

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PULMONER ARTERİYEL HİPERTANSİYON
HASTALARINDA HİF YOLAĞINDAKİ PROTEİN
DÜZEYLERİNİN VE İLİŞKİLİ GENLERDEKİ
POLİMORFİZMLERİN HASTALIĞIN KLİNİĞİ VE
PROGNOZUYLA İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Dr. Hasan KAN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

HAZİRAN 2025

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PULMONER ARTERİYEL HİPERTANSİYON
HASTALARINDA HİF YOLAĞINDAKİ PROTEİN
DÜZEYLERİNİN VE İLİŞKİLİ GENLERDEKİ
POLİMORFİZMLERİN HASTALIĞIN KLİNİĞİ VE
PROGNOZUYLA İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Dr. Hasan KAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Yakup ALSANCAK

HAZİRAN 2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimin tüm aşamalarında kıymetli bilgi ve deneyimleriyle yolumu aydınlatan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışmanım Doç. Dr. Yakup Alsancak'a en içten şükranlarımı sunarım.

Çalışmam boyunca konu seçimi, literatür taraması ve yöntem belirleme konularında değerli katkılar sağlayan saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Emine Göktaş'a teşekkür ederim.

Tıp eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana örnek olan, mesleki gelişimime önemli katkılar sunan hocalarım Prof. Dr. Hakan Akıllı, Prof. Dr. Abdullah İçli, Prof. Dr. Mehmet Akif Düzenli, Prof. Dr. Alpay Arıbaş, Prof. Dr. Ahmet Soylu, Doç. Dr. Ahmet Seyfettin Gürbüz, Doç. Dr. Mustafa Çelik, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Lütfü Sertdemir, Dr. Öğr. Üyesi Sefa Tatar, Dr. Öğr. Üyesi Enes Elvin Gül ve Dr. Öğr. Üyesi Yunus Emre Yavuz'a içtenlikle teşekkür ederim.

Asistanlık sürecim boyunca birlikte çalışmaktan büyük onur ve memnuniyet duyduğum meslektaşlarıma teşekkür ederim.

Koroner yoğun bakım ünitesi, kardiyoloji servisi, elektrokardiyografi, ekokardiyografi ve koroner anjiyografi birimlerinde görev yapan tüm hemşire, teknisyen, sekreter ve destek personeline özverili katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde yanımda olan, sevgisi, desteği ve varlığıyla bana güç veren aileme — sevgili annem, babam ve kardeşlerime — en derin teşekkürlerimi sunarım.

Ve nihayet, bu sürecin her anında sabır ve anlayışıyla yanımda olan, biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesinde büyük emek harcayan, motivasyonumu korumamda en büyük paya sahip olan sevgili eşim Meltem Uyaner Kan'a ve neşesiyle her günümü güzelleştiren canım kızım Gökçe'ye sonsuz teşekkür ederim.

Haziran 2025

Dr. Hasan KAN

ÖZET

PULMONER ARTERİYEL HİPERTANSİYON HASTALARINDA HİF YOLAĞINDAKİ PROTEİN DÜZEYLERİNİN VE GENLERDEKİ POLİMORFİZMLERİN HASTALIĞIN KLİNİĞİ VE PROGNOZUYLA İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Dr. Hasan KAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KONYA 2025

Amaç: Bu çalışmada, pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) tanılı hastalarda hipoksi ile ilişkili hücrel yanıt mekanizmalarını düzenleyen HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL protein düzeylerinin periferik kanda değerlendirilmesi ve HIF-1 α genindeki rs11549465, rs2057482 ile HIF-2 α genindeki rs13419896 tek nükleotid polimorfizmlerinin varlığının araştırılması ve bunların klinik ve prognostik göstergelerle olan ilişkilerinin ortaya konması hedeflenmiştir.

Yöntem: Çalışmaya sağ kalp kateterizasyonu ile pulmoner arteriyel hipertansiyon tanısı doğrulanan 71 erişkin hasta ile yaş-cinsiyet olarak eşlenik 93 sağlıklı kontrol grubu dahil edilmiştir. Tüm hastalarda fonksiyonel sınıf, 6 dakikalık yürüme testi, NT-proBNP düzeyi, sağ kalp kateterizasyonu parametreleri ve transtorasik ekokardiyografi ile sağ ventrikül fonksiyonları kaydedilmiştir. Kan örneklerinden elde edilen serumlarda HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL protein düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Ayrıca, HIF-1 α genindeki rs11549465, rs2057482 ile HIF-2 α genindeki rs13419896 tek nükleotid polimorfizmlerinin genetik analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen biyokimyasal ve genetik veriler, hastaların klinik ve hemodinamik bulguları ile ilişkilendirilerek analiz edilmiştir.

Bulgular: PAH grubunda HIF-1 α [1,39 ng/mL (0,9–1,9) vs. 4,06 ng/mL (2,89–7,84); (p<0,0001)], HIF-2 α [5,73 ng/mL (5,09–6,5) vs. 7,95 ng/mL (4,87–18,2); (p=0,002)], HIF-3 α [109 ng/mL (73,2–141) vs. 264 ng/mL (124–825); (p<0,0001)] ve VHL [506 ng/mL (361–716) vs. 654 ng/mL (352–1555); (p=0,0295)] düzeyleri anlamlı olarak düşük saptanmıştır. PAH 4 Katmanlı Risk Değerlendirmesine göre 1-2 puan alan hastalar düşük-orta risk, 3-4 puan alan hastalar orta-yüksek risk olarak sınıflandırıldığında riski düşük olan grubun HIF-2 α seviyesi (6 (5,42- 6,82)) ile riski yüksek olan grubun HIF-2 α seviyesi (5,42 (4,86-6,27)) arasında anlamlı farklılık olduğu (p=0,0449) görülmüştür.

Sonuç: PAH hastalarında HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , VHL protein düzeyleri sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı düzeyde düşüktür. Özellikle HIF-2 α düzeyi hastalığın şiddeti ile ilişkili olabilir. Ancak, bu bulguların daha net mekanistik bağlantılarla desteklenebilmesi ve klinik uygulamalara entegrasyonunun değerlendirilebilmesi için daha geniş örneklem gruplarında, çok merkezli ve prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Ekokardiyografi, HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , NT-proBNP, Pulmoner arteriyel hipertansiyon, VHL, Tek nükleotid polimorfizmi

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN PROTEIN LEVELS AND GENE POLYMORPHISMS IN THE HIF PATHWAY WITH CLINICAL FEATURES AND PROGNOSIS IN PATIENTS WITH PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION

Dr. Hasan KAN

MEDICAL SPECIALTY THESIS

KONYA 2025

Objective: This study aimed to evaluate the peripheral blood levels of HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , and VHL proteins, which regulate hypoxia-related cellular response mechanisms, in patients diagnosed with pulmonary arterial hypertension (PAH), and to investigate the presence of single nucleotide polymorphisms rs11549465 and rs2057482 in the HIF-1 α gene and rs13419896 in the HIF-2 α gene, as well as their associations with clinical and prognostic indicators.

Methods: The study included 71 adult patients diagnosed with PAH by right heart catheterisation and 93 age- and sex-matched healthy controls. All patients underwent evaluation of functional class, 6MWT, NT-proBNP levels, right heart catheterisation parameters, and right ventricular function by transthoracic echocardiography. Serum levels of HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , and VHL were measured using the ELISA method. Genetic analysis was conducted for the aforementioned SNPs in the HIF-1 α and HIF-2 α genes. Biochemical and genetic data were analysed in relation to clinical and haemodynamic findings.

Results: In the PAH group, the levels of HIF-1 α [1.39 ng/mL (0.9–1.9) vs. 4.06 ng/mL (2.89–7.84); (p<0.0001)], HIF-2 α [5.73 ng/mL (5.09–6.5) vs. 7.95 ng/mL (4.87–18.2); (p=0.002)], HIF-3 α [109 ng/mL (73.2–141) vs. 264 ng/mL (124–825); (p<0.0001)], and VHL [506 ng/mL (361–716) vs. 654 ng/mL (352–1555); (p=0.0295)] were significantly lower compared to controls. When patients were stratified by the PAH Four-Strata Risk Assessment Score (1–2 points = low to intermediate risk, 3–4 points = intermediate to high risk), a significant difference in HIF-2 α levels was observed between the low-risk group [6.00 (5.42–6.82)] and the high-risk group [5.42 (4.86–6.27)] (p=0.0449).

Conclusion: In patients with PAH, serum levels of HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , and VHL were significantly lower than in healthy individuals. Notably, HIF-2 α levels may be associated with disease severity. However, to clarify the mechanistic links and determine the clinical applicability of these findings, further large-scale, multicentre, and prospective studies are warranted.

Keywords: Echocardiography, HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α , NT-proBNP, Pulmonary arterial hypertension, VHL, Single nucleotide polymorphism

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar	vii
ŞEKİLLER	ix
KISALTMALAR	x
SİMGELER	xii
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	5
2.1 Pulmoner Hipertansiyon	5
2.1.1 İnsidans	5
2.1.2 Etiyoloji	6
2.1.3 Pulmoner Hipertansiyon Tanı Koyma Kriterleri	9
2.1.4 Pulmoner Hipertansiyon Sınıflaması	12
2.1.5 Prognoz	15
2.1.6 Tedavi.....	20
2.2 HİF-1α	26
2.2.1 HİF-1 α Proteininin Yapısı ve Genetik Özellikleri.....	26
2.2.2 HİF-1 α Sentezi ve Düzenlenmesi.....	26
2.2.3 HİF-1 α 'nın Hücredeki Lokalizasyonu	27
2.2.4 HİF-1 α Ekspresyonunun Ağırlıklı Olduğu Dokular	27
2.2.5 HİF-1 α 'nın Post-Traslasyonel Modifikasyonları.....	27
2.2.6 HİF Yolu (Hipoksi Yanıt Yolu) ve Temel İşleyişi	28
2.2.7 HİF-1 α 'nın Keşfi.....	28
2.2.8 HİF-1 α 'nın Hastalıklardaki ve Fizyolojik Durumlardaki Kan Seviyesi	29
2.2.9 Fetal dönemde HİF-1 α 'nın Rolü	29
2.2.10 Kardiyovasküler Hastalıklarda HİF-1 α 'nın Koruyucu Rolü	29
2.2.11 Primer Pulmoner Hipertansiyon Patogenezindeki Rolü	32
2.3 HİF-2α	34
2.3.1 HİF-2 α 'nın Sentezi ve Regülasyonu.....	34
2.3.2 HİF-2 α 'nın İfade Edildiği Dokular	34
2.3.3 HİF-1 α ve HİF-2 α 'nın Farklı İfade Paternleri ve Fonksiyonları	35
2.4 HİF-3α	36
2.4.1 HİF-3 α Proteininin Yapısı.....	36
2.4.2 Ekspresyon Profili ve Lokalizasyonu.....	36
2.4.3 Post-transkripsiyonel Modifikasyonlar ve İzoformlar	37
2.4.4 Kardiyovasküler Hastalıklarda Rolü.....	38
2.4.5 Pulmoner Hipertansiyonda Rolü	39
2.5 VHL	40
2.5.1 VHL Proteininin Yapısı ve Genel Özellikleri	40
2.5.2 VHL Proteininin Keşfi.....	41
2.5.3 HİF Yolağındaki Rolü ve Fonksiyonu.....	41
2.5.4 Kardiyovasküler Hastalıklardaki Önemi ve Değişimleri	42

2.5.5	Primer Pulmoner Hipertansiyon Patogenezinde VHL' nin Rolü	43
2.6	Genetik Polimorfizm ve HIF Yolu	44
2.6.1	Single Nükleotid Polimorfizm (SNP)	44
2.6.2	HIF1A rs11549465 (C1772T, Pro582Ser):.....	45
2.6.3	HIF1A rs2057482 (3'UTR SNP).....	45
2.6.4	EPAS1 rs13419896 (intronik SNP):.....	45
3	GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1	Çalışmaya Dahil Olacak Bireylerin Seçilmesi ve Verilerin Toplanması	46
3.1.1	Sağ Kalp Kataterizasyonu	47
3.1.2	Transtorasik Ekokardiyografi	48
3.2	Analizlerin Yapılması.....	53
3.2.1	Serum HIF-1 α Düzeyinin Ölçümü	53
3.2.2	Serum HIF-2 α Düzeyinin Ölçümü	55
3.2.3	Serum HIF-3 α Düzeyinin Ölçümü	56
3.2.4	Serum VHL Protein Düzeyinin Ölçümü.....	57
3.2.5	SNP Analizleri	59
3.2.6	Diğer Analizler	60
3.3	Veri Analizi-İstatistiksel Yöntemler	61
4	BULGULAR	63
5	TARTIŞMA.....	90
5.1	Güçlü Yönler ve Kısıtlılıklar	98
6	SONUÇ.....	99
7	KAYNAKLAR	100

TABLULAR

	<u>Sayfa No</u>
<i>Tablo 3.1. Dünya Sağlık Örgütü'nün pulmoner hipertansiyon hastalarının fonksiyonel durumuna ilişkin sınıflaması .</i>	47
<i>Tablo 3.2. Korelasyon katsayısı ve ilişki durumları.....</i>	61
<i>Tablo 4.1. Çalışma gruplarındaki bireylerin yaşlarının değerlendirilmesi</i>	63
<i>Tablo 4.2. Çalışma gruplarındaki bireylerin cinsiyetlerinin dağılımı</i>	63
<i>Tablo 4.3. PAH grubuna ait demografik özellikler ve klinik değerlendirmeye ait sonuçlar</i>	64
<i>Tablo 4.4. PAH grubundaki hastaların sağ kalp kateterizasyon basınç ve saturasyon ölçüm değerleri ve hesaplanan indekslerin sonuçları</i>	67
<i>Tablo 4.5. PAH grubunun ekokardiyografi tetkik sonuçları</i>	68
<i>Tablo 4.6. PAH ve kontrol gruplarının hemogram tetkik sonuçları</i>	70
<i>Tablo 4.7. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının lipit profili değerleri.....</i>	71
<i>Tablo 4.8. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum elektrolit ve protein değerleri.....</i>	72
<i>Tablo 4.9. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının diğer biyokimyasal tetkik sonuçları</i>	74
<i>Tablo 4.10. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının immün analiz ölçüm sonuçları.....</i>	75
<i>Tablo 4.11. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VHL seviyeleri</i>	78
<i>Tablo 4.12. PAH hastalarının tiplerine göre HIF-1α, HIF-2α, HIF-3α ve VHL seviyeleri.....</i>	78
<i>Tablo 4.13. Biyokimyasal parametrelere ait korelasyon sonuçları</i>	79
<i>Tablo 4.14. Sağ kalp kateterizasyon ölçümü ve klinik parametrelere ait korelasyon sonuçları.....</i>	83
<i>Tablo 4.15. Ekokardiyografi ölçümlerine ait korelasyonlar.....</i>	84
<i>Tablo 4.16. HIF Yolak Biyobelirteçleri ile PVR, TAPSE/PASP, Ortalama Pulmoner Arter Basıncı, Kardiyak İndeks ve NT-proBNP Arasındaki Korelasyon Analizi.....</i>	86
<i>Tablo 4.17. ROC eğrisi özellikleri.....</i>	87
<i>Tablo 4.18. SNP analizleri</i>	88

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1 Sağ atrium majör (sarı ok) -minör çap (mavi ok) ve alan ölçümleri.....	50
Şekil 3.2 Sağ ventrikül bazal ve mid ventriküler çap ölçümleri.....	50
Şekil 3.3 Sağ ventrikül bazal ve mid ventriküler çap ölçümleri.....	51
Şekil 3.4 End-diastolde ölçülen sol ventrikül ekzantrite indeksi	51
Şekil 3.5 End-diastolde ölçülen sol ventrikül ekzantrite indeksi	52
Şekil 3.6 HİF-1 α konsantrasyon- absorbans standart eğrileri	54
Şekil 3.7 HİF-2 α konsantrasyon- absorbans standart eğrileri	56
Şekil 3.8 HİF-3 α konsantrasyon- absorbans standart eğrileri	57
Şekil 3.9. VHL konsantrasyon- absorbans standart eğrileri	58
Şekil 4.1. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum HİF-1 α seviyeleri.....	75
Şekil 4.2. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum HİF-2 α seviyeleri.....	76
Şekil 4.3. PAH 4 Katmanlı Risk Değerlendirmesine göre hastaların HİF-2 α sonuçları	76
Şekil 4.4. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum HİF-3 α seviyeleri.....	77
Şekil 4.5. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum VHL seviyeleri	77
Şekil 4.6. HİF-1 α - HİF-2 α değerleri korelasyon grafiği.....	81
Şekil 4.7. HİF-1 α - HİF-3 α değerleri korelasyon grafiği	81
Şekil 4.8. HİF-2 α - HİF-3 α değerleri korelasyon grafiği	82
Şekil 4.9. VHL- HİF-3 α değerleri korelasyon grafiği.....	82
Şekil 4.10. PAH için ROC eğrileri.....	86

KISALTMALAR

- 6DYT: 6 Dakika yürüme testi
ASD: Atrial septal defekt
cGMP: Siklik guanozin monofosfat
Cİ: Kardiyak indeks
CO: kardiyak output
CPO: kardiyak power output
CRP: C reaktif protein
CW: continuous wave
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
ECLIA: elektrokemilüminesans immun analiz
EPAS-1: endotelial PAS alanı içeren protein-1
ERA: endotelim reseptör antagonisti
ESC: Avrupa Kardiyoloji Derneği
GWAS: genom çapında ilişki çalışması
HIF-1 α : Hipoksi indüklenebilir Faktör 1 α
HIF-2 α : Hipoksi indüklenebilir Faktör 2 α
HIF-3 α : Hipoksi indüklenebilir Faktör 3 α
HRE: hypoxia response element
HRP: Horseradish peroksidaz
hs-cTnT: Yüksek duyarlıklı kardiyak troponin T
HWE: Hardy-Weinberg dengesi
İVC: inferior vena kava
KKB: kalsiyum kanal blokörü
KTEPH: Kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon
LVEI: sol ventrikül eksantrite indeksi
mPAB: ortalama pulmoner arter basıncı
MPI: myokardiyal performans indeksi
NO: nitrik oksit
NT pro BNP: N terminal pro B-tipi natriüretik peptit
NYHA: New York Kalp Cemiyeti
OD: Optik dansite

Ort: Ortalama
PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon
PAPİ: Pulmoner arter pulsatilite indeksi
PCWP: Pulmoner kapiller kama basıncı
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDA: Patent duktus arteriosus
PDE: fosfodiesteraz
PH: Pulmoner hipertansiyon
PHD: prolin hidroksilaz domain
PVR: Pulmoner vasküler rezistans
PW: pulsed wave
RA: sağ atriyum
RAP: sağ atriyum basıncı
RVOT: sağ ventrikül çıkış yolu
sGC: solubl guanilat siklaz
SKK: Sağ kalp kateterizasyonu
SNP: Tek nükleotid polimorfizmi
SVR: sistemik vasküler rezistans
SS: Standart sapma
TAPSE: triküspid annüler düzlem sistolik yer değiştirmesi
TDI: Doku Doppler Görüntüleme
TPG: transpulmoner gradient
TTE: Transtorasik ekokardiyografi
VHL: Von Hippel–Lindau tümör baskılayıcı protein
VSD: Ventriküler septal defekt

SİMGELER

dL: Desilitre

fL: femtolitre

g: gram

L: litre

mL: Mililitre

μ L: Mikrolitre

n: örneklem sayısı

ng: nanogram

p: istatistiksel anlamlılık düzeyi

pg: pikogram

r: korelasyon katsayısı

SpO₂: oksijen saturasyonu

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Pulmoner hipertansiyon (PH), birçok klinik durumu içerebilen ve çeşitli kardiyovasküler ve solunum yolu hastalıklarıyla ilişkili pulmoner arterlerde yüksek kan basıncı ile karakterize bir hastalıktır. Sağ kalp kateterizasyonu (SKK) değerlendirilen istirahatte ortalama pulmoner arter basıncının 20 mmHg veya daha fazla olması ile tanısı konulur. Son yıllardaki bir dizi önemli keşif, hastalık hakkındaki anlayışımızı geliştirmiş, hasta yönetimine rehberlik etmeye yardımcı olmuş ve gelecekteki araştırmaların temellerini atmıştır.

Pulmoner hipertansiyon (PH) tek bir hastalık değildir, ancak pre-kapiller (arteriyel) veya post-kapiller (venöz) patofizyolojik mekanizmalardan kaynaklanabilen geniş bir hastalık grubunda görülen hemodinamik bir özelliktir. Mevcut PH klinik sınıflandırması, benzer hemodinamik kriterleri ve türde pulmoner vasküler lezyonları paylaşan PH gruplarını bir araya getirerek tedavi yaklaşımlarını optimize etmek, hasta sonuçlarını öngörmek ve araştırma stratejilerini kolaylaştırmak amacı taşır.

Pulmoner hipertansiyonun çeşitli nedenleri vardır ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından beş ana grupta sınıflandırılmıştır:

1. Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon (PAH): Genetik faktörler, bazı ilaçlar, konjenital kalp hastalıkları ve bağ dokusu hastalıkları gibi nedenlerle ortaya çıkar.
2. Sol Kalp Hastalığına Bağlı PH: Sol kalp yetmezliği veya mitral kapak hastalıkları gibi sol kalp hastalıkları nedeniyle gelişir.
3. Akciğer Hastalıkları ve/veya Hipoksiye Bağlı PH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), interstisyel akciğer hastalıkları ve uyku apnesi gibi durumlar bu gruba girer.
4. Kronik Tromboembolik PH (KTEPH): Pulmoner embolinin bir sekeli olarak oluşur.
5. Diğer Nedenlere Bağlı PH: Multisistemik hastalıklar, hematolojik hastalıklar ve diğer daha nadir görülen nedenlerle oluşur.

Ancak, beş farklı PH grubu birkaç ortak noktayı ve kilit düzenleyicileri paylaşır. Bunlar arasında, çeşitli derecelerde önem taşıyan pulmoner endotelial disfonksiyon, pulmoner vasküler hücrelerin belirgin birikimi, aşırı akciğer inflamatuvar hücre toplanması, belirli genetik mutasyonların ve çevresel etkenlerin varlığı gibi faktörlerin kombinasyonu

bulunur.

Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) hastaları, kronik tromboembolik PH ve akciğer hastalıklarıyla ilişkili PH gibi diğer prekapiller PH nedenlerinin yokluğunda, hemodinamik olarak prekapiller PH ile karakterizedir. PAH nadir ve hayatı tehdit edici bir hastalık olmakla beraber endotelin, nitrik oksit (NO)- solubl guanilat siklaz (sGC)- siklik GMP ve prostasiklin yolağına spesifik ilaçların kombine kullanımıyla beraber sağkalım ve hayat kalitesi faydası sağlayabildiğimiz bir alt gruptur (Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Sivakumaran, et al., 2022; Leber et al., 2021; Simonneau et al., 2019).

Pulmoner hipertansiyon için patognomonik hiçbir klinik özellik yoktur. Belirtiler ve semptomlar oldukça spesifik değildir ve diğer akciğer veya kalp hastalıklarında da gözlemlenebilir. Bu, teşhisin genellikle neden geç konulduğunu açıklar. En sık görülen semptomlar arasında nefes darlığı, yorgunluk, senkop ve anjina bulunur. Hastalığın geç evrelerinde, hepatomegali, periferik ödem ve juguler distansiyon gibi sağ kalp yetmezliği belirtileri de ortaya çıkabilir. Klinik tablo aynı zamanda sistemik skleroz, portal hipertansiyon veya konjenital kalp hastalığını düşündürülen işaretlerle de etkilenir. Klinik belirtilerin değerlendirilmesi, tanı sırasında ve pulmoner hipertansiyonu olan hastaların takibinde hasta risk stratifikasyonunun önemli bir parçasıdır.

Kapsamlı araştırmalara rağmen hastalığın gelişimi ve ilerlemesinin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Birçok düzensiz sinyal yolu arasında Hipoksi İndüklenebilir Faktörler (HİF) sinyali, hastalığın ilerlemesini belirleyen temel mekanizmalardan biri olarak tanımlanmıştır.

Hipoksi İndüklenebilir Faktörler (HİF), hücrelerin oksijen seviyesindeki değişikliklere yanıt vermesini sağlayan transkripsiyon faktörleridir. Bu faktörler, özellikle düşük oksijen (hipoksi) koşullarında aktif hale gelir ve hücresel yanıtları düzenleyerek organizmanın hayatta kalmasına yardımcı olur. Aktif HİF kompleksi, hipoksi yanıt elemanlarına bağlanarak çeşitli hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır. Bu genler, eritropoez, anjiyogenez, glikoz metabolizması, hücre hayatta kalma ve proliferasyon gibi süreçleri düzenler.

HİF yolları, tümör hücrelerinin hipoksiye yanıt vermesini ve hayatta kalmasını

sağlar. HIF, tümör anjiyogenezi ve metastazında önemli bir rol oynar, pulmoner vasküler remodelling ve hipertansiyonun gelişiminde rol oynar. HIF, eritropoietin üretimini artırarak kırmızı kan hücrelerinin üretimini teşvik eder. Bu, hipoksi veya anemi durumlarında kritik bir adaptasyon mekanizmasıdır. HIF' in düzenleyici mekanizmalarının ve hedef genlerinin anlaşılması, çeşitli hastalıkların tedavisinde yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine olanak tanır.

Ortaya çıkan kanıtlar, hipoksi dışında inflamasyon, mekanik gerilme, oksidatif stres ve genetik yatkınlık gibi birçok PH yanlısı faktörün HIF sinyal yollarında birleşerek vasküler tonus, anjiyogenez, metabolizma ve hücre sağkalımında değişikliklere neden olduğunu ve bunun sonucunda pulmoner vasküler ve sağ ventriküler yeniden yapılanmaya neden olabileceğini göstermektedir (Pullamsetti et al., 2020).

HIF yolağı, transkripsiyonel aktivasyon ve baskının yanı sıra RNA stabilitesi ve translasyonunu etkileyerek O₂ tedarikini ve talebini düzenleyerek oksijen homeostazisinde kritik bir rol oynar. HIF aktivitesini artıran germ hattı mutasyonları kalıtsal eritrositozla sonuçlanırken, yalnızca yüksek rakımlı popülasyonlarda yüksek frekansta bulunan yol genlerindeki varyantların HIF aktivitesini azalttığı ve hipoksiye eritropoietik yanıtı körelttiği görülmektedir (Semenza, 2020).

Tek nükleotid polimorfizmi (SNP), DNA dizisindeki tek bir nükleotid bazının popülasyonlar arasında farklılık göstermesiyle tanımlanan en yaygın genetik varyasyon türüdür. Bu değişiklik genellikle A, T, C veya G bazlarından birinin, dizideki belirli bir pozisyonda farklı bir bazla yer değiştirmesi şeklinde ortaya çıkar. Eğer bir popülasyonda bu varyasyon %1'den daha yüksek sıklıkta görülüyorsa, bu durum SNP olarak kabul edilir. Genomun kodlayıcı bölgelerinde yer alan SNP'ler, protein sentezinde yer alan amino asit dizilimini değiştirebilir ve bu durum, proteinin yapısal ya da fonksiyonel özelliklerini etkileyebilir. Her ne kadar birçok SNP'nin klinik bir etkisi bulunmasa da, bazıları hastalık yatkınlığı, ilaç yanıtı ya da fenotipik özelliklerle anlamlı ilişkiler gösterebilmektedir.

Çalışmamızda primer pulmoner hipertansiyon tanısı SKK ile konulmuş 71 hastada ve cinsiyet-yaş olarak eşlenen 93 kişilik kontrol grubunda HIF yolağında bulunan 4 proteinin kandaki miktarlarına [Hipoksi indüklenebilir Faktör 1 α (HIF-1 α), Hipoksi indüklenebilir Faktör 2 α (HIF-2 α), Hipoksi indüklenebilir Faktör 3 α (HIF-3 α), Von Hippel-Lindau (VHL)

proteini]] ve ilişkili genlerdeki polimorfizmlere bakılması planlandı. İlişkili olabilecek polimorfizmler literatür taraması ile HİF-1A için rs11549465, rs2057482ve EPAS1 için rs13419896 olarak belirlendi. Ayrıca Avrupa Kardiyoloji Cemiyeti tarafından başlangıçta ve takipte bakılması önerilen parametrelerin kaydedilmesi planlandı (DSÖ fonksiyonel kapasite, ekokardiyografi parametreleri, NT pro BNP, 6 dakika yürüme testi, senkop varlığı vb). Protein düzeyleri ve polimorfizmlerin varlığına göre HİF yolağının hastalığın klinik seyrindeki ve prognozundaki rolünün araştırılması planlandı.

Amacımız bu proteinler (HİF-1 α , HİF-2 α , HİF-3 α , VHL) ve seçtiğimiz polimorfizmler ile pulmoner hipertansiyon arasındaki ilişkinin belirlenmesidir. Bu doğrultuda hedefimiz pulmoner hipertansiyon tedavisinde yararlanılabilecek bir durumu araştırmak ve daha önce çalışılmamış bir alanda literatüre katkı sağlamaktır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Pulmoner Hipertansiyon

Pulmoner hipertansiyon (PH), akciğer dolaşımındaki kan basıncının anormal derecede yükselmesi ile karakterize, nadir görülen ancak yaşamı tehdit eden, ilerleyici bir hastalıktır (Mitra et al., 2024). PH tanımı hemodinamik ölçütlerle belirlenir; sağ kalp kateterizasyonu ile istirahat halinde ölçülen ortalama pulmoner arter basıncının (mPAB) 20 mmHg'yi aşması PH varlığı olarak kabul edilmektedir (Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Berger, et al., 2022). Bu eşik, 2018 Dünya PH Sempozyumu ile birlikte önceki ≥ 25 mmHg kriterinden aşağı çekilmiştir ve güncel kılavuzlarda da benimsenmiştir (Xue et al., 2021).

PH farklı altta yatan mekanizma ve nedenlere bağlı beş ana alt tipe ayrılır. Bu alt tiplerden biri olan Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon (PAH), yani Tip 1 PH, akciğer atardamarlarının kendisinden kaynaklanan, prekapiller tipte bir PH formudur (American Thoracic Society, 2020). PAH tanısının konulabilmesi için, yüksek mPAB değerine ek olarak pulmoner vasküler direnç (PVR) > 2 Wood-Units ve normal sol kalp basınçlarına işaret eden pulmoner kapiller kama basıncı ≤ 15 mmHg saptanması gereklidir (Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Berger, et al., 2022). Bu kriterler, PAH'ın tanım gereği sol kalp hastalığı ya da akciğer hastalığı olmaksızın, primer olarak pulmoner arteriyel yatakta ortaya çıktığını göstermektedir.

Patolojik olarak PAH, küçük pulmoner arterlerde ilerleyici daralma ve obstrüktif lezyonların oluşmasıyla karakterizedir (American Thoracic Society, 2020). Sonuçta artan pulmoner vasküler direnç ve basınç, kalbin sağ ventrikülüne aşırı yük bindirir. Klinik seyirde, tedavi edilmediği takdirde, PAH hastalarında giderek ağırlaşan egzersiz dispnesi ve hipoksemi tabloya hakim olur ve süreç sağ ventrikül yetmezliği ile sonlanarak ölümlerle sonuçlanabilir (Mitra et al., 2024). Bu nedenle PAH, tanı ve tedavi açısından aciliyet ve multidisipliner yaklaşım gerektiren ciddi bir hastalıktır.

2.1.1 İnsidans

Pulmoner hipertansiyon genel popülasyonda nadir görülmekle birlikte, özellikle yaşlı bireylerde önemli bir morbidite nedenidir. Küresel tahminlere göre tüm PH formlarının genel prevalansı dünya nüfusunun yaklaşık %1'i kadardır; 65 yaş üzeri kişilerde bu oran %10'a kadar yükselmektedir. Ancak PH'nin bu genel sıklığı içinde en büyük pay, sol kalp ve akciğer

hastalıklarına bağlı gelişen PH olgularına aittir (Hoepfer et al., 2016). Avrupa ve ABD kaynaklı çeşitli kohort ve kayıtlar, PAH prevalansının ülkelere göre milyonda 15 ile 50 arasında değişebildiğini bildirmektedir (Levine, 2021).

PAH, kadın cinsiyeti daha sık etkileyen bir hastalıktır. Büyük hasta kayıtlarında PAH hastalarının yaklaşık %70–80’inin kadın olduğu, kadın/erkek oranının 4:1 düzeyine ulaşabildiği gösterilmiştir. Örneğin, ABD’deki REVEAL çalışmasında 2525 PAH hastasının %79.5’ inin kadın olduğu (yaklaşık 4:1 oran) rapor edilmiştir (Austin et al., 2013). Bu kadın ağırlıklı dağılım, özellikle idiopatik ve bağ doku hastalığı ile ilişkili PAH alt gruplarında belirgindir (DesJardin et al., 2024).

Tanı anındaki yaş ortalaması geçmiş yıllara göre artış göstermekle birlikte, idiopatik PAH genellikle orta yaş grubunda ortaya çıkar; büyük serilerde tanı sırasındaki ortalama yaş 50 civarında bildirilmiştir (American Thoracic Society, 2020).

PAH’ ın nadir bir hastalık olmakla birlikte tanı sıklığının zamanla arttığına dair veriler bulunmaktadır. Kanada’ da yapılan bir kohort sonuçlarına göre yetişkin PH’ nin yıllık insidansı 2003-2012 yılları arasında 100.000 kişi başına 24,1 vakadan 28,7 vakaya, yıllık prevalansı ise 1993-2012 yılları arasında 100.000 kişi başına 99,8 vakadan 127,3 vakaya yükselmiştir (Thiwanka Wijeratne et al., 2018). Bu artışın nedenleri arasında tanı araçlarının ve farkındalığın artması, tedavilerle sağkalımın uzaması ve ileri yaş popülasyonda PH’ ye yatkınlığın artması gibi çok yönlü etkenler bulunmaktadır (Anderson & Lau, 2022). Sonuç olarak, PH ve özelde PAH halen nadir görülse de, klinisyenlerin bu hastalığı akılda tutmaları ve risk altındaki bireylerde aktif tarama yapmaları önemlidir.

2.1.2 Etiyoloji

PH heterojen bir hastalık grubudur ve altta yatan nedene göre beş ana kategoriye ayrılır (Grup 1–5). Grup 1 PH yani PAH, özgül bir klinik antite olarak çeşitli nedenlere bağlı gelişebilir. PAH etiyojisi idiopatik (bilinen bir neden saptanamayan), kalıtsal (herediter), ilaç ve toksinlere bağlı veya diğer sistemik hastalıklarla ilişkili olabilir.

İdiopatik PAH, altta yatan neden saptanamaksızın ortaya çıkan formdur. Günümüzde idiopatik PAH’ın patogenezi büyük ölçüde endotel disfonksiyonu, aşırı vazokonstriksiyon ve

vasküler yatakta yapısal yeniden yapılanma (remodelling) ile ilişkilendirilir (Mitra et al., 2024). İdiopatik PAH olgularının bir kısmında da aslında tanımlanabilir genetik mutasyonlar söz konusudur; bu nedenle “idiopatik” grup, moleküler genetik tetkiklerin yaygınlaşmasıyla daralmaktadır (Austin & Loyd, 2014).

Kalıtsal (Hereditary) PAH: Ailevi geçiş gösteren PAH olgularının büyük çoğunluğunda sorumlu gen BMPR2 (bone morphogenetic protein receptor type 2) genindeki mutasyonlardır (Wu et al., 2025). BMPR2 mutasyonları ailevi (herediter) PAH hastalarının %70–80’inde, sporadik idiyopatik PAH hastalarının ise %10–20’sinde tespit edilmiştir (Mutlu et al., 2016). BMPR2 dışında ALK1, ENG, KCNK3, Endoglin, CAV1 ve EIF2AK4 gibi çeşitli genlerde de PAH ile ilişkilendirilmiş mutasyonlar tanımlanmıştır (Austin & Loyd, 2014). Kalıtsal geçişli PAH’da genetik danışma ve aile taraması önemli hale gelmektedir.

İlaç ve Toksinlere Bağlı PAH: 1960'lardan bu yana, bazı ilaçların pulmoner arteriyel hipertansiyonun başlangıcıyla veya kötüleşmesiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir: dasatinib, bazı amfetamin benzeri iştah baskılayıcılar (aminoreks, fenfluramin, deksfenfluramin, benfluoreks) ve rekreatif amaçlı kullanılan psikoaktif maddeler (metamfetamin) (Hlavaty et al., 2022). Pulmoner hipertansiyon ile kesin ilişkili olduğu gösterilmiş maddeler arasında aminoreks, benfluoreks, dasatinib, deksfenfluramin, fenfluramin, metamfetaminler ve toksik kolza yağı yer almaktadır. Olası ilişkili olduğu bildirilen maddeler arasında alkilleyici ajanlar (siklofosfamid, mitomisin C), amfetaminler, bosutinib, kokain, diazoksid, hepatit C virüsüne karşı doğrudan etkili antiviral ajanlar (sofosbuvir), indirubin (Çin bitkisi Qing-Dai), interferon alfa ve beta, leflunomid, L-triptofan, fenilpropanolamin, ponatinib, selektif proteazom inhibitörleri (karfilzomib), çözücüler (trikloroetilen) ve sarı kantaron (St John’s Wort) bulunmaktadır (Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Berger, et al., 2022). Bu nedenle PAH tanısı almış her hastada, detaylı bir ilaç kullanımı ve maruziyet öyküsü alınarak olası tetikleyiciler belirlenmelidir.

Bağ Doku Hastalıkları ile İlişkili PAH: Sistemik skleroz (skleroderma) başta olmak üzere çeşitli bağ doku hastalıkları PAH gelişimine yol açabilir. Özellikle sistemik sklerozlu hastalarda, hastalığın seyrinde prekapiller PH gelişme riski yüksektir; farklı çalışmalarda skleroderma hastalarının %5–15’inde PAH ortaya çıktığı bildirilmektedir (Naranjo & Hassoun, 2021). Metaanaliz verilerine göre sklerodermada PAH prevalansı yaklaşık %8–12 olup, idiyopatik PAH’tan sonra en sık görülen PAH nedenidir (Morrisroe et al., 2017). Sistemik

sklerozlu hastalarda, sistematik bir PAH tarama programı ile rutin klinik uygulamayı karşılaştıran bir çalışmada sistematik PAH saptama programının, PAH hastalarının daha erken teşhis edilmesini ve daha iyi bir prognoza sahip olmasını sağladığı gösterilmiştir (Hachulla et al., 2005). Bağ doku hastalıklarından ayrıca sistemik lupus eritematozus, miks bağ dokusu hastalığı ve dermatomyozit/polimiyozit de daha nadiren PAH ile ilişkilendirilebilir (Fagan & Badesch, 2002).

Konjenital Kalp Hastalığı (KKH) ile İlişkili PAH: Doğumsal sistemik-pulmoner şanlı kalp hastalıkları [örneğin büyük ventriküler septal defekt (VSD), patent duktus arteriosus (PDA), atrial septal defekt (ASD)] uzun dönemde tedavi edilmezse pulmoner vasküler yatağı bozarak Eisenmenger sendromu gelişimine neden olabilir. Bu durumda sistemik-pulmoner akım dengesi tersine döner ve ağır PAH tabloya hakim olur. KKH kaynaklı PAH, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, tedavisiz kalmış doğumsal kalp hastalıklarının doğal sonucu olarak halen önemli bir PH nedenidir . Bu grup hastalarda altta yatan kalp defektinin onarılması (eğer mümkünse) veya ileri evrede kalp-akciğer transplantasyonu gibi girişimler tedavide gündeme gelebilir (Banerjee & Opatowsky, 2024).

Portal Hipertansiyon (Portopulmoner Hipertansiyon): Karaciğer sirozu ve portal hipertansiyon varlığında, bazı hastalarda portal dolaşımdaki vazodilatasyona karşılık pulmoner damarlarda anormal vazokonstriksiyon ve remodeling gelişerek PAH ortaya çıkabilir. Portopulmoner hipertansiyon adı verilen bu durum sirozlu hastaların yaklaşık %0,25– 4'ünde görülür (Arumairaj et al., 2020). Özellikle karaciğer transplantasyonu değerlendirmesi sırasında sistematik taramalar, ileri evre karaciğer hastalarında PH prevalansını %5–6 düzeyinde bildirmiştir (Krowka et al., 2016). PoPH varlığı, siroz hastalarında transplantasyon riskini önemli ölçüde artırdığından, tanısının konması ve mümkünse medikal tedavi ile kontrol altına alınması önemlidir.

HIV Enfeksiyonu: HIV pozitif bireylerde pulmoner hastalıkların kötüleşmesi uzun süredir bilinen bir sorundur ve HIV enfeksiyonunun pulmoner vasküler disfonksiyondaki rolü tam anlamıyla kabul edilmiştir. Ancak, HIV'e bağlı pulmoner vazokonstriksiyonun altında yatan spesifik mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Almodovar et al., 2010). Gelişmiş ülkelerde HIV ile ilişkili pulmoner arteriyel hipertansiyon (HRPAH) için tahmini prevalans %0,5 olarak hesaplanmakta olup, pulmoner semptomları olmayan hastalarda pulmoner arteriyel hipertansiyon taraması için daha fazla klinisyen-bilim insanının çabalarını

birleştirmesiyle bu oran artmaktadır

Şistozomiyazis: İnflamasyon, birçok ağır pulmoner hipertansiyon formunun altında yatan kritik bir etiyoloji olarak kabul edilmektedir. Dünya genelinde en yaygın PH nedenlerinden biri olan şistozomiyazis ile ilişkili PH' nin ise büyük olasılıkla parazit antijenlerine karşı gelişen konakçı yanıtı tarafından yönlendirildiği düşünülmektedir (Graham et al., 2010). Dünyada şistozomiyazis parazit enfeksiyonunun endemik olduğu bölgelerde, bu enfeksiyonun kronik evresi PAH gelişimine yol açabilmektedir. Tropikal bölgelerde PAH tanısı konan her hastada schistosoma serolojisi veya diğer tanı testleriyle bu etkenin araştırılması önerilmektedir.

2.1.3 Pulmoner Hipertansiyon Tanı Koyma Kriterleri

Pulmoner hipertansiyon tanısı, klinik şüphe ile başlayıp basamaklı bir değerlendirme sonucunda kesinleştirilir.

Klinik Şüphe ve Ön Değerlendirme: PH' nin erken evrede semptomları özgül değildir; efor dispnesi, yorgunluk, çarpıntı veya baş dönmesi gibi bulgular, özellikle genç hastalarda başka tanılara yorularak gözden kaçabilir. Bu nedenle risk faktörü taşıyan (ör. skleroderma, HIV enfeksiyonu, aile öyküsü olan) veya açıklanamayan egzersiz dispnesi bulunan hastalarda PH'den şüphelenmek önemlidir. Fizik muayenede ikinci kalp sesinde pulmoner komponentin şiddetlenmesi, jugüler venöz distansiyon, sağ ventrikül üçüncü kalp sesi (S3) ve hepatomegali-ödem gibi bulgular ileri evre PH' de görülebilir ancak erken dönemde muayene normal olabilir. Dolayısıyla, PH şüphesi genellikle klinisyenin dikkatine ve düşük eşliğine bağlıdır.

Tarama ve Non-invaziv Tanı: PH şüphesi olan hastada ilk basamak görüntüleme Transtorasik Ekokardiyografi (TTE) ile yapılır. TTE, sağ ventrikül sistolik basıncını tahmin etmek için triküspit yetersizliği jet hızını kullanır ve pulmoner arter basıncı hakkında bir öngörü sağlar. Aynı zamanda sağ ventrikül dilatasyonu, hipertrofisi ve fonksiyon bozukluğu, dilate pulmoner arter, interventriküler septum deviasyonu gibi PH' ye özgü yapısal değişiklikler de ekokardiyografide saptanabilir. Avrupa Kardiyoloji Derneği kriterlerine göre TTE bulgularına dayanarak PH olasılığı düşük, orta veya yüksek olarak sınıflandırılabilir. Özellikle triküspit yetersizlik jet akım hızının $>3,4$ m/sn olması veya ekokardiyografide ek PH bulgularının varlığı, yüksek olasılıkla PH' ye işaret eder (Humbert, Kovacs, Hoepfer, Badagliacca, Berger, et al., 2022).

