

UNIVERZITA KARLOVA

2. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Kombinační farmakoterapie různých typů plicní hypertenze
Combination pharmacotherapy of different types of pulmonary hypertension

MUDr. Kryštof Krása

Praha, 2023

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního doktorského studijního programu Fyziologie a patofyziologie člověka na Ústavu fyziologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy

Školitel: prof. RNDr. Václav Hampl, DrSc., Ústav fyziologie 2.LF UK, Plzeňská 311, Praha 5 150 06

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady Fyziologie a patofyziologie člověka

dne v odhod.

Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu: prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc., Fyziologický ústav 1. LF UK

Děkan fakulty: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 (tel. 224 435 836).

OBSAH

ABSTRAKT	4
ABSTRACT	7
1. ÚVOD DO PROBLEMATIKY	10
1.1 Plicní hypertenze	10
1.2 Experimentální léčba PH	11
1.3 Animální modely PH	14
1.4 Léky navozená PH	14
2. CÍLE A HYPOTÉZY	16
3. MATERIÁL A METODY	18
4. VÝSLEDKY	20
4.1 Účinky simvastatinu a dehydroepiandrosteron sulfátu proti hypoxické plicní hypertenzi nejsou aditivní	20
4.2 Aktivátor HIF zvyšuje plicní cévní rezistenci	21
4.3 Nový experimentální model levostranného srdečního selhání u potkanů	22
5. DISKUZE	25
5.1 Účinky simvastatinu a dehydroepiandrosteron sulfátu proti hypoxické plicní hypertenzi nejsou aditivní	25
5.2 Aktivátor HIF zvyšuje plicní cévní rezistenci	27
5.3 Nový experimentální model levostranného srdečního selhání u potkanů	28
6. ZÁVĚR	30
7. SOUHRN	31
8. REFERENCE	33
PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA	54

ABSTRAKT

Kombinační farmakoterapie různých typů plicní hypertenze

Plicní hypertenze je skupina onemocnění charakterizovaná zvýšeným středním tlakem v plicnici. Zvláště u skupiny 2, která je asociována se srdečními chorobami a je nejprevalentnější ze všech typů, a u skupiny 3, asociované s plicními chorobami, nebyla doposud vyvinuta žádná dostatečně efektivní léčba krom léčby základního onemocnění, což je v řadě případů problematické. Dehydroepiandrosteron sulfát (DHEA S) a statiny mají v některých ohledech rozdílné mechanismy fungování na plicní hypertenzi, nabízela se tedy otázka efektivity jejich kombinace na plicní hypertenzi oproti každé z látek samostatně. Abychom tuto hypotézu ověřili, vyvolali jsme plicní hypertenzi u dospělých samců potkanů třítydenní expozicí hypoxii (10 % O₂) a léčili je simvastatinem (60 mg/l) a DHEA S (100 mg/l) v pitné vodě, a to buď samostatně, nebo v kombinaci. Jak simvastatin, tak DHEA S snížily střední tlak v plicnici (z průměrné hodnoty \pm s.d. $34,4 \pm 4,4$ na $27,6 \pm 5,9$ a $26,7 \pm 4,8$ mmHg), jejich kombinace však nebyla účinnější ($26,7 \pm 7,9$ mmHg). Rozdíly ve stupni oxidačního stresu (indikovaného koncentrací malondialdehydplazmy), míře produkce superoxidu (elektronová paramagnetická rezonance) nebo hladinách oxidu dusnatého v krvi (chemiluminiscence) nevysvětlovaly nedostatečnou aditivitu účinku DHEA S a simvastatinu na plicní hypertenzi. Navrhujeme, že hlavním mechanismem působení obou léčiv na plicní hypertenzi by mohl být jejich inhibiční účinek na 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-koenzym A reductázu, čímž by se vysvětlovala absence aditivity jejich účinku.

Rozvoj plicní hypertenze může být i nežádoucím efektem léků podávaných pro léčbu jiných onemocnění. Jedním z nových typů léčiv, jejichž mechanismus účinku má společné prvky s mechanismy plicní hypertenze, jsou stabilizátory faktorů indukovatelných hypoxií (HIF), vyvíjené pro použití při anémiích. Proto jsme

testovali hypotézu, že vedlejším účinkem roxadustatu z této skupiny může být plicní hypertenze. Použili jsme izolované, bezbuněčným roztokem perfundované plíce laboratorního potkana. Zjistili jsme, že plicní cévní odpor (měřený jako vztah perfuzního tlaku a průtoku) je roxadustatem zvýšen, a to už po krátké expozici, kdy se ještě neprojevil vliv roxadustatu na hematokrit. Riziko plicní hypertenze při léčbě roxadustatem, je tedy reálné (byť nikoliv enormní) a je na místě ho sledovat. Vazokonstriční reaktivita na akutní hypoxické podněty nebyla roxadustatem signifikantně ovlivněna. HIF se tedy asi příliš neuplatňuje v mechanismu hypoxické plicní vazokonstrikce.

Z důvodu vysoké prevalence plicní hypertenze asociované se srdečním onemocněním, která je navíc málo prozkoumaná, a to zčásti i kvůli náročnosti dostupných experimentálních modelů, bylo třetím cílem práce vytvořit a charakterizovat technicky jednoduchý model tohoto typu plicní hypertenze. Podstata metody spočívá v tom, že se zmenšení průřezu vzestupné aorty nedosahuje zevní svorkou (jako v dosavadních technikách vyžadujících otevření hrudníku), nýbrž částečnou intravaskulární obstrukcí pouhým povrchovým přístupem přes a. carotis (tedy bez otevření hrudníku). Záslepená hadička se touto cestou zavede těsně nad aortální chlopuň laboratorního potkana, kde zvyšuje odpor v aortě a tedy afterload levé komory. Ukázali jsme, že tato procedura je nejen poměrně snadná, ale také že po třech týdnech od zavedení hadičky skutečně působí tlakové přetížení levého srdce (tlak v levé síni na konci diastoly $1,3 \pm 0,2$ mmHg, oproti $0,4 \pm 0,3$ mmHg u kontrol, $P < 0,0001$). Přítomnost plicní hypertenze byla dokumentována měřením tlaku v plícnici katetrizací in vivo ($22,3 \pm 2,3$ vs. $16,9 \pm 2,7$ mmHg, $P = 0,0282$) a detekcí hypertrofie pravé komory a zvýšené muskularizace periferních plicních cév. Podíl vazokonstrikce a prekapilárního cévního segmentu na zvýšené plicní cévní rezistenci byl prokázán normalizací rezistence pomocí vazodilatátoru, nitroprusidu sodného, a technikou arteriální okluze v izolovaných plících. Intravaskulární částečná obstrukce aorty tak nabízí nenáročný model plicní hypertenze vyvolané onemocněním levého srdce, který má vazokonstriční a

prekapilární složku. Jde tedy o nový praktický model plicní hypertenze 2. typu s jasnou prekapilární komponentou, který může být využit pro další studium mechanismů a možných intervencí u této klinicky nejobvyklejší formy plicní hypertenze.

Klíčová slova

Plicní hypertenze, statin, dehydroepiandrosteron, hypoxií-inducibilní faktor, přetížení levé komory srdeční, potkan, skupina 2 plicní hypertenze, srdeční selhání se zachovalou ejekční frakcí, plicní vaskulární reaktivita

ABSTRACT

Combination pharmacotherapy of different types of pulmonary hypertension

Pulmonary hypertension is a group of diseases characterized by increased mean pulmonary artery pressure. Especially in group 2, which is associated with heart disease and is the most prevalent of all types, and in group 3, associated with lung disease, no sufficiently effective treatment has yet been developed beyond the treatment of the underlying disease, which is problematic in many cases. Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA S) and statins have different mechanisms of action on pulmonary hypertension in some respects, so the question of the effectiveness of combining them on pulmonary hypertension versus either agent alone has been offered. To test this hypothesis, we induced pulmonary hypertension in adult male rats by three weeks of exposure to hypoxia (10% O₂) and treated them with simvastatin (60 mg/L) and DHEA S (100 mg/L) in drinking water, either alone or in combination. Both simvastatin and DHEA S reduced mean pulmonary artery pressure (from a mean \pm s.d. value of 34.4 ± 4.4 to 27.6 ± 5.9 and 26.7 ± 4.8 mmHg, respectively), but their combination was not more effective (26.7 ± 7.9 mmHg). Differences in the degree of oxidative stress (as indicated by malondialdehydedehydrplasma concentration), the degree of superoxide production (electron paramagnetic resonance) or blood nitric oxide levels (chemiluminescence) did not explain the lack of additivity of the effect of DHEA S and simvastatin on pulmonary hypertension. We propose that the main mechanism of action of both drugs on pulmonary hypertension could be their inhibitory effect on 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase, thus explaining the absence of additivity of their action.

The development of pulmonary hypertension may also be a side effect of drugs administered for the treatment of other diseases. One of the new types of drugs whose mechanism of action shares common elements with those of pulmonary

hypertension are hypoxia-inducible factor (HIF) stabilizers being developed for use in anemias. Therefore, we tested the hypothesis that a major effect of roxadustat from this group may be pulmonary hypertension. We used isolated, cell-free, solution-perfused lungs from a rat. We found that pulmonary vascular resistance (measured as the ratio of perfusion pressure to flow) was increased by roxadustat, even after a short exposure when the effect of roxadustat on haematocrit had not yet become apparent. The risk of pulmonary hypertension with roxadustat treatment is therefore real (although not enormous) and should be monitored. Vasoconstrictor reactivity to acute hypoxic stimuli was not significantly affected by roxadustat. Thus, HIFs are probably not very involved in the mechanism of hypoxic pulmonary vasoconstriction.

Because of the high prevalence of pulmonary hypertension associated with heart disease, which is also poorly studied, partly due to the difficulty of the available experimental models, the third aim of the study was to develop and characterize a technically simple model of this type of pulmonary hypertension. The essence of the method is that the reduction of the cross-sectional area of the ascending aorta is achieved not by an external clamp (as in previous techniques requiring opening of the chest) but by partial intravascular obstruction by a mere superficial approach through the a. carotis (i.e. without opening the chest). A blinded tube is introduced by this route just above the aortic valve of the laboratory rat, where it increases the resistance in the aorta and thus the afterload of the left ventricle. We have shown that this procedure is not only relatively easy, but also that three weeks after insertion of the tube, it actually causes pressure overload in the left heart (left atrial pressure at end diastole 1.3 ± 0.2 mmHg, compared to 0.4 ± 0.3 mmHg in controls, $P < 0.0001$). The presence of pulmonary hypertension was documented by measurement of pulmonary artery pressure by in vivo catheterization (22.3 ± 2.3 vs. 16.9 ± 2.7 mmHg, $P = 0.0282$) and detection of right ventricular hypertrophy and increased muscularization of peripheral pulmonary vessels. The contribution of vasoconstriction and the pre-capillary vascular segment to increased pulmonary

vascular resistance was demonstrated by normalizing resistance using the vasodilator, sodium nitroprusside, and the arterial occlusion technique in isolated lungs. Thus, intravascular partial aortic obstruction offers an uncomplicated model of pulmonary hypertension induced by left heart disease that has a vasoconstrictive and precapillary component. Thus, it is a new practical model of type 2 pulmonary hypertension with a clear precapillary component that can be used to further study the mechanisms and potential interventions for this most clinically common form of pulmonary hypertension.

Keywords

Pulmonary hypertension, statin, dehydroepiandrosterone, hypoxia-inducible factor, left ventricular overload, rat, group 2 pulmonary hypertension, heart failure with preserved ejection fraction, pulmonary vascular reactivity

1. ÚVOD DO PROBLEMATIKY

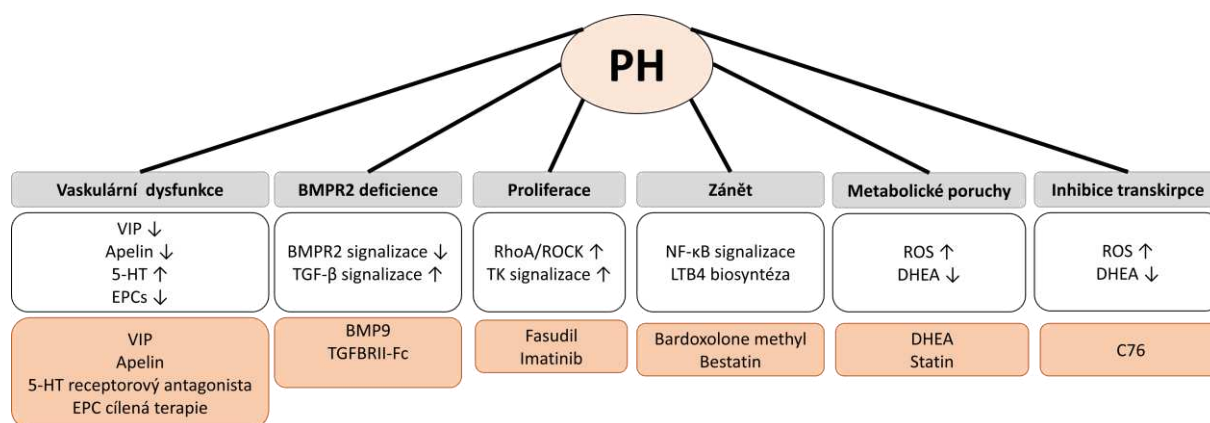
1.1 Plicní hypertenze

Definice, patofyziologie a klasifikace

Plicní hypertenze (PH) je skupina onemocnění charakterizovaná zvýšeným plicním arteriálním tlakem (PAP) a plicní cévní rezistencí (PVR) vedoucí ke zvýšení afterloadu pro pravou srdeční komoru, která adaptivně hypertrofuje, nicméně postupem času bývá tento adaptační mechanismus vyčerpán a dochází k selhání pravého srdce a smrti (Simonneau et al., 2019). Z buněk cévní stěny se na rozvoji onemocnění podílí endotelie, buňky hladkého svalstva i fibroblasty. Excesivní plicní vazokonstrikce je považována za nejčasnější událost celého patofyziologického procesu a souvisí s dysfunkcí endotelu charakterizovanou sníženou produkcí vazodilatačních substancí (oxid dusnatý, prostacyklin) spolu s nadměrnou expresí vazokonstriktorů (endotelin-1, tromboxan,...). Abnormální proliferace buněk hladkého svalstva je nejčasnějším mikroskopicky pozorovatelným rysem vaskulární remodelace, vedoucí k hypertrofii medie periferních plicních tepen. Souběžně dochází k zánětlivé reakci s rozvojem fibrózy intimální vrstvy cév. V pozdním stádiu progresu některých typů PH vede tvorba plexiformních lézí a in situ trombózy k okluzi lumen cév. Klinická klasifikace dělí PH do 5 skupin podle jejich podobného klinického projevu, patologických nálezů, hemodynamických charakteristik a léčebné strategie. Ve skupině 1 je plicní arteriální hypertenze (PAH, dříve též zvaná primární PH), ve skupině 2 je PH v důsledku postižení levého srdce, ve skupině 3 PH v důsledku plicních onemocnění a/nebo hypoxie, ve skupině 4 chronická trombembolická PH a jiné obstrukce plicních tepen a ve skupině 5 PH z neznámých příčin a/nebo s multifaktoriálním mechanismem vzniku (Simonneau et al., 2019).

1.2 Experimentální léčba plicní hypertenze

Recentně bylo identifikováno několik klíčových molekulárních, buněčných a genetických abnormalit, které jsou zásadní pro vaskulární remodelaci u PH. Terapeutické přístupy zaměřené na plicní arteriální homeostázu a proliferaci, zánět, deficienci signalizace receptoru kostního morfogenetického proteinu 2 (BMPR2), mitochondriální/metabolickou dysfunkci a přes ovlivnění transkripčních faktorů mohou být obzvláště slibné (Obr. 1)



Obr. 1 Experimentální léčba plicní hypertenze - bílé bloky jsou doložené poruchy u PH; růžové bloky odpovídají intervencím, které se v experimentu osvědčily.

Apelin je endogenní peptid, který má vasodilatační efekt na plicní cévy prostřednictvím regulace endoteliálního NO a NO syntézy (Kim, 2014). Studie s apelinem na preklinických animálních modelech, prokázaly preventabilitu PH po jeho podání (Alastalo et al., 2011; Falcão-Pires et al., 2009).

Serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT). 5-HT je uvolňován z endotelu a stimuluje proliferaci hladké svaloviny a konstrikci cév přes 5-HT receptory (Liu et al., 2013; Morecroft et al., 2005). Léčba antagonisty 5-HT_{1B} receptorů redukovala 5-HT indukovanou plicní vazokonstrikci u laboratorních potkanů s PH vyvolanou 2-týdenní expozicí hypoxií (Morecroft et al., 2005).

Vasoaktivní intestinální peptid (VIP) je neuropeptidový hormon, který inhibuje proliferaci hladké svaloviny, agregaci destiček, zachycuje reaktivní kyslíkové

radikály a indukuje vasodilataci aktivací receptorů VPAC1, VPAC2 a PAC1 (Laburthe et al., 2002). Suplementace VIP nebulizací prokazatelně zlepšila hemodynamiku u pacientů s PAH, vedoucí ke snížení PVR a zlepšení 6MWD (Archer et al., 2010).

Aktivace BMPR 2 signalizace je účinná v prevenci plicní vaskulární remodelace a snižuje rozsah plicní vaskulární proliferace (Long et al., 2015; Reynolds et al., 2007).

Rho kinázy RhoA/ROCK signalizace se podílí na patogenezi PH prostřednictvím remodelace a vazokonstrikce (Oka et al., 2008; Robertson et al., 2003, 2000). Fasudil je prvním inhibítorem ROCK a jeho podávání bylo spojeno se zlepšením patologických parametrů PH a remodelace plicních arterií u hypoxických a monokrotalinových modelů PH u potkanů (Abe et al., 2006, 2004; Li et al., 2007).

Nukleární faktor kappa B (NF- κ B) je zásadní v patogenezi PAH skrze aktivaci proinflamačních a proliferčních stimulů v hladké svalovině plicních arterií a je zodpovědný za uvolňování vazokonstričně působícího ET-1 (Wort et al., 2009). Farmakologická blokáda NF- κ B u potkanů s experimentálně navozenou monokrotaliní PH byla efektivní a vedla k poklesu PH.

Leukotrien B₄ (LTB₄) je prozánětlivý lipid z arachidonové kyseliny a podání LTB₄ receptorového antagonisty vedlo k redukci hypertrofie PK u monokrotalinového modelu PH u potkanů (Tian et al., 2014).

Objevila se řada studií se *statiny*, potvrzující jejich schopnost alespoň částečně zabránit rozvoji plicní hypertenze u několika experimentálních modelů u potkanů, včetně chronické hypoxie (Girgis et al., 2003; Murata et al., 2005), monokrotalinového (Guerard et al., 2006; Laudi et al., 2007; Rakotoniaina et al., 2006; Satoh and Satoh, 2009; Sun and Ku, 2008), SU5416 v kombinaci s hypoxií (Taraseviciene-Stewart et al., 2006). Kromě prevence plicní hypertenze na zvířecích modelech bylo opakovaně ukázáno, že statiny snižují již rozvinutou plicní hypertenzi u monokrotalinových (Jasińska-Stroschein et al., 2014; Nishimura

et al., 2003; Pei et al., 2011; Satoh and Satoh, 2009) a hypoxií indukovaných (Girgis et al., 2007) potkaních modelů.

