

Pulmoner arteriyel hipertansiyonda yeni tedavi yaklaşımları

Levent Kart, Esin Oğul

Vakıf Gureba Eğ ve Ar Hastanesi. Göğüs Hastalıkları kliniği

PAH pek çok hastalık ile birlikte görülebilir. Bu geniş hastalık grubu 1998 de Evian (Fransa) da sınıflandırılmış ve daha sonra 2003 yılında Venedik 'de bazı küçük değişiklikler yapılmıştır. Sınıflandırma sadece neden olan patobiyolojik mekanizmalara göre değil aynı zamanda, beklenen tedavi cevabına göre yapılmıştır. 1980 lerin ortalarına kadar PAH tanısı alan hastaların ortalama yaşam süresi, tanı aldıktan sonra ortalama 3 yıl idi (1).

Geçtiğimiz son 10 yıl boyunca hastalığın patofizyolojisinin iyice anlaşılması ile birlikte tedavide oldukça aşama kaydedilmiştir. Bilimsel çabalar ve klinik çalışmalar, sayesinde PAH etiyojisinde önemli olduğuna inanılan hücrel pathway hedef alınarak yeni tedaviler geliştirilmiştir. Seri randomize çalışmaların ışığında, iloprost, treprostini, bosentan, sitaxsentan ve sildenafil Amerika ve Avrupa da monoterapi ajanı olarak hastalığın değişik formları için lisans almışlardır. Bu ilaçlar sadece semptomları iyileştirmekle kalmayıp aynı zamanda yaşam süresinin uzamasına da katkı sağlamışlardır. Gelişiminin son evresinde olan ve PAH'a spesifik birkaç ilacın daha yakın gelecekte resmi onay alması beklenmektedir. (2)

Güncel tedaviler PAH a bağlı ölümlerin azalmasına ve 5 yıllık sağ-kalım oranında %50 artışına sebep olmuşlardır. Fakat bu gelişmelere rağmen hastalık halen hayatı tehdit edici olup pek çok hasta tedaviye rağmen kötüleşmektedir. Fonksiyonel durumun ve hemodinaminin bozulması durumunda değişik ajanların kombine edilmesi, klinik cevap beklentisi ile pek çok klinisyen ve spesifik merkez tarafından benimsenmiş ve uygulanmaktadır. (3, 4, 5)

Kombinasyon tedavisi

Kombinasyon tedavisi ile monoterapiye cevapsız hastalarda aynı anda birden fazla patofizyolojik mekanizma hedef alınarak, en üst düzeyde klinik kazanım sağlanması

hedeflenmiştir (6). Burada tedavinin gerekçeleri, aynı anda birden fazla patolojik pathwayin hedeflenmesi, değişik ilaçlarla sinerjik etki sağlanması, PAH progresyonunun önlenmesi, semptom artışının geciktirilmesi, invazif tedavi (transplantasyon) ertelenmesi olarak sıralanabilir. Kombinasyon tedavisinde iki ilaç aynı anda veya ardışık başlanabilir. Önemli olan kombinasyonun güvenilir ve etkin olmasıdır. (3). Hooper ve ark. tedavi hedeflerini, 380 metreden fazla 6 dakika yürüme mesafesi, maximum oksijen alımının 10.4ml/dk/kg üzerine çıkarılması, egzersizde maximum sistolik arter basıncının 120mmHg şeklinde belirledikleri çalışmada PAH lu 123 hastaya, günde iki kez 125 mg bosentan vermişler. Eğer başlangıç hedeflerine ulaşamamışsa max. Günde 3 kez 50 mg olacak şekilde sildenafil tedaviye eklenmiş. Bu kombinasyona rağmen hala hedeflere ulaşamamışsa sonraki adımda iloprost kullanılmıştır. Üçlü kombine tedaviye rağmen hedeflere ulaşamayan hastalarda transplantasyon düşünülmüştür. Olguların %43 ünde ikili kombinasyon,%16 sında üçlü kombinasyon gerekmiştir. %4.2 hastada i.v ilopprost a geçilmiş, bir hastada akciğer nakli gerekmiştir (4). Başka bir çalışmada (Breathe 2) Ortalama yaşları 46 olan idiopatik pulmoner arteriel hipertansiyon (IPAH) veya kollajen doku hastalığı ile ilişkili PAH olan 33 hasta incelenmiş. Hastalara epoprostenol infüzyonu 2ng/kg/dk başlanmış ve 2 gün içinde 14 ng/kg/dk a yükseltilmiş. 11 hastaya plasebo, 22 hastaya ise bosentan eklenmiş. Sonuc olarak total pulmoner damar direnci (TPR) kombinasyon grubunda azalmakla birlikte anlamlı bulunmamış. Yine 6 dk yürüme testi, Borg dispne skoru, fonksiyonel sınıf, mortalite ve hemodinamik parametrelerde de anlamlı fark saptanmamış. Bu çalışmada epoprostenol dozunun düşük tutulması çalışmayı sınırlandırmıştır. Beklenmedik bir şekilde kombinasyon uygulanan grupta Hepatik yan etki

