akciğerde PDE inhibisyonu anti-enflamatuvar, anti-remodeling ve bronkodilatör etkiler uygular. β 2-AR, β 2-adrenoseptör; AC, adenil siklaz; ATP, adenosin trifosfat; GC, guanilat siklaz; GTP, guanozin trifosfat; sGC, çözünür guanilat siklaz; NO, nitrik oksit; pGC, parçacıklı guanilat siklaz; NP'ler, natriüretik peptitler; PKA, cAMP'ye bağımlı protein kinaz A; Epacs, doğrudan cAMP tarafından aktive edilen proteinleri değiştirir; PKG, cGMP'ye bağımlı protein kinaz G; PDE, fosfodiesterazlar.

Bilinen 11 tane PDE enzimi mevcut olup bunların ve enzim alt gruplarının bulunduğu dokular şekil 2.7'da gösterilmiştir (116). Bu aile, substrat spesifisilerine göre üç kategoriye ayrılabilir. PDE-4, PDE-7 ve PDE-8 cAMP'yi seçici olarak hidrolize ederken PDE-5, PDE-6 ve PDE-9 cGMP'yi hidrolize eder. PDE1, PDE2, PDE3, PDE10 ve PDE11, izofoma bağlı olarak hem cAMP hem de cGMP üzerinde değişen afinitelerle etki eden dual spesifiteye sahiptir (117).



Şekil 2.7. PDE enzimlerinin farklı doku ekspresyonları (117).

2.7.1. PDE-4 Enzimi

PDE-4 ile ilgili dört gen, PDE-4A, PDE-4B, PDE-4C ve PDE-4D (sırasıyla 19p13.2, 1p31, 19p13.11 ve 5q12 kromozomlarında), alternatif birleştirme yoluyla en az

20-25 protein varyantı üretir (118,119). Yani 4 izoformu ve 20-25 ilave varyantı olan bir enzim alt grubudur. PDE-4 ekspresyonu vücutta her yerdedir (120). PDE-4A1 hariç olmak üzere diğer tüm PDE-4A izoformları akciğerde, özellikle enflamatuvar hücreler, fibroblastlar ve pulmoner arter düz kas hücrelerinde tespit edilmiştir (116). Kalp ve ince bağırsak da PDE-4A'yı eksprese eder (121). Bağışıklık hücreleri PDE-4'ü, özellikle PDE-4B ve PDE-4D izoformlarını yüksek oranda eksprese eder (122). PDE-4C ekspresyonu her yerde bulunur ancak kanda olmadığı bildirilmiştir (123). Akciğerde PDE-4A ve C çok az bulunurken, en çok izlenen PDE-4 izoformu B'dir. PDE-4D'nin ekspresyonu her yerde bulunur ve farklı organlar, dokular ve hücrelerde özel fonksiyonlara katkıda bulunabilen çeşitli PDE-4D izoform modelleri oluşturulmuştur (124).

2.7.2. PDE-4 Enziminin Önemi

PDE-4'ün enflamatuvar ve bağışıklık hücrelerinde (eozinofiller, nötrofiller, monositler, makrofajlar, T-lenfositler ve B-lenfositler) yaygın olarak eksprese edilmesi nedeniyle PDE-4 inhibisyonunun enflamatuvar hücrelerin aktivasyonu ve sitokin salınımı/alımının azaltılmasında etkili bir yol olduğuna inanılmaktadır. Bir dizi çalışma, PDE-4 inhibisyonunun, MMP-9, lökotrien B₄, nötrofil elastaz, miyeloperoksidaz ve ROS gibi çeşitli pro-enflamatuvar araçların salınımının baskıladığını göstermiştir (15,16,125). Benzer şekilde, birkaç araştırma grubu, PDE-4 inhibisyonunun akciğerlerde eozinofil infiltrasyonunu engelleyebildiğini, eozinofil sağ kalımını kısaltabildiğini (126), GM-CSF, trombosit aktive edici faktör degranülasyonunu (20) azaltabildiğini bildirmişlerdir (Şekil.7).

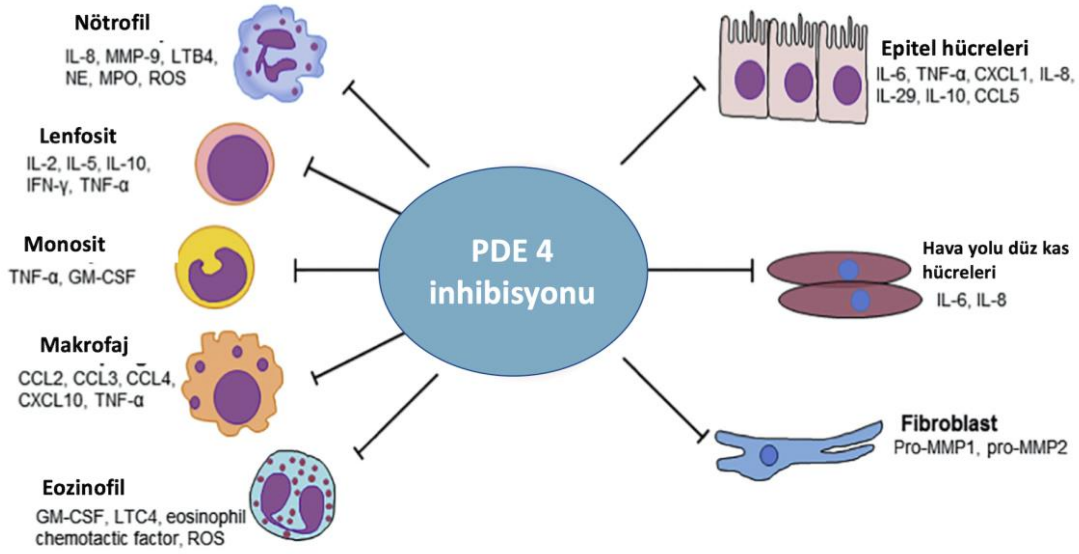
Periferik dokulardan izole edilen akciğer makrofajlarında, PDE-4 inhibitörü roflumilast ve aktif metaboliti roflumilast N-oksit, kemokin (CC motifi) ligand (CCL) 2, CCL3, CCL4, CXC motif ligandı (CXCL) 10 ve TNF- α salınımını azaltmıştır (127). İnsan monositlerinde, rolipram ve Ro20-1724 tarafından PDE-4 inhibisyonu, monositlerden LPS kaynaklı TNF- α ve GM-CSF salınımını azaltmıştır (128). Epitelyaldan mezenkimale geçiş, KOAH'ta küçük bronş daralmasına katkıda bulunan, yeniden şekillenmenin potansiyel bir mekanizmasıdır (129). Roflumilast N-oksit tarafından PDE-4 inhibisyonu sağlanmasının mezenkimal hücre markırlarındaki (α -düz kas aktin, vimentin ve kollajen tip I) CS ile indüklenen artışı ve epitelyal markırlardaki (E-cadherin, ZO-1 ve KRT5) kaybı azaltabildiği gösterilmiştir. İlaveten geri kazanma ve

büyüme faktörü beta-1 salınımını azaltmış, yanı sıra fosfo ERK1/2 ve Smad3 formasyonunu iyileştirmiştir (130,131).

Ayrıca, Sisson ve arkadaşları PDE-4 inhibisyonunun kollajen birikimine ilave fibrozla ilişkili bazı kemokinlerin (CCL11, CXCL10, CXCL5 ve CCL5) salınımını önemli ölçüde azalttığını ve fibroblast profibrotik gen ekspresyonunu (tip-1 kollajen ve fibronektin) inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır (132). PDE-4 inhibitörlerinin proliferasyonu ve apoptozu zayıflatıcı etkileride mevcut olup (18), akciğer fibroblastlarındaki MMP-9 aktivitesini önemli ölçüde azaltmaktadırlar (133).

Akciğer düz kaslarında, cAMP regülasyonu bronkodilatasyon için önemlidir. PDE-4 de düz kas hücrelerinde yüksek oranda eksprese edildiğinden, PDE-4 inhibitörlerinin bronkodilatör olarak da işlev görebileceğine inanılmaktadır. Sempatik sistemin beta-2 reseptörleri ile olan ilişkisi hem akciğerde hemde kalp dokularında gösterilmiştir. Adrenerjik sistem stimule olduğunda Beta arrestin devreye girerek PDE-4 ile kompleks oluşturur. Bu sayede cAMP düzeyleri hücre içinde azalmaya başlar ve adrenerjik sistemin negatif feedback mekanizması sağlanmış olur, PKA aktivitesi inhibe edilir, beta-2 reseptörü modülasyonu G_s den G_i sinyalizasyonuna dönüşür (134,135). PDE-4'ün N-terminal bölgesi yoluyla mAKAP proteini ile etkileşimi, lokal cAMP ve normal miyokard işlevinin kontrolünde ve ayrıca miyosit hipertrofinin gelişiminde yer almaktadır (136). Kalpte PDE-4D ile sarkolemmal RyR etkileşim halindedir. PDE-4D knock-out farelerle yapılan çalışmalarda ilerleyici kardiyomyopati gelişimi riskinin arttığı, miyokard enfarktüsünden sonra kalp yetmezliğinin hızlandığı rapor edilmiştir (137).

İmmünomodülatör yanıtlarda cAMP ve PDE-4'ün belirgin etkilerinin ortaya çıkması nedeniyle, bu PDE uzun süredir çeşitli enflamatuvar hastalıkların tedavisinde potansiyel bir hedef olarak kabul görmektedir (138). Tüm PDE-4 gen varyasyonlarına etki eden oldukça selektif bir PDE-4 inhibitörü olan roflumilast, Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve diğer bazı ülkelerde patofizyolojisinde enflamasyonun merkezi rol oynadığı KOAH'da yakın zamanda onaylanmıştır (139). Roflumilast, farklı klinik çalışmalarda gösterildiği gibi orta veya şiddetli KOAH hastalarında hastalığın alevlenme sıklığını azaltmada etkili bulunmuş, solunum fonksiyonları üzerine bronkodilatör etkisi olmamasına rağmen ılımlı düzeltici etki göstermiştir. En yaygın bildirilen yan tesirleri baş ağrısı, ishal, kilo kaybı ve bulantı gibi gastrointestinal semptomlardır (140).



Şekil 2.8. PDE-4 inhibisyonunun çeşitli hücreler üzerine etkisi.

*PDE-4 inhibisyonu, nötrofiller, lenfositler, monositler, makrofajlar ve eozinofillerin yanı sıra epitelial hücreler, hava yolu düz kas hücreleri ve fibroblastlar dahil olmak üzere temel akciğer hücrelerinden çeşitli pro-enflamatuvar araçların salınmasını azaltır (141). IL, interlökin; MMP, matriks metalloproteinaz; LTB₄, lökotrien B₄; NE, nötrofil elastaz; MPO, miyeloperoksidaz; ROS, reaktif oksijen türleri; IFN- γ , interferon gama; TNF- α , tümör nekroz faktörü-alfa; GM-CSF, granülosit/makrofaj koloni uyarıcı faktör; CCL, C-C motif ligandı; LTC₄, lökotrien C₄; CXCL, C-X-C motif ligandı.

2.7.3. Bir PDE-4 enzim inhibitörü Silomilast (SİL)

SİL sistemik etkili, ikinci nesil selektif bir PDE-4 inhibitörüdür. Birinci nesil PDE-4 inhibitörlerinin terapötik aktivitesini korur, ancak derin emetik etkilerinden yoksundur. SİL, stabil KOAH'lı hastalarda devam eden enflamatuvar sürecin (makrofajlar ve CD8+ lenfositler) merkezi olduğu düşünülen doku hücrelerinin azalmasını gösteren ilk ilaçtır (138). Oral uygulamadan sonra tamamen emilir ve ihmal edilebilir ilk geçiş metabolizmasına sahiptir. Kişiler arasında değişkenlik gösteren lineer farmakokinetik gösterir. SİL yüksek oranda proteine bağlanır (%99,4), ancak bu bağlanma klinik olarak anlamlı dozlarda konsantrasyondan bağımsızdır ve kararlı durumda küçük bir dağılım hacmine sahiptir (17L). Plazma klerensi (yaklaşık 2L/s), neredeyse tamamen metaboliktir ve çoklu paralel yollardan geçer. Başlıca metabolik yollar hidroksilasyon, de-alkilasyon ve glukuronidasyondur. Terminal eliminasyon yarılanma ömrü yaklaşık 6.5 saattir ve günde iki kez uygulama ile kararlı duruma hızla ulaşılır. Sitokrom P450 2C8'in etkisi ile

oluşan en çok metaboliti ana molekülün aktivitesinin <math><10\%</math>una sahiptir. SİL, olumlu ve öngörülebilir farmakokinetik sergiler, klinik olarak anlamlı ilaç-ilaç etkileşimleri azdır ve KOAH tedavisinde potansiyel fayda enflamasyon ölçümleri üzerinde etkiler göstermiştir.

Kararlı KOAH hastalarına uygulandığında, 15 mg'lık tek oral dozlarda SİL akut bronkodilasyon sağlamaması, uzun süreli SİL tedavisi ile akciğer fonksiyonundaki olumlu değişikliklerin bronkodilatasyon kaynaklı olmadığını işaret etmiştir (142). Bununla birlikte, 6 haftalık doz ayarlama çalışmasında, en yüksek SİL dozu (günde iki kez 15 mg), plaseboya kıyasla FEV1'de (1. saniye zorlu ekspretuar volüm) 6. haftada bazale göre 150 mL artış olmuş, plasebo grupta ise 30 mL azalmıştır. Günde iki kez 15 mg SİL tedavisinin, plasebo ile karşılaştırıldığında KOAH hastalarında akut alevlenme riskini azalttığı gösterilmiştir (143).

SİL'in antiinflamatuvar etkileri, 12 hafta boyunca günde iki kez oral olarak uygulanan SİL 15 mg ve plaseboya randomize edilen 59 KOAH'lı çift kör, paralel grup çalışmasında değerlendirilmiştir (144). Balgam ölçümlerinde bir farklılık izlenmese de; bronşiyal biyopsi sonuçlarının post-hoc regresyon analizinde, plasebo ile karşılaştırıldığında SİL'in hem CD8+ (% 48) hem de CD68+(% 55) hücreleri belirgin bir şekilde azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca, plasebo ile karşılaştırıldığında subepitelyal CD4+ hücrelerinin (%42;) ve nötrofillerin (%37) de belirgin azaldığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlara bakılarak antiinflamatuvar etkisinin belirgin olduğu söylenebilir.

2.7.4. PDE-5 Enziminin Önemi

PDE-5, cGMP'ye özgü hidrolize edici bir fosfodiesterazdır. 3 varyanttan; PDE-5A1, PDE-5A2 ve PDE-5A3'ten oluşur (145). İnsanlarda, çeşitli dokularda, özellikle kalp, böbrek, akciğer, iskelet kası, pankreas ve ince bağırsakta PDE-5A seviyeleri yüksektir.

Akciğerde PDE-5A, pulmoner arterlerin pulmoner vasküler düz kaslarında, damarlar ve bronşiyal kan damarlarında hava yolu düz kas hücrelerinde, bronşiyal epitel hücrelerinde ve akciğer fibroblastlarında yaygın olarak eksprese edilir. Halihazırda, PDE5'i hedeflemek için bir dizi inhibitör tasarlanmış ve piyasada bulunmaktadır. Bunlara zaprinast, E4021, dipiridamol, SIL, TAD, vardenafil ve avanafil dahildir (189). Bu bileşikler tercihen PDE-5'i inhibe ederken, bunların hiçbiri özellikle daha yüksek

konsantrasyonlarda PDE5 için yüksek seçici değildir. Şaşırtıcı bir şekilde, çoğu PDE-5 inhibitörü, PDE-6 inhibitörleri olarak mükemmel bir şekilde hareket eder (146).

PDE-5A'nın en yerleşik işlevi, özellikle akciğer ve peniste cGMP ve hücre içi Ca^{2+} 'un düzenlenmesi yoluyla vasküler düz kas kasılmasının düzenlenmesidir (147). Penisin korpus kavernozumunda PDE-5 inhibisyonu, NO ve cGMP tarafından indüklenen düz kas gevşemesini artırır ve böylece penil ereksiyonu uyarır (148). Benzer şekilde, pulmoner vazodilatasyona ve vasküler hipertrofinin inhibisyonuna ve cGMP/PKG sinyal yoluyla yeniden şekillenmeye yol açması nedeniyle pulmoner hipertansiyonda önemli bir rol oynamaktadır (149) (Şekil 2.6). PDE-5'in trombosit agregasyonunun düzenlenmesine ilaveten, öğrenme ve hafızayı geliştirmede de rol oynadığı düşünülmektedir (149). Kalpte PDE-5 inhibisyonunun, iskemi/reperfüzyon hasarı ve kalp yetmezliğinden koruyucu etkisi gösterilmiştir (150).

2.8. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon Modeli Oluşumunda Monokrotalin

Monokrotalin (MCT), *Crotalaria spectabilis* bitkisinden bir alkaloiddir. Batı Hint Adaları'nda yıllar önce kullanılan bir bitkisel çay bileşenidir ve hepatotoksisite ile PH bilinen etkileridir. İlk defa 1967'de sıçanları *C. spectabilis* tohumları ile besleyerek veya primatlara MCT süspansiyonu enjekte edildiğinde PH modeli oluşturulduğu bildirilmiştir (151). Günümüzde tek bir subkütan/intraperitoneal MCT enjeksiyonu ile (60-80 mg/kg) sıçanlarda PH indüklemek genel bir PH modeli oluşturma şeklidir. MCT karaciğer sitokrom-p450 enzim sistemi ile pulmoner vasküler yatakta endotel hasarı oluşturan pirolük türevine dönüştürülür (152). Endotel hasarı, vasküler lümenin daralması/tıkanması ile karakterize pulmoner vaskülit ve obstrüktif pulmoner vasküler yeniden şekillenme için bir tetikleyici rol oynar. PH'li hastaların akciğer dokuları histolojik olarak değerlendirildiğinde intimal hiperplazi, mediyal hipertrofi, adventisyal kalınlaşma en belirgin bulgulardandır. Benzer şekilde MCT modelinde PH ayrıca endotel hücrelerinin artan apoptozu, PASMC çoğalması ve PASMC'lerin apoptoza direnci ile karakterizedir (153,154).

Günümüzde MCT modeli tekrarlanabilir, ucuz ve titiz teknik beceri gerektirmemesi nedeniyle sıklıkla PH modeli olarak kullanılmaktadır. MCT'nin nasıl PH oluşturduğu birçok çalışmaya konu olmuştur. TGF- β reseptörü, aktivin-A reseptörü benzeri kinaz-1 ve smad 3,4 ekspresyonunun MCT ile tedavi edilen sıçanların

akciğerlerinde azaldığı gösterilmiştir. Bu durum, MCT'nin sıçanların akciğerlerindeki tam BMPR-2 proteini ekspresyonu azaltması ile de ilişkilidir. Bu da TGF-smad ve BMPR-2 sinyallesinin MCT ile indüklenen PH'da bozulduğunu gösterir ki aynı zamanda insanlardaki PH ile paylaşılan bir karakteristiktir (155).

MCT modelinde yapılan diğer çalışmalar, PH'da görülebilen pulmoner vasküler yeniden şekillenmenin erken evrelerinde enflamatuvar hücrelerin (makrofajlar, dendritik hücreler ve mast hücreleri) ve sitokinlerin (interlökin-6, interlökin-1) önemli rolünü vurgulamıştır. (156,157). Her ikisi de antijen sunan makrofajların ve dendritik hücrelerin PH'daki enflamatuvar yanıtı kolaylaştırdığına ve böylece pulmoner vasküler yeniden şekillenmeye katkıda bulunduğuna inanılmaktadır (158).

MCT modeli ile ilgili ileri sürülebilecek en büyük itiraz, MCT kullanılan çoğu modelde deneysel tedavinin pulmoner vasküler hasarı ve PH'yi iyileştirmesi, tersine çevirmesi ve önlemesidir. Bu model ile test edilmiş deneysel tedaviler arasında serin elastaz inhibisyonu (M249314 veya ZD0892), trombosit kaynaklı büyüme faktörü inhibisyonu (imatinib), Rho-kinaz inhibisyonu (fasudil), endotelin reseptör antagonistleri (endotelin-1), serotonin taşıyıcı inhibisyonu (fluoksetin), fosfodiesteraz-5 inhibisyonu (SIL ve PDE-3/4 inhibitörleri, örneğin pumafentrin), statinler (simvastatin, pravastatin ve rosuvastatin) ve diğerleri gelmektedir (159). Bu deneysel tedavilerdeki aşırı iyileşme derecesi literatürde eleştiri konusu olmuştur. Bu eleştiriler yöntemin mükemmel olmadığı, çalışmaların kısa sürede yapıldığı ve insanlarda gözlemlenen PH'nin ilerlemesi ile ilişkili olmayan uç noktaları yansıttıkları şeklinde özetlenebilir.

Gomez-Arroyo ve ark, MCT modelinin, pulmoner interstisyel ödem, miyokardit ve ciddi insan PH'unun karakteristiği olmayan hepatik veno-oklüzif tablodan oluşan bir MCT sendromunu barındırdığını ileri sürmüştür (160). Ayrıca, MCT modelinde vazokonstriksiyon önemli bir mekanizma gibi görünmekle birlikte, bu sadece PH hastalarının bir alt grubunda bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu konuyu irdeleyen bir çalışmada PH oluşumu için ratların bir kısmına sadece MCT, bir kısmına da MCT + kontralateral pnömonektomi uygulanmış, takipte sadece MCT'ye göre kombine prosedürün uygulandığı grupta aşırı sağ ventrikül hipertrofisi ve ilaveten çok yüksek ortalama PAB, RV sistolik basıncı gibi insan PAH'ına oldukça benzeyen, şiddetli PH bulguları saptanmıştır (161). MCT modelinde, ortaya çıkan tablonun hızlı bir şekilde ölüme doğru ilerlemesi, kompensatuar mekanizmaların (sağ ventrikül hipertrofisi vb.)

gelişmesi için çok kısa olabilir. Nitekim MCT'nin (30 mg/kg) dozunun azaltılması ile daha uzun yaşayan ratlarda sağ ventrikül hipertrofisi gibi bulgular daha fazla görülmüştür (162).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Planlanan çalışmaya başlamadan önce İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan onay alındı. Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No: TDK-2017-739). Deneyde kullanılan hayvanların tümü İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Biriminden temin edilmiş ve patojen içermeyen standart laboratuvar koşullarında (22 ± 2 °C, %60 nem ortamında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusunda) polikarbon tabanlı kafeslerde muhafaza edilen, beslenmesinde 8 milimetre (mm)'lik standart pellet yem kullanılan, Wistar Albino cinsi erkek ratlar kullanıldı. Kullanılan ratların hepsi aynı özelliklere sahipti ve her bir grup için her grup için rastgele seçilmiş 8, toplamda 40 rat çalışmaya dahil edildi. Hayvanların temizliklerinin sağlanması, beslenme ve su ihtiyaçlarının temini, kafeslerinin temizliği ilgili bölümün veteriner hekimi ve personelleri tarafından sağlandı. Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bilim Dalı'nın ortak iştiraki ile yapıldı.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar:

Deneysel çalışmalarda kullanılan hayvan sayısı toplam 40'dır. Deney hayvanları her grupta 8 hayvan olacak şekilde 5 gruba bölündü. PH modelinin oluşturulması için Monokrotalin (MCT) kullanıldı. Monokrotalin (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO, ABD) 1 M HCL içinde çözüldü ve pH, 1 M NaOH ile 7.4'e ayarlandı.

1. Kontrol Grubu; Taşıt ve çözücü maddelerin uygulandığı grup

2. MCT grubu; Birinci gün 60 mg/kg dozunda MCT'nin s.k olarak tek doz uygulanmasını takiben 21 gün sonra sakrifiye edildiği grup.

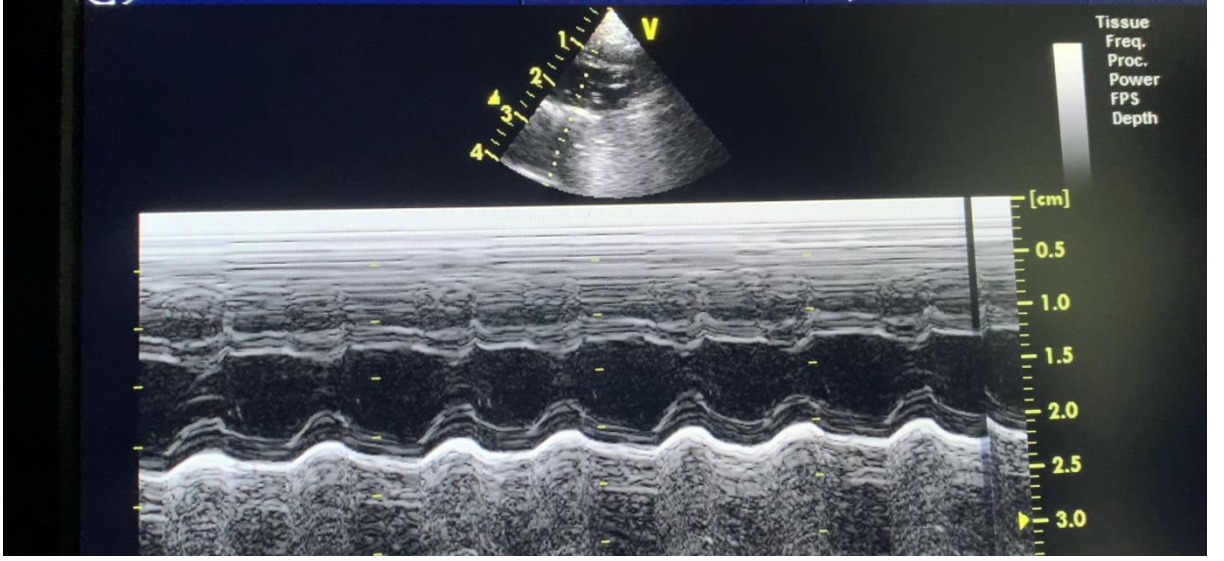
3. MCT+SİL grubu; Birinci gün 60 mg/kg dozunda MCT'nin s.k. olarak tek doz uygulanmasını takiben 21-35. günler arasında 3mg/kg SİL'in günde tek doz oral uygulandığı grup.

4. MCT+TAD grubu; Birinci gün 60 mg/kg dozunda MCT'nin s.k. olarak tek doz uygulanmasını takiben 21-35. günler arasında 10 mg/kg TAD'ın günde tek doz oral uygulandığı grup.