Dehydroepiandrosteron (DHEA) je přirozeně se vyskytující steroidní hormon odvozený od cholesterolu (Labrie et al., 2001). Většina efektů DHEA je zprostředkována skrze jeho sulfatovanou formou (DHEA S) (Celec and Stárka, 2003). Membránový potenciál buněk hladké svaloviny je regulován zejména kanály propustnými pro K⁺, konkrétně hlavně BK_{Ca} kanály (Peng et al., 1997) K_v kanály (Chauhan-Patel and Spruce, 1997; Michelakis et al., 2000) a KCNQ kanály (Joshi et al. 2009). DHEA je aktivátor BK_{Ca} kanálů (Arlt et al., 1999; Peng et al., 1997) a potentní antioxidační agens (Iwasaki et al., 2004). Svým účinkem způsobuje hyperpolarizaci membrán buněk hladké svaloviny plicních arteriol s jejich následnou relaxací, rezultující ve vazodilataci. V několika studiích bylo prokázáno, že léčba DHEA / DHEA S částečně zabraňuje rozvoji a je schopna zvrátit experimentálně navozenou plicní hypertenzi (Bonnet et al., 2003; Dumas de la Roque et al., 2013; Hampl et al., 2003; Oka et al., 2007; Zhang et al., 2019, 2019).

Inhibitor translace HIF-2 α (C76). Jak HIF-1 α (hypoxií indukovaný faktor-1 α), tak HIF-2 α jsou důležitými regulátory reakce plicního oběhu na hypoxii (Semenza, 2012; Shimoda and Semenza, 2011). Ball a jeho kolegové prokázali, že genetická delece HIF-1 α v buňkách hladkého svalu u myši redukuje RVSP a tloušťku stěny plicní tepny v reakci na chronickou hypoxii (Ball et al., 2014), naopak „gain-of-function“ mutace HIF-2 α jsou asociovány s těžkou PH u pacientů (Gale et al., 2008). Sugen5416/hypoxického a MCT experimentálního potkaního modelu prokázala účinnost tohoto preparátu ve zvrácení remodelace plicních arterií, inhibici pravostranného srdečního selhání a prodloužení přežití (Dai et al., 2018).

1.3 Animální modely skupiny 2 PH

Zvířecí modely PH v důsledku onemocnění levého srdce (skupina 2)

Dostupné modely používané ke studiu PH2 používají jednu ze tří hlavních strategií (Boucherat et al., 2022). Jednou z nich je cílené poranění levé komory, které vede k jejímu selhání. Příkladem je infarkt myokardu navozený podvazem koronární tepny (Jasmin et al., 2004, 2003) nebo experimentální metabolický syndrom (Lai et al., 2016). Tyto modely věrně napodobují konkrétní klinické situace, ale účinky na plicní oběh mohou být zkresleny jinými účinky primárního experimentálního inzultu. Dalším přístupem je přímé zvýšení tlakového přetížení levé komory zvýšením odporu výtokového traktu levé komory. Toho se dosahuje částečným vnějším zasvorkováním nebo podvázáním vzestupné aorty u myší (Chen et al., 2012; Rockman et al., 1991) nebo častěji u potkanů (suprakoronární aortální bandáž) (Dai et al., 2004; Hentschel et al., 2007; Hunt et al., 2013; Kerem et al., 2010; Lambert et al., 2021; Ranchoux et al., 2019). Třetí možností je částečné zasvorkování velkých plicních žil, nicméně tento přístup byl popsán pouze u větších zvířat (prasat) (Aguero et al., 2014; Pereda et al., 2014; van Duin et al., 2019).

1.4 Léky navozená PH

V roce 1968 vzrostl mezinárodní zájem o PH z důvodu velkého nárůstu počtu pacientů s PH ve Švýcarsku, Německu a Rakousku (Gurtner, 1979; Gurtner et al., 1968) v kontextu užívání v té době nového preparátu na léčbu obezity, aminorexu fumarátu. Úmrtnost byla vysoká, přičemž téměř polovina osob s aminorexem indukovanou PH zemřela do 10 let od stanovení diagnózy (Greiser, 1973). Léky a toxiny navozená PH má dnes v klasifikaci PH své specifické místo.

Interferony (IFN) byly vyvinuty jako léčba různých imunologických onemocnění a maligních procesů (George et al., 2012). V posledních pěti letech se objevily případy, které spojují užívání IFN s rozvojem PAH a vyvolaly obavy o bezpečnost.

týkající se používání těchto látek v klinické praxi (Fruehauf et al., 2001; Jochmann et al., 2005).

Dasatinib Inhibitory tyrozinkinázy jsou klíčovou léčbou pro chronickou myeloidní leukémií, hematologickou malignitu způsobenou chromozomální translokací (BCR/ABL), která vede ke vzniku patogenního tyrozinkinázového proteinu (Montani et al., 2010). Navzdory terapeutickému přínosu dasatinibu u pacientů s CML, četné studie nyní ukázaly, že dasatinib může vést k rozvoji PAH (Montani et al., 2010; Weatherald et al., 2017).

Mitomycin C se používá jako chemoterapeutikum při léčbě různých malignit (Ragonese et al., 2016). V posledních letech byl ale identifikován jako možný rizikový faktor pro plicní venookluzivní nemoc (Gagnadoux et al., 2002).

Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) jsou léky primárně určené k léčbě deprese, nicméně někteří ze zástupců této skupiny jsou užíváni v léčbě obezity. Fenfluramin zvyšuje hladinu cirkulujícího serotoninu a hydroxytyraminu (5-HT) uvolněním z destiček interakcí s 5-HT transportérem (5-HTT) (Friström et al., 1977; Martín and Artigas, 1992). Elevovaný 5-HT následně působí vazokonstrikci malých plicních arterií přes přes 5HT_{1b} receptory (Morecroft et al., 1999) a zvýšenou proliferaci hladké svaloviny (Pitt et al., 1994). *Metamfetamin* je vysoce návykové neurostimulans se systémovými účinky, které mohou mít za následek orgánovou dysfunkci a smrt (Gotway et al., 2002). Molekulární struktura je podobná aminorexu a fenfluraminu, které jsou asociovány s léky navozenou PH (Fishman, 1999). Asociace mezi PAH a užíváním metamfetaminu byla prokázána (Chin et al., 2006; Schaiberger et al., 1993).

2. CÍLE A HYPOTÉZY

Primárním cílem práce bylo ověřit předpoklad, že kombinace dvou látek, z nichž každá se osvědčila (minimálně v experimentu) jako částečná léčba PH, bude pro léčbu PH účinnější než použití každé z těchto látek samostatně. Konkrétně jsme ověřovali kombinaci DHEA S a simvastatinu vůči chronické hypoxické PH (3.skupina PH). Následně jsme ověřovali *de facto* opačný scénář – že látka, která může být vůči nějakému jinému onemocnění užitečná, bude na základě svých vlastností potenciálně problematická vůči plicní cirkulaci (jako se to v minulosti ukázalo např. pro fenfluramin a další). Konkrétně jsme se zaměřili na stabilizátor HIF roxadustat, vhodný pro léčbu anémií. A konečně, při vědomí, že vzhledem k počtu pacientů, které postihuje PH, je mnohem častější PH skupiny 2, než skupiny 3, připravili jsme a charakterizovali jednoduchý animální model PH skupiny 3 jako předpoklad možného budoucího testování dalších léčebných možností vhodných této formy PH. Celkem jsme tedy ve 3 studiích testovali 3 hlavní hypotézy:

Hypotéza 1: Účinky simvastatinu a dehydroepiandrosteron sulfátu proti hypoxické plicní hypertenzi jsou aditivní.

Hypotéza 2: Stabilizátor HIF roxadustat zvyšuje plicní cévní rezistenci.

Hypotéza 3: Intrvaskulární částečná obstrukce vzestupné aorty vyvolá u potkanů levostranné objemové přetížení a „reaktivní“ plicní hypertenzi (tj. PH s komponentou zvýšené plicní arteriální rezistence).

3. MATERIÁL A METODY

Účinky simvastatinu a dehydroepiandrosteron sulfátu proti hypoxické plicní hypertenzi nejsou aditivní

U dospělých samců potkanů kmene Wistar jsme vyvolali plicní hypertenzi třítydenní hypoxickou expozicí (10 % O₂) a léčili je simvastatinem (60 mg/l) (skupina HS) a DHEA S (100 mg/l) (skupina HD) v pitné vodě, a to buď samostatně, nebo v kombinaci (skupina HDS), následně jsme skupiny porovnávali s normoxickými (NC) a hypoxickými kontrolami bez léčby (HC). Předmětem měření byl mPAP (katetrizační technikou), srdeční výdej (UZ sondou), relativní hmotnost srdečních komor a hodnocení oxidačního stresu (oxid dusnatý a jeho oxidační produkty, NO_x, a malondialdehyd).

Aktivátor HIF zvyšuje plicní cévní rezistenci

Jedna skupina byla léčena roxadustatem po dobu 2 týdnů (skupina Rox2w, n=9), další dostala roxadustat pouze jednou a byla zkoumána o 48 h později, aby mohly být ovlivněny případné plicní vaskulární mechanismy řízené HIF, ale účinek na hematokrit se ještě neprojevil (Rox2d, n=9). Kontrolní skupina byla léčena stejně jako Rox2w s tím rozdílem, že jí bylo aplikováno rozpouštědlo bez roxadustatu (n=8). Pro ověření možného vlivu samotného rozpouštědla byla zařazena skupina, která nebyla nijak léčena (skupina bez léčby, 0Tx, n=5). Pro porovnání výsledků se situací přirozeně zvýšené hladiny HIFs byla poslední skupina léčena identicky jako kontrolní, s tím rozdílem, že byla vystavena chronické hypoxii (10 % O₂) po dobu dvou týdnů, během kterých jí bylo injikováno rozpouštědlo (skupina CH, n=6).

Plicní vazoresistivní vlastnosti byly hodnoceny analýzou vztahu perfuzního tlaku a průtoku (P/Q) v izolovaných plicích perfundovaných ex vivo při 40 ml/min/kg tělesné hmotnosti bezbuněčným Krebsovým roztokem se 4 % albuminu (aby se vyloučil zavádějící vliv změn hematokritu) a ventilovaných vzduchem + 5 % CO₂ při 60 deších/min s koncovým výdechovým tlakem +2 cmH₂O (Belohlávková et al., 2001; Herget and Chovanec, 2010). Před izolací plic byli potkani anestezo-

thiopentalem (30 mg/kg BWi.p.) a punkcí srdce jim byl odebrán vzorek krve k měření hematokritu. Vztah P/Q byl stanoven měřením tlaku při perfuzi, která byla nejprve na ~ 30 s zastavena a poté navýšena na 36 ml/min/kg tělesné hmotnosti ve 3 rovnoměrných krocích (vždy ~ 30 s). Protože se vztah P/Q v tomto rozsahu jevil jako blízký lineárnímu, byl vyhodnocen pomocí lineární regrese ($R^2 > 0,8925$).

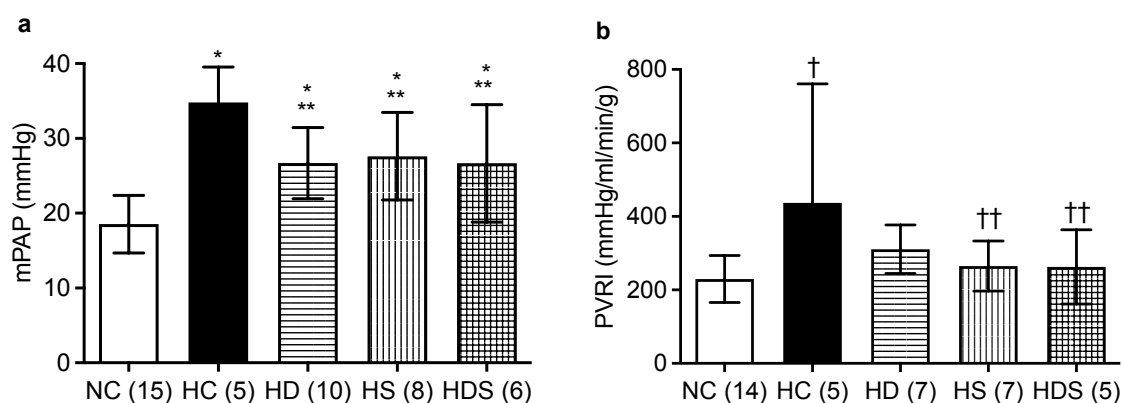
Nový experimentální model LSS u potkanů

U anestetizovaných spontánně dýchajících potkanů byla zpřístupněna pravá karotida a malým řezem v její stěně byla do vzestupné aorty antegrádně zavedena distálně zaslepená polyethylenová hadička (vnější průměr - O.D. 0,96 mm, délka 25 mm) uzavřená na distálním konci a posunuta tak, aby její konec byl těsně nad aortální chlopní. Proximální konec hadičky byl poté připevněn ke krční tepně pomocí stehu. Použili jsme 2 intervenční skupiny: skupina PAO byla v normoxickém prostředí a skupina PAO-H byla vystavena hypoxii ($FiO_2 = 0,1$). Další 2 neintervenční skupiny byly skupina C jako normoxická kontrola a skupina H vystavena hypoxii. Po 3 týdnech byla zjišťována přítomnost tlakového přetížení levého srdce měřením enddiastolického tlaku levé komory přímou punkcí. Přítomnost plicní hypertenze byla zkoumána měřením tlaku v plicní tepně katetrizací in vivo. Podíl zvýšené plicní arteriální rezistence a pasivního přenosu zvýšeného tlaku levého srdce na PH, stejně jako vazokonstrikce byly zjišťovány na izolovaných plicích. Následně byla stanovena míra hypertrofie pravé komory vážením preparátu a muskularizace periferních plicních cév histologickými řezy s příslušným barvením.

4. VÝSLEDKY

4.1 Účinky simvastatinu a dehydroepiandrosteron sulfátu proti hypoxické plicní hypertenzi nejsou aditivní

Hmotnost pravé komory a poměr její hmotnosti k hmotnosti levé komory s interventrikulárním septem byly signifikantně vyšší u všech hypoxických skupin oproti normoxickým kontrolám, nicméně hypoxické se mezi sebou nelišily. Hematokrit se zvýšil ve všech hypoxických skupinách, což naznačuje, že účinky terapie na plicní vaskulární rezistenci a mPAP nebyly způsobeny změnami viskozity krve. Srdeční výdej ani srdeční index se mezi skupinami nelišily. Podle předpokladů se nárůst mPAP způsobený chronickou hypoxií redukoval (přibližně na polovinu) při léčbě samotným DHEA S. Podobně i léčba samotným simvastatinem významně snížila mPAP ve srovnání s hypoxickými kontrolami; účinek snižující mPAP při léčbě statinem byl přibližně stejný jako při léčbě DHEA S (obr. 2a). V rozporu s naší hypotézou ale nevedla současná léčba oběma léčivy (DHEA S + statin) k žádnému dalšímu snížení mPAP (obr. 2a). PVRI, který byl u hypoxických kontrol významně zvýšen, se u žádné z léčených skupin (HD, HS a HDS) významně nelišil od normoxických kontrol a v obou skupinách léčených simvastatinem (HS a HDS) byl významně nižší než u hypoxických kontrol (obr. 2b).



Obr. 2 Střední plicní arteriální tlak (mPAP, a) a index plicní cévní rezistence (PVRI, b), zvýšené chronickou hypoxií, jsou sníženy léčbou DHEA-S, simvastatinem a jejich kombinací.

* $p < 0,002$ vs. NC; † $p = 0,005$ vs. NC; ** $p < 0,013$ vs. HC; †† $p < 0,045$ vs. HC

Plazmatická koncentrace NOx byla významně zvýšena chronickou hypoxií. Hodnoty byly podobné u hypoxických kontrol a u potkanů léčených v hypoxii samotným DHEA S nebo samotným simvastatinem. U potkanů léčených kombinací DHEA S + simvastatin se hodnoty NOx významně nelišily ($p = 0,064$) od hodnot u normoxických kontrol, ale také se významně nelišily ($p = 0,313$) od hypoxických kontrol.

Plazmatická koncentrace malondialdehydu, markeru oxidačního stresu, byla v naší studii jednou z mála proměnných ovlivněných rozpouštědlem, které potkani pili (voda vs. 0,5% ethanol). Hladiny malondialdehydu byly významně vyšší u zvířat pijících tento slabý roztok ethanolu ve srovnání se stejně léčenými konzumujícími vodu. Bylo tomu tak u normoxických kontrol a v menší míře u potkanů léčených DHEA S v hypoxii. Stejný trend existoval i u hypoxických kontrol, kde jsme ovšem měření provedli pouze u dvou potkanů, kteří pili etanol. V tomto případě tedy nejsou údaje průkazné.

4.2 Aktivátor HIF zvyšuje plicní cévní rezistenci

Chronická, ale nikoli akutní léčba roxadustatem zvýšila hematokrit ve srovnání s kontrolní i neléčenou skupinou, ale ne tak výrazně jako chronická hypoxie.

Výchozí perfuzní tlak v izolovaných plicích byl vyšší ve skupině Rox2d ($9,8 \pm 1,6$ mmHg) než v kontrolní skupině ($7,9 \pm 1,8$, $P = 0,0364$). Ve skupině CH byl ještě vyšší ($13,0 \pm 2,0$), a to jak ve srovnání s kontrolami a neléčenými ($P < 0,0001$), tak s

oběma skupinami s roxadustatem ($P \leq 0,0011$). Ve skupině Rox2w činil $9,2 \pm 1,9$ mmHg.

Sklon regresních křivek P/Q se mezi skupinami nelišil (tj. křivky byly rovnoběžné), zatímco průsečík s tlakovou osou byl ve srovnání s kontrolní ($2,6 \pm 1,4$ mmHg) a neléčenou ($1,5 \pm 0,8$) skupinou (které se navzájem nelišily) roxadustatem zvýšen již po 2 dnech ($4,2 \pm 1,5$) a po 2 týdnech se dále neměnil ($3,9 \pm 1,5$). Průsečík s tlakovou osou byl ještě vyšší ve skupině CH ($7,6 \pm 1,1$, $P < 0,0001$ oproti všem ostatním skupinám). Tento parametr odpovídá kritickému uzavíracímu tlaku plicního cévního řečiště.

V souladu s tím se hodnota na které se ustálil perfuzní tlak při zastavení perfuze, nelišila mezi kontrolní ($0,1 \pm 0,6$ mmHg) a neléčenou ($-0,2 \pm 0,5$, $P = 0,6737$) skupinou, ale byla podobně zvýšena ($P < 0,05$) ve skupinách R2d ($0,8 \pm 0,4$) a R2w ($0,8 \pm 0,6$) a ještě více ve skupině CH ($2,1 \pm 1,3$, $P \leq 0,0028$). Tlak při zastavení průtoku odráží kritický uzavírací tlak (pokud by byl kritický uzavírací tlak nulový, pak by se tlak na straně přítoku měl vyrovnat s tlakem na straně odtoku -2 cm H₂O).

4.3 Nový experimentální model levostranného srdečního selhání u potkanů

Náš postup částečné intravaskulární okluze vzestupné aorty přes krční tepnu u potkanů je snadný. Provedení trvá ~10 minut a mortalita je ~10 % u mladých dospělých potkanů (hmotnost <250 g). Tři týdny částečné obstrukce aorty vedly ke ztrátě ~ 10 % tělesné hmotnosti. Jak se očekávalo, chronické vystavení hypoxii rovněž snížilo tělesnou hmotnost (o ~ 20 %, významně více než v případě skupiny s PAO). Tento účinek chronické hypoxie byl dále zvýrazněn současnou částečnou obstrukcí aorty.