daha düşük saptanmış ancak alt ekstremite ödemi 2 kat ve diyare 3 kat daha fazla görülmüştür. (7)

Ardışık tedavi deneyimleri ile ilgili bir çalışmada ABD de 15 merkezde IPAH ve KDH ilişkili PAH lu Sınıf 3(%94) ve Sınıf 4 (%6) 67 hasta çift kör plasebo kontrollü randomize çalışmaya alınmış. Hastalara 12 hafta Bosentan ve inhale iloprost (6 puff /gün) veya bosentan ve inhale plasebo (6 puff/gün) verilmiş. Başlangıç 6 dk yürüme mesafesi testi 12 hafta sonuçları ile karşılaştırılmış. Plasebo ile karşılaştırıldığında kombinasyon grubunda fonksiyonel sınıfın %34 yükseldiği (% 6ya karşı) PAP da 8mmHg azalma, fonksiyonel durumda hiç kötüleşme saptanmaması (plasebo grubunda %15), pulmoner damar direncinde azalma, Borg dispne indeksinde bazale göre düzelmeye saptanmış. Yan etkiler monoterapi ile benzerlik göstermiş. Özetle bu çalışmada Bosentan tedavisi ile stabil ancak fonksiyonel sınıflamada halen Sınıf 3 ve 4 olan hastalarda tedaviye inhale iloprost eklenmesinin 12. hafta sonunda fonksiyonel klas ve hemodinamiye orta dereceli pozitif katkı sağladığı sonucuna varılmıştır. (8)

Randomize açık, kontrollü COMBI çalışmasında 40 hasta çalışmayı tamamlayabilmiş. Bosentan tedavisi ile stabil IPAH'lı hastalarda inhale iloprost eklenmesinin etki ve güvenilirliğini değerlendirilmiştir. 6 dk yürüme mesafesi testi, maksimum oksijen kullanımı, yaşam kalitesi veya fonksiyonel sınıflandırma açısından fark saptanmamıştır. (9)

PACES çalışma grubunun randomize plasebo kontrollü çalışmasında IPAH veya KDH ile ilişkili PAH'lu sınıf 3 ve sınıf 4 267 hasta çalışmaya alınmış. İnfüzyon yoluyla epoprostenol almakta olan hastalara plasebo veya sildenafil eklenmiş .Stabil epoprostenol almakta olan bu hastalarda 16. hafta sonunda sildenafil eklenen grupta 6 dk.yürüme mesafe testi mesafesinde artış ve hemodinamide düzelmeye, klinik kötüleşmede yavaşlama kaydedilmiştir. (10)

Bosentan ve sildenafil ile ilgili bir çalışmada IPAH lı bosentan tedavisi klinik etkinliğinde azalma olan 9 hastanın (fonksiyonel olarak sınıf 3 %89 u) tedavisine sildenafil eklenmiş ve 3. ay sonunda kardiyak egzersiz testinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düzelmeye saptanmıştır. Ancak 12. ay sonunda değerler yine bosentan monoterapisi düzeylerine dönmüştür. Tüm hastaların fonksiyonel sınıfında da düzelmeye saptanmıştır. Bu çalışmada kombinasyon terapisi iyi tolere edilmiş, ancak hastaların tümünde sildenafil başlanmasına bağlı gelişen yüzde kızarma ve baş ağrısı hafif seyretmiştir. Bunlar dışında ciddi bir yan etki görülmedi. (11).