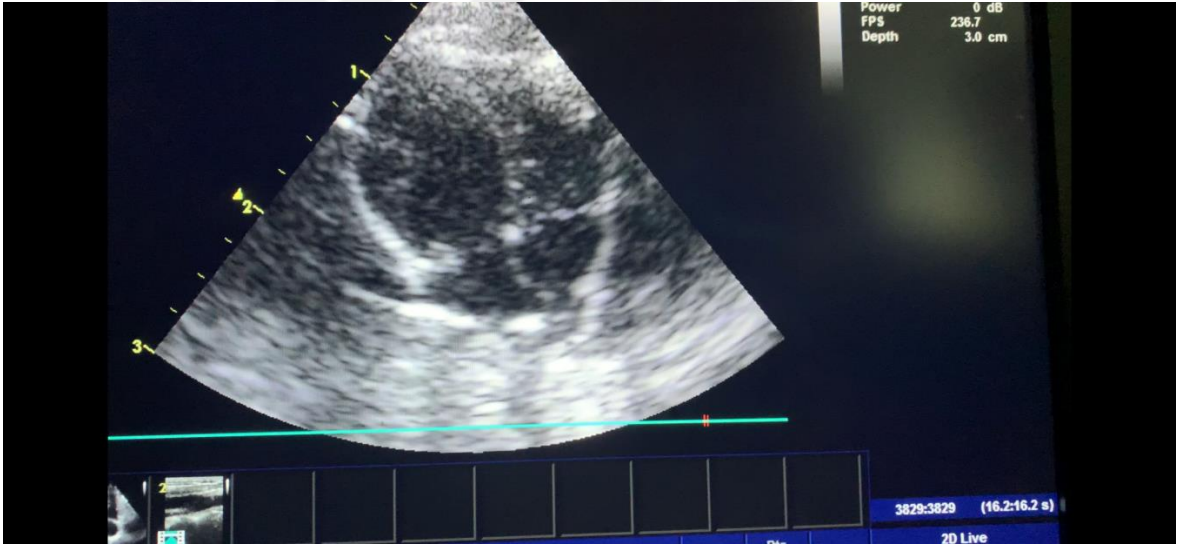
5. MCT+SİL+TAD grubu; Birinci gün 60 mg/kg dozunda MCT'nin s.k. olarak tek doz uygulanmasını takiben 21-35. günler arasında 3 mg/kg SİL ve 10 mg/kg TAD'ın günde tek doz oral uygulandığı grup.

3.3. Ekokardiyografi Uygulaması

İlaç uygulamaları sonrası deneyin sonlandığı invazif olarak basınç kayıtlarının değerlendirileceği gün, her gruptaki ratlara transtorasik ekokardiyografi ile kardiyak değerlendirme yapıldı. Ekokardiyografi, ketamin/ksilazin anestezisi altında (ketamin hidroklorür, Parke-Davis. Eczacıbaşı, İstanbul, 75 mg/kg ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid Rompun®, Bayer İlaç) Vivid S6 marka cihazı ile 10S sektör prob kullanılarak (GE Healthcare, Amerika Birleşik Devletler, kardiyovasküler ekokardiyografi standartlarına uygun olarak yapılmıştır (163). Kısaca, anestezi altındaki ratların göğüsleri tıraşlandıktan sonra, sol dekübit pozisyonda, 2D-MMode ve Doppler ölçümleri alındı. İnterventriküler septum kalınlıkları (IVSd), arka duvar kalınlıkları (LVPd), sol ventrikül end diyastolik çapı (LVEDD), sol ventrikül end sistolik çapı (LVESD), sol ventrikül fraksiyonel kısalması (LVFS), sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF), sol atriyum ve aort kökü çapı, mitral valv E/A oranı, E dalgası deselerasyon zamanı (EDT), sağ kalbin sol kalbe olan oranı, aortik ve pulmoner kapak velositeleri, pulmoner kapak velositesinin akselerasyon zamanı (PAT) ve kalp hızları (KH) ölçülmüştür. Parasternal uzun eksen (Şekil 3.1) ve apikal dört/beş odacık görüntümleri (Şekil 3.2), mitral kapak ve/veya aort çıkış yolunun 2D ve renk akışı görüntülemesi ve spektral Doppler çalışması için kullanılmıştır. Sol ventrikül, sol atriyum ve aorta çapları ile ilgili tüm ölçümler parasternal uzun eksenden yapıldı. Parasternal kısa aks görüntüleme ile pulmoner kapak velositeleri, pulmoner kapak velositesinin akselerasyon zamanı (PAT) ölçümü için kullanıldı. Tüm Doppler spektrumları, 100 mm/s'lik bir tarama hızında 5-10 kalp döngüsü için kaydedildi. Renkli Doppler ön ayarı 0.44 m/s Nyquist sınırındaydı. Ekokardiyografi ile tahmini sistolik pulmoner arter basıncı ölçümü pratik ve doğru netice vermediği için yapılmadı.



Şekil 3.1. Ekokardiyografide kalbin M mode parasternal uzun eksen görüntüsü.



Şekil 3.2. Ekokardiyografide kalbin apikal 4 boşluk görüntüsü.

3.4. Basınç Ölçümü ve Cerrahi İşlem:

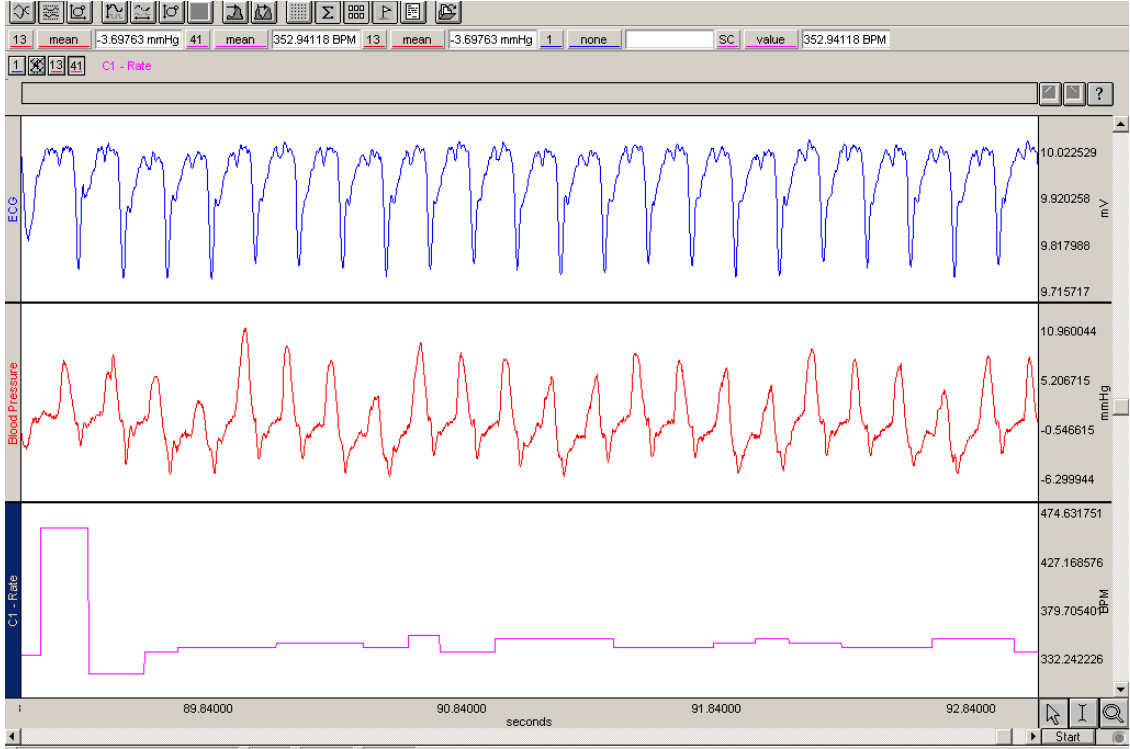
Operasyondan önce ratlara, anestezi için % 2'lik ksilazin hidroklorür (Rompun®, Bayer) 10 mg/kg ve ketamin hidroklorür (Ketalar®, Phizer) 50 mg/kg i.p. yolla uygulandı. Sağ ventrikül sistolik basınç kayıtları, sistemik arteriyel sistolik, diyastolik ve ortalama kan basıncı (KB) ve kalp hızı (KH) tayini için genellikle sağ juguler ven ve karotis arterlerden biri ayrı ayrı kanüle edildi. Giriş yapılan damar ile ilgili kanama veya kopma dahil herhangi bir sorun olduğunda diğer damar yedek olarak kullanıldı. EKG değişikliklerini izlemek için 3 derivasyonlu EKG elektrotları kullanıldı.

Sağ ventrikül ve sistemik kan basıncı (KB), kalp hızı (KH) ve EKG değerleri Biopac MP-100 Data Acquisition sistem bilgisayar kayıt programı kullanılarak 3 dakika boyunca kaydedildi (Şekil 3.3). Sağ ventrikül basınç kaydı için açılan juguler vene, ucu hafif kavis verilmiş basınç transducer'ine bağlı kateter yerleştirildi. Düşük basınçlı sağ atriyal dalgalar basınç monitöründe takip edilip (Şekil 3.4), kateter 2-3 cm ilerletildiğinde sağ ventriküle ulaşıldığı tespit edilerek basınç kaydı alma işlemi gerçekleştirildi (Şekil 3.5). Ardışık beş kardiyak siklus ortalamasından sağ ventrikül sistolik basıncı belirlendi. Eş zamanlı uygun EKG elektrotları aracılığı ile EKG monitorizasyonu sağlandı. Sağ ventrikül basınç ölçümü işlemi takiben karotid arter kanulasyonu yapılarak sistemik arteriyel basınç tespiti yapılmıştır (Şekil 3.6).

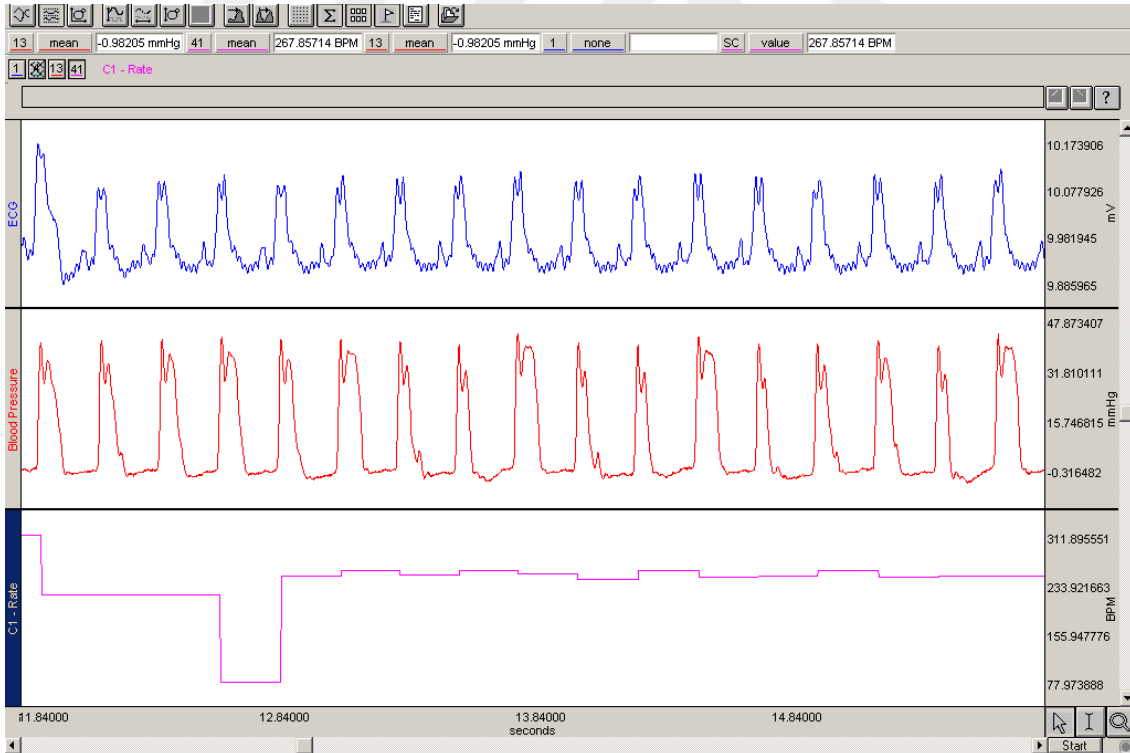
Bu işlemleri takiben %10 povidon-iyot ve steril gazlı bez ile göğüs ön duvar temizliği yapıp toraksa yapılan 3 cm'lik median insizyonla cilt, ciltaltı, fasya ve toraks açıldı. Biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme için çıkarılan akciğer ve kalp vertikal ve horizontal olarak ikiye ayrıldı ve %10 formol içeren flakonlara alınarak +4 °C'de saklandı.



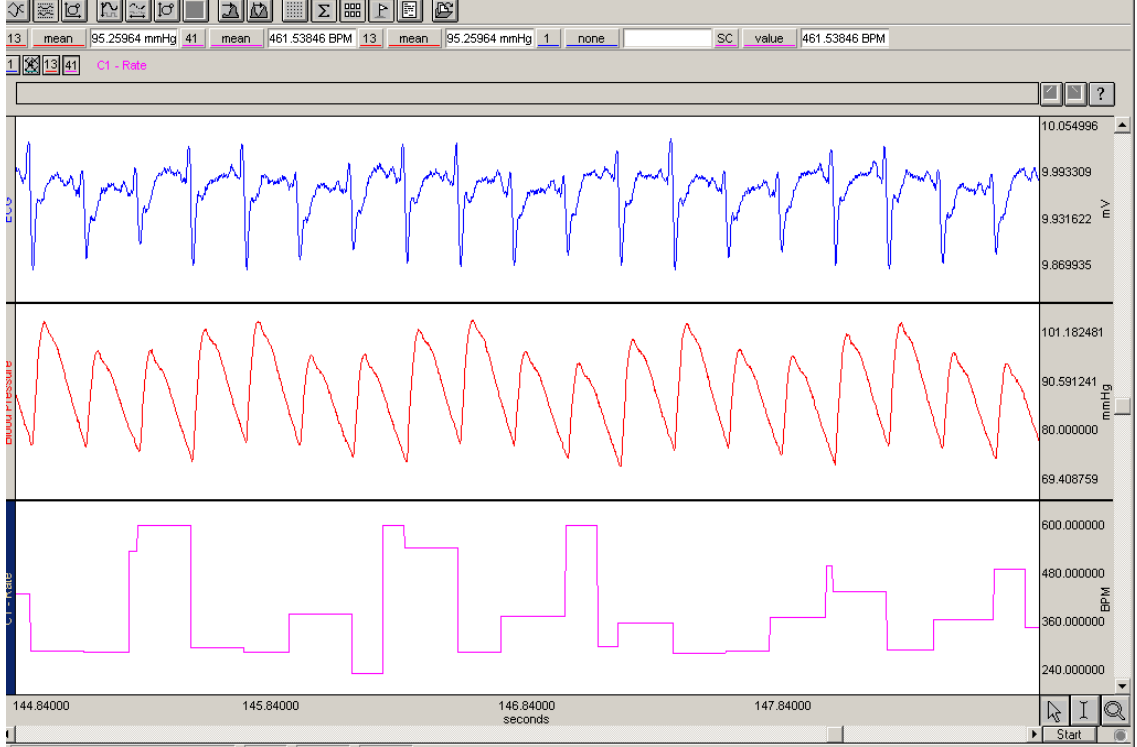
Şekil 3.3. Deneyin cerrahi aşamadaki görüntüsü.



Şekil 3.4. Sağ atriyum basıncı ve EKG kayıt trasesi örneği.



Şekil 3.5. Sağ ventrikül basıncı ve EKG kayıt trasesi örneği.



Şekil 3.6. Sistemik arteriyel kan basıncı ve EKG kayıt trasesi örneği.

3.5. Histokimyasal Analizler

Deney sonunda kalp ve akciğer dokuları, formaldehitin %37,5 lik solüsyonunun %10'luğu içerisinde alınarak tespit edildi. Doku takibi işlemlerinden sonra hazırlanan parafin bloklardan, 4-5 μm kalınlığında kesitler alındı. Doku kesitleri, genel morfolojik yapının belirlenmesi için hematoksilin-eozin (H-E) boyama metodu ile boyandı.

Doku kesitleri infiltrasyon varlığı yönünden incelendi. Her alan, histolojik değişikliklerin yaygınlığına göre, 0; normal, 1; %25'ten az değişiklik, 2; %25-50 arasındaki değişiklik, 3; %50'den fazla değişiklik olacak şekilde skorlandı. Her bir akciğer kesitinde, en az 10 adet pulmoner arterin tunika intima-media kalınlığı 6 farklı noktadan ölçüldü.

Analizler, Leica DFC-280 araştırma mikroskobu ile Leica Q Win Image Analiz Sistemi (Leica Micros Imaging Solutions Ltd., Cambridge, UK) kullanılarak yapıldı.

3.6. Biyokimyasal Değerlendirme

Tüm kimyasal maddeler analitik saflıkta olup herhangi bir saflaştırma işlemi uygulanmaksızın kullanıldı. Kullanılan bu kimyasalların bazı özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Ayrıca, çalışma kapsamında hazırlanan tüm sulu çözeltiler ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Kullanılan cihazların listesi Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Biyokimyasal değerlendirmede kullanılan kimyasallar.

Malzeme	Özellikler	Üretici Firma
5,5'-Ditiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB)	%99	Sigma-Aldrich, USA
β -Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)	%99	Sigma-Aldrich, USA
Glutasyon redüktaz	%99	Sigma-Aldrich, USA
Sodyum hidroksit	\geq %97,0	Merck, USA
Sitokrom-C	\geq %95	Sigma-Aldrich, USA
Ksantin	\geq 99%	Sigma-Aldrich, USA
Ksantin oksidaz	\geq 99%	Sigma-Aldrich, USA
Hidrojen peroksit	%30'luk	Merck, USA
2-Tiyobarbitürik asit	\geq 98%	Merck, USA
Triklorasetik asit	%99	Merck, USA

Tablo 3.2. Biyokimyasal değerlendirmede kullanılan cihazlar.

Cihaz	Bulunduğu Kurum/Kuruluş
Soğutmalı Santrifüj Cihazı (Nüve, NF 800 R)	İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Homojenizatör	İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Sonifikatör (Bandelin)	İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Manyetik Karıştırıcı Isıtıcı (Daihan, HP-LP1)	İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Elektronik terazi (Shimadzu ATX224)	İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Mikroplate Reader (BioTek)	İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

Uv-Vis spektrofotometre (Shimadzu-1601)	İnönü Üniversitesi	Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Millipore Ultrasaf Su Cihazı	İnönü Üniversitesi	Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

Akciğer dokusu 0,1 g tartılarak plastik tüplere alındı ve üzerine 1 mL PBS tamponu (pH 7,4) eklendi. Tartılan doku örnekleri buz izolasyonu altında bir homojenizatör yardımıyla doku örnekleri tamamen parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar daha sonra yine bir buz izolasyonu altında sonifikatör ile 30 saniyelik aralıklarla 4 defa 15 saniye sonifiye edildi. Sonifiye işlemi bittikten sonra homojenatlar 14.000 rpm' de soğutmalı santrifüj yardımıyla +4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Son olarak, elde edilen süpernatantlar ölçüm işlemleri yapılmıncaya kadar +4 °C de muhafaza edildi.

Örneklerdeki total protein konsantrasyonu hızlı ve basit bir yöntem olan Bradford yöntemi ile belirlendi (164). Homojenat örneklerine Bradford reaktifi eklenerek 550 nm'deki absorbans değişimi ölçülerek total protein miktarı belirlendi. Standart protein olarak sığır serum albümini kullanıldı.

MCT, TAD ve SİL'in beraber kullanımının karaciğer ve böbrek üzerine olumsuz etkisinin olup olmadığının değerlendirilmesi maksatlı rutin böbrek fonksiyon testleri ve karaciğer enzimi yanı sıra serum LDH düzeyine de bakıldı.

3.6.1 Katalaz aktivite tayini: Katalaz enziminin aktivitesi Aebi tarafından önerilen yöntem kullanılarak yapıldı (165). Ölçüm yöntemi 240 nm'de H₂O₂'nin absorbansındaki azalmasının ölçülmesine dayanmaktadır. Öncelikle, Na-K-fosfat tampon çözeltisine (pH:7) derişik H₂O₂ eklenerek absorbans 0,7-0,9 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra hazırlanan bu karışımdan 1 mL alınıp kuvarz küvete kondu ve üzerine elde edilen süpernatant eklenmiştir. Hafifçe karıştırdıktan sonra Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 240 nm'de 60 sn süreyle H₂O₂'nin ($\epsilon=0,0396 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$) absorbanstaki azalma takip edildi. Kör olarak Na-K-fosfat tampon çözeltisi (pH:7) kullanıldı. Elde edilen sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

3.6.2 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini: SOD enziminin aktivite tayini literatürde daha önce belirtilen yöntemle göre yapıldı (166). SOD enziminin ksantin/ksantin oksidaz sisteminde oluşan süperoksit radikallerinin sitokrom-C'yi indirgemesini engeller. SOD enziminin aktivitesi bu inhibisyonu ölçmeye

dayanmaktadır. Bu reaksiyonu %50 inhibe eden SOD miktarı 1 Unite (U) olarak kabul edildi. SOD enzim aktivitesi 550 nm’de kinetik takip edilerek ölçülmüştür ve sonuçlar U/mg protein olarak verildi.

3.6.3 Total glutatyon (tGSH) ölçümü: tGSH miktarı Theodorus ve ark. tarafından rapor edilen yöntem kullanılarak ölçüldü (167). Ölçüm yöntemi, DTNB, NADPH ve Glutatyon redüktaz’ın reaksiyonu sonucu oluşan 5-tio-2-nitrobenzoat (TNB) oluşumundaki artışın 412 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Absorbans değişimi UV-vis pektrofotometrede 412 nm 15 dak. takip edilmiştir. Elde edilen sonuçlar nmol/mg protein cinsinden ifade edildi.

3.6.4 Malondialdehid (MDH) ölçüm yöntemi: MDH ölçümü literatürde daha önce rapor edilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir (168). Yöntemin temeli, perokside lipidlerin yıkım ürünü olan MDH’nın tiyobarbitürik asit ile reaksiyonu sonucunda oluşan pembe renkli ürünün 532 nm’de ölçülmesine dayanmaktadır. Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanıldı. Örneklerin MDH içeriği nmol/mg protein olarak ifade edildi.

3.6.5. Nitrik Oksit Deneyi (NO): Doku örneklerinin NO seviyeleri, Oxford Biyomedikal Araştırması Kolorimetrik Nitrik Oksit Test Kiti kullanılarak ölçüldü. Bu kit, biyolojik numunelerde NO₂/NO₃ (in vitro NO üretiminin nihai ürünleri) miktarının belirlenmesinde uygun bir yöntem sağlar. Toplam NO üretiminin en iyi endeksi, bu ürünlerin her ikisinin toplamıdır. Sonuçlar mmol/mg protein olarak ifade edildi. Doku numunelerinin protein seviyeleri Bradford yöntemi kullanılarak ölçüldü. Emilim ölçümü UV-VIS spektrofotometre kullanılarak 595 nm’de alındı. Protein standardı olarak sığır serum albümin (BSA) kullanılmıştır (169).

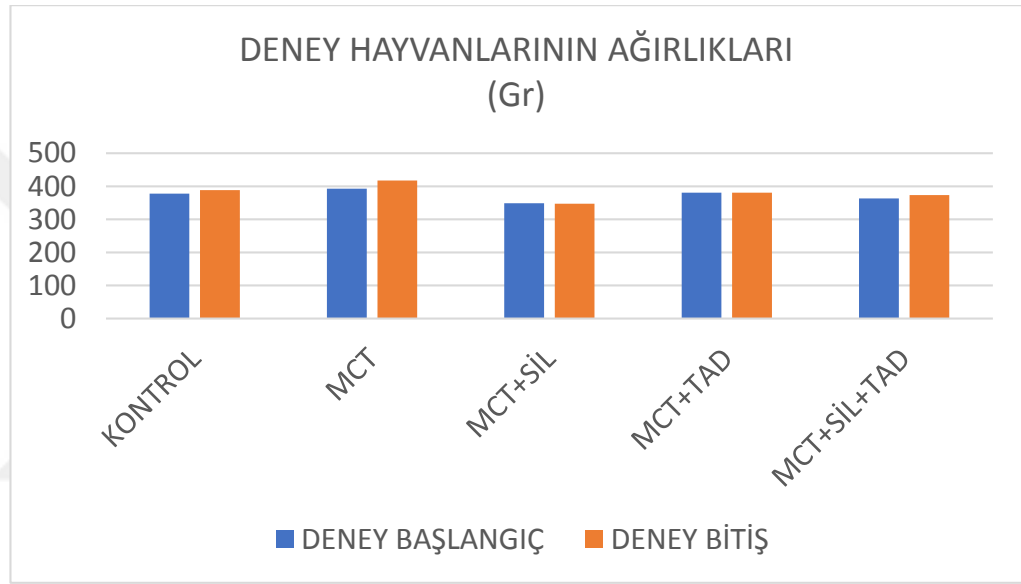
3.7. İstatistik

Çalışmada veriler medyan (minimum-maksimum) ile özetlendi. Değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testiyle analiz edildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılması tek yönlü varyans analiziyle (one-way ANOVA) ve normal dağılım göstermeyen değişkenlerin karşılaştırılması ise Kruskal-Wallis testiyle yapıldı. Çoklu karşılaştırmalarda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Histolojik bütün veriler de medyan (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Analizlerde IBM SPSS Statistics 22.0 paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Ağırlığı

Tüm gruplardaki ratların ağırlıkları Şekil 4.1'de özetlenmiş olup, 300-400 mg arasında değişmekteydi. Hem grup içi deney öncesi ve sonrası ($p>0.05$ hem de gruplar arası deney başlangıcı ağırlıkları yönünden bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Şekil 4.1. Ratların ağırlıklarının karşılaştırılması.

* Grup içi ve gruplar arası ağırlıklar benzer ($p>0.05$)

4.2 Ekokardiyografik Bulgular

İnvazif olarak hemodinamik bulguların değerlendirmeden hemen önce yapılan ekokardiyografi bulguları Tablo 4.1'de ayrıntılı bir şekilde verilmiştir. Buna göre ekokardiyografi ile ölçülen kalp hızları arasında bir fark yoktur ($p=0.074$). Sol ventrikül ile ilgili çap ölçümlerinden IVSd, LVESD, LVPd benzer bulundu (sırasıyla $p=0.869$, $p=0.067$, $p=0.869$). Sol ventrikül diyastol sonu çap (LVEDD) gruplar arasında numerik olarak belirgin farklı olmasa da istatistiksel olarak farklı idi ($p=0.027$). MCT+TAD grubunda MCT+SİL grubuna göre LVEDD daha yüksek idi [7(6-9) mm'ye karşı 6(5-7) mm, $p<0.05$]. Sol ventrikül sistolik fonksiyon parametreleri açısından gruplar arasında beklendiği üzere bir fark yoktu (EF için $p=0.426$, FS için $p=0.459$). Aorta çapı tüm gruplarda benzer iken ($p=0.438$), LA genişliği MCT+TAD grubunda kontrol grubuna

göre bir miktar yüksek bulundu [5.0(4.31-6.3) mm'ye karşı 3.99(3.14-4.93) mm, p=0.015].

Mitral dolum ile ilgili E dalgası gruplar arasında benzer iken (p=9.27), A dalgası MCT+SİL ve MCT+SİL+TAD gruplarında kontrol gruplarına göre farklı bulundu (p<0.05). E/A oranı en düşük olan grup MCT+SİL'idi [1.72(1.22-3.18)'ye karşı kontrol grupta 3.0(2.13-4.13), p<0.05]. E/A oranı MCT+TAD grupta MCT+SİL gruptan daha yüksek idi [2.60(1.85-3.75)'e karşı 1.72(1.22-3.18) P<0.05]. Ancak EDT'da bir farklılık yok bulundu (p=0.229).