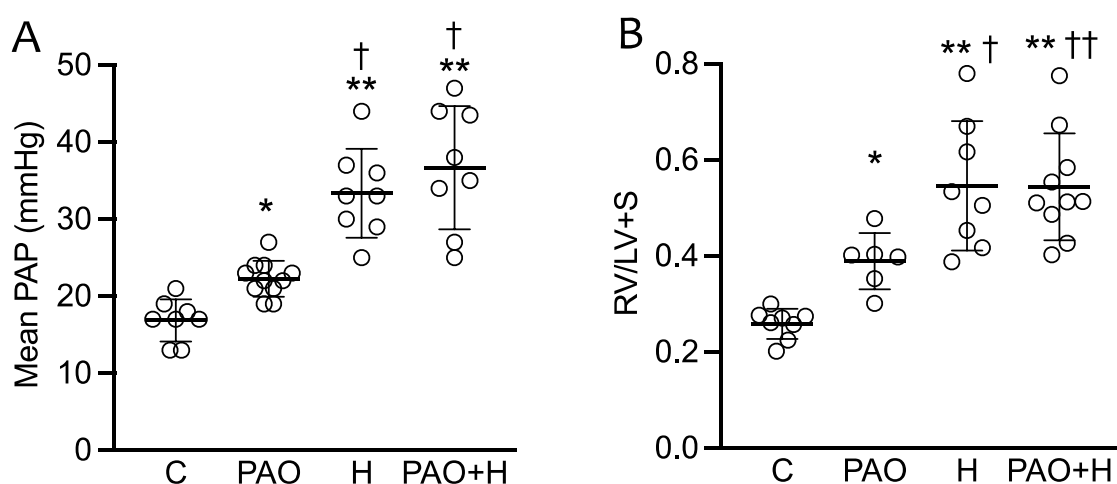
Studie A - potvrzení selhání levé komory

Indukce tlakového přetížení levého srdce naším postupem částečné aortální obstrukce byla potvrzena zvýšeným end-diastolickým tlakem levé komory ve

skupině s PAO ve srovnání s kontrolami. Srdeční frekvence byla vyšší ve skupině PAO než u kontrol.

Studie B - zjišťování přítomnosti plicní hypertenze

mPAP byl po 3 týdnech částečné obstrukce aorty významně vyšší než u kontrolních potkanů. V souladu s tím se zvýšila hmotnost pravé komory, a to jak ve vztahu k tělesné hmotnosti, tak k hmotnosti levé komory plus septa (LV+S). (Obr. 3)



Obrázek 3: Střední plicní arteriální tlak in vivo (A) a hmotnostní index pravé a levé srdeční komory (B) jsou zvýšeny částečnou aortální obstrukcí, chronickou hypoxií a jejich kombinací.

PAP = plicní arteriální tlak, RV/LV+S = hmotnost pravé komory vzhledem k levé komoře a septu. Označení skupin na vodorovné ose viz legenda k obrázku 2. Kolečka představují jednotlivé hodnoty, vodorovné čáry jsou průměry a SD. *P = 0,0282 (v A) nebo 0,0186 (v B) oproti skupině C; **P < 0,0001 oproti skupině C; †P < 0,0001 (v A) nebo P = 0,0058 (v B) oproti skupině PAO; ††P = 0,0045 vs. skupina PAO; Skupina PAO+H vs H: P = 0,1989 (v A) nebo 0,9692 (v B).

Expozice chronické hypoxií zvýšila mPAP (a hmotnost RV) více než částečná aortální obstrukce. Hypertrofie srdce vyvolaná částečnou okluzí aorty byla zcela reverzibilní. Na konci třítydenního období zotavení po odstranění obturační kanyly ze vzestupné aorty, kde byla po dobu 3 týdnů, byl poměr hmotnost LV+S/BW $1,64 \pm 0,13 \times 10^{-3}$ ve srovnání s $1,71 \pm 0,01 \times 10^{-3}$ u kontrol (P = 0,3256; n = 8 a 6).

Poměr hmotnosti RV/BW se rovněž normalizoval ($0,47 \pm 0,08 \times 10^{-3}$ vs $0,48 \pm 0,06 \times 10^{-3}$; $P = 0,6568$), stejně jako poměr RV/LV+S ($0,29 \pm 0,06$ vs. $0,28 \pm 0,03$; $P = 0,9026$). Tento "reverzní postup" měl nulovou mortalitu.

Studie C - podíl plicních tepen na plicní hypertenzi

Výchozí perfuzní tlak byl po 3 týdnech částečné obstrukce aorty významně vyšší než u kontrolních potkanů. Kombinace částečné aortální obstrukce s chronickou hypoxií dále nezvýšila výchozí perfuzní tlak v izolovaných plicích oproti hodnotám zjištěným ve skupinách PAO a H.

Studie D - role vazokonstrikce

Částečná obstrukce aorty vedla ke zvýšenému sklonu křivky (resp. regresní přímky) závislosti tlaku na průtoku v izolovaných plicích. Chronická hypoxie zvýšila její podobně jako částečná aortální obstrukce. Průsečík regresní přímky s tlakovou osou se mezi skupinami nelišila, s výjimkou PAO+H, kde byl vyšší než u kontrol ($5,8 \pm 3,8$ vs. $2,8 \pm 3,6$ mmHg, $P = 0,0074$; $n = 7$ /skupinu).

Studie E - strukturální změny malých prealveolárních cév

Parciální obstrukce aorty vedla 3 týdny po zákroku k výrazně zvýšené muskularizaci prealveolárních plicních cév ($74,2 \pm 3,0$ % periferních cév s muskularizovanou stěnou oproti $24,8 \pm 1,8$ % u kontrol, $P < 0,0001$).

5. DISKUZE

5.1 Účinky simvastatinu a dehydroepiandrosteron sulfátu proti hypoxické plicní hypertenzi nejsou aditivní

Hlavním zjištěním této studie je, že léčba potkanů kombinací DHEA S a simvastatinu je přibližně stejně účinná při snižování plicní hypertenze v hypoxickém modelu potkanů jako každá z těchto léčebných metod samostatně.

Po první zprávě, že léčba statiny může snížit experimentálně navozenou plicní hypertenzi (Nishimura et al., 2002), byla v řadě studií popsána schopnost různých statinů částečně zabránit rozvoji plicní hypertenze na několika modelech potkanů, včetně chronické hypoxie (Girgis et al., 2003; Murata et al., 2005), monokrotalinu (Guerard et al., 2006; Laudi et al., 2007; Pei et al., 2011; Rakotoniaina et al., 2006; Satoh and Satoh, 2009; Sun and Ku, 2008), blokády receptoru pro vakuolární endoteliální růstový faktor v kombinaci s hypoxií (Taraseviciene-Stewart et al., 2006), intransgenních potkanů s nadměrnou expresí reninu (DeMarco et al., 2009) a u potkanů s plicní hypertenzí v důsledku plicní fibrózy vyvolané neomycinem (Schroll et al., 2013). Náš potkaní model plicní hypertenze vyvolané chronickou hypoxií dobře odpovídá situaci pacientů s CHOPN, u nichž je hlavní příčinou vzniku plicní hypertenze jejich chronicky hypoxemický stav.

DHEA/DHEA S má antioxidační aktivitu spojenou s inhibicí syntézy NADPH (Schwartz and Pashko, 2004), stimuluje uvolňování NO (Liu and Dillon, 2002; Simoncini et al., 2003) a BKCa kanálů (Bonnet et al., 2003; Farrukh et al., 1998; Peng et al., 1999), které zprostředkovávají vazodilataci v plicním oběhu (Hampl et al., 1995; Yuan, 1995). DHEA také inhibuje napětově řízené Ca²⁺ kanály typu L, čímž napodobuje jednu důležitou větev zavedené terapie plicní hypertenze. Vzhledem k těmto vlastnostem a vzhledem k tomu, že jehoexogenní podávání je u lidí dobře tolerováno, je DHEA (nebo DHEA S) atraktivní jako potenciální léčba plicní hypertenze.

Proč nejsou účinky simvastatinu a DHEA S na plicní hypertenzi aditivní? Jedním z rozdílů v mechanismu účinku statinů a DHEA je jejich vliv na různé K kanály, které řídí membránový potenciál buněk hladkého svalstva plicních arterií, a tím i jejich napětí. DHEA aktivuje K_{Ca} kanály (Farrukh et al., 1998), konkrétně na charybdotoxin citlivý $BK_{Ca}(KCa1.1)$ (Bonnet et al., 2003; Peng et al., 1999). Možná aktivace K_V kanálů DHEA byla různými autory potvrzena (Bonnet et al., 2003) i vyloučena (s možnou výjimkou $K_V1.3$) (Peng et al., 1999). Vliv statinů na aktivitu BK_{Ca} kanálů nebyl zaznamenán, ačkoli mohou aktivovat K_{Ca} kanály s malou vodivostí (McNeish et al., 2012). Zdá se tedy, že DHEA disponuje mechanismem plicní vazodilatace (aktivace kanálů BK_{Ca}), který statiny postrádají. To by mělo vést k aditivnímu účinku na plicní hypertenzi. Nedostatek aditivity může znamenat, že účast otevření BK_{Ca} kanálu v mechanismu účinku DHEA na plicní hypertenzi není zásadní. Alternativně mohou statiny aktivovat kanály BK_{Ca} nepřímo, prostřednictvím své známé podpory aktivity NO. NO působí plicní vazodilataci aktivací BK_{Ca} kanálů (Hampl et al., 1995).

Další možné vysvětlení nedostatečné aditivity DHEA S a statinů v jejich účinku proti PH by mohlo souviset s tím, že cholesterol je prekurzorem syntézy DHEA. Je tedy možné, že léčba simvastatinem snížila endogenní produkci DHEA (a DHEA S) a přidání exogenního DHEA S k léčbě statiny pouze obnovilo normální hladinu DHEA S, nikoliv že by ji zvýšilo nad normál. Metaanalýza studií u lidí totiž ukázala, že statiny snižují hladiny DHEA u žen se syndromem polycystických vaječníků, i když tento účinek byl zaznamenán pouze po léčbě atorvastatinem, ale nikoli simvastatinem (Yang et al., 2019). Pokud by však DHEA S a statin ovlivňovaly PH různými mechanismy, stále by se dalo očekávat, že účinek samotného simvastatinu (pravděpodobně s nižšími hladinami DHEA S) bude menší než jeho účinek s přidáním DHEA S. V případě, že by statin a DHEA S ovlivňovaly PH různými mechanismy, bylo by možné očekávat, že účinek samotného simvastatinu bude menší než jeho účinek s přidáním DHEA S. A konečně, DHEA se může podobat statinům svou schopností inhibovat 3-hydroxy-

3-methyl-glutaryl koenzym A reduktázu (Pascale et al., 1995). To by znamenalo, že snížení PH statiny nepatří mezi jejich pleiotropní účinky nesouvisející s inhibicí 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl koenzym A reduktázy. To ostatně Girgis a spol. vyvodili ze svých údajů, které ukazují, že útlumu PH simvastatinem lze zabránit suplementací produktu aktivity 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl koenzym A reduktázy, mevalonátu (Girgis et al., 2007). Mechanismy, kterými může snížená aktivita 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl koenzym A reduktázy vést k menší PH, nejsou známy a zaslouží si další zkoumání.

5.2 Aktivátor HIF zvyšuje plicní cévní rezistenci

Tato studie ukazuje, že inhibice prolylhydroxyláz (a tedy aktivace HIF) roxadustatem zvyšuje kritický uzavírací tlak v plicních cévách, a tím posouvá tlaky v rozsahu průtoků k vyšším hodnotám. Tento účinek je nezávislý na vlivu roxadustatu na hematokrit, ale je menší než u zavedeného modelu PH při chronické hypoxii. V souladu s dřívějším zjištěním, že k zásadním změnám při rozvoji chronické hypoxické PH dochází během prvních dnů expozice hypoxii (Hampl et al., 2006), je účinek roxadustatu na plicní oběh rychlejší (již po 2 dnech) než na hematokrit. Vzhledem k tomu, že jsme účinek roxadustatu zjistili v plicích perfundovaných bezbuněčným roztokem, je pravděpodobné, že *in vivo*, kde je příznivý účinek roxadustatu na hematokrit také přítomen, bude jeho vliv na plicní cévní rezistenci ještě větší.

Akutní plicní vazokonstrikční reaktivita (na angiotenzin II a 0 % O₂) nebyla roxadustatem ovlivněna. To je poněkud překvapivé, protože se uvádí, že roxadustat snižuje regulaci cévních receptorů AT₁ (Yu et al., 2021). Navíc exprese a aktivita K_V kanálů, které jsou důležité v mechanismu akutní hypoxické vazokonstrikce (Archer et al., 2001), jsou ovlivněny HIF (Pullamsetti et al., 2020). Naše údaje naznačují, že tento vliv není zvlášť závažný.

5.3 Nový experimentální model levostranného srdečního selhání u potkanů

Zavedli jsme nový snadný, minimálně invazivní a reverzibilní model PH vyvolané tlakovým přetížením levého srdce u potkanů. Změny hmotnosti srdečních komor vyvolané tímto postupem jsou plně reverzibilní. Podobná dynamika byla již dříve zaznamenána u levé komory a celého srdce po odstranění zevní bandáže ze vzestupné aorty (Cho et al., 2014).

Kromě toho, že naše metoda způsobuje tlakové přetížení levého srdce (zvýšený koncový diastolický tlak v levé komoře), vyvolává také PH, o čemž svědčí zvýšený PAP, zvětšená RV in vivo a zvýšená cévní rezistence v izolovaných plicích (zvýšený perfuzní tlak při konstantním průtoku, zvýšený sklon přímek tlak-průtok). Zvýšená cévní rezistence v izolovaných plicích (kde je eliminován faktor zvýšeného odtokového tlaku) ukazuje, že tato PH není jen pasivním přenosem tlakového přetížení levého srdce proti proudu, ale že zahrnuje spíše změny samotných plicních cév ("reaktivní" forma nebo stadium PH2).

Ve srovnání se zavedeným modelem plicní hypertenze skupiny 3, chronickou hypoxií, zvyšovala částečná aortální obstrukce hodnoty PH buď ve stejné míře (sklon tlaku a průtoku, stupeň remodelace plicních cév) nebo méně (průměrný PAP, RV/LV+S). To odpovídá klinickým zkušenostem, že PH u pacientů s levostranným srdečním selháním nebývá příliš těžká, zejména v klidu (Butler et al., 1999; Lam et al., 2009; Maron et al., 2016).

Stupeň remodelace plicních cév (%DL) po částečné obstrukci aorty nebyl v této studii přímo srovnáván se stupněm remodelace po chronické hypoxii. Zdá se však, že byl vyšší (74 %, oproti 25 % u kontrol) než námi dříve uváděné hodnoty u hypoxických potkanů (~35-60 %) (Chovanec et al., 2009; Hampl et al., 2003b; Herget et al., 2003; Lachmanová et al., 2005)

Rozsáhlá remodelace plicních cév u PH2 byla již dříve popsána u potkanů, myši a lidí (Chen et al., 2012; Delgado et al., 2005; Fayyaz et al., 2018; Hunt et al., 2013).

Jistým nedostatkem tohoto modelu je náhlý nástup přetížení levého srdce, který neodráží běžnou klinickou situaci PH2, kdy se tlakové přetížení levého srdce vyvíjí postupně a umožňuje srdci adaptovat se na zvyšující se tlak. Domníváme se, že to je důvod, proč poněkud paradoxně zavedení hadičky stejné velikosti mnohem lépe snášela menší než větší zvířata. Jejich nízký věk jim pravděpodobně umožnil účinněji kompenzovat náhlé zvýšení afterloadu.

6. ZÁVĚR

Tato práce se zabývá hledáním nových možností kombinační léčby PH, navození experimentální PH a zkoumáním potenciálního nežádoucího účinku léků (rozvoje PH) u léků s potenciálem použití z jiné indikace.

Získané výsledky potvrdily příznivý účinek léčby statiny a DHEA S na mPAP a PVRI u PH. Zjistili jsme, že kombinovaná léčba oběma léky dohromady nemá aditivní účinek na PH. Jedním z možných vysvětlení je, že každý z léků snižuje PH především prostřednictvím svého inhibičního účinku na 3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzym A reductázu. Statiny a DHEA S lze u PH kombinovat, pokud je to z nějakých důvodů potřebné či vhodné.

Zavedli jsme nový, snadno proveditelný a použitelný model PH u potkanů vyvolaný tlakovým přetížením levého srdce způsobeným částečnou intravaskulární obstrukcí vzestupné aorty. Tento model vykazuje jak zvýšenou muskularizaci periferních plicních cév, tak zvýšený cévní tonus s významným postižením prekapilární části plicního cévního řečiště. Díky své jednoduchosti a vlastnostem může být užitečný pro další studium patofyziologie PH2 a potenciální terapie.

Potvrdili jsme hypotézu, že riziko PH vyvolané stabilizátory HIF je reálné a stojí za monitorování, zejména proto, že PH je běžnou komplikací chronického onemocnění ledvin i bez této léčby. Naštěstí se u roxadustatu nevyskytuje zvýšená reaktivita plicních vazokonstriktorů, která by byla dalším rizikovým faktorem. Zdá se, že HIF nehrají významnou roli v hypoxické plicní vazokonstrikci.

7. SOUHRN

Plicní hypertenze (PH) je skupina onemocnění charakterizovaná zvýšeným středním tlakem v plicnici. Zvláště u skupiny 2, která je asociována se srdečními chorobami a je nejprevalentnější ze všech typů, a u skupiny 3, asociované s plicními chorobami, nebyla doposud vyvinuta žádná dostatečně efektivní léčba krom léčby základního onemocnění, což je v řadě případů problematické. Rozvoj PH může být i nežádoucím efektem léků podávaných pro léčbu jiných onemocnění. Tato disertační práce si dává za cíl hledání nových terapeutických kombinací na PH, zkoumáním vzniku PH jako nežádoucího účinku léků podávaných z jiné indikace a hledání nových možností experimentálního navození PH u potkanů. Dehydroepiandrosteron sulfát a statin, mají v některých ohledech rozdílné mechanismy fungování a jednotlivě již byla ověřena jejich efektivita v prevenci rozvoje a léčbě již rozvinuté experimentální hypoxické PH. Výsledky prokázaly, že jejich kombinace v experimentu není aditivní. Jedním z nových typů léčiv, jejichž mechanismus účinku má společné prvky s mechanismy PH, jsou stabilizátory faktorů indukovatelných hypoxií plicní cévní odpor (měřený jako vztah perfuzního tlaku a průtoku) je roxadustatem zvýšen, a to už po krátké expozici, kdy se ještě neprojevil vliv roxadustatu na hematokrit. Riziko PH při léčbě roxadustatem, je tedy reálné. PH skupiny 2 je nejprevalentnější a dosavadní experimentální modely jsou technicky náročné. Nově vyvinutá metoda katetrizačního zavedení zaslepené hadičky do ascendentní aorty s výsledným zvýšením afterloadu a následným navozením levostranného srdečního selhání je jednoduchá ve smyslu provedení a umožní další experimentální zkoumání této skupiny PH.

7. SUMMARY

Pulmonary hypertension (PH) is a group of diseases characterized by increased mean pulmonary artery pressure. Particularly in group 2, which is associated with heart disease and is the most prevalent of all types, and in group 3, associated with lung disease, no sufficiently effective treatment has yet been introduced beyond the treatment of the underlying disease, which is problematic in many cases. The development of PH may also be a side effect of drugs given to treat other diseases. This dissertation aims to search for new therapeutic combinations for PH, investigating the development of PH as a side effect of drugs administered for other indications, and by looking for new ways to experimentally induce PH in rats. Dehydroepiandrosterone sulfate and statin, have in some respects different mechanisms of action and individually their efficacy in preventing the development and treating already developed experimental hypoxic PH has already been verified. The results showed that their combination in the experiment is not additive. One of the new types of drugs whose mechanism of action shares common elements with those of PH are stabilizers of hypoxia-inducible factors pulmonary vascular resistance (measured as the relationship between perfusion pressure and flow) is increased by roxadustat, even after a short exposure, when the effect of roxadustat on hematocrit has not yet become apparent. The risk of PH with roxadustat treatment is therefore real. Group 2 PH is the most prevalent and the experimental models to date are technically challenging. The newly developed method of catheterizing a blinded tube into the ascending aorta with a resultant increase in afterload and subsequent induction of left-sided heart failure is simple in design and will allow further experimental investigation of this group of PH.

