



T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

APELİN, SAKUBİTRİL/VALSARTAN VE KOMBİNASYONUNUN
RATLARDA DOKSORUBİSİN İLE İNDÜKLENEN KALP YETMEZLİĞİNDE
PROFİLAKTİK ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet GÜNATA

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. H. Ahmet ACET

MALATYA-2022



T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**APELİN, SAKUBİTRİL/VALSARTAN VE KOMBİNASYONUNUN
RATLARDA DOKSORUBİSİN İLE İNDÜKLENEN KALP YETMEZLİĞİNDE
PROFİLAKTİK ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet GÜNATA
ORCID ID: 0000-0001-6905-4259

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. H. Ahmet ACET

Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TCD-2020-2223 proje kodu ile desteklenmiştir.

MALATYA-2022

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kalp Yetmezliğinin Tanımı.....	3
2.2. Terminoloji.....	3
2.2.1. Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu ve Hafif Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği.....	3
2.2.2. Sağ Ventrikül Disfonksiyonu	4
2.2.3. Kalp Yetmezliğinde Kullanılan Diğer Yaygın Terminoloji	5
2.2.4. Kalp Yetmezliğinin Semptomatik Şiddeti ile İlgili Terminoloji	5
2.3. İnsidans ve Prevalans	6
2.4. Kalp Yetmezliği Etiyolojisi.....	6
2.5. Doğal Tarihi ve Prognoz	8
2.6. Kronik Kalp Yetmezliği	10
2.7. Natriüretik Peptidler	12
2.7.1. Akut Olmayan Ortamda Kullanım	13
2.7.2. Kronik Kalp Yetmezliğinin Altında Yatan Etiyolojiyi Belirlemeye Yönelik Araştırmalar	13
2.8. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği.....	16
2.8.1. Tanısı	16
2.8.2. Farmakolojik Tedaviler	17
2.9. Hafif Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği	26
2.9.1. Tanısı	26
2.9.2. Klinik Özellikleri.....	26
2.9.3. Tedaviler.....	26
2.10. Korunmuş Ejeksiyonlu Kalp Yetmezliği	29

2.10.1. Arka Planı	29
2.10.2. Klinik Özellikleri	30
2.10.3. Tanısı	30
2.10.4. Tedavisi	32
2.11. İlerlemiş Kalp Yetmezliği	34
2.11.1. Epidemiyoloji, Tanı ve Prognoz	34
2.11.2. Yönetim	35
2.12. Akut Kalp Yetmezliği	35
2.12.1. Epidemiyoloji, Tanı ve Prognoz	35
2.13. Kalp Yetmezliği Patofizyolojisi	37
2.13.1. Kalp Yetmezliğindeki Temel Mekanizmaları	38
2.13.2. Sol Ventrikül Remodeling	39
2.13.3. Koruyucu Mekanizmalar	40
2.13.4. Frank-Starling Mekanizması	40
2.13.5. Nörohormonal Aktivasyon	42
2.13.6. Sempatik Sinir Sistemi	42
2.13.7. Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi	42
2.13.8. Natriüretik Peptidler	43
2.14. Yönetim	43
2.14.1. Genel Hususlar	43
2.14.2. Oksijen Tedavisi ve/veya Solunum Desteği	44
2.14.3. Diüretikler	44
2.14.4. Vazodilatörler	45
2.14.5. İnotropolar	45
2.14.6. Vazopresörler	46
2.14.7. Opiyatlar	46
2.14.8. Digoksin	47
2.14.9. Tromboembolizm Profilaksisi	47
2.14.10. Kısa Süreli Mekanik Dolaşım Desteği	47
2.15. Doksorubisin	47
2.15.1. Genel Özellikleri	47
2.15.3. Farmakokinetiği	48
2.15.4. Etki Mekanizması	49
2.15.5. Yan Tesirleri	50