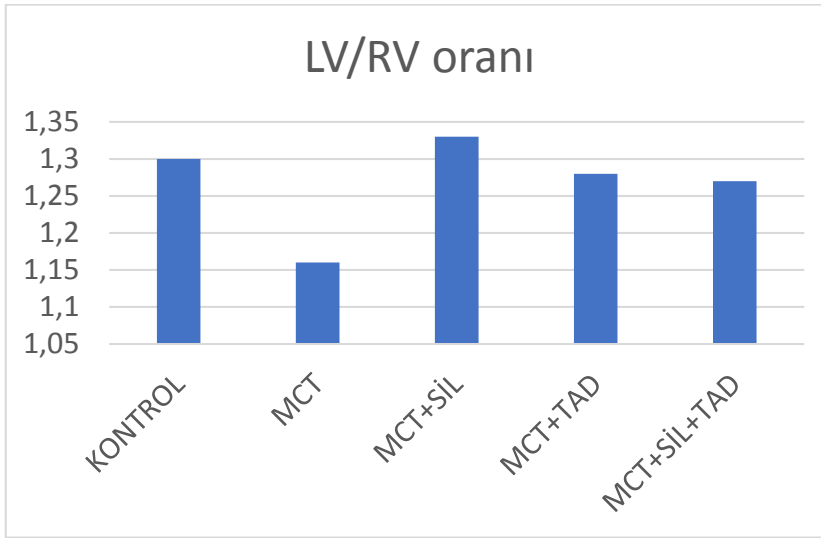
Tablo 4.1. Ekokardiyografik bulgular.

Parametre	KONTROL	MCT	MCT + SİL	MCT+TAD	MCT+SİL+TAD	p değeri
KH (atım/dk)	258 (335-377)	254 (283-338)	283 (184-361)	219 (149-361)	242 (198- 295)	0.074
IVSd (mm)	3 (2-3)	3 (2-3)	3 (2-3)	3 (2-3)	3 (2-3)	0.869
LVEDD (mm)	6 (6-7)	7 (5-8)	6 (5-7)	7 ^b (6-9)	7 (5-8)	0.027
LVESD (mm)	4 (3-4)	3 (2-4)	3 (2-4)	4 (3-5)	4 (3-5)	0.067
LVPd (mm)	2 (2-3)	2 (2-3)	2 (2-3)	2 (2-3)	2 (2-3)	0.869
EF (%)	81 (68-90)	87 (78-93)	87 (74-92)	83 (77-91)	85 (69-87)	0.426
FS (%)	44 (33-55)	51 (41-61)	51 (38-59)	47 (41-57)	49 (34-51)	0.459
LA (mm)	3.99 (3.14-4.93)	4.61 (4.18-5.28)	4.59 (3.93-5.61)	5.00 ^a (4.31-6.33)	4.72 (3.95-7.04)	0.015
Ao (mm)	3.43 (2.84-3.85)	3.47 (3.0-3.87)	3.38 (3.03-4.13)	3.55 (3.16-3.91)	3.55 (3.36-4.15)	0.438
E m/sn	0.64 (0.62-0.83)	0.65 (0.45-0.83)	0.64 (0.54-0.81)	0.66 (0.51-.73)	0.71 (0.58-0.73)	0.927
A m/sn	0.24 (0.15-0.35)	0.35 (0.15-.42)	0.33 ^a (0.2-0.66)	0.25 (0.15-0.38)	0.37 ^a (0.20-0.48)	0.040
E/A oranı	3.00 (2.13-4.13)	2.05 (1.75-3.0)	1.72 ^a (1.22-3.18)	2.60 ^b (1.85-3.75)	1.99 (1.52-3.18)	0.013
EDT msn	44 (37-55)	48 (0-67)	41 (18-59)	48 (30-70)	52 (33-78)	0.229
PAT msn	44 (33-55)	33 (22-52)	37 (30-59)	37 (30-52)	41 (26-48)	0.097
PUL.Vel m/sn	0.64 (0.46-0.90)	0.70 (62-1.0)	0.76 (0.58-.0.98)	0.68 (0.51-0.78)	0.59 (0.53-0.74)	0.136
Ao.Vel m/sn	0.90 (0.75-1.12)	0.97 (0.8-1.05)	0.82 (0.72-1.19)	0.92 (0.55-1.16)	0.87 (0.68-1.29)	0.825
LV/RV ORANI	1.30 (1.05-1.55)	1.16 (1.1-1.35)	1.33 (1.21-1.48)	1.28 (1.0-1.27)	1.27 (1.01-1.41)	0.074

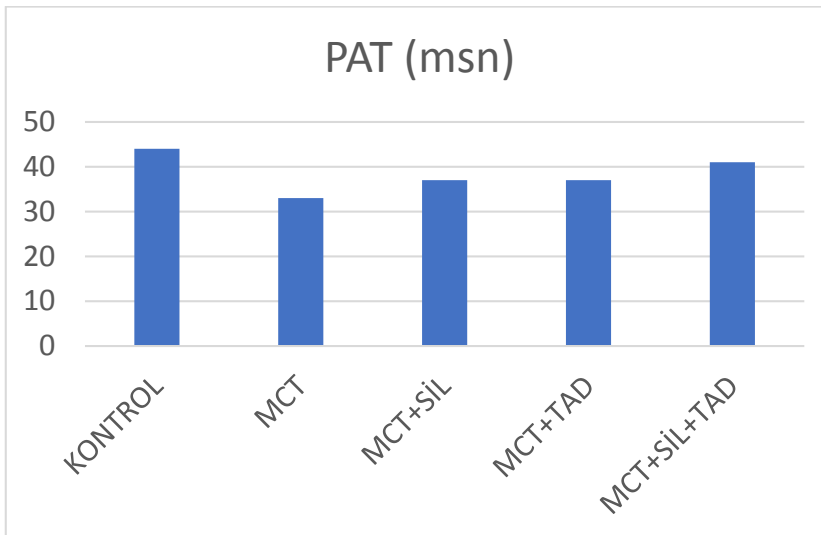
*Kısaltmalar: KH; kalp hızı, IVSd; interventriküler septal kalınlık, LVED; sol ventrikül diyastolik çap, LVES; sol ventrikül sistolik çapı, LVPd; sol ventrikül arka duvar çapı, EF; ejeksiyon fraksiyonu, FS; sol ventrikül oransal kasılma, LA; sol atriyum çapı, Ao; aorta çapı, E; sol ventrikül erken dolumu velosite, A; sol ventrikül geç dolumu velosite, EDT; e dalgası deselerasyon zamanı, PAT; pulmoner velosite akselerasyon zamanı, Pul. Vel; pulmoner velosite, Ao. Vel; aortik velosite.

a. Kontrol grubuna göre istatistiksel farklı (p<0.05); b. MCT+SİL grubundan istatistiksel farklı grup (p<0.05). Veriler ortanca (min-maks)'dır.

Sağ kalp genişliğini işaret eden sol ventrikülün sağ ventriküle olan oranı (LV/RV) açısından gruplar arasında belirgin istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p=0.097$), ancak LV/RV oranı en düşük olan grup MCT bulundu [Şekil 4.2, kontrol grupta 1.30(1.05-1.55); MCT grupta, 1.16(1.1-1.35)]. Sağ ventrikülden pulmoner artere ejekte edilen kan akımı hızı ve akselerasyon zamanı istatistiksel olarak anlam sınırına yakın bir şekilde en düşük MCT grupta bulunurken diğer gruplarda birbirine yakın değerler mevcuttu. (Şekil 4.3, $p=0.136$, $p=0.074$).



Şekil 4.2. Sol ventrikülün sağ ventriküle oranının (LV/RV) karşılaştırılması. * $P=0.097$



Şekil.4.3. Pulmoner arter velositesi akselerasyon zamanı karşılaştırılması. * $P=0.074$

4.3. Hemodinamik bulgular.

Tüm grupların invazif olarak ölçülen kalp hızları, sağ ventrikül ve sistemik arterial basınçları Tablo 4.3’de görülmektedir. Buna göre, ekokardiyografi esnasında ölçüldüğü gibi tüm grupların kalp hızları benzer bulunmuştur ($p>0.05$). Sistolik, diyastolik ve ortalama sistemik arterial basınçlar açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Sağ ventrikül basınçları TAD ve kombine ilaç kullanılan gruplarda, MCT grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşüktü [31(25-36) mmHg ve 33 (26-42) mmHg’ye karşı 43(39-59) $p<0.05$]. MCT+SİL grubunda sağ ventrikül basıncı [38 (31-45) mmHg], MCT grubunda olduğu gibi yüksek düzeyde kaldı ($p>0.05$).

Tablo 4.2. İnvazif hemodinamik bulgular.

	KONTROL	MCT	MCT+SİL	MCT+TAD	MCT+SİL+TAD
Kalp hızı (atım/dk)	299 (225-350)	248 (226-413)	295 (207-379)	255 (190-365)	285 (213-340)
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	87 (80-112)	94 (78-114)	92 (53-128)	107 (71-110)	102 (75-119)
Ortalama Kan Basıncı (mmHg)	74 (64-91)	70 (58-87)	81 (45-114)	77 (51-88)	80 (67-96)
Diyastolik Kan basıncı (mmHg)	57 (48-80)	50 (40-66)	61 (35-111)	54 (31-67)	63 (40-75)
Sağ ventrikül Kan basıncı (mmHg)	30 (15-33) ^b	43 (39-59) ^a	38 (31-45) ^a	31 (25-36) ^b	33 (26-42) ^b

*Veriler Ortanca (min-maks) olarak yazılmıştır. a. Kontrol grubuna göre anlamlı farklı ($p<0.05$);

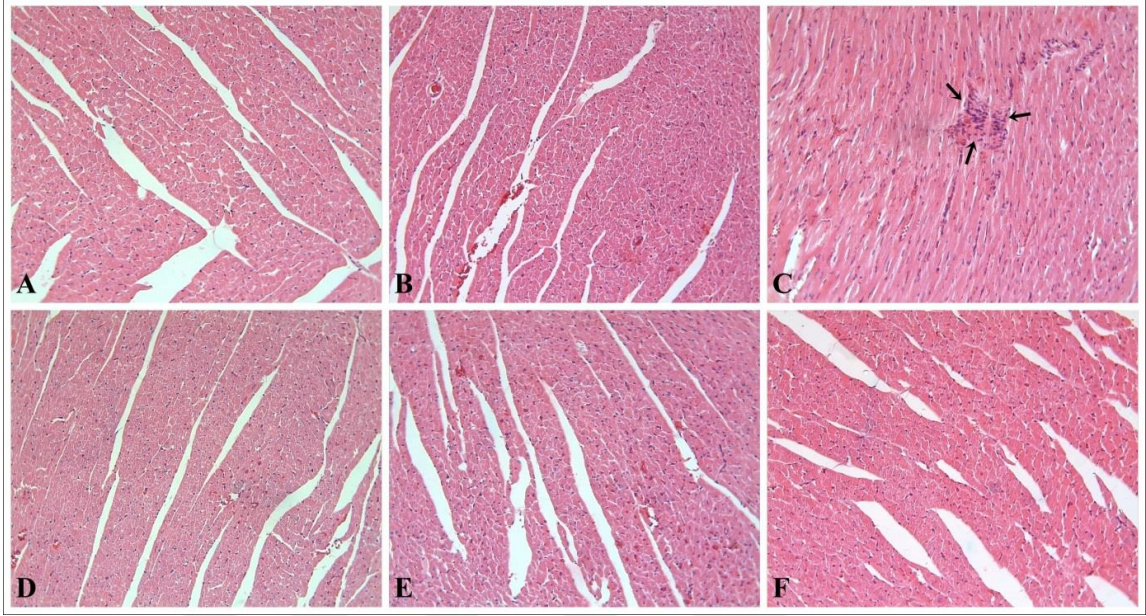
b. Monokrotalin grubuna göre anlamlı farklı ($p<0.05$).

4.4. Histolojik Bulgular

4.4.1. Kalp

Kontrol grubuna ait kalp kesitleri normal histolojik görünümdeydi. MCT grubunda, belirgin bir histolojik değişiklik izlenmemekle beraber, bu gruba ait bazı kesitlerde yer yer küçük infiltrasyon odakları dikkati çekti. İzlenen bu değişiklik

yönünden, kontrol grubu ile MCT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.001$). Tedavi uygulanan gruplarda, kalp dokusunun kontrol grubuna benzer şekilde normal histolojik görünümde olduğu gözlemlendi (Şekil 4.4, Tablo 4.4).



Şekil 4.4. Kardiyak dokuların görünümü.

*Kontrol (A), MCT (B ve C), MCT+SİL (D), MCT+TAD (E) ve MCT+SİL+TAD (F) gruplarında kardiyak dokunun görünümü. MCT grubunda, hafif düzeydeki infiltrasyon (oklar) dışında tüm grupların benzer histolojik görünüme sahip olduğu dikkati çekmekte. H-E; x20.

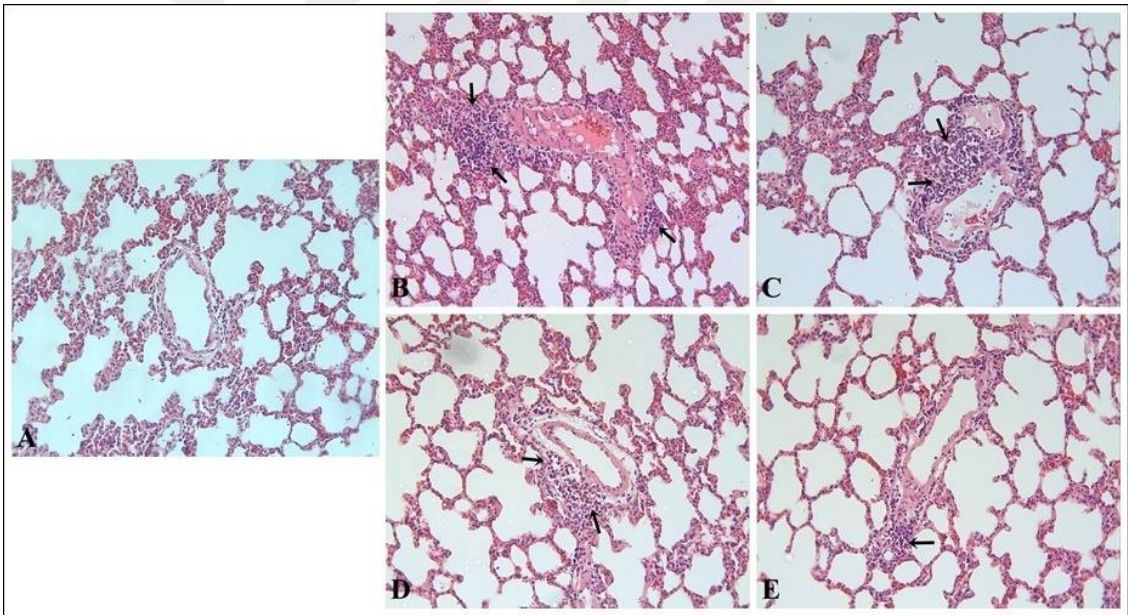
Tablo 4.3. Gruplara ait kardiyak histopatolojik skor sonuçları.

Gruplar	İnfiltrasyon
Kontrol	0.0 (0.0 - 0.0)
MCT	0.0 (0.0 - 1.0) ^a
MCT+SİL	0.0 (0.0 - 0.0) ^b
MCT+TAD	0.0 (0.0 - 0.0) ^b
MCT+SİL+TAD	0.0 (0.0 - 0.0) ^b

*^a Kontrol grubuna göre anlamlı artış ($p=0.001$). ^b Monokrotalin grubuna göre anlamlı azalış ($p=0.001$).

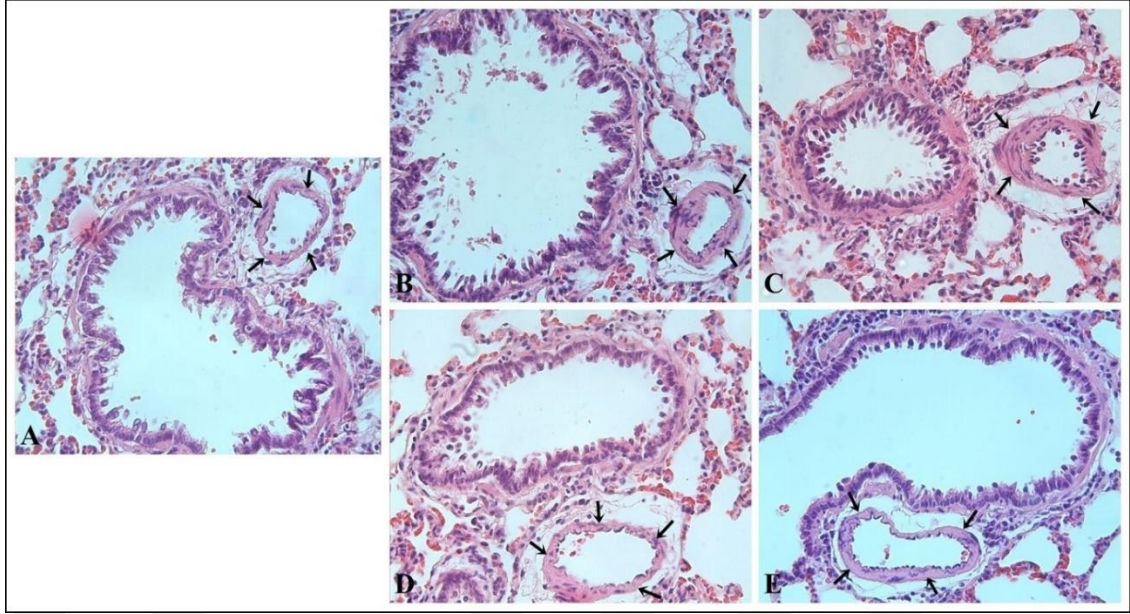
4.4.2. Akciğer

Kontrol grubuna ait akciğer doku kesitleri incelendiğinde, bronş, bronşiyol, alveol ve pulmoner interstisyum yapıları normal olarak izlendi. Diğer yandan, MCT grubuna ait kesitlerde, pulmoner interstisyum ve pulmoner damarlar çevresinde belirgin şekilde mononükleer hücre infiltrasyonu izlendi ($p<0.001$). MCT grubunda, pulmoner arter duvar kalınlığının da kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($p<0.001$). MCT+SİL ve MCT+TAD gruplarında izlenen infiltrasyonun, MCT grubuna benzer şekilde devam ettiği; ancak MCT+SİL+TAD grubunda, MCT grubu ile karşılaştırıldığında, infiltrasyonun anlamlı şekilde azaldığı saptandı (Şekil 4.5, Tablo 4.5, $p=0.022$). MCT+SİL grubunda ölçülen pulmoner arter duvar kalınlığının, MCT grubuna benzer olduğu; MCT+TAD ve MCT+SİL+TAD gruplarında ise pulmoner arter duvar kalınlıklarının, MCT grubuna göre belirgin olarak azaldığı tespit edildi (Şekil 4.6, Tablo 4.5, sırasıyla, $p<0.001$ ve $p=0.005$).



Şekil 4.5. Akciğer dokuların görünümü (20'lik büyütme).

* Kontrol (A), MCT (B), MCT+SİL (C), MCT+TAD (D) ve MCT+SİL+TAD (E) gruplarında akciğer dokusunun görünümü. MCT grubunda (B), perivasküler infiltrasyon (oklar) dikkati çekmekte. MCT+SİL (C) ve MCT+TAD gruplarında (D), infiltrasyonun MCT grubuna benzer düzeyde devam ettiği izlenmekte. MCT+SİL+TAD grubunda (E), infiltrasyonun belirgin olarak azaldığı dikkati çekmekte. H-E; x20. TİM: intima-media kalınlığı



Şekil 4.6. Akciğer dokuların görünümü (40'lık büyütme).

* Kontrol (A), MCT (B), MCT+SİL (C), MCT+TAD (D) ve MCT+SİL+TAD (E) gruplarında akciğerin görünümü. Oklar, pulmoner arterlere işaret etmekte. H-E; x40. TİM: intima-media kalınlığı

Tablo 4.4. Gruplara ait histopatolojik skor sonuçları ve pulmoner arter duvar kalınlığı.

Gruplar	İnfiltrasyon	TİM kalınlığı (µm)
Kontrol	0.0 (0.0 – 1.0)	12.39 (5.11 – 27.54)
MCT	1.0 (0.0 – 3.0) ^a	13.75 (5.01 – 30.25) ^a
MCT+SİL	1.0 (0.0 – 3.0)	13.68 (4.96 – 33.29)
MCT+TAD	1.0 (0.0 – 3.0)	12.53 (4.13 – 29.97) ^b
MCT+SİL+TAD	1.0 (0.0 – 3.0) ^b	13.06 (4.48 – 30.90) ^b

* ^a Kontrol grubuna göre anlamlı artış (p<0.001). ^b MCT grubuna göre anlamlı azalış (p<0.05). TİM (Tunika intima-media)

Tablo 4.5. P değerleri.

	Kalp İnfiltrasyon	Akciğer İnfiltrasyon	TİM kalınlığı
MCT-Kontrol	0.001	<0.001	<0.001
MCT-MCT+SİL	0.001	0.922	0.359
MCT-MCT+TAD	0.001	0.289	<0.001
MCT-MCT+SİL+TAD	0.001	0.022	0.005

*TİM: Tunika intima-media kalınlığı

4.5. Biyokimyasal Parametreler

Rutin değerlendirmede kullanılan testler Tablo 4.5.1 de sunulmuştur. BUN, Kreatinin, AST ve LDH yönünden gruplar arasında farklılık saptanmadı. (p değerleri sırası ile; 0.1, 0.26, 0.121, 0.054).

Tablo 4.6. Serum biyokimyasal ölçümleri.

	Kontrol	MCT	MCT+SİL	MCT+TAD	MCT+SİL+TAD	p değeri
BUN (mg/dL)	42(33-49)	37 (28-40)	39(28-43)	37(28-41)	35(28-48)	0.1
Kreatinin (mg/dL)	1	1	1	1	1	0.26
AST (IU/L)	324 (230-392)	214 (112-396)	407 (229-596)	292 (110-534)	237 (104-519)	0.121
LDH (U/L)	1563 (758-1816)	1196 (565-2726)	1065 (556-1988)	1047.5 (420-1295)	841 (337-1505)	0.054

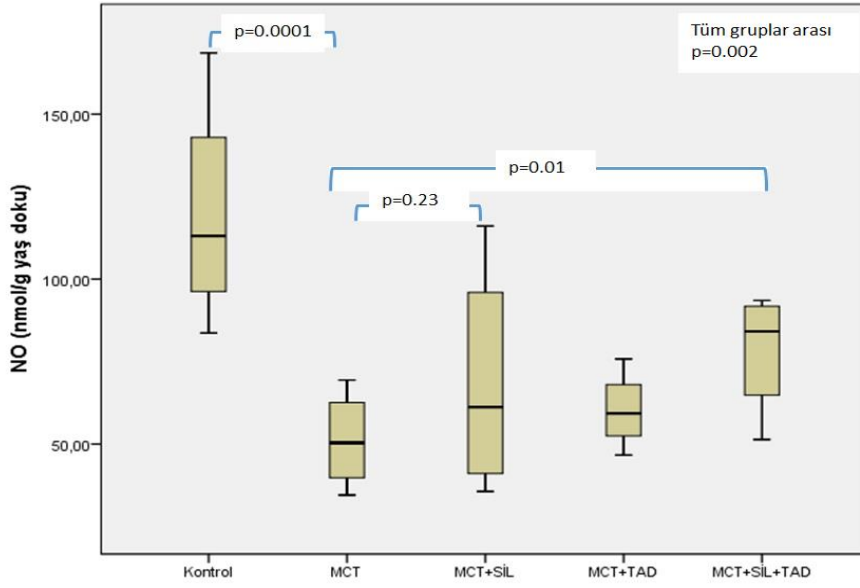
*Veriler Ortanca (min-maks) olarak yazılmıştır.

Akciğer dokularından bakılan NO düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 4.7, p=0.002). NO düzeyi en düşük MCT grupta, en yüksek kontrol grupta bulundu [50.39 (34.54-69.42) nmol/g'a karşı 113.209 (83.65-168.57) nmol/g, p=0.0001, Şekil 4.7]. Tek başına SİL'in kullanıldığı grupta doku NO [61.22 (35.66-116.08) nmol/g], MCT gruptan daha yüksek olsa da aradaki fark anlamlı değildir (p=0.23). Ancak kombine ilaç grubunda doku NO belirgin bir şekilde yüksek saptanmıştır [84.16 (51.39-93.53) nmol/g, p=0.01] .

Tablo 4.7. Akciğer dokularında bakılan NO düzeyleri.

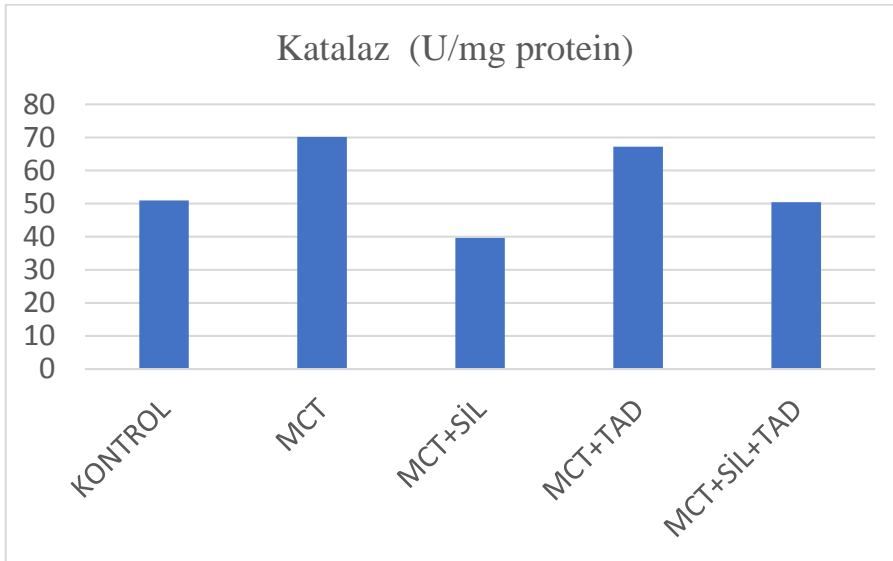
Gruplar	NO (nmol/g yaş doku)
Kontrol	96.25 (74.33-168.57)
MCT	50.39 (34.54-69.42)
MCT+SİL	61.22 (35.66-116.08)
MCT+TAD	59.28 (46.68-75.81)
MCT+SİL+TAD	84.17 (51.39-93.53)

*Veriler Ortanca (min-maks) olarak yazılmıştır. P=0.002



Şekil 4.7. Akciğer dokularından bakılan NO düzeyleri.