8. REFERENCE

- Abe, K., Shimokawa, H., Morikawa, K., Uwatoku, T., Oi, K., Matsumoto, Y., Hattori, T., Nakashima, Y., Kaibuchi, K., Sueishi, K., Takeshit, A., 2004. Long-term treatment with a Rho-kinase inhibitor improves monocrotaline-induced fatal pulmonary hypertension in rats. *Circ. Res.* 94, 385–393. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000111804.34509.94>
- Abe, K., Tawara, S., Oi, K., Hizume, T., Uwatoku, T., Fukumoto, Y., Kaibuchi, K., Shimokawa, H., 2006. Long-term inhibition of Rho-kinase ameliorates hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 48, 280–285. <https://doi.org/10.1097/01.fjc.0000248244.64430.4a>
- Agarwal, V., Phung, O.J., Tongbram, V., Bhardwaj, A., Coleman, C.I., 2010. Statin use and the prevention of venous thromboembolism: a meta-analysis. *Int. J. Clin. Pract.* 64, 1375–1383. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2010.02439.x>
- Agüero, J., Ishikawa, K., Hadri, L., Santos-Gallego, C., Fish, K., Hammoudi, N., Chaanine, A., Torquato, S., Naim, C., Ibanez, B., Pereda, D., García-Alvarez, A., Fuster, V., Sengupta, P.P., Leopold, J.A., Hajjar, R.J., 2014. Characterization of right ventricular remodeling and failure in a chronic pulmonary hypertension model. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 307, H1204-1215. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00246.2014>
- Aiello, R.J., Bourassa, P.-A., Zhang, Q., Dubins, J., Goldberg, D.R., De Lombaert, S., Humbert, M., Guignabert, C., Cavasin, M.A., McKinsey, T.A., Paralkar, V., 2017. Tryptophan hydroxylase 1 Inhibition Impacts Pulmonary Vascular Remodeling in Two Rat Models of Pulmonary Hypertension. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 360, 267–279. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.237933>
- Alastalo, T.-P., Li, M., Perez, V. de J., Pham, D., Sawada, H., Wang, J.K., Koskenvuo, M., Wang, L., Freeman, B.A., Chang, H.Y., Rabinovitch, M., 2011. Disruption of PPAR γ / β -catenin-mediated regulation of apelin impairs BMP-induced mouse and human pulmonary arterial EC survival. *J. Clin. Invest.* 121, 3735–3746. <https://doi.org/10.1172/JCI43382>
- Aldred, M.A., Vijayakrishnan, J., James, V., Soubrier, F., Gomez-Sanchez, M.A., Martensson, G., Galie, N., Manes, A., Corris, P., Simonneau, G., Humbert, M., Morrell, N.W., Trembath, R.C., 2006. BMRP2 gene rearrangements account for a significant proportion of mutations in familial and idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Hum. Mutat.* 27, 212–213. <https://doi.org/10.1002/humu.9398>
- Al-Hiti, H., Chovanec, M., Melenovský, V., Vajnerová, O., Baňasová, A., Kautzner, J., Herget, J., 2013. L-arginine in combination with sildenafil potentiates the attenuation of hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Physiol. Res.* 62, 589–595. <https://doi.org/10.33549/physiolres.932463>
- Almeida, F.A., Suzuki, M., Scarborough, R.M., Lewicki, J.A., Maack, T., 1989. Clearance function of type C receptors of atrial natriuretic factor in rats. *Am. J. Physiol.* 256, R469-475. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1989.256.2.R469>
- Almudéver, P., Milara, J., De Diego, A., Serrano-Mollar, A., Xaubet, A., Perez-Vizcaino, F., Cogolludo, A., Cortijo, J., 2013. Role of tetrahydrobiopterin in pulmonary vascular remodelling associated with pulmonary fibrosis. *Thorax* 68, 938–948. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2013-203408>
- Anand, I.S., Kuskowski, M.A., Rector, T.S., Florea, V.G., Glazer, R.D., Hester, A., Chiang, Y.T., Aknay, N., Maggioni, A.P., Opasich, C., Latini, R., Cohn, J.N., 2005. Anemia and change in hemoglobin over time related to mortality and morbidity in patients with chronic heart failure: results from Val-HeFT. *Circulation* 112, 1121–1127. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.512988>
- Anand, V., Garg, S., Duval, S., Thenappan, T., 2016. A Systematic Review and Meta-Analysis of Trials Using Statins in Pulmonary Arterial Hypertension. *Pulm. Circ.* 6, 295–301. <https://doi.org/10.1086/687304>
- Archer, S.L., Huang, J.M., Hampl, V., Nelson, D.P., Shultz, P.J., Weir, E.K., 1994. Nitric oxide and cGMP cause vasorelaxation by activation of a charybdotoxin-sensitive K channel by cGMP-dependent

- protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 7583–7587.
<https://doi.org/10.1073/pnas.91.16.7583>
- Archer, S.L., London, B., Hampl, V., Wu, X., Nsair, A., Puttagunta, L., Hashimoto, K., Waite, R.E., Michelakis, E.D., 2001. Impairment of hypoxic pulmonary vasoconstriction in mice lacking the voltage-gated potassium channel Kv1.5. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 15, 1801–1803. <https://doi.org/10.1096/fj.00-0649fje>
- Archer, S.L., Weir, E.K., Wilkins, M.R., 2010. Basic Science of Pulmonary Arterial Hypertension for Clinicians: New Concepts and Experimental Therapies. *Circulation* 121, 2045–2066.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.847707>
- Arlt, W., Callies, F., van Vlijmen, J.C., Koehler, I., Reincke, M., Bidlingmaier, M., Huebler, D., Oettel, M., Ernst, M., Schulte, H.M., Allolio, B., 1999. Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency. *N. Engl. J. Med.* 341, 1013–1020.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199909303411401>
- Badesch, D.B., Champion, H.C., Gomez Sanchez, M.A., Hoepfer, M.M., Loyd, J.E., Manes, A., McGoon, M., Naeije, R., Olschewski, H., Oudiz, R.J., Torbicki, A., 2009. Diagnosis and assessment of pulmonary arterial hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.* 54, S55–S66.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.04.011>
- Baird, G.L., Archer-Chicko, C., Barr, R.G., Bluemke, D.A., Foderaro, A.E., Fritz, J.S., Hill, N.S., Kawut, S.M., Klinger, J.R., Lima, J.A.C., Mullin, C.J., Ouyang, P., Palevsky, H.I., Palmisicano, A.J., Pinder, D., Preston, I.R., Roberts, K.E., Smith, K.A., Walsh, T., Whittenhall, M., Ventetuolo, C.E., 2018. Lower DHEA-S levels predict disease and worse outcomes in post-menopausal women with idiopathic, connective tissue disease- and congenital heart disease-associated pulmonary arterial hypertension. *Eur. Respir. J.* 51, 1800467. <https://doi.org/10.1183/13993003.00467-2018>
- Baird, G.L., Walsh, T., Aliotta, J., Allahua, M., Andrew, R., Bourjeily, G., Brodsky, A.S., Denver, N., Dooner, M., Harrington, E.O., Klinger, J.R., MacLean, M.R., Mullin, C.J., Pereira, M., Poppas, A., Whittenhall, M., Ventetuolo, C.E., 2021. Insights from the Menstrual Cycle in Pulmonary Arterial Hypertension. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 18, 218–228. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.202006-671OC>
- 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 . *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 189, 314–324. <https://doi.org/10.1164/rccm.201302-0302OC>
- Bedi, O., Dhawan, V., Sharma, P.L., Kumar, P., 2016. Pleiotropic effects of statins: new therapeutic targets in drug design. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 389, 695–712.
<https://doi.org/10.1007/s00210-016-1252-4>
- Beitl, E., Banasova, A., Vlcek, M., Mikova, D., Hampl, V., 2016. Nitric oxide as an indicator for severity of injury in polytrauma. *Bratisl. Lek. Listy* 117, 217–220. https://doi.org/10.4149/bl_2016_041
- Belohlávková, S., Simák, J., Kokesová, A., Hnilicková, O., Hampl, V., 2001. Fenfluramine-induced pulmonary vasoconstriction: role of serotonin receptors and potassium channels. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 91, 755–761. <https://doi.org/10.1152/jappl.2001.91.2.755>
- Beltowski, J., 2005. Statins and modulation of oxidative stress. *Toxicol. Mech. Methods* 15, 61–92.
<https://doi.org/10.1080/15376520590918766>
- Blanco, I., Santos, S., Gea, J., Güell, R., Torres, F., Gimeno-Santos, E., Rodriguez, D.A., Vilaró, J., Gómez, B., Roca, J., Barberà, J.A., 2013. Sildenafil to improve respiratory rehabilitation outcomes in COPD: a controlled trial. *Eur. Respir. J.* 42, 982–992.
<https://doi.org/10.1183/09031936.00176312>
- Bonderman, D., Ghio, S., Felix, S.B., Ghofrani, H.-A., Michelakis, E., Mitrovic, V., Oudiz, R.J., Boateng, F., Scalise, A.-V., Roessig, L., Semigran, M.J., Left Ventricular Systolic Dysfunction Associated With Pulmonary Hypertension Riociguat Trial (LEPHT) Study Group, 2013. Riociguat for patients with pulmonary hypertension caused by systolic left ventricular dysfunction: a phase IIb double-blind, randomized, placebo-controlled, dose-ranging hemodynamic study. *Circulation* 128, 502–511.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001458>

- Bonnet, S., Dumas-de-La-Roque, E., Bégueret, H., Marthan, R., Fayon, M., Dos Santos, P., Savineau, J.-P., Baulieu, E.-E., 2003. Dehydroepiandrosterone (DHEA) prevents and reverses chronic hypoxic pulmonary hypertension. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 9488–9493.
- Boucherat, O., Agrawal, V., Lawrie, A., Bonnet, S., 2022. The Latest in Animal Models of Pulmonary Hypertension and Right Ventricular Failure. *Circ. Res.* 130, 1466–1486. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319971>
- Buhaescu, I., Izzedine, H., 2007. Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. *Clin. Biochem.* 40, 575–584.
- Burmakin, M., Fasching, A., Kobayashi, H., Urrutia, A.A., Damdimopoulos, A., Palm, F., Haase, V.H., 2021. Pharmacological HIF-PHD inhibition reduces renovascular resistance and increases glomerular filtration by stimulating nitric oxide generation. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* 233, e13668. <https://doi.org/10.1111/apha.13668>
- Butler, J., Chomsky, D.B., Wilson, J.R., 1999. Pulmonary hypertension and exercise intolerance in patients with heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 34, 1802–1806. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(99\)00408-8](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(99)00408-8)
- Campen, M.J., Shimoda, L.A., O'Donnell, C.P., 2005. Acute and chronic cardiovascular effects of intermittent hypoxia in C57BL/6J mice. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 99, 2028–2035. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00411.2005>
- Carey, R.M., Wang, Z.-Q., Siragy, H.M., 2000. Role of the Angiotensin Type 2 Receptor in the Regulation of Blood Pressure and Renal Function. *Hypertension* 35, 155–163. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.35.1.155>
- Cargill, R.I., Lipworth, B.J., 1996. Atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in cor pulmonale. Hemodynamic and endocrine effects. *Chest* 110, 1220–1225. <https://doi.org/10.1378/chest.110.5.1220>
- Cargill, R.I., Lipworth, B.J., 1995. Acute effects of ANP and BNP on hypoxic pulmonary vasoconstriction in humans. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 40, 585–590. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1995.tb05803.x>
- Celec, P., Stárka, L., 2003. Dehydroepiandrosterone - is the fountain of youth drying out? *Physiol. Res.* 52, 397–407.
- Chalupsky, K., Kračun, D., Kanchev, I., Bertram, K., Görlach, A., 2015. Folic Acid Promotes Recycling of Tetrahydrobiopterin and Protects Against Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension by Recoupling Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Antioxid. Redox Signal.* 23, 1076–1091. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6329>
- Chan, S.Y., Loscalzo, J., 2008. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 44, 14–30. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2007.09.006>
- Chauhan-Patel, R., Spruce, A.E., 1997. Characterization of single inward rectifier potassium channels from embryonic *Xenopus laevis* myocytes. *J. Membr. Biol.* 158, 265–274. <https://doi.org/10.1007/s002329900263>
- Chelladurai, P., Seeger, W., Pullamsetti, S.S., 2012. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in pulmonary hypertension. *Eur. Respir. J.* 40, 766–782. <https://doi.org/10.1183/09031936.00209911>
- Chen, W., Pendyala, S., Natarajan, V., Garcia, J.G., Jacobson, J.R., 2008. Endothelial cell barrier protection by simvastatin: GTPase regulation and NADPH oxidase inhibition. *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 295, L575–L583.
- Chen, X., Zhai, Z., Huang, K., Xie, W., Wan, J., Wang, C., 2018. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension: A systemic review and meta-analysis. *Clin. Respir. J.* 12, 2065–2074. <https://doi.org/10.1111/crj.12774>
- Chen, Y., Guo, H., Xu, D., Xu, X., Wang, H., Hu, X., Lu, Z., Kwak, D., Xu, Y., Gunther, R., Huo, Y., Weir, E.K., 2012. Left ventricular failure produces profound lung remodeling and pulmonary hypertension in mice: heart failure causes severe lung disease. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 59, 1170–1178. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.186072>

- Chen, Y., Zhang, H., Liu, H., Cao, A., 2016. Mechanisms of simvastatin-induced vasodilatation of rat superior mesenteric arteries. *Biomed. Rep.* 5, 491–496. <https://doi.org/10.3892/br.2016.756>
- Cheong, A., Li, J., Sukumar, P., Kumar, B., Zeng, F., Riches, K., Munsch, C., Wood, I.C., Porter, K.E., Beech, D.J., 2011. Potent suppression of vascular smooth muscle cell migration and human neointimal hyperplasia by KV1.3 channel blockers. *Cardiovasc. Res.* 89, 282–289. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq305>
- Chevalier, M., Gilbert, G., Lory, P., Marthan, R., Quignard, J.F., Savineau, J.P., 2012. Dehydroepiandrosterone (DHEA) inhibits voltage-gated T-type calcium channels. *Biochem. Pharmacol.* 83, 1530–1539. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.02.025>
- Chiurchiù, V., Izzi, V., D'Aquilio, F., Carotenuto, F., Di Nardo, P., Baldini, P.M., 2008. Brain Natriuretic Peptide (BNP) regulates the production of inflammatory mediators in human THP-1 macrophages. *Regul. Pept.* 148, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2008.02.009>
- Cho, J.S., Cho, E.J., Lee, J., Choi, H.-D., Park, K.C., Lee, K.-H., Yang, K.-J., Park, M.-W., Park, G.-M., Her, S.-H., Kim, C.J., 2014. Myocardial mechanics in a rat model with banding and debanding of the ascending aorta. *J. Cardiovasc. Ultrasound* 22, 189–195. <https://doi.org/10.4250/jcu.2014.22.4.189>
- Christman, B.W., McPherson, C.D., Newman, J.H., King, G.A., Bernard, G.R., Groves, B.M., Loyd, J.E., 1992. An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N. Engl. J. Med.* 327, 70–75. <https://doi.org/10.1056/NEJM199207093270202>
- Cidad, P., Miguel-Velado, E., Ruiz-McDavitt, C., Alonso, E., Jiménez-Pérez, L., Asuaje, A., Carmona, Y., García-Arribas, D., López, J., Marroquín, Y., Fernández, M., Roqué, M., Pérez-García, M.T., López-López, J.R., 2015. Kv1.3 channels modulate human vascular smooth muscle cells proliferation independently of mTOR signaling pathway. *Pflugers Arch.* 467, 1711–1722. <https://doi.org/10.1007/s00424-014-1607-y>
- Corti, R., Burnett, J.C., Rouleau, J.L., Ruschitzka, F., Lüscher, T.F., 2001. Vasopeptidase inhibitors: a new therapeutic concept in cardiovascular disease? *Circulation* 104, 1856–1862. <https://doi.org/10.1161/hc4001.097191>
- Croom, K.F., Keating, G.M., 2004. Valsartan: a review of its use in patients with heart failure and/or left ventricular systolic dysfunction after myocardial infarction. *Am. J. Cardiovasc. Drugs Drugs Devices Interv.* 4, 395–404. <https://doi.org/10.2165/00129784-200404060-00008>
- da Silva Oliveira, G.L., de Freitas, R.M., 2015. Diminazene aceturate--An antiparasitic drug of antiquity: Advances in pharmacology & therapeutics. *Pharmacol. Res.* 102, 138–157. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.10.005>
- 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. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 198, 1423–1434. <https://doi.org/10.1164/rccm.201710-20790C>
- Dai, Z.-K., Tan, M.-S., Chai, C.-Y., Yeh, J.-L., Chou, S.-H., Chiu, C.-C., Jeng, A.Y., Chen, I.-J., Wu, J.-R., 2004. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 in pulmonary hypertension secondary to heart failure in aorta-banded rats. *Pediatr. Pulmonol.* 37, 249–256. <https://doi.org/10.1002/ppul.10413>
- Dalal, J.J., Griffiths, B.E., Henderson, A.H., 1981. Primary pulmonary hypertension: effects of nifedipine. *Br. Heart J.* 46, 230–231. <https://doi.org/10.1136/hrt.46.2.230>
- Danser, A.H., van Kesteren, C.A., Bax, W.A., Tavenier, M., Derckx, F.H., Saxena, P.R., Schalekamp, M.A., 1997. Prorenin, renin, angiotensinogen, and angiotensin-converting enzyme in normal and failing human hearts. Evidence for renin binding. *Circulation* 96, 220–226. <https://doi.org/10.1161/01.cir.96.1.220>
- Davies, J.T., Delfino, S.F., Feinberg, C.E., Johnson, M.F., Nappi, V.L., Olinger, J.T., Schwab, A.P., Swanson, H.I., 2016. Current and Emerging Uses of Statins in Clinical Therapeutics: A Review. *Lipid Insights* 9, LPI.S37450. <https://doi.org/10.4137/LPI.S37450>