Pulmoner hipertansiyonun ekokardiyografik olasılığı ve ileri değerlendirme önerileri için doppler ekokardiyografide ölçülen triküspid regürjitasyon hızı (TRV) ile diğer PH bulgularının varlığına göre pulmoner hipertansiyon olasılığı üç kategoriye ayrılır:

- $TRV \leq 2,8$ m/s ve ek bulgu yoksa düşük; ek bulgu varsa orta;
- $TRV 2,9-3,4$ m/s ise tek başına orta, ek bulgularla yüksek;
- $TRV > 3,4$ m/s ise başka bulguya bakılmaksızın yüksek olasılık olarak değerlendirme yapılır.

Düşük olasılıklı hasta, PAH/ KTEPH ile ilişkili risk faktörü yoksa alternatif tanıya yönlendirilmeli (ESC Sınıf IIA öneri düzeyi), risk faktörü taşıyorsa TTE takibine devam edilmelidir (ESC Sınıf IIA öneri düzeyi). Orta olasılıklılarda da risk faktörü varsa TTE takibi önerilir, yoksa alternatif tanı düşünülür (ESC Sınıf IIA öneri düzeyi). Yüksek olasılıklı hastalarda ise tedavi kararı veya kesin tanı için sağ kalp kateterizasyonu ve ilave incelemeler planlanmalıdır (ESC Sınıf I öneri düzeyi).

Triküspid regürjitasyon hızı (TRV) dışında pulmoner hipertansiyon olasılığını artıran ek ekokardiyografik bulgular üç kategoride toplanmıştır:

(A) Ventriküller – sağ/sol ventrikül bazal çap/alan oranının 1,0'dan büyük olması, interventriküler septumun sistol ve/veya diastolde düzleşmesi (Sol ventrikül eksentrisite indeksi (LVEİ) $> 1,1$) veya triküspid annüler düzlem sistolik yer değiştirmesi (TAPSE)/ sistolik pulmoner arter basıncı oranının 0,55'in altında olması;

(B) Pulmoner arter – sağ ventrikül çıkış yolu hızlanma süresinin (RVOT AT) 105 ms'den kısa olması ve/veya sistolik çentiklenme, erken diyastolik pulmoner regürjitasyon hızının 2,2 m/s'den yüksek olması, pulmoner arter çapının aort kökünü geçmesi veya 25 mm'den büyük olması;

(C) İnférieur vena kava (İVC) ve sağ atriyum – İVC çapının 21 mm'den büyük olması ve inspiryumda %50'nin üzerinde kollaps yaşamaması (sessiz inspirasyonda %20'nin altında), sağ atriyum end sistolik alanının 18 cm²' den büyük olması.

En az iki kategoriden bulgunun varlığı, ekokardiyografik olarak PH olasılığını yükseltir. Bununla birlikte, tek başına TTE ile kesin tanı konamaz; çünkü TTE tahminlerinde hatalar olabileceği gibi, altta yatan nedeni ayırt etme imkanı da yoktur (Humbert, Kovacs,

Hoepfer, Badagliacca, Berger, et al., 2022).

Ayırıcı Tanı ve Nedeni Belirleme: PH tanısı doğrulandıktan sonra altta yatan etiyolojiyi belirlemek tanı sürecinin bir parçasıdır. Bu amaçla her hastada şu değerlendirmeler yapılmalıdır : - Sol kalp hastalığı ekarte edilmesi: EKO' da sol ventrikül fonksiyonları ve kapak durumu incelenir. Gerekirse sol ventrikül end-diastolik basıncı dolaylı gösteren PKWB SKK sırasında değerlendirilir. Yüksek PKWB çıkması Grup 2 PH tanısını koydurur.

- Akciğer hastalığı ve hipoksi ekarte edilmesi: Pulmoner fonksiyon testleri ve diffüzyon kapasitesi ölçümü yapılır; obstrüktif veya restriktif akciğer hastalığı varlığı araştırılır. Yüksek çözünürlüklü BT (HRCT) ile interstisyel akciğer hastalığı veya amfizem varlığı incelenir. Gece oksijen saturasyon monitörizasyonu veya polisomnografi ile uyku apnesi varlığı araştırılır. Akciğer hastalığı veya kronik hipoksi tespit edilirse Grup 3 PH tanısı düşünülür.

- Kronik tromboembolik PH (KTEPH) ekarte edilmesi: Ventilasyon/Perfüzyon (V/Q) sintigrafisi bu amaçla altın standart tarama testidir. V/Q sintigrafide segmenter/perfüzyon defektleri saptanırsa kronik tromboemboli lehine bulgudur. Ayrıca pulmoner anjiyografi veya BT anjiyografi ile tromboembolik obstrüksiyonlar görüntülenebilir. Pozitif bulgular Grup 4 PH (KTEPH) tanısını destekler.

- Spesifik tetkikler: Altta yatan sistemik hastalıkları taramak için laboratuvar testleri yapılır: Bağ doku hastalıkları için ANA, RF, skleroderma paneli; HIV ELİSA; karaciğer fonksiyon testleri ve hepatit serolojileri; hemoglobin elektroforezi (orak hücre vb. için); şistozomiyazis serolojisi gibi testler, uygun klinik şüphe durumunda istenir. Genetik geçiş şüphesi varsa BMPR2 ve diğer PAH genlerinde mutasyon analizi yapılabilir.

Kesin Tanı – Sağ Kalp Kateterizasyonu: PH tanısını doğrulamak ve hemodinamik ölçümleri kesinleştirmek için sağ kalp kateterizasyonu (SKK) altın standart yöntemdir. SKK ile doğrudan pulmoner arter basınçları ölçülür; PH tanısı için mPAB >20 mmHg olması gerektiği yukarıda belirtilmiştir. Ayrıca SKK sırasında pulmoner kapiller kama basıncı (PKWB) ölçülerek PH'nin prekapiller mi (PKWB ≤15 mmHg ise, PAH lehine) yoksa postkapiller mi (PKWB >15 mmHg ise sol kalp hastalığına bağlı PH lehine) olduğu anlaşılır. PKWB ölçümü, PH'nin Grup 2 (sol kalp hastalığı) kaynaklı olup olmadığını ayırt etmede

kritiktir. SKK aynı zamanda kardiyak debi ve pulmoner vasküler rezistans (PVR) hesaplanmasını sağlar; PAH tanımında PVR'nin >2 Wood Unit ($>160 \text{ dyn}\cdot\text{s}/\text{cm}^5$) olması da tanıyı destekleyen bir kriterdir. SKK sırasında yapılan akut vazoreaktivite testi, özellikle idiopatik PAH hastalarında uygulanır; inhale nitrik oksit, iv prostasiklin veya epoprostenol ile kısa etkili vazodilatör uygulayarak pulmoner basınçlarda düşme olup olmadığı değerlendirilir. Bu test, pozitif çıktığında (mPAB düşüşü ≥ 10 mmHg ve mutlak değer <40 mmHg olmasıyla) hasta bir "akut vazoreaktör" kabul edilir ve kalsiyum kanal blokörü tedavisine aday olur. Ancak hastaların yalnızca %5–10'u bu profile uyar; çoğunda test negatiftir ve ileri tedaviler gereklidir (Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Berger, et al., 2022).

Bu çok yönlü yaklaşım sayesinde PH tanısı hem hemodinamik olarak doğrulanır hem de hastalığın hangi grup olduğu belirlenerek tedavi stratejisi oluşturulur. Özetle, tanı kriterleri mPAB >20 mmHg olmasıyla PH'yi tanımlar; PAH tanısı için ek olarak PVR >2 WU ve PKWB ≤ 15 mmHg ile sol kalp kaynaklı olmadığını gösterilmesi gerekir. Tanının erken konması, hastalığın seyri açısından büyük önem taşır. Ancak ne yazık ki ortalama tanı gecikmesi 1.5–2 yıl gibi uzun bir süre olabilmektedir; bu gecikmede semptomların özgül olmaması ve PH'nin nadir bir hastalık oluşu etkilidir (Maron, 2023a). Bu nedenle risk altındaki hastalarda düzenli taramalar ve PH konusunda farkındalığın artması, erken tanıyı kolaylaştırıp hasta prognozunu iyileştirebilir.

2.1.4 Pulmoner Hipertansiyon Sınıflaması

Pulmoner hipertansiyonun güncel klinik sınıflaması, altta yatan nedene ve hemodinamik özelliklere göre 5 ana gruba ayrılarak yapılır. Bu sınıflandırma ilk olarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından tanımlanmış ve en son 2018 yılında 6. Dünya PH Sempozyumu'nda güncellenmiştir. 2022 yılında yayınlanan ESC kılavuzunda da bu sınıflama esas alınmıştır. Aşağıda bu gruplar ve özellikleri özetlenmiştir:

Grup 1- Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon (PAH): Bu grup, pulmoner arterlerin primer hastalığı sonucu gelişen prekapiller PH'yi içerir. PAH' da akciğerlerdeki küçük pulmoner arter dallarında endotel hücre hasarı, düz kas hipertrofisi ve intimal fibrozis ile karakterize obstrüktif lezyonlar gelişir. Akciğer parankimi ve sol kalp yapıları sağlıklıdır veya PH'ye katkıda bulunmaz. Etiolojik açıdan PAH; idiopatik, herediter, ilaçlara bağlı veya diğer hastalıklarla (bağ doku hast., HIV, portal HT, konjenital şantlar, şistozomiyazis vb.) ilişkili alt

gruplara ayrılır.

Hemodinamik olarak PAH, prekapiller PH olması nedeniyle PKWB normal (≤ 15 mmHg) düzeydedir; mPAB yüksek ve PVR artmıştır. Klinik olarak PAH genellikle progresif seyirli ve tedavi edilmezse sağ kalp yetmezliğine götüren bir durumdur; bu nedenle Grup 1 PH, diğer gruplardan ayrı özel tedavi yaklaşımları gerektirir (Tsai et al., 2016).

Grup 2- Sol Kalp Hastalığına Bağlı PH: Bu grupta pulmoner hipertansiyonun sebebi, sol kalp tarafındaki basınç yükselmesi veya kan göllenmesidir. Sol ventrikül sistolik veya diyastolik disfonksiyonu, sol kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı ya da mitral ve aort kapak hastalıkları gibi durumlarda sol atriyum basıncı artar ve bu basınç akciğerlere geri iletilir. Sonuçta pulmoner venlerde ve kapiller bölgede basınç yükselir, uzun vadede pasif konjesyona bağlı olarak reaktif vazokonstriksiyon ve vasküler yeniden yapılanma da eklendiğinde pulmoner arter basıncı artmış olur.

Hemodinamik olarak Grup 2 PH postkapiller PH tipindedir: PKWB >15 mmHg ile sol atriyal basınç yüksek bulunur, PVR normal veya hafif yükselmiştir (kombine durumlar hariç). Sol kalp hastalığı PH'nin en sık nedenidir; tüm PH olgularının önemli bir kısmı bu gruba girer. Tedavide temel prensip, altta yatan kalp hastalığını tedavi etmek ve gerekirse konjestif bulguları gidermeye yöneliktir (diüretik, ACE inhibitörü vb.). PAH için geliştirilen spesifik ilaçlar (ör. endotelin antagonistleri, prostasiklinler) bu grupta rutin olarak etkili bulunmamış ve kullanılmamaktadır (Macera & Vachiéry, 2021).

Grup 3: Akciğer Hastalığı ve/veya Hipoksiye Bağlı PH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), interstisyel akciğer hastalığı (fibrozis), uzun süreli yüksek irtifa yaşamı veya obstrüktif uyku apnesi gibi kronik hipoksi yaratan durumlar, akciğer damarlarında bölgesel vazokonstriksiyona ve yapısal değişikliklere yol açarak PH oluşturabilir. Örneğin amfizem veya pulmoner fibroziste akciğer kılcal damar yatağının tahrip olması ve hipoksemi nedeniyle pulmoner arterlerde daralma birlikte rol oynar.

Grup 3 PH' de mPAB yüksek seyretse de bu genellikle orta dereceli ($< 35-40$ mmHg) PH şeklindedir; zira pulmoner basıncı artıran birincil faktör hipoksik vazokonstriksiyondur. PKWB normaldir (prekapiller PH), ancak akciğer hastalığı bulguları barizdir (PFT' de bozukluk, radyolojik fibrozis/amfizem bulguları, arteriyel O₂ desaturasyonu gibi). Grup 3 PH'

nin yönetiminde, esas tedavi altta yatan akciğer hastalığının optimizasyonudur (örn. KOAH' de inhaler tedaviler, gerektiğinde uzun süreli oksijen desteği) (Singh et al., 2022).

İleri derecede hipoksemik kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) veya interstisyel akciğer hastalığı olan hastalarda uzun süreli oksijen tedavisi, PH' nin ilerlemesini yavaşlatabilir ve yaşam kalitesini artırabilir. Genellikle grup 3 PH' de pulmoner arter genişletici tedavilerin yeri kısıtlıdır; ancak yeni kanıtlar ışığında ileri evre interstisyel akciğer hastalığı ile ilişkili şiddetli PH olgularında treprostiniil bireysel vaka bazında denenebilecek seçenekler arasına girmiştir. Nitekim 2022 kılavuzunda ilk kez, grup 3 PH hastalarında (özellikle interstisyel akciğer hastalığıyla birlikte olanlarda) ileri derecede PH varlığında tedavi merkezlerince değerlendirilerek treprostiniil başlanabileceği düşük düzeyde öneri (sınıf IIb) olarak yer almıştır (Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Berger, et al., 2022; Türk Toraks Derneği, 2024).

Grup 4- Kronik Tromboembolik Pulmoner Hipertansiyon (CTEPH): Tekrarlayan veya organize olmuş pulmoner emboliler sonrası, akciğer damarlarında kalıcı trombotik tıkaçlar ve buna bağlı gelişen vasküler yeniden yapılanma sonucunda oluşan PH, Grup 4 olarak tanımlanır. KTEPH, PH'nin özel bir formudur çünkü potansiyel olarak küratif bir tedavi şansı vardır. Uygun hastalarda cerrahi olarak pulmoner endarterektomi (PEA) ile akciğerdeki kronik pıhtılar çıkarılarak PH düzeltilebilir. Cerrahi için uygun olmayan ya da operasyon sonrası PH' si devam eden olgularda ise riosigat adlı guanilat siklaz stimülatörü ilaç, KTEPH için onay almış tek medikal tedavidir ve bu hastalarda egzersiz kapasitesini ve hemodinamiği iyileştirdiği gösterilmiştir.

KTEPH tanısı, ventilasyon/perfüzyon sintigrafisi ile konur ve her PH hastasında en az bir kez V/Q sintigrafisi yapılarak bu potansiyel küratif formun atlanmaması önerilir. Grup 4 PH'li hastaların multidisipliner değerlendirme ile uygun merkezlerde operasyona yönlendirilmesi kritik önemdedir; PEA mortalitesi deneyimli merkezlerde %5'in altına inmiştir ve hastaların önemli bir kısmı tam kür elde edebilmektedir (Inácio Cazeiro et al., 2024; J. Yang et al., 2023).

Grup 5- Multipl Mekanizmalı veya Tanımlanamayan PH: Bu grupta heterojen bir dizi hastalık yer alır. Sarkoidoz, miyeloproliferatif hastalıklar, hemolitik anemiler (örn. orak hücreli anemi), kronik böbrek hastalığı, metabolik bozukluklar (örn. glikojen depo

hastalıkları) ve splenektomi sonrası durum gibi çeşitli koşullar, farklı mekanizmalarla PH gelişimine neden olabilir. Örneğin sarkoidozda akciğer damarlarını granülomların basısı, hipoksi, fibrozis ve vaskülit hep birlikte PH' ye katkıda bulunabilir; bu nedenle hangi mekanizmanın baskın olduğunu kestirmek güçtür ve DSÖ bu tip PH'yi Grup 5 altında toplamıştır. Grup 5 PH' de tedavi, öncelikle altta yatan hastalığı kontrol etmeye yöneliktir. PH hedefli tedavilerin etkinliği net olmadığından vaka bazında değerlendirme yapılır (Al-Qadi et al., 2021; Liu et al., 2024).

PH' nin bu sınıflaması, hasta yönetiminde yol göstericidir. Zira her grubun hem altta yatan patofizyolojisi hem de tedavi yaklaşımı farklıdır. Özellikle Grup 1 (PAH) ile diğer grupların ayrımı, spesifik tedavilerin yalnızca PAH' ta etkin olması nedeniyle önem taşır. Grup 2 ve 3'te PAH spesifik tedaviler genellikle fayda etmezken, Grup 4'te cerrahi tedavi şansı mevcuttur. Bu nedenle PH tanısı alan bir hasta, mutlaka uzmanlaşmış bir merkezde sınıfının doğru belirlenmesi için değerlendirilmelidir (Kovacs et al., 2024).

2.1.5 Prognoz

Pulmoner hipertansiyonda prognoz, büyük ölçüde altta yatan klinik gruba ve hastalığın ağırlığına bağlıdır. Farklı PH grupları arasında sağkalım oranlarında belirgin farklılıklar mevcuttur. Genel olarak sol kalp hastalığına bağlı PH (Grup 2) ve kronik tromboembolik PH (Grup 4) olgularının sağkalımı, uygun şekilde tedavi edildiklerinde, Grup 1 PAH olgularına kıyasla daha iyi olabilmektedir. Buna karşın akciğer hastalıklarına bağlı PH (Grup 3), altta yatan ciddi akciğer yetmezliği ile birlikte seyrettiğinden, PH grupları içinde en kötü prognoza sahip alt grup olarak dikkati çekmektedir. Örneğin ileri evre fibrozis zeminde gelişen PH'li hastalarda 5 yıllık sağkalım oranları PAH' ya göre daha düşüktür. PAH (Grup 1) hastalarında ise prognoz, modern tedaviler sayesinde geçmişe oranla iyileşmiş olsa da hastalığın kronik ve progresif doğası nedeniyle uzun dönem sağkalım halen tatmin edici düzeyde değildir.

Tarihsel olarak tedavi almayan idiyopatik PAH hastalarında ortalama sağkalım ~2,8 yıl kadar kısa iken, günümüzde kombine tedavilerle 1 ve 3 yıllık sağkalım oranları belirgin şekilde artmıştır. Ancak buna rağmen, özellikle yüksek risk profilindeki PAH hastalarında 5 yıllık mortalite oranları halen önemli ölçüde yüksektir (Humbert, Kovacs, Hooper, Badagliacca, Berger, et al., 2022; Türk Toraks Derneği, 2024).

PH'de risk değerlendirmesi ile belirlenen prognostik göstergeler, hastalığın seyrini

öngörmede merkezi bir rol oynar. Kılavuzlar, tanı anındaki çok parametrelili risk skorlamasının ve düzenli takiplerde tekrarlanan risk değerlendirmesinin, hastaların beklenen 1 yıllık mortalitesini öngörmede ve tedavi hedeflerini belirlemede kullanılmasını önermektedir. Örneğin, düşük risk kriterlerine sahip bir PAH hastasının [DSÖ fonksiyonel sınıf I-II, 6 dakika yürüme testi (6DYT) > 440 m, düşük N-terminal pro-B tipi natriüretik peptid (NT-proBNP) düzeyi, normal sağ ventrikül fonksiyonu] beklenen 1 yıllık mortalitesinin %5'in altında olduğu belirtilirken yüksek risk kriterleri taşıyan bir hastada (DSÖ sınıf IV, ciddi semptomlar, senkop varlığı, 6DYT mesafesi çok düşük, NT-proBNP çok yüksek, ileri sağ kalp yetmezliği bulguları) 1 yıllık ölüm riskinin %20'yi aştığı bildirilmiştir. Nitekim 2022 ESC kılavuzunda düşük risk profilinin <%5, yüksek riskin>%20 bir yıllık mortalite ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır. Orta risk grubundaki hastaların prognozu ise bu iki uç arasında olup heterojendir; bu nedenle yeni kılavuz, bu grubun daha ayrıntılı alt gruplara ayrılmasını önermiştir. Genel olarak, PAH hastalarında tedavinin temel hedefi hastayı düşük risk profiline ulaştırmak ve orada tutmaktır, zira düşük risk profiline erişen hastalarda uzun dönem sağkalım belirgin biçimde daha yüksektir. Gerçekten de, tedaviyle klinik olarak iyileşip düşük risk sınıfına giren PAH hastalarının prognozu, başlangıçta benzer durumda olup yüksek riskte kalan hastalara göre çok daha olumludur ("Comments on the 2022 ESC/ERS Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension," 2023; Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Sivakumaran, et al., 2022; Türk Toraks Derneği, 2024)

Prognozu belirleyen diğer faktörler arasında, PH tanısının konulduğu gecikme süresi ve hastalığın evresi de bulunur. Erken evrede (örneğin fonksiyonel sınıf II) tanı alıp tedaviye başlayan hastaların uzun vadeli sonuçları, ileri evrede tanı alanlara göre daha iyidir. Ayrıca hastanın tedaviye yanıtı ve takiplerde risk profilinde elde edilen iyileşme de prognozu belirler; tedaviyle 6DYT mesafesini ve fonksiyonel kapasitesini artıran, biomarkerları düzelen hastalarda sağkalım avantajı gözlenmektedir. Öte yandan, komorbiditeler (ör. ileri derecede karaciğer hastalığı, böbrek yetmezliği, ciddi koroner arter hastalığı, vb.) varlığı PH prognozunu olumsuz etkileyebilir. Özellikle yaşlı PAH hastalarında eşlik eden sol kalp ya da akciğer hastalıkları, tedavi yanıtını sınırlandırabildiği gibi mortalite riskini de artırır. Sonuç olarak, PH' de prognoz; altta yatan neden, hastalığın şiddeti (risk profili), tedaviye verilen yanıt ve eşlik eden hastalıklar gibi birçok değişkene bağlıdır. Modern tedavilerle sağkalım önceki yıllara göre iyileşmekle birlikte, yüksek riskli hastalarda mortalite oranları hala yüksektir ve bu da PH'nin ciddi bir hastalık olarak kalmaya devam ettiğini göstermektedir (Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Sivakumaran, et al., 2022; Türk Toraks Derneği,

2024).

2.1.5.1 Tanı Anında Risk Değerlendirilmesi

Pulmoner hipertansiyonlu bir hastanın ilk değerlendirmesinde yapılan risk sınıflaması, hastanın kısa ve orta vadeli prognozunu belirlemede ve tedavi stratejisini planlamada kritik bir yere sahiptir. Tanı anındaki risk değerlendirmesi, hastanın 1 yıl içindeki olası ölüm riskini öngörmek üzere çeşitli klinik, laboratuvar ve görüntüleme parametrelerinin birlikte analizini içerir. 2015 ve 2022 ESC kılavuzları, yeni tanı PAH hastalarında bu risk değerlendirmesinin 3 kategorili bir model ile yapılmasını önermektedir: düşük risk, orta risk ve yüksek risk. Her bir risk kategorisi, yaklaşık bir yıllık mortalite tahminine karşılık gelir: düşük risk < %5 yıllık mortalite, orta risk %5–20 arası, yüksek risk > %20 yıllık mortalite. Bu kategoriler çok merkezli çalışmalardan elde edilen verilerle tanımlanmıştır ve hastanın mevcut klinik durumunu yansıtan çok sayıda belirteç üzerinden değerlendirilir.

Düşük risk profiline sahip bir hastada; klinik olarak DSÖ fonksiyonel sınıf I–II semptomlar, senkop olmaması, progresyon bulgularının bulunmaması; egzersiz kapasitesi olarak 6 dakika yürüme testinde genellikle > 440 metre yürüme mesafesi ve tepe oksijen tüketimi (kardiyopulmoner egzersiz testinde) > %65 olan; biyobelirteçler olarak normal veya hafifçe yüksek BNP/NT-proBNP düzeyleri; ekokardiyografi ve hemodinamik olarak sağ atriyum çapı normal (< 18 cm²), perikardiyal efüzyon yok, sağ ventrikül sistolik fonksiyonunun (TAPSE, S' vb) normal veya hafifçe azalmış, kalp indeksi ≥ 2.5 L/dk/m² ve mix venöz oksijen basıncı \geq %65 gibi bulgular beklenir. Bu kriterlere uyan hastaların 1 yıllık sağkalımının çok yüksek (> %95) olduğu bildirilmiştir.

Yüksek risk profilindeki hastalarda ise DSÖ fonksiyonel sınıf IV semptomlar (istirahatte dahi dispne, ileri düzeyde kısıtlılık), hızlı klinik kötüleşme veya senkop varlığı, 6 dakika yürüme mesafesinin çok düşük (< 165 m gibi), BNP/NT-proBNP'nin ciddi yükselmiş olması (örn. NT-proBNP > 1400 pg/mL), ekokardiyografide ciddi sağ kalp genişlemesi ve fonksiyon bozukluğu (ör. sağ atriyum alanı belirgin büyük, TAPSE belirgin düşük), ciddi hemodinamik bozukluklar (sağ atriyum basıncı yüksek > 14 mmHg, kalp indeksi < 2.0 L/dk/m², SvO₂ < %60) gibi bulgular görülür. Bu profile sahip hastalarda 1 yıllık mortalitenin %20' yi aştığı tahmin edilir.

Orta risk grubundaki hastalar ise düşük ve yüksek risk kriterleri arasında kalan,

heterojen bir gruptur; örneğin fonksiyonel sınıf III düzeyde semptomları olan, 6 dakika yürüme mesafesi ~300 metre civarında, NT-proBNP orta derecede yüksek, sağ ventrikül fonksiyonu orta derecede bozuk hastalar bu grupta yer alır. Orta risk grubunun bir yıllık mortalitesinin %5–20 aralığında olduğu belirtilse de bu grup içinde prognozun önemli ölçüde değişkenlik gösterebileceği anlaşılmıştır.

Tanı anındaki risk değerlendirmesi çok parametrelili bir skorlama şeklinde yapılmalıdır. Kılavuzlar, tek bir parametreye bakarak değil, en az üç farklı risk göstergesinin birlikte değerlendirilmesini önermektedir. Örneğin, bir hastanın 6DKY mesafesi düşük risk aralığında olsa bile, eğer fonksiyonel sınıfı III (orta risk) ve BNP değeri yüksek risk aralığındaysa, genel olarak bu hasta orta risk kategorisinde kabul edilir. Bu şekilde farklı alanlardaki göstergelerin harmanlanması, risk tahmininin doğruluğunu artırır. Tanı anında yapılan bu risk sınıflaması, başlangıç tedavi planını da doğrudan etkiler: düşük risk hastalarda daha konservatif veya tekli tedavi ile izlem mümkün olabileceken, yüksek risk hastalarda acilen agresif kombinasyon tedavilerine ve ileri tedavi seçeneklerine (ör. akciğer transplantasyonu değerlendirilmesi) başvurulur. Orta riskli hastalarda ise yakın takip altında tedavi verilerek, hedefin hastayı düşük risk profiline çekmek olduğu hastaya vurgulanır. Sonuç olarak, tanı anında risk değerlendirmesi PH yönetiminde yol gösterici bir pusula gibidir ve her hasta özelinde bu değerlendirme titizlikle yapılarak tedavi stratejisi belirlenmelidir (Humbert, Kovacs, Hooper, Badagliacca, Sivakumaran, et al., 2022; Türk Toraks Derneği, 2024).

2.1.5.2 Dört Katmanlı Risk Değerlendirmesi Süreci

Pulmoner arteriyel hipertansiyonlu hastaların izleminde 2022 ESC kılavuzu ile birlikte yeni bir kavram olan dört katmanlı risk değerlendirmesi benimsenmiştir. Bu yaklaşım, özellikle orta risk kategorisindeki heterojenliği azaltmayı ve tedavi kararlarını daha hassas bir prognostik temele oturtmayı hedefler. Dört katmanlı modelde, hastalar takip ziyaretlerinde dört risk grubundan birine ayrılır: düşük risk, orta- düşük risk, orta- yüksek risk ve yüksek risk. Burada orta risk grubu iki alt kategoriye bölünerek orta- düşük ve orta- yüksek olarak tanımlanmıştır. Orta- düşük risk profili, düşük risk ile orta risk arasında olup, genelde hafif-orta dereceli semptomları olan ve çoğu risk parametresi düşük risk sınırına yakın hastaları ifade eder (örneğin 6DKY ~380 m, BNP hafif yükselmiş). Orta- yüksek risk profili ise, yüksek riske yakın özellikler taşıyan fakat tam olarak yüksek risk kriterlerini de karşılamayan hastaları tanımlar (örneğin 6DKY ~250 m, fonksiyonel sınıf III, BNP belirgin yüksek ancak henüz çok yüksek değil).

Yapılan çalışmalar, dört katmanlı risk modelinin özellikle başlangıçta orta risk olarak değerlendirilen hastalar arasında prognostik ayırım yapma gücünü artırdığını göstermiştir. Özellikle orta-düşük ve orta-yüksek şeklinde ayırım yapıldığında, orta-yüksek risk grubundaki hastaların prognozunun belirgin şekilde daha olumsuz olduğu ve bu hastaların tedavi açısından yüksek risk hastalar gibi agresif yaklaşılması gerektiği vurgulanmıştır. Nitekim 2022 kılavuzunda 1 yıllık ölüm riskleri güncellenerek düşük risk için ~%2–3, orta-düşük risk için ~%5 civarı, orta-yüksek risk için ~%10–15 ve yüksek risk için >%20 olarak belirtilmiştir. Bu veriler, orta riskli hastaların kendi içinde önemli bir gradyan gösterdiğini ve bu nedenle dörtlü ayırımın klinik yönetimde faydalı olacağını ortaya koymaktadır.

Dört katmanlı risk değerlendirmesi süreci, pratikte genellikle basitleştirilmiş bir skor sistemi ile uygulanır. ESC 2022 kılavuzu, takiplerde 3 ana parametre üzerinden (DSÖ fonksiyonel sınıf, 6DYT mesafesi ve BNP/NT-proBNP düzeyi) bir puanlama yapılarak hastaların risk durumunun objektifleştirilmesini önermektedir. Her bir parametre için 1 (düşük risk), 2 (orta- düşük), 3 (orta- yüksek) veya 4 (yüksek risk) şeklinde puanlama yapıp, bu puanların ortalaması hastanın o andaki risk katmanını verebilir. Örneğin bir takip vizitinde hasta fonksiyonel sınıf II (puan 1), 6DKY 300 m (puan 3), NT-proBNP 1000 pg/mL (puan 3) ise ortalama 2,3 puan ile orta- düşük risk kategorisinde sınıflandırılır. Eğer sonraki kontrolde bu hasta 6DKY'yi 450 m'ye çıkartıp NT-proBNP' yi belirgin düşürebilmişse puan ortalaması ~1-2 aralığına inecek ve düşük risk katmanına yaklaşacaktır; bu da tedavinin işe yaradığını ve prognozun iyileştiğini gösterir. Tersine, orta riskteki bir hasta takipte kötüleşip fonksiyonel sınıf IV'e ilerlerse ve diğer parametreleri de bozularak puan ortalaması ~3-4'e yükselirse, bu durumda hasta orta-yüksek ya da yüksek risk katmanına geçmiş demektir ve acil tedavi intensifikasyonu gerektiği anlaşılır.

Dört katmanlı risk değerlendirmesi, güncel tedavi algoritmalarının merkezinde yer almaktadır. Özellikle takip ziyaretlerinde (genellikle 3-6 ayda bir yapılan değerlendirmelerde) bu dört katmanlı modele göre hastanın yeniden risk sınıfı belirlenir. ESC 2022 kılavuzu, her 3-6 ayda bir veya klinik durum değiştiğinde daha erken, yapılandırılmış bir şekilde risk değerlendirmesi yapılmasını sınıf I öneri olarak belirtir. Bu sayede, uygulanan tedavinin hastayı hedeflenen düşük/orta-düşük risk profiline yaklaştırıp yaklaştırmadığı izlenir. Eğer hasta ortayüksek veya yüksek risk katmanında kalmaya devam ediyorsa, kılavuzlar tedavi rejiminin hızla eskale edilmesini, mümkünse ilave tedaviler (üçlü kombine tedavi, yüksek doz prostasiklin, transplantasyon değerlendirmesi gibi) planlanmasını tavsiye etmektedir. Öte

yandan, hasta düşük veya orta-düşük risk katmanında ise bu durum idame tedavisinin korunabileceğini, ancak yine de yakın takibin sürdürülmesi gerektiğini gösterir. Dört katmanlı modelin bir diğer avantajı, hastanın durumunun daha net ifade edebilmesidir; örneğin “hasta önceki kontrolde orta-yüksek risk idi, son kontrolde düşük risk seviyesine geriledi” ifadesi, tedaviye yanıtın olumlu olduğunu güçlü biçimde ortaya koyar.

Sonuç olarak, dört katmanlı risk değerlendirmesi süreci, pulmoner hipertansiyon hastalarının izlem ve tedavisinde dinamik bir rehber görevi görmektedir. Bu model sayesinde, risk tahmininde daha rafine bir yaklaşım mümkün olmuş ve özellikle ara risk grubundaki hastalarda karar verme süreçleri iyileşmiştir. Nihai amaç, tüm hastaların düşük risk profiline ulaşması ve uzun dönem prognozunun maksimize edilmesidir. Bu hedefe yönelik olarak, düzenli aralıklarla yapılan dört katmanlı risk değerlendirmesi, tedavinin yönlendirilmesinde ve gerektiğinde zamanında yoğunlaştırılmasında kilit rol oynar. Bu nedenle PH uzmanları, her kontrolde yapılandırılmış risk değerlendirmesini uygulayarak, hastalarının gidişatını titizlikle izlemeli ve kılavuzların önerdiği şekilde tedavi planlarını dinamik olarak uyarlamalıdır (Humbert, Kovacs, Hoepfer, Badagliacca, Sivakumaran, et al., 2022; Türk Toraks Derneği, 2024).

2.1.6 Tedavi

Pulmoner arteriyel hipertansiyon (Grup 1 PH) son yıllarda tedavi açısından önemli ilerlemeler kaydedilen bir hastalıktır. Tedavinin amacı, pulmoner vasküler direnç ve basıncı azaltarak sağ kalp üzerindeki yükü hafifletmek, böylece hastanın semptomlarını iyileştirmek ve yaşam süresini uzatmaktır (Mitra et al., 2024). PAH tedavisini üç ana başlıkta incelemek mümkündür: destekleyici (konvansiyonel) tedaviler, hedefe yönelik spesifik tedaviler ve ileri dönem girişimsel tedaviler. Ayrıca altta yatan neden tedavi edilebilir nitelikteyse ona yönelik girişimler (ör. KKH şeklinde şantın kapatılması, KTEPH’ de endarterektomi) planlanır. Ağırlıklı olarak PAH (Grup 1) odağında olmak üzere, tedavi yaklaşımları aşağıda sunulmuştur.

Tüm PH gruplarında destekleyici tedavi ve genel önlemler de tedavi planının vazgeçilmez parçasıdır. Örneğin, hipoksemik hastalarda uzun süreli oksijen tedavisi, sağ kalp yükünü azaltmaya yardımcı olur. Özellikle sağ kalp yetmezliği gelişmiş PH hastalarında diüretik tedavi uygulanarak ödem, hepatik konjesyon gibi belirtiler kontrol altına alınır. PAH’lı hastalarda ritim bozukluğu gelişimi iyi tolere edilemeyebileceği için, supraventriküler taşikardi gibi aritmilerin tedavisi ve gerektiğinde antikoagülasyon (özellikle idiyopatik PAH’ta tromboz eğilimi nedeniyle)

düşünülebilir. 2022 ESC kılavuzu, PH hastalarında egzersiz rehabilitasyonu ve fiziksel aktivitenin önemini vurgulayarak, stabil hastaların uygun merkezlerde pulmoner rehabilitasyon programlarına dahil edilmesini önermektedir. Rehabilitasyonun, hastaların efor kapasitesini ve yaşam kalitesini artırdığına dair kanıtlar artmıştır. Gebelik ise PAH hastaları için yüksek riskli bir durum olduğundan, 2022 kılavuzu gebelikten kaçınılmasını veya oluştuğunda multidisipliner uzman merkezlerde yönetilmesini önermekte; ERA, riosiguat ve seleksipag gibi teratojen olabilecek ilaçların kesilmesini ve bunun yerine prostasiklin analogları, PDE5i gibi ajanların devamının düşünülebileceğini belirtmektedir (Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Berger, et al., 2022; Türk Toraks Derneği, 2024).

Hedefe Yönelik Spesifik Tedaviler (PAH Medikal Tedavisi): PAH patogenezinde üç temel yolak rol oynar: Endotelin yolu, Nitrik Oksit (NO)-sGMP yolu ve Prostrasiklin yolu (Mitra et al., 2024). Bu yolaklardaki dengesizlikler (yüksek vazokonstriktör endotelin, düşük vazodilatör NO ve prostasiklin seviyeleri) PAH' da vazokonstriksiyon ve vasküler proliferasyona katkıda bulunur. Mevcut farmakolojik tedaviler bu üç ana mekanizmayı hedef alır:

Endotelin Reseptör Antagonistleri (ERA): Endotelin-1, PAH'da düz kas hücrelerinde güçlü vazokonstriksiyon ve proliferasyon yapan bir ajandır. Bosentan, ambrisentan ve macitentan gibi ERA ilaçları, endotelin-1'in ETA (ve kısmen ETB) reseptörlerini bloke ederek bu etkileri engeller. Klinik çalışmalarda ERA tedavisinin egzersiz toleransını artırdığı, NYHA fonksiyonel sınıfını iyileştirdiği ve zaman içinde klinik kötüleşmeyi yavaşlattığı gösterilmiştir. Özellikle macitentan ile yapılan uzun dönemli bir çalışmada (SERAPHIN çalışması), tedavinin PAH'lı hastalarda morbidite ve mortaliteyi belirgin şekilde azalttığı ortaya konmuştur. ERA'lar ağızdan kullanılan ve genelde iyi tolere edilen ilaçlardır; karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme (özellikle bosentan ile) ve periferik ödem gibi yan etkiler izlenebilir. FDA onaylı ERA'lar arasında bosentan (dual ERA), ambrisentan (selektif endotelin A antagonisti) ve macitentan (dual, uzun etkili ERA) bulunmaktadır (Pulido et al., 2013).

Nitrik Oksit-cGMP Yolu (PDE5 İnhibitörleri ve sGC Stimülatörleri): Nitrik oksit, vasküler endotel tarafından üretilen ve pulmoner arterlerde potent vazodilatasyon yapan temel mediyatördür. NO, damar düz kas hücrelerinde guanilat siklazı aktive ederek cGMP seviyesini yükseltir ve böylece gevşemeye neden olur. PAH' da NO sentezi azalmıştır ve bu yolun desteklenmesi amacıyla fosfodiesteraz-5 (PDE5) inhibitörleri kullanılır. Sildenafil ve tadalafil gibi PDE5 inhibitörleri, cGMP' yi yıkan enzimi bloke ederek endojen NO etkisini potansiyalize eder ve

güçlü vazodilatasyon sağlar. Klinik olarak PDE5 inhibitörleri, egzersiz kapasitesinde artış ve hemodinamiklerde iyileşme sağlamıştır; örneğin sildenafil ile yapılan plasebo kontrollü çalışmalarda 6 dakikalık yürüme mesafesinde belirgin uzama ve fonksiyonel sınıfta düzelme rapor edilmiştir. Nitrik oksit yolunu hedef alan bir diğer tedavi, solubl guanilat siklaz (sGC) stimülatörü olan riosiguattır. Riosiguat, NO' dan bağımsız olarak sGC enzimini uyarıp cGMP üretimini artırır. Hem PAH' da hem de KTEPH' de etkinliği gösterilmiş ve onay almıştır. Riosiguatın PATENT-1 çalışmasında PAH hastalarında egzersiz kapasitesini ve PVR'yi iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu ilaç özellikle PDE5 inhibitörleriyle birlikte kullanılmamalıdır (ciddi hipotansiyon riski nedeniyle). Genel olarak NO-sGC yolunu hedef alan tedaviler oral yolla alınır ve baş ağrısı, hipotansiyon gibi yan etkiler yapabilir (Tettey et al., 2021).

Prostasiklin Yolu Agonistleri: Prostasiklin (PGI₂), endotel kaynaklı güçlü bir vazodilatör ve antiproliferatif ajandır. PAH hastalarında prostasiklin sentezi yetersizdir. Bu nedenle eksik olan prostasiklin etkisini yerine koymak PAH tedavisinin köşe taşlarından biridir. Epoprostenol, 1990'larda PAH tedavisinde devrim yaratan ilk prostasiklin analogudur; sürekli intravenöz infüzyon şeklinde verilir ve sağkalımı belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir. Epoprostenol halen özellikle ileri evre PAH'da (NYHA IV) önerilen bir tedavidir. Bunun yanı sıra daha stabil yapıda veya farklı uygulama yollarına sahip prostasiklin analogları geliştirilmiştir: Treprostnil hem iv, hem subkutan hem inhaler hem de oral formda kullanılabilen bir analogdur; İloprost inhaler yolla verilir, Selexipag ise prostasiklin reseptör (IP) agonisti olan oral bir ajan olarak son dönemde tedaviye katılmıştır. Prostanoidler, güçlü vazodilatör etkileriyle beraber çarpıntı, baş dönmesi, yüzde kızarma, çene ağrısı ve ishal gibi yan etkiler yapabilir; invaziv uygulamalar (iv/subkutan) ise kateter enfeksiyonu veya infüzyon reaksiyonları riski taşır. Buna rağmen, özellikle ileri evre hastalarda yaşam kurtarıcı olabilmektedirler. Klinik çalışmalarda (ör. iloprost inhalasyon çalışmaları, treprostnil çalışmaları), bu ilaçların egzersiz kapasitesini ve hemodinamik parametreleri iyileştirdiği; poprostenol ile yapılan uzun dönem takiplerde ise tedavisiz tarihsel kontrole kıyasla sağkalımın anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir (Humbert et al., 2023; Mitra et al., 2024).

Günümüzde PAH tedavisinde bu üç yolaktaki ilaçların kombinasyon halinde kullanımı standart yaklaşım haline gelmiştir. Kılavuzlar, özellikle yeni tanı PAH hastalarında, risk profili yüksekse başlangıçtan itibaren kombinasyon tedavisini (örneğin bir ERA + bir PDE5 inhibitörü) önermektedir. Düşük/orta riskli hastalarda dahi tek ilaç yerine iki ilaçlı tedaviyle daha iyi sonuçlar alındığı gözlenmiştir. Kombinasyon tedavisi, hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak ve hastayı daha

düşük risk profiline çekmek açısından etkilidir. Örneğin AMBITION çalışmasında, ambrisentan+sildenafil başlangıç kombinasyonunun tekli tedavilere üstün olduğu gösterilmiştir. Tedaviye yanıt ve hasta risk durumu, 3–6 aylık aralarla yeniden değerlendirilerek gerekirse üçüncü bir ajan eklenebilir veya yetersiz yanıt varsa daha agresif tedavilere geçilir (Galiè et al., 2015).

Sotatercept, subkutan uygulanan, aktivin reseptör IIA dışsal domaininin Fc parçasıyla kovalent olarak birleştirildiği rekombinant bir füzyon proteindir; bu yapı, aktivin/TGF- β sinyalini bloke ederek BMP yolunu yeniden dengelemeye ve pulmoner damar remodelasyonunu, dolayısıyla pulmoner vasküler direnci azaltmaya yöneliktir. Faz 2 PULSAR ve faz 3 STELLAR çalışmalarında, 24 haftalık ek tedavi olarak verildiğinde, standart PAH rejimine kıyasla 6-dk yürüme mesafesinde anlamlı artış, pulmoner vasküler dirençte belirgin azalma ve klinik kötüleşmenin gecikmesi saptanmıştır (Hoepfer et al., 2023, 2025; Humbert et al., 2021).