Akciğer dokusundan bakılan oksidatif stress parametrelerinin her biri ile ilgili şekil aşağıda gösterilmiştir. Doku katalaz enzimi düzeyi açısından gruplar arasında anlamlı fark vardı (Şekil 4.8, $p < 0.001$). Katalaz düzeyi en düşük MCT+SİL grubunda bulunmuştur [Kontrol; 50.96 (33.68-67.3) U/mg, MCT; 70.14 (58.36-77.9) U/mg, MCT+SİL; 39.64 (32.24-51.14) U/mg, MCT+TAD; 67.19 (51.41-67.19) U/mg, MCT+SİL+TAD; 50.4 (30.49-61.91) U/mg].

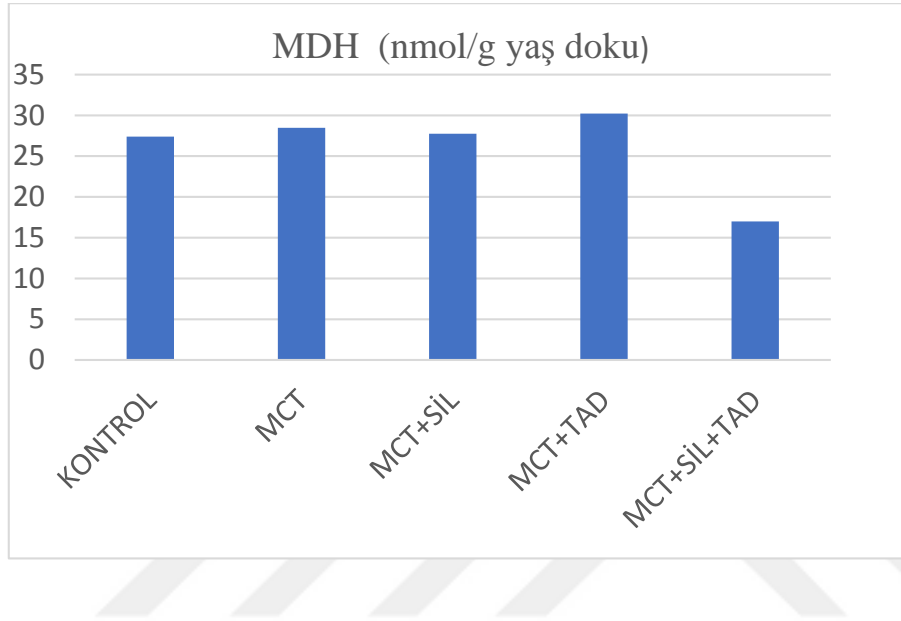


Şekil 4.8. Akciğer dokusu katalaz düzeyleri.

*Tüm gruplar arasında anlamlı fark ($p < 0.001$), MCT+SİL ile MCT ve MCT+TAD arasından anlamlı fark

(p<0.05)

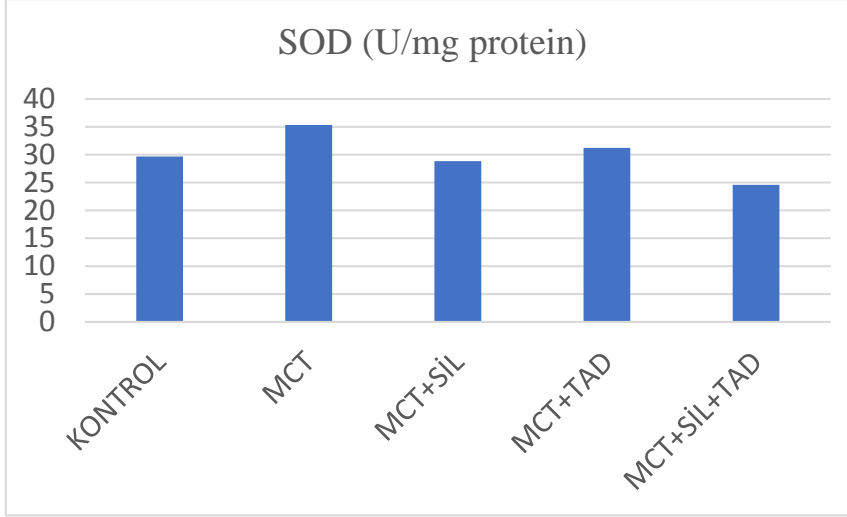
Doku MDH düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark mevcuttu (Şekil 4.9, p<0.001). MDH düzeyi en düşük kombine ilaç kullanılan grup saptanmıştır. [Kontrol; 27.4 (24.7-28.8) nmol/g yaş doku, MCT; 28.48 (27.7-28.48) nmol/g yaş doku, MCT+SİL; 27.75 (20.97-31.16) nmol/g yaş doku, MCT+TAD; 30.22 (26.27-34.69) nmol/g yaş doku, MCT+SİL+TAD; 16.99 (12.97-19.87) nmol/g yaş doku].



Şekil 4.9. Akciğer dokusu MDH düzeyleri.

* Tüm gruplar arasında anlamlı fark (p<0.001), MCT+SİL+TAD ile tüm gruplar arasında anlamlı fark (p<0.05)

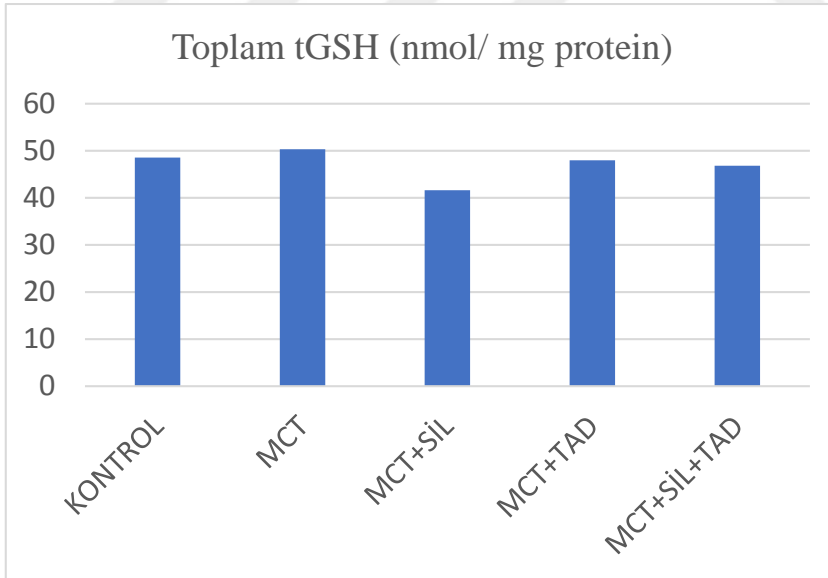
Doku SOD enzim düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark mevcuttu (Şekil 4.10, p=0.013). En düşük değer diğer gruplardan anlamlı bir şekilde kombine ilaç kullanılan grupta saptanmıştır. [Kontrol; 29.66 (24.65-42.67) U/mg protein, MCT; 35.32 (29.6-43.38) U/mg protein, MCT+SİL; 28.85 (26.14-34.83) U/mg protein, MCT+TAD; 31.22 (25.07-35.9) U/mg protein, MCT+SİL+TAD; 24.58 (22.39-33.83) U/mg protein].



Şekil 4.10. Akciğer dokusu SOD düzeyleri.

* Tüm gruplar arasında anlamlı fark ($p=0.013$), MCT+SİL+TAD ile tüm gruplar arasında anlamlı fark ($p<0.05$).

Dokuların glutasyon yönünden değerlendirilmesinde gruplar arası anlamlı fark bulunmadı [Şekil 4.11, Kontrol; 48.58 (34.48-50.91) nmol/mg protein, MCT; 50.32 (41.79-60.07) nmol/mg protein, MCT+SİL; 41.63 (30.95-47.97) nmol/mg protein, MCT+TAD; 47.99 (40.38-57.87) nmol/mg protein, MCT+SİL+TAD; 46.82 (42.1-59.58) nmol/mg protein, $p=0.074$].



Şekil 4.11. Akciğer dokusu tGSH düzeyleri

* Gruplar arasında fark yok ($p=0.074$)

5. TARTIŞMA

Son 20 yıldaki gelişmelere rağmen PAH, hala tam tedavisi olmayan bir hastalık olarak kalmıştır. Ülkemizde bu hastalığın tedavisi için beş farklı madde sınıfından on ilaç ruhsatlandırılmış olup, bu ilaçlar tek başlarına veya daha sık tercih edildiği üzere kombinasyon halinde kullanılmaktadır. PAH'daki güncel tedavinin esas amacı hastanın tatmin edici bir klinik seviyede (DSÖ fonksiyonel sınıf I veya II), sağ kalp yetmezliği ve hastalık ilerlemesi olmaksızın stabilize edilmesidir. Kombinasyon tedavisinin kullanıldığı randomize, yüksek hasta sayılı, yeni sayılabilecek bir klinik çalışmada bile bu hedef hastaların ancak %40'ında sağlanabilmiştir (95).

Günümüzde MCT modeli tekrarlanabilir, ucuz ve titiz teknik beceri gerektirmemesi nedeniyle sıklıkla PH modeli olarak kullanılmaktadır. MCT'nin nasıl PH oluşturduğu birçok çalışmaya konu olmuştur. TGF- β reseptörü, aktivin-A reseptörü benzeri kinaz-1 ve smad 3,4 ekspresyonunun MCT ile tedavi edilen sıçanların akciğerlerinde azaldığı gösterilmiştir (160). Bu durum, MCT'nin sıçanların akciğerlerindeki BMPR-2 proteini ekspresyonunu azaltması ile de ilişkilidir. Bu da TGF-smad ve BMPR-2 sinyalleşmesinin MCT ile indüklenen PH'de bozulduğunu gösterir ki aynı zamanda insan PH'si ile paylaşılan bir karakteristiktir (155).

PAH'da artmış bağışıklık hücrelerinin perivasküler birikimi ve damar içi infiltrasyonlarının yanı sıra bazı sitokin ve kemokinlerin dolaşımdaki seviyelerinin anormal bir şekilde yükselmesi, pulmoner endotel disfonksiyonu ve enflamasyon arasındaki karmaşık etkileşimin, hastalığın gelişimindeki esas etkenlerden olduğunu düşündürmektedir (170). Bu anlamda, grup 1 PH'de sıklıkla kullanılan vazodilatör tedaviye akciğer dokusunda antienflamuar etkisi kanıtlanmış bir ajanı ilave etmek, daha önce hiç test edilmemiştir. PAH modelinin MCT ile oluşturulduğu ratlarda tek başına SİL'in kullanıldığı grupta doku NO sayısal olarak MCT gruptan daha yüksek olsa da aradaki fark anlamlı bulunmamıştır. Ancak kombine ilaç grubunda doku NO belirgin bir şekilde daha yüksek saptanmıştır. NO esas olarak endotel tarafından üretilir ve belki de pulmoner vazodilatörler içerisinde en yaygın çalışılanıdır. NO'nun vasküler sisteme olan etkisi sadece vazodilatasyon değildir. Vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu, DNA sentezini ve kollajen üretimini cGMP'nin aktivasyonu yoluyla inhibe eder (61,62). Ayrıca NO, proliferasyon üzerindeki etkilerden bağımsız olarak vasküler düz kas hücre

migrasyonunu da inhibe edici etki gösterir (63). Ancak proliferasyonu inhibe etmek için vazodilatör etki yapan konsantrasyondan çok daha yüksek NO seviyeleri gereklidir, bu da hücrel proliferasyonu inhibe eden cAMP kinaz yolağının cGMP tarafından eş zamanlı aktivasyonunu düşündürmektedir (46).

NO yolağının bozulması, PH patobiyolojisine katkıda bulunan önemli bir etkidir. Ekshale edilen havadaki NO ve bronkoalveolar lavajdaki NO biyokimyasal reaksiyon ürünleri, PAH'lı hastaların akciğerlerinde kontrollere göre daha düşüktür ve düzeyleri PH derecesi ile ters orantılıdır (57,58). İdiyopatik PAH'lı bireylerin solunan nefesinde NO, sağlıklı sigara içmeyen kontrollerle ilişkili PH hastasından anlamlı derecede daha düşüktür (59). Erken veriler, PAH hastalarında pulmoner arterlerin vasküler endotelyumunda immün boyama ile ölçülen eNOS ekspresyonunun azaldığını göstermiştir. Bu azalış, morfolojik arteriyel değişikliklerin ciddiyeti ile ters orantılı olarak raporlanmıştır (104). Bununla birlikte bazı araştırmacılar PH'da artmış veya değişmemiş eNOS immün boyanma göstermişlerdir (110,171). Dahası, PAH'daki pleksiform lezyonlarda yüksek eNOS III ekspresyonunun kanıtı da ileri sürülmüştür (172). Bu durumu açıklamak için ileri sürülen birleştirici hipotez, eNOS ekspresyonundan çok aktivite azalması olduğu ve de eNOS enziminin yanında, diğer NOS enzimlerinin seviye yada aktivitesindeki değişiminde etkili olduğu yönündedir. Bu anlamda NO'in pulmoner hipertansiyonun ileri aşamalarında fazlaca izlenen pulmoner vasküler remelinge direkt olarak katkı veren endojen NO'nun PH'da yüksek tutulması sadece PAB'ı düşürmekle kalmayıp aynı zamanda PH'un esas belirleyicisi olan vasküler yeniden şekillenmeyi de olumlu etkilemesi yüksek olasılıktır.

Çalışmamızda gruplar histopatolojik olarak incelendiğinde akciğer dokusunda MCT beklendiği şekilde hem interstisyum hem de pulmoner damar duvarı etrafında mononükleer hücre infiltrasyonu ve pulmoner küçük damarların media tabakasında kalınlık artışına yol açmıştır. Bu durum pulmoner hipertansiyonda izlenen değişiklikler ile uyumlu olup, TAD ve SİL'in beraber kullanıldığı grupta hem infiltrasyonun hem de duvar kalınlığının azaldığı, monoterapi gruplarında enflamasyonun devam ettiği, buna karşı TAD grubunda media tabakasındaki kalınlık artışının gerilediği saptanmıştır.

PAH'da PGI-2 ve NO'nun indüklediği ikinci haberciler olan cAMP ve cGMP'yi hidrolize eden PDE'lerin artmış aktiviteleri önceden beri bilinmektedir (173). cAMP protein kinaz A'yı hedefliyerek hücrel proliferasyonu bloke edici etki gösterir. Bunu sikline bağlı kinaz (cdk) 4'ün inhibisyonu, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (erk) aktivasyonu 11 ve cdk2 inhibitörü p27kipl'in yukarı regülasyonu yoluyla yaptığı

bildirilmiştir (174). Düz kas hücre proliferasyonu üzerine cAMP kadar olmasa da cGMP'nin de etkisi gösterilmiştir.

Deneysel PAH'da, pulmoner vasküler yeniden şekillenme öncesi karışık inflamatuvar hücreleri içeren perivasküler enflamatuvar infiltratların izlenmesi, PAH'da enflamatuvar ve bağışıklık sistemleri uyumsuzluğunun var olduğunu ve yeniden şekillenmeye katkıda bulunduğu işaret etmektedir. Bu görüşle uyumlu olarak, PAH hastalarının akciğerlerinde yüksek derecede organize lenfosit birikimlerine rastlanabilmektedir (175). Benzer şekilde, dolaşımdaki enflamatuvar mediatör düzeylerinin PAH'da daha kötü bir klinik sonuç ile paralel seyir izlediği ve dolaşımdaki hücre alt gruplarında bir takım değişikliklerin gözlenebileceği rapor edilmiştir (70).

Son araştırmalar, pulmoner vasküler hücrelerin PAH'da pulmoner vasküler yeniden şekillenmeye katkıda bulunan önemli lokal çözünür sinyal kaynakları olduğuna dair kanıt sunmaktadır. Gerçekte, PAH hastalarından alınan PASMC'ler, endotelial hücreler, fibroblastlar ve miyofibroblastlar, çeşitli sitokinlerin ve kemokinlerin ve ICAM1 gibi önemli enflamatuvar hücre adezyon moleküllerinin artmış ekspresyonu ile karakterize belirgin bir pro-enflamatuvar duruş sergilemektedirler (3). IL-1, IL-6, LTB4, makrofaj migrasyon inhibitör faktörü, leptin ve TNF- α 'nın aşırı lokal sekresyonu ve FoxO1 inaktivasyonu, PAH'daki pulmoner vasküler ağda yapısal ve fonksiyonel değişikliklere aracılık etmede önemli roller oynuyor gibi görünmektedir (68,72). Ortaya konulan tüm bu enflamasyon ile PAH arası etkileşim kanalları, enflamasyonu baskılayıcı ilaçların bu hastalıkta etkili olabileceğini işaret etmektedir.

Çalışmamızda monoterapi gruplarında, perivasküler alan ve intersitisyumda mononükleer hücre infiltrasyonunda belirgin bir farklılık olmamış, SIL ve TAD'ın beraber kullanıldığı grupta ise enflamasyon dikkat çekici bir şekilde baskılanmıştır. Yani SIL'in vazodilatör TAD'a eklenmesinin enflamasyonu azaltıcı bir etki ortaya koyduğundan bahsedilebilir ki, bu durum karmaşık patofizyolojisi nedeniyle monoterapi yada sadece vazodilatör tedavi yerine farklı etkileri olan değişik ilaç kombinasyonlarının PAH'da daha etkili olabileceği fikrini desteklemektedir.

Ölçülen sağ ventrikül basınçlarına göre MCT'nin basınç arttırıcı etkisi üzerine SIL'in tek başına veya kombine kullanımda belirgin bir etkisi saptanmamıştır. Ancak belirtmelidir ki çalışmamızda ölçülen numerik değerlerin sayısal anlamda hem MCT grupta hem diğer gruplarda aşırı farklı olmaması, ortaya çıkan etkinin ölçülmesini sınırlandırmış olabilir. Buna karşın TAD kullanımının pulmoner basınç azaltıcı terapötik potansiyeli bir kere daha doğrulanmıştır.

De Franceschi ve ark. (176) PDE-4 enziminin önemini, pulmoner hipertansiyonun sık ratlanan bir morbidite nedeni olduğu olarak hücreli transgenik farelerde araştırmışlardır. Her ne kadar olarak hücreli anemi (OHA) DSÖ grup1 PAH nedenleri arasından çıkarılmış olsa da, yabancı tip ve transgenik olarak hücreli (Hbbs/Hbbs) fareleri 7 gün boyunca hipoksiye (%8 O₂) maruz bırakmanın; hem bronkoalveolar lavajdaki (BAL) hem de periferik dolaşımdaki nötrofil sayısını arttırdığı, BAL'dan bakılan IL1 β , IL10, IL6 ve TNF- α düzeylerini yükselttiği, endotelin-1, siklo-oksijenaz-2, anjiyotensin dönüştürücü-enzim ve IL-1 β gen aktivasyonlarını belirgin şekilde arttırdığını rapor etmişlerdir. Bu şekilde enflamasyonun OHA'daki PH patogenezindeki rolünün önemli olabileceğini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada OHA'lı fare akciğerlerinde, uzamış hipoksinin PDE-4'e ilave PDE-1'inde gen ekspresyonunun belirgin şekilde arttırdığı, bu farelere PDE-4 inhibitörü rolipram verildiğinde, hipoksinin neden olduğu PDE-4 ve PDE-1 geninin yukarı regülasyonunun önüne geçildiği ve ayrıca büyük olasılıkla hem vasküler tonusu hem de enflamatuvar faktörlerin modülasyonu yoluyla PAH gelişiminin engellendiği rapor edilmiştir. Ancak belirtmelidir ki OAH'da pulmoner hipertansiyon gelişiminde PAH patogenezi biraz farklıdır; oraklaşmış eritrositlerin neden olduğu mikrovasküler oklüzyon ve mikroenfarkt kaynaklı akut-kronik akciğer hasarı esas önemli etkenlerdir (177).

PDE-4 inhibitörünün grup 1 PAH'daki önemini işaret eden bir çalışma daha önce Izicki ve arkadaşlarınca (178) yapılmıştır. Bu çalışmada bir PDE-4 inhibitörü olan roflumilast'ın hem MCT'nin hem de hipoksinin indüklediği PAH'daki etkinliği monoterapi olarak değerlendirilmiştir. MCT enjeksiyonundan (60 mg x kg⁻¹ s.k) hemen sonra başlanan roflumilast [(0.5-1.5 mg x kg⁻¹) gün(-1)] 21. güne kadar kullanıldığında PH gelişimini, sağ ventrikül hipertrofisini ve 21. gün distal damar muskularizasyonunu zayıflattığını raporlamışlardır. Ayrıca roflumilast yüksek doz kullanıldığında, 21. günde akciğer dokusunda gözlenen IL-6 ve MCP-1 mRNA'lardaki artışları azalttığı bildirilmiştir. İlaveten, MCT'den sonraki 21-42. günler arasında roflumilast yüksek doz kullanıldığında PH'un tersine döndüğü, neredeyse PAB değeri ve pulmoner vasküler yapının normal haline ulaştığına dair güçlü bir kanaate varılmıştır. Ortaya çıkan bu etkinin hipoksi modelinde de izlendiği savunulmuştur. Her ne kadar bizim çalışmamızı planlarken böyle bir çalışmanın varlığından haberimiz olsa da dikkatimizi çeken şey, bu kadar pozitif bulguların olduğu bir çalışmadan sonra bir dekattan daha uzun bir süre geçmiş olmasına rağmen bu alanda ne bir prelinik ne de klinik bir çalışmanın yapılmamış olmasıdır. Yaptığımız çalışmada hem başka bir PDE-4

inhibitörünü ayrı olarak hem de bilinen bir tedavi olan vazodilatör TAD'a ilave edildiğinde PAH'da bir fark yaratıp yaratmayacağı test edilmiştir. Nitekim, bizim sonuçlarımıza göre kombine ilaç kullanımı grubunda hem enflamasyon hem de doku NO düzeyleri daha iyi bulunmuştur. Distal pulmoner arter muskularizasyonu, kombine ve TAD gruplarında azalmış, hemodinamik olarak kombine ilaç grubunda ilave bir farklılık saptanmamıştır. Tek başına SİL'ne distal pulmoner arter muskularizasyonu ne de PAB değeri üzerine anlamlı bir etki ortaya koyamamıştır. Bu durum, belki kullandığımız SİL dozunun düşük kalması veya grup etkisinin zayıf olmasından kaynaklanabilir. Ancak roflumilast'ın PAH'a özgü bir tedavi olmamasına rağmen PAH'da tek başına kullanılıp, bu kadar etkili olduğunun raporlanmasının biraz da kuşku yaratan durumdur.

Growcot E.J ve ark. (179) PH'si olan hastaların distal pulmoner arterlerinden alınan düz kas hücrelerine kültür ortamında PDGF ve cAMP düzeylerini etkileyen ilaçlar verilerek proliferasyon, DNA sentezi ve apoptozisi değerlendirmişlerdir. Roflumilast ve SİL verdiklerinde hücre içi cAMP artışının her ikisinde benzer oranda olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada PDE-4 inhibisyonun serumla uyarılmış PSMC proliferasyonu kadar DNA sentezini de inhibe ettiği, iloprost ve PDE-4 inhibitörü ile ikili tedavinin önemli ölçüde daha fazla antimitojenik etki gösterdiği raporlanmıştır. Bu çalışmada ayrıca agonistin indüklediği DNA sentezinin hem SİL, hem roflumilast hem de rolipram için doza bağımlı olduğu şeklinde raporlanmıştır. Literatürde her iki molekülün de enflamasyonun patogeneğinde yoğun rol aldığı KOAH ve astım başta olmak üzere çalışıldığı ortak hastalıklar mevcuttur (180). SİL'in antienflamatuvar etkileri, sigara içenler, KOAH hastaları ve normal kontrollerden alınan bronş epitel hücrelerinde ve balgam hücrelerinde değerlendirilmiştir (181). TNF- α ve IL-8 düzeyleri, KOAH'lı hastalardan alınan bronşiyal epitelyal ve balgam hücrelerinde kontrollere veya sigara içenlere göre önemli ölçüde daha yüksek bir seviyede saptanmıştır. SİL, bronş epiteli ve balgam hücreleri tarafından TNF- α salınımını ile balgam hücreleri tarafından GM-CSF salınımını önemli ölçüde azaltmış, IL-8 düzeylerini ise etkilememiştir. Ayrıca KOAH hastalarından alınan bronş biyopsilerinde, SİL tedavisi KOAH'da hastalık şiddeti ile korelasyon gösteren CD8+ ve CD68+ hücrelerinde azalmaya neden olmuştur. Plasebo ile karşılaştırıldığında subepitelyal CD4 + hücrelerinin (%42) ve nötrofillerin (%37) de belirgin azaldığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlara bakılarak antienflamatuvar etkisinin güçlü olduğu söylenebilir (181,182).

PDE-4 inhibitörleri ve PH ile ilgili diğer bir çalışma Siemtz ve ark. (183) tarafından yapılan grup 3 PH ile ilgili bir deneysel çalışmadır. Bu çalışmada sigaranın

neden olduğu amfizem ve bu durum ile ilişkili PH'da TAD ve piclamilast (PDE-4 inhibitörü)'ün her birinin ayrı ayrı ve kombine kullanımlarının önleyici etkisi fareler üzerindeki modelde araştırılmıştır. Altı aylık uzun süreli çalışmada TAD, piclamilast veya bunların her ikisinin kombinasyonu ile önleyici tedavinin, sigara dumanına maruz kalmanın neden olduğu amfizem gelişimini engellediği, akciğer kompliansını, tidal volümü, akciğer vasküler yapısının yapısal yeniden şekillenmesinin iyileştirdiği, sağ ventrikül sistolik basınç artışını ve sağ ventrikül hipertrofisini neredeyse tamamen önlediği rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada sigaranın indüklediği alveol makrofaj artışı üzerine kombinasyon tedavisinin olumlu bir etki yapmadığı buna karşın monoterapinin etkili olduğu bildirilmiştir.

NO, ANP ve diğer bazı vazodilatörlerin vasküler tonusu düzenlemek için cGMP'yi kullandıkları iyi bilinmektedir (52,105,107). PDE-5, cGMP hidrolizine oldukça spesifiktir ve bazal koşullar altında düz kas hücrelerinde en aktif cGMP hidrolizi sağlayan PDE olduğu düşünülmektedir (184). cGMP, cGMP'ye bağımlı protein kinazı (PKG) aktive eder. Bu şekilde cGMP'deki bir artış, vazodilatasyona yol açan hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun azalmasına neden olur (185). Bu etkide cAMP bağımlı protein kinazın (PKA) etkisi olmadığı düşünülür. Bu durum, aortik düz kasda cGMP'nin neden olduğu gevşemesinin tamamen ortadan kalktığı, cAMP'ye bağlı gevşemenin etkilenmediği, PKG-1'i eksik fareler kullanılarak doğrulanmıştır (186). Ancak miyozin fosfatazın düzenleyici miyozin bağlayıcı alt biriminin (187), IP3 reseptörü ile ilişkili cGMP kinaz substratının (IRAG) (188) ve kalsiyumla aktive edilen büyük K^+ (BKCa) kanalları (189) gibi spesifik cAMP'nin indüklediği PKA substratlarının fosforilasyonu da, kas tonusunun zayıflaması ile sonuçlanan hücre içi kalsiyumun azalmasına katkıda bulunan bir etkidir (190). Bu nedenle hem cGMP hem de cAMP, esas olarak hücre içi kalsiyumun azaltılması veya miyozin fosfatazın aktivasyonu yoluyla akut düz kas gevşemesini modüle eder (191). Tüm bu etkiler yukarıda bahsedilen değişik PH alt gruplarındaki PDE-4 enzim inhibitörlerinin vazodilatör etkilerini kısmen de olsa açıklayabilir (176,178,183).