2007 de sonuçlanan COMPASS çalışmasında ise uzun dönem bosentan kullanan hastalara sildenafil verilerek ,ilacın akut etkileri ortaya konmuştur.Çalışmada 25 mg sildenafil dozunun pulmoner vasküler rezistansı(PVR) ve ortalama PAB düşürdüğü ve kalp debisini artırdığı görülmüştür.(12)

Bosentan tedavisine, iloprost veya beraprost eklenmesi ile ilgili çalışmada ise son 3 aydır oral beraprost alan 11 hasta ve inhale iloprost alan 9 hastanın tedavisine bosentan eklendi. (13). 20 hastanın tümü IPAH lı olup %70 i kadın ve yaş ortalaması 46, % 85 i sınıf 3 idi. 6 ay sonunda 6 dk yürüme mesafesi testinde 64 m artış, diğer 6 ayda 15 m. daha artış saptandı. Kardiyopulmoner egzersiz testlerinde tedavinin 3. ayında düzelmeye görüldü. Tedavi iyi tolere edildi. Plasebo kontrolünün olmayışı çalışmayı sınırlandırmakla birlikte çalışma bu kombinasyonların olası yararlarını göstermek bakımından yararlı olmuştur.

Treprostinil ve bosentan tedavisi çalışmasında Alabama da halen subcutan treprostinil monoterapi almasına rağmen 1 yıldır fonksiyonel sınıf 3 kalan, 9 IPAH, 10 kollajen doku hastalığı olan hastanın tedavisine bosentan eklendi. Sonuç olarak hemodinamik durumda, egzersiz kapasitesinde, 6 dk yürüme mesafesi testinde iyileşme saptandı. (14).

Pek çok çalışmadaki umut verici sonuçlara rağmen kombinasyon tedavi verileri henüz sınırlıdır. Henüz uzun süreli bir çalışmanın verileri yayınlanmamış olup sağ kalım üzerindeki etki prognostik testlere dayandırılmaktadır.

PAH tedavisinde son yaklaşımlar

PAH akciğer mikrosirkülasyonunda proliferasyon ve obstrüksiyon ile karakterli belli durumları kapsar. Damar yapısındaki bu değişiklik (remodeling) pulmoner damar basıncında (PVR) artışa ve sonunda sağ kalp yetmezliğine neden olur (15). PAH patogenezinde, değişmiş nitrik oksit, prostasiklin ve endotelin sentezi, bozulmuş potasyum iyon kanal ve growth faktör reseptör işlevi, artmış extra sellüler matriks üretimi, değişmiş serotonin transporter sistemi, artmış oksidatif stres gibi birçok fizyolojik mekanizmaya bağlı gelişen vasodilatör ve vazokonstriktörlerin disregülasyonu sözkonusudur. Yine ailesel PAH da kemik kaynaklı morfojenetik protein reseptör-2 (BMPR-2) nin mutasyonu saptanmış ancak bu mutasyon saptanan hastaların % 20 sinde PAH gelişmemiştir. Ayrıca pek çok PAH da bu mutasyon yoktur. (16). PAH tedavisini geliştirebilmek için bütün ilgili mekanizmaların

tam olarak aydınlatılması gerekmektedir. Gelecekteki tedavilerin amaç patofizyolojide rol oynayan faktör ve mekanizmaların çok iyi anlaşılacak şekilde tedavide hedef alınması olmalıdır. (17)

Son 10 yılın başarılı klinik çalışmaları ve yeni ilaç geliştirilmesi ile geçmesi gelecek 10 yılın daha verimli geçeceğinin göstergesidir. Güncel tedaviler son ilaçların (yeni endotelin antagonistleri ve prostanoidler) modifikasyonu ve büyük ölçüde yeni pathwayin hedeflenmesi şeklinde olacaktır. PAH patofizyolojisinin hızlı anlaşılması pek çok potansiyel tedavi hedefleri edinilmesine yol açmıştır. Bu hedefler artık vazokonstriksiyondan çok vasküler duvar katlarındaki yoğun proliferasyonun kontrolüne yöneliktir. (18)

Yeni ajanlar

-Reseptör antagonistleri (serotonin)
-Vazoaktif nöropeptidler (vazoaktif intestinal peptid).