Pulmoner hipertansiyon tedavisi, altta yatan PH grubuna ve hastanın risk düzeyine göre planlanır ve multidisipliner bir yaklaşımla yönetilir. Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH, Grup 1) olgularında hedefe yönelik medikal tedaviler esastır. 2022 ESC kılavuzunda PAH tedavi algoritması basitleştirilmiş ve risk değerlendirmesine sıkı vurgu yapılmıştır; hastanın risk profiline göre başlangıç kombinasyon tedavisi ve yakın takip ile tedavi artırımı standart yaklaşım haline gelmiştir. Özellikle yeni tanı almış PAH hastalarında, eğer kontrendikasyon yoksa, bir endotelin reseptör antagonisti (ERA) ile bir fosfodiesteraz-5 inhibitörünün (PDE5i) birlikte kullanıldığı ikili oral kombinasyon tedavisi ilk basamak olarak önerilmektedir. Bu yaklaşım, klinik çalışmalarda monoterapiye kıyasla daha iyi hemodinamik ve fonksiyonel sonuçlar elde edilmesi nedeniyle benimsenmiştir. Yüksek risk özellikleriyle başvuran (ör. ciddi semptomatik, ileri fonksiyonel sınıf IV, hızlı progresse hastalar) PAH olgularında ise başlangıçtan itibaren intravenöz veya subkutan prostasiklin analoglarını da içeren agresif kombine tedavi düşünülmelidir. Özellikle yüksek riskli hastalarda parenteral prostasiklin tedavisi yaşam kalitesi ve sağkalım üzerinde belirgin iyileşme sağlayabildiği için, ESC 2022 kılavuzu bu hasta grubunda erken dönemde parenteral prostasiklin eklenmesini güçlü şekilde desteklemektedir. Eğer hasta başlangıçta vazoreaktif olarak tespit edilmiş (sağ kalp kateterizasyonunda akut vazoreaktivite testi pozitif) bir idiyopatik PAH hastası ise, bu özel grupta kalsiyum kanal blokleri tedavisine yanıt alınabileceğinden, yüksek doz kalsiyum kanal blokörü tedavisi ilk seçenek olarak uygulanabilir. Bununla birlikte, vazoreaktivite testi pozitif olmayan PAH hastalarında rutin kalsiyum kanal blokleri yeri yoktur ve bu hastalarda onaylanmış PAH spesifik ilaçlara (ERA, PDE5i, guanilat siklaz stimülatörü veya prostasiklin yolak agonistleri) yönelmek gerekir (Humbert, Kovacs, Hoepfer, Badagliacca, Berger, et al., 2022; Türk Toraks

Derneği, 2024).

Tedavi Sonuçları ve Prognoz: PAH tedavisindeki bu ilerlemeler, hastaların yaşam beklentisini önemli ölçüde iyileştirmiştir. 1990'lar öncesinde idiopatik PAH tanısı alan bir hastanın tedavisiz ortalama sağkalımı ~2,8 yıl iken, günümüzde modern tedavi stratejileriyle ortalama sağkalımın 7 yılı aştığı bildirilmektedir. Özellikle erken tanı konup uygun kombine tedavi alan hastaların uzun dönem yaşam süresi belirgin artmıştır. Bununla birlikte, mevcut tedaviler PAH' ı tam olarak iyileştirememektedir; sadece hastalığı kontrol altına alıp ilerlemesini yavaşlatmaktadır. Birçok hastada zaman içinde tedavilere rağmen sağ kalp yetmezliği ilerleyebilir. Bu noktada kalp-akciğer transplantasyonu veya sadece akciğer transplantasyonu, genç ve uygun hastalarda son çare tedavi seçeneği olarak gündeme gelir. Transplantasyon, son dönem PAH' da yaşam kurtarıcı olabilir ancak uygun verici bulma, ameliyat riski ve immünsüpresyon gibi zorlukları vardır (Humbert et al., 2023).

Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH), nadir görülen ancak etkilediği bireylerin yaşam süresini ve kalitesini ciddi şekilde tehdit eden bir hastalıktır. Son yıllarda artan farkındalık, multidisipliner yaklaşımlar ve yeni geliştirilen tedaviler sayesinde PAH'lı hastaların prognozu geçmişe kıyasla belirgin ölçüde iyileşmiştir. Özellikle spesifik tedavi ajanlarının (endotelin antagonistleri, PDE5 inhibitörleri, prostasiklin analogları vb.) kombinasyon halinde kullanımı ve erken dönemde agresif tedavi stratejileri, hastaların daha uzun süre stabil kalmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte, PAH halen tam kür elde edilemeyen, kronik bir hastalıktır; bir kısmı genç yaşta olan hastalarda dahi zamanla sağ kalp yetmezliği ve ölüm riski devam etmektedir. Bu tablo, PAH ve genel olarak PH alanında araştırmaların ve tedavi geliştirme çalışmalarının neden hayati önemde olduğunu ortaya koymaktadır (Humbert et al., 2023; Humbert, Kovacs, Hoeper, Badagliacca, Sivakumaran, et al., 2022).

PAH'da erken tanı hayat kurtarıcı olabilir. Belirtilerin özgül olmaması nedeniyle tanı genellikle gecikmektedir; oysa erken evrede tanı konup tedaviye başlanan hastalarda, damar yataklarındaki yapısal değişiklikler geri dönüşlü olabileceği için, uzun vadeli sonuçlar daha yüz güldürücüdür. Bu nedenle risk gruplarında tarama programları (ör. sklerodermada yıllık EKO taraması) uygulanması ve birinci basamak hekimlerinin PH belirtileri konusunda bilinçlendirilmesi büyük önem taşır. Multidisipliner yaklaşım, PAH yönetiminin bir diğer köşe taşıdır. Kardiyolog, pulmonolog, romatolog ve gerektiğinde kalp-damar cerrahı, göğüs cerrahı gibi uzmanların birlikte çalıştığı PH merkezlerinde izlenen hastaların sağkalım ve yaşam kalitesi sonuçları, genel merkez

dışı takibe göre daha iyidir. Bu merkezlerde doğru tanı sınıflaması yapılması, uygun tedavi kombinasyonlarının seçilmesi, yan etkilerin yakından izlenmesi ve hastanın gerektiğinde ileri tedavilere (örn. transplantasyon) yönlendirilmesi mümkündür (Gillmeyer & Johnson, 2025; Maron, 2023b; Sahay et al., 2017).

Sonuç olarak, pulmoner hipertansiyon alanındaki ilerlemeler hasta bakımını önemli ölçüde geliştirmiştir ancak halen kat edilmesi gereken çok yol vardır. Mevcut tedavilerin ötesinde, hastalığın altta yatan mekanizmalarını hedef alan (örneğin HIF yolu, inflamasyon veya genetik tedaviler gibi) yeni nesil uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu hastalıkta yapılacak her çalışma ve bulunacak her yeni tedavi, genç yaşta tanı alıp zorlu bir yaşam mücadelesi veren hastaların ömrüne ve yaşam niteliğine olumlu yansıyacaktır. Erken tanı, doğru sınıflandırma ve bireye özel multidisipliner tedavi yaklaşımları ile PAH'lı hastaların yönetimi iyileşmeye devam edecek; nihai hedef olan küratif tedavi ise ancak araştırmaların aralıksız sürdürülmesiyle mümkün olabilecektir (Vahanian et al., 2022)

2.2 HİF-1 α

Hipoksi indüklenebilir Faktör 1 α (HİF-1 α) proteini, doku oksijen seviyesi düştüğünde aktif hale gelen bir transkripsiyon faktörüdür.

2.2.1 HİF-1 α Proteininin Yapısı ve Genetik Özellikleri

İnsan HİF1A geni 14. kromozomun q23.2 bölgesinde bulunur (National Institutes of Health, 2025) ve 15 ekson içeren bu genden yaklaşık 735-850 amino asit uzunluğunda bir protein sentezlenir, moleküler ağırlığı yaklaşık 92,7 kDa' dur (Human Protein Atlas, y.y.-b; İyer vd., 1998).

Proteinin N-terminal ucu temel heliks–loop–heliks (HLH) ve PAS (Per-ARNT-Sim) domainlerini içerir; bu domainler DNA'ya bağlanma ve HİF-1 β (ARNT) ile heterodimerizasyon için gereklidir. Proteinin merkezi ve C terminal bölgelerinde prolin/serin/treonin açısından zengin protein stabilizasyon alanı, normoksik koşullarda transaktivasyon alanı işlevini negatif olarak düzenleyen bir inhibitör alan ile iki adet transkripsiyon aktivasyon domaini (TAD-N ve TAD-C) bulunur (Huang et al., 1998; Mahon et al., 2001). Bu yapısal düzen, HİF-1 α 'nın oksijen duyarlı regülasyonunu ve gen aktivasyonunu belirler.

2.2.2 HİF-1 α Sentezi ve Düzenlenmesi

HİF-1A geni sürekli olarak transkribe edilmekle birlikte HİF-1 α proteini normoksik koşullarda hızla yıkıma uğrar. Normoksik hücrelerde HİF-1 α sentezinin hemen ardından yapısındaki iki kritik prolin (Pro402 ve Pro564) hipoksi-bağımlı prolin hidroksilazlar (PHD) tarafından hidroksile edilir; bu modifikasyon, vonHippel-Lindau (VHL) tümör süpresörü içeren E3 ubiquitin ligaz kompleksinin HİF-1 α 'yı tanınmasına ve ubiquitin-proteozom yolu ile yıkmasına yol açar (Albanese et al., 2021; Huang et al., 1998). Sonuç olarak, oksijen varken HİF-1 α 'ın hücre içi ömrü çok kısadır (<5 dakika). Hipoksi durumunda ise PHD enzimleri oksijen kofaktöründen yoksun kaldığı için HİF-1 α hidroksile edilmez ve VHL tarafından yıkıma uğramaz; böylece HİF-1 α stabil hale gelir ve birikir. Ayrıca HİF-1 α 'nın transkripsiyon aktivasyon fonksiyonu da oksijen seviyesiyle regüle edilir. Kısaca, HİF-1 α 'nın biyosentezi tüm zamanlarda devam ederken, oksijen varlığında hızla yıkılması, hipoksi varlığında ise stabilizasyonu sonucunda etkili bir oksijen algılama mekanizması oluşur (Huang et al., 1998; Mahon et al., 2001; Tanimoto, 2000)

2.2.3 HIF-1 α 'nın Hücredeki Lokalizasyonu

Normoksik koşullarda HIF-1 α sitoplazmada üretilir ve derhal yıkılır, dolayısıyla nükleusa geçişi minimaldir. Hipoksik koşullarda ise HIF-1 α proteini stabil hale gelerek sitoplazmadan nükleusa translokasyona uğrar ve HIF-1 β (ARNT) ile heterodimer oluşturur. Gerçekten de, hipoksi altında hücre çekirdeğine taşınan HIF-1 α , hedef genlerin promoterindeki HRE (hypoxia response element) dizilerine bağlanarak transkripsiyonel aktivasyonu başlatır. HIF-1 α 'nın VHL ile yıkımı engellendiğinde HIF-1 α 'nın nükleusa geçişi, gen aktivasyonunu sağlayan kritik bir adımdır (Albanese et al., 2021; Tanimoto, 2000).

2.2.4 HIF-1 α Ekspresyonunun Ağırlıklı Olduğu Dokular

HIF-1 α 'nın ekspresyonu pek çok dokuda gözlenir; özellikle oksijen değişimlerine hassas dokular bu proteini bol miktarda sentezler. İnsanlarda HIF1A mRNA'sı en yüksek düzeyde kemik iliği ve safra kesesinde tespit edilmiştir. Ayrıca akciğer, böbrek (EPO üretimi nedeniyle), beyin, retina ve kas dokuları gibi yüksek oksijen tüketimi yapan veya düşük oksijen durumlarına maruz kalan dokularda da HIF-1 α aktivitesi belirgindir. Embriyogenez sırasında tüm vücut genelinde HIF-1 α ifadesi vardır ve özellikle anjiyogenez ile oksijen taşınımının kritik olduğu gelişim dönemlerinde önem kazanır. Özetle HIF-1 α , çok sayıda dokuda düşük oksijen sinyallerine cevap olarak üretilir ve bu dokular arasında özellikle oksijen değişiminden etkilenenler öne çıkar (National Institutes of Health, 2025).

2.2.5 HIF-1 α 'nın Post-Traslasyonel Modifikasyonları

HIF-1 α proteini çok sayıda post-traslasyonel modifikasyona uğrar; bunların çoğu proteinin stabilitesini, lokalizasyonunu ve aktivitesini düzenler. En önemli modifikasyon oksijene bağlı hidroksilasyondur: P402 ve P564 prolinleri hidroksile eden PHD enzimleri, HIF-1 α 'nın VHL aracılı ubiquitin bağımlı yıkımını tetikler. Buna ek olarak FİH (Factor inhibiting HIF) enzimi HIF-1 α 'nın C-terminal transaktivasyon domainindeki Asn803'ü (Asn803) hidroksile ederek p300/CBP koaktivatorlerinin bağlanmasını engeller; hipoksizde bu modifikasyon baskılanır ve böylece gen aktivasyonu kolaylaşır.

Hidroksilasyonun yanı sıra HIF-1 α , çeşitli kemokinazlar tarafından fosforile edilebilir (Kietzmann et al., 2016); örneğin ERK kinazlar HIF-1 α 'yı fosforile ederek stabilitesini ve nükleer translokasyonunu artırabilir. Ayrıca lisin rezidüleri asetilasyona uğrar; örneğin

ARD1/NAA10 enzimi HIF-1 α 'daki Lys532'ye asetil grup ekleyerek VHL ile etkileşimini kolaylaştırır ve protein yıkımını destekler. Bu post-translasyonel modifikasyonlar (hidroksilasyon, ubiquitinasyon, asetilasyon, fosforilasyon vb.) HIF-1 α 'nın oksijen duyarlı regülasyonunu sıkı şekilde kontrol eder (Albanese et al., 2021).

2.2.6 HIF Yolu (Hipoksi Yanıt Yolu) ve Temel İşleyişi

HIF yolu hücreleri ve organizmayı hipoksik strese yanıt verme yeteneğini sağlar. Normoksik koşullarda HIF-1 α proteini prolin hidroksilasyonuna uğrayarak VHL tarafından ubiquitinlenir ve proteozom yoluyla parçalanır. Böylece HIF-1 kompleks inhibe olur. Hipoksinin başlamasıyla PHD enzimleri yeterli oksijen bulamayınca HIF-1 α hidroksile edilmez; yıkım engellenir ve protein birikir. Biriken HIF-1 α çekirdeğe geçip HIF-1 β ile dimerleşir, ardından gen ekspresyonunu başlatmak üzere HRE içeren genlere bağlanır. HIF-1 dimeri pek çok genin (örneğin VEGF, EPO, glikolitik enzim genleri) transkripsiyonunu uyararak yeni damar oluşumu, eritropoez, glikoz metabolizması ve diğer hücre adaptasyonları aktive eder. Kısaca, HIF yolu oksijen mevcudiyetini ölçen enzimler (PHD' ler ve FİH), VHL proteini ve HIF transkripsiyon faktörü aracılığıyla hücre oksijen dengesini düzenler (Albanese et al., 2021; Kietzmann et al., 2016)

2.2.7 HIF-1 α 'nın Keşfi

HIF-1 α ve onu içeren oksijen algılama yolunun keşfi 1990'ların başında başlamıştır. Gregg Semenza ve çalışma arkadaşları 1992'de EPO (eritropoietin) geninin 3' düzenleyici bölgesinde bir "hipoksi yanıt elementi" (HRE) belirlemiş ve buna bağlanan proteini tanımlamışlardır. Bu çalışmalar sonucunda 1995'te Wang ve Semenza, HRE ile bağlanan faktörü moleküler düzeyde izole ederek HIF-1 α ve beraberindeki HIF-1 β (ARNT) alt birimlerini tanımlamışlardır (Nobel Prize, 2019).

Daha sonra Huang ve arkadaşları 1998'de HIF-1 α 'da oksijene duyarlı yıkımı kontrol eden oksijen-bağımlı degradasyon (ODD) bölgesini göstererek bu proteinin degradasyon mekanizmasını ortaya koymuşlardır (Huang et al., 1998). 1999–2001 yıllarında ise Ratcliffe, Kaelin ve diğerleri prolin hidroksilazlar ve VHL proteini aracılığıyla HIF-1 α regülasyonunu açıklayarak oksijen algılayıcı bir sinyal yolunu bütünüyle aydınlatmışlardır. Bu bulgular, 2019 Nobel Tıp Ödülünün temelini oluşturmuştur (Huang et al., 1998; Nobel Prize, 2019; Tanimoto, 2000).

2.2.8 HIF-1 α 'nın Hastalıklardaki ve Fizyolojik Durumlardaki Kan Seviyesi

Normalde HIF-1 α kan dolaşımında belirgin seviyelerde bulunmaz; ancak bazı fizyolojik veya patolojik durumlar HIF-1 α ekspresyonunu değiştirir. Yüksek irtifa, egzersiz veya anemi gibi doku hipoksisi yaratan koşullarda HIF-1 α sentezi artar ve kan dolaşımında buna bağlı işaretler gözlemlenebilir. Örneğin hipoksi ile indüklenebilen EPO üretimi aracılığıyla eritrosit sayısı artar. Sistemik skleroz gibi kronik mikroanjyopati durumlarında hipoksi artışıyla birlikte HIF-1 α 'nın plazma konsantrasyonunda yükselme gözlenmiştir; bir çalışmada skleroz hastalarının kan plazmasında HIF-1 α düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksektir (Maciejewska et al., 2023).

Benzer şekilde, yapılan çalışmalarda neonatal hipoksi (Han et al., 2017) veya KOAH (L. Tan et al., 2024) gibi hastalıklarda kanda HIF-1 α ve hedef gen ürünlerinin arttığı gösterilmiştir.

2.2.9 Fetal dönemde HIF-1 α 'nın Rolü

Fetal dönemde HIF-1 alfa ifadesi esas olarak miyokardiyal iken HIF-2 alfa esas olarak endotelyaldır, bu da gelişim sırasında kardiyomiyosit fonksiyonunda (örneğin proliferasyon, kontraktilite) ve vasküler fonksiyonda (örneğin anjiyogenez) HIF-1 ve 2 için farklı gereksinimlerin olduğunu ve HIF' in gelişimsel hipoksi ile aktivasyonunun doğrudan kardiyak morfogeneze katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Jain et al., 1998).

Ancak hipoksinin ve HIF aktivasyonunun kardiyak morfogenezi nasıl yönlendirdiği belirsizdir. Bir çalışma, kardiyak spesifik transkripsiyon faktörlerinin (titin, Tbx5, Mef2C) doğrudan aktivasyonunu tanımlamıştır (Krishnan et al., 2008a). HIF'in apoptozis/sağkalım kararları veya metabolik düzenleme üzerindeki daha genel etkileri de önemli olabilir. Ancak kardiyak anomalilerin doğrudan anormal HIF aktivitesi tarafından mı yoksa dolaylı olarak düzensiz HIF aktivitesinin hipoksi üzerindeki etkisi tarafından mı yönlendirildiği belirsizdir (Bishop & Ratcliffe, 2015)

2.2.10 Kardiyovasküler Hastalıklarda HIF-1 α 'nın Koruyucu Rolü

HIF-1 α kardiyovasküler sistemde temel homeostaz olaylarını düzenlediği için kalp-damar patolojilerinde de kritik rol oynar. Özellikle iskemik kalp hastalığı (miyokard enfarktüsü) ve basınca bağlı kalp yetmezliğinde HIF-1 α aktivasyonu dokuyu koruyucu etki

gösterir. Gregg Semenza'nın değerlendirmesine göre, HIF-1 kalbin oksijen ihtiyacını karşılamak amacıyla anjiyogenez ve kan damarının yeniden düzenlenmesini, glukoz metabolizmasını ve redoks kontrolünü düzenler; böylece iskemik kalpte ve hipertansif kalp yetmezliğinde organ bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunur (Semenza, 2014).

HIF-1'in transkripsiyonel aktivitesi, hücre tipine özgü yanıtlar oluşturur. Kardiyomiyositler, kardiyak fibroblastlar, vasküler endotel hücreleri ve düz kas hücreleri gibi farklı hücre tiplerinde HIF-1 hedef genlerinin ekspresyon profilleri farklılık gösterir. Bu, HIF-1'in hipoksiye yanıt olarak hücre tipine özgü gen ekspresyonunu düzenlediğini gösterir (Semenza, 2014).

HIF-1, iskemik ön koşullama (preconditioning) süreçlerinde merkezi bir rol oynar. Hayvan modellerinde, HIF-1 α 'nın parsiyel eksikliği, iskemik ön koşullamanın kardiyoprotektif etkilerini ortadan kaldırmıştır. Bu, HIF-1'in miyokardiyal iskemik hasara karşı koruyucu etkilerinin olduğunu göstermektedir (Bishop & Ratcliffe, 2015).

Ayrıca inme, aort damar sertliği veya hipertansiyon gibi durumlarda da hipoksik bölgelerde HIF-1 α yükselir ve yeni damar oluşumunu ve metabolik uyumu teşvik eder. Klinik ve deneysel çalışmalarda, HIF-1 α 'nın kardiyovasküler hastalıklarda VEGF, eNOS ve glikolitik enzimler gibi hedef genlerin ekspresyonunu artırarak vasküler koruma mekanizmalarını etkinleştirdiği gösterilmiştir. Bu nedenle HIF-1 α , kalp-damar hastalıklarının patogeneğinde hem bir belirteç hem de potansiyel tedavi hedefi olarak ele alınmaktadır (Semenza, 2014).

HIF aktivasyonu, iskemik dokularda hücrel koruma ve rejenerasyon süreçlerini artırma potansiyeline sahiptir (Peter Ratcliffe & Bishop, 2014; Tekin et al., 2010). HIF'in metabolik yeniden programlama, anjiyogenez, apoptoz ve hücre sağkalımı üzerindeki etkileri, bu yaklaşımın teorik dayanaklarını oluşturmaktadır. Deneysel modellerde HIF' in negatif modifikasyonu iskemik ön koşullama etkilerini azaltırken, pozitif modifikasyonun koruyucu olduğu gösterilmiştir (Bishop & Ratcliffe, 2015).

Ancak, HIF-1'in tümör gelişimi ile de ilişkili olması, terapötik uygulamalarda dikkatli olunmasını gerektirir. HIF-1 α 'nın tümör gelişimiyle ilişkili olduğu ve bu nedenle terapötik uygulamalarda dikkatli olunması gerektiği birçok çalışmada belirtilmiştir. HIF-1 α , hipoksik

koşullarda stabilize olarak çeşitli genlerin transkripsiyonunu düzenler ve bu süreç, tümör hücrelerinin hayatta kalma, proliferasyon, anjiyogenez ve metastaz gibi özelliklerini destekler.

Örneğin, bir çalışmada HIF-1 α 'nın tümör progresyonuna katkıda bulunduğu ve bu durumun hastalarda kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise HIF-1 α 'nın anjiyogenez, glikoliz indüksiyonu, epitel-mezenkimal geçiş (EMT) ve apoptozun inhibisyonu gibi mekanizmalarla kanser progresyonunu desteklediği ifade edilmiştir (Lv et al., 2017; Zhao et al., 2024).

Bu bulgular, HIF-1 α 'nın tümör gelişiminde önemli bir rol oynadığını ve bu nedenle terapötik hedef olarak dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

HIF' in kardiyomiyositlerde sürekli olarak aktive edilmesi ya da PHD (prolil hidroksilaz) inhibisyonu, potansiyel olarak kardiyomiyopati gelişimine yol açabilmektedir (Bekeredjian et al., 2010; Hölscher et al., 2012; Kido et al., 2005; Moslehi et al., 2010). Özellikle HIF-1 α veya HIF-2 α 'nın aşırı ekspresyonu ile transgenik modellerde spontan kardiyomiyopati gözlenmiştir. Bu patolojiler, muhtemelen artmış glikolitik aktivite, mitokondriyal morfolojik bozukluklar ve kalsiyum regülasyonundaki değişikliklerle ilişkili metabolik uyumsuzluklara bağlıdır (Bekeredjian et al., 2010; Hölscher et al., 2012; Moslehi et al., 2010).

Kalpde HIF' in miyokardiyal iskemiden önce veya sonra aktivasyonu, iskemiye karşı koruma sağlar. Ancak HIF aktivasyonu süresi uzarsa ve/veya seviyesi aşırı olursa, o zaman kontraktilitede bozukluk ve kardiyomiyopati ile sonuçlanabilir. Bu, HIF aktivasyonunun kardiyak fonksiyon üzerinde optimum etkileri için zamansal ve dozla ilişkili bir terapötik pencere olduğunu gösterir (Bishop & Ratcliffe, 2015).

Pulmoner dolaşımdan farklı olarak, hipoksi sistemik dolaşımda vazodilatasyona yol açar. HIF sisteminin bu hızlı yanıtları doğrudan kontrol etmesi olası görünmese de, endotel fonksiyonu, anjiyogenez, katekolamin metabolizması ve vazomotor kontrol gibi süreçlerde etkili olduğu bilinmektedir (Bishop & Ratcliffe, 2015). Ayrıca, HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın sistemik dolaşım üzerindeki etkileri birbirine zıt olabilir (Cowburn et al., 2013; Y. J. Peng et al., 2011). Etkilerin karmaşık ve bağlama spesifik olması HIF hidroksilaz sisteminin modüle edilmesinin sistemik dolaşım ve kan basıncı üzerindeki genel etkilerinin tahmin edilmesini

zorlaştırmaktadır (Bishop & Ratcliffe, 2015).

2.2.11 Primer Pulmoner Hipertansiyon Patogenezindeki Rolü

Pulmoner dolaşım, hipoksiye sistemik dolaşımdan farklı olarak vazokonstriktif bir yanıtla tepki verir. Bu yanıt, ventilasyon-perfüzyon dengesini sağlamak amacıyla fizyolojik olarak yararlı olsa da uzun süreli hipoksi durumlarında —örneğin yüksek irtifa ya da kardiyopulmoner hastalıklarda— maladaptif bir hâl alabilir. Gerek hayvan modelleri gerekse insan çalışmaları, bu adaptif yanıtlarda HIF hidroksilaz sisteminin merkezi bir rol oynadığını göstermektedir (Bishop & Ratcliffe, 2015).

Primer (idiyopatik) pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) patogenezinde HIF-1 α etkin bir rol oynar. PAH'da akciğer damarlarında kalıcı yapısal remodelleme olur ve doku hipoksisi gelişir; bu süreçte HIF-1 α seviyeleri yükselir ve vasküler hücrelerin fonksiyonunu değiştirir. Hastalarda akciğer dokusu örneklerinde HIF-1 α ekspresyonunun belirgin şekilde arttığı rapor edilmiştir. HIF-1 α , pulmoner arter endotel ve düz kas hücrelerinde (PAEC ve PASMC) metabolik yeniden programlamayı tetikleyerek hücre proliferasyonu ve damarsal sertleşmeyi destekler. Örneğin HIF-1 α , glikolitik enzimler (PDK1, LDHA, HK1/2, GLUT1/3 vb.) genlerini uyararak hücrelerde Warburg tipi glikoz metabolizması oluşturur ve enerji üretimini hipoksiye bağlamadan artırır. Bunun sonucu olarak hem endotelial hem de düz kas hücrelerinde aşırı proliferasyon ve damar daralması oluşur. Ayrıca HIF-1 α , kemokin ve büyüme faktörleri (örn. CXCL12, VEGF) aracılığıyla kemik iliğinden kök hücre göçünü ve fibroblastik yanıtı artırır. Pek çok çalışmada HIF-1 α yolunun deneysel PAH modellerinde inhibisyonunun vasküler yeniden şekillenmeyi azalttığı gösterilmiş; bu da HIF-1 α 'nın hastalıkta patogenetik önemini vurgular (Mitra et al., 2024; Pullamsetti et al., 2020).

PAH' da HIF sinyalinin genetik (örn. BMPR2 mutasyonları, VHL/polistik eritrositoz sendromları) ve epigenetik faktörlerle kesiştiğini ve tedavi hedefi olabileceğini ortaya koyulmuştur. Örneğin BMPR2 mutasyonlarının HIF-1 α sinyal yollarıyla etkileşimi ve bunun pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) patogenezindeki rolü üzerine çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar, BMPR2 mutasyonlarının HIF-1 α 'nın stabilize olmasına ve aktivitesinin artmasına neden olarak vasküler yeniden yapılanmayı ve hücre proliferasyonunu teşvik ettiğini göstermektedir. Bir çalışmada mutant BMPR2 ekspresyonunun, bleomisin tedavisi sonrasında farelerin akciğerlerinde HIF-1 α stabilizasyonunu artırdığı ve bu durumun pulmoner hipertansiyonu kötüleştirdiği gösterilmiştir (Bryant et al., 2015).

Fare modelleri, HIF-1 α ve HIF-2 α moleküllerinin pulmoner hipertansiyon gelişiminde kritik öneme sahip olduğunu ortaya koymuştur. Genetiği HIF-1 α +/- olan fareler, kronik hipoksiye karşı daha az sağ ventrikül basıncı artışı ve hipertrofi geliştirirken (Yu et al., 1999); genetiği HIF-2 α +/- olan farelerde pulmoner hipertansif yanıtta ciddi azalma gösterilmiştir (Brusselmans et al., 2003). Ayrıca, HIF2A geninde aktif mutasyon taşıyan farelerde pulmoner hipertansiyon ve sağ ventrikül hipertrofisi görülmektedir (Q. Tan et al., 2013).

HIF-1 α eksikliği olan pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde iyon kanalları, Na⁺/H⁺ taşıyıcıları ve endotelin-1 gibi vazokonstriktörlerin ekspresyonu değişmektedir (Shimoda & Laurie, 2014). Endotelin-1'in HIF-1 α ekspresyonunu da artırabildiği ve bu nedenle pozitif geri besleme döngüsü oluşturabileceği belirtilmiştir (Pisarcik et al., 2013). HIF-2 α 'nın etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır ancak HIF-2 α 'nın güçlü bir şekilde ifade edildiği endotel ile etkileşim söz konusu olabilir (Wiesener et al., 2003).

Hücre tipine özel inaktivasyon çalışmalarındaki sonuçlar, pulmoner hipertansiyonun patogenezi hakkında tutarlı değildir. Örneğin, endotel hücrelerine özgü HIF-2 α inaktivasyonu, vasküler sızıntıya bağlı pulmoner hipertansiyona neden olmuştur (Skuli et al., 2009). Düz kas hücrelerinde HIF-1 α 'nın inaktivasyonu, bazı çalışmalarda pulmoner arter basıncını ve duvar kalınlığını azaltırken (Ball et al., 2014); başka bir çalışmada pulmoner hipertansiyonun daha da şiddetlendiği gözlenmiştir (Y. M. Kim et al., 2013).

Bu çalışmalar bir arada değerlendirildiğinde, HIF aktivasyonu ile pulmoner hipertansiyon ve ilişkili fenotiplerin gelişimi arasında oldukça karmaşık bir etkileşim ağı bulunduğu anlaşılmaktadır. HIF hidroksilaz sistemini hedef alan müdahalelerin bu yanıtları etkileyebileceği yönünde güçlü kanıtlar olsa da, söz konusu biyolojik etkileşimlerin çok yönlü yapısı, elde edilen verilerin insan klinik uygulamalarına doğrudan uyarlanmasını güçleştirmektedir (Bishop & Ratcliffe, 2015).

Özetle, PAH patogenezinde HIF-1 α , hem hipoksi yanıt mekanizmalarını aktive ederek hem de oksijenden bağımsız yollarla damarsal yeniden şekillenmeyi yönlendirerek merkezi bir rol oynar (Mitra et al., 2024; Pullamsetti et al., 2020).

2.3 HİF-2 α

HİF-2 α (Endotelial PAS alan proteini 1, EPAS1) 870 amino asitten oluşan bir transkripsiyon faktörüdür (Human Protein Atlas, n.d.-a; W. J. Wang et al., 2021). Proteinde temel olarak bir temel heliks-loop-heliks domaini, iki PAS-domaini (A ve B), bir oksijen bağımlı degradasyon domaini ile N-terminal (N-TAD) ve C-terminal (C-TAD) aktivasyon domainleri bulunur. HİF-2 α 'nın 405. ve 531. pozisyonlarındaki prolin (P405, P531) ile 847. pozisyondaki asparajin (N847) kalıntıları oksijen varlığında hidroksillenerek proteinin VHL ile etkileşimine yol açar, ayrıca T844 rezidünün fosforilasyonu transkripsiyon aktivitesini artırır (Gradin et al., 2002; Mohlin et al., 2014). HİF-2 α 'yı kodlayan EPAS1 geni insanlarda 2p21 kromozom bölgesindedir (Human Protein Atlas, n.d.-a).

2.3.1 HİF-2 α 'nın Sentezi ve Regülasyonu

HİF-2 α proteini EPAS1 geninin transkripsiyonu ile sentezlenir, ancak proteinin stabilitesi oksijen durumuna bağlı olarak ayarlanır. Normoksik koşullarda prolin hidroksilazları (PHD/ EGLN) HİF-2 α 'nın yukarıda belirtilen prolinlerini hidroksilleyerek VHL (von Hippel-Lindau) proteininin bağlanmasını sağlar ve HİF-2 α ubiquitinasyon sonrası proteozomda yıkılır. Hipoksi koşulunda ise PHD enzimleri inaktifleşir, HİF-2 α proteini yıkımdan kaçınır, birikerek çekirdeğe taşınır. Çekirdekte aril hidrokarbon transkripsiyon faktörü (ARNT/HİF-1 β) ile dimerize olur ve glikoliz, anjiyogenez gibi genlerin HRE (hypoxia response element) promotör bölgelerine bağlanarak transkripsiyonunu başlatır. Bu oksijen duyarlı mekanizma sayesinde HİF-2 α protein düzeyi hipoksik dokularda yükselir (Mohlin et al., 2014).

2.3.2 HİF-2 α 'nın İfade Edildiği Dokular

İnsan embriyonik ve fetal gelişimi sırasında, HİF-2 α geçici olarak gelişmekte olan sempatik sinir sistemi (SNS) hücrelerinde ifade edilir (Mohlin et al., 2013; Nilsson et al., 2005) Yetişkinlerde HİF-2 α proteini düşük oksijenli ortamla ilişkilendirilen hücrelerde yüksek düzeyde ifade edilir. HİF-2 α mRNA'sının baskın olarak vasküler endotel hücrelerinde bulunduğu gösterilmiştir (Tian et al., 1997). HİF-1 α çoğu yetişkin memeli dokusunda bulunurken, HİF-2 α esas olarak endotel, hepatositler, bağırsak epitel hücreleri, pankreas hücreleri ve alveolar epitel hücreleri gibi spesifik hücre tiplerinde ifade edilir (Albadari et al., 2019; Hu et al., 2003; Loboda et al., 2012; V. Wang et al., 2005).

HIF-2 α 'nın tümör ortamında da ifade artışı gözlenir ve renal hücreli karsinom gibi HIF-2 α 'ya bağımlı tümörlerde kritik bir rol oynar. Renal hücreli karsinom için hücre hatlarında HIF hedef genlerinin düzenlenmesi HIF-1 α ' dan daha çok HIF-2 α ' ya bağlıdır ve VHL eksikliği olan hücrelerde HIF-2 α 'nın susturulması tümör büyümesini baskılar, bu da HIF-2 α 'nın böbrek karsinomu üzerinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir (Carroll & Ashcroft, 2006; Kondo et al., 2003).

2.3.3 HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın Farklı İfade Paternleri ve Fonksiyonları

Knockout fareler ile yapılan in vivo çalışmalar, HIF- α izoformlarının her ikisinin de embriyonik gelişim için vazgeçilmez olduğunu ve birbirini telafi edemeyen işlevlere sahip olduklarını ortaya koymuştur. HIF-1 α geninin silindiği fareler, gestasyonun ortasında ciddi kardiyovasküler anomaliler ve azalmış eritropoez nedeniyle mortalite göstermiştir (Cerychova & Pavlinkova, 2018). Bu bulgular, HIF-1 α 'nın kardiyovasküler sistemin erken gelişiminde kritik bir rol oynadığını göstermektedir (Richter et al., 2013). Öte yandan, HIF-2 α geninin delesyonu durumunda fareler daha geç bir dönemde ölmüş; bu durum bozulmuş vasküler yeniden şekillenme, yetersiz katekolamin dengesi ve akciğer maturasyonundaki eksikliklerle ilişkilendirilmiştir (Holmquist-Mengelbier et al., 2006; Krishnan et al., 2008b).

HIF-1 α ve HIF-2 α , anjiyogenez, glikoz taşınması ve hücre homeostaz gibi biyolojik işlevlerde yer alan birkaç önemli hedef genin düzenlenmesini paylaşarak hücrenin oksijenden yoksun ortamlarda hayatta kalmasını sağlar (Bakleh & Al Haj Zen, 2025). Kesişen işlevlerine rağmen, her izoform farklı hipoksik bağlamlardaki benzersiz rollerine göre farklı hedef genleri kontrol edebilir. Hücre içi düzeyde, HIF-1 α ve HIF-2 α izoformlarının birikimi, hipoksinin şiddeti ve süresine bağlı olarak farklılık göstermektedir.

Kanser hücre hatlarında yapılan çalışmalarda, HIF-1 α düşük oksijen konsantrasyonlarında (%0–2 O₂) daha belirgin şekilde birikirken; HIF-2 α 'nın stabil düzeyleri daha çok orta düzeyde hipoksi (%2–5 O₂) koşullarında korunmaktadır (Cowman & Koh, 2022). Ayrıca bu iki izoformun hipoksiye yanıt süreleri açısından da farklılaştığı gözlenmiştir. HIF-1 α , hipoksiye akut yanıtın bir parçası olarak erken dönemde stabilize olur ve metabolik adaptasyonlar ile hücre hayatta kalma mekanizmalarını destekleyen genleri aktive eder. Buna karşın, HIF-2 α daha çok kronik hipoksiye uyumlu ilişkili, eritropoez ve vasküler yeniden şekillenme gibi uzun vadeli hücre ve sistemik adaptasyon süreçlerini düzenleyen genlerin ekspresyonunu kontrol etmektedir (Smythies et al., 2019).

İki izoform arasındaki dinamik ilişkiyi temsil eden HIF dengesi, aşırı metabolik stresi önlemek ve vasküler homeostazı korumak için gerekli bir mekanizmadır. Bu HIF dengesinin bozulması, kanser, iskemik hastalıklar ve inflamatuvar bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli patolojik durumların gelişimine katkıda bulunabilir. Her iki HIF izoformu arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılması, fizyolojik HIF dengesini sağlamak için gelecekteki terapötik stratejilerin uygulanması açısından önemli sonuçlar doğuracaktır (Bakleh & Al Haj Zen, 2025).

2.4 HIF-3 α

2.4.1 HIF-3 α Proteininin Yapısı

HIF-3 α (hypoxia-inducible factor 3 subunit α), diğer HIF α -alt birimleri gibi HLH-PAS süper ailesine ait bir protein olup 662 amino asitten oluşur. İnsan HIF3A geninin kodladığı bu proteinin ağırlığı yaklaşık 73 kDa' dur. HIF3A geni insanlarda 19q13.13– 13.2 lokasyonundadır.

Yapısal olarak N-terminalinde HLH ve PAS domainleri bulunmaktadır, ancak HIF-3 α 'nın C-terminusunda HIF-1 α 'daki gibi güçlü bir aktivasyon domaini bulunmaz. N-terminal HLH-PAS bölgesi HIF-1 α ve HIF-2 α 'ya (sırasıyla %57 ve %53) benzediği bildirilmiştir. HIF-3 α 'nın C-ucundaki yaklaşık 36 amino asitlik bölge HIF-1 α 'nın HRD1 (hypoxia responsive domain-1) motifi ile %61 benzerlik gösterir. (Y. Z. Gu et al., 1998).

2.4.2 Ekspresyon Profili ve Lokalizasyonu

HIF3A geninin ifade ürünü olan HIF-3 α proteini, memelilerde yaygın olarak eksprese edilir ve hücrelerde hem nükleus hem de sitoplazmada bulunur (Human Protein Atlas, n.d.-c). Bununla birlikte bazı dokularda göreceli olarak daha yüksek düzeyde ekspresyona sahiptir. Nitekim insanlarda yapılan Northern blot analizleri, HIF3A mRNA seviyelerinin kalp, plasenta ve iskelet kasında yüksek; akciğer, karaciğer ve böbrekte ise düşük olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, farelerde HIF3A geninin timus, akciğer, kalp ve böbrek dokularında ifade edildiği rapor edilmiştir (Y. Z. Gu et al., 1998). Normoksik koşullarda HIF-3 α proteinine ait immünreaktivite hücre sitoplazması ve çekirdeğinde saptanmış; hipoksiye maruz kalındığında proteinin nükleer fraksiyonunun belirgin biçimde arttığı gözlenmiştir (Tanaka et al., 2009).

Beyin dokusu gibi oksijen tüketimi yüksek organlarda da HIF3A'nın bazal mRNA

düzeyleri yüksektir. Sıçanlarda normoksik şartlarda serebral korteks, hipokampus ve akciğerde HIF-3 α mRNA'sının diğer HIF alt birimlerine benzer veya daha yüksek seviyelerde olduğu, kalpte ise en düşük miktarlarda bulunduğu bildirilmiştir (Heidbreder et al., 2003). Bu bulgular, HIF-3 α 'nın dokuya özgü farklı ekspresyon paternlerine sahip olabileceğini ve bazı organlarda fizyolojik koşullarda bile belirgin düzeyde üretildiğini göstermektedir.

2.4.3 Post-transkripsiyonel Modifikasyonlar ve İzoformlar

HIF3A geninden, alternatif splicing yoluyla birden fazla izoform üretilmektedir. Tam uzunluktaki ana izoform HIF-3 α 1, 668 amino asitlik bir protein kodlar (HIF-3 α 1). Bu proteinin yapısında temel-heliks-döngüheliks (bHLH) ve PAS domainleri ile N-terminusta bir transaktivasyon bölgesi (N-TAD) bulunur; ancak C terminusta HIF-1 α ve HIF-2 α ' da bulunan ikinci transaktivasyon domaini (C-TAD) yoktur (Hara et al., 2001). HIF-3 α , CTAD yerine, protein-protein etkileşiminde rol oynayan kendine özgü bir lösin-fermuar (LZIP) domainine sahiptir. Bu nedenle HIF-3 α 'nın yapısı, HIF-1 α ve HIF-2 α 'ya göre önemli farklılık gösterir ve transkripsiyonel aktivitesi bu yapısal özelliklerden etkilenir (Duan, 2016).

Alternatif post-transkripsiyonel düzenlemeler sonucunda ortaya çıkan kısa HIF3A izoformları, örneğin HIF-3 α 4 ve İPAS (inhibitory PAS protein), ana proteinden farklı fonksiyonel özelliklere sahiptir. HIF-3 α 4 izoformu 363 amino asitten oluşur, NAD, CAD ve ODD domainlerini içermez ve LZIP motifini de bulundurmaz (Maynard et al., 2003). Bu kısmi yapısı nedeniyle HIF-3 α 4, tek başına transkripsiyonel olarak aktif olmasa da HIF-1 α ve HIF-2 α ile heterodimerleşerek onların hedef genlere bağlanmasını engeller; böylece HIF-1 ve HIF-2'nin hipoksi yanıtını baskılayan dominant-negatif bir düzenleyici işlevi görür (Maynard et al., 2007). Benzer şekilde farelerde İPAS adı verilen izoformun özellikle kornea epiteli ve beyincik Purkinje hücrelerinde yüksek düzeyde bulunduğu ve HIF-1 α 'nın etkilerini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Makino et al., 2002)

HIF- 3 α proteininde, diğer HIF- α izoformlarında olduğu gibi, post-translasyonel hidroksilasyon ve proteazomal yıkım mekanizmaları da kritik önemdedir. HIF-3 α proteininde oksijen-bağımlı yıkımı sağlayan bir oksijen-bağımlı degradasyon domaini (ODD) bulunur (Zhang et al., 2014) ve bu domain içindeki prolin kalıntıları prolin hidroksilaz enzimleri (PHD' ler) tarafından hidroksillenebilir. Hücrel oksijen varlığında PHD enzimleri HIF-3 α 'nın Pro⁴⁹⁰ kalıntısını hidroksilleyerek Von Hippel-Lindau (VHL) proteinine bağlanmasını ve proteazomal degradasyonunu tetikler (Groulx & Lee, 2002; İvan vd., 2001; Niecknig vd.,

2012; Pientka vd., 2012). Bu mekanizma, HIF-3 α 'nın kararlı haldeki seviyelerini kontrol eder.

Sonuç olarak, HIF3A ekspresyonunun düzenlenmesinde hem transkripsiyonel (alternatif promotör kullanımı, epigenetik modifikasyonlar) hem de post-transkripsiyonel mekanizmalar (mRNA stabilitesi, alternatif birleştirme) ve post-translasyonel modifikasyonlar (hidroksilasyon ve yıkım) önemli rol oynar. Hipoksik stres altında HIF3A mRNA seviyelerinin hızla artması ve protein yıkımının azalması, bu gen ürününün HIF sisteminin hızlı yanıt veren bir bileşeni olduğunu düşündürmektedir (Heidbreder et al., 2003).