Çalışmamızda ekokardiyografik olarak, PH ile ilgili direkt bir bulgu kabul edebileceğimiz, sağ kalp genişliğini gösterir LV/RV oranı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da en düşük MCT grubunda bulunurken, tüm tedavi grupları ve kontrol grubunda ise numerik olarak birbirine çok yakın değerler saptanmıştır. Ayrıca ekokardiyografik

olarak ortalama PAB ölçümünde kullanılan PAT değeri yine en düşük, istatistiksel olarak anlamlı sınıra yakın bir şekilde MCT grupta tespit edilmiş, kontrol ve tedavi gruplarında ise birbirine yakın bulunmuştur. Bu bulgular invazif hemodinamik ve histolojik bulgularla bir miktar tutarsızlık göstermektedir. Novelli ve ark. (192) yeni yayımlanmış çalışmalarında, sıçanlarda 13 Mhz lineer prob kullanarak MCT sonrası yüksek frame hızında ekokardiyografik bulguların zamana göre değişimini irdelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada sağ kalp ile ilgili bulguların MCT enjeksiyonundan 3 hafta sonra belirginleşmeye başladığı ve 5. haftada maksimum değerine ulaştığı bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada sağ ventrikül sistolik fonksiyonlarını gösteren TAPSE ve sağ ventrikül alan değişimi gibi parametreler de kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda ratlara sadece deney sonunda (5.hafta) ekokardiyografi yapılmış, TAPSE ve sağ ventrikül alan değişimi hem kullanılan ekokardiyografik probun görüntüleme yeteneğindeki sınırlılıkları, hem de numerik olarak bulunan değerlerin küçük olması ve hataya çok açık doğası nedeniyle değerlendirmeye alınmamıştır.

Deneysel olarak hayvanları HIV, schistosomiasis, ovalbumin, IL-6 veya Fra-2'nin aşırı üretimi gibi bir immünolojik uyarıya maruz bırakmak PH'yi tetikleyebilir (159). Bu PH modellerinde enflamatuvar tetikleyicilerin veya şistozomiazisdeki tip 2 enflamasyon gibi enflamatuvar kaskadın blokajının, pulmoner vasküler hastalık fenotipinin gelişimini önleyebildiği gösterilmiştir (193). Bununla birlikte, klinik anlamda enflamasyonu bloke etme sadece bir hastalıkta işe yaramıştır ki bu da sistemik lupus eritematosus'dur (194). PAH patogenezinde altta yatan veya eşlik eden enflamasyon kanıtlarının çok fazla olmasına (158) ve prelinik çalışmalarda gösterilen etkinliklere rağmen, 'enflamasyonun baskılanması şimdiye kadar neden klinik pratiğe yansımamıştır' şeklinde bir soruya karşılık farklı teoriler ileri sürülebilir ki, bunlardan ilk ve en önemlisi insanlardaki PAH'a eşlik eden enflamasyonun karmaşık doğası ve bilinmeyenlerinin olmasıdır. Muhtemelen vasküler hastalığı hem arttıran hem de baskılayan farklı enflamasyon tipleri bir arada bulunmaktadır (193). Bağışıklık sisteminin tümden baskılanması hem zararlı hem de kompensatuvar yolları hedefler, böylece potolojik değişimin yanısıra faydalı mekanizmalar da bloke edilmiş olur. Alternatif bir hipotez de zamanlama ilgili bir sorun olabileceği şeklindedir; enflamasyon hastalığı tetikleyebilir, ancak yerleşik hastalıkta artık patojenik olmayabilir. İlaveten, enflamasyon bir epifenomendir yani; hastalıkta aktivasyonu artıyorken, vasküler hastalıkla ilişkisi yoktur veya geç olarak ortaya çıkan intimal ve medial patolojinin bir etkisi olarak kendine yer ediniyor olabilir. Tüm bunlar PAH ile ilgili daha önceki klinik çalışmalarda

antienflamatuvar tedavilerin etkisizliğini izah edebilecek teorilerdir. Bununla beraber PAH'lı hastalarda enflamatuvar yolları hedefleyen bir takım yeni biyolojik ajanlarla yapılan birçok klinik çalışmanın henüz yeni başladığı veya hala devam ettiği bilinmelidir. Bunlar arasında, sistemik skleroz ile ilişkili PAH'lı hastalarda kimerik bir anti-insan CD20 (ClinicalTrials.gov tanımlayıcısı NCT01086540) olan rituksimab; PAH hastalarında insansı bir anti-IL-6 reseptör antikoru (ClinicalTrials.gov tanımlayıcısı NCT02676947) olan tocilizumab; BMPR2 ekspresyonunu yukarı regüle ettiği gösterilen bir kalsinörin inhibitörü ve FKBP12'nin (12-kDa FK506 bağlayıcı protein) bir bağlayıcı ortağı olan FK506; ve bir rekombinant protein olarak üretilen elastaz inhibitörü sayılabilir (3).

Çalışmamızdaki bir diğer önemli bulgumuz da sol ventrikül diyastolik fonksiyonlar ile ilgili olan mitral dolum dalga paternlerindeki değişimdir. MCT kullanımı sonrası sol ventrikülün diyastolik erken geç dolumu etkilenmiştir ve TAD kullanımında diğer ilaç gruplarına göre olumlu anlamda değişim izlenmiştir. Histolojik olarak MCT kullanılan grup kalp dokularında enflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edilmiş olup, bu durumun miyokardiyal diyastolik fonksiyonları etkilemesi olasıdır. Miyokardiyal infiltrasyon, Gomez-Arroyo ve ark tarafından da bildirilen, MCT-PH modelinin dezavantajlarından biridir (160). Çalışmamızda miyokardiyal infiltrasyon tedavi kollarının herbirinde düzelmiştir. Ancak beklenilenin aksine, diyastolik fonksiyon anlamında en iyi görüntü veren grubun kombinasyon tedavisi alan grup olacağı düşünülse de sadece TAD alan grup daha başarılı çıkmıştır. PDE-5 inhibitörlerinin erişkinlerde tedavisi oldukça zor olan korunmuş EF'li kalp yetmezliğinde gelişen PH'da kullanımı ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların bir kısmı olumsuz sonuçlar bildirmişken, bir kısmı da hem invazif hemodinamik bulgularda, hem de klinik göstergelerde iyileşme bildirmiştir (195,196).

Çalışmamızda silomlastın olası etkisi durumunda enflamasyon ile ilişkili oksidatif stres parametreleri de değerlendirilmiş olup, kombine ilaç kullanılan grupta ve SİL grubunda oksidatif stres parametrelerinde tutarlı bir değişim izlenmemiştir. Ancak daha önce yapılan bazı çalışmalarda PDE-4 enzim inhibisyonunun oksidatif stresi azalttığını söylemek gerekir (197).

Çalışmanın limitasyonlarından sayılabilecek birisi çalışmada bir antienflamatuvar ajan kullanılmasına rağmen etki mekanizmasını işaret etme adına IL-6, TNF- α gibi herhangi bir enflamatuvar belirleyicinin çalışmaya dahil edilmemesidir. Ekokardiyografik olarak TAPSE, sağ ventrikül fraksiyone alan değişimi gibi

parametrelerle sağ ventrikülün fonksiyonel değerlendirmenin yapılmamış olması da bir gerçektir. Ayrıca, değerlendirilen hemodinamik parameterleler arasında direkt PAB ölçümü uygulanmamış olup onun yerine sistolik sağ ventikül basınç kaydı alınmış, pulmoner vasküler direnç hesabı, kardiyak output gibi parametreler ölçülmemiştir.

Sonuç; MCT ile indüklenen PAH'da tek başına SİL'in PAB'ı işaret eden sağ ventrikül sistolik basıncı ve distal pulmoner arter duvar kalınlaşması üzerine belirgin bir etkisi izlenmemiştir. Ancak, bir antienflamatuvar ajan olarak geliştirilen bu PDE-4 inhibitörünün TAD ile kombine kullanımı, histolojik olarak PAH'a eşlik eden veya patogeneizde önemli gibi duran enflamasyon ve doku NO düzeylerini iyileştirmektedir. Bu ajan ile ilgili farklı dozlar veya başka PAH modelleri ileride yapılacak çalışmaların araştırma konusu olabilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Şimdiye kadar yapılan PAH tedavisi çalışmalarında pulmoner vasküler yatağa vazodilatör etki yapan bir ajan ile hastalığın patogenezinde önemli olduğu düşünülen enflamasyonu baskılayan bir PDE-4 inhibitörü beraber kullanılmamıştır. Çalışmamızda TAD ve SİL'in kombine kullanıldığı grupta MCT grubuna göre, hem pulmoner perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonunun hem de duvar kalınlığının azaldığı, monoterapi gruplarında enflamasyonun devam ettiği, buna karşı TAD grubunda media tabakasındaki kalınlık artışının gerilediği saptanmıştır. Yani SİL tek başına değil de kombine kullanımında enflamasyonu azaltıcı etki ortaya koymuştur. Bahsedilmesi gereken belki de çok daha önemli bir bulgu, TAD ile kombinasyonunun doku NO düzeylerini MCT grubuna göre belirgin yükseltmesidir. Bununla birlikte, ölçülen sağ ventrikül basınçlarına göre MCT'nin pulmoner basınç arttırıcı etkisi üzerine SİL'in tek başına veya kombine kullanımda belirgin bir etkisi tespit edilememiştir. Buna karşın TAD kullanımının pulmoner basınç azaltıcı terapötik potansiyeli bir kere daha doğrulanmıştır.

Çalışmamızda ekokardiyografik olarak, PH ile ilgili direkt bir bulgu kabul edebileceğimiz, sağ kalp genişliğini gösterir LV/RV oranı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da en düşük MCT grupta saptanmış, tüm tedavi grupları ve kontrol grubunda ise numerik olarak birbirine çok yakın değerler bulunmuştur. Ayrıca ekokardiyografik olarak ortalama PAB ölçümünde kullanılan PAT değeri yine en düşük, istatistiksel olarak anlamlı sınıra yakın bir şekilde MCT grupta tespit edilmiş, kontrol ve tedavi gruplarında ise birbirine yakın değerler bulunmuştur. Bu bulgular invazif hemodinamik ve histolojik bulgularla bir miktar tutarsızlık göstermektedir.

Her ne kadar pulmoner arter basıncı üzerine belirgin direkt bir etkisi izlenmese de, SİL'in farklı dozları ve/veya başka PAH modelleri ile yapılacak çalışmalar PAH'da PDE-4 enzim inhibisyonunun öneminin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Hansmann G, Klepetko W, Lancellotti P, Matucci M, McDonagh T, Pierard LA, Trindade PT, Zompatori M, Hoeper M; ESC Scientific Document Group. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 2016, 37(1): 67-119.
2. Farber HW, Miller DP, Poms AD, Badesch DB, Frost AE, Muros-Le Rouzic E, Romero AJ, Benton WW, Elliott CG, McGoon MD, Benza RL. Five-Year outcomes of patients enrolled in the REVEAL Registry. *Chest* 2015, 148(4): 1043-54.
3. Humbert M, Guignabert C, Bonnet S, Dorfmueller P, Klinger JR, Nicolls MR, Olschewski AJ, Pullamsetti SS, Schermuly RT, Stenmark KR, Rabinovitch M. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. *Eur Respir J* 2019, 53(1): 1801887.
4. Hautefort A, Girerd B, Montani D, Cohen-Kaminsky S, Price L, Lambrecht BN, Humbert M, Perros F. T-helper 17 cell polarization in pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2015, 147: 1610-20.
5. Stacher E, Graham BB, Hunt JM, Gandjeva A, Groshong SD, McLaughlin VV, Jessup M, Grizzle WE, Aldred MA, Cool CD, Tuder RM. Modern age pathology of pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2012, 186: 261-72.
6. Rabinovitch M, Guignabert C, Humbert M, Nicolls MR. Inflammation and immunity in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Circ Res* 2014, 115(1): 165-75.
7. Tamosiuniene R, Tian W, Dhillon G, Wang L, Sung YK, Gera L, Patterson AJ, Agrawal R, Rabinovitch M, Ambler K, Long CS, Voelkel NF, Nicolls MR. Regulatory t cells limit vascular endothelial injury and prevent pulmonary hypertension. *Circulation research* 2011, 109: 867-79.

8. Molossi S, Clausell N, Rabinovitch M. Reciprocal induction of tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β activity mediates fibronectin synthesis in coronary artery smooth muscle cells. *J Cell Physiol* 1995, 163: 19–29.
9. Courboulin A, Tremblay VL, Barrier M, Meloche J, Jacob MH, Chapolard M, Bissierier M, Paulin R, Lambert C, Provencher S, Bonnet S. Kruppel-like factor 5 contributes to pulmonary artery smooth muscle proliferation and resistance to apoptosis in human pulmonary arterial hypertension. *Respir Res* 2011, 12: 128.
10. Humbert M, Monti G, Brenot F, Sitbon O, Portier A, Grangeot-Keros L, Duroux P, Galanaud P, Simonneau G, Emile D. Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 151: 1628-31.
11. Castro A, Jerez MJ, Gil C, Martinez A. Cyclic nucleotide phosphodiesterases and their role in immunomodulatory responses: advances in the development of specific phosphodiesterase inhibitors. *Med Res Rev* 2005, 25: 229-44.
12. Janjua S, Fortescue R, Poole P. Phosphodiesterase-4 inhibitors for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020, 5(5):CD002309,
13. Sakkas LI, Mavropoulos A, Bogdanos DP. Phosphodiesterase 4 Inhibitors in Immune-mediated Diseases: Mode of Action, Clinical Applications, Current and Future Perspectives. *Curr Med Chem* 2017, 24(28): 3054-67.
14. Grootendorst DC, Gauw SA, Verhoosel RM, Sterk PJ, Hoesly JJ, Bredenbröker D, Bethke TD, Hiemstra PS, Rabe KF. Reduction in sputum neutrophil and eosinophil numbers by the PDE4 inhibitor roflumilast in patients with COPD. *Thorax* 2007, 62(12): 1081-7.
15. Hatzelmann A, Schudt C. Antiinflammatory and immunomodulatory potential of the novel PDE4 inhibitor roflumilast in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 2001, 297(1): 267-79.
16. Jones NA, BoswellSmith V, Lever R, Page CP. The effect of selective phosphodiesterase isoenzyme inhibition on neutrophil function in vitro. *Pharmacol Ther* 2005, 18(2): 93-101.
17. Kubo S, Kobayashi M, Iwata M, Takahashi K, Miyata K, Shimizu Y. Disease modifying effect of ASP3258, a novel phosphodiesterase type 4 inhibitor, on subchronic cigarette smoke exposure-induced lung injury in guinea pigs. *Eur J Pharmacol* 2011, 659(1): 79-84.

18. Selige J, Hatzelmann A, Dunkern T. The differential impact of PDE4 subtypes in human lung fibroblasts on cytokine-induced proliferation and myofibroblast conversion. *J Cell Physiol* 2011, 226(8): 1970-80.
19. Park JW, Ryter SW, Kyung SY, Lee SP, Jeong SH. The phosphodiesterase 4 inhibitor rolipram protects against cigarette smoke extract-induced apoptosis in human lung fibroblasts. *Eur J Pharmacol* 2013, 706(1-3): 76-83.
20. Momose T, Okubo Y, Horie S, Suzuki J, Isobe M, Sekiguchi M. Effects of intracellular cyclic AMP modulators on human eosinophil survival, degranulation and CD11b expression. *Int Arch Allergy Immunol* 1998, 117(2): 138-45.
21. Simonneau G, Montani D, Celermajer DS, Denton CP, Gatzoulis MA, Krowka M, Williams PG, Souza R. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2019, 53(1): 1801913.
22. Hoepfer MM, Bogaard HJ, Condliffe R, Frantz R, Khanna D, Kurzyna M, Langleben D, Manes A, Satoh T, Torres F, Wilkins MR, Badesch DB. Definitions and diagnosis of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2013, 62(Suppl): D42-50.
23. Kovacs G, Berghold A, Scheidl S, Olschewski H. Pulmonary arterial pressure during rest and exercise in healthy subjects A systematic review. *Eur Respir J* 2009, 34: 888-94
24. World Health Organization. Chronic cor pulmonale. Report of an expert committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1961, 213: 35.
25. Hatano S, Strasser T, eds. Primary Pulmonary Hypertension. Report on a WHO Meeting. Geneva, *World Health Organization*, 1975.
26. Simonneau G, Montani D, Celermajer DS, Denton CP, Gatzoulis MA, Krowka M, Williams PG, Souza R Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2019, 53(1): 1801913.
27. Simonneau G, Galie` N, Rubin LJ, Langleben D, Seeger W, Domenighetti G, Gibbs S, Lebrec D, Speich R, Beghetti M, Rich S, Fishman A. Clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004, 43: S5-12.
28. Awdish R, Cajigas H. Definition, epidemiology and registries of pulmonary hypertension. *Heart Fail Rev* 2016, 21(3): 223-8.
29. Miller WL, Grill DE, Borlaug BA. Clinical features, hemodynamics, and outcomes of pulmonary hypertension due to chronic heart failure with reduced ejection fraction: pulmonary hypertension and heart failure. *JACC Heart Fail* 2013, 1(4): 290-9.

30. Berthelot E, Bailly MT, Hatimi SE, Robard I, Rezgui H, Bouchachi A, Montani D, Sitbon O, Chemla D, Assayag P. Pulmonary hypertension due to left heart disease. *Arch Cardiovasc Dis* 2017, 110(6-7): 420-31.
31. McGoon MD, Benza RL, Escribano-Subias P, Jiang X, Miller DP, Peacock AJ, Pepke-Zaba J, Pulido T, Rich S, Rosenkranz S, Suissa S, Humbert M. Pulmonary arterial hypertension: epidemiology and registries. *J Am Coll Cardiol* 2013, 62(Suppl): D51-9
32. Peacock AJ, Murphy NF, McMurray JJV, Caballero L, Stewart S. An epidemiological study of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2007, 30: 104-9.
33. Jacobs W, van de Veerdonk MC, Trip P, de Man F, Heymans MW, Marcus JT, Kawut SM, Bogaard HJ, Boonstra A, Vonk Noordegraaf A. The right ventricle explains sex differences in survival in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2014, 145(6): 1230-6.
34. Fayyaz AU, Edwards WD, Maleszewski JJ, Konik EA, DuBrock HM, Borlaug BA, Frantz RP, Jenkins SM, Redfield MM. Global pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension associated with heart failure with preserved or reduced ejection fraction. *Circulation* 2018, 137: 1796-10.
35. Galambos C, Sims-Lucas S, Abman SH. Intrapulmonary bronchopulmonary anastomoses and plexiform lesions in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2016, 193: 574-6.
36. Ghigna MR, Guignabert C, Montani D, Girerd B, Jaïs X, Savale L, Hervé P, Thomas de Montpréville V, Mercier O, Sitbon O, Soubrier F, Fadel E, Simonneau G, Humbert M, Dorfmüller PD. BMPR2 mutation status influences bronchial vascular changes in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2016, 48: 1668-81.
37. Huertas A, Guignabert C, Barberà JA, Bärtsch P, Bhattacharya J, Bhattacharya S, Bonsignore MR, Dewachter L, Dinh-Xuan AT, Dorfmüller P, Gladwin MT, Humbert M, Kotsimbos T, Vassilakopoulos T, Sanchez O, Savale L, Testa U, Wilkins MR. Pulmonary vascular endothelium: the orchestra conductor in respiratory diseases: highlights from basic research to therapy. *Eur Respir J* 2018, 51: 1700745.
38. Hopper RK, Moonen JR, Diebold I, Cao A, Rhodes CJ, Tojais NF, Hennigs JK, Gu M, Wang L, Rabinovitch M. In pulmonary arterial hypertension, reduced BMPR2

- promotes endothelial-to-mesenchymal transition via HMGA1 and its target Slug. *Circulation* 2016, 133: 1783-94.
39. Stenmark KR, Frid M, Perros F. Endothelial-to-mesenchymal transition: an evolving paradigm and a promising therapeutic target in PAH. *Circulation* 2016, 133: 1734-7.
 40. Le Hiress M, Tu L, Ricard N, Phan C, Thuillet R, Fadel E, Dorfmueller P, Montani D, de Man F, Humbert M, Huertas A, Guignabert C. Proinflammatory signature of the dysfunctional endothelium in pulmonary hypertension: role of the macrophage migration inhibitory factor/CD74 complex. *Am J Respir Crit Care Med* 2015, 192: 983-97.
 41. Abe K, Shinoda M, Tanaka M, Kuwabara Y, Yoshida K, Hirooka Y, McMurtry IF, Oka M, Sunagawa K. Haemodynamic unloading reverses occlusive vascular lesions in severe pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res* 2016, 111: 16-25.
 42. Szulcek R, Happe CM, Rol N, Fontijn RD, Dickhoff C, Hartemink KJ, Grünberg K, Tu L, Timens W, Nossent GD, Paul MA, Leyen TA, Horrevoets AJ, de Man FS, Guignabert C, Yu PB, Vonk-Noordegraaf A, van Nieuw Amerongen GP, Bogaard HJ. Delayed microvascular shear adaptation in pulmonary arterial hypertension. role of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 cleavage. *Am J Respir Crit Care Med* 2016, 193: 1410-20.
 43. Mendonça L, Felix NS, Blanco NG, Da Silva JS, Ferreira TP, Abreu SC, Cruz FF, Rocha N, Silva PM, Martins V, Capelozzi VL, Zapata-Sudo G, Rocco PRM, Silva PL. Mesenchymal stromal cell therapy reduces lung inflammation and vascular remodeling and improves hemodynamics in experimental pulmonary arterial hypertension. *Stem Cell Res Ther* 2017, 8: 220.
 44. Dierick F, Héry T, Hoareau-Coudert B, Mougnot N, Monceau V, Claude C, Crisan M, Besson V, Dorfmueller P, Marodon G, Fadel E, Humbert M, Yaniz-Galende E, Hulot JS, Marazzi G, Sassoon D, Soubrier F, Nadaud S. Resident PW1+ progenitor cells participate in vascular remodeling during pulmonary arterial hypertension. *Circ Res* 2016, 118: 822-33.
 45. Yuan K, Orcholski ME, Panaroni C, Shuffle EM, Huang NF, Jiang X, Tian W, Vladar EK, Wang L, Nicolls MR, Wu JY, de Jesus Perez VA. Activation of the Wnt/planar cell polarity pathway is required for pericyte recruitment during pulmonary angiogenesis. *Am J Pathol* 2015, 185: 69-84.
 46. Suresh K, Shimoda LA. Lung Circulation. *Compr Physiol* 2016, 6: 897-943.

47. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L- arginine. *Nature* 1988, 333: 664–6.
48. Palmer LA, Johns RA. Hypoxia upregulates inducible (Type II) nitric oxide synthase in an HIF-1 dependent manner in rat pulmonary microvascular but not aortic smooth muscle cells. *Chest* 1998, 114: 33S–34S.
49. Palmer LA, Semenza GL, Stoler MH, Johns RA. Hypoxia induces type II NOS gene expression in pulmonary artery endothelial cells via HIF-1. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1998, 274: L212– 19.
50. Feelisch M, Rassaf T, Mnaimneh S, Singh N, Bryan Ns, Jourdeuil D, Kelm M. Concomitant S-, N-, and heme-nitros(yl)ation in biological tissues and fluids: implications for the fate of NO in vivo. *FASEB J* 2002, 16: 1775–85.
51. Carvajal JA, Germain AM, Huidobro-Toro JP, Weiner CP. Molecular mechanism of cGMP- mediated smooth muscle relaxation. *J Cell Physiol* 2000, 184: 409-20.
52. Archer SL, Huang JM, Hampl V, Nelson DP, Shultz PJ, Weir EK. Nitric oxide and cGMP cause vasorelaxation by activation of a charybdotoxin-sensitive K channel by cGMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, 91: 7583-7.
53. Pluta RM, Oldfield EH, Bakhtian KD, Fathi AR, Smith RK, Devroom HL, Nahavandi M, Woo S, Figg WD, Lonser RR. Safety and feasibility of long-term intravenous sodium nitrite infusion in healthy volunteers. *PloS one* 2011, 6: e14504.
54. Zuckerbraun BS, George P, Gladwin MT. Nitrite in pulmonary arterial hypertension: Therapeutic avenues in the setting of dysregulated arginine/nitric oxide synthase signalling. *Cardiovas Res* 2011, 89: 542-552.
55. Cinelli MA, Do HT, Miley GP, Silverman RB. Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition. *Med Res Rev* 2020, 40: 158-89.
56. Fagan KA, Tyler RC, Sato K, Fouty BW, Morris KG Jr, Huang PL, et al. Relative contributions of endothelial, inducible, and neuronal NOS to tone in the murine pulmonary circulation. *Am J Physiol* 1999, 277:L472- 8.
57. Dweik RA. The lung in the balance: Arginine, methylated arginines, and nitric oxide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292:L15- 7. ,
58. Kaneko FT, Arroliga AC, Dweik RA, Comhair SA, Laskowski D, Oppedisano R, Thomassen MJ, Erzurum SC.. Biochemical reaction products of nitric oxide as quantitative markers of primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 158: 917- 23

59. Ozkan M, Dweik RA, Laskowski D, Arroliga AC, Erzurum SC. High levels of nitric oxide in individuals with pulmonary hypertension receiving epoprostenol therapy. *Lung* 2001, 179: 233-43.
60. Steudel W, Ichinose F, Huang PL, Hurford WE, Jones RC, Bevan JA, Fishman MC, Zapol WM. Pulmonary vasoconstriction and hypertension in mice with targeted disruption of the endothelial nitric oxide synthase (NOS 3) gene. *Circ Res* 1997;81:34- 41.
61. Klinger JR, Kadowitz PJ. The Nitric Oxide Pathway in Pulmonary Vascular Disease. *Am J Cardiol* 2017;120(8S):S71-9
62. Nakaki T, Nakayama M, Kato R. Inhibition by nitric oxide and nitric oxide-producing vasodilators of DNA synthesis in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 1990, 189: 347-53.
63. Sarkar R, Meinberg EG, Stanley JC, Gordon D. Webb Nitric oxide reversibly inhibits the migration of cultured vascular smooth muscle cells. *RC Circ Res* 1996, 78: 225-30.
64. Ranchoux B, Meloche J, Paulin R, Boucherat O, Provencher S, Bonnet S.. DNA damage and pulmonary hypertension. *Int J Mol Sci* 2016, 17: E990.
65. Meloche J, Le Guen M, Potus F, Vinck J, Ranchoux B, Johnson I, Antigny F, Tremblay E, Breuils-Bonnet S, Perros F, Provencher S, Bonnet S. miR-223 reverses experimental pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015, 309: C363-72
66. Caruso P, Dunmore BJ, Schlosser K, Schoors S, Dos Santos C, Perez-Iratxeta C, Lavoie JR, Zhang H, Long L, Flockton AR, Frid MG, Upton PD, D'Alessandro A, Hadinnapola C, Kiskin FN, Taha M, Hurst LA, Ormiston ML, Hata A, Stenmark KR, Carmeliet P, Stewart DJ, Morrell NW. Identification of microRNA-124 as a major regulator of enhanced endothelial cell glycolysis in pulmonary arterial hypertension via PTBP1 (polypyrimidine tract binding protein) and pyruvate kinase M2. *Circulation* 2017, 136: 2451-67.
67. Zhang H, Wang D, Li M, Plecítá-Hlavatá L, D'Alessandro A, Tauber J, Riddle S, Kumar S, Flockton A, McKeon BA, Frid MG, Reisz JA, Caruso P, El Kasmi KC, Ježek P, Morrell NW, Hu CJ, Stenmark KR.. Metabolic and proliferative state of vascular adventitial fibroblasts in pulmonary hypertension is regulated through a microRNA-124/PTBP1 (polypyrimidine tract binding protein1) / pyruvate kinase muscle axis. *Circulation* 2017, 136: 2468-85.