-Antiproliferatif ajanlar (imatinib, p38 MAP kinaz inhibitörleri ve statinler)

-Gen terapi ile ilgili yenilikçi yaklaşımlar.

Pek çok araştırmacı bu terapilerle ilgili olarak çeşitli hayvan modellerinde patolojik değişikliklerin geri dönmesinde dahil olmak üzere umut verici sonuçlar yayınlamışlardır.

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) potent bir vazokonstriktördür. PAH patofizyolojisinde yer aldığı düşünülmesiyle potansiyel tedavi hedefi haline gelmiştir. Fare ve insanlarda PAH'ta pulmoner arterlerde artmış 5-HT(2B) reseptör ekspresyonu söz konusudur. Üstelik PAH riskini artırdığı bilinen anoreksik ajan dexfenfluramin selektif 5-HT(2B) reseptör agonistinin aktif metabolitidir. Dexfenfluramin tedavisi hipoksiye bağlı pulmoner arter basıncını artırır. Artmış elastaz aktivitesi, growth faktör (TGF) β seviyeleri kronik hipoksik PAH fare modelinde saptanmış ancak genetik olarak veya farmakolojik olarak inaktif 5-HT(2B) reseptörüne sahip farelerde saptanmamıştır. (19)

Serotonin taşıyıcı 5-HTT'nin artmış pulmoner resistansı olan hastalarda allelik varyasyon göstermesi serotoninin potansiyel tedavi hedefi olarak gösterilmesinin bir başka nedenidir. Uzun L alleli artmış 5-HTT transkripsiyonu ile beraberdir ve artmış PAH riski taşır. Üstelik homozigot L alleli çocuklukta başlayan PAH'la ilişkilidir. (20) Pulmoner arter düz kaslarından artmış 5-HTT salınımı idiyopatik PAH hastalarda, PH'lı farelerle benzer bulunmuştur. 5-HTT inhibitörleri, 5-HT mitojenik aktivitesini bozarlar. Gerilemiş serum induced growth cevabı hastalar ile kontrol grubu arasında benzerlik

göstermektedir. (21). PAH patofizyolojisinde serotoninin önemli olduğu konusunda genel görüş birliği olmasına rağmen etkilenmiş kişilerde serotonin aksisine optimal etkinin nasıl olduğu konusunda görüş ayrılıkları vardır.

Yüksek selektif 5-HT (2B) antagonistinin (PRX-08066) deneysel yararları hayvan modellerinde gösterilmiştir ve insanda faz 2 çalışmaları planlanmaktadır. İnsanda Escitalopram depresyon tedavisinde kullanılan bir serotonin reuptake inhibitörü (SSRIs) olup Fransa da faz 3 çalışması yapılmaktadır. SSRIs gibi serotonin transportunu düzenleyen ilaçların gelecekte tedavi seçeneği olarak umut vaat edebileceği düşünülmektedir. (22)

Adrenomedullin (AM)

Birkaç etki mekanizması ile PAH in tedavisinde kullanılabilecek bu peptid, pulmoner damar düz kasında proliferasyonu inhibe eder ve vazodilatasyona neden olur (23) İnsan feokromasitom tumorundan izole edilmiştir bir peptiddir. Aynı zamanda kalp, akciğer ve kan damarlarında da olduğu bilinmektedir. AM nin vazodilatör etkisi, NO bağımlı mekanizma c-AMP mediatörünü aracılığıyla gerçekleşir. Bu peptid ek olarak antiinflamatuvar, antioksidan etkiye sahiptir ve natriürezis, pozitif inotropik etki, endotelial hücre apoptozis inhibisyonu, angiogenesis indüklenmesi, kardiomyosit apoptozis inhibisyonu, ve aldosteron üretiminin baskılanması gibi birtakım biyolojik olaylarda da rol oynar. Akciğerde artmış AM mRNA seviyeleri ve AM reseptör salınımı bu mediatörün pulmoner dolaşımında düzenleyici rol oynadığını göstermektedir. AM nin İntravenöz 0.05 mcg/kg/dk. verilmesi ile PAH da akut etkisi başlamaktadır. (24) AM inhalasyonu da PAH lu hastalarda pulmoner hemodinamiyi düzeltmede ve egzersiz kapasitesini artırmada etkilidir. İPAH olan 11 hastada yapılan bir çalışmada 10mcg/kg aerosol AM inhalasyonunun akut hemodinamik etkisi kardiyak kateterizasyon ile saptanmış. AM tedavisi ile sistematik arter basıncında ve kalp hızında değişiklik olmaksızın PVR de %13, MPAP da %22 azalma, saptanmış (25). AM bu nedenle direkt farmakolojik uygulama veya gen terapi ile tamamlanmış olarak gelecek vaat etmektedir.