2.4.4 Kardiyovasküler Hastalıklarda Rolü

Hipoksi ile indüklenebilen faktörler, kardiyovasküler sistemde gelişen pek çok patolojik süreçte kilit rol oynar. HIF-3 α 'nın kardiyovasküler hastalıklardaki rolü ise daha yeni aydınlanmaya başlamıştır. Mevcut veriler, HIF-3 α 'nın özellikle damarsal yapılarda bir negatif düzenleyici olarak görev yapabileceğini düşündürmektedir. Ateroskleroz ve damar tıkanıklığı ile karakterize hastalıklarda hipoksi, plak içerisinde neovaskülarizasyon ve inflamasyonu tetikleyen bir faktördür. Endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücreleri hipoksiye maruz kaldığında HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın yanı sıra HIF-3 α da aktive olur. Endotel (EC) ve düz kas (VSMC) hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada, hipoksi altında HIF3A mRNA seviyelerinin belirgin şekilde arttığı, ancak bu artışın esasen HIF-3 α 'nın belirli bir izoformu (HIF-3 α 2) üzerinden gerçekleştiği bulunmuştur (Augstein et al., 2011). Aynı çalışma ile HIF-3 α izoformlarının aşırı ifade edilmesinin hipoksi altında vasküler hücrelerdeki VEGF-A ve enolaz-2 (ENO2) gibi HIF hedef genlerinin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Bu sonuçlar HIF-3 α 'nın hipoksi ile indüklenmesine rağmen bir inhibitör fonksiyon gördüğünü ve vasküler hücrelerde HIF sinyalini sınırladığını düşündürmektedir. Dolayısıyla ateroskleroz gibi kronik hipoksik mikro-çevreye sahip lezyonlarda HIF-3 α , aşırı anjiyogenez veya inflamasyonu dizginleyen bir fren mekanizması olabilir. Ancak HIF-3 α 'nın HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın negatif düzenleyicisi olarak işlev gördüğü dogmasına güçlü bir şekilde karşıt çalışmalar da bulunmaktadır (Zhang et al., 2014).

Miyokard iskemisi ve reperfüzyonu sırasında HIF sisteminin önemli olduğu bilinmektedir. Bu süreçte HIF-1 α 'nın kardiyomiyositleri koruyucu gen programlarını aktive ettiği rapor edilirken, HIF-3 α 'nın rolü daha farklıdır. Bir deneysel çalışmada, neonatal rat kardiyomiyositlerinde HIF3A geninin RNA girişimi (siRNA) ile susturulması, reoksijenasyon

hasarına karşı hücreleri belirgin şekilde korumuştur (Drevytska et al., 2018). Bu bulgular, HIF-3 α 'nın kalp iskemik hasarında HIF-1 aracılı koruyucu yanıtı kısıtlayıcı bir faktör olabileceğini gösterebilir.

Serebrovasküler olaylarda ise örneğin beyin iskemisi sonrasında HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın belirgin olarak artış gösterdiği; deneysel modellerde HIF-1 α 'nın engellenmesinin beyin hasarını azalttığı bilinirken, HIF-3 α 'nın bu senaryodaki katkısı net değildir. Ancak HIF3A geninde stroka yatkınlıkla ilişkili bir polimorfizm (rs3826795) saptandığı ve bu varyantın HIF-3 α ekspresyonunu etkileyerek inme riskini artırabileceği bildirilmiştir (X. X. Gu et al., 2021)

Mevcut veriler sınırlı olsa da, HIF3A'nın gerek iskemik kalp hastalıklarında gerek aterosklerotik süreçlerde HIF-1/HIF-2 dengesini ayarlayan bir faktör olarak karşımıza çıktığı söylenebilir. Bu nedenle HIF-3 α , kardiyovasküler hastalıklarda yeni bir tanısal belirteç veya tedavi hedefi olma potansiyeline sahiptir.

2.4.5 Pulmoner Hipertansiyonda Rolü

HIF-3 α 'nın pulmoner hipertansiyondaki yerine dair spesifik çalışmalar sınırlı olsa da, dolaylı bulgular ışığında önemli bir moderatör rol oynadığı söylenebilir.

HIF' in endotelin-1 sentezini düzenlediği gösterilmiştir. HIF-3 α 'nın bir transkript varyantı olan NEPAS için global eksikliği olan fareler, aşırı doku vaskülarizasyonu nedeniyle pulmoner vasküler yeniden şekillenmeye ve dilate kardiyomiopatiye yol açan ET-1 aşırı ekspresyonu sergiler. Bu nedenle, HIF ve ET-1, pulmoner vasküler yeniden şekillenmeyi yönlendirmede önemli bir rol oynayan iki yönlü bir düzenleyici döngü oluşturur (Pullamsetti et al., 2020).

Hipoksiye maruz bırakılan sıçanların pulmoner arterlerinde HIF-3 α 'nın mRNA ve immünreaktivitesinin normoksiye göre arttığı bildirilmiştir. Li ve arkadaşlarının bu klasik deneyinde, 2 haftalık hipoksi sonrasında pulmoner arter duvarında HIF-1 α ve HIF-3 α boyanmasının belirgin şekilde güçlendiği, HIF-2 α boyanmasının ise ilginç biçimde azaldığı saptanmıştır (Q. F. Li & Dai, 2005)

Sonuç olarak, primer (idiyopatik) pulmoner hipertansiyon patogenezinde HIF sisteminin önemli bileşenleri bulunmaktadır. HIF-1 α daha çok vazokonstriksiyon, hücre

proliferasyonu ve metabolik değişiklikleri tetikleyen bir faktör olarak rol oynarken, HİF-2 α eritropoez ve vasküler yeniden yapılanma süreçlerinin sürükleyicisidir (Pullamsetti et al., 2020). HİF-3 α ise bu iki izoformun aktivitesini dengeleyen, aşırı yanıtları törpüleyen bir negatif düzenleyici gibi görünmektedir.

2.5 VHL

2.5.1 VHL Proteininin Yapısı ve Genel Özellikleri

VHL proteini (pVHL), 213 amino asit uzunluğunda bir tümör baskılayıcı proteindir ve yaklaşık 30 kDa moleküler ağırlığındadır. İnsan VHL geni, 3. kromozomun kısa kolunda (3p25-26 bölgesi) konumlanmıştır ve üç ekzon içerir. Bu genin transkripsiyonu ~4.5 kb'lık bir mRNA üretir ve gen dizisi türler arasında yüksek derecede korunmuştur (İliopoulos & Kaelin, 1997)

VHL proteini için iki ana izoform tanımlanmıştır: Tam uzunluktaki izoform pVHL₂₁₃ (213 aa, ~30 kDa) ve dahili bir başlatma kodonu kullanılarak üretilen kısaltılmış izoform pVHL₁₆₀ (160 aa, ~19 kDa) (Chesnel vd., 2015; İliopoulos & Kaelin, 1997). VHL genindeki alternatif translasyon başlangıç bölgesi, kodon 54'te yer alır ve buradan başlatılan translasyon pVHL₁₆₀ izoformunu oluşturur. İki ana VHL izoformu arasındaki lokalizasyon dağılımı da farklılık gösterebilir. Tam uzunluktaki pVHL₂₁₃ proteini başlıca sitoplazmada bulunurken, daha kısa olan pVHL₁₆₀ izoformunun hücrede çekirdek ve sitoplazma arasında yaklaşık eşit oranda dağıldığı bildirilmektedir (Chesnel et al., 2015).

Yapısal olarak pVHL proteini iki ana fonksiyonel domainden oluşur: yaklaşık 1-154. amino asitleri içeren β -domaini ve 155-213. amino asitleri kapsayan α -domaini. β -domaini, hidroksillenmiş HİF- α proteinini tanıyarak ona bağlanmaktan sorumlu iken α -domaini, pVHL'nin elongin C, elongin B, Cul2 ve Rbx1'den oluşan E3 ubikuitin ligaz kompleksine bağlanmasını sağlar (B. Y. Kim et al., 2008). Bu yapı, VHL proteininin görevini yerine getirmesinde kritik öneme sahiptir.

VHL geni, hemen hemen tüm dokularda ifade edilen, düşük doku spesifitesine sahip bir genidir. Bununla birlikte in situ hibridizasyon ve immünoboyama çalışmaları, VHL mRNA ve protein düzeylerinin böbrek ve serebellumda belirgin şekilde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Nitekim bu dokular Von Hippel-Lindau sendromunda lezyon gelişimine yatkın organlardır (İliopoulos & Kaelin, 1997).

2.5.2 VHL Proteininin Keşfi

Von Hippel-Lindau (VHL) hastalığı ilk kez 20. yüzyılın başlarında klinik olarak tanımlanmıştır. Alman oftalmolog Eugen von Hippel, 1904 yılında ailesel retina anjiyomlarını (hemanjiyoplastomlar) ayrıntılı olarak rapor etmiş; takiben İsveçli patolog Arvid Lindau 1926'da omurilik ve serebellum hemanjiyoplastomlarını içeren benzer bir tabloyu tanımlamıştır (Jeff Allred, 1997). Bu öncül çalışmalar sonucu söz konusu kalıtsal tümör predispozisyon sendromu, her iki bilim insanının adıyla anılarak Von Hippel-Lindau hastalığı olarak adlandırılmıştır.

Hastalığın moleküler genetiği ise ancak onlarca yıl sonra aydınlatılabildiği. 1980'lerin sonlarında yapılan bağlantı analizleri, sorumlu genin kromozom 3'ün kısa koluna haritalandığını göstermiştir. Nihayet, 1993 yılında Dr. Michael Lerman ve Berton Zbar liderliğindeki araştırmacılar, kromozom 3p25-26 bölgesinde yer alan VHL genini klonlamayı başarmışlardır. 1990'ların ortalarında William G. Kaelin Jr. ve ekibi, VHL gen ürününün böbrek kanseri hücrelerindeki tümör baskılayıcı etkilerini gösteren deneysel çalışmaları yayımlamışlardır (İliopoulos & Kaelin, 1997). Ardından Peter Ratcliffe ve Gregg Semenza gibi araştırmacıların katkılarıyla VHL proteininin hücrel oksijen duyarlılık mekanizmasındaki rolü keşfedilmiştir. Son olarak VHL-HIF ilişkisinin açıklığa kavuşması, hücrelerin oksijen düzeyini nasıl algıladığının anlaşılmasını sağlamıştır. Bu alandaki çığır açıcı çalışmalardan dolayı Kaelin, Ratcliffe ve Semenza, 2019 yılında Nobel Tıp Ödülü'ne layık görülmüşlerdir (Nobel Prize, 2019).

2.5.3 HIF Yolağındaki Rolü ve Fonksiyonu

VHL proteininin en iyi bilinen fonksiyonu, hücrel oksijen duyarlılık mekanizmasında, yani HIF (Hypoxia-İnducible Factor) yolunda üstlendiği roldür. pVHL, HIF- α 'nın oksijen varlığında hedeflenip parçalanmasını sağlayan E3 ubiquitin ligaz kompleksinin substrat tanıyan komponentidir (Chesnel et al., 2015). Normoksik koşullarda hücrede yeterli oksijen bulunduğunda, prolyl hidroksilaz enzimleri (PHD1/2/3) HIF- α proteinindeki spesifik prolin kalıntıları (konservatif LXXLAP dizisindeki) hidroksillenir. Hidroksillenmiş HIF- α , VHL proteinine yüksek afinite ile bağlanır; pVHL, elongin C, elongin B, Cul2 ve Rbx1'den oluşan ubiquitin ligaz kompleksini HIF- α 'ya getirerek HIF- α 'nın poliubikuitinasyonunu tetikler. Ubikuitin eklenmiş HIF- α proteini, hücrel proteazom sistemi

tarafından hızla parçalanır (B. Y. Kim et al., 2008). Bu mekanizma sayesinde normal oksijen koşullarında HIF- α seviyeleri düşük tutulur ve hipoksiyle indüklenen genlerin (örn. VEGF, EPO, GLUT1 vb.) ifade edilmesi engellenir.

Hipoksi durumunda ise hidrosillenmeyen HIF- α , pVHL tarafından tanınmaz ve böylece ubiquitinasyon-proteazom yıkımından kurtulur. Stabil hale gelen HIF- α , sitoplazmadan çekirdeğe geçerek konstitutif olarak bulunan HIF- β (ARNT) ile heterodimer oluşturur; bu kompleks hedef genlerin HRE (Hipoksi Yanıt Elementi) bölgelerine bağlanarak anjiyogenez, eritropoez ve glikoliz gibi süreçleri destekleyen birçok genin transkripsiyonunu aktive eder (B. Y. Kim et al., 2008).

VHL geninin inaktive olduğu koşullarda (örneğin VHL sendromu tümörleri veya mutasyonları), hücreler hipoksik durumda imiş gibi davranır ve HIF- α sürekli yüksek kalarak hedef gen ekspresyonunda anormal artışlar meydana getirir. Bu durum, VEGF ve PDGF gibi büyüme faktörlerinin aşırı üretimine yol açarak anjiyogenez ve hücre proliferasyonunu uyarır; böylece VHL kaybı, tümör oluşumu ve ilerlemesine zemin hazırlar (Kaelin, 2002). Özetle, VHL proteini HIF yolak aktivitesini oksijen bağımlı şekilde düzenleyen bir “ustabaşı” konumundadır ve hem fizyolojik koşullarda hem de hastalık süreçlerinde bu fonksiyonu kritik önem taşır.

2.5.4 Kardiyovasküler Hastalıklardaki Önemi ve Değişimleri

Kalp ve damar sisteminde, VHL-HIF ekseni gerek normal gelişimde gerekse hastalık süreçlerinde etkili olmaktadır. Embriyonik kalpte VHL/HIF sinyalinin dengesi, miyokardın metabolik olgunlaşması için gereklidir. Deneysel hayvan modellerinde kardiyak miyositlere özgü VHL gen delesyonu, HIF-1 α 'nın aşırı aktivasyonuna yol açarak fetüse özgü glikolitik metabolizmanın sürmesini ve oksidatif metabolizmaya geçişin engellenmesini tetiklemiştir (Menendez-Montes et al., 2016). Bunun sonucu olarak gelişen metabolik dengesizlik, kalpte yapısal ve fonksiyonel anormalliklere neden olmuş; kardiyomegali ve kontraktıl disfonksiyon gibi patolojiler gelişmiştir (Lei et al., 2008)

Chuvash polistemisi adı verilen konjenital hastalık ise VHL genindeki homozigot R200W mutasyonundan kaynaklanır ve bu mutasyon VHL protein fonksiyonunu kısmen bozarak HIF yolak aktivitesini artırır. Chuvash polistemili bireyler sürekli “pseudohipoksik” bir durumda olduklarından endojen EPO üretimleri artar ve ağır eritrositoz gelişir. Nitekim

VHL(R200W) mutant fare modellerinde yapılan çalışmalar, mutasyonun polistemi dışında da doğrudan akciğer vasküler yapısında yeniden şekillenme, inflamasyon ve fibröz değişiklikler ile pulmoner hipertansiyona yol açtığını göstermiştir, HIF-2 α geninin ifade düzeyini azaltmanın hem eritrositozu hem de pulmoner hipertansiyonu büyük ölçüde geriletmediği görülmüştür (Hickey et al., 2010a).

Özetle, VHL proteini kaybı veya fonksiyon azalması durumunda ortaya çıkan kronik HIF aktivasyonu, kardiyovasküler sistemde anormal anjiyogenez, vazomotor dengesizlik ve metabolik değişimlere yol açarak çeşitli hastalıklara zemin hazırlamaktadır. Günümüzde HIF stabilizasyonunu hedefleyen PHD (prolil hidroksilaz) inhibitörleri, anemi tedavisi için klinikte kullanılmaya başlanmıştır; bu durum VHL-HIF aksının terapötik hedef olarak kardiyovasküler alanda da önem taşıyabileceğini göstermektedir (Sato & Takeda, 2023).

2.5.5 Primer Pulmoner Hipertansiyon Patogenezinde VHL' nin Rolü

Preklinik ve klinik kanıtlar birlikte ele alındığında, VHL proteininin pulmoner vasküler homeostaz için önemli bir koruyucu rol oynadığı söylenebilir. VHL' nin yokluğunda gelişen "pseudohipoksi" durumu, akciğer damar yatağında hipertansiyona yol açan birçok yolakta (anjiyogenez, vazokonstriksiyon, hücre proliferasyonu) aktivasyon yaratmaktadır. Gelecekte, PAH tedavisinde HIF sinyal yolunu hedefleyen yeni tedaviler gündeme gelebilir. Mevcut veriler, primer pulmoner hipertansiyon patogenezinde VHL-HIF aksının kritik bir payı olabileceğini ve bu eksendeki bozuklukların hastalığın seyrini etkileyebileceğini göstermektedir.

VHL-HIF yolundaki dengesizliklerin primer pulmoner hipertansiyon gibi ciddi hastalıklarda rol oynaması, bu proteinin fizyolojik ve patolojik süreçlerdeki önemini bir kez daha vurgulamaktadır. Güncel araştırmalar, VHL' nin HIF bağımlı ve bağımsız fonksiyonlarını daha iyi anlamaya yöneliktir ve bu alandaki bilgi birikimi, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

2.6 Genetik Polimorfizm ve HİF Yolu

2.6.1 Single Nükleotid Polimorfizm (SNP)

Tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), genomdaki DNA dizisinin tek bir baz çiftinde popülasyon içinde varyasyon göstermesidir. SNP'ler, bireyler arasındaki genetik çeşitliliğin en basit ve en yaygın formudur. Genomda milyonlarca SNP bulunduğu bilinmektedir. SNP'ler gen dizisinde kodlayıcı bölgede meydana gelirse amino asit değişimine yol açabilir (nonsens veya missense mutasyonlar) ya da eşanlamlı (sessiz) değişimler olabilir. Kodlanmayan bölgelerdeki SNP'ler ise gen ifadesini çeşitli mekanizmalarla etkileyebilir: Promotör veya enhancer bölgelerdeki SNP'ler gen ekspresyon düzeyini değiştirebilir, intronik SNP'ler mRNA işlemlerini (splicing) bozabilir, 3' UTR bölgesindeki SNP'ler mRNA kararlılığını veya mikroRNA bağlanmasını etkileyebilir. Bu nedenle SNP'ler, fenotip üzerinde önemli etkilere sahip olabilir (Shastry, 2009).

Popülasyonda sık görülen SNP varyantları genellikle polimorfizm olarak adlandırılırken, çok nadir varyantlar genellikle mutasyon olarak tanımlanır (Brookes, 1999). SNP'lerin önemi, insan hastalıkları ve özelliklerinin genetik temelini anlamada ortaya çıkar. Birçok yaygın hastalık (ör. diyabet, hipertansiyon, kanser, psikiyatrik bozukluklar) SNP'lerle ilişkili genetik risk faktörlerine sahiptir. Örneğin bazı SNP'ler enzimlerin aktivitesini etkileyerek ilaca verilen yanıtları değiştirebilir, farmakogenetik önemi vardır (Shastry, 2009). Bazı SNP'ler protein düzeyinde değişiklik yapmasalar bile, linkage disequilibrium yoluyla fonksiyonel bir mutasyonla yakın kalıtıldıklarında genetik belirteç olarak kullanılabilir; bu nedenle genom çapında ilişki çalışmaları (GWAS), milyonlarca SNP'yi tarayarak belirli fenotiplerle istatistiksel ilişkili varyantları tespit eder (Hettiarachchi & Komar, 2022).

Sonuç olarak, SNP analizleri kişisel tıpta tanı ve tedavi yaklaşımlarını yönlendirebilecek önemli bilgiler sağlar; örneğin hastanın genotipine göre belirli bir ilaca yanıt tahmin edilebilir veya hastalık risk skoru hesaplanabilir. Kısacası SNP'ler, gen fonksiyonunu ince ayar seviyesinde değiştiren küçük ama kritik farklılıklardır ve evrimsel adaptasyondan kişisel hastalık riskine dek geniş bir yelpazede önem taşırlar.

Hipoksi- indüklenebilir faktör yolu hem kanser hem kardiyovasküler hem de yüksek irtifa adaptasyonu gibi konularda yoğun genetik araştırmalara konu olmuştur. Bu bağlamda HİF1A, EPAS1 (HİF2A), HİF3A ve VHL genlerinde çeşitli polimorfizmler incelenmiştir.

2.6.2 HIF1A rs11549465 (C1772T, Pro582Ser):

HIF-1 α proteininde 582. pozisyondaki prolinin serine dönüşmesine yol açan bir missense polimorfizmdir. Bu kalıntı, HIF-1 α 'nın oksijen-bağımlı degradasyon domaini (ODD) içinde bulunur. Pro564, prolin hidroksilaz-2 (PHD2) enzimi tarafından hidroksillenen kritik prolinlerden biridir. Pro→Ser değişimi, bu pozisyondaki hidroksilasyon motifini etkilemese de deneysel çalışmalar, P582S taşıyan HIF-1 α 'nın normal koşullarda biraz daha kararlı olabildiğini veya hedef gen transkripsiyonunu az da olsa artırabildiğini göstermiştir (Enedina et al., 2018). Bu durum, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve eritropoietin (EPO) gibi hedef genlerin ekspresyonunun artmasına neden olabilir (F. Yang et al., 2025).

Araştırmalarda HIF-1 aktivitesindeki kişiler arası farklılıkları incelemek için bu SNP genotipi zaman zaman bir gösterge olarak kullanılmaktadır (Döring et al., 2010; Jamali et al., 2020).

2.6.3 HIF1A rs2057482 (3'UTR SNP)

rs2057482, HIF-1 α geninin 3' untranslated region (3'UTR) bölgesinde yer alan tek nükleotid polimorfizmdir. rs2057482, HIF1A geninin 14. kromozom üzerindeki 62.213.848. bp'de yer alır ve T→C allel değişimini içerir (López-Reyes et al., 2014). Mevcut literatürde bu varyantla PAH'a özgü ilişkilere dair doğrudan veriler sınırlıdır; fakat HIF sinyal yollarının PAH patogenezinde kritik rol oynadığı iyi bilinen bir gerçektir.

2.6.4 EPAS1 rs13419896 (intronik SNP):

rs12619696, farklı popülasyonlar arasında yüksek irtifaya adaptasyon açısından farklı kalıplarla ilişkilendirilmiştir (Hanaoka et al., 2012). Başka bir çalışmada rs12619696 yüksek irtifa polisitemisi ile ilişkilendirilmiştir (Harun-Or-Roshid et al., 2022). Yine bir başka çalışmada, EPAS1 rs13419896 A alelinin KOAH gelişme riskini azalttığı bildirilmiştir (Y. Wang et al., 2023). Bütün bu bulgular, EPAS1 rs13419896'nın fonksiyonel bir SNP olabileceğini ve HIF-2 α ekspresyonunun ince ayarında rol oynayabileceğini göstermektedir. Genelde EPAS1 polimorfizmlerinin etkileri, HIF-2'nin kritik hedefi olan eritropoietik sistem ve vasküler yanıtlar üzerinden ortaya çıkar; rs13419896 bu kapsamda en çok dikkat çeken varyantlardan biridir.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışmaya Dahil Olacak Bireylerin Seçilmesi ve Verilerin Toplanması

Çalışma Şubat 2025- Nisan 2025 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvuran primer pulmoner hipertansiyon tanılı 71 hasta ve cinsiyet-yaş olarak eşlenen 93 kişilik kontrol grubu ile yapılmıştır.

T.C. Necmettin Erbakan Üniversitesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu'nun 28.06.2024 tarihli ve 2024/5036 sayılı kararı doğrultusunda çalışma süreci başlatılmıştır. Çalışmanın amacı ve etik dayanakları hakkında hastalara gerekli bilgilendirme yapılmıştır. Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak, aydınlatılmış onam formu hasta veya yasal temsilcileri tarafından imzalanmış gönüllü bireyler çalışmaya dahil edilmiştir.

Sağ kalp kateterizasyonu yapılmış olan ortalama pulmoner arter basıncı 20 mmHg üzeri, pulmoner kapiller kama basıncı 15 mmHg altı ve pulmoner vasküler rezistansı 2 Wood Ünite üzerinde saptanan 18 yaş ve üzeri tip 1 pulmoner hipertansiyon tanısı alan hastalar çalışma grubuna dahil edilmiştir.

Benzer tabloya yol açabilecek primer kalp hastalığına bağlı pulmoner hipertansiyon, primer akciğer hastalığına bağlı pulmoner hipertansiyon ve kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyon tanısının olan hastalar, onkolojik tanısı olan hastalar ve aktif enfeksiyonu olan hastalar çalışmadan dışlanmıştır.

Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) tarafından başlangıçta ve takipte bakılması önerilen parametreler (Ekokardiyografi parametreleri, N terminal pro B-tipi natriüretik peptid (NT pro BNP) seviyeleri, 6 dakika yürüme testi sonuçları, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) fonksiyonel kapasite sınıfı) kaydedilmiştir. Hastalara 6 dakikalık yürüme testi yapılarak yürüme mesafesi, test öncesi ve sonrası kalp hızı ve oksijen saturasyonu değerlendirilmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü fonksiyonel sınıflaması, hastanın pulmoner hipertansiyon (PH) semptomlarının şiddetini tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır (Humbert, Kovacs, Hooper, Badagliacca, Sivakumaran, et al., 2022). Bu sınıflama dört düzeyden oluşur; Sınıf I en hafif, Sınıf IV ise en ağır klinik tabloyu temsil eder. Pulmoner hipertansiyon tedavisinin temel hedeflerinden biri, hastanın günlük yaşamını kolaylaştırmaktır. Bu nedenle, PAH' In hastanın günlük yaşam kalitesini ne ölçüde etkilediğine dair doğru ve kapsamlı bir değerlendirme yapılması büyük önem taşır. DSÖ fonksiyonel kapasite sınıfları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Dünya Sağlık Örgütü'nün pulmoner hipertansiyon hastalarının fonksiyonel durumuna ilişkin sınıflaması

Sınıf I	Fiziksel aktivite kapasitesinde kısıtlanma bulunmayan hastalar. Olağan fiziksel aktiviteler dispne, yorgunluk, göğüs ağrısı veya senkop hissine yol açmaz.
Sınıf II	Fiziksel aktivitede hafif derecede kısıtlanma görülen hastalar. İstirahat halinde rahattırlar ancak olağan fiziksel aktiviteler dispne, yorgunluk, göğüs ağrısı veya senkop hissine yol açar.
Sınıf III	Belirgin fiziksel aktivite kısıtlaması olan hastalar. İstirahat halinde rahattırlar ancak olağanın altındaki fiziksel aktiviteler bile semptomlara neden olur.
Sınıf IV	Herhangi bir fiziksel aktiviteyi semptomsuz gerçekleştiremeyen hastalar. Bu hastalarda sağ kalp yetmezliği belirtileri görülür. Dispne, yorgunluk istirahat sırasında bile mevcut olabilir.

3.1.1 Sağ Kalp Kataterizasyonu

Sağ kalp kateterizasyonu ile pulmoner kapiller kama basıncı (PCWP), pulmoner arter sistolik, diastolik ve ortalama basınçları, aort sistolik, diastolik ve ortalama basınçları, sağ atriyum basıncı (RAP), kardiyak output (CO), pulmoner arter, aort, inferior ve süperior vena cava oksijen saturasyonları ölçülerek mix venöz oksijen saturasyonu, transpulmoner gradient (TPG), periferik vasküler rezistans (PVR), sistemik vasküler rezistans (SVR), Pulmoner arter pulsatil indeks (PAPİ), kardiyak indeks (Cİ) ve kardiyak power output (CPO) belirtilen formüllere göre hesaplanmıştır (Rajagopalan et al., 2024).

TPG= Ortalama Pulmoner Arter Basıncı- Pulmoner kapiller kama basıncı

PVR= TPG/CO

SVR = (Ortalama Aort Basıncı- Sağ Atriyum Basıncı) / CO *80

PAPİ = (Sistolik Pulmoner Arter Basıncı- Diastolik Pulmoner Arter Basıncı) /RAP

Cİ = CO/BSA

CPO= (Ortalama Aort Basıncı- Sağ Atriyum Basıncı) *CO/451

3.1.2 Transtorasik Ekokardiyografi

Çalışmaya katılan tüm hastalar ve kontrol grubu sol lateral dekübit pozisyonunda iken Epiq 7 ultrason sistemi (Philips Medical Systems; Andover, MA) ve 5-1 MHz transdüser kullanılarak transtorasik ekokardiyografi yapıldı. Ekokardiyografik ölçümler hastaların klinik ve demografik özelliklerini bilmeyen uzman 2 farklı kardiyolog tarafından alındı. Tüm standart ölçümler Amerikan Ekokardiyografi Topluluğu (ASE) kılavuzlarına uygun şekilde yapıldı.

Ejeksiyon fraksiyonu (EF), sol ventrikül end-diyastolik çapı (LVEDD), sol ventrikül end-sistolik çapı (LVESD), asendan aorta çapı, sol atriyum çapı, pulmoner arter pulsed wave (PW) Doppler maksimum hızı, triküspit yetmezliği şiddeti (TY), sağ atriyum major çapı, sağ atriyum minor çapı, sağ atriyum alanı (Şekil 3.1), sağ atriyum hacmi, sağ atriyum hacim indeksi (RA volume indeks), sağ ventrikül bazal çapı, sağ/sol ventrikül çap oranı, sağ ventrikül mid ventriküler çapı (Şekil 3.2), triküspit anülüs çapı, sağ ventrikül end-sistolik alanı, sağ ventrikül end-diyastolik alanı, sağ ventrikül fraksiyonel alan değişimi (FAC), triküspid annüler düzlem sistolik yer değiştirmesi (TAPSE), triküspit diyastolik doku Doppler S' hızı (TDI S'), sağ ventrikül çıkış yolu hız-zaman integrali (RVOT VTI), sağ ventrikül çıkış yolu akselerasyon zamanı (RVOT AccT) (Şekil 3.3), RVOT Doppler'inde sistol ortası çentiklenme varlığı, inferior vena kava çapı (IVC), IVC kollabilitesi, sağ ventrikül sistolik basıncı (RVSP), sağ atriyum basıncı (RAP), pulmoner arter sistolik basıncı (PASP), triküspit regürjitasyon hızı (TRV), parasternal uzun aks ölçümlerden RVOT proximal çapı (RVOT PLAX), parasternal kısa aks ölçümlerden RVOT proksimal (RVOT PSAX prox) ve distal (RVOT PSAX distal) çapları, pulmoner arter çapı, ana pulmoner arter/asendan aorta oranı (MPA/asendan aorta), end-sistolda sol ventrikül eksantrite indeksi (LVEI end sistolik) (Şekil 3.4), end-diyastolde sol ventrikül eksantrite indeksi (LVEI end diastolik) (Şekil 3.5), miyokard performans indeksi (MPI), TAPSE/PASP oranı, ventriküler septal defekt (VSD), atriyal septal defekt (ASD) ve perikardiyal efüzyon varlığı değerlendirildi.

RA majör ve minör çapı RA odaklı apikal 4 boşluk görüntüden ventrikül sistolün sonunda ölçülürler. RA majör çap triküspit kapak anülüsünden RA süperior duvara merkezine kadar olan interatrial septuma paralel mesafedir (Şekil 3.1). RA minör çap ise majör çapa dik olarak RA serbest duvarın ortasından interatrial septuma kadar olan mesafedir (Şekil 3.1).

RA hacmi sistolün sonunda RA odaklı apikal 4 boşluk görüntüden disk toplama metodu ile ölçülmüştür.

Miyokard performans indeksi (MPI) global sağ ventrikül fonksiyonunu gösteren bir indeks olup 2 şekilde hesaplanabilmektedir:

1. PW Doppler Yöntemi

Formül:

$$MPI = (TCO - ET) / ET$$

Burada:

- TCO: Triküspit kapak kapanış–açılış süresidir. Transtriküspit A-dalgasının bitimi ile E-dalgasının başlangıcı arasın veya continuous wave (CW) Doppler ile triküspit yetmezlik jeti akım süresi ölçülür.

- ET: Ejeksiyon süresi RVOT üzerinden PW Doppler ile RVOT üzerindeki akımın başlangıcından sonuna kadar olan süre ölçülür.

2. Doku Doppler Görüntüleme (TDI) Yöntemi

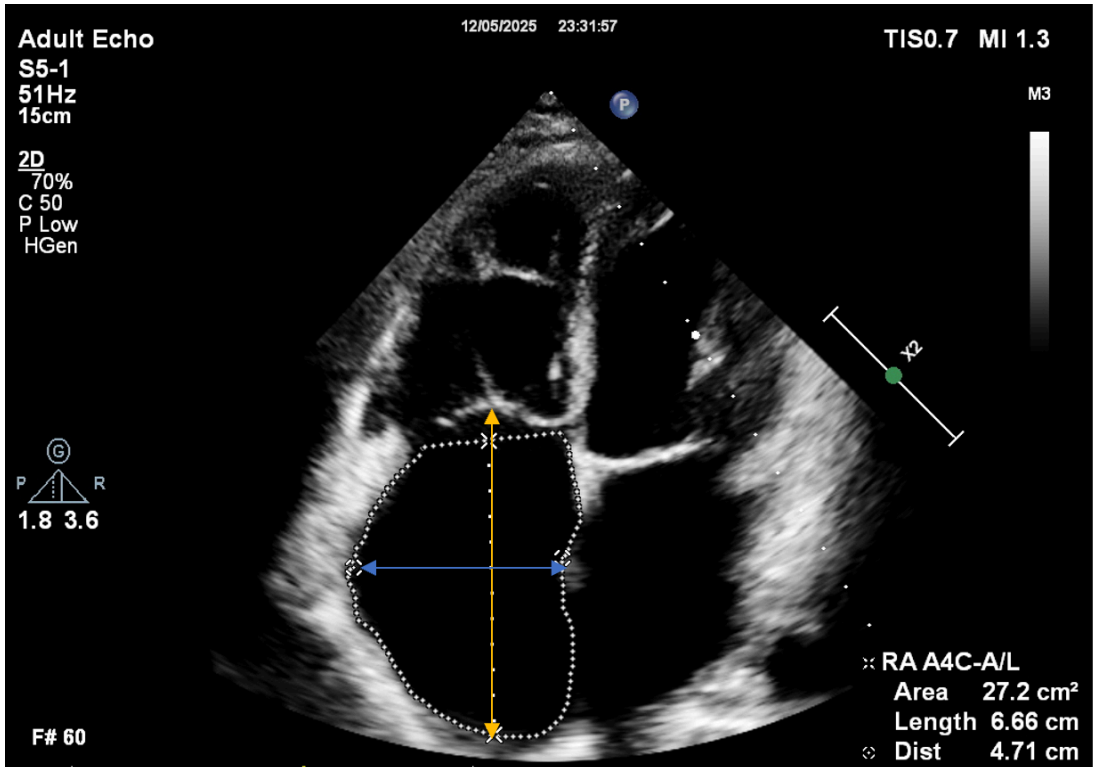
Formül:

$$MPI = (TCO - ET) / ET$$

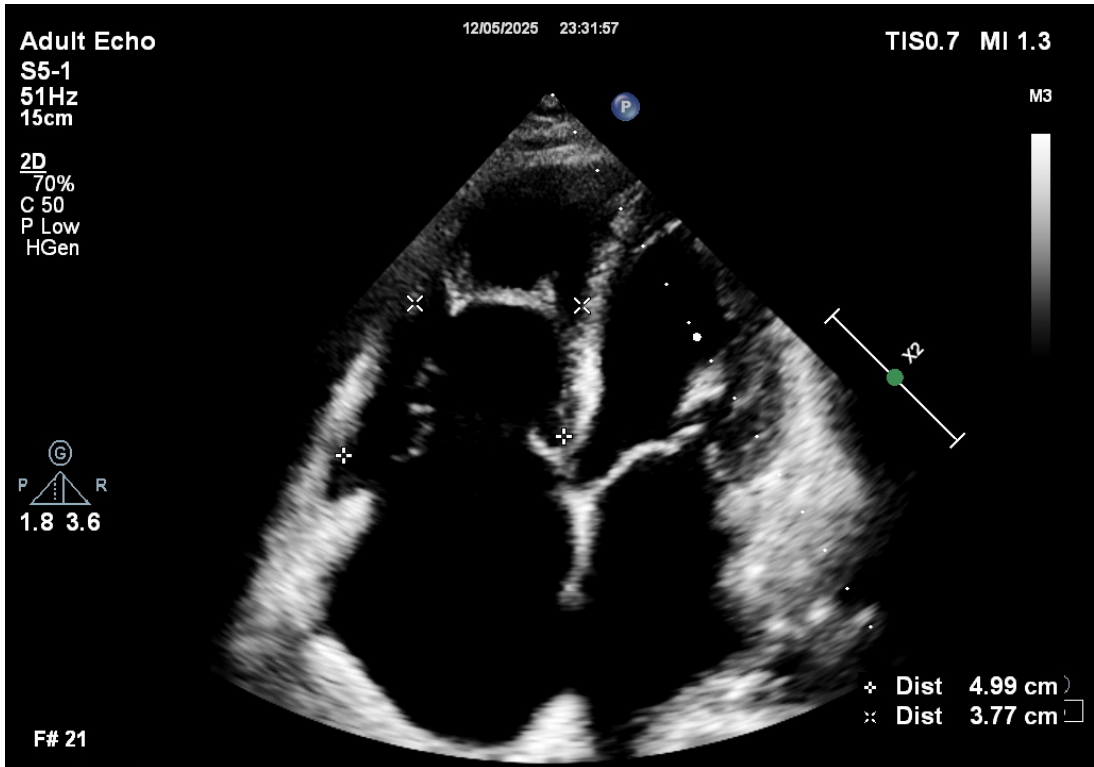
Burada:

- TCO: Triküspiti anülüsün laterali doku Doppler ölçümünden elde edilen a' dalgasının sonu ile e' dalgasının başlangıcı arası

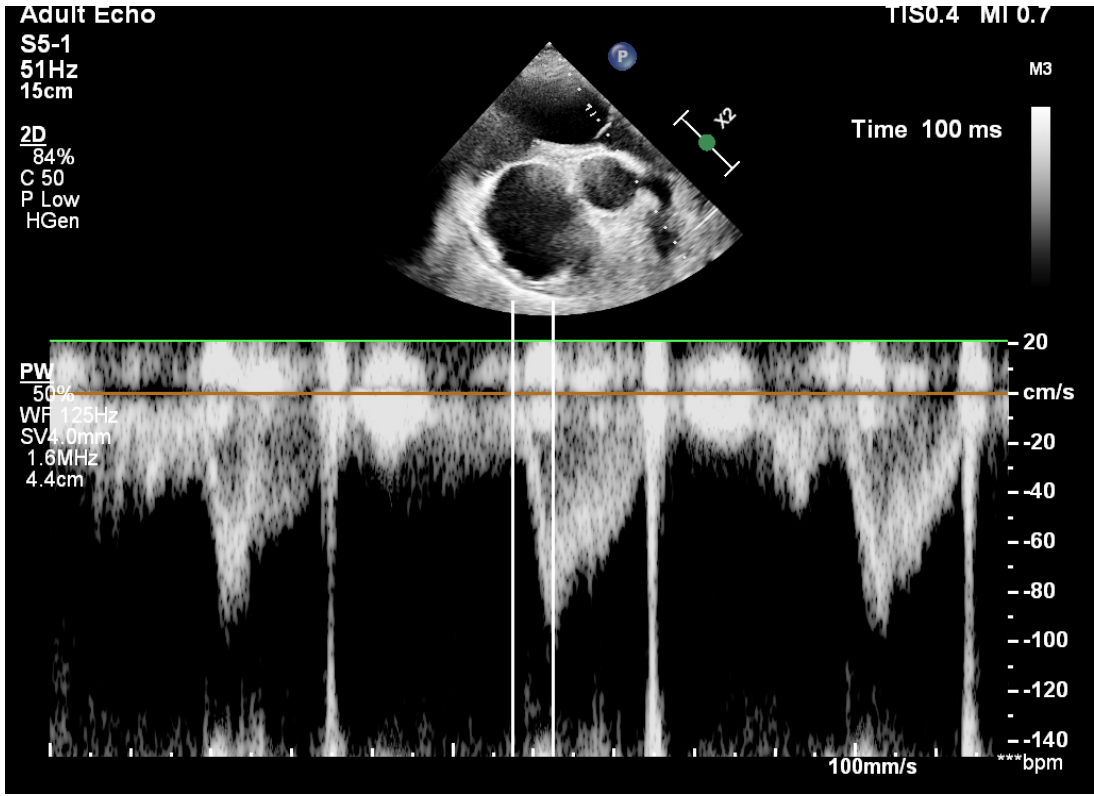
- ET: Triküspiti anülüsün laterali doku Doppler ölçümünden elde edilen S' dalgasının başlangıcından sonuna kadar olan süre



Şekil 3.1 Sağ atrium majör (sarı ok) -minör çap (mavi ok) ve alan ölçümleri



Şekil 3.2 Sağ ventrikül bazal ve mid ventriküler çap ölçümleri



Şekil 3.3 Sağ ventrikül bazal ve mid ventriküler çap ölçümleri



Şekil 3.4 End-diastolde ölçülen sol ventrikül ekzantrite indeksi



Şekil 3.5 End-diastolde ölçülen sol ventrikül ekzantrite indeksi

3.2 Analizlerin Yapılması

Hasta ve kontrol grubundan HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL protein düzeyi analizi için serum ayırıcı jel içeren vakumlu tüpe alınan kanlar 30 dakika bekletildikten sonra 1500 g 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası hasta serumları ependorf tüplerine konularak çalışma gününe kadar -80°C’ de saklandı. HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL seviyeleri sandviç ELİSA (Enzyme Linked İmmunosorbent Assay) yöntemi ile ölçüldü. ELİSA tetkiki için yıkamalar ELx50 Bioelisa yıkama cihazı (BioTek Instrumentals, İnc., Winooski, VT, ABD) ile absorbans okumaları Epoch Mikroplaka okuyucu (BioTek Instrumentals, İnc., Winooski, VT, ABD) sistemi kullanılarak yapıldı.

Hasta ve kontrol grubundan tek nükleotid polimorfizmi (SNP) analizi için K2 Etilen diamin tetra asetik asit içeren tüplere tam kan örnekleri alınarak Diarex Blood DNA Extraction Kit (Diagen, İstanbul, Türkiye) izolasyon kiti ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Total DNA ekstraksiyonu sonrasında elde edilen örneklere ait nükleik asit konsantrasyonları, çalışmanın sonraki aşamalarında kullanılmak üzere Colibri Microvolume Spectrometer (Titertek-Berthold, Germany) ile ölçüldü. Elde edilen DNA örnekleri kullanılarak, SNP analizi gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tabanlı TaqMan allel ayırım yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

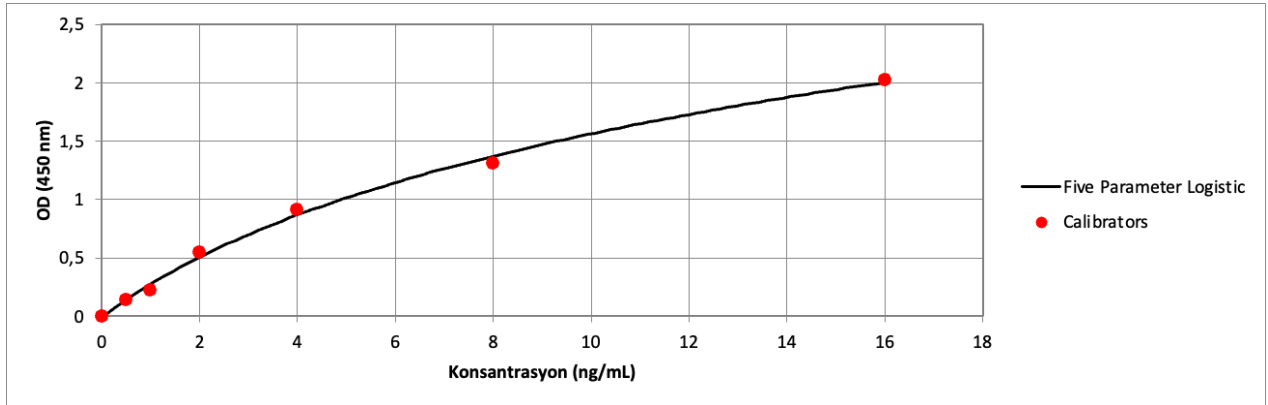
3.2.1 Serum HIF-1 α Düzeyinin Ölçümü

HIF-1 α düzeyi Bioassay Technology Laboratory marka (Katalog no: E0422Hu) Human HIF-1 α ELİSA kiti kullanılarak analiz edildi. CV değerleri çalışma içi <8%, çalışmalar arası <10 olarak verilen kitin alt ölçüm limiti 0,05 ng/mL idi.