68. Hurst LA, Dunmore BJ, Long L, Crosby A, Al-Lamki R, Deighton J, Southwood M, Yang X, Nikolic MZ, Herrera B, Inman GJ, Bradley JR, Rana AA, Upton PD, Morrell NW L. TNFalpha drives pulmonary arterial hypertension by suppressing the BMP type-II receptor and altering NOTCH signalling. *Nat Commun* 2017, **8**: 14079.
69. Zabini D, Granton E, Hu Y, Miranda MZ, Weichelt U, Breuils Bonnet S, Bonnet S, Morrell NW, Connelly KA, Provencher S, Ghanim B, Klepetko W, Olschewski A, Kapus A, Kuebler WM. Loss of SMAD3 Promotes Vascular Remodeling in Pulmonary Arterial Hypertension via MRTF Disinhibition. *Am J Respir Crit Care Med* 2018, 197(2): 244-60.
70. Aldabbous L, Abdul-Salam V, McKinnon T, Duluc L, Pepke-Zaba J, Southwood M, Ainscough AJ, Hadinnapola C, Wilkins MR, Toshner M, Wojciak-Stothard B. Neutrophil extracellular traps promote angiogenesis: evidence from vascular pathology in pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016, 36: 2078-87
71. Wang JW, Vu C, Poloso NJ. A prostacyclin analog, cicaprost, exhibits potent anti-inflammatory activity in human primary immune cells and a uveitis model. *J Ocul Pharmacol Ther* 2017, 33: 186-92.
72. Le Hiress M, Tu L, Ricard N, Phan C, Thuillet R, Fadel E, Dorfmueller P, Montani D, de Man F, Humbert M, Huertas A, Guignabert C. Proinflammatory signature of the dysfunctional endothelium in pulmonary hypertension: role of the macrophage migration inhibitory factor/CD74 complex. *Am J Respir Crit Care Med* 2015, 192(8): 983-97.
73. Perros F, Dorfmueller P, Montani D, Hammad H, Waelput W, Girerd B, Raymond N, Mercier O, Mussot S, Cohen-Kaminsky S, Humbert M, Lambrecht BN. Pulmonary lymphoid neogenesis in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2012, 185 : 311-21.
74. Rhodes CJ, Im H, Cao A, Hennigs JK, Wang L, Sa S, Chen PI, Nickel NP, Miyagawa K, Hopper RK, Tojais NF, Li CG, Gu M, Spiekerkoetter E, Xian Z, Chen R, Zhao M, Kaschwich M, Del Rosario PA, Bernstein D, Zamanian RT, Wu JC, Snyder MP, Rabinovitch M. RNA sequencing analysis detection of a novel pathway of endothelial dysfunction in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2015, 192: 356-66.

75. Ma L, Roman-Campos D, Austin ED, Eyries M, Sampson KS, Soubrier F, Germain M, Trégouët DA, Borczuk A, Rosenzweig EB, Girerd B, Montani D, Humbert M, Loyd JE, Kass RS, Chung WK. A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2013, 369: 351-61.
76. Ruffenach G, Chabot S, Tanguay VF, Courboulain A, Boucherat O, Potus F, Meloche J, Pflieger A, Breuils-Bonnet S, Nadeau V, Paradis R, Tremblay E, Girerd B, Hautefort A, Montani D, Fadel E, Dorfmueller P, Humbert M, Perros F, Paulin R, Provencher S, Bonnet S. Role for Runt-related transcription factor 2 in proliferative and calcified vascular lesions in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2016, 194: 1273-85.
77. Boucherat O, Chabot S, Paulin R, Trinh I, Bourgeois A, Potus F, Lampron MC, Lambert C, Breuils-Bonnet S, Nadeau V, Paradis R, Goncharova EA, Provencher S, Bonnet S. HDAC6: a novel histone deacetylase implicated in pulmonary arterial hypertension. *Sci Rep* 2017, 7: 4546.
78. Michelakis ED, Gurtu V, Webster L, Barnes G, Watson G, Howard L, Cupitt J, Paterson I, Thompson RB, Chow K, O'Regan DP, Zhao L, Wharton J, Kiely DG, Kinnaird A, Boukouris AE, White C, Nagendran J, Freed DH, Wort SJ, Gibbs JSR, Wilkins MR. Inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase improves pulmonary arterial hypertension in genetically susceptible patients. *Sci Transl Med* 2017, 9: eaao4583.
79. Rich S, Dantzker DR, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Koerner SK. Primary pulmonary hypertension: a national prospective study. *Ann Intern Med* 1987, 107: 216-23.
80. Trip P, Nossent EJ, de Man FS, van den Berk IA, Boonstra A, Groepenhoff H, Leter EM, Westerhof N, Grunberg K, Bogaard HJ, Vonk-Noordegraaf A. Severely reduced diffusion capacity in idiopathic pulmonary arterial hypertension: patient characteristics and treatment responses. *Eur Respir J* 2013, 42: 15-85.
81. Lawrence G.R, Wyman W.L, MD, Jonathan A, Lanqi H, Mark D.H H, Krishnaswamy C, Scott D.S Eric K.L and Nelson BS . Guidelines for the Echocardiographic Assessment of the Right Heart in Adults: A Report from the American Society of Echocardiography Endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2010, 23: 685-713.

82. Rajaram S, Swift AJ, Condliffe R, Johns C, Elliot CA, Hill C, Davies C, Hurdman J, Sabroe I, Wild JM, Kiely DG . CT features of pulmonary arterial hypertension and its major subtypes: a systematic CT evaluation of 292 patients from the ASPIRE Registry. *Thorax* 2015, 70: 382-7.
83. Ulrich S, Hasler ED, Saxer S, Furian M, Müller-Mottet S, Keusch S, Bloch KE. Effect of breathing oxygen-enriched air on exercise performance in patients with precapillary pulmonary hypertension: randomized, sham-controlled cross-over trial. *Eur Heart J* 2017, 38(15): 1159-68.
84. Pandey A, Garg S, Khunger M, Garg S, Kumbhani DJ, Chin KM, Berry JD. Efficacy and Safety of Exercise Training in Chronic Pulmonary Hypertension: Systematic Review and Meta-Analysis. *Circ Heart Fail* 2015, 8(6): 1032-43.
85. Rich S, Seidlitz M, Dodin E, Osimani D, Judd D, Genthner D, McLaughlin V, Francis G. The short-term effects of digoxin in patients with right ventricular dysfunction from pulmonary hypertension. *Chest* 1998, 114(3): 787-92.
86. Frank H, Mlczoch J, Huber K, Schuster E, Gurtner HP, Kneussl M. The effect of anticoagulant therapy in primary and anorectic drug-induced pulmonary hypertension. *Chest* 1997, 112(3): 714-21.
87. Olsson KM, Delcroix M, Ghofrani HA, Tiede H, Huscher D, Speich R, Grünig E, Staehler G, Rosenkranz S, Halank M, Held M, Lange TJ, Behr J, Klose H, Claussen M, Ewert R, Opitz CF, Vizza CD, Scelsi L, Vonk-Noordegraaf A, Kaemmerer H, Gibbs JS, Coghlan G, Pepke-Zaba J, Schulz U, Gorenflo M, Pittrow D, Hoeper MM Anticoagulation and survival in pulmonary arterial hypertension: results from the Comparative, Prospective Registry of Newly Initiated Therapies for Pulmonary Hypertension (COMPERA). *Circulation* 2014, 129(1): 57-65.
88. Preston IR, Roberts KE, Miller DP, Sen GP, Selej M, Benton WW, Hill NS, Farber HW. Effect of Warfarin Treatment on Survival of Patients With Pulmonary Arterial Hypertension (PAH) in the Registry to Evaluate Early and Long-Term PAH Disease Management (REVEAL). *Circulation* 2015, 132(25): 2403-11.
89. Sitbon O, Humbert M, Jaïs X, Ios V, Hamid AM, Provencher S, Garcia G, Parent F, Hervé P, Simonneau G. Long-term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2005, 111: 3105-11.
90. Rich S, Kaufmann E, Levy PS . The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992, 327: 76-81.

91. Iglarz M, Steiner P, Wanner D, Rey M, Hess P, Clozel M. Vascular effects of endothelin receptor antagonists depends on their selectivity for ETA versus ETB receptors and on the functionality of endothelial ETB receptors. *J Cardiovasc Pharmacol* 2015, 66: 332–7.
92. Correale M, Totaro A, Lacedonia D, Montrone D, Di Biase M, Barbaro Foschino MP, Brunetti ND. Novelty in treatment of pulmonary fibrosis: pulmonary hypertension drugs and others. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2013, 11: 169-78.
93. Vatter H, Seifert V. Ambrisentan, a non-peptide endothelin receptor antagonist. *Cardiovasc Drug Rev* 2006, 24: 63-76.
94. Don GW, Joseph F, Celermajer DS, Corte TJ. Ironic case of hepatic dysfunction following the global withdrawal of sitaxentan. *Intern Med* 2012, 42: 1351-4.
95. Patel T, McKeage K. Macitentan: first global approval. *Drugs* 2014, 74: 127-33
96. Bolli MH, Boss C, Binkert C, Buchmann S, Bur D, Hess P, Iglarz M, Meyer S, Rein J, Rey M, Treiber A, Clozel M, Fischli W, Weller T The discovery of N-[5-(4-bromophenyl)-6-[2-[(5-bromo-2-pyrimidinyl)oxy]ethoxy]-4-pyrimidinyl]-N0-propyl-sulfamide (macitentan), an orally active, potent dual endothelin receptor antagonist. *J Med Chem* 2012, 55: 7849-61.
97. Moncada S .J. Prostacyclin, from discovery to clinical application. *Pharmacol* 1985, 16 Suppl 1: 71-88.
98. Tuder RM, Archer SL, Dorfmueller P, Erzurum SC, Guignabert C, Michelakis E, Rabinovitch M, Schermuly R, Stenmark KR, Morrell NW. Relevant issues in the pathology and pathobiology of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2013, 62(25 Suppl): D4-12.
99. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, McGoon MD, Rich S, Badesch DB, Groves BM, Tapson VF, Bourge RC, Brundage BH, Koerner SK, Langleben D, Keller CA, Murali S, Uretsky BF, Clayton LM, Jöbsis MM, Blackburn SD, Shortino D, Crow JW; Primary Pulmonary Hypertension Study Group. Primary Pulmonary Hypertension Study Group A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1996, 334: 296-301.
100. Olschewski H, Simonneau G, Galie` N, Higenbottam T, Naeije R, Rubin LJ, Nikkho S, Sitbon O, Speich R, Hoeper M, Behr J, Winkler J, Seeger W. Inhaled iloprost in severe pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2002, 347: 322-9.

101. McLaughlin VV, Oudiz RJ, Frost A, Tapson VF, Murali S, Channick RN, Badesch DB, Barst RJ, Hsu HH, Rubin LJ. Randomized study of adding inhaled iloprost to existing bosentan in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2006, 174: 1257-63.
102. Simonneau G, Barst RJ, Galie N, Naeije R, Rich S, Bourge RC, Keogh A, Oudiz R, Frost A, Blackburn SD, Crow JW, Rubin LJ, Treprostinil Study Group. Continuous subcutaneous infusion of treprostinil, a prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 165(6): 800-4.
103. Sitbon O, Channick R, Chin KM, Frey A, Gaine S, Galiè N, Ghofrani HA, Hoepfer MM, Lang IM, Preiss R, Rubin LJ, Di Scala L, Tapson V, Adzerikho I, Liu J, Moiseeva O, Zeng X, Simonneau G, McLaughlin VV; GRIPHON Investigators. Selexipag for the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension. *N Engl J Med* 2015, 373: 2522-33.
104. Lan NSH, Massam BD, Kulkarni SS, Lang CC. Pulmonary Arterial Hypertension: Pathophysiology and Treatment. *Diseases* 2018; 6(2).pii: E38.
105. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, Fleming T, Parpia T, Burgess G, Branzi A, Grimminger F, Kurzyna M, Simonneau G, Sildenafil Use in Pulmonary Arterial Hypertension (SUPER) Study Group. *N Engl J Med* 2005, 353(20): 2148-57.
106. Simonneau G, Rubin L, Galiè N, Barst RJ, Fleming T, Frost A, Engel PJ, Kramer MR, Burgess G, Collings L, Cossons N, Sitbon O, Badesch BD. Addition of sildenafil to long-term intravenous epoprostenol therapy in patients with pulmonary arterial hypertension. *Ann Intern Med* 2008, 149: 521-30.
107. Henrie AM, Nawarskas JJ, Anderson JR. Clinical utility of tadalafil in the treatment of pulmonary arterial hypertension: an evidence-based review. *Core Evid* 2015, 10: 99-109.
108. Galiè N, Brundage BH, Ghofrani HA, Oudiz RJ, Simonneau G, Safdar Z, Shapiro S, White RJ, Chan M, Beardsworth A, Frumkin L, Barst RJ; Pulmonary Arterial Hypertension and Response to Tadalafil (PHIRST) Study Group. Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2009, 119(22): 2894-903.
109. Oudiz RJ, Brundage BH, Galiè N, Ghofrani HA, Simonneau G, Botros FT, Chan M, Beardsworth A, Barst RJ; PHIRST Study Group. Tadalafil for the treatment of

- pulmonary arterial hypertension a double-blind 52-week uncontrolled extension study. *J Am Coll Cardiol* 2012, 60(8): 768-74.
110. Giaid A Saleh D . Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995, 333: 214-21.
 111. Ghofrani HA, Galiè N, Grimminger F, Grünig E, Humbert M, Jing ZC, Keogh AM, Langleben D, Kilama MO, Fritsch A, Neuser D, Rubin LJ; PATENT-1 Study Group Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2013, 369: 330-40.
 112. Ghofrani HA, D'Armini AM, Grimminger F, Hoeper MM, Jansa P, Kim NH, Mayer E, Simonneau G, Wilkins MR, Fritsch A, Neuser D, Weimann G, Wang C; CHEST-1 Study Group. Riociguat for the treatment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2013, 369: 319-29.
 113. Tuğrak M, Küçüköğlü K. Fosfodiesteraz Enzimleri ve İnhibitörleri. *Türkiye Klinikleri* 2016; 5(1): 17-35.
 114. Zuo H, Cattani-Cavaliere I, Musheshe N, Nikolaev VO, Schmidt . Phosphodiesterases as therapeutic targets for respiratory diseases. *Pharmacol Ther* 2019, 197: 225-42.
 115. Jeyaraj SC, Unger NT, Chotani MA. Rap1 GTPases: an emerging role in the cardiovascular. *Life Sci* 2011, 88): 645-52.
 116. Azevedo MF, Faucz FR, Bimpaki E, Horvath A, Levy I, de Alexandre RB, Ahmad F, Manganiello V, Stratakis CA. Clinical and molecular genetics of the phosphodiesterases (PDEs). *Endocr Rev* 2014, 35(2): 195-233.
 117. Conti M, Beavo J. Biochemistry and physiology of cyclic nucleotide phosphodiesterases: essential components in cyclic nucleotide signaling. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 481-511.
 118. Houslay MD, Baillie GS, Maurice DH. cAMP-Specific phosphodiesterase-4 enzymes in the cardiovascular system: a molecular toolbox for generating compartmentalized cAMP signaling. *Circ Res* 2007, 100: 950-66.
 119. Conti M, Richter W, Mehats C, Livera G, Park JY, Jin C. Cyclic AMP-specific PDE4 phosphodiesterases as critical components of cyclic AMP signaling. *J Biol Chem* 2003, 278: 5493-6.
 120. Engels P, Fichtel K, Lübbert H. Expression and regulation of human and rat phosphodiesterase type IV isogenes. *FEBS Lett* 1994, 350: 291-5.

121. Rena G, Begg F, Ross A, MacKenzie C, McPhee I, Campbell L, Huston E, Sullivan M, Houslay MD. Molecular cloning, genomic positioning, promoter identification, and characterization of the novel cyclic amp-specific phosphodiesterase PDE4A10. *Mol Pharmacol* 2001, 59: 996-101.
122. Smith PG, Wang F, Wilkinson KN, Savage KJ, Klein U, Neuberger DS, Bollag G, Shipp MA, Aguiar RC. The phosphodiesterase PDE4B limits cAMP-associated PI3K/AKT-dependent apoptosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2005, 105: 308-16.
123. Engels P, Sullivan M, Müller T, Lübbert H. Molecular cloning and functional expression in yeast of a human cAMP-specific phosphodiesterase subtype (PDE IV-C). *FEBS Lett* 1995, 358: 305-10.
124. Richter W, Jin SL, Conti M. Splice variants of the cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE4D are differentially expressed and regulated in rat tissue. *The Biochemical Journal* 2005, 388 (Pt 3): 803-11.
125. Grootendorst DC, Gauw, SA, Verhoosel RM, Sterk PJ, Hoppers JJ, Bredenbröker D, Rabe, KF. Reduction in sputum neutrophil and eosinophil numbers by the PDE4 inhibitor roflumilast in patients with COPD. *Thorax* 2007, 62(12): 1081-7.
126. Lagente V, Pruniaux MP, Junien JL, Moodley I. Modulation of cytokine-induced eosinophil infiltration by phosphodiesterase inhibitors. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 151(6): 1720-4.
127. Buenestado A, Grassin-Delyle S, Guitard F, Naline E, Faisy C, Israël-Biet D, Sage E, Bellamy JF, Tenor H, Devillier P. Roflumilast inhibits the release of chemokines and TNF- α from human lung macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Br J Pharmacol* 2012, 165(6): 1877-90.
128. Seldon PM, Giembycz MA. Suppression of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor release from human monocytes by cyclic AMP-elevating drugs: role of interleukin-10. *Br J Pharmacol* 2001, 134(1): 58-67.
129. Sohal SS, Reid D, Soltani A, Ward C, Weston S, Muller HK, Wood-Baker R, Walters EH. Evaluation of epithelial mesenchymal transition in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2011, 12(1): 130.
130. Milara J, Lluch J, Almudever P, Freire J, Xiaozhong Q, Cortijo J. Roflumilast N-oxide reverses corticosteroid resistance in neutrophils from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 2014, 134 (2): 314-22.

131. Milara J, Peiró T, Serrano A, Artigues E, Aparicio J, Tenor H, Sanz C, Cortijo J. Simvastatin increases the ability of roflumilast N-oxide to inhibit cigarette smoke-induced epithelial to mesenchymal transition in well-differentiated human bronchial epithelial cells in vitro. *COPD* 2015, 12(3): 320-31.
132. Sisson TH, Christensen PJ, Muraki Y, Dils AJ, Chibucos L, Subbotina N, Tohyama K, Horowitz JC, Matsuo T, Bailie M, Nikam S, Hazama M. Phosphodiesterase 4 inhibition reduces lung fibrosis following targeted type II alveolar epithelial cell injury. *Physiological Reports* 2018, 6(12): e13753.
133. Belleguic C, Corbel M, Germain N, Boichot E, Delaval P, Lagente V. Reduction of matrix metalloproteinase-9 activity by the selective phosphodiesterase 4 inhibitor, RP 73-401 in sensitized mice. *Eur J Pharmacol* 2000, 404(3): 369-73.
134. Baillie GS, Sood A, McPhee I, Gall I, Perry SJ, Lefkowitz RJ, Houslay MD. β -Arrestin-mediated PDE4 cAMP phosphodiesterase recruitment regulates β -adrenoceptor switching from Gs to Gi. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, 100: 940-5.
135. Houslay MD, Baillie GS. β -Arrestin-recruited phosphodiesterase-4 desensitizes the AKAP79/PKA-mediated switching of β 2-adrenoceptor signalling to activation of ERK. *Biochem Soc Trans* 2005, 33: 1333-6.
136. Houslay MD, Adams DR. PDE4 cAMP phosphodiesterases: modular enzymes that orchestrate signalling cross-talk, desensitization and compartmentalization. *Biochem J* 2003, 370: 1-18.
137. Lehnart SE, Wehrens XH, Reiken S, Warriar S, Belevych AE, Harvey RD, Richter W, Jin SL, Conti M, Marks AR. Phosphodiesterase 4D deficiency in the ryanodine-receptor complex promotes heart failure and arrhythmias. *Cell* 2005, 123: 25-35.
138. Down G, Siederer S, Lim S, Daley-Yates P. Clinical Pharmacology of Cilomilast. *Clin Pharmacokinet* 2006, 45(3): 217-33.
139. Calverley PM, Rabe KF, Goehring UM, Kristiansen S, Fabri LM, Martinez FJ. Roflumilast in symptomatic chronic obstructive pulmonary disease: two randomised clinical trials. *Lancet* 2009, 374: 685-94.
140. Giembycz MA, Field SK. Roflumilast: first phosphodiesterase 4 inhibitor approved for treatment of COPD. *Drug Des Devel Ther* 2010, 4: 147-58.

141. Zuo H, Cattani-Cavaliere I, Musheshe N, Nikolaev VO, Schmidt M. Phosphodiesterases as therapeutic targets for respiratory diseases. *Pharmacol Ther* 2019, 197: 225-42.
142. Study report SB207499/001: a single-blind, dose rising study to determine the safety, tolerability and preliminary pharmacokinetics of oral SB207499 in healthy male subjects. *Greenford: GlaxoSmithKline*, 1995 (amended 2001).
143. Reisner C, Morris A, Barnhart F, Tracy LF, Acosta A, Darken P. Cilomilast reduces exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) (abstract). *Chest* 2003, 124(Suppl. 4): 129S.
144. Gamble E, Grootendorst DC, Brightling CE, Troy S, Qiu Y, Zhu J, Parker D, Matin D, Majumdar S, Vignola AM, Kroegel C, Morell F, Hansel TT, Rennard SI, Compton C, Amit O, Tat T, Edelson J, Pavord ID, Rabe KF, Barnes NC, Jeffery PK. Antiinflammatory effects of the phosphodiesterase-4 inhibitor cilomilast (Ariflo) in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003,168: 976-82.
145. Omori, K., & Kotera, J. Overview of PDEs and their regulation. *Circulation Research* 2007, 100, 309–27.
146. Zhang X, Feng Q, Cote RH. Efficacy and selectivity of phosphodiesterase-targeted drugs in inhibiting photoreceptor phosphodiesterase (PDE6) in retinal photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005, 46: 3060-6.
147. Bender AT, Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. *Pharmacol Rev* 2006, 58: 488–520.
148. Francis SH, Morris GZ, Corbin JD. Molecular mechanisms that could contribute to prolonged effectiveness of PDE5 inhibitors to improve erectile function. *Int J Impot Res* 2008, 20: 333-42.
149. Ghofrani HA, Osterloh IH, Grimminger F. Sildenafil: from angina to erectile dysfunction to pulmonary hypertension and beyond. *Nature Reviews. Drug Discovery* 2006, 5, 689–702.
150. Kass DA, Champion HC, Beavo JA. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation. *Circ Res* 2007, 101: 1084-95.
151. Kay JM, Harris P, Heath D. Pulmonary hypertension produced in rats by ingestion of *Crotalaria spectabilis* seeds. *Thorax* 1967, 22(2): 176-9.

152. Shah M, Patel K, Sehgal PB. Monocrotaline pyrrole-induced endothelial cell megalocytosis involves a Golgi blockade mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005, 288(4): C850-62.
153. Kolettis T, Vlahos AP, Louka M, Hatzistergos KE, Baltogiannis GG, Agelaki MM, Mitsi A, Malamou-Mitsi V Characterisation of a rat model of pulmonary arterial hypertension. *Hellenic J Cardiol* 2007, 48(4): 206-10.
154. Shah M, Patel K, Sehgal PB. Monocrotaline pyrrole-induced endothelial cell megalocytosis involves a Golgi blockade mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005, 288(4): C850-62.
155. Zakrzewicz A, Kouri FM, Nejman B, Kwapiszewska G, Hecker M, Sandu R, Dony E, Seeger W, Schermuly RT, Eickelberg O, Morty RE The transforming growth factor-beta/Smad2,3 signalling axis is impaired in experimental pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2007, 29(6): 1094-104.
156. Savai R, Pullamsetti SS, Kolbe J, Bieniek E, Voswinckel R, Fink L, Scheed A, Ritter C, Dahal BK, Vater A, Klussmann S, Ghofrani HA, Weissmann N, Klepetko W, Banat GA, Seeger W, Grimminger F, Schermuly RT. Immune and inflammatory cell involvement in the pathology of idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2012, 185(9): 897-908.
157. Henriques-Coelho T, Oliveira SM, Moura RS, Roncon-Albuquerque R Jr, Neves AL, Santos M, Nogueira-Silva C, La Fuente Carvalho F, Brandão-Nogueira A, Correia-Pinto J, Leite-Moreira AF. Thymulin inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension modulating interleukin-6 expression and suppressing p38 pathway. *Endocrinology* 2008, 149(9): 4367-73.
158. Dorfmueller P, Perros F, Balabanian K, Humbert M. Inflammation in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2003, 22(2): 358-63.
159. Maarman G, Lecour S, Butrous G, Thienemann F, Sliwa K. A comprehensive review: the evolution of animal models in pulmonary hypertension research; are we there yet? *Pulm Circ* 2013, 3(4): 739-56.
160. Gomez-Arroyo JG, Farkas L, Alhussaini AA, Farkas D, Kraskauskas D, Voelkel NF, Bogaard HJ The monocrotaline model of pulmonary hypertension in perspective. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012, 302(4): L363-9.
161. Okada K, Tanaka Y, Bernstein M, Zhang W, Patterson GA, Botney MD. Pulmonary hemodynamics modify the rat pulmonary artery response to injury. A neointimal model of pulmonary hypertension. *Am J Pathol* 1997, 151(4): 1019-25.