VIP

Sistemik ve Potent pulmoner vazodilatör etkili 28 aa den oluşan, esasen norotransmitter fonksiyonuna sahip bir nöropeptiddir. Spesifik VIP reseptörleri (VPAC-1 ve VPAC-2) c-AMP ve c-GMP ikincil mesenger sistemlerini aktive

ederler. IPAH lı hastaların akciğer doku ve serumlarında bu peptidin eksikliği saptanmıştır (23). NYHA sınıf 3 ve sınıf 4 sınıflandırmasında yer alan 8 hastada VIP inhalasyonu ile MPAP da düşme saptanmıştır. İnfüzyon yolu ile kullanıldığında PAB azalttığı ve kardiyak debiyi attırdığı görülmüştür. (26) Endojen VIP in metabolik olarak stabil analogu(Ro 25-1553)nun VPAC2 reseptörüne yüksek selektiviteye sahip olduğu gösterilmiştir ve Faz 3 çalışma aşamasındadır.

Retinoidler

Retinoik asit, pulmoner damar düz kasına etki ederek, damarsal kalınlaşmada rol oynadığı düşünülen Vitamin A nın aktif metaolitidir. IPAH lı hastalarda gerilemiş retinoik asit seviyeleri saptanmıştır. Retinoik asit aynı zamanda bilinen hücre büyüme baskılayıcı GADD45A salınımını da indükler. Ratlarda Monokrotalinle indüklenmiş PAH da retinoik asitin PAB ı düşürdüğü, metalloproteinaz-1 (MMP-1) i inhibe ettiği, mRNA over ekspresyonuna neden olduğu saptanmıştır.(27)

Rho-kinaz

Damar düz kasında potent daraltıcı olduğuna dair güçlü kanıtlar olması nedeniyle PAH tedavisinde hedefdir. Fawn-hooded ratlerde geliştirilen PAH da Rho a// Rho kinase sistemin anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (28). Ratlarda akut intravenöz Rho-kinaz inhibitör Y-27632 verilmesi ile kronik hipoksi de düzleme gözlemlenmiştir. Inhale Y-27632 nin hemodinamik etkileri inhale NO dan daha fazladır ve en az 5 saat devam eder. Inhale Fasudil diğer bir Rho-kinaz inhibitörü olup, spontan veya indüklenmiş PAH veya kronik hipoksemisi olan fawn hooded ratlarda selektif MPAP gerilemesine neden olmuştur. Yine indüklenmiş (deneysel olarak) PAH lı deney hayvanlarında yaşam süresinin uzadığı saptanmıştır. PAH lu 8 hastada 30 dakika damar yolu ile verilmesinden sonra sistematik ve pulmoner damar basıncında anlamlı gerileme ve kalp debisinde düzleme saptanmıştır. Bu küçük çalışmada anlamlı bir yan etki saptanmamıştır. Tüm bulgular fasudil in güncel tedavi ajanı olarak denemeye değer olduğunu göstermektedir (29).