- Davignon, J., Jacob, R.F., Mason, R.P., 2004. The antioxidant effects of statins. *Coron. Artery Dis.* 15, 251–258. <https://doi.org/10.1097/01.mca.0000131573.31966.34>
- Dawson, C.A., Bronikowski, T.A., Linehan, J.H., Haworth, S.T., Rickaby, D.A., 1989. On the estimation of pulmonary capillary pressure from arterial occlusion. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140, 1228–1236. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/140.5.1228>
- Dawson, C.A., Bronikowski, T.A., Linehan, J.H., Rickaby, D.A., 1988. Distributions of vascular pressure and resistance in the lung. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 64, 274–284. <https://doi.org/10.1152/jappl.1988.64.1.274>
- de Man, F.S., Tu, L., Handoko, M.L., Rain, S., Ruiters, G., François, C., Schalij, I., Dorfmueller, P., Simonneau, G., Fadel, E., Perros, F., Boonstra, A., Postmus, P.E., van der Velden, J., Vonk-Noordegraaf, A., Humbert, M., Eddahibi, S., Guignabert, C., 2012. Dysregulated renin-angiotensin-aldosterone system contributes to pulmonary arterial hypertension. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 186, 780–789. <https://doi.org/10.1164/rccm.201203-0411OC>
- Del Rio, D., Stewart, A.J., Pellegrini, N., 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. NMCD* 15, 316–328. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2005.05.003>
- Delgado, J.F., Conde, E., Sánchez, V., López-Ríos, F., Gómez-Sánchez, M.A., Escribano, P., Sotelo, T., Gómez de la Cámara, A., Cortina, J., de la Calzada, C.S., 2005. Pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension due to chronic heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 7, 1011–1016. <https://doi.org/10.1016/j.ejheart.2004.10.021>
- DeMarco, V.G., Habibi, J., Whaley-Connell, A.T., Schneider, R.I., Sowers, J.R., Andresen, B.T., Gutweiler, A.A., Ma, L., Johnson, M.S., Ferrario, C.M., Dellsperger, K.C., 2009. Rosuvastatin ameliorates the development of pulmonary arterial hypertension in the transgenic (mRen2)27 rat. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 297, H1128–1139. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00048.2009>
- Dempsey, Y., Morecroft, I., Welsh, D.J., MacRitchie, N.A., Herold, N., Loughlin, L., Nilsen, M., Peacock, A.J., Harmar, A., Bader, M., MacLean, M.R., 2008. Converging evidence in support of the serotonin hypothesis of dexfenfluramine-induced pulmonary hypertension with novel transgenic mice. *Circulation* 117, 2928–2937. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.767558>
- Dessouroux, A., Akwa, Y., Baulieu, E.E., 2008. DHEA decreases HIF-1alpha accumulation under hypoxia in human pulmonary artery cells: potential role in the treatment of pulmonary arterial hypertension. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 109, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2007.12.001>
- Douschan, P., Kovacs, G., Avian, A., Foris, V., Gruber, F., Olschewski, A., Olschewski, H., 2018. Mild Elevation of Pulmonary Arterial Pressure as a Predictor of Mortality. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 197, 509–516. <https://doi.org/10.1164/rccm.201706-1215OC>
- Dumas de la Roque, E., Quignard, J.-F., Ducret, T., Dahan, D., Courtois, A., Begueret, H., Marthan, R., Savineau, J.-P., 2013. Beneficial effect of dehydroepiandrosterone on pulmonary hypertension in a rodent model of pulmonary hypertension in infants. *Pediatr. Res.* 74, 163–169. <https://doi.org/10.1038/pr.2013.73>
- Dumas de La Roque, E., Savineau, J.-P., Metivier, A.-C., Billes, M.-A., Kraemer, J.-P., Doutreleau, S., Jougon, J., Marthan, R., Moore, N., Fayon, M., Baulieu, E.-É., Dromer, C., 2012. Dehydroepiandrosterone (DHEA) improves pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a pilot study. *Ann. Endocrinol.* 73, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2011.12.005>
- Espiner, E.A., Richards, A.M., Yandle, T.G., Nicholls, M.G., 1995. Natriuretic hormones. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 24, 481–509.
- Fagan, K.A., 2001. Selected Contribution: Pulmonary hypertension in mice following intermittent hypoxia. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 90, 2502–2507. <https://doi.org/10.1152/jappl.2001.90.6.2502>
- Falcão-Pires, I., Gonçalves, N., Henriques-Coelho, T., Moreira-Gonçalves, D., Roncon-Albuquerque, R., Leite-Moreira, A.F., 2009. Apelin decreases myocardial injury and improves right ventricular

- function in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 296, H2007-2014. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00089.2009>
- Fang, J.C., DeMarco, T., Givertz, M.M., Borlaug, B.A., Lewis, G.D., Rame, J.E., Gomberg-Maitland, M., Murali, S., Frantz, R.P., McGlothlin, D., 2012. World Health Organization Pulmonary Hypertension group 2: pulmonary hypertension due to left heart disease in the adult—a summary statement from the Pulmonary Hypertension Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J. Heart Lung Transplant.* 31, 913–933.
- Farber, H.W., Miller, D.P., Poms, A.D., Badesch, D.B., Frost, A.E., Muros-Le Rouzic, E., Romero, A.J., Benton, W.W., Elliott, C.G., McGoon, M.D., Benza, R.L., 2015. Five-Year outcomes of patients enrolled in the REVEAL Registry. *Chest* 148, 1043–1054. <https://doi.org/10.1378/chest.15-0300>
- Farrukh, I.S., Peng, W., Orłinska, U., Hoidal, J.R., 1998. Effect of dehydroepiandrosterone on hypoxic pulmonary vasoconstriction: a Ca(2+)-activated K(+)-channel opener. *Am. J. Physiol.* 274, L186-195. <https://doi.org/10.1152/ajplung.1998.274.2.L186>
- Fayyaz, A.U., Edwards, W.D., Maleszewski, J.J., Konik, E.A., DuBrock, H.M., Borlaug, B.A., Frantz, R.P., Jenkins, S.M., Redfield, M.M., 2018. Global Pulmonary Vascular Remodeling in Pulmonary Hypertension Associated With Heart Failure and Preserved or Reduced Ejection Fraction. *Circulation* 137, 1796–1810. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031608>
- Fishman, A.P., 1999. Aminorex to Fen/Phen. *Circulation* 99, 156–161. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.99.1.156>
- Friström, S., Airaksinen, M.M., Halmekoski, J., 1977. Release of Platelet 5-Hydroxytryptamine by Some Anorexic and Other Sympathomimetics and their Acetyl Derivatives. *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh.)* 41, 218–224. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1977.tb02142.x>
- Fukumoto, Y., Matoba, T., Ito, A., Tanaka, H., Kishi, T., Hayashidani, S., Abe, K., Takeshita, A., Shimokawa, H., 2005. Acute vasodilator effects of a Rho-kinase inhibitor, fasudil, in patients with severe pulmonary hypertension. *Heart Br. Card. Soc.* 91, 391–392. <https://doi.org/10.1136/hrt.2003.029470>
- Gagnadoux, F., Capron, F., Lebeau, B., 2002. Pulmonary veno-occlusive disease after neoadjuvant mitomycin chemotherapy and surgery for lung carcinoma. *Lung Cancer* 36, 213–215. [https://doi.org/10.1016/S0169-5002\(01\)00479-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5002(01)00479-2)
- 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. *Blood* 112, 919–921. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-153718>
- Galie, N., 2004. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc. Res.* 61, 227–237. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.11.026>
- George, P.M., Badiger, R., Alazawi, W., Foster, G.R., Mitchell, J.A., 2012. Pharmacology and therapeutic potential of interferons. *Pharmacol. Ther.* 135, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.03.006>
- Ghofrani, H.-A., Simonneau, G., D'Armini, A.M., Fedullo, P., Howard, L.S., Jaïs, X., Jenkins, D.P., Jing, Z.-C., Madani, M.M., Martin, N., Mayer, E., Papadakis, K., Richard, D., Kim, N.H., MERIT study investigators, 2017. Macitentan for the treatment of inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension (MERIT-1): results from the multicentre, phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet Respir. Med.* 5, 785–794. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(17\)30305-3](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(17)30305-3)
- Ghofrani, H.A., Wiedemann, R., Rose, F., Schermuly, R.T., Olschewski, H., Weissmann, N., Gunther, A., Walmrath, D., Seeger, W., Grimminger, F., 2002. Sildenafil for treatment of lung fibrosis and pulmonary hypertension: a randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* 360, 895–900. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)11024-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11024-5)
- Giaid, A., Yanagisawa, M., Langleben, D., Michel, R.P., Levy, R., Shennib, H., Kimura, S., Masaki, T., Duguid, W.P., Stewart, D.J., 1993. Expression of Endothelin-1 in the Lungs of Patients with Pulmonary Hypertension. *N. Engl. J. Med.* 328, 1732–1739. <https://doi.org/10.1056/NEJM199306173282402>

- Girgis, R.E., Li, D., Zhan, X., Garcia, J.G., Tuder, R.M., Hassoun, P.M., Johns, R.A., 2003. Attenuation of chronic hypoxic pulmonary hypertension by simvastatin. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* 285, H938–H945.
- Girgis, R.E., Mozammel, S., Champion, H.C., Li, D., Peng, X., Shimoda, L., Tuder, R.M., Johns, R.A., Hassoun, P.M., 2007. Regression of chronic hypoxic pulmonary hypertension by simvastatin. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 292, L1105–1110. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00411.2006>
- Gotway, M.B., Marder, S.R., Hanks, D.K., Leung, J.W.T., Dawn, S.K., Gean, A.D., Reddy, G.P., Araoz, P.A., Webb, W.R., 2002. Thoracic Complications of Illicit Drug Use: An Organ System Approach. *RadioGraphics* 22, S119–S135. https://doi.org/10.1148/radiographics.22.suppl_1.g02oc01s119
- Greiser, E., 1973. [Epidemiologic studies on the relation between use of appetite depressants and primary vascular pulmonary hypertension]. *Internist* 14, 437–442.
- Group, S.S.S.S., 1994. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *The Lancet* 344, 1383–1389.
- Guerard, P., Rakotoniaina, Z., Goirand, F., Rochette, L., Dumas, M., Lirussi, F., Bardou, M., 2006. The HMG-CoA reductase inhibitor, pravastatin, prevents the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in the rat through reduction of endothelial cell apoptosis and overexpression of eNOS. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 373, 401–414. <https://doi.org/10.1007/s00210-006-0082-1>
- Guignabert, C., Phan, C., Seferian, A., Huertas, A., Tu, L., Thuillet, R., Sattler, C., Hiress, M.L., Tamura, Y., Jutant, E.-M., Chaumais, M.-C., Bouchet, S., Manéglier, B., Molimard, M., Rousselot, P., Sitbon, O., Simonneau, G., Montani, D., Humbert, M., 2016. Dasatinib induces lung vascular toxicity and predisposes to pulmonary hypertension. *J. Clin. Invest.* 126, 3207–3218. <https://doi.org/10.1172/JCI86249>
- Gurtner, H.P., 1979. Pulmonary hypertension, “plexogenic pulmonary arteriopathy” and the appetite depressant drug aminorex: post or propter? *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* 15, 897–923.
- Gurtner, H.P., Gertsch, M., Salzmann, C., Scherrer, M., Stucki, P., Wyss, F., 1968. [Are the primary vascular forms of chronic pulmonary heart disease becoming more common?]. *Schweiz. Med. Wochenschr.* 98, 1579–1589 contd.
- Haendeler, J., Hoffmann, J., Zeiher, A.M., Dimmeler, S., 2004. Antioxidant effects of statins via S-nitrosylation and activation of thioredoxin in endothelial cells: a novel vasculoprotective function of statins. *Circulation* 110, 856–861. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000138743.09012.93>
- Hakim, T.S., Michel, R.P., Chang, H.K., 1982. Partitioning of pulmonary vascular resistance in dogs by arterial and venous occlusion. *J. Appl. Physiol.* 52, 710–715. <https://doi.org/10.1152/jappl.1982.52.3.710>
- HAMPL, V., Archer, S.L., Nelson, D.P., Weir, E.K., 1993. Chronic EDRF inhibition and hypoxia: effects on pulmonary circulation and systemic blood pressure. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 75, 1748–1757. <https://doi.org/10.1152/jappl.1993.75.4.1748>
- HAMPL, V., Bíbová, J., Banasová, A., Uhlík, J., Miková, D., Hnilicková, O., Lachmanová, V., Herget, J., 2006. Pulmonary vascular iNOS induction participates in the onset of chronic hypoxic pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 290, L11–20. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00023.2005>
- HAMPL, V., Bíbová, J., Herget, J., 2000. Perinatal history of hypoxia leads to lower vascular pressures and hyporeactivity to angiotensin II in isolated lungs of adult rats. *Physiol. Res.* 49, 567–575.
- HAMPL, V., Bibova, J., Ostadalova, I., Povysilova, V., Herget, J., 2003a. Gender differences in the long-term effects of perinatal hypoxia on pulmonary circulation in rats. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 285, L386–392. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00389.2002>
- HAMPL, V., Bíbová, J., Povýsilová, V., Herget, J., 2003b. Dehydroepiandrosterone sulphate reduces chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Eur. Respir. J.* 21, 862–865. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00084503>

- Hampl, V., Herget, J., 2000. Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension. *Physiol. Rev.* 80, 1337–1372. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.4.1337>
- Hampl, V., Huang, J.M., Weir, E.K., Archer, S.L., 1995. Activation of the cGMP-dependent protein kinase mimics the stimulatory effect of nitric oxide and cGMP on calcium-gated potassium channels. *Physiol. Res.* 44, 39–44.
- Hassoun, P.M., Mouthon, L., Barberà, J.A., Eddahibi, S., Flores, S.C., Grimminger, F., Jones, P.L., Maitland, M.L., Michelakis, E.D., Morrell, N.W., Newman, J.H., Rabinovitch, M., Schermuly, R., Stenmark, K.R., Voelkel, N.F., Yuan, J.X.-J., Humbert, M., 2009. Inflammation, growth factors, and pulmonary vascular remodeling. *J. Am. Coll. Cardiol.* 54, S10–S19. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.04.006>
- Hayashi, F., Tamura, H., Yamada, J., Kasai, H., Suga, T., 1994. Characteristics of the hepatocarcinogenesis caused by dehydroepiandrosterone, a peroxisome proliferator, in male F-344 rats. *Carcinogenesis* 15, 2215–2219. <https://doi.org/10.1093/carcin/15.10.2215>
- Hayashi, T., Esaki, T., Muto, E., Kano, H., Asai, Y., Thakur, N.K., Sumi, D., Jayachandran, M., Iguchi, A., 2000. Dehydroepiandrosterone retards atherosclerosis formation through its conversion to estrogen: the possible role of nitric oxide. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20, 782–792. <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.3.782>
- Hemnes, A.R., Zaiman, A., Champion, H.C., 2008. PDE5A inhibition attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension through inhibition of ROS generation and RhoA/Rho kinase activation. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 294, L24-33. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00245.2007>
- Hennigs, J.K., Cao, A., Li, C.G., Shi, M., Mienert, J., Miyagawa, K., Körbelin, J., Marciano, D.P., Chen, P.-I., Roughley, M., Elliott, M.V., Harper, R.L., Bill, M.A., Chappell, J., Moonen, J.-R., Diebold, I., Wang, L., Snyder, M.P., Rabinovitch, M., 2021. PPAR γ -p53-Mediated Vasculoregenerative Program to Reverse Pulmonary Hypertension. *Circ. Res.* 128, 401–418. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.316339>
- Hentschel, T., Yin, N., Riad, A., Habbazetl, H., Weimann, J., Koster, A., Tschöpe, C., Kuppe, H., Kuebler, W.M., 2007. Inhalation of the phosphodiesterase-3 inhibitor milrinone attenuates pulmonary hypertension in a rat model of congestive heart failure. *Anesthesiology* 106, 124–131. <https://doi.org/10.1097/00000542-200701000-00021>
- Herget, J., Chovanec, M., 2010. Isolated perfused murine lung. *Drug Discov. Today Dis. Models* 7, 131–135. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2011.03.008>
- Herget, J., Hampl, V., Povýsilová, V., Slavík, Z., 1995. Long-term effects of prenatal indomethacin administration on the pulmonary circulation in rats. *Eur. Respir. J.* 8, 209–215. <https://doi.org/10.1183/09031936.95.08020209>
- Herget, J., Kuklík, V., 1995. Perinatal lung injury extends in adults the site of hypoxic pulmonary vasoconstriction upstream. *Physiol. Res.* 44, 25–30.
- Herget, J., Novotná, J., Bibova, J., Povýsilová, V., Vanková, M., Hampl, V., 2003. Metalloproteinase inhibition by Batimastat attenuates pulmonary hypertension in chronically hypoxic rats. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 285, L199-208. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00167.2002>
- Herget, J., Paleček, F., 1972. Pulmonary arterial blood pressure in closed chest rats. Changes after catecholamines, histamine and serotonin. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 198, 107–117.
- Herget, J., Wilhelm, J., Novotná, J., Eckhardt, A., Vytásek, R., Mrázková, L., Ostádal, M., 2000. A possible role of the oxidant tissue injury in the development of hypoxic pulmonary hypertension. *Physiol. Res.* 49, 493–501.
- Hervé, P., Launay, J.M., Scrobohaci, M.L., Brenot, F., Simonneau, G., Petitpretz, P., Poubreau, P., Cerrina, J., Duroux, P., Drouet, L., 1995. Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension. *Am. J. Med.* 99, 249–254. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(99\)80156-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(99)80156-9)
- Hill, N.S., Klinger, J.R., Warburton, R.R., Pietras, L., Wrenn, D.S., 1994. Brain natriuretic peptide: possible role in the modulation of hypoxic pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol.* 266, L308-315. <https://doi.org/10.1152/ajplung.1994.266.3.L308>

- Homma, N., Nagaoka, T., Karoor, V., Imamura, M., Taraseviciene-Stewart, L., Walker, L.A., Fagan, K.A., McMurtry, I.F., Oka, M., 2008. Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in protection against monocrotaline-induced pulmonary hypertension in pneumonectomized rats by dehydroepiandrosterone. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 295, L71-78. <https://doi.org/10.1152/ajplung.90251.2008>
- Horton, J.D., Goldstein, J.L., Brown, M.S., 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J. Clin. Invest.* 109, 1125–1131.
- Huertas, A., Girerd, B., Dorfmüller, P., O’Callaghan, D., Humbert, M., Montani, D., 2011. Pulmonary veno-occlusive disease: advances in clinical management and treatments. *Expert Rev. Respir. Med.* 5, 217–231. <https://doi.org/10.1586/ers.11.15>
- 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., Quint, J.K., Rådegran, G., Simonneau, G., Sitbon, O., Tonia, T., Toshner, M., Vachiery, J.-L., Noordegraaf, A.V., Delcroix, M., Rosenkranz, S., Group, the E.S.D., 2022. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur. Respir. J.* <https://doi.org/10.1183/13993003.00879-2022>
- Humbert, M., Sitbon, O., Simonneau, G., 2004. Treatment of pulmonary arterial hypertension. *N. Engl. J. Med.* 351, 1425–1436. <https://doi.org/10.1056/NEJMra040291>
- Hunt, J.M., Bethea, B., Liu, X., Gandjeva, A., Mammen, P.P.A., Stacher, E., Gandjeva, M.R., Parish, E., Perez, M., Smith, L., Graham, B.B., Kuebler, W.M., Tudor, R.M., 2013. Pulmonary veins in the normal lung and pulmonary hypertension due to left heart disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 305, L725-736. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00186.2013>
- Iruthayanathan, M., O’Leary, B., Paul, G., Dillon, J.S., 2011. Hydrogen peroxide signaling mediates DHEA-induced vascular endothelial cell proliferation. *Steroids* 76, 1483–1490. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2011.08.002>
- Ishikura, K., Yamada, N., Ito, M., Ota, S., Nakamura, M., Isaka, N., Nakano, T., 2006. Beneficial acute effects of rho-kinase inhibitor in patients with pulmonary arterial hypertension. *Circ. J. Off. J. Jpn. Circ. Soc.* 70, 174–178. <https://doi.org/10.1253/circj.70.174>
- Iwasaki, Y., Asai, M., Yoshida, M., Nigawara, T., Kambayashi, M., Nakashima, N., 2004. Dehydroepiandrosterone-sulfate inhibits nuclear factor-kappaB-dependent transcription in hepatocytes, possibly through antioxidant effect. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 3449–3454. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031441>
- Jaffe, A.B., Hall, A., 2005. Rho GTPases: biochemistry and biology. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21, 247–269. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.020604.150721>
- Jakoubek, V., Hampl, V., 2018. Alcohol and fetoplacental vasoconstrictor reactivity. *Physiol. Res.* 67, 509–513. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933609>
- Jasińska-Stroschein, M., Owczarek, J., Wesółowska, A., Orszulak-Michalak, D., 2014. Rosuvastatin, sildenafil and their combination in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rat. *Acta Pharm. Zagreb Croat.* 64, 345–353. <https://doi.org/10.2478/acph-2014-0029>
- Jasmin, J.-F., Calderone, A., Leung, T.-K., Villeneuve, L., Dupuis, J., 2003. Lung structural remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: complete reversal with irbesartan. *Cardiovasc. Res.* 58, 621–631. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(03\)00290-6](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(03)00290-6)
- Jasmin, J.-F., Mercier, I., Hnasko, R., Cheung, M.W.-C., Tanowitz, H.B., Dupuis, J., Lisanti, M.P., 2004. Lung remodeling and pulmonary hypertension after myocardial infarction: pathogenic role of reduced caveolin expression. *Cardiovasc. Res.* 63, 747–755. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.05.018>
- Jenkins, R.G., Moore, B.B., Chambers, R.C., Eickelberg, O., Königshoff, M., Kolb, M., Laurent, G.J., Nanthakumar, C.B., Olman, M.A., Pardo, A., Selman, M., Sheppard, D., Sime, P.J., Tager, A.M., Tatler, A.L., Thannickal, V.J., White, E.S., ATS Assembly on Respiratory Cell and Molecular Biology, 2017. An Official American Thoracic Society Workshop Report: Use of Animal Models