162. Microarray analysis reveals pivotal divergent mRNA expression profiles early in the development of either compensated ventricular hypertrophy or heart failure. Buermans HP, Redout EM, Schiel AE, Musters RJ, Zuidwijk M, Eijk PP, van Hardeveld C, Kasanmoentalib S, Visser FC, Ylstra B, Simonides WS. *Physiol Genomics* 2005, 21(3): 314-23.
163. Galderisi M, Cosyns B, Edvardsen T, Cardim N, Delgado V, Di Salvo G, Donal E, Sade LE, Ernande L, Garbi M, Grapsa J, Hagendorff A, Kamp O, Magne J, Santoro C, Stefanidis A, Lancellotti P, Popescu B, Habib G, Eacvi, Scientific Documents Committee. Standardization of adult transthoracic echocardiography reporting in agreement with recent chamber quantification, diastolic function, and heart valve disease recommendations: an expert consensus document of the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2017, 18: 1301–10.
164. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem* 1976, 72: 248-54.
165. Aebi, H.E. Catalase. In: Bergmeyer, H.U., Ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim, 1983: 273- 286.
166. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969, 244(22): 6049-55.
167. Akerboom TP, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol* 1981, 77: 373-82.
168. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966, 16(2): 359-64.
169. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976, 72: .248–54.
170. Mathew R. Inflammation and pulmonary hypertension. *Cardiol Rev* 2010, 18(2): 67-72.
171. Tuder RM, Cool CD, Geraci MW, Wang J, Abman SH, Wright L, Badesch D, Voelkel NF Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999, 159(6): 1925-32.

172. Mason NA, Springall DR, Burke M, Pollock J, Mikhail G, Yacoub MH, Polak JM High expression of endothelial nitric oxide synthase in plexiform lesions of pulmonary hypertension. *J Pathol* 1998, 185(3): 313-8.
173. MacLean MR, Johnston ED, McCulloch KM, Pooley L, Houslay MD, Sweeney G. Phosphodiesterase isoforms in the pulmonary arterial circulation of the rat: changes in pulmonary hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 1997, 283: 619-24.
174. Cornwell TL, Arnold E, Boerth NJ, Lincoln TM. Inhibition of smooth muscle cell growth by nitric oxide and activation of cAMP-dependent protein kinase by cGMP. *Am J Physiol* 1994;267:C1405–C1413. PubMedWeb of ScienceGoogle Scholar, Kariya K, Kawahara Y, Araki S, Fukuzaki H, Takai Y. Antiproliferative action of cyclic GMP-elevating vasodilators in cultured rabbit aortic smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 1989, 80: 143-7.
175. Marsh LM, Jandl K, Grünig G, Foris V, Bashir M, Ghanim B, Klepetko W, Olschewski H, Olschewski A, Kwapiszewska G. The inflammatory cell landscape in the lungs of patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2018, 51(1): 1701214.
176. De Franceschi L, Platt OS, Malpeli G, Janin A, Scarpa A, Leboeuf C, Beuzard Y, Payen E, Brugnara C Protective effects of phosphodiesterase-4 (PDE-4) inhibition in the early phase of pulmonary arterial hypertension in transgenic sickle cell mice. *FASEB J* 2008, 22(6): 1849-60.
177. Vichinsky EP. Pulmonary hypertension in sickle cell disease. *N Engl J Med* 2004, 350: 857-9.
178. Izikki M, Raffestin B, Klar J, Hatzelmann A, Marx D, Tenor H, Zadigue P, Adnot S, Eddahibi S. Effects of roflumilast, a phosphodiesterase-4 inhibitor, on hypoxia- and monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2009, 330(1): 54-62.
179. Growcott EJ1, Spink KG, Ren X, Afzal S, Banner KH, Wharton. Phosphodiesterase type 4 expression and anti-proliferative effects in human pulmonary artery smooth muscle cells. *J Respir Res* 2006, 7: 9.
180. Shen LF, Lv XD, Chen WY, Yang Q, Fang ZX, Lu WF. Effect of roflumilast on chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Ir J Med Sci* 2018, 187(3): 731-8.
181. Profita M, Chiappara G, Mirabella F, Di Giorgi R, Chimenti L, Costanzo G, Riccobono L, Bellia V, Bousquet J, Vignola AM. Effect of cilomilast (Ariflo) on

- TNF-alpha, IL-8, and GM-CSF release by airway cells of patients with COPD. *Thorax* 2003, 58(7): 573-9.
182. Gamble E, Grootendorst DC, Brightling CE, Troy S, Qiu Y, Zhu J, Parker D, Matin D, Majumdar S, Vignola AM, Kroegel C, Morell F, Hansel TT, Rennard SI, Compton C, Amit O, Tat T, Edelson J, Pavord ID, Rabe KF, Barnes NC, Jeffery PK. Antiinflammatory effects of the phosphodiesterase-4 inhibitor cilomilast (Ariflo) in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, 168(8): 976-82.
 183. Seimetz M, Parajuli N, Pichl A, Bednorz M, Ghofrani HA, Schermuly RT, Seeger W, Grimminger F, Weissmann N. Cigarette Smoke-Induced Emphysema and Pulmonary Hypertension Can Be Prevented by Phosphodiesterase 4 and 5 Inhibition in Mice. *PLoS One* 2015, 10(6): e0129327.
 184. Rybalkin SD, Yan C, Bornfeldt KE, Beavo JA. Cyclic GMP phosphodiesterases and regulation of smooth muscle function. *Circulation research* 2003, 93(4): 280–91.
 185. Murad F. Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J Clin Invest* 1986, 78(1): 1-5.
 186. Hofmann F, Ammendola A, Schlossmann J. Rising behind NO: cGMP-dependent protein kinases. *J Cell Sci* 2000, 113(Pt 10): 1671–6.
 187. Surks HK, Mochizuki N, Kasai Y, Georgescu SP, Tang KM, Ito M, Lincoln TM, Mendelsohn ME. Regulation of myosin phosphatase by a specific interaction with cGMP- dependent protein kinase Ialpha. *Science* 1999, 286 (5444): 1583–7.
 188. Schlossmann J, Ammendola A, Ashman K, Zong X, Huber A, Neubauer G, Wang GX, Allescher HD, Korth M, Wilm M, Hofmann F, Ruth P. Regulation of intracellular calcium by a signalling complex of IRAG, IP3 receptor and cGMP kinase Ibeta. *Nature* 2000, 404 (6774): 197–20.
 189. Fukao M, Mason HS, Britton FC, Kenyon JL, Horowitz B, Keef KD. Cyclic GMP-dependent protein kinase activates cloned BKCa channels expressed in mammalian cells by direct phosphorylation at serine 1072. *J Biol Chem* 1999, 274(16): 10927–35.
 190. Schlossmann J, Feil R, Hofmann F. Signaling through NO and cGMP-dependent protein kinases. *Ann Med* 2003, 35(1): 21-7.
 191. Rybalkin SD, Yan C, Bornfeldt KE, Beavo JA. Cyclic GMP phosphodiesterases and regulation of smooth muscle function. *Circ Res* 2003, 93(4): 280–91.

192. Novelli D, Fumagalli F, Staszewsky L, Ristagno G, Olivari D, Masson S, De Giorgio D, Ceriani S, Affatato R, De Logu F, Nassini R, Milioli M, Facchinetti F, Cantoni S, Trevisani M, Letizia T, Russo I, Salio M, Latini R. Monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension: Time-course of injury and comparative evaluation of macitentan and Y-27632, a Rho kinase inhibitor. *Eur J Pharmacol* 2019, 865: 172777.
193. Kumar R, Graham B. How does inflammation contribute to pulmonary hypertension? *Eur Respir J* 2018, 51(1): 1702403.
194. Kommireddy S, Bhyravavajhala S, Kurimeti K, Chennareddy S, Kanchinadham S, Rajendra Vara Prasad I, Rajasekhar L. Pulmonary arterial hypertension in systemic lupus erythematosus may benefit by addition of immunosuppression to vasodilator therapy: an observational study. *Rheumatology (Oxford)* 2015, 54: 1673-9.
195. Kramer T, Dumitrescu D, Gerhardt F, Orlova K, Ten Freyhaus H, Hellmich M, Baldus S, Rosenkranz S. Therapeutic potential of phosphodiesterase type 5 inhibitors in heart failure with preserved ejection fraction and combined post- and pre-capillary pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* 2019, 283: 152-8.
196. Redfield MM, Chen HH, Borlaug BA, Semigran MJ, Lee KL, Lewis G, LeWinter MM, Rouleau JL, Bull DA, Mann DL, Deswal A, Stevenson LW, Givertz MM, Ofili EO, O'Connor CM, Felker GM, Goldsmith SR, Bart BA, McNulty SE, Ibarra JC, Lin G, Oh JK, Patel MR, Kim RJ, Tracy RP, Velazquez EJ, Anstrom KJ, Hernandez AF, Mascette AM, Braunwald E; RELAX Trial. Effect of phosphodiesterase-5 inhibition on exercise capacity and clinical status in heart failure with preserved ejection fraction: a randomized clinical trial. *JAMA* 2013, 309(12): 1268-77.
197. Kosutova P, Mikolka P, Kolomaznik M, Balentova S, Adamkov M, Calkovska A, Mokra D. Reduction of lung inflammation, oxidative stress and apoptosis by the PDE4 inhibitor roflumilast in experimental model of acute lung injury. *Physiol Res* 2018, 67(Suppl 4): S645-54.

EK.2. ÖZGEÇMİŞ

I- BİREYSEL BİLGİLER

Adı: Necip

Soyadı: ERMİŞ

Doğum Yeri:

Doğum Tarihi:

Adres:

Cep Tel.:

E-posta:

II- EĞİTİM

Lisans-Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 1999

Tıpta Uzmanlık : İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi,Kardiyoloji AD. 2005

2. Doktora: İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 2014-

III-YAPTIĞI TEZLER

Yavaş koroner akımlı hastalarda dipridamolün akım aracılı dilatasyon üzerine etkisi.
Tez danışmanı; Prof.Dr. Ramazan Özdemir, 2005

IV-AKADEMİK ÜNVANLAR/GÖREVLER

Dr. Arş.Gör., İnönü Üniversitesi, Tıp Fak., Kardiyoloji AD. 2000-2005

Uzman Dr., Başkent Üniversitesi, Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi 2005-2009

Yar.Doç.Dr., İnönü Üniversitesi, Tıp Fak., Kardiyoloji AD. 2009 -2012

Doç.Dr., İnönü Üniversitesi, Tıp Fak., Kardiyoloji AD. 2012 -2017

Prof.Dr., İnönü Üniversitesi, Tıp Fak., Kardiyoloji AD. 2017 -

V- SCI, SSCIİNDEKSLERİNE GİREN DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

1. Altintas MS, Ermis N, Cuglan B, Alturk E, Ozdemir R. Influence of right coronary artery shape on TIMI frame count and lesion distribution. Arch Cardiol Mex. 2020 Oct 27;91(4). doi: 10.24875/ACM.20000083.
2. Ulutas Z, **Ermis N**, Ozhan O, Parlakpınar H, Vardi N, Ates B, Colak C. The Protective Effects of Compound 21 and Valsartan in Isoproterenol-Induced Myocardial Injury in Rats. Cardiovasc Toxicol. 2020 Jul 9. doi: 10.1007/s12012-020-09590-6,
3. Hidayet Ş, Yağmur J, Bayramoğlu A, Cansel M, Ermiş N, Taşolar H, Karaca Y, Yiğit Y, Şener S, Ulutaş Z, Pekdemir H. Fragmented QRS complexes are associated with subclinical left ventricular dysfunction in patients with Behcet's disease: Four-dimensional speckle tracking echocardiography. J Clin Ultrasound. 2020 Aug 18. doi: 10.1002/jcu.22899.

4. Therapeutic effects of dexpanthenol on the cardiovascular and respiratory systems following cecal ligation and puncture-induced sepsis in rats. Kose A, Parlakpınar H, Ozhan O, **Ermis N**, Yildiz A, Vardi N, Cigremis Y. *Biotech Histochem.* 2020 Feb 11:1-10 doi: 10.1080/10520295.2020.1714078.
5. Acute and Subacute Effects of Low Versus High Doses of Standardized Panax ginseng Extract on the Heart: An Experimental Study. Parlakpınar H, Ozhan O, **Ermis N**, Vardi N, Cigremis Y, Tanriverdi LH, Colak C, Acet A. *Cardiovasc Toxicol.*, 19(4):306-320. (2019)
6. Relationship between serum homocysteine levels and structural-functional carotid arterial abnormalities in inactive Behçet's disease. Ozdemir R, Yagmur J, Acikgoz N, Cansel M, Karıncaoğlu Y, **Ermis N**, Pekdemir H, Arslan AK. *Kardiol Pol.*, 76(2):413-417. (2018)
7. Acikgoz N, Kurtoğlu E, Yagmur J, Kapıcıoğlu Y, Cansel M and **N Ermis**, “Elevated Monocyte to High-Density Lipoprotein Cholesterol Ratio and Endothelial Dysfunction in Behçet Disease”, *Angiology.*, 69(1):65-70. (2018)
8. Preliminary results from a nationwide adult cardiology perspective for pulmonary hypertension: RegiStry on cInical outCoMe and sUrvival in pulmonaRy hypertension Groups (SIMURG). Kaymaz C, Mutlu B, Küçüköğlü MS, Kaya B, Akdeniz B, Kılıçkiran Avcı B, Aksakal E, Akbulut M, Atılgan Arıtürk Z, Güllülü S, Aydoğdu Taçoy G, Kayıkçıoğlu M, Nalbantgil S, Örem C, Erer HB, Yüce M, Ermiş N, Tüfekçioğlu O, Demir M, Yılmaz MB, Güngör Kaya M, Kültürsay H, Öngen Z, Tokgözoğlu L. *Anatol J Cardiol.*, 18(4):242-250. (2017)
9. Tanriverdi LH, Parlakpınar H, Ozhan O, **Ermis N**, Polat A, Vardi N, Tanbek K, Yildiz A, Acet A. Inhibition of NADPH oxidase by apocynin promotes myocardial antioxidant response and prevents isoproterenol-induced myocardial oxidative stress in rats. *Free Radic Res.*, 51(9-10):772-786. (2017)
10. Acikgoz N, Yagmur J, Kurtoglu E, **Ermis N** and M Cansel, “Left atrial volume and function in patients with cardiac syndrome X assessed by real time three-dimensional echocardiography”, *Echocardiography.*, 34(2), 862-68. (2017).
11. Yagmur J, Cansel M, Kurtoglu E, Hidayet S, Acikgoz N, **Ermis N**, and F Ozyalin, “Assessment of left atrial volume and function by real time three-dimensional echocardiography in obese patients”, *Echocardiography.*, 34(2), 210-6 (2017).
12. **Ermis N**, “Author`s Reply, *Anatol J Cardiol.*, 16(5), 366 (2016)
13. **Ermis N**, Otlu YÖ, Afşin A, Hidayet Ş, Açıkgöz N, Cansel M, Yağmur J, and MC Çolak, “Comparison of left atrial volume and function in non-dipper versus dipper hypertensives: A real-time three-dimensional echocardiography study”, *Anatol J Cardiol.*, 16(6), 428-33 (2016).
14. **Ermis N**, Afşin A, Cuğlan B, Açıkgöz N, Cansel M, Yağmur J, Hidayet Ş, Colak MC and EB Selçuk, “Left atrial volume and function in patients with white-coat hypertension assessed by real-time three-dimensional echocardiography”, *Blood Press Monit.*, 21(4), 231-7 (2016)
15. **Ermis N**, Yaşar E, and M Cansel, “Recurrent spontaneous dissection affecting different coronary arteries of a young female”, *Anatol J Cardiol.*, 16(2), 137-8 (2016).
16. Yağmur J, Açıkgöz N, Cansel M, **Ermis N**, Karakuş Y, and E Kurtoğlu, “Assessment of the left ventricular systolic function in cardiac syndrome X using speckle tracking echocardiography”, *Anatol J Cardiol.*, 16(6), 419-23 (2016).
17. Selçuk EB, Sungu M, Parlakpınar H, **Ermis N**, Taslıdere E, Vardı N, Yalçınsoy M, Sagır M, Polat A, Karatas M, and B Kayhan-Tetik, “Evaluation of the cardiovascular effects of varenicline in rats”, *Drug Des Devel Ther.*, 9, 5705-17 (2015).

18. Otlu YÖ, Bayramoğlu A, Hidayet Ş, and **N Ermiş**, “Transradial Percutaneous Coronary Intervention in a Patient with a Rare Coronary Anomaly: Twin Circumflex Arteries”, *Acta Cardiol Sin.*, 31(1), 72-4 (2015).
19. Cansel M, Taşolar H, Yağmur J, **Ermiş N**, Açıkgöz N, Eyyüpkoca F, Pekdemir H, and R Ozdemir, “The effects of Ramadan fasting on heart rate variability in healthy individuals: a prospective study”, *Anatol J Cardiol.*, 14(5), 413-6 (2014).
20. Cansel M, Yagmur J, Taşolar H, Karıncaoglu Y, **Ermiş N**, Acikgoz N, Bayramoglu A, Otlu O, Eyyüpkoca F, Pekdemir H, and R Ozdemir, “Assessment of atrial conduction time in patients with Behçet's disease”, *Acta Reumatol Port.*, 39(1), 29-36 (2014).
21. Aktürk E, Kurtoğlu E, **Ermiş N**, Açıkgöz N, Yağmur J, Altuntaş MS, Pekdemir H, and R Ozdemir, “Comparison of pain levels of transradial versus transfemoral coronary catheterization: a prospective and randomized study”, *Anatol J Cardiol.*, 14(2),140-6 (2014).
22. Açıkgöz N, **Ermiş N**, Yağmur J, Cansel M, Ataş H, Pekdemir H, and R Özdemir, “Author's reply: To PMID 21911318”, *Anatol J Cardiol.*,13(6),610 (2013).
23. Aktürk E, Kurtoğlu E, **Ermiş N**, Yağmur J, Açıkgöz N, Karakuş Y, Pekdemir H, and R Ozdemir, “Assessment of left ventricular volume and functions by real-time three-dimensional echocardiography in patients with compensated and decompensated heart failure”, *Turk Kardiyol Dern Ars.*, 40(5), 419-26 (2012). Yagmur J, Cansel M, Acikgoz N, Yagmur M, Eyupkoca F, **Ermiş N**, and E Akturk, “Multivessel coronary thrombosis in a patient with idiopathic thrombocytopenic purpura”, *Tex Heart Inst J.*, 39(6), 881-3 (2012).
24. Aktürk E, **Ermiş N**, Yağmur J, Acikgoz N, Kurtoğlu E, Cansel M, Eyüpkoca F, Pekdemir H, and R Ozdemir, “Early Left Atrial Mechanics and Volume Abnormalities in Subjects with Prehypertension: A Real Time Three-Dimensional Echocardiography Study”, *Echocardiography.*, 29(10),1211-7 (2012).
25. Colak MC, Parlakpınar H, **Ermiş N**, Polat A, Colak C, Mızrak B, Ozdemir R and A Acet, “The effect of selective endotheline Receptor A antagonism by Bq-123 on myocardial ischemia-reperfusion induced apoptotic cell death”, *Med-Science*, 1 (4), 254-70 (2012).
26. Aktürk E, Kurtoglu E, Eyüpkoca F, **Ermiş N**, Açıkgöz N, Yagmur J, Cansel M, Altıntaş MS, and H Pekdemir, “Effect o f hemodynamic changes during perkutaneus mitral balloon valvuloplasty on short and long term clinical outcome”, *healthMED.*, 6, 438-44 (2012).
27. Aktürk E, Yağmur J, Ataş H, **Ermiş N**, Açıkgöz N and M Cansel, “Right atrial thrombus derived from inferior vena cava”, *IJCRI.*, 3(7), 52-5 (2012)
28. Acikgoz N, **Ermiş N**, Yagmur J, Muezzinoglu K, Karakus Y, Cansel M, Pekdemir H, and R Ozdemir, “Uric acid level and its association with carotid intima-media thickness in patients with cardiac syndrome X”, *Med Princ Pract.*, 21(2), 115-19 (2012).
29. Aktürk E, Yagmur J, Kurtoglu E, **Ermiş N**, Acikgoz N, Sener S, Karakus Y, Aktürk S, Karıncaoglu Y, Pekdemir H and R. Ozdemir, “Left atrial volume and function in patients with Behcet's disease assessed by real-time three-dimensional echocardiography”, *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.*, 13(8), 650-5 (2012)
30. Akturk E, Yağmur J, Açıkgöz N, **Ermiş N**, Cansel M, Karakuş Y, Taşolar H, Eyupkoca F, and H Pekdemir, “Assessment of atrial conduction time by tissue Doppler echocardiography and P-wave dispersion in smokers”, *J Interv Card Electrophysiol.*, 34(3), 247-53 (2012)
31. Topal E, Yağmur J, Otlu B, Ataş H, Cansel M, Açıkgöz N and **N Ermiş**, “Relationship of urocortin-2 with systolic and diastolic functions and coronary artery disease: an observational study”, *Anadolu Kardiyol Derg.*, 12(2), 115-20 (2012)

32. Colak C, Parlakpınar H, *Ermis N*, Tagluk ME, Colak C, Sarihan E, Dilek OF, Turan B, Bakir S and A Acet . “Effects of electromagnetic radiation from 3G mobile phone on heart rate, blood pressure and ECG parameters in rats”, *Toxicol Ind Health.*, 28(7):629-38 (2012)
33. **Ermis N**, Yağmur J, Acikgoz N, Cansel M, Cuglan B, Pekdemir H, Ozdemir R, “Serum Gamma-Glutamyl Transferase (GGT) levels and inflammatory activity in patients with non-Dipper hypertension”, *Clin Exp Hyperten.*, 34(5), 311-5. (2012)
34. Yagmur J, Yetkin O, Cansel M, Acikgoz N, **Ermis N**, Karakus Y and H Tasolar, “Assessment of atrial electromechanical delay and influential factors in patients with obstructive sleep apnea”, *Sleep Breath.*, 6(1),83-8 (2012)
35. Sincer I, Aktürk E, Açıkğöz N, **Ermis N** and MF Koşar, “Evaluation of the relationship between serum high sensitive C-reactive protein and the elasticity properties of the aorta in patients with coronary artery ectasia”, *Anadolu Kardiyol Derg.*, 11(5), 414-20 (2011).
36. Açıkğöz N, **Ermis N**, Yağmur J, Cansel M, Atas H, Pekdemir H and R Ozdemir, “The evaluation of mean platelet volume levels in patients with idiopathic and ischemic cardiomyopathy: an observational study”, *Anadolu Kardiyol Derg.*, 11(7), 595-9 (2011)
37. Yagmur J, Sener S, Acikgoz N, Cansel M, **Ermis N**, Karıncaoglu Y, Tasolar H, Karakus Y, Pekdemir H and R Ozdemir R, “Subclinical left ventricular dysfunction in Behcet's disease assessed by two-dimensional speckle tracking echocardiography”, *Eur J Echocardiogr.*, 12(7), 536-4 (2011).
38. Cansel M, Yagmur J, **Ermis N**, Acikgoz N, Taşolar H, Atas H, Muezzinoglu K, Pekdemir H and R Ozdemir, “Effects of transcatheter closure of atrial septal defects on heart rate variability”, *J Int Med Res.*, 39,654-661 (2011)
39. Cansel M, Pekdemir H, Yağmur J, Tasolar H, **Ermis N**, Kurtoglu E, Acikgoz N, Atas H, and R Ozdemir, “Early single clinical experience with the new Figulla ASD Occluder for transcatheter closure of atrial septal defect in adults”, *Arch Cardiovasc Dis.*, 104,155-160 (2011).
40. Yagmur, J., Cansel, M., Acikgoz, N., **Ermis, N.**, Yagmur, M., Atas, H., Tasolar, H., Karakus, Y., Pekdemir, H. and R. Ozdemir, “Assessment of Atrial Electromechanical Delay by Tissue Doppler Echocardiography in Obese Subjects,” *Obesity*, 19, 779-83 (2011).
41. Acikgoz, N., **Ermis, N.**, Yagmur, J., Cansel, M., Karıncaoglu, Y., Atas, H., Cuglan, B., Barutcu, I., Pekdemir, H. and R. Ozdemir, “Elevated oxidative stres markers and its relationship with endothelial dysfunction in Behçet’s disease,” *Angiology*, 62, 296-300 (2011).
42. **Ermis, N.**, Acikgoz, N., Cuglan, B., Cansel, M., Yagmur, J., Tasolar, H., Barutcu, I., Pekdemir, H. and R. Ozdemir, “Comparison of atrial electromechanical coupling interval and P-wave dispersion in non-dipper versus dipper hypertensive subjects.” *Blood Press.*, 20, 60-66 (2011).
43. **Ermis, N.**, Atalay, H., Altay, H., Bilgi, M., Binici, S. and A.T. Sezgin, “Comparison of Fibrinolytic versus Surgical Therapy in Treatment of Obstructive Prosthetic Valve Thrombosis; Single Center Experience,” *Heart Surg Forum*, 14:E87-92, (2011)
44. Acikgoz, N., Karıncaoglu, Y., **Ermis, N.**, Yagmur, J., Atas, H., Kurtoglu, E., Cansel, M., Barutcu, I., Pekdemir, H. and R. Ozdemir, “Response; Is mean platelet volume increased in Behçet's disease with Thrombosis?,” *Tohoku J Exp Med.*, 222, 227-228 (2010).
45. Bashan, I., Gereklioglu, C., Akpınar, E., Saatci, E. and **N.Ermis**, “Life- threatening peripartum cardiomyopathy of a patient with worsening dyspnea: A case report,” *Family Medicine & Primary Care Review*, 4, 1069-1071 (2010).

46. **Ermis, N.**, Ermis, H., Sen, N., Kepez, A. and B. Cuglan, "QT Dispersion in Patients with Pulmonary Embolism," *Wien Klin Wochenschr.*, 122, 691-697 (2010).
47. Yagmur, J., **Ermis, N.**, Acikgoz, N., Cansel, M., Atas, H., Karakus, Y., Pekdemir, H. and R. Ozdemir, "Elevated serum gamma-glutamyl transferase activity in patients with cardiac syndrome X and its relationship with carotid intima media thickness," *Acta Cardiologica*, 65, 515-519 (2010).
48. **Ermis, N.**, Bilgi, M., Altay, H. and T. Erol, "An asymptomatic unicuspid aortic valve with aortic aneurysm and secundum type atrial septal defect," *Clin Cardiol.*, 33, E 38-39 (2010).
49. Acikgoz, N., Karıncaoğlu, Y., **Ermis, N.**, Yagmur, J., Atas, H., Kurtoglu, E., Cansel, M., Barutcu, I., Pekdemir, H. and R. Ozdemir, "Increased mean platelet volume in Behçet's disease with thrombotic tendency," *Tohoku J Exp Med.*, 221, 119-123 (2010).
50. Pekdemir, H., Cansel, M., Yağmur, J., Acikgoz, N., **Ermis, N.**, Kurtoglu, E., Tasolar, H., Atas, H. and R. Ozdemir, "Assessment of atrial conduction time by tissue Doppler echocardiography and P-wave dispersion in patients with mitral annulus calcification," *J Electrocardiol.*, 43, 339-340 (2010).
51. **Ermis, N.**, Deniz, F., Kepez, A., Kara, B., Azal, O. and M. Kutlu, "Heart rate variability of young men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism," *Auton Neurosci.*, 152, 84-87 (2010).
52. Deniz, F., **Ermis, N.**, Kepez, A., Türk, B., Akkoyunlu, M., Kara, B. and M. Kutlu, "Evaluation of vascular reactivity of young male hypogonadotropic hypogonadism patients," *Int J Cardiovasc Imaging*, 26, 35-40 (2010).
53. **Ermis, N.**, Gullu, H., Caliskan, M., Unsal, A., Kulaksizoglu, M. and H. Muderrisoğlu, "Gabapentin therapy improves heart rate variability in diabetic patients with peripheral neuropathy," *J Diabetes Complications*, 24, 229-233 (2010).
54. Aslan, H., Turgut, O., Yalta, K., Yilmaz, M.B., Ozdemir, R., **Ermis, N.**, Sezgin, A.T., Yetkin, E., Tandogan, I. and A. Yilmaz, "Coronary collateral circulation: any effect on P-wave dispersion?," *Angiology*, 59, 448-453 (2008).
55. Tekin, G., Tekin, A., Canatar, T., Sipahi, I., Unsal, A., Katircibaşı, T., Koçum, T., Erol, T., Yiğit, F., Demircan, S., **Ermis, N.**, Sezgin, A.T. and H. Müderrisoğlu, "Simvastatin improves the attenuated heart rate recovery of type 2 diabetics," *Pharmacol Res.*, 54, 442-446 (2006).
56. Sezgin, A.T., Gullu, H. and N. **Ermis**, "Guidewire entrapment during jailed wire technique," *J Invasive Cardiol.*, 18, 391-392 (2006).
57. Kosar, F., **Ermis, N.**, Erdil, N. and B. Battaloglu, "Anomalous LAD and CX artery arising separately from the proximal right coronary artery-a case report of single coronary artery with coronary artery disease," *J Card Surg.*, 21, 309-312 (2006).
58. Cigremis, Y., Parlakpınar, H., Polat, A., Colak, C., Ozturk, F., Sahna, E., **Ermis, N.** and A. Acet, "Beneficial role of aminoguanidine on acute cardiomyopathy related to doxorubicin- treatment." *Mol Cell Biochem.*, 285, 149-154 (2006).
59. Ozdemir, R., Parlakpınar, H., Polat, A., Colak, C., Ermis, N. and A. Acet, "Selective endothelin a (ETA) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury," *Toxicology*, 219, 142-149 (2006).
60. Topal, E., Ozdemir, R., Aksoy, Y., Acikgoz, N., **Ermis, N.**, Sincer, I., Akturk, E. and B. Ozcan, "Tissue Doppler velocities of the right and left ventricles and their association with C-reactive protein and homocysteine levels in Behçet's disease," *Am J Cardiol.*, 96, 1739-1742 (2005).