Anjiopoetin -1

Çeşitli nedenlere bağlı olarak PAH gelişen hastaların damar yapısında ,normal kontrol grubuna göre daha yüksek Anjiopoetin-1(Ang-1) ekspresyonu ve Ang-1 yüksek seviyeleri ile hemodinamik bozukluğun ciddiyeti arasında

korelasyon saptanmıştır. Endotelial reseptör Tie 2 ye bağlandığında, kemik kaynaklı morfojenetik protein reseptör-2 (BMPR-2)geninin inhibitör etkisi ile normal vasküler apoptozu önlediği görülmüştür. Araştırmacılar hayvan deneylerinde Ang-1'in endotel hücre apoptozunu inhibe ederek, mikrovasküler destrüksiyonuna engel olmak yoluyla PAH gelişimini önlediğini saptamışlardır. (30).

Imatinib mesilat (Growth faktör sentaz inhibitörü)

Trombosit kökenli büyüme faktörünün fosforilasyonunu önleyen bir tirozin kinaz reseptör blokeridir. Ayrıca düz kas hücre proliferasyonunu önleyen ve geri döndüren sinyal yolunu baskılamaktadır.(31) Ghofrani ve arkadaşları sildenafil,bosentan ve inhale iloprostaya yanıtız bir hastada imatinib mesilatın klinik düzleme sağladığını bildirmişlerdir.Düzleme pulmoner hemodinami ve 6 dk.lık yürüme mesafesinde görülmüştür. Sastry nin 5 hastadaki kullanıma dair gözlemleri de cesaret verici olarak yorumlanmıştır. (6,32)

Gen terapisi

PAH tedavisinde birkaç nedenle umut vaat etmektedir. Birincisi PGI2 ve NO gibi antiproliferatif ve vazodilatör ajanlarda eksiklik saptanmıştır. Benzer olarak vazokonstriktör ve proliferatif peptidlerde(endotelin gibi) aşırı salınım görülmesi, bu durumun gen terapi ile önlenebileceğini düşündürmüştür. İkinci olarak, vücutta tüm venöz kanın akciğere iletildiği düşünülürse gen transferi direkt organa değil dolaşıma verilebilir, böylece direkt pulmoner damarlara iletilebilir. Son olarak PAH in ailesel formu olan FPAH sporadik vakalar olarak bildirilmekte bu hastalarda BMPR-2 tanımlanması replasman tedavisini hedeflenmesini sağlamıştır. Hayvan modellerinde denenmekte insanda ileri dönemde planlanmaktadır. (33)

Hücre bazlı tedavi

Endotelial progenitor hücre infüzyonunun PAH lu hayvan modellerinde özellikle nitrik oksit sentaz a bağlı damar hasarını azalttığı na dair (3—zhao et al) birkaç çalışma vardır. Medikal tedaviye dirençli kardiyovasküler hastalarda güvenilirlik ve etkisinin araştırıldığı çalışmalara başlanmıştır. (34)

Diğer potansiyel hedefler

P38 mitogen aktivated protein kinaz(MAPK) aktivitesinin bazı inflamatuvar hastalıkların

patogenezinde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir MCT(monokratalin)le indüklenmiş PAH modelinde bu yolun FR167653 ile inhibisyonu, inflamatuvar sitokinleri azaltmış ve PAH progresyonunu önlemiştir. (35)

Ko-faktör tetrahidrobiopterin (BH4), nitrik oksit sentaz fonksiyonunda önemli bir regülatördür. BH4 üretimini katalize eden enzim GTP-siklohidrolaz 1(GTP-CH 1) dir. Hayvan deneyinde bu enzimin aktivitesinin azalması ile deneklerde PAH geliştiği saptanmıştır. Erken raporlar endotelial BH4 ün gelecekte yeni tedavi hedefi olabileceğini göstermektedir(36)

Yine MCT uyarılmış hayvan modellerinde diğer başka ajanların da faydalı olduğu görülmüştür. Bunlar arasında Trombosit sentaz inhibitör aktiviteli yeni bir prostasiklin agonisti, elastaz inhibitörleri, statinler, kemik iliği kökenli endotel benzeri progenitor hücreler, büyüme reseptörlerini bloke eden ajanlar, fluoksetin ve ketanserin vb serotonin inhibitörleri sayılabilir. Ancak bu deneysel hayvan modelleri insanları tam olarak taklit edememekte, hayvan deneylerinde etkili olan pek çok ilaç insanda etkisiz kalmaktadır. (6)