- for the Preclinical Assessment of Potential Therapies for Pulmonary Fibrosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 56, 667–679. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2017-0096ST>
- Jernigan, N.L., Naik, J.S., Resta, T.C., 2021. Acid-sensing ion channel 1 contributes to pulmonary arterial smooth muscle cell depolarization following hypoxic pulmonary hypertension. *J. Physiol.* 599, 4749–4762. <https://doi.org/10.1113/JP282231>
- Jin, H., Yang, R.H., Chen, Y.F., Jackson, R.M., Oparil, S., 1990. Atrial natriuretic peptide attenuates the development of pulmonary hypertension in rats adapted to chronic hypoxia. *J. Clin. Invest.* 85, 115–120. <https://doi.org/10.1172/JCI114400>
- Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC), European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), Vahanian, A., Alfieri, O., Andreotti, F., Antunes, M.J., Barón-Esquivias, G., Baumgartner, H., Borger, M.A., Carrel, T.P., De Bonis, M., Evangelista, A., Falk, V., Jung, B., Lancellotti, P., Pierard, L., Price, S., Schäfers, H.-J., Schuler, G., Stepinska, J., Swedberg, K., Takkenberg, J., Von Oppell, U.O., Windecker, S., Zamorano, J.L., Zembala, M., 2012. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012). *Eur. Heart J.* 33, 2451–2496. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs109>
- Jones, S.A., O'Donnell, V.B., Wood, J.D., Broughton, J.P., Hughes, E.J., Jones, O.T., 1996. Expression of phagocyte NADPH oxidase components in human endothelial cells. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* 271, H1626–H1634.
- Joshi, S., Sedivy, V., Hodyc, D., Herget, J., Gurney, A.M., 2009. KCNQ modulators reveal a key role for KCNQ potassium channels in regulating the tone of rat pulmonary artery smooth muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 329, 368–376. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.147785>
- Kerem, A., Yin, J., Kaestle, S.M., Hoffmann, J., Schoene, A.M., Singh, B., Kuppe, H., Borst, M.M., Kuebler, W.M., 2010. Lung endothelial dysfunction in congestive heart failure: role of impaired Ca²⁺ signaling and cytoskeletal reorganization. *Circ. Res.* 106, 1103–1116. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.210542>
- Khemasuan, D., Divietro, M.L., Tangdhanakanond, K., Pomerantz, S.C., Eiger, G., 2010. Statins decrease the occurrence of venous thromboembolism in patients with cancer. *Am. J. Med.* 123, 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2009.05.025>
- Khush, K.K., Tasissa, G., Butler, J., McGlothlin, D., De Marco, T., Investigators, E., 2009. Effect of pulmonary hypertension on clinical outcomes in advanced heart failure: analysis of the Evaluation Study of Congestive Heart Failure and Pulmonary Artery Catheterization Effectiveness (ESCAPE) database. *Am. Heart J.* 157, 1026–1034.
- Kieler, H., Artama, M., Engeland, A., Ericsson, Ö., Furu, K., Gissler, M., Nielsen, R.B., Nørgaard, M., Stephansson, O., Valdimarsdottir, U., Zoega, H., Haglund, B., 2012. Selective serotonin reuptake inhibitors during pregnancy and risk of persistent pulmonary hypertension in the newborn: population based cohort study from the five Nordic countries. *BMJ* 344, d8012. <https://doi.org/10.1136/bmj.d8012>
- Kim, J., 2014. Apelin-APJ signaling: a potential therapeutic target for pulmonary arterial hypertension. *Mol. Cells* 37, 196–201. <https://doi.org/10.14348/molcells.2014.2308>
- Klinger, J.R., Petit, R.D., Warburton, R.R., Wrenn, D.S., Arnal, F., Hill, N.S., 1993. Neutral endopeptidase inhibition attenuates development of hypoxic pulmonary hypertension in rats. *J. Appl. Physiol.* Bethesda Md 1985 75, 1615–1623. <https://doi.org/10.1152/jappl.1993.75.4.1615>
- Klinger, J.R., Warburton, R.R., Pietras, L., Hill, N.S., 1998. Brain natriuretic peptide inhibits hypoxic pulmonary hypertension in rats. *J. Appl. Physiol.* 84, 1646–1652. <https://doi.org/10.1152/jappl.1998.84.5.1646>
- Kopeć, G., Waligóra, M., Tyrka, A., Jonas, K., Pencina, M.J., Zdrojewski, T., Moertl, D., Stokwizewski, J., Zagożdżon, P., Podolec, P., 2017. Low-density lipoprotein cholesterol and survival in pulmonary arterial hypertension. *Sci. Rep.* 7, 41650. <https://doi.org/10.1038/srep41650>
- Kovacs, G., Avian, A., Tscherner, M., Foris, V., Bachmaier, G., Olschewski, A., Olschewski, H., 2014. Characterization of Patients With Borderline Pulmonary Arterial Pressure. *Chest* 146, 1486–1493. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0194>

- Kovacs, G., Berghold, A., Scheidl, S., Olschewski, H., 2009. Pulmonary arterial pressure during rest and exercise in healthy subjects: a systematic review. *Eur. Respir. J.* 34, 888–894. <https://doi.org/10.1183/09031936.00145608>
- Krick, S., Platoshyn, O., McDaniel, S.S., Rubin, L.J., Yuan, J.X.-J., 2001. Augmented K⁺ currents and mitochondrial membrane depolarization in pulmonary artery myocyte apoptosis. *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 281, L887–L894. <https://doi.org/10.1152/ajplung.2001.281.4.L887>
- Kuang, T., Wang, J., Pang, B., Huang, X., Burg, E.D., Yuan, J.X.-J., Wang, C., 2010. Combination of sildenafil and simvastatin ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 23, 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.02.003>
- Kuba, K., Imai, Y., Penninger, J.M., 2006. Angiotensin-converting enzyme 2 in lung diseases. *Curr. Opin. Pharmacol.* 6, 271–276. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2006.03.001>
- Kuntz, M., Leiva-Juarez, M.M., Luthra, S., 2016. Systematic review of randomized controlled trials of endothelin receptor antagonists for pulmonary arterial hypertension. *Lung* 194, 723–732.
- Kureishi, Y., Luo, Z., Shiojima, I., Bialik, A., Fulton, D., Lefer, D.J., Sessa, W.C., Walsh, K., 2000. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat. Med.* 6, 1004–1010.
- Labrie, F., Luu-The, V., Labrie, C., Simard, J., 2001. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: intracrinology. *Front. Neuroendocrinol.* 22, 185–212. <https://doi.org/10.1006/frne.2001.0216>
- Laburthe, M., Couvineau, A., Marie, J.C., 2002. VPAC receptors for VIP and PACAP. *Receptors Channels* 8, 137–153.
- Lachmanová, V., Hnilicková, O., Povýsilová, V., Hampl, V., Herget, J., 2005. N-acetylcysteine inhibits hypoxic pulmonary hypertension most effectively in the initial phase of chronic hypoxia. *Life Sci.* 77, 175–182. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.11.027>
- Lai, Y.-C., Tabima, D.M., Dube, J.J., Hughan, K.S., Vanderpool, R.R., Goncharov, D.A., St Croix, C.M., Garcia-Ocaña, A., Goncharova, E.A., Tofovic, S.P., Mora, A.L., Gladwin, M.T., 2016. SIRT3-AMP-Activated Protein Kinase Activation by Nitrite and Metformin Improves Hyperglycemia and Normalizes Pulmonary Hypertension Associated With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circulation* 133, 717–731. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018935>
- Lai, Y.L., Wu, H.D., Chen, C.F., 1998. Antioxidants attenuate chronic hypoxic pulmonary hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 32, 714–720. <https://doi.org/10.1097/00005344-199811000-00006>
- Lam, C.S.P., Roger, V.L., Rodeheffer, R.J., Borlaug, B.A., Enders, F.T., Redfield, M.M., 2009. Pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction: a community-based study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 53, 1119–1126. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.11.051>
- Lambert, M., Mendes-Ferreira, P., Ghigna, M.-R., LeRibeux, H., Adão, R., Boet, A., Capuano, V., Rucker-Martin, C., Brás-Silva, C., Quarck, R., Domergue, V., Vachiéry, J.-L., Humbert, M., Perros, F., Montani, D., Antigny, F., 2021. Kcnk3 dysfunction exaggerates the development of pulmonary hypertension induced by left ventricular pressure overload. *Cardiovasc. Res.* 117, 2474–2488. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab016>
- Landmesser, U., Bahlmann, F., Mueller, M., Spiekermann, S., Kirchhoff, N., Schulz, S., Manes, C., Fischer, D., de Groot, K., Fliser, D., 2005. Simvastatin versus ezetimibe: pleiotropic and lipid-lowering effects on endothelial function in humans. *Circulation* 111, 2356–2363.
- Laudi, S., Trump, S., Schmitz, V., West, J., McMurtry, I.F., Mutlak, H., Christians, U., Weimann, J., Kaisers, U., Steudel, W., 2007. Serotonin transporter protein in pulmonary hypertensive rats treated with atorvastatin. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 293, L630–638. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00110.2006>
- Laufs, U., La Fata, V., Liao, J.K., 1997. Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase blocks hypoxia-mediated down-regulation of endothelial nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.* 272, 31725–31729.
- Lee, J.-H., Lee, D.-S., Kim, E.-K., Choe, K.-H., Oh, Y.-M., Shim, T.-S., Kim, S.-E., Lee, Y.-S., Lee, S.-D., 2005. Simvastatin inhibits cigarette smoking-induced emphysema and pulmonary hypertension in rat lungs. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 172, 987–993. <https://doi.org/10.1164/rccm.200501-0410C>

- Li, F., Xia, W., Li, A., Zhao, C., Sun, R., 2007. Long-term inhibition of Rho kinase with fasudil attenuates high flow induced pulmonary artery remodeling in rats. *Pharmacol. Res.* 55, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2006.10.009>
- Li, J.-M., Shah, A.M., 2001. Differential NADPH-versus NADH-dependent superoxide production by phagocyte-type endothelial cell NADPH oxidase. *Cardiovasc. Res.* 52, 477–486.
- Liao, J.K., Laufs, U., 2005. Pleiotropic effects of statins. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45, 89.
- Linehan, J.H., Dawson, C.A., 1983. A three-compartment model of the pulmonary vasculature: effects of vasoconstriction. *J. Appl. Physiol.* 55, 923–928. <https://doi.org/10.1152/jappl.1983.55.3.923>
- Liu, D., Dillon, J.S., 2002. Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to Galpha(i2,3). *J. Biol. Chem.* 277, 21379–21388. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200491200>
- Liu, P.-Y., Liu, Y.-W., Lin, L.-J., Chen, J.-H., Liao, J.K., 2009. Evidence for statin pleiotropy in humans: differential effects of statins and ezetimibe on rho-associated coiled-coil containing protein kinase activity, endothelial function, and inflammation. *Circulation* 119, 131–138.
- Liu, Y., Tian, H.Y., Yan, X.L., Fan, F.L., Wang, W.P., Han, J.L., Zhang, J.-B., Ma, Q., Meng, Y., Wei, F., 2013. Serotonin inhibits apoptosis of pulmonary artery smooth muscle cell by pERK1/2 and PDK through 5-HT1B receptors and 5-HT transporters. *Cardiovasc. Pathol. Off. J. Soc. Cardiovasc. Pathol.* 22, 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2013.03.003>
- Long, L., Ormiston, M.L., Yang, X., Southwood, M., Gräf, S., Machado, R.D., Mueller, M., Kinzel, B., Yung, L.M., Wilkinson, J.M., Moore, S.D., Drake, K.M., Aldred, M.A., Yu, P.B., Upton, P.D., Morrell, N.W., 2015. Selective enhancement of endothelial BMPR-II with BMP9 reverses pulmonary arterial hypertension. *Nat. Med.* 21, 777–785. <https://doi.org/10.1038/nm.3877>
- Lu, Y., Chang, R., Yao, J., Xu, X., Teng, Y., Cheng, N., 2019. Effectiveness of long-term using statins in COPD – a network meta-analysis. *Respir. Res.* 20, 17. <https://doi.org/10.1186/s12931-019-0984-3>
- Manabe, S., Okura, T., Watanabe, S., Fukuoka, T., Higaki, J., 2005. Effects of angiotensin II receptor blockade with valsartan on pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 46, 735–739. <https://doi.org/10.1097/01.fjc.0000185783.00391.60>
- Maron, B.A., Hess, E., Maddox, T.M., Opatowsky, A.R., Tedford, R.J., Lahm, T., Joynt, K.E., Kass, D.J., Stephens, T., Stanislawski, M.A., Swenson, E.R., Goldstein, R.H., Leopold, J.A., Zamanian, R.T., Elwing, J.M., Plomondon, M.E., Grunwald, G.K., Barón, A.E., Rumsfeld, J.S., Choudhary, G., 2016. Association of Borderline Pulmonary Hypertension With Mortality and Hospitalization in a Large Patient Cohort: Insights From the Veterans Affairs Clinical Assessment, Reporting, and Tracking Program. *Circulation* 133, 1240–1248. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.020207>
- Martín, F., Artigas, F., 1992. Simultaneous Effects of p-Chloroamphetamine, d-Fenfluramine, and Reserpine on Free and Stored 5-Hydroxytryptamine in Brain and Blood. *J. Neurochem.* 59, 1138–1144. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1992.tb08356.x>
- Mastrocola, R., Aragno, M., Betteto, S., Brignardello, E., Catalano, M.G., Danni, O., Boccuzzi, G., 2003. Pro-oxidant effect of dehydroepiandrosterone in rats is mediated by PPAR activation. *Life Sci.* 73, 289–299. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(03\)00287-x](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(03)00287-x)
- Matthes, S., Bader, M., 2018. Peripheral Serotonin Synthesis as a New Drug Target. *Trends Pharmacol. Sci.* 39, 560–572. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.03.004>
- Maxwell, P.H., Wiesener, M.S., Chang, G.-W., Clifford, S.C., Vaux, E.C., Cockman, M.E., Wykoff, C.C., Pugh, C.W., Maher, E.R., Ratcliffe, P.J., 1999. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 399, 271–275. <https://doi.org/10.1038/20459>
- McMurray, J.J.V., Packer, M., Desai, A.S., Gong, J., Lefkowitz, M.P., Rizkala, A.R., Rouleau, J.L., Shi, V.C., Solomon, S.D., Swedberg, K., Zile, M.R., PARADIGM-HF Investigators and Committees, 2014. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N. Engl. J. Med.* 371, 993–1004. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1409077>
- McMurtry, I.F., 1976. Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by calcium antagonists in isolated rat lungs. [WWW Document]. <https://doi.org/10.1161/01.RES.38.2.99>

- McMurtry, M.S., Bonnet, Sebastien, Michelakis, E.D., Bonnet, Sandra, Haromy, A., Archer, S.L., 2007. Statin therapy, alone or with rapamycin, does not reverse monocrotaline pulmonary arterial hypertension: the rapamycin-atorvastatin-simvastatin study. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 293, L933-940. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00310.2006>
- McNeish, A.J., Jimenez-Altayo, F., Cottrell, G.S., Garland, C.J., 2012. Statins and selective inhibition of Rho kinase protect small conductance calcium-activated potassium channel function (K(Ca)_v2.3) in cerebral arteries. *PLoS One* 7, e46735. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046735>
- Michaels, A.D., Chatterjee, K., De Marco, T., 2005. Effects of intravenous nesiritide on pulmonary vascular hemodynamics in pulmonary hypertension. *J. Card. Fail.* 11, 425-431. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2005.01.009>
- Michelakis, E., Rebeyka, I., Bateson, J., Olley, P., Puttagunta, L., Archer, S., 2000. Voltage-gated potassium channels in human ductus arteriosus. *Lancet Lond. Engl.* 356, 134-137. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02452-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02452-1)
- Montani, D., Lau, E.M., Dorfmueller, P., Girerd, B., Jaïs, X., Savale, L., Perros, F., Nossent, E., Garcia, G., Parent, F., Fadel, E., Soubrier, F., Sitbon, O., Simonneau, G., Humbert, M., 2016. Pulmonary veno-occlusive disease. *Eur. Respir. J.* 47, 1518-1534. <https://doi.org/10.1183/13993003.00026-2016>
- Montani, D., Savale, L., Natali, D., Jais, X., Herve, P., Garcia, G., Humbert, M., Simonneau, G., Sitbon, O., 2010. Long-term response to calcium-channel blockers in non-idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur. Heart J.* 31, 1898-1907. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq170>
- Montecucco, F., Burger, F., Pelli, G., Poku, N.K., Berlier, C., Steffens, S., Mach, F., 2009. Statins inhibit C-reactive protein-induced chemokine secretion, ICAM-1 upregulation and chemotaxis in adherent human monocytes. *Rheumatology* 48, 233-242.
- Morecroft, I., Dempsey, Y., Bader, M., Walther, D.J., Kotnik, K., Loughlin, L., Nilsen, M., MacLean, M.R., 2007. Effect of tryptophan hydroxylase 1 deficiency on the development of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Hypertens. Dallas Tex* 49, 232-236. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000252210.58849.78>
- Morecroft, I., Heeley, R.P., Prentice, H.M., Kirk, A., MacLean, M.R., 1999. 5-hydroxytryptamine receptors mediating contraction in human small muscular pulmonary arteries: importance of the 5-HT_{1B} receptor. *Br. J. Pharmacol.* 128, 730-734. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702841>
- Morecroft, I., Loughlin, L., Nilsen, M., Colston, J., Dempsey, Y., Sheward, J., Harmar, A., MacLean, M.R., 2005. Functional interactions between 5-hydroxytryptamine receptors and the serotonin transporter in pulmonary arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 313, 539-548. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.081182>
- Morrell, N.W., Atochina, E.N., Morris, K.G., Danilov, S.M., Stenmark, K.R., 1995. Angiotensin converting enzyme expression is increased in small pulmonary arteries of rats with hypoxia-induced pulmonary hypertension. *J. Clin. Invest.* 96, 1823-1833. <https://doi.org/10.1172/JCI118228>
- Morrell, N.W., Higham, M.A., Phillips, P.G., Shakur, B.H., Robinson, P.J., Beddoes, R.J., 2005. Pilot study of losartan for pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Res.* 6, 88. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-6-88>
- Murata, T., Kinoshita, K., Hori, M., Kuwahara, M., Tsubone, H., Karaki, H., Ozaki, H., 2005. Statin Protects Endothelial Nitric Oxide Synthase Activity in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 2335-2342. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000186184.33537.48>
- Nagaya, N., Nishikimi, T., Okano, Y., Uematsu, M., Satoh, T., Kyotani, S., Kuribayashi, S., Hamada, S., Kakishita, M., Nakanishi, N., Takamiya, M., Kunieda, T., Matsuo, H., Kangawa, K., 1998. Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.* 31, 202-208. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(97\)00452-x](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(97)00452-x)
- Nathan, S.D., Behr, J., Collard, H.R., Cottin, V., Hoepfer, M.M., Martinez, F.J., Corte, T.J., Keogh, A.M., Leuchte, H., Mogulkoc, N., Ulrich, S., Wuyts, W.A., Yao, Z., Boateng, F., Wells, A.U., 2019. Riociguat for idiopathic interstitial pneumonia-associated pulmonary hypertension (RISE-IIP): a