Çalışma ELİSA kitinin prospektusu dikkate alınarak gerçekleştirildi. Standart solüsyona standart dilüent eklenerek sonra seri dilüsyon ile farklı konsantrasyonlarda standartlar elde edildi. 50 μ L standart ve 40 μ L hasta numuneleri plate kuyucuklarına konuldu. Hasta kuyucuklarına 10 μ L biyotinle işaretlenmiş antikor eklendi. Blank dışında tüm kuyucuklara 50 μ L HRP (Horseradish peroksidaz) -streptavidin konjugat eklendi. 37°C’ de 60 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında 3 kere 300 μ L yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı. Bütün kuyucuklara 50 μ L Substrat solüsyon A ve 50 μ L Substrat solüsyon B eklendi. 10 dakika karanlık ortamda 37°C’ de inkübe edildi.

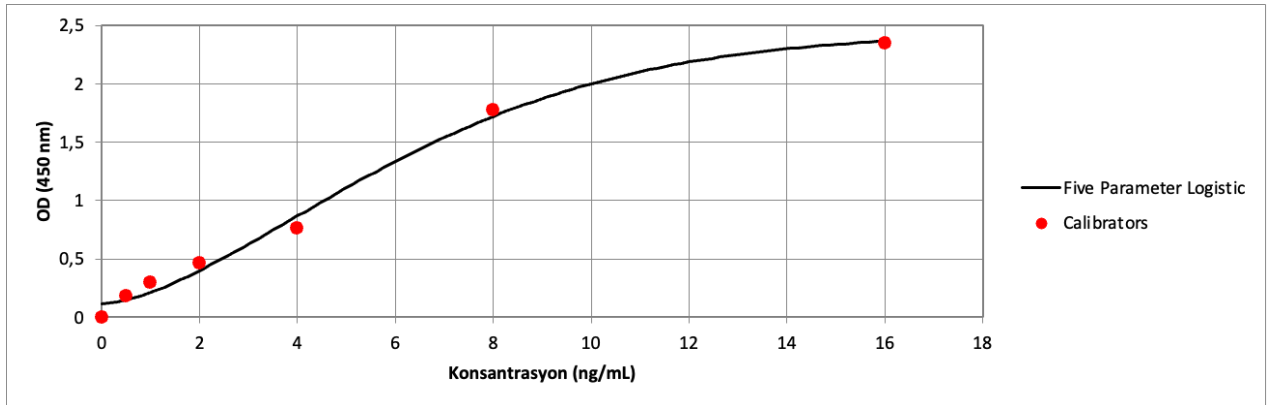
Uygun renk değişimi elde edildikten sonra 50 μ L stop solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda okuma gerçekleştirildi. Standartların absorbans değerleri kullanılarak beş parametrelili

lojistik regresyon ile çizilen standart eğrisinden numune konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.1) (Gottschalk & Dunn, 2005a, 2005b).



A

$$y = 312843.2 + (-0.01112265 - 312843.2)/(1 + (x/3.853977)^{0.9944594})^{0.000003946918}$$
$$R^2 = 0,9967$$



B

$$y = 2.431774 + (0.1158273 - 2.431774)/(1 + (x/69304.25)^{1.58528})^{2062708}$$
$$R^2 = 0,9914$$

Şekil 3.6 HIF-1α konsantrasyon- absorbans standart eğrileri

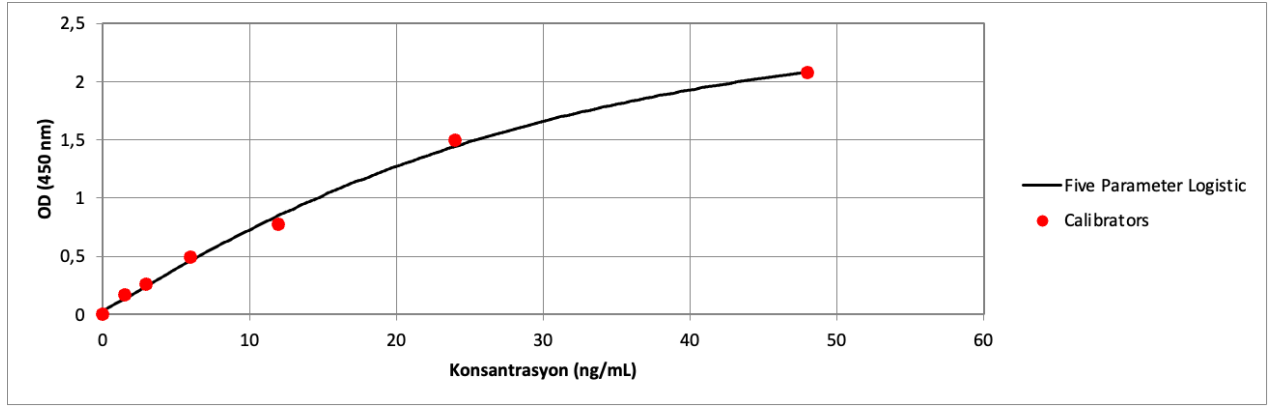
(A: 1.plate, B: 2. plate)

3.2.2 Serum HİF-2α Düzeyinin Ölçümü

HİF-2α düzeyi Bioassay Technology Laboratory marka (Katalog no: E7164Hu) Human HİF-2α ELİSA kiti kullanılarak analiz edildi. CV değerleri çalışma içi < %8, çalışmalar arası < %10 olarak verilen kitin alt ölçüm limiti 0,1 ng/mL idi.

Çalışma ELİSA kitinin prospektusu dikkate alınarak gerçekleştirildi. Standart solüsyona standart dilüent eklenerek sonra seri dilüsyon ile farklı konsantrasyonlarda standartlar elde edildi. 50 µL standart ve 40 µL hasta numuneleri plate kuyucuklarına konuldu. Hasta kuyucuklarına 10 µL biyotinle işaretlenmiş antikor eklendi. Blank dışında tüm kuyucuklara 50 µL HRP (Horseradish peroksidaz) -streptavidin konjugat eklendi. 37°C' de 60 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında 3 kere 300 µL yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı. Bütün kuyucuklara 50 µL Substrat solüsyon A ve 50 µL Substrat solüsyon B eklendi. 10 dakika karanlık ortamda 37°C' de inkübe edildi.

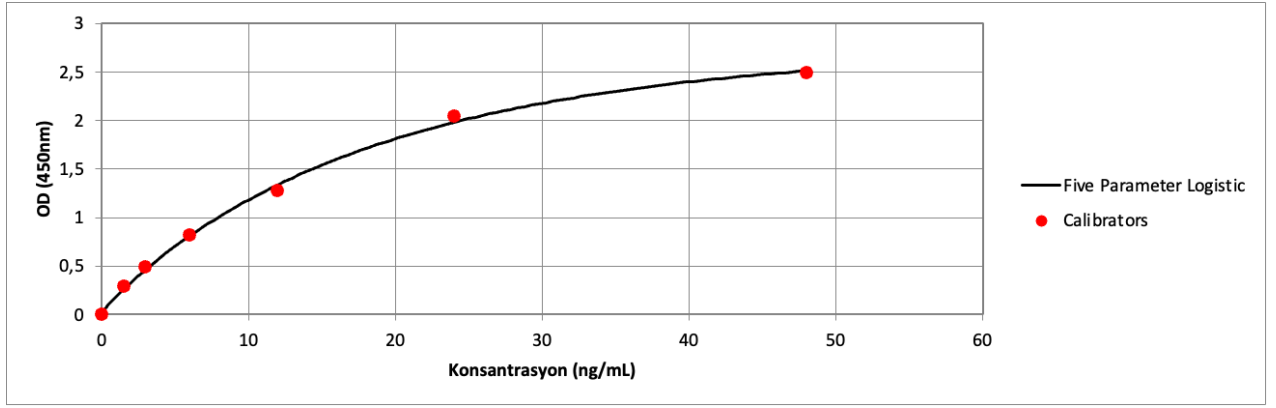
Uygun renk değişimi elde edildikten sonra 50 µL stop solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda okuma gerçekleştirildi. Standartların absorbans değerleri kullanılarak beş parametrelili lojistik regresyon ile çizilen standart eğrisinden numune konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.2) (Gottschalk & Dunn, 2005a, 2005b).



A

$$y = 2.483098 + (0.0330905 - 2.483098)/(1 + (x/4811409)^{1.076697})^{438458.9}$$

$$R^2 = 0,9968$$



B

$$y = 2.750091 + (0.02143951 - 2.750091)/(1 + (x/13550720)^{0.9423925})^{333237.2}$$

$$R^2 = 0,9982$$

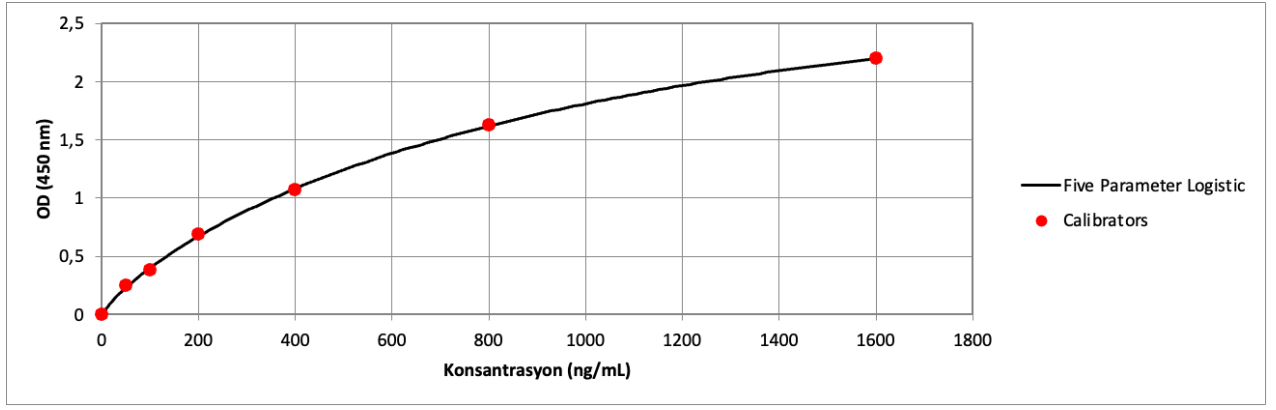
Şekil 3.7 HİF-2α konsantrasyon- absorbans standart eğrileri
(A: 1.plate, B: 2. plate)

3.2.3 Serum HİF-3α Düzeyinin Ölçümü

HİF-3α düzeyi Bioassay Technology Laboratory marka (Katalog no: E4763Hu) Human HİF-3α ELİSA kiti kullanılarak analiz edildi. CV değerleri çalışma içi < %8, çalışmalar arası < %10 olarak verilen kitin alt ölçüm limiti 6 ng/L idi.

Çalışma ELİSA kitinin prospektusu dikkate alınarak gerçekleştirildi. Standart solüsyona standart dilüent eklenerek sonra seri dilüsyon ile farklı konsantrasyonlarda standartlar elde edildi. 50 µL standart ve 40 µL hasta numuneleri plate kuyucuklarına konuldu. Hasta kuyucuklarına 10 µL biyotinle işaretlenmiş antikor eklendi. Blank dışında tüm kuyucuklara 50 µL HRP (Horseradish peroksidaz) -streptavidin konjugat eklendi. 37°C' de 60 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrasında 3 kere 300 µL yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı. Bütün kuyucuklara 50 µL Substrat solüsyon A ve 50 µL Substrat solüsyon B eklendi. 10 dakika karanlık ortamda 37°C' de inkübe edildi.

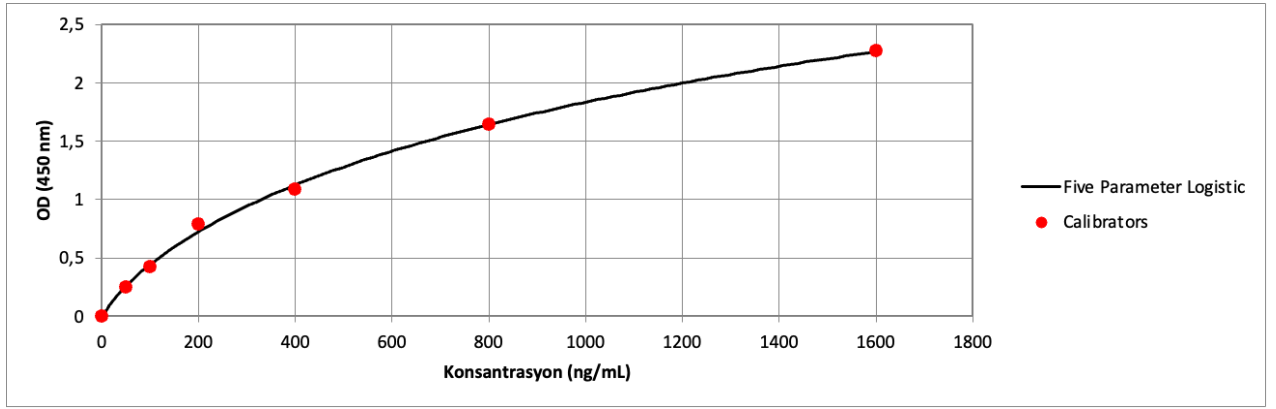
Uygun renk değişimi elde edildikten sonra 50 µL stop solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda okuma gerçekleştirildi. Standartların absorbans değerleri kullanılarak beş parametrelili lojistik regresyon ile çizilen standart eğrisinden numune konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.3) (Gottschalk & Dunn, 2005a, 2005b).



A

$$y = 2.807895 + (0.001382544 - 2.807895)/(1 + (x/102903900)^{0.8270984})^{14482.28}$$

$$R^2 = 0,9998$$



B

$$y = 187029.8 + (-0.00458891 - 187029.8)/(1 + (x/322.8616)^{0.8482312})^{0.000007661009}$$

$$R^2 = 0,9987$$

Şekil 3.8 HIF-3α konsantrasyon- absorbans standart eğrileri

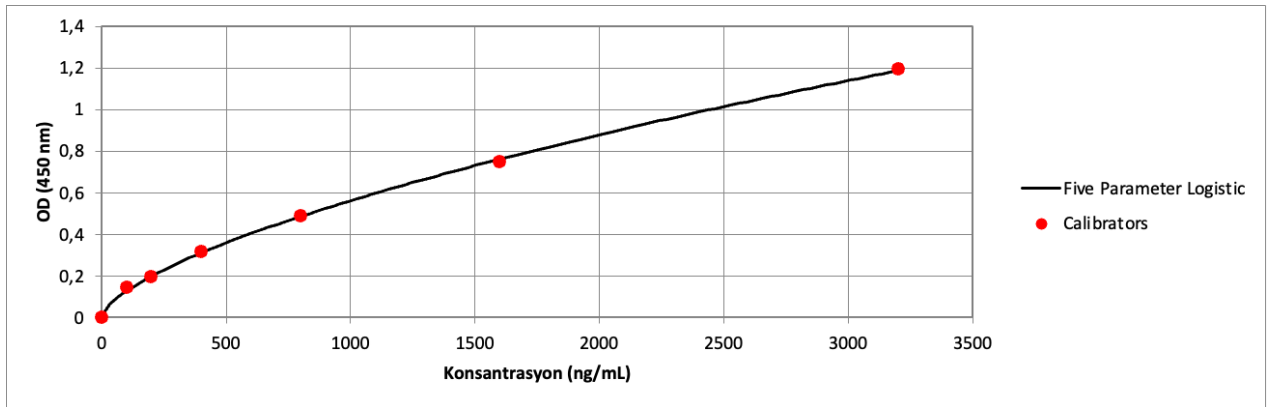
(A: 1.plate, B: 2. plate)

3.2.4 Serum VHL Protein Düzeyinin Ölçümü

VHL protein düzeyi Bioassay Technology Laboratory marka (Katalog no: E4763Hu) Human VHL ELİSA kiti kullanılarak analiz edildi. CV değerleri çalışma içi <math>< 8\%</math>, çalışmalar arası <math>< 10\%</math> olarak verilen kitin alt ölçüm limiti 15 ng/L idi.

Çalışma ELİSA kitinin prospektüsü dikkate alınarak gerçekleştirildi. Standart solüsyona standart dilüent eklenerek sonra seri dilüsyon ile farklı konsantrasyonlarda standartlar elde edildi. 50 µL standart ve 40 µL hasta numuneleri plate kuyucuklarına konuldu. Hasta kuyucuklarına 10 µL biyotinle işaretlenmiş antikor eklendi. Blank dışında tüm

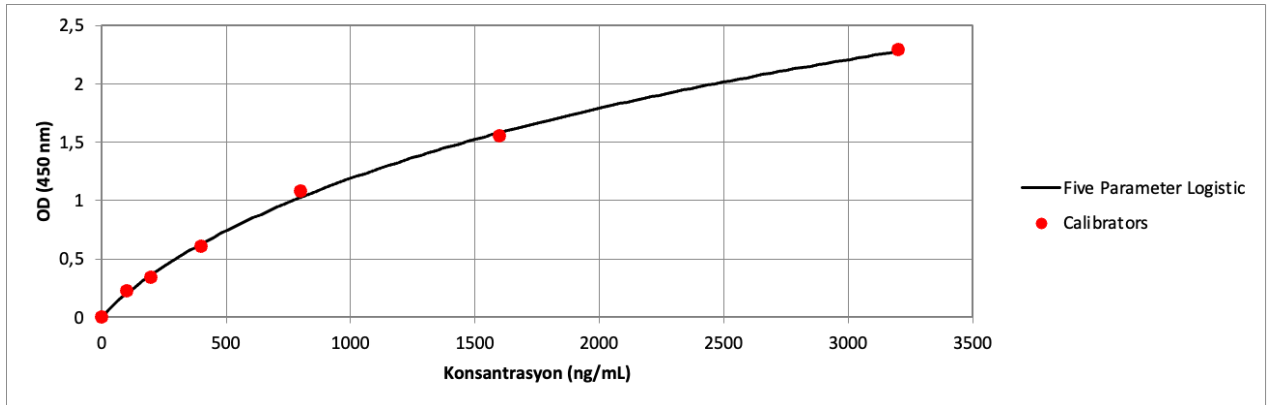
kuyucuklara 50 µL HRP (Horseradish peroksidaz) -streptavidin konjugat eklendi. 37°C’ de 60 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında 3 kere 300 µL yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı. Bütün kuyucuklara 50 µL Substrat solüsyon A ve 50 µL Substrat solüsyon B eklendi. 10 dakika karanlık ortamda 37°C’ de inkübe edildi. Uygun renk değişimi elde edildikten sonra 50 µL stop solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda okuma gerçekleştirildi. Standartların absorbans değerleri kullanılarak beş parametrelili lojistik regresyon ile çizilen standart eğrisinden numune konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 3.4) (Gottschalk & Dunn, 2005a, 2005b).



A

$$y = 7746.393 + (0.008068306 - 7746.393)/(1 + (x/130365.5)^{0.6682428})^{0.00188935}$$

$$R^2 = 0,9995$$



B

$$y = 134141 + (0.002231644 - 134141)/(1 + (x/850.8647)^{0.917557})^{0.00001150154}$$

$$R^2 = 0,9986$$

Şekil 3.9. VHL konsantrasyon- absorbans standart eğrileri

(A: 1.plate, B: 2. plate)

3.2.5 SNP Analizleri

DNA izolasyon işlemi boyunca pıhtılaşmamış kan örneklerinin kullanılması sağlanmış, örneklerin homojen karışması amacıyla tüpler vortekslenmiştir. İzolasyon adımları aşağıdaki şekilde uygulanmıştır:

Her bir örnekten 200 µL tam kan, Eppendorf tüpüne aktarılmış ve üzerine 200 µL Buffer BB ilave edilmiştir. Ardından 20 µL Proteinaz K eklenmiş ve tüp homojen hale getirilmek üzere vortekslenmiştir. Karışım, önceden 65 °C'ye ısıtılmış hot plate üzerinde 10 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda karışıma 200 µL %96–100'lük etanol eklenmiş, karışım pipetajla homojenize edildikten sonra spin kolonlara aktarılmıştır. Kolonlar, 5.000 × g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Süzüntü atılarak yıkama işlemine geçilmiştir. Yıkama aşamasında, spin kolona 500 µL Wash Buffer 1 eklenerek 5.000 × g'de 1 dakika ilk yıkama uygulanmıştır. Ardından, 500 µL Wash Buffer 2 eklenmiş ve aynı şekilde 5.000 × g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Son yıkama ve kurutma adımı için kolona yeniden 500 µL Wash Buffer 2 eklenmiş ve bu kez 14.000 × g'de 3 dakika santrifüj uygulanmıştır. Son olarak kolona 100 µL Elution Buffer eklenmiş, tüp oda sıcaklığında 2–3 dakika inkübasyon sonrasında 5.000 × g'de 1 dakika santrifüj edilerek saf DNA eldesi tamamlanmıştır.

Çalışma kapsamında HIF1A ve HIF2A gen bölgesi için Nükleotid Veri Tabanı Kodları bilinen SNP oligonükleotid tasarımları real-time PCR cihazında çalışılmıştır.

Çalışma kapsamında sentezleri yaptırılan liyofilize primerler, 100 µM stok çözelti olacak şekilde nükleaz içermeyen saf su (nuclease-free dH₂O) ile çözülmüştür. Gerçek zamanlı PCR (Real-Time PCR) reaksiyonları, TaqProbe 2X qPCR MasterMix - No Dye (ABM, Canada) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 20 µL'lik reaksiyon karışımı şu şekilde hazırlanmıştır: 1X TaqProbe 2X qPCR MasterMix, 0.3 µM forward primer (10 µM stoktan), 0.3 µM reverse primer (10 µM stoktan), 0.1 µM probe (10 µM stoktan), 3 µL DNA örneği ve 3.5 µL nükleaz içermeyen saf su. Amplifikasyon işlemi, 8'li strip tüpler kullanılarak 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA) cihazında yürütülmüştür. PCR protokolü şu şekilde uygulanmıştır: İlk denatürasyon 95 °C'de 5 dakika, ardından 40 döngü boyunca 95 °C'de 10 saniye, 60 °C'de 30 saniye (fluoresans okuma) ve 72 °C'de 5 saniyelik uzama basamağı. PCR sonucunda elde edilen veriler, allel-spesifik problemlerden elde edilen floresan sinyaller temel alınarak değerlendirilmiştir.

3.2.6 Diğer Analizler

Tam kan sayımı, Sysmex XN-1000 Hematoloji Analizörü (Sysmex Corporation, Kobe, Japonya) ile; HbA1c düzeyleri Premier Hb9210 Otoanalizörü (Trinity Biotech, Bray, İrlanda) kullanılarak çalışıldı.

Serum örneklerinde trigliserit, total kolesterol, HDL, LDL, CRP, glukoz, üre, kreatinin, ürik asit, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, total protein, albumin, total direkt ve indirekt bilirubinler, ALT, AST testleri Roche Cobas® 8000 modüler analiz sistemi içinde yer alan Cobas c702 biyokimya modülü (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) ile Roche firmasına ait ticari kit, kalibrasyon ve kontroller kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile çalışıldı.

Serum örneklerinde, yüksek duyarlıklı kardiyak troponin T, NT pro BNP, TSH aynı analiz sistemine entegre Cobas e801 elektro-kemilüminesans immunoassay modülü (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) kullanılarak, üretici firmanın orijinal kit, kalibrasyon ve kontrol materyalleriyle elektrokemilüminesans immün analiz (ECLIA) yöntemiyle ölçülmüştür.

3.3 Veri Analizi-İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel analiz SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) v26.0, Graphpad Prism v8, Jamovi v2.3.28 paket programları kullanılarak yapılmıştır.

Tanımlayıcı değerler sayı (n), yüzde (%), ortalama (ort.), standart sapma (SS), ortanca, minimum ve maksimum olarak belirtilmiştir. Normal dağılıma uygun parametrelerde ortalama \pm standart sapma, normal dağılım göstermeyen parametrelerde ortanca (çeyrekler açıklığı) değer olarak merkezi eğilim ve dağılım ölçüleri belirtilmiştir.

Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.

Sürekli değişkenler, Shapiro-Wilk testleri ile yapılan normallik değerlendirmesine göre Bağımsız Örneklem T Testi ve Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır.

Kontrol grubundaki genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesi (HWE) açısından Ki-kare testi ile değerlendirildi. Hasta ve kontrol gruplarının allelik ve genotip frekansları Ki-kare ile karşılaştırıldı, allelik ve dominant modeller için odds oranları ve %95 güven aralıkları hesaplandı.

Değişkenler arasındaki ilişki Spearman Korelasyon Testi ile değerlendirilmiştir. Korelasyon katsayısına göre ilişki durumu Tablo 3.2' de belirtildiği gibi değerlendirilmiştir (Selvanathan et al., 2020).

Tablo 3.2. Korelasyon katsayısı ve ilişki durumları

Korelasyon Katsayısı	İlişki Durumu
$0 < r \leq 0,19$	Çok zayıf ilişki
$0,2 \leq r \leq 0,39$	Zayıf ilişki
$0,4 \leq r \leq 0,59$	Orta ilişki
$0,6 \leq r \leq 0,79$	Güçlü ilişki
$0,8 \leq r \leq 1,0$	Çok güçlü ilişki

Analiz edilen değişkenlere göre ROC analizi ve eğri altında kalan alan (AUC) hesaplanarak Youden indeksine göre seçilen kesme değerler için sensitivite ve spesifisite

değerleri belirlenmiştir.

Yapılan tüm testler için iki kuyruklu istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4 BULGULAR

Çalışmaya pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) hastası 71 kişi ve kontrol grubu olarak sağlıklı 93 kişi katılmıştır.

Kontrol grubunun yaş ortalaması $46 \pm 10,5$ iken PAH grubunun yaş ortalaması $50 \pm 19,5$, olarak bulunmuştur (Tablo 4.1). Kontrol grubu ve PAH grubu arasında cinsiyet dağılımları Tablo 4.2’de gösterilmiştir. PAH grubunun %74,6 ’sı kadın, %25,4’ ü erkek cinsiyettedir. Yaş ve cinsiyetle ilgili kontrol grubu ve hasta grubu arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,07$ ve $p=0,825$). Hasta grubumuz yaş ve cinsiyet dağılımı açısından literatürle uyumlu bulunmuştur (American Thoracic Society, 2020; DesJardin et al., 2024).

Tablo 4.1. Çalışma gruplarındaki bireylerin yaşlarının değerlendirilmesi

GRUPLAR	YAŞ	
	Ortalama \pm SS	Ortanca (25- 75. persentil)
Kontrol grubu (n=93)	$46 \pm 10,5$	47 (39,5- 55)
PAH grubu (n=71)	$50 \pm 19,5$	55 (30-67)
p: 0,07 ^a		

PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, SS: standart sapma, p=anlamlılık düzeyi, ^a Mann-Whitney U testi

Tablo 4.2. Çalışma gruplarındaki bireylerin cinsiyetlerinin dağılımı

	Kontrol grubu (n=93)	PAH grubu (n=71)	Toplam (N=164)	p değeri
Cinsiyet				0,825 ^a
Kadın	68 (%73,1)	53 (%74,6)	121 (%73,8)	
Erkek	25 (%26,9)	18 (%25,4)	43 (%26,2)	

PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, p=anlamlılık düzeyi, ^a: Pearson ki kare testi,

PAH grubundaki hastaların demografik özellik ve klinik değerlendirmesine ait veriler Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. PAH grubuna ait demografik özellikler ve klinik değerlendirmeye ait sonuçlar

Boy	161 ± 6,99
Kilo	74,6 ± 17,5
Vücut Yüzey Alanı (m ²)	1,81 ± 0,24
DM varlığı	n= 13 (% 18)
Tip1 PAH sınıfı	n=71 (Toplam)
İdiyopatik:	n= 41 (%57,7)
İlaçlara ve toksinlere bağlı:	n= 1 (% 1,4)
Bağ Dokusu Hastalığı ile ilişkili:	n= 7 (% 9,86)
Doğuştan Kalp Hastalığı ile ilişkili:	n= 22 (% 31)
DSÖ fonksiyonel kapasite sınıfı	n=71 (Toplam)
1:	n= 26 (% 36,6)
2:	n= 19 (% 26,8)
3:	n= 18 (% 25,4)
4:	n= 8 (% 11,2)
6 Dakika Yürüme Testi- Mesafe (m)	330 (150- 435)
Test Öncesi Kalp Hızı (/dk)	83,1± 18
Test Öncesi Oksijen Saturasyon (%)	93 (88,5- 95)
Test Sonrası Kalp Hızı (/dk)	99,2 ± 22,7
Test Sonrası Oksijen Saturasyon (%)	92,5 (84-96)
İlaç kullanımı	
Tek grup kullanan: %32,4 (n= 23)	Fosfodiesteraz inh.: n=46
İki grup kullanan: %45 (n=32)	Endotelin reseptör ant.: n=49
Üç grup kullanan: %11,3 (n=8)	sGC stimülatörü: n=4
Dört grup kullanan: %1,4 (n=1)	Prostosiklin analogu/reseptör
İlaç kullanmayan: %9,9 (n=7)	agonisti: n=6
	Kalsiyum kanal blokörü: n=10

PAH sınıflarına göre hastaların idiyopatik (%57,7), ilaçlara ve toksinlere bağlı (% 1,4), bağ dokusu hastalığı ile ilişkili (% 9,86) ve doğuştan kalp hastalığı ile ilişkili (% 31) olduğu görülmüştür. Bağ dokusu ile ilişkili PAH hastalarından 6 kişi skleroderma, 1 kişi sistemik lupus eritematosus tanılıdır. PAH hastalarının tiplerine göre HİF-1 α , HİF-2 α , HİF-3 α ve VHL seviyeleri Tablo 4.12’de verilmiştir.

PAH grubunun %36,6’sı DSÖ fonksiyonel kapasite sınıflamasına göre sınıf 1, %26,8’i sınıf 2, %25,4’ü sınıf 3, %11,2’ si sınıf 4 olarak sınıflandırılmıştır.

PAH grubunun 6 dakika yürüme testi sonuçlarına göre yürüme mesafesi 330 (150-435) metre olarak bulunmuştur. Test sonuçlarına göre test öncesi kalp hızı $83,1 \pm 18$ /dk, test öncesi oksijen saturasyon %93 (88,5- 95), test sonrası kalp hızı $99,2 \pm 22,7$ /dk test sonrası oksijen saturasyon %92,5 (84-96) olarak bulunmuştur.

PAH grubunda tek grup ilaç kullananlar %32,4 (n= 23), iki grup ilaç kullananlar %45 (n=32), üç grup ilaç kullanan hastalar %11,3 (n=8), dört grup ilaç kullanan hastalar %1,4 (n=1) ve ilaç kullanmayan hastalar %9,9 (n=7) olarak belirlenmiştir.

PAH grubunda PAH spesifik ilaç kullanmayan 7 kişi mevcut olup bunların 2 tanesi myasthenia gravis tanısı bulunması ve ilaç kullanımıyla beraber hastalık semptomlarının ilerlemesi sebebiyle kullanmamaktadır. 5 kişide ise atrial septal defekt bulunmakta olup ölçülen PVR’lerinin 2-3 arasında olması sebebiyle kapatma işlemi uygulanmış ve hastalar ilaç başlanmadan takibe alınmıştır.

PAH grubundaki hastaların kullandıkları ilaç sınıfları fosfodiesteraz inhibitörü (n=46), endotelin reseptör antagonisti (n=49), NO sentetaz (n=4), Prostosiklin analogu (n=6), kalsiyum kanal blokörü (n=10) olarak belirlenmiştir.

10 kişi fosfodiesteraz inhibitörü, 10 kişi endotelin reseptör antagonisti, 1 kişi prostosiklin analogu grubu, 2 kişi kalsiyum kanal blokörü olmak üzere tek grup ilaç kullanmaktadır.

İkili ilaç kullanan hastalardan 2 kişi fosfodiesteraz inhibitörü+CCB, 26 kişi

fosfodiesteraz inhibitörü+ endotelin reseptör antagonisti, 3 kişi endotelin reseptör antagonisti+ sGC stimülatörü, 1 kişi endotelin reseptör antagonisti + prostosiklin analogu/reseptör agonisti kullanmaktadır.

3 grup ilaç kullanan hastaların 5'i fosfodiesteraz inhibitörü+ endotelin reseptör antagonisti + kalsiyum kanal blokörü, 3'ü fosfodiesteraz inhibitörü+ endotelin reseptör antagonisti+ prostosiklin analogu/reseptör agonisti grubu ilaç kullanmaktadır. 1 kişi fosfodiesteraz inhibitörü+ endotelin reseptör antagonisti+ prostosiklin analogu/reseptör agonisti + kalsiyum kanal blokörü olmak üzere dört grup ilaç kullanmaktadır.

PAH grubundaki hastaların sağ kalp kateterizasyonu ile elde edilen ve hesaplanan değerler Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. PAH grubundaki hastaların sağ kalp kateterizasyon basınç ve saturasyon ölçüm değerleri ve hesaplanan indekslerin sonuçları

	Değer (ortalama \pm SS veya ortanca [25.- 75. persentil])	Minimum-maksimum
Pulmoner Kapiller Kama Basıncı (mmHg)	11,8 \pm 3,82	3-22
Sistolik Pulmoner Arter Basıncı (mmHg)	64 (50-88)	32-153
Ortalama Pulmoner Arter Basıncı (mmHg)	40 (30,8-54)	20-90
Diastolik Pulmoner Arter Basıncı (mmHg)	22,5 (18-34)	5-65
Sistolik Aort Basıncı (mmHg)	140 \pm 27,1	95-200
Ortalama Aort Basıncı (mmHg)	102 \pm 17,9	68-153
Diastolik Aort Basıncı (mmHg)	75,8 \pm 13,7	40-118
Sağ Atriyum Basıncı (mmHg)	10 (7,5-14)	3-27
Aort Oksijen Saturasyonu (%)	88,8 \pm 5,26	76-96
Pulmoner Arter Oksijen Saturasyonu (%)	62,3 \pm 13,5	16-89
İVC Oksijen Saturasyonu (%)	65,6 \pm 11,6	29-86
SVC Oksijen Saturasyonu (%)	61 (58-67,5)	22-88
Miks Venöz Oksijen Saturasyonu (%)	64 (58- 68,3)	14,5- 85,3
Kardiyak Output (L/dk)	4,63 \pm 1,24	2,2-8
Kardiyak İndeks (L/dk/m ²)	2,42 (2,15- 2,66)	1,38- 4,47
Transpulmoner gradient (mmHg)	26 (18,5-40)	13-82
Pulmoner vasküler rezistans (Wood Ünite)	6,08 (3,85- 9,1)	2,19-20,5
Sistemik vasküler rezistans (dyne*sn*cm ⁻⁵)	1507 \pm 503	560- 2880
Pulmoner arter pulsatilite indeksi	4 (3- 6,25)	1,33- 23,3
Kardiyak Power Output (mmHg*L/dk)	0,96 \pm 0,32	0,39- 1,57

İVC:İnferior Vena Cava, SVC: Superior Vena Cava

PAH grubundaki hastaların ekokardiyografi ile elde edilen ve hesaplanan değerleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5. PAH grubunun ekokardiyografi tetkik sonuçları

	Değer (ortalama ± SS veya ortanca [25.- 75. persentil])	Minimum- maksimum
Ejeksiyon fraksiyonu (EF) (%)	60 (60-60)	42-60
Sol ventrikül end-diyastolik çapı (LVEDD) (mm)	45,6 ±7,09	23-71
Sol ventrikül end-sistolik çapı (LVESD) (mm)	25,5 ± 5,54	11-44
Asendan aorta çapı (mm)	32,4± 6,2	20-48
Sol atriyum çapı (mm)	39±6,36	26-52
Pulmoner arter pulsed wave (PW) Doppler maksimum hızı (cm/s)	93,9±55	45-410
Triküspit yetmezliği şiddeti (TY)	0: n=1 (% 1,4) 1: n=29 (% 40,8) 2: n=16 (% 22,5) 3: n=20 (% 28,2) 4: n=5 (% 7)	0-4
Sağ atriyum major çapı (mm)	55,4±9,72	38-74
Sağ atriyum minor çapı (mm)	47±9,69	28-72
Sağ atriyum alanı (cm ²)	22,7±7,82	8,5-42,2
Sağ atriyum hacmi (mL)	82,2±43,7	17-211
Sağ atriyum hacim indeksi (RA volume indeks) (mL/m ²)	43,2±21,5	12,2-106
Sağ ventrikül bazal çapı (mm)	46,5±8,15	28-72
Sağ/sol ventrikül çap oranı	1,11±0,3	0,66- 2,19
Mid ventriküler çapı (mm)	38,2±8,11	22-62
Triküspit anülüs çapı (mm)	35,1±5,53	20-47
Sağ ventrikül end-sistolik alanı (cm ²)	15,6±7,24	7,7-43
Sağ ventrikül end-diyastolik alanı (cm ²)	24,7±9,09	6,4-55,8
Sağ ventrikül fraksiyonel alan değişimi (FAC) (%)	37,9±10,7	10-62
Triküspid annüler düzlem sistolik yer değiştirmesi (TAPSE) (mm)	21,1±6,06	10-37
Triküspit diyastolik doku Doppler S' hızı (TDI S') (cm/s)	12,4±3,33	6,5-21

Sağ ventrikül çıkış yolu hız-zaman integrali (RVOT VTI) (cm)	16,3±8,89	6,9-71,4
Sağ ventrikül çıkış yolu akselerasyon zamanı (RVOT Acct) (ms)	115 ± 41,5	14,5-220
RVOT PW Dopplerinde mid sistolik çentiklenme varlığı	n=21 (%29,6)	
İnferior vena kava çapı (IVC) (cm)	1,87±0,57	0,7-3
Kollabilite (%)	52,8±26,3	10-100
Sağ ventrikül sistolik basıncı (RVSP) (mmHg)	55,7± 26,4	18-150
Sağ atriyum basıncı (RAP) (mmHg)	3 (3-15)	3-20
Pulmoner arter sistolik basıncı (PASP) (mmHg)	64,2±29,6	21-170
Triküspit regürjitasyon hızı (TRV) (m/s)	3,6±0,86	2,12-6,12
Sağ ventrikül çıkış yolu parasternal uzun aks (RVOT PLAX) (mm)	37,8±7,27	4-54
Sağ ventrikül çıkış yolu parasternal kısa aks proksimal (RVOT PSAX prox) (mm)	35,2±5,86	24-48
Sağ ventrikül çıkış yolu parasternal kısa aks distal (RVOT PSAX distal) (mm)	29±4,78	20-40
Pulmoner arter çapı (mm)	31,4±5,68	21-48
Ana pulmoner arter/asendan aorta oranı (MPA/asendan aorta)	1,08 (0,88- 1,26)	0,7-2,25
Sol ventrikül eksantrisite indeksi end-sistolik (LVEI end sistolik)	1,32±0,52	0,87-3,85
Sol ventrikül eksantrisite indeksi end-diyastolik (LVEI end diastolik)	1,22±0,28	0,9- 2,03
PW yöntemi ile hesaplanan Miyokard performans indeksi (MPI _{PW})	0,43 (0,29-0,59)	0,08-2,1
TDİ yöntemi ile hesaplanan Miyokard performans indeksi (MPI _{TDI})	0,83±0,36	0,32-1,94
TAPSE/PASP oranı (mm/mmHg)	0,41±0,25	0,09-1,14
Ventriküler septal defekt (VSD) varlığı	n=6 (% 8,45)	
Atriyal septal defekt (ASD)	n=15 (% 21,1)	
Perikardiyal efüzyon varlığı	n=16 (% 22,5)	

Kontrol grubu ve PAH grubunda bulunan hastaların hemogram tetkik sonuçları Tablo 4.6' da verilmiştir. PAH ve kontrol gruplarının hemogram tetkik sonuçlarına göre kontrol grubuna göre ($13,7 \pm 1,67$) hastaların Hb düzeyi ($12,9 \pm 2,21$) anlamlı düşük ($p= 0,0096$) bulunmuştur. Primer pulmoner hipertansiyonlu hasta kohortlarında yüksek oranda demir eksikliği bildirilmiştir (Ruiter et al., 2011).

Kontrol grubuna göre hastaların lenfosit düzeyleri anlamlı düşük ($p<0,0001$) nötrofil değerleri anlamlı yüksek ($p= 0,001$) bulunmuştur. Çalışmamızda PAH hastalarında gözlenen artmış nötrofil ve azalmış lenfosit sayısı, sistemik inflamasyonun sürmekte olduğunu ve hastalık progresyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde Nötrofil/lenfosit oranı ile benzer sonuçlar raporlanmıştır (Bilik et al., 2022; Jutras-Beaudoin et al., 2022; Zinellu & Mangoni, 2024)

Tablo 4.6. PAH ve kontrol gruplarının hemogram tetkik sonuçları

	Kontrol grubu	PAH grubu	p değeri ^a
Hb düzeyi (g/dL)	$13,7 \pm 1,67$	$12,9 \pm 2,21$	0,0096
Eritrosit sayısı (1000/μL)	$4,82 \pm 0,54$	$4,82 \pm 0,88$	0,99
Lökosit sayısı (1000/μL)	$7,2 \pm 1,56$	$7,5 \pm 2,1$	0,294
Lenfosit sayısı (1000/μL)	$2,42 \pm 0,67$	$1,81 \pm 0,71$	<0,0001
Nötrofil sayısı (1000/μL)	$4,07 \pm 1,19$	$4,9 \pm 1,89$	0,001
Trombosit sayısı (1000/μL)	$275 \pm 68,8$	$240 \pm 67,3$	0,0016

PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, Hb: Hemogloblin, ^a: Bağımsız Örneklem T Testi, p=anlamlılık düzeyi

Kontrol grubu ve PAH grubunda bulunan hastaların lipit profili sonuçları Tablo 4.7’de verilmiştir. Çalışmamızda kontrol grubuna göre hastaların total kolesterol ve LDL değerleri anlamlı düşük ($p < 0,0001$) bulunmuştur. Kronik inflamasyonun tetiklediği metabolizma ve beslenme bozuklukları, LDL ve total kolesterol düşüklüğüne yol açabilir. PAH hastalarında LDL-C seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük olduğu; bu düşüklüğün artmış mortalite riskiyle bağlantılı bulunduğu raporlanmıştır (HR:0.44/1 mmol/l, 95% CI:0.26-0.74, $p = 0.002$) (Kopeć et al., 2017).

Tablo 4.7. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının lipit profili değerleri

	Kontrol grubu	PAH grubu	p değeri^a
Trigliserit (mg/dL)	132 ± 78,3	118 ± 63,5	0,22
Total kolesterol (mg/dL)	194 ± 34,5	161 ± 42,8	<0,0001
HDL (mg/dL)	52,1 ± 12,4	48,5 ± 13,3	0,09
LDL (mg/dL)	116 ± 28,5	89,5 ± 34,8	<0,0001

PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein, LDL: düşük yoğunluklu lipoprotein, ^a: Bağımsız Örneklem T Testi, p=anlamlılık düzeyi

Kontrol grubu ve PAH grubunda bulunan hastaların serum elektrolit, protein seviyeleri Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum elektrolit ve protein değerleri

	Kontrol grubu	PAH grubu	p değeri
Sodyum (mmol/L)	140 ± 1,93	138 ± 3,18	0,0051 ^a
Potasyum (mmol/L)	4,37 ± 0,33	4,43 ± 0,54	0,46 ^a
Kalsiyum (mg/dL)	9,36 ± 0,35	9,22 ± 0,54	0,07 ^a
Magnezyum (mg/dL)	53,6 (43,6- 61,4)	46,2 (38,3- 57,1)	0,1 ^b
Total protein (g/L)	70,7 ± 3,97	69,4 ± 6,15	0,2 ^a
Albümin (g/L)	45,2 (42,9- 46,9)	42 (40,3- 44,3)	<0,0001 ^b
ALT (U/L)	17,9 ± 10,4	15,4 ± 12,2	0,18 ^a
AST (U/L)	17,1 ± 4,92	18,7 ± 7,48	0,11 ^a

PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, ^a : Bağımsız Örneklem T Testi, ^b : Mann-Whitney U testi, p=anlamlılık düzeyi

Kontrol grubu ve PAH grubunda bulunan hastaların diğer biyokimyasal tetkik sonuçları Tablo 4.9 ve immünanaliz tetkik sonuçları Tablo 4.10'da verilmiştir. Çalışmamızda PAH hastalarında albümin seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı düşüklüğü (42 vs 45,2, p < 0,0001) gözlemlenmiştir. Literatürde serum albüminin PAH'ta hem inflamasyonun hem de malnütrisyonun yansıması olarak değerlendirildiği ve düşük seviyelerinin artmış mortalite riski ile bağımsız şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin, 273 PAH hastasında yapılan bir analizde düşük albümin düzeyi, hayatta kalma süresinde belirgin düşüşle ilişkilendirilmiştir (Jentzer et al., 2015). Bu nedenle, albümin seviyesi fonksiyonel durum, inflamasyon düzeyi

ve hemodinamik stresi değerlendiren çok y6nl6 bir biyobelirteç olarak kullanılabilir.