Kaynaklar

1. Rubin LJ. Primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1997;336(2):111-7.
2. Gaine SP, Rubin LJ. Primary pulmonary hypertension. *Lancet* 1998;352(9129):719-25.
3. D. Callaghan, SP. Gaine. Combination Therapy and New Types of Agents for Pulmonary Arterial Hypertension *Clin Chest Med* 28 (2007) 169-185
4. Hoeper MM, Markevych I, Spiekerkoetter E, et al. Goal-oriented treatment and combination therapy for pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2005;26(5):858-63.
5. Mathai SC, Fisher MR, Houston-Harris T, et al. The addition of sildenafil to bosentan therapy in the treatment of pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2005;128(4):161S-2S.
6. Sastry BK. Pharmacologic treatment for pulmonary arterial hypertension. *Curr Opin Cardiol.* 2006 Nov;21(6):561-8.
7. Humbert M, Barst RJ, Robbins IM, Channick RN, Galiè N, Boonstra A, Rubin LJ, Horn EM, Manes A, Simonneau G. Combination of bosentan with epoprostenol in pulmonary arterial hypertension: BREATHE-2. *Eur Respir J.* 2004 Sep;24(3):353-9.
8. Badesch DB, Abman SH, Simonneau G, Rubin LJ, McLaughlin VV. Medical therapy for pulmonary arterial hypertension: updated ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2007 Jun;131(6):1917-28
9. Hoeper MM, Leuchte H, Halank M, Wilkens H, Meyer FJ, Seyfarth HJ, Wensel R, Ripken F, Bremer H, Kluge S, Hoeffken G, Behr J. Combining inhaled iloprost with bosentan in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 2006 Oct;28(4):691-4.
10. Simonneau G, Rubin LJ, Galiè N, Barst RJ, Fleming TR, Frost AE, Engel PJ, Kramer MR, Burgess G, Collings L, Cossons N, Sitbon O, Badesch DB; PACES Study Group. Addition of sildenafil to long-term intravenous epoprostenol therapy in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2008 Oct 21;149(8):521-30
11. Hoeper MM, Faulenbach C, Golpon H, Winkler J, Welte T, Niedermeyer J. Combination therapy with bosentan and sildenafil in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 2004 Dec;24(6):1007-10
12. Gruenig E, Michelakis E, Vachiéry JL, Vizza CD, Meyer FJ, Doelberg M, Bach D, Dingemans J, Galiè N. Acute hemodynamic effects of single-dose sildenafil when added to established bosentan therapy in patients with pulmonary arterial hypertension: results of the COMPASS-1 study. *J Clin Pharmacol.* 2009 Nov;49(11):1343-52. Epub 2009 Sep 15
13. Jaïs X, D'Armini AM, Jansa P, Torbicki A, Delcroix M, Ghofrani HA, Hoeper MM, Lang IM, Mayer E, Pepke-Zaba J, Perchenet L, Morganti A, Simonneau G, Rubin LJ; Bosentan for treatment of inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension: BENEFiT (Bosentan Effects in inOperable Forms of chronic Thromboembolic pulmonary hypertension), a randomized, placebo-controlled trial. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Dec 16;52(25):2127-34
14. Tapson VF, Gomberg-Maitland M, McLaughlin VV, Benza RL, Widlitz AC, Krichman A, Barst RJ. Safety and efficacy of IV treprostinil for pulmonary arterial hypertension: a prospective, multicenter, open-label, 12-week trial. *Chest.* 2006 Mar;129(3):683-8
15. Gaine S. Pulmonary hypertension. *JAMA* 2000;284(24):3160-8
16. Deng Z, Morse JH, Slager SL, et al. Familial primary pulmonary hypertension is caused by mutation in the bone morphogenetic protein receptor II gene. *Am J Hum Gen* 2000; 73:7-44
17. Newman JH, Fanburg BL, Archer SL, Badesch DB, Barst RJ, Garcia JG, Kao PN, Knowles JA, Loyd JE, McGoon MD, Morse JH, Nichols WC, Rabinovitch M, Rodman