- randomised, placebo-controlled phase 2b study. *Lancet Respir. Med.* 7, 780–790.
[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30250-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30250-4)
- Nisbet, R.E., Graves, A.S., Kleinhenz, D.J., Rupnow, H.L., Reed, A.L., Fan, T.-H.M., Mitchell, P.O., Sutliff, R.L., Hart, C.M., 2009. The role of NADPH oxidase in chronic intermittent hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 40, 601–609.
<https://doi.org/10.1165/2008-0145OC>
- Nishimura, T., Faul, J.L., Berry, G.J., Vaszar, L.T., Qiu, D., Pearl, R.G., Kao, P.N., 2002. Simvastatin attenuates smooth muscle neointimal proliferation and pulmonary hypertension in rats. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166, 1403–1408.
- Nishimura, T., Vaszar, L.T., Faul, J.L., Zhao, G., Berry, G.J., Shi, L., Qiu, D., Benson, G., Pearl, R.G., Kao, P.N., 2003. Simvastatin Rescues Rats From Fatal Pulmonary Hypertension by Inducing Apoptosis of Neointimal Smooth Muscle Cells. *Circulation* 108, 1640–1645.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000087592.47401.37>
- Ochi, R., Chettimada, S., Kizub, I., Gupte, S.A., 2018. Dehydroepiandrosterone inhibits ICa,L and its window current in voltage-dependent and -independent mechanisms in arterial smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 315, H1602–H1613.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00291.2018>
- Oka, M., Fagan, K.A., Jones, P.L., McMurtry, I.F., 2008. Therapeutic potential of RhoA/Rho kinase inhibitors in pulmonary hypertension. *Br. J. Pharmacol.* 155, 444–454.
<https://doi.org/10.1038/bjp.2008.239>
- Oka, M., Karoor, V., Homma, N., Nagaoka, T., Sakao, E., Golembeski, S., Limbird, J., Imamura, M., Gebb, S., Fagan, K., 2007. Dehydroepiandrosterone upregulates soluble guanylate cyclase and inhibits hypoxic pulmonary hypertension. *Cardiovasc. Res.* 74, 377–387.
<https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2007.01.021>
- Okada, M., Harada, T., Kikuzuki, R., Yamawaki, H., Hara, Y., 2009. Effects of telmisartan on right ventricular remodeling induced by monocrotaline in rats. *J. Pharmacol. Sci.* 111, 193–200.
<https://doi.org/10.1254/jphs.09112fp>
- Olschewski, A., Hong, Z., Nelson, D.P., Weir, E.K., 2002. Graded response of K⁺ current, membrane potential, and [Ca²⁺]_i to hypoxia in pulmonary arterial smooth muscle. *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 283, L1143–L1150. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00104.2002>
- Olschewski, H., Ghofrani, H.A., Walrath, D., Schermuly, R., Temmesfeld-Wollbruck, B., Grimminger, F., Seeger, W., 1999. Inhaled prostacyclin and iloprost in severe pulmonary hypertension secondary to lung fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160, 600–607.
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.2.9810008>
- Orte, C., Polak, J.M., Haworth, S.G., Yacoub, M.H., Morrell, N.W., 2000. Expression of pulmonary vascular angiotensin-converting enzyme in primary and secondary plexiform pulmonary hypertension. *J. Pathol.* 192, 379–384. [https://doi.org/10.1002/1096-9896\(2000\)9999:9999<::AID-PATH715>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<::AID-PATH715>3.0.CO;2-Q)
- Oudiz, R.J., 2007. Pulmonary Hypertension Associated with Left-Sided Heart Disease. *Clin. Chest Med., Pulmonary Arterial Hypertension* 28, 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2006.12.001>
- Park, H.S., Chun, J.N., Jung, H.Y., Choi, C., Bae, Y.S., 2006. Role of NADPH oxidase 4 in lipopolysaccharide-induced proinflammatory responses by human aortic endothelial cells. *Cardiovasc. Res.* 72, 447–455.
- Pascale, R.M., Simile, M.M., De Miglio, M.R., Nufri, A., Seddaiu, M.A., Muroni, M.R., Danni, O., Rao, K.N., Feo, F., 1995. Inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase activity and gene expression by dehydroepiandrosterone in preneoplastic liver nodules. *Carcinogenesis* 16, 1537–1542. <https://doi.org/10.1093/carcin/16.7.1537>
- Peacock, A.J., Murphy, N.F., McMurray, J.J.V., Caballero, L., Stewart, S., 2007. An epidemiological study of pulmonary arterial hypertension. *Eur. Respir. J.* 30, 104–109.
- Pei, Y., Ma, P., Wang, X., Zhang, W., Zhang, X., Zheng, P., Yan, L., Xu, Q., Dai, G., 2011. Rosuvastatin attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension via regulation of Akt/eNOS

- signaling and asymmetric dimethylarginine metabolism. *Eur. J. Pharmacol.* 666, 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.05.035>
- Pendyala, S., Usatyuk, P.V., Gorshkova, I.A., Garcia, J.G., Natarajan, V., 2009. Regulation of NADPH oxidase in vascular endothelium: the role of phospholipases, protein kinases, and cytoskeletal proteins. *Antioxid. Redox Signal.* 11, 841–860.
- Peng, W., Hoidal, J.R., Farrukh, I.S., 1999. Role of a novel KCa opener in regulating K⁺ channels of hypoxic human pulmonary vascular cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 20, 737–745. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.20.4.3390>
- Peng, W., Hoidal, J.R., Karwande, S.V., Farrukh, I.S., 1997. Effect of chronic hypoxia on K⁺ channels: regulation in human pulmonary vascular smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 272, C1271–1278. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.272.4.C1271>
- Pengo, V., Lensing, A.W.A., Prins, M.H., Marchiori, A., Davidson, B.L., Tiozzo, F., Albanese, P., Biasiolo, A., Pegoraro, C., Iliceto, S., Prandoni, P., 2004. Incidence of Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension after Pulmonary Embolism. *N. Engl. J. Med.* 350, 2257–2264. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032274>
- Pepke-Zaba, J., Delcroix, M., Lang, I., Mayer, E., Jansa, P., Ambroz, D., Treacy, C., D'Armini, A.M., Morsolini, M., Snijder, R., Bresser, P., Torbicki, A., Kristensen, B., Lewczuk, J., Simkova, I., Barberà, J.A., de Perrot, M., Hoeper, M.M., Gaine, S., Speich, R., Gomez-Sanchez, M.A., Kovacs, G., Hamid, A.M., Jaïs, X., Simonneau, G., 2011. Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH): Results From an International Prospective Registry. *Circulation* 124, 1973–1981. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.015008>
- Pereda, D., García-Alvarez, A., Sánchez-Quintana, D., Nuño, M., Fernández-Friera, L., Fernández-Jiménez, R., García-Ruiz, J.M., Sandoval, E., Aguero, J., Castellá, M., Hajjar, R.J., Fuster, V., Ibáñez, B., 2014. Swine model of chronic postcapillary pulmonary hypertension with right ventricular remodeling: long-term characterization by cardiac catheterization, magnetic resonance, and pathology. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 7, 494–506. <https://doi.org/10.1007/s12265-014-9564-6>
- Pinder, A.G., Rogers, S.C., Khalatbari, A., Ingram, T.E., James, P.E., 2008. The measurement of nitric oxide and its metabolites in biological samples by ozone-based chemiluminescence. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 476, 11–28. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-129-1_2
- Pitt, B.R., Weng, W., Steve, A.R., Blakely, R.D., Reynolds, I., Davies, P., 1994. Serotonin increases DNA synthesis in rat proximal and distal pulmonary vascular smooth muscle cells in culture. *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 266, L178–L186. <https://doi.org/10.1152/ajplung.1994.266.2.L178>
- Platoshyn, O., Golovina, V.A., Bailey, C.L., Limsuwan, A., Krick, S., Juhaszova, M., Seiden, J.E., Rubin, L.J., Yuan, J.X., 2000. Sustained membrane depolarization and pulmonary artery smooth muscle cell proliferation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 279, C1540–1549. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.5.C1540>
- Pullamsetti, S.S., Mamazhakypov, A., Weissmann, N., Seeger, W., Savai, R., 2020. Hypoxia-inducible factor signaling in pulmonary hypertension. *J. Clin. Invest.* 130, 5638–5651. <https://doi.org/10.1172/JCI137558>
- Qaradakh, T., Gadanec, L.K., McSweeney, K.R., Tacey, A., Apostolopoulos, V., Levinger, I., Rimarova, K., Egom, E.E., Rodrigo, L., Kruzliak, P., Kubatka, P., Zulli, A., 2020. The potential actions of angiotensin-converting enzyme II (ACE2) activator diminazene aceturate (DIZE) in various diseases. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 47, 751–758. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13251>
- Quist-Paulsen, P., 2010. Statins and inflammation: an update. *Curr. Opin. Cardiol.* 25, 399–405.
- Rabacal, W., Schweitzer, F., Rayens, E., Tarantelli, R., Whang, P., Jimenez, V.C., Outwater, J.A., Norris, K.A., 2019. Statin treatment prevents the development of pulmonary arterial hypertension in a nonhuman primate model of HIV-associated PAH. *Sci. Rep.* 9, 19832. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55301-9>
- Rabinovitch, M., 2012. Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *J. Clin. Invest.* 122, 4306–4313. <https://doi.org/10.1172/JCI60658>

- Rabinovitch, M., Guignabert, C., Humbert, M., Nicolls, M.R., 2014. Inflammation and immunity in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Circ. Res.* 115, 165–175. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.301141>
- Raghu, G., Behr, J., Brown, K.K., Egan, J.J., Kawut, S.M., Flaherty, K.R., Martinez, F.J., Nathan, S.D., Wells, A.U., Collard, H.R., Costabel, U., Richeldi, L., de Andrade, J., Khalil, N., Morrison, L.D., Lederer, D.J., Shao, L., Li, X., Pedersen, P.S., Montgomery, A.B., Chien, J.W., O’Riordan, T.G., ARTEMIS-IPF Investigators*, 2013. Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with ambrisentan: a parallel, randomized trial. *Ann. Intern. Med.* 158, 641–649. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-9-201305070-00003>
- Ragonese, M., Racioppi, M., Bassi, P.F., Di Gianfrancesco, L., Lenci, N., Filianoti, A., Recupero, S.M., 2016. Mitomycin C: New Strategies to Improve Efficacy of a Well-Known Therapy. *Urol. J.* 83, 24–28. <https://doi.org/10.5301/uro.5000193>
- Rakotoniaina, Z., Guerard, P., Lirussi, F., Goirand, F., Rochette, L., Dumas, M., Bardou, M., 2006. The protective effect of HMG-CoA reductase inhibitors against monocrotaline-induced pulmonary hypertension in the rat might not be a class effect: comparison of pravastatin and atorvastatin. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 374, 195–206. <https://doi.org/10.1007/s00210-006-0112-z>
- Ranchoux, B., Nadeau, V., Bourgeois, A., Provencher, S., Tremblay, É., Omura, J., Coté, N., Abu-Alhayja’a, R., Dumais, V., Nachbar, R.T., Tastet, L., Dahou, A., Breuils-Bonnet, S., Marette, A., Pibarot, P., Dupuis, J., Paulin, R., Boucherat, O., Archer, S.L., Bonnet, S., Potus, F., 2019. Metabolic Syndrome Exacerbates Pulmonary Hypertension due to Left Heart Disease. *Circ. Res.* 125, 449–466. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.314555>
- Reeve, H.L., Michelakis, E., Nelson, D.P., Weir, E.K., Archer, S.L., 2001. Alterations in a redox oxygen sensing mechanism in chronic hypoxia. *J. Appl. Physiol.* 90, 2249–2256. <https://doi.org/10.1152/jappl.2001.90.6.2249>
- Reynolds, A.M., Xia, W., Holmes, M.D., Hodge, S.J., Danilov, S., Curiel, D.T., Morrell, N.W., Reynolds, P.N., 2007. Bone morphogenetic protein type 2 receptor gene therapy attenuates hypoxic pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 292, L1182-1192. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00020.2006>
- Rich, S., Kaufmann, E., Levy, P.S., 1992. The Effect of High Doses of Calcium-Channel Blockers on Survival in Primary Pulmonary Hypertension. *N. Engl. J. Med.* 327, 76–81. <https://doi.org/10.1056/NEJM199207093270203>
- Ridker, P.M., Danielson, E., Rifai, N., Glynn, R.J., Val-MARC Investigators, 2006. Valsartan, blood pressure reduction, and C-reactive protein: primary report of the Val-MARC trial. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 48, 73–79. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000226046.58883.32>
- Riento, K., Ridley, A.J., 2003. Rocks: multifunctional kinases in cell behaviour. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4, 446–456. <https://doi.org/10.1038/nrm1128>
- Robertson, T.P., Aaronson, P.I., Ward, J.P.T., 2003. Ca²⁺ sensitization during sustained hypoxic pulmonary vasoconstriction is endothelium dependent. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 284, L1121-1126. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00422.2002>
- Robertson, T.P., Dipp, M., Ward, J.P., Aaronson, P.I., Evans, A.M., 2000. Inhibition of sustained hypoxic vasoconstriction by Y-27632 in isolated intrapulmonary arteries and perfused lung of the rat. *Br. J. Pharmacol.* 131, 5–9. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703537>
- Rockman, H.A., Ross, R.S., Harris, A.N., Knowlton, K.U., Steinhilber, M.E., Field, L.J., Ross, J., Chien, K.R., 1991. Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 8277–8281. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.18.8277>
- Rom, W.N., Harkin, T., 1991. Dehydroepiandrosterone inhibits the spontaneous release of superoxide radical by alveolar macrophages in vitro in asbestosis. *Environ. Res.* 55, 145–156. [https://doi.org/10.1016/s0013-9351\(05\)80171-9](https://doi.org/10.1016/s0013-9351(05)80171-9)
- Rondelet, B., Kerbaul, F., Van Beneden, R., Hubloue, I., Huez, S., Fesler, P., Rimmelink, M., Brimiouille, S., Salmon, I., Naeije, R., 2005. Prevention of pulmonary vascular remodeling and of decreased

- BMPR-2 expression by losartan therapy in shunt-induced pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 289, H2319–2324. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00518.2005>
- Rothman, R.B., Cadet, J.L., Dersch, C.M., McCoy, M.T., Lehrmann, E., Becker, K.G., Bader, M., Alenina, N., Baumann, M.H., 2011. Altered gene expression in pulmonary tissue of tryptophan hydroxylase-1 knockout mice: implications for pulmonary arterial hypertension. *PLoS One* 6, e17735. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017735>
- Rubin, L.J., Nicod, P., Hillis, L.D., Firth, B.G., 1983. Treatment of primary pulmonary hypertension with nifedipine. A hemodynamic and scintigraphic evaluation. *Ann. Intern. Med.* 99, 433–438. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-99-4-433>
- Ruffenach, G., Umar, S., Vaillancourt, M., Hong, J., Cao, N., Sarji, S., Moazeni, S., Cunningham, C.M., Ardehali, A., Reddy, S.T., Saggar, R., Fishbein, G., Eghbali, M., 2019. Histological hallmarks and role of Slug/PIP axis in pulmonary hypertension secondary to pulmonary fibrosis. *EMBO Mol. Med.* 11, e10061. <https://doi.org/10.15252/emmm.201810061>
- Rysz-Górzynska, M., n.d. Efficacy of Statin Therapy in Pulmonary Arterial Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci. Rep.* 10.
- Rysz-Górzynska, M., Gluba-Brzózka, A., Sahebkar, A., Serban, M.-C., Mikhailidis, D.P., Ursoniu, S., Toth, P.P., Bittner, V., Watts, G.F., Lip, G.Y.H., Rysz, J., Catapano, A.L., Banach, M., 2016. Efficacy of Statin Therapy in Pulmonary Arterial Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci. Rep.* 6, 30060. <https://doi.org/10.1038/srep30060>
- Said, S.I., Hamidi, S.A., Dickman, K.G., Szema, A.M., Lyubsky, S., Lin, R.Z., Jiang, Y.-P., Chen, J.J., Waschek, J.A., Kort, S., 2007. Moderate pulmonary arterial hypertension in male mice lacking the vasoactive intestinal peptide gene. *Circulation* 115, 1260–1268. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.681718>
- Satoh, M., Satoh, A., 2009. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase inhibitors and phosphodiesterase type V inhibitors attenuate right ventricular pressure and remodeling in a rat model of pulmonary hypertension. *J. Pharm. Pharm. Sci. Publ. Can. Soc. Pharm. Sci. Soc. Can. Sci. Pharm.* 11, 118s–130s. <https://doi.org/10.18433/j34k5z>
- Saygili, Erol, Rana, O.R., Saygili, Esra, Reuter, H., Frank, K., Schwinger, R.H.G., Müller-Ehmsen, J., Zobel, C., 2007. Losartan prevents stretch-induced electrical remodeling in cultured atrial neonatal myocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 292, H2898–2905. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00546.2006>
- Schirger, J.A., Grantham, J.A., Kullo, I.J., Jougasaki, M., Wennberg, P.W., Chen, H.H., Lisy, O., Miller, V., Simari, R.D., Burnett, J.C., 2000. Vascular actions of brain natriuretic peptide: modulation by atherosclerosis and neutral endopeptidase inhibition. *J. Am. Coll. Cardiol.* 35, 796–801. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(99\)00593-8](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(99)00593-8)
- Schramm, A., Matusik, P., Osmenda, G., Guzik, T.J., 2012. Targeting NADPH oxidases in vascular pharmacology. *Vascul. Pharmacol.* 56, 216–231. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2012.02.012>
- Schroll, S., Lange, T.J., Arzt, M., Sebah, D., Nowrotek, A., Lehmann, H., Wensel, R., Pfeifer, M., Blumberg, F.C., 2013. Effects of simvastatin on pulmonary fibrosis, pulmonary hypertension and exercise capacity in bleomycin-treated rats. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* 208, 191–201. <https://doi.org/10.1111/apha.12085>
- Schwartz, A.G., Pashko, L.L., 2004. Dehydroepiandrosterone, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and longevity. *Ageing Res. Rev.* 3, 171–187. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2003.05.001>
- Sehra, D., Sehra, S., Sehra, S.T., 2017. Cardiovascular pleiotropic effects of statins and new onset diabetes: is there a common link: do we need to evaluate the role of KATP channels? *Expert Opin. Drug Saf.* 16, 823–831. <https://doi.org/10.1080/14740338.2017.1338269>
- Seimetz, M., Parajuli, N., Pichl, A., Veit, F., Kwapiszewska, G., Weisel, F.C., Milger, K., Egemnazarov, B., Turowska, A., Fuchs, B., Nikam, S., Roth, M., Sydykov, A., Medebach, T., Klepetko, W., Jaksch, P., Dumitrascu, R., Garn, H., Voswinckel, R., Kostin, S., Seeger, W., Schermuly, R.T., Grimminger, F., Ghofrani, H.A., Weissmann, N., 2011. Inducible NOS inhibition reverses tobacco-smoke-induced emphysema and pulmonary hypertension in mice. *Cell* 147, 293–305. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.08.035>