61. Sezgin, A.T., Topal, E., Barutcu, I., Ozdemir, R., Gullu, H., Bariskaner, E., **Ermis, N.**, Tandogan, I., Acikgoz, N. and N. Sivri, "Impaired left ventricle filling in slow coronary flow phenomenon: an echo-Doppler study," *Angiology*, 56, 397-401 (2005).
62. Kosar, F., Acikgoz, N., Sahin, I., Topal, E., Gunen, H., **Ermis, N.** and S. Cehreli, "Effects of co-existence of coronary stenosis and the extent of coronary ectasia on the TIMI frame count in patients with coronary artery ectasia," *Int Heart J.*, 46, 211-218 (2005).
63. Ozdemir, R., Barutcu, I., Sezgin, A.T., Acikgoz, N., **Ermis, N.**, Esen, A.M., Topal, E., Bariskaner, E. And I Ozerol, "Vascular endothelial function and plasma homocysteine levels in Behcet's disease," *Am J Cardiol.*, 94, 522-525 (2004).
64. Sezgin, A.T., Sigirci, A., Barutcu, I., Topal, E., Sezgin, N., Ozdemir, R., Yetkin, E., Tandogan, I., Kosar, F., **Ermis, N.**, Yologlu, S., Bariskaner, E. and S. Cehreli, "Vascular endothelial function in patients with slow coronary flow," *Coron Artery Dis.*, 14, 155-161 (2003).

VI- DİĞER DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

1. Anticoagulant therapy for acute venous thromboembolism. Ermiş H, Ermiş N. *Türk Kardiyol Dern Ars.* 45(6):563-571. (2017)
2. **Ermış N**, Doğan C and Akpınar SH, "Acute pulmonary embolism in a patient with symptomatic coronary artery disease", *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 23(2), 217-19 (2016).
3. Parlakpınar H, Celbis O, Ozhan O, Petekkaya S, Samdancı E, **Ermis N**, Koparir P, Soylu O and , A Acet, "Cardiovascular effects of JWH-018 from synthetic cannabinoids" *Med-Science.*, 5(4), 1049-54 (2016).
4. Parlakpınar H, Ozhan O, **Ermış N** and Acet A, "Cardiovascular effects of panax ginseng", *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 23(4), 482-87 (2016)
5. Açıkgoz, N., **Ermış, N.**, Yağmur , J., Karakuş, Y., Müezzinoğlu, K., Cansel, M., Pekdemir, H. ve R. Özdemir, "Atriyoventriküler Nodal Reentrant Taşikardili Hastaların Klinik ve Ekokardiyografik Özelliklerinin Değerlendirilmesi," *MN Kardiyoloji*, 17, 366-370, 2010.
6. Yağmur, J., Cansel, M., Açıkgoz, N., Altay, Z., Kurtoğlu, E., Kızılay, E., Taşolar, H., ve **N. Ermiş**, "Romatoid Artritli Hastalarda Atriyal İletinin Doku Doppler Ekokardiyografi ile Değerlendirilmesi," *MN Kardiyoloji*, 17, 371-376, 2010.
7. **Ermış, N.**, Açıkgoz, N., Yaşar, E., Taşolar, H., Atas, H., Pekdemir, H., Yağmur, J., Cansel, M. ve R. Özdemir, "Prehipertansif hastalarda atriyal iletinin doku doppler ekokardiyografi ve p dalga dispersiyonu ile değerlendirilmesi," *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 38, 525-530, (2010).
8. Şen, N., Ermiş, E., Altınkaya, N., **Ermış, N.**, Karataşlı, M. ve G. Ulubay, "Genç ve yaşlı pulmoner embolili olgularımız: Klinik özellikler, laboratuvar ve instrumental bulgular ve yaş gruplarına göre farklılıklar," *Türk Toraks Dergisi, basım aşamasında*, (2010).
9. Açıkgoz, N., **Ermış, N.**, Yağmur, J., Çuğlan, B., Atas, H. ve R. Özdemir, "Hipertansiyonu olan ve olmayan koroner arterleri normal olan hastalarda ortalama trombosit hacminin karşılaştırılması," *MN Kardiyoloji*, 17, 155-159 (2010).
10. Cansel, M., Kurtoğlu, E., Yağmur, J., Taşolar, H., **Ermış, N.**, Açıkgoz, N. ve A. Bayramoğlu, "Abnormal origin of the right coronary artery from the left anterior descending artery," *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17, 195-197 (2010).
11. **Ermış, N.**, Altay, H., Ermiş, H. ve F. Tercan, "An Unusual presentation of cardiac hydatid cyst: ventricular tachycardia," *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17, 97-99 (2010).

12. Açıkgöz, N., **Ermış, N.**, Cansel, M., Yağmur, J., Pekdemir, H. ve R. Özdemir, "Tirofiban tedavisi sonrası gelişen trombositopeni olgusu," *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17, 55-57 (2010).
13. **Ermış, N.**, Aktürk, E., Sincer, İ., Özdemir, R. ve S. Çehreli, "Yavaş Koroner Akımlı Hastalarda Dipridamol'un Akım Aracılı Dilatasyon Üzerine Etkisi," *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17, 27-31 (2010).
14. Barutçu, İ., Açıkgöz, N., Özdemir, R., Esen, Ö., Esen, A.M., **Ermış, N.**, Topal, E., Aktürk, E. Ve F. Koşar, "Assesment of P wave duration and dispersion in Behçet's disease," *İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü Dergisi*, 3, 23-26 (2008).
15. Açılg, T., Çölkesen, Y., **Ermış, N.**, Sezgin, A.T., Baltalı, M., Gülcan, Ö., ve R. Türköz, "Usefulness of prolonged QRS duration as a predictor af adverse cardiac events following isolated coronary artery bypass grafting in patients with impaired left ventricular systolic function," *Türk Aritmi, Pacemaker ve Elektrofizyoloji Dergisi*, 2, 141-149 (2006).
16. Tandoğan, İ., Barutçu, İ., **Ermış, N.**, Yetkin, E., Kuruş, M., Özdemir, R., ve S. Çehreli, "Koroner arter hastalarında dipiridamol stres testinin QT dispersiyonu üzerine etkileri," *MN Kardiyoloji*, 9, 325-329 (2002).

VII- KONGRE/SEMPOZYUM BİLDİRİ KİTAPLARINDA YER ALAN YAYINLAR

1. Özhan O., Acet A., Parlakpınar H., Celbis O., **Ermis N.**, Samdançı E., Petekkaya S., Soylu O., Koparir P. "Sentetik Kannabinoidlerden JWH-018'in Akut ve Subakut İzole Organ Cevaplarının Araştırılması", 2. Uluslararası Turaz Adli Bilimler, Adli Tıp ve Patoloji Kongresi, İstanbul, Türkiye, 1-4 Eylül 2018.
2. **Ermış N.**, Ozhan O, Ulutaş Z, Vardi N, Çolak C and H Parlakpınar "The effect of angiotensin II type 2 rceptor agonist treatment on doxorubicin induced heart failure ", ESC Congress 2016 Rome/Italy, Eur Heart J, Vol 37 (Suppl), 6347 (2016)
3. **Ermış N.**, Ermış H and Z Ulutaş, 'Idiopathic pulmonary hypoventilation complicated with pulmonary hypertension', The PVRI 8th annual world congress on pulmonary vascular disease, guangzhou/China, program book, 38 (2015)
4. Çolak C, Çolak Cemil, **Ermış N.**, Erdil N and R Özdemir, "Prediction of cholesterol level in patient with myocardial infarction based data mining methods", 11th international congress of update in cardiology and cardiovascular surgery, İstanbul/Turkiye, Am J Cardiol., 115, 111-032 (2015).
5. Çolak C, Kahraman E, **Ermış N.**, Erdil N and B Battaloğlu, "Cardiac injury due to blast force trauma gun-shot wound", 11th international congress of update in cardiology and cardiovascular surgery, İstanbul/Turkiye, Am J Cardiol., 115, 132-026 (2015).
6. **Ermış N.**, Afşin A, Cuğlan B, Açıkgöz N, Cansel M, Yağmur J, Hidayet Ş, Colak MC and EB Selçuk, "Left atrial volume and function in patients with white-coat hypertension assessed by real-time three-dimensional echocardiography", XXI world congress of Echocardiography and Cardiology, İstanbul/Turkiye, 399 (2015)
7. Yılmaz M, Afşin A, Hidayet Ş and **N Ermış**, "The relationship between carotid intima media thickness, aortic stiffness and neutrophil-lymphocyte ratio in patients with prehypertension", 31th Turkish cardiology congress with international participation Antalya /Turkiye, Anatol J Cardiol., 15(6), 59-64 (2015).

8. **Ermis N**, Yaşar E and M Cansel, 'Recurrent spontaneous dissection in different coronary arteries', 31. Uluslar arası katılımlı Türk kardioloji kongresi, Antalya/Türkiye, olgu sunumları, 3-09, (2015)
9. Hidayet Ş, Değer Ş and **N Ermis**, 'Noncoronary sinus to right atrium fistula in a young patient: a rare complication of native aortic valve staphylococcus aureus endocarditis', 31. Uluslar arası katılımlı Türk kardioloji kongresi, Antalya/Türkiye ,olgu sunumları, 3-21, (2015)
10. Yaşar E and **N Ermis**, 'Behçet's disease with a large intracardiac thrombus complicated with acute pulmonary embolism: a case report', 31. Uluslar arası katılımlı Türk kardioloji kongresi, Antalya/Türkiye ,olgu sunumları, 56-106, (2015)
11. Hidayet Ş, Otlu YÖ, Bayramoğlu A, Ulutaş Z, **Ermis N** and R Özdemir, 'Coexistence of dinus valsalva aneurysm rupture and atrial septal defect', 10th international congress of update in cardiology and cardiovascular surgery, Antalya/Türkiye, Am J Cardiol, 113(7S), 93-224 (2014)
12. Erdil N, Dişli OM, Çolak MC, **Ermis N**, Pekdemir H, Özdemir R and B Battaloğlu, "Vascular complication after transcatheter aortic valve implantation in patients with high risk aortic stenosis: The experience of İnönü University", 14th Congress of Asian society for vascular surgery, İstanbul/Turkiye, AVD., 6, 257-300 (2013).
13. Altuntaş MS, **Ermis N**, Çuğlan B, Aktürk E, and R Özdemir, 'Comparison of clinical and angiographic parameters right coronary artery shapes in patients with acute myocardial infarction from right coronary artery', 29. Uluslararası katılımlı Türk kardioloji kongresi, JACC.,62(S-C), 224 (2013)
14. Aktürk E, **Ermis N**, Yağmur J, Açıkgöz N Kurtoğlu E, Cansel M, Eyüp Koca F, Pekdemir H and R Özdemir. "Early Left Atrial Mechanics and Volume Abnormalities in Subjects with Prehypertension: A Real Time Three-Dimensional Echocardiography Study", the 8th International Congress of Update in Cardiology and Cardiovascular Surgery, Antalya/Turkey, Int J Cardiol. 213-53 (2012)
15. Aktürk E, Yagmur J, Kurtoglu E, **Ermis N**, Acikgoz N, Sener S, Karakus Y, Aktürk S, Karıncaoglu Y, Pekdemir H and R. Ozdemir, "Left atrial volume and function in patients with Behcet's disease assessed by real-time three-dimensional echocardiography", the 8th International Congress of Update in Cardiology and Cardiovascular Surgery, Antalya/Turkey, Int J Cardiol. 223-175 (2012)
16. Aktürk E, Sincer İ, Acikgoz N, **Ermis N**, Güven A , Barutçu İ , Pekdemir H and R. Ozdemir, "Relationship between acute atrial fibrillation attack and intensive cigarette smoking", the 8th International Congress of Update in Cardiology and Cardiovascular Surgery, Antalya/Turkey, Int J Cardiol. 112-89 (2012)
17. Aktürk E, Kurtoglu E, **Ermis N**, Acikgoz N, Yağmur J, Altuntaş MS, Pekdemir H and R. Ozdemir, "A randomized comparison of transradial versus transfemoral approach for coronary angiography and angioplasty: which approach is suitable for which patient", the 8th International Congress of Update in Cardiology and Cardiovascular Surgery, Antalya/Turkey, Int J Cardiol. 162-39 (2012)
18. Aktürk E, Yağmur J, Ataş H, **Ermis N**, Açıkgöz N and M Cansel, "Right atrial thrombus derived from inferior vena cava", ", the 8th International Congress of Update in Cardiology and Cardiovascular Surgery, Antalya/Turkey, Int J Cardiol. 130-143 (2012)
19. **Ermis N**, Yagmur, J., Acikgoz, N., Cansel, M., Cuglan, B., Pekdemir, H., and R Ozdemir, "Serum gamma-glutamyl transferase (ggt) levels and inflammatory activity in patients with non-dipper hypertension," 7th Congress of Update in Cardiology and cardiovascular Surgery in association with TCT Mediterranean, Antalya, International Journal of Cardiology, Vol.147 (Suppl.2), 53-54, 2011S.

20. **Ermis, N.**, Parlakpınar, H., Polat, A., Colak, C., Acikgoz, N., Mızrak, B., Ozdemir, R. and A. Acet, “The effect of selective endothelin receptor A antagonism by BQ-123 on myocardial ischemia-reperfusion induced apoptotic cell death,” 7th Congress of Update in Cardiology and cardiovascular Surgery in association with TCT Mediterranean, Antalya, Heart Surgery Forum, Vol. 14 (Suppl. 1), 67, 2011.
21. Acikgoz , N., **Ermis, N.**, Yagmur, J., Cansel, M., Atas, H., Pekdemir, H. and R. Ozdemir, “Comparison of mean platelet volume in patients with idiopathic and ischemic cardiomyopathy,” 7th Congress of Update in Cardiology and cardiovascular Surgery in association with TCT Mediterranean, Antalya, Heart Surgery Forum, Vol. 14 (Suppl. 1), 74, 2011.
22. **Ermis, N.**, Ermis, H., Sen, N., Kepez, A. and B. Cuglan, “QT dispersion in patients with pulmonary embolism,” *ESC Congress 2010* Stockholm, Eur Heart J, Vol 31 (Suppl), 625, 2010.
23. **Ermis, N.**, Acikgoz, N., Yasar, E., Tasolar, H., Atas, H., Pekdemir, H., Yagmur, J., Cansel, M., and R. Ozdemir, “P wave dispersion and atrial electromechanical delay in patients with prehypertension,” *ESC Congress 2010* Stockholm, Eur Heart J. Vol 31 (Suppl), 265, 2010.
24. **Ermis, N.**, Gullu, H., Caliskan, M., Unsal, A., Kulaksizoglu, M. and H. Muderrisoglu, “Gabapentin therapy improves heart rate variability in diabetic patients with peripheral neuropathy”. *Fourth Congress of Update in Cardiology and Cardiovascular Surgery*, Antalya, Clinical Cardiology, Vol. 31 (suppl), 64, 2008.
25. Topal E, Aksoy Y, Ozdemir R, Acikgoz N, **Ermis N** , Kosar F, Yetkin E, Ozgun G, Sivri N, akturk E, Yağmur J, Çehreli S. Oral Trimetazidine therapy may improve endothelial dysfunction in patients with slow coronary artery flow. *16. Annual Meeting Mediterranean Association of Cardiology and Cardiac Surgery*. İstanbul, Heart Surgery Forum, Vol. 7, O68, 2004.
26. Erdil, N., Dönmez , K., Seçici, S., Yağmur, J., **Ermis, N.**, Kaynak, M. ve B. Battaloğlu, “Koronar arter bypass cerrahisi sonrası semptomatik 139 hastanın anjiyografik ve arteriyel ve ven greft açıklık oranlarının karşılaştırılması: Orta dönem sonuçları,” TKDC Derneği 11. Ulusal Kongresi, Antalya, P-087, 2010.
27. Erdil, N., Seçici, S., Yağmur, J., **Ermis, N.**, Dönmez , K., Kahraman, H., Kaynak, M. ve B. Battaloğlu, “Acil koroner arter bypass cerrahisi: Erken dönem sonuçlarımız,” TKDC Derneği 11. Ulusal Kongresi, Antalya, P-095, 2010.
28. Çolak, C., Parlakpınar, H. ve **N. Ermis**, “Effects of 3g-launched mobile phone-induced electromagnetic radiation on heart rate, blood pressure and ECG records in rats,” *26. Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 38, 196-197, İstanbul, 2010.
29. **Ermis, N.**, Açıkğöz, N., Çuğlan, B., Cansel, M., Yağmur, J., Taşolar, H., Barutcu, İ., Pekdemir, H. ve R. Özdemir, “Comparison of atrial electromechanical coupling interval and p-wave dispersion in non-dipper versus dipper hypertensive subjects,” *26. Ulusal Kardiyoloji kongresi*, Cilt 38, 111, İstanbul, 2010.
30. Açıkğöz, N., **Ermis, N.**, Yağmur, J., Cansel, M., Pekdemir, H., ve R. Özdemir, “Behçet Hastalarında vasküler endotel fonksiyonları ile serum gama-glutamiltransferaz düzeyleri arasındaki ilişki,” *26. Ulusal Kardiyoloji kongresi*, Cilt 38, 179, İstanbul, 2010.
31. Yağmur, J., Cansel, M., Açıkğöz, N., **Ermis, N.**, Yağmur, M., Atas, H., Taşolar, H., Karakuş, Y., Pekdemir, H. ve R. Özdemir, “Assessment of Atrial Electromechanical Delay by Tissue Doppler Echocardiography in Obese Subjects,” *26. Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 38, 301, İstanbul, 2010.
32. Tekin, G., Tekin, A., Canatar, T., Sipahi, İ., Ünsal, A., Erol, T., Demircan, Ş., Katırcıbaşı, T., Koçum, H.T., **Ermis, N.**, Sezgin., A.T. ve H. Müderrisoğlu,

- “Simvastatinin tip2 diyabetiklerdeki bozulmuş kalp hızı toparlanmasına etkisi,” 23.Ulusal kardiyoloji Kongresi, Cilt 35, 42, Antalya, 2007.
33. **Ermış N**, Aktürk E, Sincer İ, Özdemir R, Çehrelı S. “ Yavaş koroner akımlı hastalarda Dipridamolün akım aracılı dilatasyon üzerine etkisi”, 22. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 34, 95, Antalya, 2006.
34. Açıl, T., Çölkesen, Y., **Ermış, N.**, Sezgin, A.T., Baltalı, M., Gülcan, Ö., Türköz, R., Özin, B. ve H. Müderrisoğlu, “Uzamış QRS süresinin sol ventrikül sistolik fonksiyon bozukluğu olan hastalarda baypas cerrahisi sonrası gelişen kötü kardiyak olayların belirleyicisi olarak kullanılabilirliği,” 22. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 34, 69, Antalya, 2006.
35. Sezgin, A.T., Katırcıbaşı, M.T., Tekin, A., Tekin, G., Zümrüdal, A., Koçum, T., Erol, T., Yiğit, F., Açıl, T., **Ermış, N.**, Demircan, Ş. ve H. Müderrisoğlu, “Allopurinol ile kontrast nefropatinin önlenmesi: randomize kontrollü bir çalışma,” 22. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 34, 51, Antalya, 2006.
36. Parlakpınar, H., Polat, A., Şahna, E., Çiğremiş, Y., **Ermış, N.** ve A. Acet, “Doksozubisin kardiyotoksisitesine karşı Aminoguanidin’in etkileri,” *Türk Farmakoloji Derneği 18. Ulusal farmakoloji kongresi*, 175, İzmir, 2005.
37. Parlakpınar, H., Özdemir, R., Polat, A., **Ermış, N.** ve A. Acet, “Myokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarında endotelin tip 1 reseptör antagonisti BQ-123’ün etkileri”, *Türk Farmakoloji Derneği 18. Ulusal farmakoloji kongresi*, 176, İzmir, 2005.
38. Koşar, F., Taşkapan, Ç., Küçükbay, Z., Açıkğöz, N., **Ermış, N.**, Topal, E., Aksoy, Y. ve H. Taşkapan, “Koroner ektazili hastalarda eser element konsantrasyonları. 20. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 32, 477, Antalya 477, 2004.
39. Koşar, F., Topal, E., Aksoy, Y., Şahin, İ., Küçükbay, Z., Taşkapan, Ç., Açıkğöz, N., **Ermış, N.**, Taşkapan, H., ve S. Çehrelı, “ Romatizmal kapak hastalığında eser element düzeyi klinik olarak önemli mi?,” 20. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 32, 491, Antalya, 2004.
40. Koşar, F., Açıkğöz, N., Topal, E., Aksoy, Y., **Ermış, N.**, Şahin, İ., Erdil, N., Özdemir, R. ve S. Çehrelı, “Koroner arter ektazili hastalarda ektazik segment sayısı ve eşlik eden koroner darlığın düzeltilmiş TIMI kare sayısı üzerine etkisi,” 20. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 32, 477, Antalya, 2004.
41. Koşar, F., Açıkğöz, N., Topal, E., Aksoy, Y., **Ermış, N.**, Erdil, N., Özdemir, R. ve S. Çehrelı, “İzole koroner arter ektazili hastalarda ektazi boyutu veya ektazi oranının düzeltilmiş TIMI kare sayısı üzerine etkisi.” 20. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 32, 481, Antalya, 2004.
42. Topal, E., Aksoy, Y., Özdemir, R., Açıkğöz, N., **Ermış, N.**, Kosar, F., Özgün, G.ve S. Çehrelı, “Yavaş koroner akımlı hastalarda oral Trimetazidine tedavisi endotel disfonksiyonunu düzeltir mi?,” 20. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 32, 510, Antalya, 2004.
43. Topal, E., Açıkğöz, N., Özdemir, R., Aksoy, Y., **Ermış, N.**, Kosar, F. ve S. Çehrelı, “Yavaş koroner akımlı hastalarda Trimetazidinin endotel disfonksiyonu üzerine etkisi,” 20. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 32, 513, Antalya, 2004.
44. Koşar, F., Açıkğöz, N., **Ermış, N.**, Erdil, N., Şahin, İ. ve S. Çehrelı, “Koroner arter ektazisi olan hastalarda koroner akım hızının anjiyografik belirleyicileri,” 19. *Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 31, 531, Antalya, 2003.
45. Tandoğan, İ., Barutçu, İ., **Ermış, N.**, Yetkin, E., Topal, E., Özdemir, R., Sezgin, A.T., ve H. Güllü, ”Koroner arter hastalarında dipridamol stres testinin Q-T dispersiyonu üzerine etkisi” 18.*Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 30, P-47, Antalya, 2002.
46. Sezgin, A. T., Sığırcı, A., Özdemir, R., Barutçu, İ., Topal, E., Sezgin, N., **Ermış, N.**, Yetkin, E., Tandoğan, İ., Koşar, F., Barışkaner, E. ve S. Çehrelı, “Koroner yavaş akım

- hastalarında vasküler endotelial fonksiyonlar,” *18.Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 30, SB-139, Antalya, 2002.
47. Tandoğan, İ., Topal, E., Koşar, F., Sezin, A.T., Aslan, H., Barışkaner, E., **Ermış, N.**, ve B. Özcan, “ Koroner arter hastalığında kollateral dolaşım gelişmesi anginanın tipi üzerinde etkili olabilir mi?”, *17. Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 29, P 66, İzmir, 2001.,
48. Sezgin, A.T., Özdemir, R., Topal, E., Açıkgöz, N., Barışkaner, E. ve **N. Ermış**, “Primer stent uygulamasını takiben konvansiyonel antiagregan tedaviye kumadının eklenmesi (üçlü tedavi) subakut trombüs sıklığını azaltır mı: erken dönem sonuçlarımız” *17. Ulusal Kardiyoloji Kongresi*, Cilt 29, SB 163, İzmir, 2001.

VIII-DESTEKLENEN PROJELER

1. "Sentetik Kannabinoidlerden JWH-018'In Ratlardaki Akut ve Subakut Kardiyovasküler Etkilerinin Araştırılması", TÜBİTAK Projesi, 215S752, 2018.
2. "Panax Ginseng'in Ratlar Üzerindeki Akut ve Subakut Kardiyovasküler Etkilerinin Araştırılması", TÜBİTAK Projesi, 115S818, 2017.
3. "Yeni antioksidan ajanlardan ebselen, isorhamnetin ve genistein'in kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerinin araştırılması", BAP Arastırma Projesi, 2016/189, Araştırmacı, 2019.
4. "Compound 21 ve Valsartan'ın Ratlarda Isoprotorenole Bağlı Kalp Hasarından Koruyucu Etkilerinin Araştırılması", BAP Doktora, 2016/41, Araştırmacı, 2017.
5. "Deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlarda dekspantenol'ün etkisinin araştırılması", BAP Arastırma Projesi, 2016/187, 2019.

VIII-BİLİMSEL DERNEK, ORGANİZASYON VE KURULUŞLARDAKİ ÜYELİKLER/GÖREVLER

Türk Kardiyoloji Derneği
Avrupa Kardiyoloji Derneği

IX-SERTİFİKALAR

Deney hayvanları kullanım sertifikası, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu, 2010.

X-YABANCI DİLLER

İngilizce 2006 ÜDS Ekim Dönemi puanı: 80