2.16. Apelin Moleküler Yapısı ve Özellikleri	51
2.17. Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi	56
2.18. Natriüretik Sistem	57
2.19. Sakubitril/valsartan	58
2.19.1. Etki Mekanizması	58
2.19.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	60
2.19.3. Farmakokinetik	60
2.19.4. Farmakodinamik	61
3. GEREÇ VE YÖNTEM	62
3.1. Deney Hayvanları, Beslenmesi ve Grupların Oluşturulması	62
3.2. İlaç Uygulaması	63
3.3. EKO Uygulaması	63
3.4. EKG ve Hemodinamik Parametrelerin Değerlendirilmesi	66
3.5. Cerrahi İşlem	67
3.6. Histopatolojik Analizler	67
3.6.1. Histokimyasal Analizler	67
3.6.2. İmmünohistokimyasal Analizler	68
3.7. Biyokimyasal Analizler ve ELISA	68
3.7.1. Dokuların Homojenizasyonu ve Sonifikasyonu	68
3.7.2. Total protein Miktarı Tayini	69
3.7.3. Serum Örneklerinin Hazırlanması	70
3.7.4. ELISA Kitlerinin Çalışılması	70
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	76
4. BULGULAR	78
4.1. Deney Hayvanlarının Özellikleri	78
4.1.1. Deney Öncesi ve Sonrası Ortalama Rat Ağırlıkları ve Mortalite	78
4.1.2. Ratların Deney Sonrası Kalp Ağırlığı ve Kalp/Rat Ağırlık Oranı	79
4.2. EKO Bulguları	81
4.3. Hemodinami Bulguları	83
4.4. EKG Değişiklikleri	85
4.5. Histopatolojik Bulgular	86
4.5.1. Kalp Dokusu	86
4.5.2. Aort Dokusu	93
4.6. Biyokimyasal Bulgular	96

5. TARTIŞMA	100
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	112
KAYNAKLAR	114
EKLER.....	153
EK-1. Etik Kurulu İzin Formu	153



TEŞEKKÜR

Çalışmalarımnda bilgi ve tecrübeleriyle yol gösterici olan tez danışman hocam Prof. Dr. H. Ahmet ACET'e teşekkür ederim. Çalışmalarım esnasında değerli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Hakan PARLAKPINAR'a, Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR'e ve Dr. Öğr. Üyesi Onural ÖZHAN'a, Prof. Dr. Necip ERMİŞ'e, Prof. Dr. Burhan ATEŞ'e, Prof. Dr. Nigar VARDI'ya, Prof. Dr. Hakan HARPUTLUOĞLU'na, Doç. Dr. Elif TAŞLIDERE'ye, Doç. Dr. Ahmet ULU'ya, Dr. Seyhan POLAT'a, Dr. Seyfullah İNAN'a, Dr. Rabia ÇANDIR'a teşekkür ederim.

TCD-2020-2223 kodlu projeme destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca olduğu gibi zorlu tez sürecinde de desteklerini esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

Dr. Mehmet GÜNATA

ÖZET

Apelin, Sakubitril/Valsartan ve Kombinasyonunun Ratlarda Doksorubisin ile İndüklenen Kalp Yetmezliğinde Profilaktik Etkilerinin Karşılaştırılması

Amaç: KY miyokarddaki yapısal/fonksiyonel bozuklukların neden olduğu, ventriküler dolumun veya ejeksiyon fraksiyonun bozulmasına neden olan klinik bir sendromdur. Araştırmamızda, KVH’de olumlu etkileri bilinen apelin, SV ve kombinasyonunun KY’deki profilaktik etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 4 aylık (250-300 g) toplam 50 adet *Sprague Dawley* ırkı erkek ratlar basit randomize tek kör olarak Kontrol (n=8), Dox (n=12), Apelin+Dox (n=10), SV+Dox (n=10) ve Apelin+SV+Dox (n=10) gruplarına ayrıldı. İki haftalık bir süre içinde 6X2,5 mg/kg (15 mg/kg) olacak şekilde ip yolla Dox verilerek KY modeli indüklendi. Aynı süre içinde Apelin grubuna ip yoldan 20 nmol/kg/gün apelin, SV+Dox grubuna perioral yoldan 68 mg/kg/gün SV ve Apelin+SV+Dox grubuna apelin, SV ve Dox uygulandı. Deney sonunda EKO ve invazif hemodinamik ölçümler yapıldı. Kalp, aort dokusu ve kan alınarak histopatoloji ve ELISA çalışıldı.