- Semenza, G.L., 2012. Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine. *Cell* 148, 399–408. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.021>
- Shimoda, L.A., Semenza, G.L., 2011. HIF and the Lung. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 183, 152–156. <https://doi.org/10.1164/rccm.201009-1393PP>
- Sigurdsson, A., Swedberg, K., 1996. The role of neurohormonal activation in chronic heart failure and postmyocardial infarction. *Am. Heart J.* 132, 229–234.
- Silva, A.F., Sousa-Nunes, F., Faria-Costa, G., Rodrigues, I., Guimarães, J.T., Leite-Moreira, A., Henriques-Coelho, T., Negrão, R., Moreira-Gonçalves, D., 2021. Effects of chronic moderate alcohol consumption on right ventricle and pulmonary remodelling. *Exp. Physiol.* 106, 1359–1372. <https://doi.org/10.1113/EP088788>
- Simoncini, T., Mannella, P., Fornari, L., Varone, G., Caruso, A., Genazzani, A.R., 2003. Dehydroepiandrosterone modulates endothelial nitric oxide synthesis via direct genomic and nongenomic mechanisms. *Endocrinology* 144, 3449–3455. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0044>
- 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. *Eur. Respir. J.* 53, 1801913. <https://doi.org/10.1183/13993003.01913-2018>
- Sitbon, O., Humbert, M., Jaïs, X., Ioos, V., Hamid, A.M., Provencher, S., Garcia, G., Parent, F., Hervé, P., Simonneau, G., 2005. Long-term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 111, 3105–3111. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.488486>
- Sitbon, O., Morrell, N., 2012. Pathways in pulmonary arterial hypertension: the future is here. *Eur. Respir. Rev. Off. J. Eur. Respir. Soc.* 21, 321–327. <https://doi.org/10.1183/09059180.00004812>
- Smirnov, S.V., Robertson, T.P., Ward, J.P., Aaronson, P.I., 1994. Chronic hypoxia is associated with reduced delayed rectifier K⁺ current in rat pulmonary artery muscle cells. *Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol.* 266, H365–H370. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.266.1.H365>
- Smith, T.G., Robbins, P.A., Ratcliffe, P.J., 2008. The human side of hypoxia-inducible factor. *Br. J. Haematol.* 141, 325–334. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07029.x>
- Soleilhac, J.M., Lucas, E., Beaumont, A., Turcaud, S., Michel, J.B., Ficheux, D., Fournié-Zaluski, M.C., Roques, B.P., 1992. A 94-kDa protein, identified as neutral endopeptidase-24.11, can inactivate atrial natriuretic peptide in the vascular endothelium. *Mol. Pharmacol.* 41, 609–614.
- Stenmark, K.R., Meyrick, B., Galie, N., Mooi, W.J., McMurtry, I.F., 2009. Animal models of pulmonary arterial hypertension: the hope for etiological discovery and pharmacological cure. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 297, L1013-1032. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00217.2009>
- Stolz, D., Rasch, H., Linka, A., Di Valentino, M., Meyer, A., Brutsche, M., Tamm, M., 2008. A randomised, controlled trial of bosentan in severe COPD. *Eur. Respir. J.* 32, 619–628. <https://doi.org/10.1183/09031936.00011308>
- Stroes, E., 2005. Statins and LDL-cholesterol lowering: an overview. *Curr. Med. Res. Opin.* 21 Suppl 6, S9-16. <https://doi.org/10.1185/030079905X59102>
- Suga, S., Nakao, K., Itoh, H., Komatsu, Y., Ogawa, Y., Hama, N., Imura, H., 1992. Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor-beta. Possible existence of “vascular natriuretic peptide system.” *J. Clin. Invest.* 90, 1145–1149. <https://doi.org/10.1172/JCI115933>
- Sun, X., Ku, D.D., 2008. Rosuvastatin provides pleiotropic protection against pulmonary hypertension, right ventricular hypertrophy, and coronary endothelial dysfunction in rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 294, H801-809. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01112.2007>
- Takahashi, M., Nakamura, T., Toba, T., Kajiwara, N., Kato, H., Shimizu, Y., 2004. Transplantation of endothelial progenitor cells into the lung to alleviate pulmonary hypertension in dogs. *Tissue Eng.* 10, 771–779. <https://doi.org/10.1089/1076327041348563>
- Tantini, B., Manes, A., Fiumana, E., Pignatti, C., Guarnieri, C., Zannoli, R., MD, A.B., Galie, N., 2005. Antiproliferative effect of sildenafil on human pulmonary artery smooth muscle cells. *Basic Res. Cardiol.* 100, 131–138. <https://doi.org/10.1007/s00395-004-0504-5>

- Taraseviciene-Stewart, L., Scerbavicius, R., Choe, K.-H., Cool, C., Wood, K., Tuder, R.M., Burns, N., Kasper, M., Voelkel, N.F., 2006. Simvastatin causes endothelial cell apoptosis and attenuates severe pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 291, L668-676. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00491.2005>
- Teisseyre, A., Uryga, A., Michalak, K., 2021. Statins as inhibitors of voltage-gated potassium channels Kv1.3 in cancer cells. *J. Mol. Struct.* 1230, 129905. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.129905>
- Thompson, A.A.R., Lawrie, A., 2017. Targeting Vascular Remodeling to Treat Pulmonary Arterial Hypertension. *Trends Mol. Med.* 23, 31–45. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.11.005>
- Tian, W., Jiang, X., Sung, Y.K., Qian, J., Yuan, K., Nicolls, M.R., 2014. Leukotrienes in pulmonary arterial hypertension. *Immunol. Res.* 58, 387–393. <https://doi.org/10.1007/s12026-014-8492-5>
- Timmermans, P.B., 1999. Angiotensin II receptor antagonists: an emerging new class of cardiovascular therapeutics. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* 22, 147–153. <https://doi.org/10.1291/hypres.22.147>
- Tóth, M., Vuorinen, K.H., Vuolteenaho, O., Hassinen, I.E., Uusimaa, P.A., Leppäluoto, J., Ruskoaho, H., 1994. Hypoxia stimulates release of ANP and BNP from perfused rat ventricular myocardium. *Am. J. Physiol.* 266, H1572-1580. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.266.4.H1572>
- Tuder, R.M., Cool, C.D., Geraci, M.W., Wang, J., Abman, S.H., Wright, L., Badesch, D., Voelkel, N.F., 1999. Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159, 1925–1932. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.159.6.9804054>
- Vachiéry, J.-L., Tedford, R.J., Rosenkranz, S., Palazzini, M., Lang, I., Guazzi, M., Coghlan, G., Chazova, I., De Marco, T., 2019. Pulmonary hypertension due to left heart disease. *Eur. Respir. J.* 53, 1801897. <https://doi.org/10.1183/13993003.01897-2018>
- van Duin, R.W.B., Stam, K., Cai, Z., Uitterdijk, A., Garcia-Alvarez, A., Ibanez, B., Danser, A.H.J., Reiss, I.K.M., Duncker, D.J., Merkus, D., 2019. Transition from post-capillary pulmonary hypertension to combined pre- and post-capillary pulmonary hypertension in swine: a key role for endothelin. *J. Physiol.* 597, 1157–1173. <https://doi.org/10.1113/JP275987>
- Ventetuolo, C.E., Baird, G.L., Barr, R.G., Bluemke, D.A., Fritz, J.S., Hill, N.S., Klinger, J.R., Lima, J.A.C., Ouyang, P., Palevsky, H.I., Palmisciano, A.J., Krishnan, I., Pinder, D., Preston, I.R., Roberts, K.E., Kawut, S.M., 2016. Higher Estradiol and Lower Dehydroepiandrosterone-Sulfate Levels Are Associated with Pulmonary Arterial Hypertension in Men. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 193, 1168–1175. <https://doi.org/10.1164/rccm.201509-1785OC>
- Vonk Noordegraaf, A., Galiè, N., 2011. The role of the right ventricle in pulmonary arterial hypertension. *Eur. Respir. Rev. Off. J. Eur. Respir. Soc.* 20, 243–253. <https://doi.org/10.1183/09059180.00006511>
- Walsh, T.P., Baird, G.L., Atalay, M.K., Agarwal, S., Arcuri, D., Klinger, J.R., Mullin, C.J., Morreo, H., Normandin, B., Shiva, S., Whittenhall, M., Ventetuolo, C.E., 2021. Experimental design of the Effects of Dehydroepiandrosterone in Pulmonary Hypertension (EDIPHY) trial. *Pulm. Circ.* 11, 2045894021989554. <https://doi.org/10.1177/2045894021989554>
- Wang, C.-Y., Liu, P.-Y., Liao, J.K., 2008. Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. *Trends Mol. Med.* 14, 37–44.
- Wang, L., Qu, M., Chen, Y., Zhou, Y., Wan, Z., 2016. Statins Have No Additional Benefit for Pulmonary Hypertension: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PLOS ONE* 11.
- Wang, T., Han, S.-X., Zhang, S.-F., Ning, Y.-Y., Chen, L., Chen, Y.-J., He, G.-M., Xu, D., An, J., Yang, T., Zhang, X.-H., Wen, F.-Q., 2010. Role of chymase in cigarette smoke-induced pulmonary artery remodeling and pulmonary hypertension in hamsters. *Respir. Res.* 11, 36. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-11-36>
- Weatherald, J., Chaumais, M.-C., Savale, L., Jaïs, X., Seferian, A., Canuet, M., Bouvaist, H., Magro, P., Bergeron, A., Guignabert, C., Sitbon, O., Simonneau, G., Humbert, M., Montani, D., 2017. Long-term outcomes of dasatinib-induced pulmonary arterial hypertension: a population-based study. *Eur. Respir. J.* 50. <https://doi.org/10.1183/13993003.00217-2017>

- Weissmann, N., Dietrich, A., Fuchs, B., Kalwa, H., Ay, M., Dumitrascu, R., Olschewski, A., Storch, U., Mederos y Schnitzler, M., Ghofrani, H.A., Schermuly, R.T., Pinkenburg, O., Seeger, W., Grimminger, F., Gudermann, T., 2006. Classical transient receptor potential channel 6 (TRPC6) is essential for hypoxic pulmonary vasoconstriction and alveolar gas exchange. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 19093–19098. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606728103>
- Weissmann, N., Lobo, B., Pichl, A., Parajuli, N., Seimetz, M., Puig-Pey, R., Ferrer, E., Peinado, V.I., Domínguez-Fandos, D., Fysikopoulos, A., Stasch, J.-P., Ghofrani, H.A., Coll-Bonfill, N., Frey, R., Schermuly, R.T., García-Lucio, J., Blanco, I., Bednorz, M., Tura-Ceide, O., Tadele, E., Brandes, R.P., Grimminger, J., Klepetko, W., Jaksch, P., Rodriguez-Roisin, R., Seeger, W., Grimminger, F., Barberà, J.A., 2014. Stimulation of soluble guanylate cyclase prevents cigarette smoke-induced pulmonary hypertension and emphysema. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 189, 1359–1373. <https://doi.org/10.1164/rccm.201311-2037OC>
- Wijeratne, D.T., Lajkosz, K., Brogly, S.B., Loughheed, M.D., 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. *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes* 11, e003973. <https://doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.117.003973>
- Wilhelm, J., Vanková, M., Maxová, H., Sisková, A., 2003. Hydrogen peroxide production by alveolar macrophages is increased and its concentration is elevated in the breath of rats exposed to hypoxia: relationship to lung lipid peroxidation. *Physiol. Res.* 52, 327–332.
- Wing, P.A.C., Keeley, T.P., Zhuang, X., Lee, J.Y., Prange-Barczynska, M., Tsukuda, S., Morgan, S.B., Harding, A.C., Argles, I.L.A., Kurlekar, S., Noerenberg, M., Thompson, C.P., Huang, K.-Y.A., Balfe, P., Watashi, K., Castello, A., Hinks, T.S.C., James, W., Ratcliffe, P.J., Davis, I., Hodson, E.J., Bishop, T., McKeating, J.A., 2021. Hypoxic and pharmacological activation of HIF inhibits SARS-CoV-2 infection of lung epithelial cells. *Cell Rep.* 35, 109020. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109020>
- Wort, S.J., Ito, M., Chou, P.-C., Mc Master, S.K., Badiger, R., Jazrawi, E., de Souza, P., Evans, T.W., Mitchell, J.A., Pinhu, L., Ito, K., Adcock, I.M., 2009. Synergistic induction of endothelin-1 by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma is due to enhanced NF-kappaB binding and histone acetylation at specific kappaB sites. *J. Biol. Chem.* 284, 24297–24305. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.032524>
- Wright, J.L., Churg, A., 1991. Effect of long-term cigarette smoke exposure on pulmonary vascular structure and function in the guinea pig. *Exp. Lung Res.* 17, 997–1009. <https://doi.org/10.3109/01902149109064331>
- Wright, J.L., Zhou, S., Preobrazhenska, O., Marshall, C., Sin, D.D., Laher, I., Golbidi, S., Churg, A.M., 2011. Statin reverses smoke-induced pulmonary hypertension and prevents emphysema but not airway remodeling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 183, 50–58. <https://doi.org/10.1164/rccm.201003-0399OC>
- Xie, L., Lin, P., Xie, H., Xu, C., 2010. Effects of atorvastatin and losartan on monocrotaline-induced pulmonary artery remodeling in rats. *Clin. Exp. Hypertens. N. Y. N* 1993 32, 547–554. <https://doi.org/10.3109/10641963.2010.503295>
- Yang, Jian, Jiang, H., Yang, Jun, Ding, J.-W., Chen, L.-H., Li, S., Zhang, X.-D., 2009. Valsartan preconditioning protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through TLR4/NF-kappaB signaling pathway. *Mol. Cell. Biochem.* 330, 39–46. <https://doi.org/10.1007/s11010-009-0098-1>
- Yang, S., Gu, Y.-Y., Jing, F., Yu, C.-X., Guan, Q.-B., 2019. The Effect of Statins on Levels of Dehydroepiandrosterone (DHEA) in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* 25, 590–597. <https://doi.org/10.12659/MSM.914128>
- Yin, J., Kukucka, M., Hoffmann, J., Sterner-Kock, A., Burhenne, J., Haefeli, W.E., Kuppe, H., Kuebler, W.M., 2011. Sildenafil preserves lung endothelial function and prevents pulmonary vascular

- remodeling in a rat model of diastolic heart failure. *Circ. Heart Fail.* 4, 198–206. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.957050>
- Yin, N., Kaestle, S., Yin, J., Hentschel, T., Pries, A.R., Kuppe, H., Kuebler, W.M., 2009. Inhaled nitric oxide versus aerosolized iloprost for the treatment of pulmonary hypertension with left heart disease. *Crit. Care Med.* 37, 980–986. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181962ce6>
- Yoder, M.C., 2012. Human endothelial progenitor cells. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2, a006692. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006692>
- Yu, J., Wang, S., Shi, W., Zhou, W., Niu, Y., Huang, S., Zhang, Y., Zhang, A., Jia, Z., 2021. Roxadustat prevents Ang II hypertension by targeting angiotensin receptors and eNOS. *JCI Insight* 6, e133690. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.133690>
- Yuan, X.J., 1995. Voltage-gated K⁺ currents regulate resting membrane potential and [Ca²⁺]_i in pulmonary arterial myocytes. *Circ. Res.* 77, 370–378. <https://doi.org/10.1161/01.res.77.2.370>
- Yuan, X.J., Tod, M.L., Rubin, L.J., Blaustein, M.P., 1995. Hypoxic and metabolic regulation of voltage-gated K⁺ channels in rat pulmonary artery smooth muscle cells. *Exp. Physiol.* 80, 803–813. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1995.sp003888>
- Žaloudíková, M., Vytášek, R., Vajnerová, O., Hnilíčková, O., Vízek, M., Hampl, V., Herget, J., 2016. Depletion of alveolar macrophages attenuates hypoxic pulmonary hypertension but not hypoxia-induced increase in serum concentration of MCP-1. *Physiol. Res.* 65, 763–768. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933187>
- Zhang, Y.-T., Xue, J.-J., Wang, Q., Cheng, S.-Y., Chen, Z.-C., Li, H.-Y., Shan, J.-J., Cheng, K.-L., Zeng, W.-J., 2019. Dehydroepiandrosterone attenuates pulmonary artery and right ventricular remodeling in a rat model of pulmonary hypertension due to left heart failure. *Life Sci.* 219, 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.12.056>
- Zhao, Y.D., Courtman, D.W., Deng, Y., Kugathasan, L., Zhang, Q., Stewart, D.J., 2005. Rescue of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension using bone marrow-derived endothelial-like progenitor cells: efficacy of combined cell and eNOS gene therapy in established disease. *Circ. Res.* 96, 442–450. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000157672.70560.7b>
- Zhou, Q., Liao, J.K., 2010. Pleiotropic Effects of Statins—Basic Research and Clinical Perspectives—. *Circ. J.* 74, 818–826.
- Zhou, Q., Liao, J.K., 2009. Statins and cardiovascular diseases: from cholesterol lowering to pleiotropy. *Curr. Pharm. Des.* 15, 467–478.
- Zinellu, A., Paliogiannis, P., Usai, M.F., Carru, C., Mangoni, A.A., 2019. Effect of statin treatment on circulating malondialdehyde concentrations: a systematic review and meta-analysis. *Ther. Adv. Chronic Dis.* 10, 2040622319862714. <https://doi.org/10.1177/2040622319862714>

Publikace *in extenso* :

Krása K, Vajnerova O, D Uris Ova J, Minaříkova M, Miková D, Srbová M, Chalupský K, Kaftanová B, Hampl V. Simvastatin and dehydroepiandrosterone sulfate effects against hypoxic pulmonary hypertension are not additive. *Physiol Res.* 2022 Dec 16;71(6):801-810. doi: 10.33549/physiolres.934913. Epub 2022 Nov 25. PMID: 36426885; PMCID: PMC9814989. **IF 2,139**

Publikace v recenzním řízení :

Novák T, Žaloudíková M, Smolková P, Kaftanová B, Edlmanová J, **Krása K, Hampl V. Hypoxia-inducible factors activator, roxadustat, increases pulmonary vascular resistance in rats**

Chovanec M, Ďurišová J, Vajnerová O, Baňasová A, Vízek M, Žaloudíková M, Uhlík J, **Krása K, Hampl V, Herget J A simple model of reactive pulmonary hypertension in left heart pressure overload induced by partial intravascular occlusion of ascending aorta**

Publikace *bez IF* :

K. Krása, et al., Papillary fibroelastoma in the right ventricle, Cor et Vasa 58 (2016) e484–e486, jak vyšel v online verzi Cor et Vasa na <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010865016300224>

Přednášková činnost

62. konference vojenských internistů 19 - 21.10.2022, Intervenční léčba bradyarytmií, ústní prezentace

95. Fyziologické dny 2019, Sacubitril-valsartan nemá účinek v redukci hypoxické plicní hypertenze u laboratorních potkanů, posterová prezentace,

Vědecká konference 2.LF UK 2019, Kombinace dehydroepiandrosteronu a simvastatinu nemá aditivní účinek v redukci hypoxické plicní hypertenze u krys, posterová prezentace

61. konference vojenských internistů 15 - 16.10.2015, Fulminantní průběh myokarditidy s nutností OTS