Çalışmamızda PAH hastalarında 6re, kreatinin, 6rik asit ve direkt bilirubin seviyelerinin kontrol grubuna g6re anlamlı y6ksek bulunması, hastalığın sistemik etkisinin g6l6 g6stergesidir. Literat6rde, d6ř6k kardiyak debi ile renal perf6zyonun azalması 6re ve kreatinin artışıyla; hepatik konjesyon da direkt bilirubin y6kselişiyle ilişkili olarak tanımlanmıştır (Cerik et al., 2022; Correale et al., 2024; Hojda et al., 2022; W. Li et al., 2018; Luo et al., 2023; Raju & Ravindranath, 2021; Rosenkranz et al., 2020; Savale et al., 2021; Takeda et al., 2010; Watanabe et al., 2021) 6rik asit artışı oksidatif stres, hipoksi ve vask6ler yeniden şekillenme g6stergesi olup, PAH' da artan mortalite riskiyle g6l6 şekilde bağlantılıdır. Bu parametreler hem hastalığın hemodinamik şiddeti hem de organ disfonksiyonunun yansıması olarak kullanılabilir; klinikte izlem ve prognostik değerlendirme için 6nemli biyobelirteçler sunar.

Çalışmamızda PAH hastalarında hs-cTnT d6zeylerinin kontrol grubuna g6re anlamlı y6ksek (10,8 (6,81- 21,3) vs. 3 (3- 3,64)), $p < 0,0001$ bulunması, mevcut literat6r ile uyumludur. Kardiyak troponinlerin y6kselmesi, sağ ventrik6l duvar stresinin, miyosit hasarının ve sağ kalp yetmezliğinin biyokimyasal g6stergesi olarak kabul edilmektedir. Troponin y6ksekligi, PAH hastalarında artmış mortalite ve k6t6 prognozla ilişkili bulunmuştur (Heresi et al., 2012; Roy et al., 2014).

Tablo 4.9. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının diğer biyokimyasal tetkik sonuçları

	Kontrol grubu	PAH grubu	p değeri
Üre (mg/dL)	26,7 ± 6,66	43,2 ± 26,2	<0,0001 ^a
Kreatinin (mg/dL)	0,80 ± 0,15	0,97 ± 0,45	0,0018 ^a
Ürik asit (mg/dL)	4,86 ± 1,10	5,98 ± 2,06	0,0003 ^a
Total bilirubin (mg/dL)	0,39 (0,3- 0,56)	0,48 (0,32- 0,77)	0,08 ^b
Direkt bilirubin (mg/dL)	0,18 ± 0,07	0,25 ± 0,16	0,0065 ^a
İndirekt bilirubin (mg/dL)	0,23 (0,14- 0,33)	0,27 (0,17- 0,41)	0,2 ^b
CRP (mg/L)	1,47 (0,7- 2,45)	3,65 (1,74- 6,31)	<0,0001 ^b
Açlık glukoz (mg/dL)	91,7 (86,7- 98,9)	92,9 (81,9- 109)	0,53 ^b
HbA1c (%)	5,45 (5,3- 5,8)	5,8 (5,4- 6,38)	0,0034 ^b

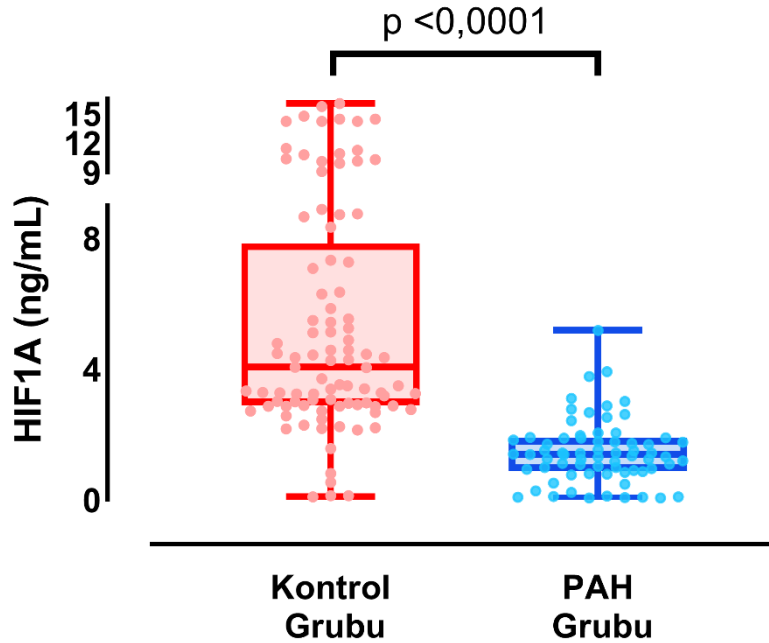
PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, CRP: C Reaktif Protein, ^a : Bağımsız Örneklem T Testi, ^b : Mann-Whitney U testi, p=anlamlılık düzeyi

Tablo 4.10. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının immün analiz ölçüm sonuçları

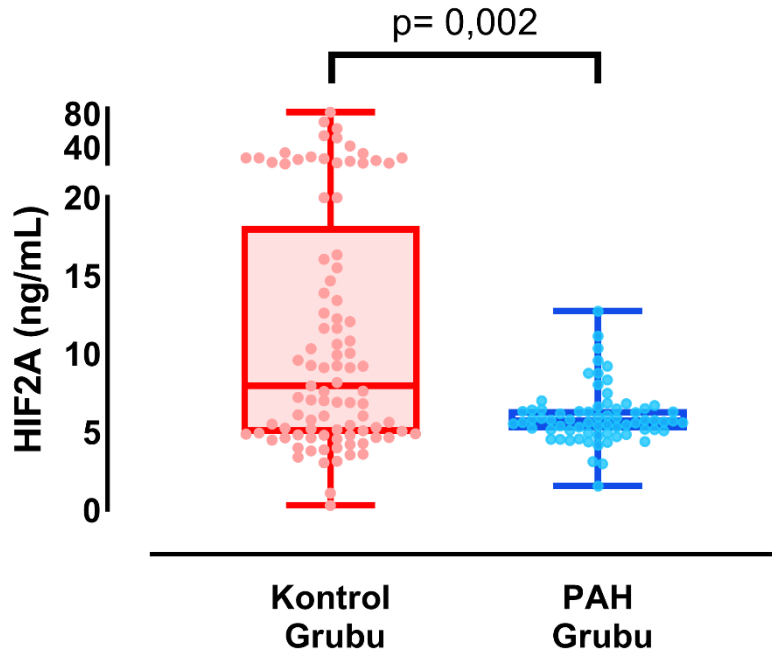
	Kontrol grubu	PAH grubu	p değeri
NT pro BNP (pg/mL)	-	553 (171-1974)	
hs-cTnT (ng/L)	3 (3- 3,64)	10,8 (6,81- 21,3)	<0,0001 ^b
TSH (mU/L)	1,95 ± 0,94	2,13 ± 1,57	0,42 ^a
Serbest T4 (pmol/L)	1,37 ± 1,36	1,33 ± 0,25	0,82 ^a

PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, NT pro BNP: N terminal pro B-tipi natriüretik peptit, hs-cTnT: Yüksek duyarlılıklı kardiyak troponin T, ^a : Bağımsız Örneklem T Testi, ^b : Mann-Whitney U testi, p=anlamlılık düzeyi

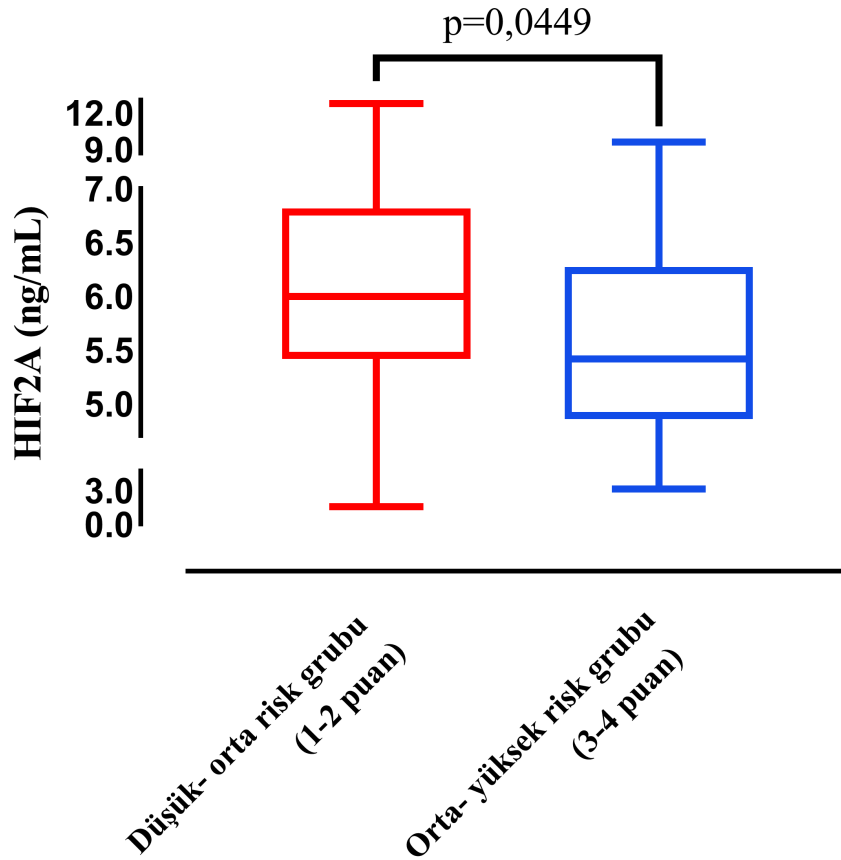
Kontrol grubu ve PAH grubunda bulunan hastaların HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL protein seviyeleri sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te ve toplu halde Tablo 4.11'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum HIF-1 α seviyeleri

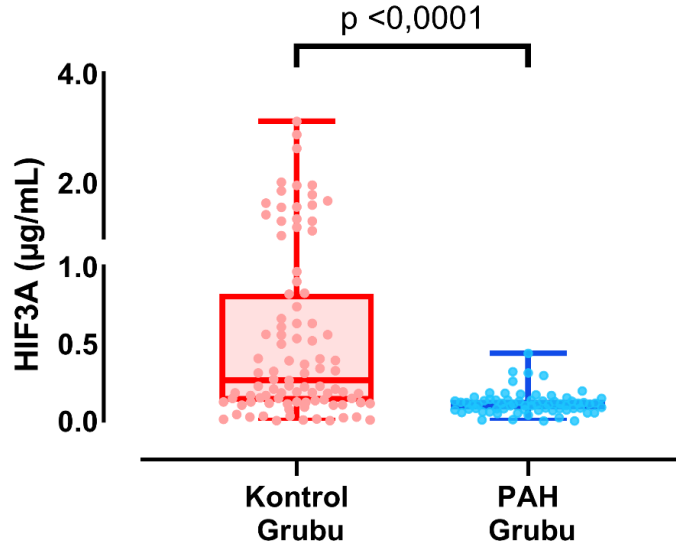


Şekil 4.2. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum HIF-2α seviyeleri

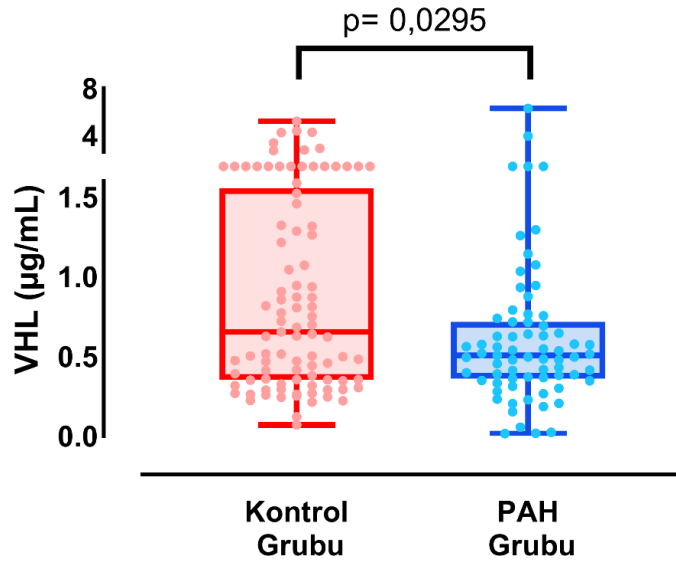


Şekil 4.3. PAH 4 Katmanlı Risk Değerlendirmesine göre hastaların HIF-2α sonuçları

PAH 4 Katmanlı Risk Değerlendirmesine göre 1-2 puan alan hastalar düşük-orta risk, 3-4 puan alan hastalar orta-yüksek risk olarak sınıflandırıldığında riski düşük olan grubun HIF-2 α seviyesi (6 (5,42- 6,82)) ile riski yüksek olan grubun HIF-2 α seviyesi (5,42 (4,86-6,27)) arasında anlamlı farklılık olduğu (p=0,0449) görülmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.4. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum HIF-3 α seviyeleri



Şekil 4.5. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum VHL seviyeleri

Tablo 4.11. Kontrol Grubu ve PAH hastalarının serum HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL seviyeleri

	HIF-1α (ng/mL)	HIF-2α (ng/mL)	HIF-3α (ng/mL)	VHL (ng/mL)
Kontrol grubu (n=93)	4,06 (2,89-7,84)	7,95 (4,87- 18,2)	264 (124- 825)	654 (352- 1555)
PAH grubu (n=71)	1,39 (0,9-1,9)	5,73 (5,09- 6,5)	109 (73,2-141)	506 (361- 716)
p^a	<0,0001	0,002	<0,0001	0,0295

PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, ^a: Mann Whitney U Testi, p=anlamlılık düzeyi, HIF-1 α : Hipoksi indüklenbilir Faktör 1 α , HIF-2 α : Hipoksi indüklenbilir Faktör 2 α , HIF-3 α : Hipoksi indüklenbilir Faktör 3 α , VHL: Von Hippel–Lindau tümör baskılayıcı protein, p=anlamlılık düzeyi

Tablo 4.12. PAH hastalarının tiplerine göre HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL seviyeleri

	HIF-1α (ng/mL)	HIF-2α (ng/mL)	HIF-3α (ng/mL)	VHL (ng/mL)
İdiyopatik PAH (n=41)	1,39 (0,99-1,9)	5,73 (5-6,6)	109 (72,9-153)	515 (373-821)
Konjenital Kalp Hastalığı ilişkili (n= 22)	1,38 (0,83-1,89)	5,65 (5,07-6,2)	93 (69,4-118)	495 (365-640)
Bağ Doku Hastalığı İlişkili PAH (n=7)	1,70 (0,23-2,67)	6,60 (5,59-7)	130 (120-165)	572 (204-646)
p^a	0,647	0,129	0,115	0,350

PAH: Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon, ^a: Kruskal-Wallis Testi, p=anlamlılık düzeyi, HIF-1 α : Hipoksi indüklenbilir Faktör 1 α , HIF-2 α : Hipoksi indüklenbilir Faktör 2 α , HIF-3 α : Hipoksi indüklenbilir Faktör 3 α , VHL: Von Hippel–Lindau tümör baskılayıcı protein, p=anlamlılık düzeyi

Tablo 4.13. Biyokimyasal parametrelere ait korelasyon sonuçları

		HİF-1α	HİF-2α	HİF-3α	VHL	NT pro BNP	hs-cTnT	Yaş
HİF-1α	Korelasyon Katsayısı	.	.644**	.745**	.588**	-0,089	-.399**	-.182*
	p	.	0,000	0,000	0,000	0,459	0,010	0,019
HİF-2α	Korelasyon Katsayısı	.	.	.753**	.793**	-0,070	-0,169	-0,137
	p	.	.	0,000	0,000	0,562	0,291	0,081
HİF-3α	Korelasyon Katsayısı738**	-0,027	-0,102	-0,063
	p	.	.	.	0,000	0,823	0,524	0,425
VHL	Korelasyon Katsayısı	0,019	-0,190	-.157*
	p	0,872	0,235	0,045

		Glukoz	HBA1C	Total Kolesterol	Trigliserit	LDL	HDL	CRP
HİF-1α	Korelasyon Katsayısı	-0,012	-0,173	.308**	-0,072	.315**	.184*	-.263**
	p	0,888	0,068	0,000	0,397	0,000	0,029	0,007
HİF-2α	Korelasyon Katsayısı	0,011	-0,065	0,052	-.200*	0,047	.228**	-0,158
	p	0,893	0,498	0,538	0,018	0,581	0,006	0,110
HİF-3α	Korelasyon Katsayısı	0,083	-0,144	.248**	-0,016	.212*	.244**	-.242*
	p	0,325	0,129	0,003	0,846	0,012	0,003	0,013
VHL	Korelasyon Katsayısı	-0,003	-0,054	0,129	-0,071	0,089	.207*	-.202*
	p	0,967	0,570	0,128	0,399	0,295	0,014	0,039

		Ca	K	Na	Total Protein	Albumin	ALT	AST
HİF-1α	Korelasyon Katsayısı	0,027	-0,071	0,030	-0,003	.192*	.219**	0,023
	p	0,750	0,400	0,723	0,978	0,039	0,008	0,784
HİF-2α	Korelasyon Katsayısı	-0,005	-0,108	-0,083	-0,127	0,011	0,163	0,086
	p	0,952	0,198	0,322	0,179	0,909	0,050	0,305
HİF-3α	Korelasyon Katsayısı	0,028	-0,100	-0,012	-0,018	0,016	.174*	0,004
	p	0,743	0,235	0,887	0,849	0,867	0,036	0,964
VHL	Korelasyon Katsayısı	0,039	-0,030	-0,081	-0,057	0,008	.203*	0,052
	p	0,649	0,721	0,333	0,550	0,931	0,014	0,536

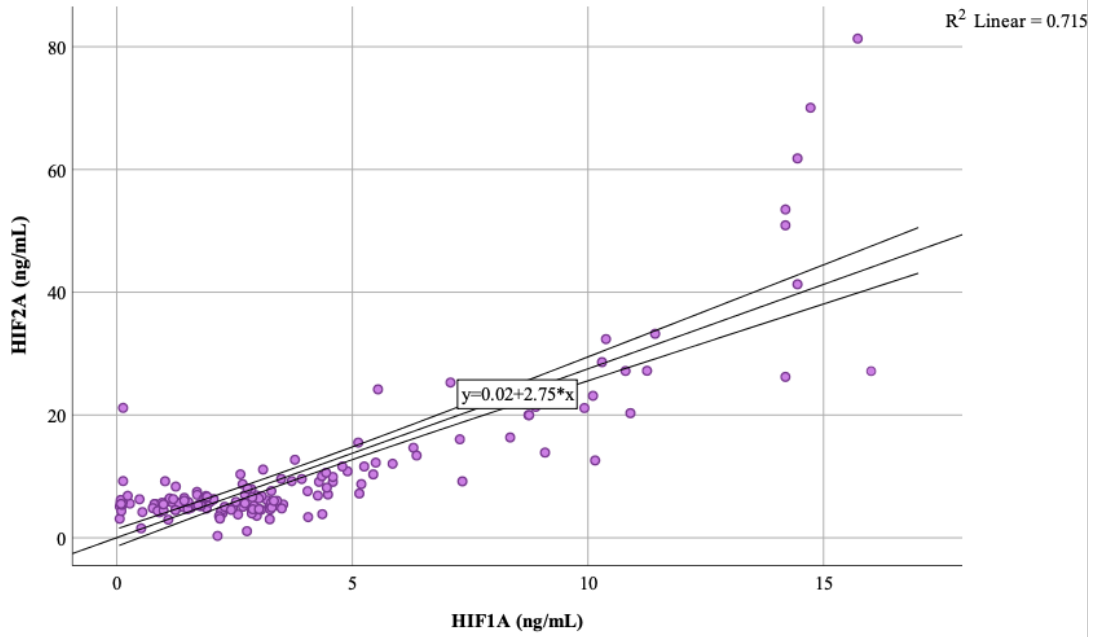
		Total bilirubin	Direkt bilirubin	İndirekt bilirubin	Üre	Kreatinin	Ürik asit	TSH
HİF-1α	Korelasyon Katsayısı	-0,132	-0,144	-0,126	-.391**	-.229**	-.210*	0,041
	p	0,177	0,147	0,204	0,000	0,005	0,018	0,632
HİF-2α	Korelasyon Katsayısı	-0,037	-0,045	-0,085	-.275**	-.191*	-.208*	-0,013
	p	0,709	0,653	0,391	0,001	0,020	0,020	0,880
HİF-3α	Korelasyon Katsayısı	-0,125	-0,144	-0,173	-.279**	-.208*	-0,110	-0,035
	p	0,203	0,147	0,080	0,001	0,011	0,221	0,688
VHL	Korelasyon Katsayısı	-0,032	-0,073	-0,061	-0,144	-0,056	-0,081	0,105
	p	0,741	0,462	0,539	0,080	0,498	0,370	0,224

p=anlamlılık düzeyi

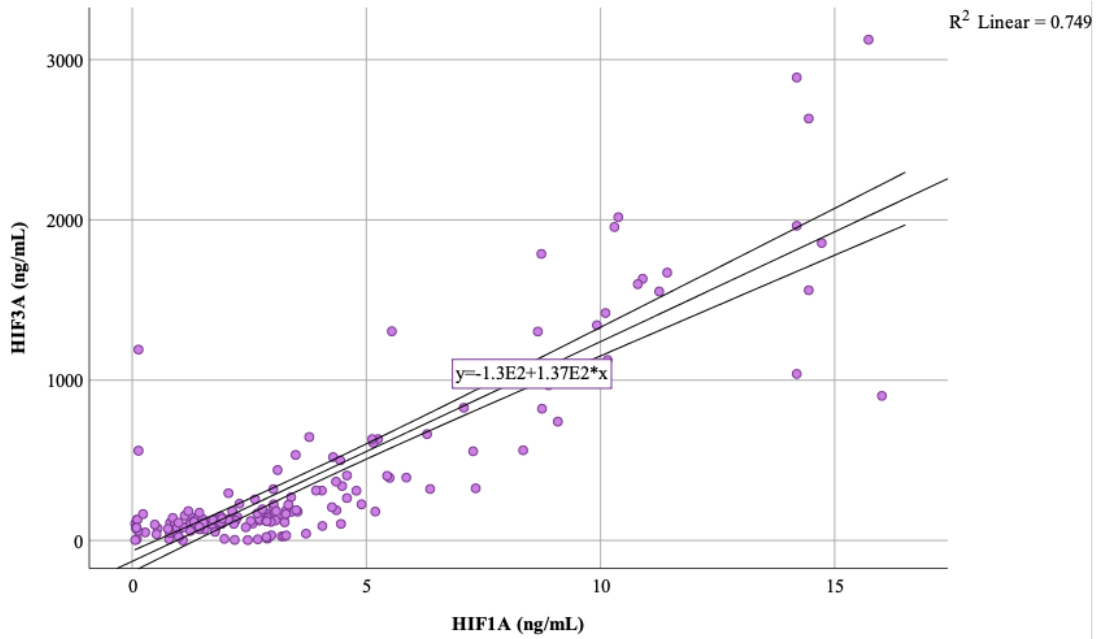
Spearman Korelasyon Testi ile

- HİF-1 α ile HİF-2 α ve HİF-3 α arasında güçlü, VHL ile orta düzey, total kolesterol, LDL, ALT, düzeyleri arasında pozitif anlamlı zayıf korelasyon, hs-cTnT, üre, kreatinin, ürik asit, CRP ile anlamlı ters yönlü zayıf korelasyon,
- HİF-2 α ile HİF-1 α , HİF-3 α ve VHL ile güçlü, HDL ile anlamlı zayıf pozitif korelasyon trigliserit, üre, ürik asit ile anlamlı ters yönlü zayıf korelasyon,

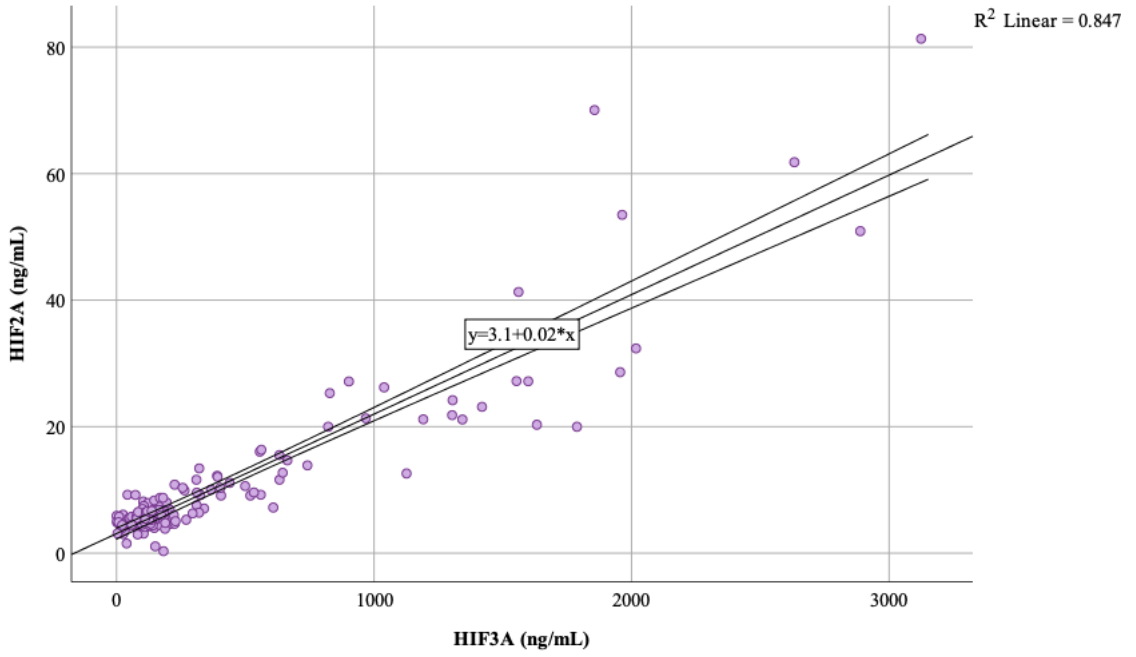
- HIF-3α ile VHL arasında güçlü, total kolesterol, LDL, HDL ile anlamlı zayıf pozitif, CRP, üre, kreatinin ile anlamlı zayıf ters yönlü korelasyon,
- VHL ile ALT ve HDL ile zayıf pozitif korelasyon CRP ile anlamlı zayıf ters yönlü korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 4.13).



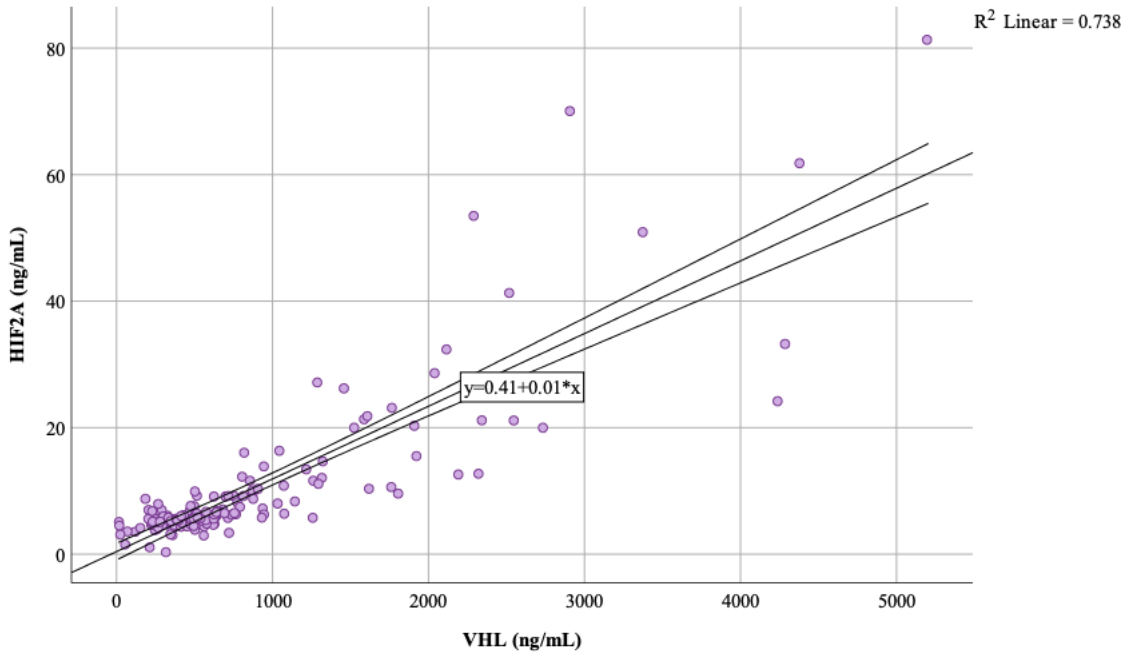
Şekil 4.6. HIF-1α - HIF-2α değerleri korelasyon grafiği



Şekil 4.7. HIF-1α- HIF-3α değerleri korelasyon grafiği



Şekil 4.8. HIF-2α- HIF-3α değerleri korelasyon grafiği



Şekil 4.9. VHL- HIF-3α değerleri korelasyon grafiği

Hastaların sağ kalp kateterizasyon ölçümü ve klinik parametrelere ait korelasyon sonuçları Tablo 4.14'te verilmiştir.

Tablo 4.14. Sağ kalp kateterizasyon ölçümü ve klinik parametrelere ait korelasyon sonuçları

		PCWP	Sistolik PA Basıncı	Sağ atriyum Basıncı	Aort SpO ₂	PA SpO ₂	İVC SpO ₂	SVC SpO ₂
HİF-1α	Korelasyon Katsayısı	.006	.007	-.034	-.109	.020	-.031	.050
	p	.967	.956	.816	.490	.898	.854	.770
HİF-2α	Korelasyon Katsayısı	.003	-.243	-.263	.279	.218	.332*	.260
	p	.981	.059	.068	.074	.159	.042	.120
HİF-3α	Korelasyon Katsayısı	.131	-.002	-.088	-.028	-.033	.008	-.010
	p	.351	.989	.549	.859	.832	.961	.955
VHL	Korelasyon Katsayısı	-.086	.011	-.095	-.034	.069	.252	.029
	p	.540	.932	.516	.828	.658	.127	.866
hs- cTnT	Korelasyon Katsayısı	.499*	.183	.206	-.517*	-.605**	-.395	-.459*
	p	.011	.371	.346	.014	.003	.094	.048
NT pro BNP	Korelasyon Katsayısı	.262	.259*	.453**	-.014	-.321*	-.128	-.122
	p	.058	.044	.001	.932	.036	.442	.470

		CO	SVR	Kardiyak Power	6 Dakika Yürüme Mesafesi	Test Sonrası Kalp Hızı	Test öncesi SpO ₂	hs- cTnT
HİF-1α	Korelasyon Katsayısı	-.202	.099	-.261	.040	.309*	.045	-.399**
	p	.139	.500	.125	.748	.016	.735	.010
HİF-2α	Korelasyon Katsayısı	-.215	.303*	-.113	.166	.085	.376**	-.169
	p	.114	.035	.512	.176	.518	.003	.291
HİF-3α	Korelasyon Katsayısı	-.371**	.276	-.366*	-.093	.199	.273*	-.102
	p	.005	.055	.028	.451	.127	.035	.524
VHL	Korelasyon Katsayısı	-.034	.138	-.174	.094	.136	.276*	-.190
	p	.807	.343	.310	.444	.299	.033	.235
hs- cTnT	Korelasyon Katsayısı	-.162	-.021	-.007	-.469*	.205	-.351	.
	p	.429	.921	.975	.014	.360	.110	.
NT pro BNP	Korelasyon Katsayısı	-.030	.017	.011	-.574**	-.149	-.253	.632**
	p	.830	.907	.951	.000	.254	.051	.000

PCWP: Pulmoner kapiller kama basıncı, PA: Pulmoner arter, SpO₂: Oksijen saturasyonu, İVC: İnferior Vena Cava, SVC: Superior Vena Cava, CO: Kardiyak Output, hs-cTnT: Yüksek duyarlılıklı kardiyak troponin T, NT pro BNP: N terminal pro B-tipi natriüretik peptid

Tablo 4.15. Ekokardiyografi ölçümlerine ait korelasyonlar

		LVEDD	LVESD	Asendan aort	Sol atriyum	Pulmoner hız	TY	RA major çap	RA minör çap
6 Dakika Yürüme Mesafesi	Korelasyon Katsayısı	0,113	0,163	-.251*	-.368**	0,168	-.355**	-0,168	-0,064
	p	0,347	0,175	0,042	0,002	0,161	0,002	0,163	0,598
Test öncesi Kalp Hızı	Korelasyon Katsayısı	-.323*	-0,237	-0,130	-0,231	0,225	-0,031	-0,104	-0,003
	p	0,012	0,068	0,340	0,076	0,084	0,816	0,430	0,981
Test Sonrası Kalp Hızı	Korelasyon Katsayısı	-.326*	-.277*	-0,133	-0,152	0,119	-0,060	0,020	0,070
	p	0,011	0,032	0,328	0,247	0,364	0,646	0,877	0,596
Test öncesi SpO2	Korelasyon Katsayısı	0,015	0,083	-0,001	-0,097	-0,001	-0,223	-0,183	-0,129
	p	0,908	0,529	0,991	0,462	0,993	0,087	0,162	0,327
4 katman risk skoru	Korelasyon Katsayısı	-0,086	-0,145	0,229	.458**	-0,199	.519**	.326**	0,216
	p	0,478	0,226	0,064	0,000	0,097	0,000	0,006	0,070
NT pro BNP	Korelasyon Katsayısı	-0,046	-0,153	0,144	.534**	-.247*	.636**	.436**	.372**
	p	0,701	0,203	0,248	0,000	0,038	0,000	0,000	0,001

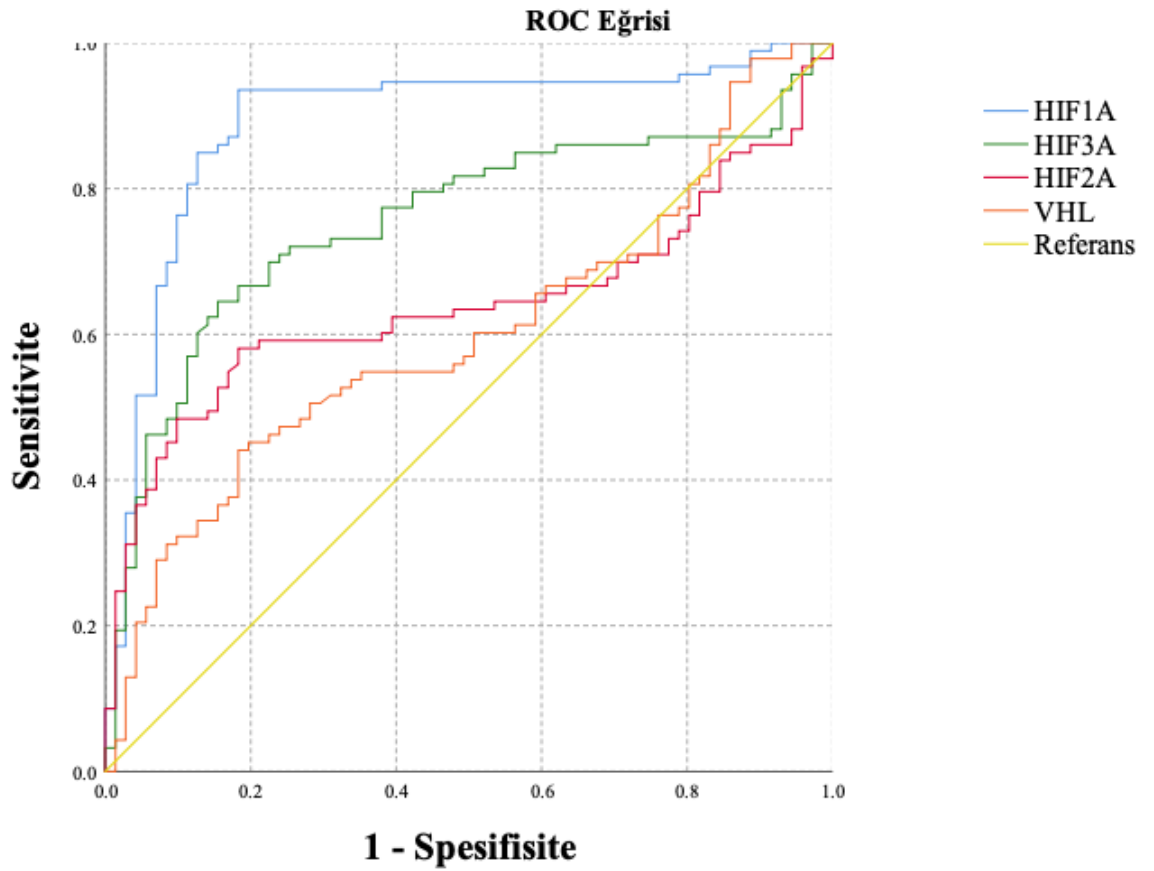
		RA alanı	RA hacmi	RA hacim indeks	RV/LV	RV end-sistolik alan	Sağ ventrikül FAC	TAPSE	TDI S'
6 Dakika Yürüme Mesafesi	Korelasyon Katsayısı	-0,133	-0,113	-0,112	-0,072	0,066	-0,024	.274*	.264*
	p	0,270	0,349	0,434	0,556	0,602	0,844	0,021	0,026
Test öncesi Kalp Hızı	Korelasyon Katsayısı	-0,069	-0,059	-0,112	0,201	0,152	-.278*	-0,107	-0,113
	p	0,603	0,657	0,474	0,123	0,267	0,031	0,415	0,389
Test Sonrası Kalp Hızı	Korelasyon Katsayısı	0,019	0,033	0,004	.331**	.274*	-.338**	-0,209	-0,252
	p	0,886	0,801	0,980	0,010	0,043	0,008	0,110	0,052
Test öncesi SpO2	Korelasyon Katsayısı	-0,135	-0,112	-0,208	-.257*	-0,191	0,184	0,233	.289*
	p	0,303	0,396	0,181	0,048	0,163	0,158	0,073	0,025
4 katman risk skoru	Korelasyon Katsayısı	.295*	.286*	.324*	0,180	0,014	-0,075	-.378**	-.355**
	p	0,013	0,016	0,020	0,137	0,913	0,536	0,001	0,002
NT pro BNP	Korelasyon Katsayısı	.450**	.467**	.486**	.263*	0,200	-.257*	-.475**	-.474**
	p	0,000	0,000	0,000	0,028	0,114	0,030	0,000	0,000

		RVOT VTI	RVOT AccT	IVC	Kollabili te	RVSP	RAP	PASP	TRV
6 Dakika Yürüme Mesafesi	Korelasyon Katsayısı	0,244	.271*	-.336**	.452**	-.260*	-.375**	-.326**	-.260*
	p	0,054	0,026	0,004	0,000	0,029	0,001	0,005	0,029
Test öncesi Kalp Hızı	Korelasyon Katsayısı	-0,038	-.280*	0,071	-0,165	0,217	0,100	0,208	0,217
	p	0,785	0,033	0,591	0,208	0,096	0,445	0,111	0,096
Test Sonrası Kalp Hızı	Korelasyon Katsayısı	-0,170	-.332*	0,094	-0,131	.318*	0,134	.302*	.318*
	p	0,219	0,011	0,473	0,319	0,013	0,306	0,019	0,013
Test öncesi SpO2	Korelasyon Katsayısı	0,208	.277*	-.303*	.296*	-.374**	-.267*	-.392**	-.374**
	p	0,131	0,035	0,018	0,022	0,003	0,040	0,002	0,003
4 katman risk skoru	Korelasyon Katsayısı	-.324**	-.252*	.495**	-.562**	.336**	.516**	.424**	.336**
	p	0,009	0,038	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,004
NT pro BNP	Korelasyon Katsayısı	-.404**	-0,185	.588**	-.562**	.383**	.576**	.487**	.383**
	p	0,001	0,130	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,001

		RVOT PLAX	Pulmoner arter	MPA/as endan aorta	LVEI- end sistol	LVEI- end diastol	MPİ_{PW}	MPİ_{Tdi}	TAPSE/ PASP
6 Dakika Yürüme Mesafesi	Korelasyon Katsayısı	-0,202	-.324**	0,004	-0,031	-0,123	-.370**	-0,136	.353**
	p	0,109	0,007	0,977	0,797	0,309	0,007	0,323	0,003
Test öncesi Kalp Hızı	Korelasyon Katsayısı	-0,071	0,013	0,190	.481**	.325*	0,003	0,155	-0,210
	p	0,608	0,924	0,160	0,000	0,011	0,984	0,293	0,106
Test Sonrası Kalp Hızı	Korelasyon Katsayısı	-0,074	0,087	.292*	.405**	.322*	0,273	0,271	-.319*
	p	0,589	0,519	0,029	0,001	0,012	0,073	0,062	0,013
Test öncesi SpO2	Korelasyon Katsayısı	-0,210	-.351**	-0,162	-.349**	-.361**	-.364*	-.331*	.388**
	p	0,124	0,008	0,234	0,006	0,005	0,015	0,021	0,002
4 katman risk skoru	Korelasyon Katsayısı	.275*	.320**	-0,019	0,089	.241*	.486**	0,131	-.486**
	p	0,028	0,008	0,878	0,464	0,045	0,000	0,341	0,000
NT pro BNP	Korelasyon Katsayısı	.326**	.332**	-0,028	0,192	.405**	.526**	0,128	-.581**
	p	0,009	0,006	0,823	0,111	0,001	0,000	0,352	0,000

Tablo 4.16. HIF Yolak Biyobelirteçleri ile PVR, TAPSE/PASP, Ortalama Pulmoner Arter Basıncı, Kardiyak İndeks ve NT-proBNP Arasındaki Korelasyon Analizi

		TAPSE/PASP	ORTALAMA PULMONER ARTER BASINCI	KARDİYAK İNDEKS	NT pro-BNP	PULMONER VASKÜLER REZİSTANS
HİF-1α	Korelasyon Katsayısı	-0,090	0,014	-0,102	-0,089	0,034
	p	0,453	0,915	0,511	0,459	0,813
HİF-2α	Korelasyon Katsayısı	0,026	-0,237	-0,036	-0,070	-0,169
	p	0,833	0,064	0,819	0,562	0,240
HİF-3α	Korelasyon Katsayısı	0,020	0,016	-0,174	-0,027	0,113
	p	0,869	0,903	0,260	0,823	0,435
VHL	Korelasyon Katsayısı	0,000	0,066	0,104	0,019	0,091
	p	0,997	0,613	0,504	0,872	0,531



Şekil 4.10. PAH için ROC eğrileri

Tablo 4.17. ROC eğrisi özellikleri

	AUC	Std. Hata ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic %95 Güven Aralığı	
				Alt Sınır	Üst Sınır
HIF1α	.891	.028	.000	.836	.947
HIF2α	.640	.044	.002	.554	.727
HIF3α	.755	.039	.000	.679	.831
VHL	.599	.044	.030	.512	.686

AUC: Eğri altında kalan alan, Std: Standart, Sig: significance, ^a. Nonparametrik varsayımda

^b. Sıfır hipotezi: gerçek alan= 0,5

PAH için HİF-1 α , HİF-2 α , HİF-3 α ve VHL ROC eğrileri Şekil 4.10'da, ROC eğrisi özellikleri Tablo 4.17'de verilmiştir.