-
- DM, Stevens T, Tuder RM, Voelkel NF, Gail DB; National Heart, Lung and Blood Institute/Office of Rare Diseases. Pulmonary arterial hypertension: future directions: report of a National Heart, Lung and Blood Institute/Office of Rare Diseases workshop. *Circulation*. 2004 Jun 22;109(24):2947-52.
18. Adnot S. Lessons learned from cancer may help in the treatment of pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 2005;115(6):1461-3.
 19. Launay JM, Herve P, Peoc'h K, et al. Function of the serotonin 5-hydroxytryptamine 2B receptor in pulmonary hypertension. *Nat Med* 2002;8(10): 1129-35.
 20. Vachharajani A, Saunders S. Allelic variation in the serotonin transporter (5HTT) gene contributes to idiopathic pulmonary hypertension in children. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334(2): 376-9.
 21. Marcos E, Fadel E, Sanchez O, et al. Serotonin-induced smooth muscle hyperplasia in various forms of human pulmonary hypertension. *Circ Res* 2004;94(9):1263-70.
 22. LJ Rubin. Treatment of pulmonary arterial hypertension: a look to the future. In *pulmonary arterial hypertension* edited by RJ Brast. 2008 John Wiley & Sons Ltd 237-45
 23. Nagaya N, Kangava K. Adrenomedullin in the treatment of pulmonary hypertension. *Peptides* 2007; 25: 2012-18
 24. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, et al. Haemodynamic and hormonal effects of adrenomedullin in patients with pulmonary hypertension. *Heart* 2000;84(6):653-8.
 25. Nagaya N, Kyotani S, Uematsu M, et al. Effects of adrenomedullin inhalation on hemodynamics and exercise capacity in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2004; 109(3):351-6
 26. Petkov V, Mosgoeller W, Ziesche R, Raderer M, Stiebellehner L, Vonbank K, Funk GC, Hamilton G, Novotny C, Burian B, Block LH. Vasoactive intestinal peptide as a new drug for treatment of primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest*. 2003 May;111(9):1339-46.
 27. Qin Y, Zhou A, Ben X, et al. All-trans retinoic acid in pulmonary vascular structural remodeling in rats with pulmonary hypertension induced by monocrotaline. *Chin Med J (Engl)* 2001;114(5):462-5.
 28. Nagaoka T, Gebb SA, Karoor V, et al. Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in pulmonary hypertension of the fawn-hooded rat. *J Appl Physiol* 2006;100(3):996-1002.
 29. Ishikura K, Yamada N, Ito M, et al. Beneficial acute effects of rho-kinase inhibitor in patients with pulmonary arterial hypertension. *Circ J* 2006;70(2):174-8
 30. Zhao YD, Campbell AI, Robb M, et al. Protective role of angiotensin-1 in experimental pulmonary hypertension. *Circ Res* 2003;92(9):984-91
 31. Schermuly RT, Dony E, Ghofrani HA, Pullamsetti S, Savai R, Roth M, Sydykov A, Lai YJ, Weissmann N, Seeger W, Grimminger F. Reversal of experimental pulmonary hypertension by PDGF inhibition. *J Clin Invest*. 2005 Oct;115(10):2811-21
 32. Ghofrani HA, Seeger W, Grimminger F. Imatinib for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2005 Sep 29;353(13):1412-3
 33. LJ Rubin. Treatment of pulmonary arterial hypertension: a look to the future. In *pulmonary arterial hypertension* edited by RJ Brast. 2008 John Wiley & Sons Ltd 237-45
 34. Wang XX, Zhang FR, Shang YP, Zhu JH, Xie XD, Tao QM, Zhu JH, Chen JZ. Transplantation of autologous endothelial progenitor cells may be beneficial in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension: a pilot randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Apr 10;49(14):1566-71.
 35. Lu J, Shimpo H, Shimamoto A, et al. Specific inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase with FR167653 attenuates vascular proliferation in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;128(6): 850-9.
 36. Khoo JP, Zhao L, Alp NJ, et al. Pivotal role for endothelial tetrahydrobiopterin in pulmonary hypertension. *Circulation* 2005;111(16):2126-33.
-