PAH için HİF-1 α kesim noktası 2,14 ng/mL; sensitivite %93,55, spesifisite %81,69, pozitif prediktif değer %87 negatif prediktif değer %90,62 eğri altında kalan alan 0,891 olarak belirlenmiştir (Youden indeksi 0,752). Kesim noktası için 2,68 değerlendirildiğinde sensitivite %84,95 spesifisite %87,32 pozitif prediktif değer %89,77 negatif prediktif değer %81,58 olarak hesaplanmıştır (Youden indeksi 0,723).

PAH için HİF-2 α kesim noktası 6,87 ng/mL; sensitivite %58,06, spesifisite %81,69, pozitif prediktif değer %80,6, negatif prediktif değer %59,79, AUC 0,64 olarak belirlenmiştir (Youden indeksi: 0,324).

PAH için HİF-3 α kesim noktası 178,4 ng/mL; sensitivite %64,52, spesifisite %84,51, pozitif prediktif değer %84,51, negatif prediktif değer %64,52 eğri altında kalan alan 0,755 olarak belirlenmiştir (Youden indeksi 0,490). Kesim noktası için 321 değerlendirildiğinde sensitivite %46,24 spesifisite %94,37 pozitif prediktif değer %91,49 negatif prediktif değer %57,26 olarak hesaplanmıştır (Youden indeksi 0,406).

PAH' nda VHL için kesim noktası 772 ng/mL; sensitivite %45,16, spesifisite %80,28, pozitif prediktif değer %75, negatif prediktif değer %52,78 eğri altında kalan alan 0,599 olarak belirlenmiştir (Youden indeksi 0,254).

Tablo 4.18. SNP analizleri

	Kontrol	Hasta
rs 11549465		
C	50	49
T	7	5
Heterozigot	33	16
no call	3	1
rs 2057482		
T	6	5
C	56	38
Heterozigot	29	25
no call	2	3
rs 13419896		
G	84	66
A	0	4
Heterozigot	9	1

Çalışmamızda üç farklı SNP (rs11549465, rs2057482 ve rs13419896) için hasta ve kontrol gruplarında genotip ve allel frekansları karşılaştırılmış, Hardy-Weinberg dengesi (HWE) değerlendirilmiş ve olasılık oranları (OR) hesaplanmıştır.

rs11549465 polimorfizmi için kontrol grubunda genotip dağılımları sırasıyla CC: %52,4 (n=50), CT: %34,6 (n=33), TT: %7,3 (n=7) şeklindedir. Hardy-Weinberg denge için p değeri 0,64 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda bu dağılımlar CC: %67,1 (n=49), CT: %21,9 (n=16), TT: %6,8 (n=5) olarak gözlenmiştir. Genotip frekansları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (Ki-kare testi ile p=0,1495) T alleli için hesaplanan Odds ratio 0,65 (%95 güven aralığı 0,38-1,12) olarak bulunmuştur.

rs2057482 polimorfizmi için kontrol grubunda genotip frekansları TT: %6,3 (n=6), TC: %30,2 (n=29), CC: %58,3 (n=56) şeklindedir. Hardy-Weinberg denge için p değeri 0,4 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda ise TT: %6,8 (n=5), TC: %34,2 (n=25), CC: %52,0 (n=38) oranları saptanmıştır. Genotip frekansları arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (Ki-kare testi ile p=0,7719). T alleli için hesaplanan Odds ratio 0,84 (%95 güven aralığı 0,5-1,4) olarak bulunmuştur.

rs13419896 polimorfizmi için kontrol grubunda genotipler GG: %88,4 (n=84), GA: %9,4 (n=9), AA: %0 (n=0) şeklindeyken, hasta grubunda GG: %91,7 (n=66), GA: %1,4 (n=1), AA: %5,6

(n=4) olarak saptanmıştır. Kontrol grubu Hardy-Weinberg denge p değeri 0,62 bulunmuştur. Genotip frekansları arasında anlamlı fark saptanmıştır (Ki-kare testi ile $p=0,0075$). Allelik frekanslar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Ki-kare testi ile $p=0,58$). A alleli için hesaplanan Odds ratio 1,33 (%95 güven aralığı 0,55-3,22) olarak bulunmuştur.

5 TARTIŞMA

Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH), pulmoner vasküler yatakta ilerleyici daralma ve yeniden yapılanma ile karakterize edilen, sağ ventrikül yetersizliği ve mortalite ile sonuçlanabilen nadir fakat ciddi bir hastalıktır (Simonneau et al., 2019). Patogenezinde endotel disfonksiyonu, düz kas hiperplazisi, inflamasyon, tromboz ve genetik faktörler gibi çok sayıda mekanizma yer almakta; bu süreçlerin hücresele düzeyde oksijen algılama ve yanıt sistemleri ile yakından ilişkili olduğu gösterilmektedir (Humbert et al., 2022). Hipoksi ile indüklenebilir faktörler (HIF'ler) ve bu proteinlerin regülasyonundan sorumlu olan von Hippel–Lindau (VHL) proteini, hücrelerin oksijen seviyelerine verdiği yanıtın temel düzenleyicileri arasında yer almakta ve PAH patofizyolojisinde önemli roller üstlenmektedir (Ball et al., 2014; Cowburn et al., 2016).

Bu çalışmada, PAH'lı hastalarda HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL protein düzeylerinin serumda değerlendirilmesi, bu biyomoleküllerin hastalıkla olan ilişkilerinin ortaya konulması ve klinik parametrelerle olan bağlantılarının incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulgular, PAH hastalarında tüm HIF izoformları ve VHL protein düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı düzeyde düşük olduğunu ve özellikle HIF-2 α düzeyinin hastalık riski ve şiddeti ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Literatürde PAH'ta HIF-1 α düzeyleri konusunda çelişkili bulgular mevcuttur: Bir yandan kronik hipoksi, inflamasyon ve diğer pro-PH uyarılar sonucu PAH hastalarının pulmoner damar duvarlarında HIF-1 α birikiminin arttığı bildirilmiştir. Nitekim PAH'lı hasta akciğerlerinde endotel ve düz kas hücrelerinde HIF-1 α 'nın yükseldiğini gösteren çalışmalar vardır. Buna karşılık, idiyopatik PAH' dan izole edilen pulmoner arter düz kas hücrelerinde (PASMC) HIF-1 α protein ekspresyonunun kontrollere göre belirgin ölçüde azalmış olduğu da rapor edilmiştir (Pullamsetti et al., 2020).

Barnes ve arkadaşlarının çalışmasında PAH hastalarından elde edilen primer PASMC kültürlerinde HIF-1 α protein düzeyi sağlıklı kontrollere kıyasla düşmüş, buna eşlik eden Kv1.5 potasyum kanalının da azalmasıyla myozin hafif zincir fosforilasyonu ve vazokonstriktör tonusta artış saptanmıştır (Barnes et al., 2017). Bu bulgu, HIF-1 α 'nın düz kas hücrelerinde baskılanmasının, pulmoner arteriyel vazokonstriksiyonu artırarak PAH patogenezine katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Farelerde düz kas hücrelerine özgü HIF-1 α yokluğunun pulmoner damar tonusunu yükselttiği gösterilmiş, HIF-1 α 'nın fizyolojik koşullarda düz kas kaynaklı vazodilatör/anti-proliferatif etkilerle düşük pulmoner basıncın korunmasında rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Barnes et al., 2017)

Öte yandan, HIF-1 α 'nın sistemik düzeydeki aktivitesinin hipoksik PH modeli hayvanlarda vasküler yeniden yapılanmayı tetikleyebileceği de bilinmektedir; nitekim HIF-1 α 'nın parsiyel eksik olduğu farelerde kronik hipoksi altında pulmoner hipertansiyon gelişiminin ve pulmoner damar kalınlaşmasının geciktiği rapor edilmiştir (Yu et al., 1999).

Bu veriler, PAH' da HIF-1 α sinyalinin hücre tipine ve hastalık evresine göre farklı etkiler gösterebildiğini, hem aşırı HIF-1 α aktivitesinin hem de yetersiz HIF-1 α düzeyinin patogeneizde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

PAH patofizyolojisinde HIF-2 α isoformunun belirgin bir rol oynadığı konusunda giderek artan kanıtlar bulunmaktadır. Çeşitli çalışmalar, PAH hasta akciğerlerinde HIF-2 α ekspresyonunun özellikle pulmoner arter endotel hücrelerinde yükseldiğini göstermiştir (Pullamsetti et al., 2020). HIF-2 α 'nın eritropoez ve vasküler yeniden şekillenme gibi uzun vadeli hücrel ve sistemik adaptasyon süreçlerini düzenleyen genlerin ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyon faktörü olduğu bildirilmiştir (Smythies et al., 2019).

Hipoksik koşullarda endotelial HIF-2 α 'nın aşırı stabilizasyonu, deneysel modellerde belirgin pulmoner vasküler yeniden yapılanma ile sonuçlanmıştır (Dai et al., 2016; Kapitsinou et al., 2016) Buna paralel olarak, PAH'lı hayvan modellerinde HIF-2 α 'yı seçici olarak inhibe eden küçük moleküllerin kullanımı, hastalığın geri döndürülebilir olduğunu göstermiş; HIF-2 α inhibisyonunun pulmoner vasküler yeniden yapılanmayı baskıladığı ve sağ kalp fonksiyonlarını iyileştirdiği rapor edilmiştir (Dai et al., 2018).

Bu bulgular, HIF-2 α sinyal yolunun PAH patogenezinde merkezi ve sürükleyici bir etken olduğunu desteklemektedir.

PAH 4 Katmanlı Risk Değerlendirmesine göre 1-2 puan alan hastalar düşük-orta risk, 3-4 puan alan hastalar orta-yüksek risk olarak sınıflandırıldığında riski düşük olan grubun HIF-2 α seviyesi (6 (5,42- 6,82)) ile riski yüksek olan grubun HIF-2 α seviyesi (5,42 (4,86-6,27))

arasında anlamlı farklılık olduğu ($p=0,0449$) görülmüştür (Şekil 4.3). PAH hastalarımızda HIF-2 α protein düzeyinin kontrol grubuna göre düşük bulunması ve HIF-2 α düzeyinin PAH riski ile ilişkisinin saptanması, HIF-2 α 'nın hastalığa yatkınlık ve şiddeti üzerindeki kritik etkisini göstermektedir. HIF-2 α düzeyinin yüksek riskli hastalarda, düşük riskli hastalara göre daha düşük bulunması, bu molekülün PAH hastalarında risk belirlemede potansiyel olarak önemli bir biyobelirteç olabileceğine işaret etmektedir.

Literatürde HIF-2 α ile PAH riski arasındaki ilişkiyi destekleyen genetik kanıtlar mevcuttur. Örneğin, von Hippel–Lindau (VHL) genindeki R200W mutasyonunun görüldüğü Chuvash polisitemisi hastalarında VHL proteini HIF-2 α 'yı yeterince parçalayamaz ve kronik HIF aktivasyonu sonucu eritrositoz ile birlikte anormal pulmoner hipertansiyon gelişebilir (Ang et al., 2002). Nadir VHL mutasyonları (D126N gibi) taşıyan bireylerde de istirahat pulmoner arter basınçlarının ve PH insidansının belirgin derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (Bond et al., 2011; Sarangi et al., 2014). Benzer şekilde, HIF-2 α geninde hidrosilasyonu engelleyen aktifleyici mutasyonlar (örn. HIF-2 α G537R varyantı) ailesel polisitemi vakalarında saptanmış ve bu bireylerde PAH gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Gale et al., 2008). Bu genetik bulgular, HIF-2 α düzeyinin PAH patogenezinde etkili olabileceğini göstermektedir.

Yüksek rakımlı ortamlara adaptasyon gösteren insan popülasyonlarında yapılan çalışmalar, HIF-2 α yolundaki doğal varyasyonların PH riskini etkilediğini göstermiştir. Tibetli yerli halklarda HIF2A gen varyantlarının HIF aktivitesini sınırlayarak kronik hipoksiye rağmen pulmoner arter basınçlarını daha düşük tuttuğu ve bu sayede yüksek irtifa pulmoner hipertansiyonuna karşı koruyucu etki sağladığı bildirilmektedir (Y. Peng et al., 2017; Petousi et al., 2014). Bu durum, HIF-2 α sinyalinin dengede tutulmasının PH gelişimine karşı kritik olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda kontrol grubuna (264 (124- 825)) göre hastaların HIF-3 α seviyeleri (109 (73,2-141) anlamlı düşük olarak saptanmıştır ($p<0,0001$) (Tablo 4.11). HIF-3 α , HIF ailesinin daha az karakterize edilmiş bir üyesi olmakla birlikte, literatürde PAH patofizyolojisinde düzenleyici bir rol oynayabileceğine dair veriler bulunmaktadır. Yapılan bir çalışma, HIF-3 α proteininin akciğerde özellikle pulmoner fibroblastlarda ekspresse olduğunu, ancak PAH' lı hastalardan elde edilen pulmoner fibroblastlarda HIF-3 α seviyelerinin kontrollere kıyasla anlamlı ölçüde azalmış olduğunu göstermiştir (Barnes et al., 2017). HIF-3 α 'nın bazı

izoformları, HIF-1 α 'nın hedef genlerinin transkripsiyonunu baskılayarak anjiyogenez ve fibrozisi sınırlayıcı bir etki gösterebilir (Makino et al., 2001). Dolayısıyla PAH' ta HIF-3 α 'daki azalma, patolojik anjiyogenez veya yeniden şekillenme süreçlerini kolaylaştırabilir.

Ancak PAH bağlamında HIF-3 α ile ilgili veriler sınırlıdır ve mevcut bulgular, PAH' da gözlenen HIF-3 α düşüklüğünün neden mi yoksa sonuç mu olduğu sorusunun ileride yapılacak çalışmalarla aydınlatılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Yine de çalışmamızda PAH hastalarında tüm HIF izoformlarının (HIF-1 α , HIF-2 α ve HIF-3 α) baskılanmış olması, HIF yolunun genel anlamda bozulduğunu ve bu dengenin bozulmasının hastalık patofizyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

PAH patogenezi bağlamında VHL proteini, hücrel oksijen duyarlılık mekanizmasının merkezi bir unsuru olarak HIF proteinlerinin dengede tutulmasından sorumludur. Normoksik koşullarda VHL, hidroksillenmiş HIF- α alt birimlerini tanıyarak ubiquitin ligaz kompleksi aracılığıyla proteazomal yıkıma uğratar; böylece HIF aracılı gen ifadelerini baskılar. Hipoksi varlığında ise HIF hidroksilasyonu azalır ve VHL' nin HIF'e bağlanması engellenerek HIF- α birikimi sağlanır (Prabhakar & Semenza, 2012). PAH hastalarında, VHL-HIF ekseninin işleyişinde hem genetik hem de edinilmiş düzeyde bozulmalar bildirilmektedir. VHL genindeki fonksiyon kaybı mutasyonları HIF-1 α ve HIF-2 α 'yı kontrolsüz bırakarak endotelin-1 ve VEGF gibi güçlü vazokonstriktör ve mitojenik faktörlerin aşırı üretimine yol açmakta; bu da pulmoner vasküler direnç ve basıncı patolojik düzeylere çıkarmaktadır (Sable et al., 2012; Smith et al., 2006). Chuvash polisitemisi hastalarında VHL mutasyonunun HIF yolunu kronik olarak aktif tuttuğu, bu bireylerin artmış bazal pulmoner vasküler tonus ve hipoksiye abartılı vazokonstriktör yanıt sergilediği gösterilmiştir (Smith et al., 2006). Ayrıca Chuvash ve benzeri VHL sendromlu hastaların plazmalarında endotelin-1 seviyelerinin belirgin biçimde yüksek oluşu ve pulmoner arter basınçlarının normal popülasyona kıyasla artmış olması, VHL/HIF sinyal bozukluğunun insanlarda spontan PAH gelişimine katkı sağlayabileceğini kanıtlamaktadır (Bushuev et al., 2006; Sable et al., 2012)

VHL R200W mutant fare modelinde, mutasyonun HIF-2 α protein ve hedef gen ekspresyonlarını artırdığı, bunun da insan PAH' ını andıran pulmoner vasküler remodeling ve hipertansiyona yol açtığı saptanmıştır. Bu modelde HIF-2 α geninin heterozigot inaktivasyonu ile hem polisitemi hem de pulmoner hipertansiyonun kaybolduğu, buna karşın HIF-1 α geninin heterozigot inaktivasyonun hastalığı hafifletmediği gözlemlenmiştir. Öte yandan, idiopatik ve

diğer edinilmiş PAH olgularında VHL geninde mutasyon nadir görülmekle birlikte, HIF dengesi yine de bozulmuş olabilir. Çalışmamızda PAH hastalarında gözlenen düşük HIF- α düzeyleri, VHL-PHD (prolil hidroksilaz) sisteminin aşırı etkin olabileceğini akla getirmektedir. Artmış PHD aktivitesi, hücrelerin hipoksik ortama rağmen HIF proteinlerini hızla parçalamasına yol açarak adaptif HIF yanıtını sekteye uğratabilir. Bu durum, HIF-1 α 'nın vazodilatör ve anti-proliferatif etkilerinden mahrum kalan düz kas hücrelerinin sürekli kasılı kalmasına ve vasküler yeniden yapılanmanın hızlanmasına katkıda bulunabilir (Barnes et al., 2017).

PAH patofizyolojisinde VHL ile HIF proteinleri arasındaki ilişki çift yönlü bir denge gerektirir: HIF sinyalinin aşırı artması (örneğin VHL fonksiyon kaybıyla) nasıl ki pulmoner vasküler yapıyı bozup hipertansiyona yol açıyorsa (Hickey et al., 2010b; Pullamsetti et al., 2020), benzer şekilde HIF'in uygun hücrel yanıtının baskılanması da (örneğin PHD aktivitesinin artmasıyla) hastalığı ağırlaştırıcı etki gösterebilir (Barnes et al., 2017).

Çalışmamızda PAH hastalarında HIF-1 α , HIF-2 α ve HIF-3 α protein düzeyleri ile NT-proBNP arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Bu bulgunun altında yatan temel nedenlerden biri, HIF izoformlarının ve NT-proBNP'nin farklı hücrel kaynaklardan ve patofizyolojik mekanizmalardan etkilenerek salınıyor olmalarıdır.

HIF-1 α , HIF-2 α ve HIF-3 α ; hipoksiye yanıt olarak başta endotel, düz kas, tip 2 alveoler epitel ve bağ dokusu hücrelerinde ekspresyon gösteren transkripsiyon faktörleridir. Bu moleküller arasında özellikle HIF-1 α daha çok akut hipoksik stres yanıtında, HIF-2 α ise kronik hipoksi ve endotel disfonksiyonu ile ilişkili olarak aktive olur. HIF-3 α ise genellikle HIF yolunun modülasyonunda rol oynar ve ekspresyon paterni farklılık gösterebilir. Buna karşılık, NT-proBNP ise kardiyomiyositlerden, özellikle de ventriküler gerilme ve duvar stresine yanıt olarak salınan bir natriüretik peptittir. NT-proBNP düzeyleri esas olarak sağ ventrikül yüklenmesi, kardiyak disfonksiyon ve basınç yüküyle ilişkilidir.

PAH' ın patogenezinde hipoksiye bağlı mekanizmalar önemli bir rol oynasa da hasta grubumuzda hipoksiye sekonder pulmoner hipertansiyon alt tiplerinden ziyade, endotel disfonksiyonunun ön planda olduğu bir fenotip daha belirgin olabilir. Özellikle HIF-2 α , vasküler endotelial hücrelerde selektif olarak ekspresyon gösterir ve endotel bütünlüğü ile damar içi sinyal yollarının düzenlenmesinde kritik bir rol üstlenir. Literatürde de belirtildiği

gibi, HIF-2 α ekspresyonundaki değişimler özellikle endotel kaynaklı vasküler yeniden şekillenme ve proliferatif süreçlerle ilişkili bulunmuştur (Hu et al., 2003). Çalışmamızda, yüksek riskli ve düşük riskli PAH hastaları arasındaki HIF-2 α seviyelerindeki anlamlı fark, HIF-2 α 'nın hastalığın şiddeti ve endotel hasarı ile daha yakın ilişkili olduğunu desteklemektedir.

Özetle, HIF ailesi proteinlerinin ve NT-proBNP' nin farklı hücresel kaynaklardan salınması ve PAH patofizyolojisinin heterojenliği, aralarındaki korelasyonun zayıf olmasına neden olmuş olabilir. Bu durum, özellikle HIF-2 α 'nın endotel disfonksiyonu ve hastalık progresyonuyla ilişkili bağımsız bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir.

Kronik durumda olan pulmoner hipertansiyon hastalarında zamanla endoteyal hücrelerde vazodilatör maddelerin salınımının azaldığı gösterilmiştir. Bu durum nedeniyle kombinasyon tedavileri ile daha fazla yolak üzerinden tedavi sağlanmaya çalışıldığı bilinmektedir. Belki de kronik dönemde pulmoner yataktaki endotel hücrelerinin fibrozisi ve temel natürünü kaybetmesi nedeniyle HIF proteinleri seviyelerimiz düşük çıkmış olabilir. Belki de uzun yıllar içerisinde ilk tanı anında bakılan ile yıllar sonra bakılacak HIF düzeylerinde farklılıklar ortaya çıkacaktır. Erken dönemde hücrelerden hipoksi nedeniyle salınan moleküller, geç dönemde hücrelerin desensitizasyonu nedeniyle daha az salgılanıyor olabilir. PAH hastalarında semptomların başlangıcı ile tanının konulma süresinin çok uzun olması (ortalama 2-4 yıl) bu moleküllerin salınmasında takiplerde düşüklüğü yanında getirebilir. Bu sebeple erken tanı konulmuş hastalarda yıllık HIF düzeylerinin takibi konunun aydınlatılması açısından daha etkili gerçeklikler ortaya koyabilir.

Bizim hastalarımızda tanıdan sonra takip sürelerinin göreceli uzun olduğu düşünülürse tanıdan önce geçen sürenin de uzun olduğu varsayımı göz önüne alındığında bu hipotezimiz doğru olabilir. Ayrıca hastalarımızdaki çok yüksek ortalama PVR değerleri [6,08 WU(3,85-9,1)] pulmoner yatakta bulunan arteriyollerde gelişmiş olan fibrozisin bir kanıtı olarak düşünüldüğünde, HIF sentezinin de pulmoner yaktan azalmış olduğunu düşündürebilir. Tabii ki buradaki varsayımlar az sayıdaki hastanın periferik kanlarından alınan sonuçlardır. Belki de pulmoner yaktan alınacak kan tetkikleri ya da biyopsi kültür sonuçlarından elde edilen veriler bizim sonuçlarımıza göre daha güvenilir bir veri ortaya koyabilir.

Hayvanlar üzerinde yapılmış olan konu ile ilgili çalışmaların çoğu hipoksiye maruz

birakılarak iatrojenik geliştirilmiş pulmoner hipertansiyon vakalarına dayandığı düşünülerek çocukluk çağından itibaren potansiyel vasküler sorunları olan insanlar ile benzer sonuçların çıkması beklenmeyebilir. Bizim verilerimizde bazı veriler de beklenen yüksekliğin literatürde bulunan bazı çalışmalara göre görülmemesi bunun bir sonucu olabilir. Halı hazırda bilinen ilk 4 Grup içerisinde yer alan pulmoner hipertansiyon hastalarında hipoksemi ile bu moleküllerin düzeylerinin yükselmesi beklentisi yüksektir. Bizim de hipotezimizin ana çıkış gayesi olan bu durum bizler için de konunun farklı boyutları olduğunu ortaya koymaktadır. Belki de hastalarımızın oksijen saturasyonlarının ortalama yüzde 90 üzerinde olması bu moleküllerin sentezini, bozulmuş olan endotel yapısından salinimi tetiklememiş olabilir.

Yine hasta grubumuzdaki idiopatik, konjenital kalp hastalığı kaynaklı ile bağ doku hastalığı kaynaklı PAH hastaları arasında moleküllerin farkının olmaması. konunun karmaşıklığını ortaya koymaktadır. (Tablo 4.12) Tabii ki hasta sayımızın düşük olması net kanılara varılmasının önüne geçmektedir. Ancak nadir görülen bu hasta grubunda yine de hasta sayımızın yüksek olması, konjenital nedenli PAH sayımızın fazla olması konunun tartışmaya açılması açısından bir fikir oluşturabilir.

Sonuç olarak, çalışmamızın bulguları HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL proteinlerinin pulmoner vasküler yatakta ince bir dengeyle PAH gelişimini ve seyrini etkilediğini düşündürmektedir. Bu proteinlerin ekspresyonundaki bozulmalar hem moleküler genetik düzeyde (mutasyonlar/polimorfizmler) hem de edinilmiş hücresel mekanizmalarla (hipoksi, inflamasyon ve oksijen duyarlılık değişimleri) açıklanmakta olup, PAH patogenezi bağlamında potansiyel tedavi hedefleri olarak da dikkat çekmektedir.

Bu nedenle, HIF yolunun hücre tipine özgü düzenlenmesini daha iyi anlamaya yönelik ileri araştırmalar, PAH için yeni tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Hipoksi ile indüklenebilir faktör yolundaki genlerin polimorfizmleri, pulmoner hipertansiyon patogenezinde de araştırılmıştır. PH nadir bir hastalık olduğundan, genetik ilişki çalışmaları genellikle küçük ölçekli olsa da mevcut veriler HIF yolundaki genetik farklılıkların PH gelişme riskini ve seyrini etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, HIF yolu genlerindeki genetik farklılıklar, pulmoner hipertansiyon gelişiminde ve seyrinde rol oynayabilir. Bu alanda yapılacak geniş ölçekli genetik çalışmalar,

HİF yolunun bireysel farklılıklarını ortaya koyarak, kimlerin hipoksik ortamlara veya risk faktörlerine maruz kaldığında PH geliştirmeye daha meyilli olduğunu belirleyebilir. Ayrıca HİF gen polimorfizmlerinin bilinmesi, ileride kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarında da işe yarayabilir.

Son söz olarak: hipoksi-indüklenebilir faktörler, pulmoner hipertansiyonun gen-çevre etkileşiminde merkezi bir yer tutmaktadır ve bu yoldaki genetik varyasyonların anlaşılması, hastalık patofizyolojisi ve tedavisinde yeni ufuklar açabilecektir.

5.1 Güçlü Yönler ve Kısıtlılıklar

Bu çalışma, insan serumunda HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL proteinlerinin çoklu ve karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesiyle bildiğimiz kadarıyla literatürde ilk olma özelliği taşımaktadır. Çalışmanın kontrol grubu ile karşılaştırmalı dizaynı, aynı anda birden fazla biyobelirtecin klinik ve hemodinamik parametrelerle korelasyon analizi ve paralel yürütülen genetik analizlerle bütüncül bir bakış açısı sunması, araştırmanın güçlü yönlerini oluşturmaktadır. Bu yönleriyle çalışma, PAH' da yeni biyobelirteçlerin tanımlanması ve klinik kullanıma entegrasyonu açısından öncü niteliktedir.

Literatürde yalnızca bağ dokusu hastalıkları ile ilişkili PAH hastalarında serum HIF-1 α seviyesinin ölçüldüğü nadir çalışmalar vardır (Shi et al., 2025). Bunun dışında bildiğimiz kadarıyla HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL proteinlerinin hasta serumlarında değerlendirilmesiyle yapılmış hiçbir insan çalışması bulunmamaktadır. Bu çalışma, bu eksikliği doldurmakta ve PAH patofizyolojisindeki bu kritik moleküllerin sistemik düzeyde rolünü ilk kez tanımlamaya yönelik önemli bir adımı temsil etmektedir.

Çalışmanın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Öncelikle, tek merkezli ve gözlemsel tasarım nedeniyle sonuçların genellenebilirliği sınırlı olabilir. Serum biyobelirteç düzeyleri ELISA ile ölçülmüş olup, bu yöntemin preanalitik ve analitik değişkenlere hassasiyeti dikkate alınmalıdır. Çalışmada uzun dönem klinik sonuçların ve doku düzeyinde doğrulayıcı analizlerin olmaması, biyobelirteçlerin gerçek prognostik rolünü değerlendirmemizi kısıtlamıştır. Son olarak, elde edilen sonuçların farklı popülasyonlarda ve daha geniş hasta gruplarında doğrulanmasına ihtiyaç vardır.

6 SONUÇ

Çalışmamızda HIF yolağının temel bileşenleri olan HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL proteinlerinin seviyeleri pulmoner arter hastalarında kontrol grubuna göre periferik kanda anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. Özellikle HIF-2 α düzeyi hastalığın şiddeti ile ilişkili olabilir. Ancak, HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α ve VHL proteinlerinin eylemlerinin özgüllüğünün altında yatan moleküler mekanizmaları anlamak ve klinik uygulamalara entegrasyonunun değerlendirilebilmesi için daha geniş örneklem gruplarında, çok merkezli ve prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

7 KAYNAKLAR

- Al-Qadi, M., LeVarge, B., & Ford, H. J. (2021). Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Approach in Group 5 Pulmonary Hypertension. In *Frontiers in Medicine* (Vol. 7, p. 616720). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.616720>
- Albadari, N., Deng, S., & Li, W. (2019). The transcriptional factors HIF-1 and HIF-2 and their novel inhibitors in cancer therapy. In *Expert Opinion on Drug Discovery* (Vol. 14, Issue 7, pp. 667–682). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1613370>
- Albanese, A., Daly, L. A., Mennerich, D., Kietzmann, T., & Sée, V. (2021). The role of hypoxia-inducible factor post-translational modifications in regulating its localisation, stability, and activity. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 1, pp. 1–18). Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/ijms22010268>
- Almodovar, S., Cicalini, S., Petrosillo, N., & Flores, S. C. (2010). Pulmonary hypertension associated with HIV infection - Pulmonary vascular disease: The global perspective. In *Chest* (Vol. 137, Issue 6 SUPPL., pp. 6S-12S). American College of Chest Physicians. <https://doi.org/10.1378/chest.09-3065>
- American Thoracic Society. (2020). *General Information*. <https://www.thoracic.org/patients/lung-disease-week/2020/ph-week/general-info.php>
- Anderson, J. J., & Lau, E. M. (2022). Pulmonary Hypertension Definition, Classification, and Epidemiology in Asia. In *JACC: Asia* (Vol. 2, Issue 5, pp. 538–546). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.jacasi.2022.04.008>
- Ang, S. O., Chen, H., Gordeuk, V. R., Sergueeva, A. I., Polyakova, L. A., Miasnikova, G. Y., Kralovics, R., Stockton, D. W., & Prchal, J. T. (2002). Endemic polycythemia in Russia: Mutation in the VHL gene. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 28(1), 57–62. <https://doi.org/10.1006/bcmd.2002.0488>
- Arumairaj, A., Cativo, D., & Habtes, I. (2020). A RARE CASE OF PORTOPULMONARY HYPERTENSION AS A COMPLICATION OF CRYPTOGENIC CIRRHOSIS. *Chest*, 158(4), A2524. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.09.124>
- Augstein, A., Poitz, D. M., Braun-Dullaeus, R. C., Strasser, R. H., & Schmeisser, A. (2011). Cell-specific and hypoxia-dependent regulation of human HIF-3 α : Inhibition of the expression of HIF target genes in vascular cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(15), 2627–2642. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0575-4>
- Austin, E. D., Lahm, T., West, J., Tofovic, S. P., Johansen, A. K., MacLean, M. R., Alzoubi, A., & Oka, M. (2013). Gender, sex hormones and pulmonary hypertension. In *Pulmonary Circulation* (Vol. 3, Issue 2, pp. 294–314). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.4103/2045-8932.114756>
- Austin, E. D., & Loyd, J. E. (2014). The genetics of pulmonary arterial hypertension. *Circulation Research*, 115(1), 189–200. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.303404>
- Bakleh, M. Z., & Al Haj Zen, A. (2025). The Distinct Role of HIF-1 α and HIF-2 α in Hypoxia and Angiogenesis. In *Cells* (Vol. 14, Issue 9, p. 673). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/cells14090673>
- Ball, M. K., Waypa, G. B., Mungai, P. T., Nielsen, J. M., Czech, L., Dudley, V. J., Beussink, L., Dettman, R. W., Berkelhamer, S. K., Steinhorn, R. H., Shah, S. J., & Schumacker, P. T. (2014). Regulation of hypoxia-induced pulmonary hypertension by vascular smooth muscle hypoxia-inducible factor-1 α . *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 189(3), 314–324. <https://doi.org/10.1164/rccm.201302-0302OC>
- Banerjee, R., & Opotowsky, A. R. (2024). Update on Eisenmenger syndrome – Review of pathophysiology and recent progress in risk assessment and management. *International Journal of Cardiology Congenital Heart Disease*, 17, 100520. <https://doi.org/10.1016/j.ijcchd.2024.100520>
- Barnes, E. A., Chen, C. H., Sedan, O., & Cornfield, D. N. (2017). Loss of smooth muscle cell

- hypoxia inducible factor-1 α underlies increased vascular contractility in pulmonary hypertension. *FASEB Journal*, 31(2), 650–662. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5240658/>
- Bekeredjian, R., Walton, C. B., MacCannell, K. A., Ecker, J., Kruse, F., Outten, J. T., Sutcliffe, D., Gerard, R. D., Bruick, R. K., & Shohet, R. V. (2010). Conditional HIF-1 α expression produces a reversible cardiomyopathy. *PLoS ONE*, 5(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011693>
- Bilik, M. Z., Oylumlu, M., Oylumlu, M., Acun, B., Arik, B., Arslan, B., Acet, H., Polat, N., & Akil, M. A. (2022). Novel predictor of pulmonary arterial hypertension: Monocyte to HDL cholesterol ratio. *Medicine (United States)*, 101(34), E29973. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000029973>
- Bishop, T., & Ratcliffe, P. J. (2015). HIF Hydroxylase Pathways in Cardiovascular Physiology and Medicine. In *Circulation Research* (Vol. 117, Issue 1, pp. 65–79). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.305109>
- Bond, J., Gale, D. P., Connor, T., Adams, S., De Boer, J., Gascoyne, D. M., Williams, O., Maxwell, P. H., & Ancliff, P. J. (2011). Dysregulation of the HIF pathway due to VHL mutation causing severe erythrocytosis and pulmonary arterial hypertension. In *Blood* (Vol. 117, Issue 13, pp. 3699–3701). American Society of Hematology. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-327569>
- Brookes, A. J. (1999). The essence of SNPs. In *Gene* (Vol. 234, Issue 2, pp. 177–186). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00219-X)
- Brusselmans, K., Compennolle, V., Tjwa, M., Wiesener, M. S., Maxwell, P. H., Collen, D., & Carmeliet, P. (2003). Heterozygous deficiency of hypoxia-inducible factor-2 α protects mice against pulmonary hypertension and right ventricular dysfunction during prolonged hypoxia. *Journal of Clinical Investigation*, 111(10), 1519–1527. <https://doi.org/10.1172/JCI15496>
- Bryant, A. J., Robinson, L. J., Moore, C. S., Blackwell, T. R., Gladson, S., Penner, N. L., Burman, A., McClellan, L. J., Polosukhin, V. V., Tanjore, H., McConaha, M. E., Gleaves, L. A., Talati, M. A., Hemnes, A. R., Fessel, J. P., Lawson, W. E., Blackwell, T. S., & West, J. D. (2015). Expression of mutant bone morphogenetic protein receptor II worsens pulmonary hypertension secondary to pulmonary fibrosis. *Pulmonary Circulation*, 5(4), 681–690. <https://doi.org/10.1086/683811>
- Bushuev, V. I., Miasnikova, G. Y., Sergueeva, A. I., Polyakova, L. A., Okhotin, D., Gaskin, P. R., Debebe, Z., Nekhai, S., Castro, O. L., Prchal, J. T., & Gordeuk, V. R. (2006). Endothelin-1, vascular endothelial growth factor and systolic pulmonary artery pressure in patients with Chuvash polycythemia. *Haematologica*, 91(6), 744–749. <https://connect.rtrn.net/profiles/display/56276>
- Carroll, V. A., & Ashcroft, M. (2006). Role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α versus HIF-2 α in the regulation of HIF target genes in response to hypoxia, insulin-like growth factor-I, or loss of von Hippel-Lindau function: Implications for targeting the HIF pathway. *Cancer Research*, 66(12), 6264–6270. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2519>
- Cerik, I. B., Dindas, F., Koyun, E., Dereli, S., Sahin, A., Turgut, O. O., & Gul, I. (2022). New prognostic markers in pulmonary arterial hypertension: CRP to albumin ratio and uric acid. *Clinical Biochemistry*, 100, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.11.004>
- Cerychova, R., & Pavlinkova, G. (2018). HIF-1, metabolism, and diabetes in the embryonic and adult heart. In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 9, Issue AUG). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00460>
- Chesnel, F., Hascoet, P., Gagné, J. P., Couturier, A., Jouan, F., Poirier, G. G., Le Goff, C., Vigneau, C., Danger, Y., Verite, F., Le Goff, X., & Arlot-Bonnemains, Y. (2015). The von Hippel-Lindau tumour suppressor gene: Uncovering the expression of the pVHL172 isoform. *British Journal of Cancer*, 113(2), 336–344. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.189>
- Comments on the 2022 ESC/ERS guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. (2023). *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 76(5), 294–300.

- <https://doi.org/10.1016/j.rec.2022.11.001>
- Correale, M., Tricarico, L., Bevere, E. M. L., Chirivì, F., Croella, F., Severino, P., Mercurio, V., Magri, D., Dini, F., Licordari, R., Beltrami, M., Dattilo, G., Salzano, A., & Palazzuoli, A. (2024). Circulating Biomarkers in Pulmonary Arterial Hypertension: An Update. In *Biomolecules* (Vol. 14, Issue 5, p. 552). Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/biom14050552>
- Cowburn, A. S., Takeda, N., Boutin, A. T., Kim, J. W., Sterling, J. C., Nakasaki, M., Southwood, M., Goldrath, A. W., Jamora, C., Nizet, V., Chilvers, E. R., & Johnson, R. S. (2013). HIF isoforms in the skin differentially regulate systemic arterial pressure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(43), 17570–17575. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306942110>
- Cowman, S. J., & Koh, M. Y. (2022). Revisiting the HIF switch in the tumor and its immune microenvironment. In *Trends in Cancer* (Vol. 8, Issue 1, pp. 28–42). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2021.10.004>
- Dai, Z., Li, M., Wharton, J., Zhu, M. M., & Zhao, Y. Y. (2016). Prolyl-4 Hydroxylase 2 (PHD2) deficiency in endothelial cells and hematopoietic cells induces obliterative vascular remodeling and severe pulmonary arterial hypertension in mice and humans through hypoxia-inducible factor-2 α . *Circulation*, *133*(24), 2447–2458. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021494>,
- Dai, Z., Zhu, M. M., Peng, Y., Machireddy, N., Evans, C. E., Machado, R., Zhang, X., & Zhao, Y. Y. (2018). Therapeutic targeting of vascular remodeling and right heart failure in pulmonary arterial hypertension with a HIF-2 α inhibitor. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *198*(11), 1423–1434. <https://doi.org/10.1164/rccm.201710-2079OC>
- DesJardin, J. T., Kime, N., Kolaitis, N. A., Kronmal, R. A., Lammi, M. R., Mathai, S. C., Ventetuolo, C. E., & De Marco, T. (2024). Investigating the “sex paradox” in pulmonary arterial hypertension: Results from the Pulmonary Hypertension Association Registry (PHAR). *Journal of Heart and Lung Transplantation*, *43*(6), 901–910. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2024.02.004>
- Döring, F., Onur, S., Fischer, A., Boulay, M. R., Pérusse, L., Rankinen, T., Rauramaa, R., Wolfarth, B., & Bouchard, C. (2010). A common haplotype and the Pro582Ser polymorphism of the hypoxia-inducible factor-1 α (HIF1A) gene in elite endurance athletes. *Journal of Applied Physiology*, *108*(6), 1497–1500. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01165.2009>
- Drevytska, T., Gonchar, E., Okhai, I., Lynnyk, O., Mankovska, I., Klionsky, D., & Dosenko, V. (2018). The protective effect of Hif3 α RNA interference and HIF-prolyl hydroxylase inhibition on cardiomyocytes under anoxia-reoxygenation. *Life Sciences*, *202*, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.021>
- Duan, C. (2016). Hypoxia-inducible factor 3 biology: Complexities and emerging themes. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, *310*(4), C260–C269. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00315.2015>
- Enedina, J.-C., Maria del Pilar, C.-V., VictorAlberto, M.-A., Patricia, M.-B., Javier, F.-T., Alberto, L.-R., & Julio, G. (2018). Hypoxia Inducible Factor-1 α Gene rs11549465 Might be Protective Factor for the Development of Type 1 Diabetes Mellitus. *Endocrinology & Diabetes Research*, *04*(02). <https://doi.org/10.4172/2470-7570.1000131>
- Fagan, K. A., & Badesch, D. B. (2002). Pulmonary hypertension associated with connective tissue disease. In *Progress in Cardiovascular Diseases* (Vol. 45, Issue 3, pp. 225–234). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1053/pcad.2002.129975>
- Gale, D. P., Harten, S. K., Reid, C. D. L., Tuddenham, E. G. D., & Maxwell, P. H. (2008). Autosomal dominant erythrocytosis and pulmonary arterial hypertension associated with an activating HIF2 α mutation. In *Blood* (Vol. 112, Issue 3, pp. 919–921). American Society of Hematology. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-153718>
- Galiè, N., Barberà, J. A., Frost, A. E., Ghofrani, H.-A., Hoeper, M. M., McLaughlin, V. V.,

- Peacock, A. J., Simonneau, G., Vachiery, J.-L., Grünig, E., Oudiz, R. J., Vonk-Noordegraaf, A., White, R. J., Blair, C., Gillies, H., Miller, K. L., Harris, J. H. N., Langley, J., & Rubin, L. J. (2015). Initial Use of Ambrisentan plus Tadalafil in Pulmonary Arterial Hypertension. *New England Journal of Medicine*, 373(9), 834–844. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1413687>
- Gillmeyer, K. R., & Johnson, S. W. (2025). Pulmonary Hypertension Care Delivery in the United States: Is It Time to Get with the Guidelines? In *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* (Vol. 211, Issue 4, pp. 552–554). American Thoracic Society. <https://doi.org/10.1164/rccm.202501-0107ED>
- Gottschalk, P. G., & Dunn, J. R. (2005a). Measuring parallelism, linearity, and relative potency in bioassay and immunoassay data. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 15(3), 437–463. <https://doi.org/10.1081/BIP-200056532>
- Gottschalk, P. G., & Dunn, J. R. (2005b). The five-parameter logistic: A characterization and comparison with the four-parameter logistic. *Analytical Biochemistry*, 343(1), 54–65. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.04.035>
- Gradin, K., Takasaki, C., Fujii-Kuriyama, Y., & Sogawa, K. (2002). The transcriptional activation function of the HIF-like factor requires phosphorylation at a conserved threonine. *Journal of Biological Chemistry*, 277(26), 23508–23514. <https://doi.org/10.1074/jbc.M201307200>
- Graham, B. B., Bandeira, A. P., Morrell, N. W., Butrous, G., & Tuder, R. M. (2010). Schistosomiasis-associated pulmonary hypertension: Pulmonary vascular disease: The global perspective. In *Chest* (Vol. 137, Issue 6 SUPPL., pp. 20S-29S). American College of Chest Physicians. <https://doi.org/10.1378/chest.10-0048>
- Groulx, I., & Lee, S. (2002). Oxygen-Dependent Ubiquitination and Degradation of Hypoxia-Inducible Factor Requires Nuclear-Cytoplasmic Trafficking of the von Hippel-Lindau Tumor Suppressor Protein. *Molecular and Cellular Biology*, 22(15), 5319–5336. <https://doi.org/10.1128/mcb.22.15.5319-5336.2002>
- Gu, X. X., Tang, Z. Z., He, Y. L., Zeng, Z. N., Shi, W. X., Qiao, Y. C., & Wei, Y. S. (2021). A Functional Polymorphism in HIF-3 α Is Related to an Increased Risk of Ischemic Stroke. *Journal of Molecular Neuroscience*, 71(5), 1061–1069. <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01728-z>
- Gu, Y. Z., Moran, S. M., Hogenesch, J. B., Wartman, L., & Bradfield, C. A. (1998). Molecular characterization and chromosomal localization of a third α - class hypoxia inducible factor subunit, HIF3 α . *Gene Expression*, 7(3), 205–213. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6151950/>
- Hachulla, E., Gressin, V., Guillevin, L., Carpentier, P., Diot, E., Sibia, J., Kahan, A., Cabane, J., Francès, C., Launay, D., Mouthon, L., Allanore, Y., Tiev, K. P., Clerson, P., De Groote, P., & Humbert, M. (2005). Early detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: A French nationwide prospective multicenter study. *Arthritis and Rheumatism*, 52(12), 3792–3800. <https://doi.org/10.1002/art.21433>
- Han, C. F., Li, Z. Y., & Li, T. H. (2017). Roles of hypoxia-inducible factor-1 α and its target genes in neonatal hypoxic pulmonary hypertension. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(18), 4167–4180.
- Hanaoka, M., Droma, Y., Basnyat, B., Ito, M., Kobayashi, N., Katsuyama, Y., Kubo, K., & Ota, M. (2012). Genetic Variants in EPAS1 Contribute to Adaptation to High-Altitude Hypoxia in Sherpas. *PLoS ONE*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050566>
- Hara, S., Hamada, J., Kobayashi, C., Kondo, Y., & Imura, N. (2001). Expression and characterization of hypoxia-inducible factor (HIF)-3 α in human kidney: Suppression of HIF-mediated gene expression by HIF-3 α . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 287(4), 808–813. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5659>
- Harun-Or-Roshid, M., Ali, M. B., Jesmin, & Mollah, M. N. H. (2022). Association of hypoxia inducible factor 1-Alpha gene polymorphisms with multiple disease risks: A comprehensive meta-analysis. *PLoS ONE*, 17(8 August), e0273042.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273042>
- Heidbreder, M., Fröhlich, F., Jöhren, O., Dendorfer, A., Qadri, F., & Dominiak, P. (2003). Hypoxia rapidly activates HIF-3 α mRNA expression. *The FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 17(11), 1541–1543. <https://doi.org/10.1096/FJ.02-0963FJE>
- Heresi, G. A., Tang, W. H. W., Aytekin, M., Hammel, J., Hazen, S. L., & Dweik, R. A. (2012). Sensitive cardiac troponin I predicts poor outcomes in pulmonary arterial hypertension. *European Respiratory Journal*, 39(4), 939–944. <https://doi.org/10.1183/09031936.00067011>
- Hettiarachchi, G., & Komar, A. A. (2022). GWAS to identify SNPs associated with common diseases and individual risk: Genome wide association studies (GWAS) to identify SNPs associated with common diseases and individual risk. In *Single Nucleotide Polymorphisms: Human Variation and a Coming Revolution in Biology and Medicine* (pp. 51–76). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-05616-1_4
- Hickey, M. M., Richardson, T., Wang, T., Mosqueira, M., Arguiri, E., Yu, H., Yu, Q. C., Solomides, C. C., Morrissey, E. E., Khurana, T. S., Christofidou-Solomidou, M., & Simon, M. C. (2010a). The von Hippel-Lindau Chuvash mutation promotes pulmonary hypertension and fibrosis in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 120(3), 827–839. <https://doi.org/10.1172/JCI36362>
- Hickey, M. M., Richardson, T., Wang, T., Mosqueira, M., Arguiri, E., Yu, H., Yu, Q. C., Solomides, C. C., Morrissey, E. E., Khurana, T. S., Christofidou-Solomidou, M., & Simon, M. C. (2010b). The von Hippel-Lindau Chuvash mutation promotes pulmonary hypertension and fibrosis in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 120(3), 827–839. <https://doi.org/10.1172/JCI36362>
- Hlavaty, A., Roustit, M., Montani, D., Chaumais, M. C., Guignabert, C., Humbert, M., Cracowski, J. L., & Khouri, C. (2022). Identifying new drugs associated with pulmonary arterial hypertension: A WHO pharmacovigilance database disproportionality analysis. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 88(12), 5227–5237. <https://doi.org/10.1111/bcp.15436>
- Hoepfer, M. M., Badesch, D. B., Ghofrani, H. A., Gibbs, J. S. R., Gombert-Maitland, M., McLaughlin, V. V., Preston, I. R., Souza, R., Waxman, A. B., Grünig, E., Kopeć, G., Meyer, G., Olsson, K. M., Rosenkranz, S., Xu, Y., Miller, B., Fowler, M., Butler, J., Koglin, J., ... Humbert, M. (2023). Phase 3 Trial of Sotatercept for Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension. *New England Journal of Medicine*, 388(16), 1478–1490. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2213558>
- Hoepfer, M. M., Gombert-Maitland, M., Badesch, D. B., Gibbs, J. S. R., Grünig, E., Kopeć, G., McLaughlin, V. V., Meyer, G., Olsson, K. M., Preston, I. R., Rosenkranz, S., Souza, R., Waxman, A. B., Perchenet, L., Strait, J., Xing, A., Manimaran, S., Wang, X., Miller, B., ... Humbert, M. (2025). Efficacy and safety of the activin signalling inhibitor, sotatercept, in a pooled analysis of PULSAR and STELLAR studies. *The European Respiratory Journal*, 65(5), 2401424. <https://doi.org/10.1183/13993003.01424-2024>
- Hoepfer, M. M., Humbert, M., Souza, R., Idrees, M., Kawut, S. M., Sliwa-Hahnle, K., Jing, Z. C., & Gibbs, J. S. R. (2016). A global view of pulmonary hypertension. *The Lancet Respiratory Medicine*, 4(4), 306–322. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00543-3](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00543-3)
- Hojda, S. E., Chis, I. C., & Clichici, S. (2022). Biomarkers in Pulmonary Arterial Hypertension. In *Diagnostics* (Vol. 12, Issue 12, p. 3033). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/diagnostics12123033>
- Holmquist-Mengelbier, L., Fredlund, E., Löfstedt, T., Noguera, R., Navarro, S., Nilsson, H., Pietras, A., Vallon-Christersson, J., Borg, Å., Gradin, K., Poellinger, L., & Pahlman, S. (2006). Recruitment of HIF-1 α and HIF-2 α to common target genes is differentially regulated in neuroblastoma: HIF-2 α promotes an aggressive phenotype. *Cancer Cell*, 10(5), 413–423. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.08.026>
- Hölscher, M., Schäfer, K., Krull, S., Farhat, K., Hesse, A., Silter, M., Lin, Y., Pichler, B. J., Thistlethwaite, P., El-Armouche, A., Maier, L. S., Katschinski, D. M., & Ziesenis, A. (2012). Unfavourable consequences of chronic cardiac HIF-1 α stabilization. *Cardiovascular*

- Research*, 94(1), 77–86. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvs014>
- Hu, C.-J., Wang, L.-Y., Chodosh, L. A., Keith, B., & Simon, M. C. (2003). Differential Roles of Hypoxia-Inducible Factor 1 α (HIF-1 α) and HIF-2 α in Hypoxic Gene Regulation. *Molecular and Cellular Biology*, 23(24), 9361–9374. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14645546/>
- Huang, L. E., Gu, J., Schau, M., & Bunn, H. F. (1998). Regulation of hypoxia-inducible factor 1 α is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(14), 7987–7992. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.14.7987>
- Human Protein Atlas. (n.d.-a). *EPAS1 gene information - The Human Protein Atlas*. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000116016-EPAS1>
- Human Protein Atlas. (n.d.-b). *HIF1A gene information - The Human Protein Atlas*. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000100644-HIF1A/summary/gene>
- Human Protein Atlas. (n.d.-c). *HIF3A gene information- The Human Protein Atlas*. <https://v19.proteinatlas.org/ENSG00000124440-HIF3A/tissue#:~:text=Ubiquitous nuclear and cytoplasmic expression>
- Humbert, M., Kovacs, G., Hoeper, M. M., Badagliacca, R., Berger, R. M. F., & Brida, M. (2022). 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *European Heart Journal*. <https://www.acc.org/Latest-in-Cardiology/ten-points-to-remember/2022/08/30/19/11/2022-ESC-Guidelines-for-Pulmonary-Hypertension-ESC-2022>
- Humbert, M., Kovacs, G., Hoeper, M. M., Badagliacca, R., Berger, R. M. F., Brida, M., Carlsen, J., Coats, A. J. S., Escribano-Subias, P., Ferrari, P., Ferreira, D. S., Ghofrani, H. A., Giannakoulas, G., Kiely, D. G., Mayer, E., Meszaros, G., Nagavci, B., Olsson, K. M., Pepke-Zaba, J., ... Sivakumaran, K. (2022). 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. In *European Heart Journal* (Vol. 43, Issue 38, pp. 3618–3731). Oxford Academic. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac237>
- Humbert, M., McLaughlin, V., Gibbs, J. S. R., Gomberg-Maitland, M., Hoeper, M. M., Preston, I. R., Souza, R., Waxman, A., Escribano Subias, P., Feldman, J., Meyer, G., Montani, D., Olsson, K. M., Manimaran, S., Barnes, J., Linde, P. G., de Oliveira Pena, J., & Badesch, D. B. (2021). Sotatercept for the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension. *New England Journal of Medicine*, 384(13), 1204–1215. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2024277>
- Humbert, M., Sitbon, O., Guignabert, C., Savale, L., Boucly, A., Gallant-Dewavrin, M., McLaughlin, V., Hoeper, M. M., & Weatherald, J. (2023). Treatment of pulmonary arterial hypertension: recent progress and a look to the future. In *The Lancet Respiratory Medicine* (Vol. 11, Issue 9, pp. 804–819). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(23\)00264-3](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(23)00264-3)
- Iliopoulos, O., & Kaelin, W. G. (1997). The molecular basis of von Hippel-Lindau disease. *Molecular Medicine*, 3(5), 289–293. <https://doi.org/10.1007/bf03401807>
- Inácio Cazeiro, D., Azaredo Raposo, M., Guimarães, T., Lousada, N., Jenkins, D., R. Inácio, J., Moreira, S., Mineiro, A., Freitas, C., Martins, S., Ferreira, R., Luís, R., Cardim, N., Pinto, F. J., & Plácido, R. (2024). Chronic thromboembolic pulmonary hypertension: A comprehensive review of pathogenesis, diagnosis, and treatment strategies. In *Revista Portuguesa de Cardiologia* (Vol. 44, Issue 2, pp. 121–137). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.repc.2024.04.006>
- Ivan, M., Kondo, K., Yang, H., Kim, W., Valiando, J., Ohh, M., Salic, A., Asara, J. M., Lane, W. S., & Kaelin, J. (2001). HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: Implications for O₂ sensing. *Science*, 292(5516), 464–468. <https://doi.org/10.1126/science.1059817>
- Iyer, N. V., Leung, S. W., & Semenza, G. L. (1998). The human hypoxia-inducible factor 1 α gene: HIF1A structure and evolutionary conservation. *Genomics*, 52(2), 159–165. <https://doi.org/10.1006/geno.1998.5416>
- Jain, S., Maltepe, E., Lu, M. M., Simon, C., & Bradfield, C. A. (1998). Expression of ARNT, ARNT2, HIF1 α , HIF2 α and Ah receptor mRNAs in the developing mouse. *Mechanisms of*

- Development*, 73(1), 117–123. [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(98\)00038-0](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(98)00038-0)
- Jamali, Z., Taheri-Anganeh, M., & Entezam, M. (2020). Prediction of potential deleterious nonsynonymous single nucleotide polymorphisms of HIF1A gene: A computational approach. *Computational Biology and Chemistry*, 88, 107354. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107354>
- Jeff Allred. (1997). *Von Hippel-Lindau Disease by Jeff Allred*. [https://www-personal.umd.umich.edu/~jcthomas/JCTHOMAS/1997 Case Studies/J. Allred.html](https://www-personal.umd.umich.edu/~jcthomas/JCTHOMAS/1997%20Case%20Studies/J.%20Allred.html)
- Jentzer, J. C., Morris, J., Costabile, C., Dardari, Z., Batal, O., & Mathier, M. (2015). Abstract 13702: Serum Albumin Predicts Mortality in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*, 132(suppl_3). https://doi.org/10.1161/circ.132.suppl_3.13702
- Jutras-Beaudoin, N., Toro, V., Lajoie, A. C., Breuils-Bonnet, S., Paulin, R., & Potus, F. (2022). Neutrophil-Lymphocyte Ratio as an Independent Predictor of Survival in Pulmonary Arterial Hypertension: An Exploratory Study. *CJC Open*, 4(4), 357–363. <https://doi.org/10.1016/j.cjco.2021.11.010>
- Kaelin, W. G. (2002). Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 2, Issue 9, pp. 673–682). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrc885>
- Kapitsinou, P. P., Rajendran, G., Astleford, L., Michael, M., Schonfeld, M. P., Fields, T., Shay, S., French, J. L., West, J., & Haase, V. H. (2016). The Endothelial Prolyl-4-Hydroxylase Domain 2/Hypoxia-Inducible Factor 2 Axis Regulates Pulmonary Artery Pressure in Mice. *Molecular and Cellular Biology*, 36(10), 1584–1594. <https://doi.org/10.1128/MCB.01055-15>,
- Kido, M., Du, L., Sullivan, C. C., Li, X., Deutsch, R., Jamieson, S. W., & Thistlethwaite, P. A. (2005). Hypoxia-inducible factor 1- α reduces infarction and attenuates progression of cardiac dysfunction after myocardial infarction in the mouse. *Journal of the American College of Cardiology*, 46(11), 2116–2124. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.08.045>
- Kietzmann, T., Mennerich, D., & Dimova, E. Y. (2016). Hypoxia-Inducible Factors (HIFs) and phosphorylation: Impact on stability, localization, and transactivity. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 4, Issue FEB, p. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00011>
- Kim, B. Y., Kim, H., Cho, E. J., & Youn, H. D. (2008). Nur77 upregulates HIF- α by inhibiting pVHL-mediated degradation. *Experimental and Molecular Medicine*, 40(1), 71–83. <https://doi.org/10.3858/emm.2008.40.1.71>
- Kim, Y. M., Barnes, E. A., Alvira, C. M., Ying, L., Reddy, S., & Cornfield, D. N. (2013). Hypoxia-inducible factor-1 α in pulmonary artery smooth muscle cells lowers vascular tone by decreasing myosin light chain phosphorylation. *Circulation Research*, 112(9), 1230–1233. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.300646>
- Kondo, K., Kim, W. Y., Lechpammer, M., & Kaelin, W. G. (2003). Inhibition of HIF2 α is sufficient to suppress pVHL-defective tumor growth. *PLoS Biology*, 1(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0000083>
- Kopeć, G., Waligóra, M., Tyrka, A., Jonas, K., Pencina, M. J., Zdrojewski, T., Moertl, D., Stokwiszewski, J., Zagozdzon, P., & Podolec, P. (2017). Low-density lipoprotein cholesterol and survival in pulmonary arterial hypertension. *Scientific Reports*, 7. <https://doi.org/10.1038/srep41650>
- Kovacs, G., Bartolome, S., Denton, C. P., Gatzoulis, M. A., Gu, S., Khanna, D., Badesch, D., & Montani, D. (2024). Definition, classification and diagnosis of pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal*, 2401324. <https://doi.org/10.1183/13993003.01324-2024>
- Krishnan, J., Ahuja, P., Bodenmann, S., Knapik, D., Perriard, E., Krek, W., & Perriard, J. C. (2008a). Essential role of developmentally activated hypoxia-inducible factor 1 α for cardiac morphogenesis and function. *Circulation Research*, 103(10), 1139–1146. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000338613.89841.c1>
- Krishnan, J., Ahuja, P., Bodenmann, S., Knapik, D., Perriard, E., Krek, W., & Perriard, J. C.

- (2008b). Essential role of developmentally activated hypoxia-inducible factor 1 α for cardiac morphogenesis and function. *Circulation Research*, 103(10), 1139–1146. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000338613.89841.c1>
- Krowka, M. J., Fallon, M. B., Kawut, S. M., Fuhrmann, V., Heimbach, J. K., Ramsay, M. A. E., Sitbon, O., & Sokol, R. J. (2016). International liver transplant society practice guidelines: Diagnosis and management of hepatopulmonary syndrome and portopulmonary hypertension. In *Transplantation* (Vol. 100, Issue 7, pp. 1440–1452). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001229>
- Leber, L., Beudet, A., & Muller, A. (2021). Epidemiology of pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension: identification of the most accurate estimates from a systematic literature review. *Pulmonary Circulation*, 11(1). <https://doi.org/10.1177/2045894020977300>,
- Lei, L., Mason, S., Liu, D., Huang, Y., Marks, C., Hickey, R., Jovin, I. S., Pypaert, M., Johnson, R. S., & Giordano, F. J. (2008). Hypoxia-Inducible Factor-Dependent Degeneration, Failure, and Malignant Transformation of the Heart in the Absence of the von Hippel-Lindau Protein. *Molecular and Cellular Biology*, 28(11), 3790–3803. <https://doi.org/10.1128/mcb.01580-07>
- Levine, D. J. (2021). Pulmonary arterial hypertension: Updates in epidemiology and evaluation of patients. *American Journal of Managed Care*, 27(3), S35–S41. <https://doi.org/10.37765/AJMC.2021.88609>
- Li, Q. F., & Dai, A. G. (2005). Differential expression of three hypoxia-inducible factor- α subunits in pulmonary arteries of rat with hypoxia-induced hypertension. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 37(10), 665–672. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2005.00095.x>
- Li, W., Xiong, C. M., Gu, Q., Wang, X. T., Cheng, X. L., Huang, L., Yang, T., Luo, Q., Zhao, Z. H., Ni, X. H., Liu, Z. H., & He, J. G. (2018). The clinical characteristics and long-term prognosis of pulmonary arterial hypertension associated with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Pulmonary Circulation*, 8(2). <https://doi.org/10.1177/2045894018759918>
- Liu, A., Price, L. C., Sharma, R., Wells, A. U., & Kouranos, V. (2024). Sarcoidosis Associated Pulmonary Hypertension. In *Biomedicines* (Vol. 12, Issue 1, p. 177). Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12010177>
- Loboda, A., Jozkowicz, A., & Dulak, J. (2012). HIF-1 versus HIF-2 - Is one more important than the other? In *Vascular Pharmacology* (Vol. 56, Issues 5–6, pp. 245–251). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2012.02.006>
- López-Reyes, A., Rodríguez-Pérez, J. M., Fernández-Torres, J., Martínez-Rodríguez, N., Pérez-Hernández, N., Fuentes-Gómez, A. J., Aguilar-González, C. A., Álvarez-León, E., Posadas-Romero, C., Villarreal-Molina, T., Pineda, C., & Vargas-Alarcón, G. (2014). The HIF1A rs2057482 polymorphism is associated with risk of developing premature coronary artery disease and with some metabolic and cardiovascular risk factors. The Genetics of Atherosclerotic Disease (GEA) Mexican Study. *Experimental and Molecular Pathology*, 96(3), 405–410. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2014.04.010>
- Luo, J., Li, Y., Chen, J., Qiu, H., Chen, W., Luo, X., Chen, Y., Tan, Y., & Li, J. (2023). Evaluating the role of serum uric acid in the risk stratification and therapeutic response of patients with pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease (PAH-CHD). *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1238581. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1238581>
- Lv, X., Li, J., Zhang, C., Hu, T., Li, S., He, S., Yan, H., Tan, Y., Lei, M., Wen, M., & Zuo, J. (2017). The role of hypoxia-inducible factors in tumor angiogenesis and cell metabolism. In *Genes and Diseases* (Vol. 4, Issue 1, pp. 19–24). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2016.11.003>
- Macera, F., & Vachiéry, J. L. (2021). Management of Pulmonary Hypertension in Left Heart Disease. In *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal* (Vol. 17, Issue 2, pp. 115–123). Houston Methodist DeBakey Heart and Vascular Center. <https://doi.org/10.14797/RKQN5397>
- Maciejewska, M., Sikora, M., Stec, A., Zaremba, M., Maciejewski, C., Pawlik, K., & Rudnicka, L.

- (2023). Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) as a Biomarker for Changes in Microcirculation in Individuals with Systemic Sclerosis. *Dermatology and Therapy*, 13(7), 1549–1560. <https://doi.org/10.1007/s13555-023-00952-w>
- Mahon, P. C., Hirota, K., & Semenza, G. L. (2001). FIH-1: A novel protein that interacts with HIF-1 α and VHL to mediate repression of HIF-1 transcriptional activity. *Genes and Development*, 15(20), 2675–2686. <https://doi.org/10.1101/gad.924501>
- Makino, Y., Cao, R., Svensson, K., Bertilsson, G., Asman, M., Tanaka, H., Cao, Y., Berkenstam, A., & Poellinger, L. (2001). Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression. *Nature*, 414(6863), 550–554. <https://doi.org/10.1038/35107085>
- Makino, Y., Kanopka, A., Wilson, W. J., Tanaka, H., & Poellinger, L. (2002). Inhibitory PAS domain protein (IPAS) is a hypoxia-inducible splicing variant of the hypoxia-inducible factor-3 α locus. *Journal of Biological Chemistry*, 277(36), 32405–32408. <https://doi.org/10.1074/jbc.C200328200>
- Maron, B. A. (2023a). Revised Definition of Pulmonary Hypertension and Approach to Management: A Clinical Primer. In *Journal of the American Heart Association* (Vol. 12, Issue 8, p. 29024). American Heart Association Inc. <https://doi.org/10.1161/JAHA.122.029024>
- Maron, B. A. (2023b). Revised Definition of Pulmonary Hypertension and Approach to Management: A Clinical Primer. In *Journal of the American Heart Association* (Vol. 12, Issue 8, p. 29024). American Heart Association Inc. <https://doi.org/10.1161/JAHA.122.029024>
- Maynard, M. A., Evans, A. J., Shi, W., Kim, W. Y., Liu, F. F., & Ohh, M. (2007). Dominant-negative HIF-3 α suppresses VHL-null renal cell carcinoma progression. *Cell Cycle*, 6(22), 2810–2816. <https://doi.org/10.4161/cc.6.22.4947>
- Maynard, M. A., Qi, H., Chung, J., Lee, E. H. L., Kondo, Y., Hara, S., Conaway, R. C., Conaway, J. W., & Ohh, M. (2003). Multiple splice variants of the human HIF-3 α locus are targets of the von Hippel-Lindau E3 ubiquitin ligase complex. *Journal of Biological Chemistry*, 278(13), 11032–11040. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208681200>
- Menendez-Montes, I., Escobar, B., Palacios, B., Gómez, M. J., Izquierdo-Garcia, J. L., Flores, L., Jiménez-Borreguero, L. J., Aragonés, J., Ruiz-Cabello, J., Torres, M., & Martín-Puig, S. (2016). Myocardial VHL-HIF Signaling Controls an Embryonic Metabolic Switch Essential for Cardiac Maturation. *Developmental Cell*, 39(6), 724–739. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.11.012>
- Mitra, A., Yi, D., Dai, Z., & de Jesus Perez, V. (2024). Unraveling the role of HIF and epigenetic regulation in pulmonary arterial hypertension: implications for clinical research and its therapeutic approach. *Frontiers in Medicine*, 11, 1460376. <https://doi.org/10.3389/FMED.2024.1460376/XML/NLM>
- Mohlin, S., Hamidian, A., Bexell, D., Pählman, S., & Wigerup, C. (2014). EPAS1 (Endothelial PAS Domain Protein 1). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 8. <https://doi.org/10.4267/2042/54007>
- Mohlin, S., Hamidian, A., & Pählman, S. (2013). HIF2A and IGF2 expression correlates in human neuroblastoma cells and normal immature sympathetic neuroblasts. *Neoplasia (United States)*, 15(3), 328–334. <https://doi.org/10.1593/neo.121706>
- Morrisroe, K., Stevens, W., Sahhar, J., Rabusa, C., Nikpour, M., Proudman, S., Hill, C., Lester, S., Rischmueller, M., Walker, J., Nash, P., Ngian, G., Roddy, J., Strickland, G., Thakkar, V., & Zochling, J. (2017). Epidemiology and disease characteristics of systemic sclerosis-related pulmonary arterial hypertension: Results from a real-life screening programme. *Arthritis Research and Therapy*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13075-017-1250-z>
- Moslehi, J., Minamishima, Y. A., Shi, J., Neuberg, D., Charytan, D. M., Padera, R. F., Signoretti, S., Liao, R., & Kaelin, W. G. (2010). Loss of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase activity in cardiomyocytes phenocopies ischemic cardiomyopathy. *Circulation*, 122(10), 1004–1016. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.922427>
- Mutlu, Z., Kayıkçıoğlu, M., Nalbantgil, S., Vuran, Ö., Kemal, H., Moğulkoç, N., Ertürk, B., Onay,

- H., Eroğlu, Z., & Kültürsay, H. (2016). Sequencing of mutations in the serine/threonine kinase domain of the bone morphogenetic protein receptor type 2 gene causing pulmonary arterial hypertension. *Anatolian Journal of Cardiology*, *16*(7), 491–496. <https://doi.org/10.5152/AnatolJCardiol.2015.6297>
- Naranjo, M., & Hassoun, P. M. (2021). Systemic sclerosis-associated pulmonary hypertension: Spectrum and impact. In *Diagnostics* (Vol. 11, Issue 5, p. 911). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS11050911>
- National Institutes of Health. (2025). *HIF1A hypoxia inducible factor 1 subunit alpha [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3091>
- Niecknig, H., Tug, S., Reyes, B. D., Kirsch, M., Fandrey, J., & Berchner-Pfannschmidt, U. (2012). Role of reactive oxygen species in the regulation of HIF-1 by prolyl hydroxylase 2 under mild hypoxia. *Free Radical Research*, *46*(6), 705–717. <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.669041>
- Nilsson, H., Jögi, A., Beckman, S., Harris, A. L., Poellinger, L., & Pålman, S. (2005). HIF-2 α expression in human fetal paraganglia and neuroblastoma: Relation to sympathetic differentiation, glucose deficiency, and hypoxia. *Experimental Cell Research*, *303*(2), 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2004.10.003>
- Nobel Prize. (2019). *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2019 - Advanced information - NobelPrize.org*. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2019/advanced-information/>
- Peng, Y., Cui, C., He, Y., Ouzhuluobu, Zhang, H., Yang, D., Zhang, Q., Bianbazhuoma, Yang, L., He, Y., Xiang, K., Zhang, X., Bhandari, S., Shi, P., Yangla, Dejiquzong, Baimakangzhuo, Duojizhuoma, Pan, Y., ... Di Rienzo, A. (2017). Down-regulation of EPAS1 transcription and genetic adaptation of tibetans to high-altitude hypoxia. *Molecular Biology and Evolution*, *34*(4), 818–830. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw280>
- Peng, Y. J., Nanduri, J., Khan, S. A., Yuan, G., Wang, N., Kinsman, B., Vaddi, D. R., Kumar, G. K., Garcia, J. A., Semenza, G. L., & Prabhakar, N. R. (2011). Hypoxia-inducible factor 2 α (HIF-2 α) heterozygous-null mice exhibit exaggerated carotid body sensitivity to hypoxia, breathing instability, and hypertension. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108*(7), 3065–3070. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100064108>
- Peter Ratcliffe, P., & Bishop, T. (2014). Signaling hypoxia by hypoxia-inducible factor protein hydroxylases: a historical overview and future perspectives. *Hypoxia*, *2*, 197. <https://doi.org/10.2147/hp.s47598>
- Petousi, N., Croft, Q. P. P., Cavalleri, G. L., Cheng, H. Y., Formenti, F., Ishida, K., Lunn, D., McCormack, M., Shianna, K. V., Talbot, N. P., Ratcliffe, P. J., & Robbins, P. A. (2014). Tibetans living at sea level have a hyporesponsive hypoxia-inducible factor system and blunted physiological responses to hypoxia. *Journal of Applied Physiology*, *116*(7), 893–904. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00535.2013>
- Pientka, F. K., Hu, J., Schindler, S. G., Brix, B., Thiel, A., Jöhren, O., Fandrey, J., Berchner-Pfannschmidt, U., & Depping, R. (2012). Oxygen sensing by the prolyl-4-hydroxylase PHD2 within the nuclear compartment and the influence of compartmentalisation on HIF-1 signalling. *Journal of Cell Science*, *125*(21), 5168–5176. <https://doi.org/10.1242/jcs.109041>
- Pisarcik, S., Maylor, J., Lu, W., Yun, X., Undem, C., Sylvester, J. T., Semenza, G. L., & Shimoda, L. A. (2013). Activation of hypoxia-inducible factor-1 in pulmonary arterial smooth muscle cells by endothelin-1. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, *304*(8), 549–561. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00081.2012>
- Prabhakar, N. R., & Semenza, G. L. (2012). Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2. *Physiological Reviews*, *92*(3), 967–1003. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00030.2011>
- Pulido, T., Adzerikho, I., Channick, R. N., Delcroix, M., Galiè, N., Ghofrani, H.-A., Jansa, P., Jing, Z.-C., Le Brun, F.-O., Mehta, S., Mittelholzer, C. M., Perchenet, L., Sastry, B. K. S., Sitbon, O., Souza, R., Torbicki, A., Zeng, X., Rubin, L. J., & Simonneau, G. (2013). Macitentan and

- Morbidity and Mortality in Pulmonary Arterial Hypertension. *New England Journal of Medicine*, 369(9), 809–818. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1213917>
- Pullamsetti, S. S., Mamazhakypov, A., Weissmann, N., Seeger, W., & Savai, R. (2020). Hypoxia-inducible factor signaling in pulmonary hypertension. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(11), 5638–5651. <https://doi.org/10.1172/JCI137558>
- Rajagopalan, N., Borlaug, B. A., Bailey, A. L., Eckman, P. M., Guglin, M., Hall, S., Montgomery, M., Ramani, G., & Khazanie, P. (2024). Practical Guidance for Hemodynamic Assessment by Right Heart Catheterization in Management of Heart Failure. In *JACC: Heart Failure* (Vol. 12, Issue 7, pp. 1141–1156). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2024.03.020>
- Raju, C. H., & Ravindranath, M. (2021). Hyperuricemia in patients with pulmonary hypertension: A study in a tertiary care center. *IP Indian Journal of Immunology and Respiratory Medicine*, 6(3), 173–177. <https://doi.org/10.18231/j.ijirm.2021.038>
- Richter, S., Qin, N., Pacak, K., & Eisenhofer, G. (2013). Role of hypoxia and *hif2α* in development of the sympathoadrenal cell lineage and chromaffin cell tumors with distinct catecholamine phenotypic features. In *Advances in Pharmacology* (Vol. 68, pp. 285–317). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411512-5.00014-2>
- Rosenkranz, S., Howard, L. S., Gomberg-Maitland, M., & Hoeper, M. M. (2020). Systemic Consequences of Pulmonary Hypertension and Right-Sided Heart Failure. *Circulation*, 141(8), 678–693. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.022362>
- Roy, A. K., McCullagh, B. N., Segurado, R., McGorrian, C., Keane, E., Keaney, J., Fitzgibbon, M. N., Mahon, N. G., Murray, P. T., & Gaine, S. P. (2014). Detection of high-sensitivity troponin in outpatients with stable pulmonary hypertension identifies a subgroup at higher risk of adverse outcomes. *Journal of Cardiac Failure*, 20(1), 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2013.12.001>
- Ruiter, G., Lankhorst, S., Boonstra, A., Postmus, P. E., Zweegman, S., Westerhof, N., Van Der Laarse, W. J., & Vonk-Noordegraaf, A. (2011). Iron deficiency is common in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *European Respiratory Journal*, 37(6), 1386–1391. <https://doi.org/10.1183/09031936.00100510>
- Sable, C. A., Aliyu, Z. Y., Dham, N., Nouraie, M., Sachdev, V., Sidenko, S., Miasnikova, G. Y., Polyakova, L. A., Sergueeva, A. I., Okhotin, D. J., Bushuev, V., Remaley, A. T., Niu, X., Castro, O. L., Gladwin, M. T., Kato, G. J., Prechal, J. T., & Gordeuk, V. R. (2012). Pulmonary artery pressure and iron deficiency in patients with upregulation of hypoxia sensing due to homozygous VHLR200W mutation (Chuvash polycythemia). *Haematologica*, 97(2), 193–200. <https://doi.org/10.3324/haematol.2011.051839>
- Sahay, S., Melendres-Groves, L., Pawar, L., & Cajigas, H. R. (2017). Pulmonary Hypertension Care Center Network: Improving Care and Outcomes in Pulmonary Hypertension. *Chest*, 151(4), 749–754. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2016.10.043>
- Sarangi, S., Lanikova, L., Kapralova, K., Acharya, S., Swierczek, S., Lipton, J. M., Wolfe, L., & Prechal, J. T. (2014). The homozygous VHLD126N missense mutation is associated with dramatically elevated erythropoietin levels, consequent polycythemia, and early onset severe pulmonary hypertension. *Pediatric Blood and Cancer*, 61(11), 2104–2106. <https://doi.org/10.1002/pbc.25056>
- Sato, T., & Takeda, N. (2023). The roles of HIF-1α signaling in cardiovascular diseases. In *Journal of Cardiology* (Vol. 81, Issue 2, pp. 202–208). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2022.09.002>
- Savale, L., Akagi, S., Tu, L., Cumont, A., Thuillet, R., Phan, C., Le Vely, B., Berrebeh, N., Huertas, A., Jaïs, X., Cottin, V., Chaouat, A., Tromeur, C., Boucly, A., Jutant, E. M., Mercier, O., Fadel, E., Montani, D., Sitbon, O., ... Guignabert, C. (2021). Serum and pulmonary uric acid in pulmonary arterial hypertension. *European Respiratory Journal*, 58(2). <https://doi.org/10.1183/13993003.00332-2020>
- Selvanathan, M., Jayabalan, N., Kaur, S., Supramaniam, M., & Hussin, N. (2020). Employee

- Productivity in Malaysian Private Higher. *Palarch's Journal of Archaeology of Egypt*, 17(3), 66–79.
- Semenza, G. L. (2014). Hypoxia-inducible factor 1 and cardiovascular disease. *Annual Review of Physiology*, 76, 39–56. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170322>
- Semenza, G. L. (2020). The genomics and genetics of oxygen homeostasis. In *Annual Review of Genomics and Human Genetics* (Vol. 21, Issue Volume 21, 2020, pp. 183–204). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-111119-073356>
- Shastri, B. S. (2009). SNPs: impact on gene function and phenotype. In *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* (Vol. 578, pp. 3–22). Methods Mol Biol. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_1
- Shi, X., Ma, X., Wang, H., He, X., Fan, H., & Mao, Y. (2025). Elevated serum levels of HIF-1 α and VEGF as potential biomarkers in connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension. *Scientific Reports*, 15(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/S41598-025-89130-W;SUBJMETA=250,4019,4023,53,631,692;KWRD=BIOMARKERS,CARDIOLOGY,IMMUNOLOGY,RHEUMATOLOGY>
- Shimoda, L. A., & Laurie, S. S. (2014). HIF and pulmonary vascular responses to hypoxia. In *Journal of Applied Physiology* (Vol. 116, Issue 7, pp. 867–874). American Physiological Society. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00643.2013>
- Simonneau, G., Montani, D., Celermajer, D. S., Denton, C. P., Gatzoulis, M. A., Krowka, M., Williams, P. G., & Souza, R. (2019). Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal*, 53(1). <https://doi.org/10.1183/13993003.01913-2018>,
- Singh, N., Dorfmueller, P., Shlobin, O. A., & Ventetuolo, C. E. (2022). Group 3 Pulmonary Hypertension: From Bench to Bedside. In *Circulation Research* (Vol. 130, Issue 9, pp. 1404–1422). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319970>
- Skuli, N., Liu, L., Runge, A., Wang, T., Yuan, L., Patel, S., Iruela-Arispe, L., Simon, M. C., & Keith, B. (2009). Endothelial deletion of hypoxia-inducible factor-2 α (HIF-2 α) alters vascular function and tumor angiogenesis. *Blood*, 114(2), 469–477. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-12-193581>
- Smith, T. G., Brooks, J. T., Balanos, G. M., Lappin, T. R., Layton, D. M., Leedham, D. L., Liu, C., Maxwell, P. H., McMullin, M. F., McNamara, C. J., Percy, M. J., Pugh, C. W., Ratcliffe, P. J., Talbot, N. P., Treacy, M., & Robbins, P. A. (2006). Mutation of von Hippel-Lindau tumour suppressor and human cardiopulmonary physiology. *PLoS Medicine*, 3(7), 1178–1186. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030290>
- Smythies, J. A., Sun, M., Masson, N., Salama, R., Simpson, P. D., Murray, E., Neumann, V., Cockman, M. E., Choudhry, H., Ratcliffe, P. J., & Mole, D. R. (2019). Inherent DNA -binding specificities of the HIF -1 α and HIF -2 α transcription factors in chromatin . *EMBO Reports*, 20(1). <https://doi.org/10.15252/EMBR.201846401>,
- Takeda, Y., Takeda, Y., Tomimoto, S., Tani, T., Narita, H., & Kimura, G. (2010). Bilirubin as a prognostic marker in patients with pulmonary arterial hypertension. *BMC Pulmonary Medicine*, 10, 22. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-10-22>
- Tan, L., Yang, X., Zhang, J., & Zhou, K. (2024). Correlation Between HIF1-A Expression and Airway Remodeling in COPD. *International Journal of COPD*, 19, 921–931. <https://doi.org/10.2147/COPD.S447256>
- Tan, Q., Kerestes, H., Percy, M. J., Pietrofesa, R., Chen, L., Khurana, T. S., Christofidou-Solomidou, M., Lappin, T. R. J., & Lee, F. S. (2013). Erythrocytosis and pulmonary hypertension in a mouse model of human HIF2A gain of function mutation. *Journal of Biological Chemistry*, 288(24), 17134–17144. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.444059>
- Tanaka, T., Wiesener, M., Bernhardt, W., Eckardt, K. U., & Warnecke, C. (2009). The human HIF (hypoxia-inducible factor)-3 α gene is a HIF-1 target gene and may modulate hypoxic gene induction. *Biochemical Journal*, 424(1), 143–151. <https://doi.org/10.1042/BJ20090120>

- Tanimoto, K. (2000). Mechanism of regulation of the hypoxia-inducible factor-1 α by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *The EMBO Journal*, 19(16), 4298–4309. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.16.4298>
- Tekin, D., Dursun, A. D., & Xi, L. (2010). Hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) and cardioprotection. In *Acta Pharmacologica Sinica* (Vol. 31, Issue 9, pp. 1085–1094). Acta Pharmacol Sin. <https://doi.org/10.1038/aps.2010.132>
- Tetty, A., Jiang, Y., Li, X., & Li, Y. (2021). Therapy for Pulmonary Arterial Hypertension: Glance on Nitric Oxide Pathway. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 12, p. 767002). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.767002>
- Thiwanka Wijeratne, D., Lajkosz, K., Brogly, S. B., Diane Lougheed, M., Jiang, L., Housin, A., Barber, D., Johnson, A., Doliszny, K. M., & Archer, S. L. (2018). Increasing Incidence and Prevalence of World Health Organization Groups 1 to 4 Pulmonary Hypertension: A Population-Based Cohort Study in Ontario, Canada. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, 11(2), 3973. <https://doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.117.003973>
- Tian, H., McKnight, S. L., & Russell, D. W. (1997). Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. *Genes and Development*, 11(1), 72–82. <https://doi.org/10.1101/gad.11.1.72>
- Tsai, H., Sung, Y. K., & de Jesus Perez, V. (2016). Recent advances in the management of pulmonary arterial hypertension. In *F1000Research* (Vol. 5, Issue 2, pp. 1–13). MA Healthcare London. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9739.1>
- Türk Toraks Derneği. (2024). *Pulmoner Hipertansiyon Tanı ve Tedavi Uzlaşma Raporu*. https://toraks.org.tr/site/sf/documents/pre_migration/85812633dfe6604f2e73bd043fc730f1f198b6c4d214ef9a8f1aec5da0d83c6d.pdf
- Vahanian, A., Beyersdorf, F., Praz, F., Milojevic, M., Baldus, S., Bauersachs, J., Capodanno, D., Conradi, L., De Bonis, M., De Paulis, R., Delgado, V., Freemantle, N., Gilard, M., Haugaa, K. H., Jeppsson, A., Jüni, P., Pierard, L., Prendergast, B. D., Sádaba, J. R., ... Wojakowski, W. (2022). 2021 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease: Developed by the Task Force for the management of valvular heart disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Revista Espanola de Cardiologia (English Ed.)*, 75(6), 524. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2022.05.006>
- Wang, V., Davis, D. A., Haque, M., Huang, L. E., & Yarchoan, R. (2005). Differential gene up-regulation by hypoxia-inducible factor-1 α and hypoxia-inducible factor-2 α in HEK293T cells. *Cancer Research*, 65(8), 3299–3306. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-4130>
- Wang, W. J., Ouyang, C., Yu, B., Chen, C., Xu, X. F., & Ye, X. Q. (2021). Role of hypoxia-inducible factor-2 α in lung cancer (Review). In *Oncology Reports* (Vol. 45, Issue 5). <https://doi.org/10.3892/OR.2021.8008>
- Wang, Y., Lin, A., He, R., Chen, C., Zeng, X., Pan, Y., Mao, C., Xie, C., Huang, D., Deng, Y., Zhang, X., Lu, J., & Wang, X. (2023). The role of EPAS1 polymorphisms on COPD susceptibility in southern Chinese. *Heliyon*, 9(10), e20226. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20226>
- Watanabe, T., Ishikawa, M., Abe, K., Ishikawa, T., Imakiire, S., Masaki, K., Hosokawa, K., Fukuuchi, T., Kaneko, K., Ohtsubo, T., Hirano, M., Hirano, K., & Tsutsui, H. (2021). Increased lung uric acid deteriorates pulmonary arterial hypertension. *Journal of the American Heart Association*, 10(23). <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.022712>
- Wiesener, M. S., Jürgensen, J. S., Rosenberger, C., Scholze, C. K., Hörstrup, J. H., Warnecke, C., Mandriota, S., Bechmann, I., Frei, U. A., Pugh, C. W., Ratcliffe, P. J., Bachmann, S., Maxwell, P. H., & Eckardt, K. U. (2003). Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2 α in distinct cell populations of different organs. *The FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 17(2), 271–273. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0445fje>

- Wu, J., Huang, Q., Zhang, Y., De, Z., Fu, H., Zhan, Y., Gu, Y., & Xie, J. (2025). Impact of BMP2 mutation on the severity of pulmonary arterial hypertension: a systematic review and meta-analysis. In *Respiratory Research* (Vol. 26, Issue 1, pp. 1–14). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12931-025-03145-5>
- Xue, L., Yang, Y., Sun, B., Liu, B., Zeng, Q., & Xiong, C. (2021). Mildly elevated pulmonary arterial pressure is associated with a high risk of progression to pulmonary hypertension and increased mortality: A systematic review and meta-analysis. In *Journal of the American Heart Association* (Vol. 10, Issue 7, p. 18374). American Heart Association Inc. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.018374>
- Yang, F., Gu, Y., Yan, Y., Wang, P., Wang, M., Chen, J., Du, X., & Wang, G. (2025). The association of HIF1A gene polymorphism and its expression with ischemic stroke. *Scientific Reports*, 15(1), 14600. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-99418-6>
- Yang, J., Madani, M. M., Mahmud, E., & Kim, N. H. (2023). Evaluation and Management of Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. In *Chest* (Vol. 164, Issue 2, pp. 490–502). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2023.03.029>
- Yu, A. Y., Shimoda, L. A., Iyer, N. V., Huso, D. L., Sun, X., McWilliams, R., Beaty, T., Sham, J. S. K., Wiener, C. M., Sylvester, J. T., & Semenza, G. L. (1999). Impaired physiological responses to chronic hypoxia in mice partially deficient for hypoxia-inducible factor 1 α . *Journal of Clinical Investigation*, 103(5), 691–696. <https://doi.org/10.1172/JCI5912>
- Zhang, P., Yao, Q., Lu, L., Li, Y., Chen, P. J., & Duan, C. (2014). Hypoxia-Inducible Factor 3 Is an Oxygen-Dependent Transcription Activator and Regulates a Distinct Transcriptional Response to Hypoxia. *Cell Reports*, 6(6), 1110–1121. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.02.011>
- Zhao, Y., Xing, C., Deng, Y., Ye, C., & Peng, H. (2024). HIF-1 α signaling: Essential roles in tumorigenesis and implications in targeted therapies. In *Genes and Diseases* (Vol. 11, Issue 1, pp. 234–251). KeAi Communications Co. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.02.039>
- Zinellu, A., & Mangoni, A. A. (2024). The association between the neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, and monocyte-to-lymphocyte ratio and systemic sclerosis and its complications: a systematic review and meta-analysis. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1395993>