Bulgular: Apelin+SV+Dox grubunda kalp ağırlığında iyileşme, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında mortalitede azalma, SV verilen her iki grupta da kontrol grubuna göre kalp hızında azalma tespit edildi. Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox grubunda sistolik kan basıncında azalma görüldü. Hem SV+Dox hem de Apelin+SV+Dox grubunda diyastolik ve ortalama kan basıncında azalma görüldü. Dox grubunda LVEF ve LVFS’de azalma, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox grubunda ise artış tespit edildi. Dox grubunda dejenere kardiyomiyosit, vakuolizasyon, hemoraji, infiltrasyon, kollajen artışı, MMP-2 ve MMP-9 artış, tüm profilaktik gruplarda ise iyileşmeler görüldü. Biyokimyasal sonuçları açısından anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

Sonuçlar: Dox ile indüklenen kalp yetmezliğinde SV daha fazla olmak üzere Apelin, SV ve kombinasyonun EKO ve histopatolojik olarak önemli iyileşmeler sağladığı bulundu. Sonuçlarımızı destekleyecek ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, apelin, sakubitril valsartan, kalp yetmezliği, ejeksiyon fraksiyonu, rat

ABSTRACT

Comparison of the Prophylactic Effects of Apelin, Sacubitril/Valsartan and Combination in Doxorubicin-Induced Heart Failure in Rats

Aim: HF is a clinical syndrome caused by structural/functional disorders in the myocardium, resulting in impaired ventricular filling or ejection fraction. In our study, it was aimed to compare the prophylactic effects of apelin, SV and their combination, which are known to have positive effects in CVD in HF.

Material and Method: In the study, a total of 50 male *Sprague Dawley* rats aged 4 months (250-300 g) were simple randomized single-blind assigned to Control (n=8), Dox (n=12), Apelin+Dox (n=10), SV+Dox (n=10) and Apelin+SV+Dox (n=10) groups. The HF model was induced by ip administration of Dox at a rate of 6X2.5 mg/kg (15 mg/kg) over a two-week period. In the same period, 20 nmol/kg/day apelin was administered ip to the Apelin group, 68 mg/kg/day SV to the SV+Dox group periorally, and apelin, SV and Dox to the Apelin+SV+Dox group. ECHO and invasive hemodynamic measurements were performed at the end of the experiment. Heart, aortic tissue and blood were collected and histopathologically and ELISA were studied.

Results: There was an improvement in heart weight in the Apelin+SV+Dox group, a decrease in mortality in the SV+Dox and Apelin+SV+Dox groups, and a decrease in heart rate in both groups given SV compared to the control group. A decrease in systolic blood pressure was observed in the Dox, SV+Dox and Apelin+SV+Dox groups. Diastolic and mean blood pressure were decreased in both SV+Dox and Apelin+SV+Dox groups. There was a decrease in LVEF and LVFS in the Dox group, and an increase in the SV+Dox and Apelin+SV+Dox groups. Degenerated cardiomyocyte, vacuolization, hemorrhage, infiltration, collagen increase, MMP-2 and MMP-9 increase were observed in the Dox group, while improvements were observed in all prophylactic groups. No significant change was observed in biochemical results.

Conclusion: It was found that Apelin, SV and the combination, especially SV, provided significant improvements in ECHO and histopathologically in Dox-induced heart failure. Further studies are needed to support our results.

Keywords: Doxorubicin, apelin, sacubitril/valsartan, heart failure, ejection fraction, rat

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE-2	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim-2
ACEI	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörü
ADKY	: Akut Dekompanze Kalp Yetmezliği
AF	: Atrial Fibrilasyon
AKR1A	: Aldo-Keto Redüktaz 1a
AKS	: Akut Koroner Sendrom
AKY	: Akut Kalp Yetmezliği
APJ	: Apelin Reseptörü
ARB	: Anjiyotensin Reseptör Blokeri
ARNI	: Anjiyotensin Reseptör-Neprilisin İnhibitörü
AT1	: Anjiyotensin II Tip 1
AT2	: Anjiyotensin II Tip 2
ATP	: Adenozin Trifosfat
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
BNP	: B-Tipi Natriüretik Peptid
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CALLA	: Yaygın Akut Lenfoblastik Lösemi Antijeni
CBR1	: Karbonil Redüktaz 1
CMP	: Kardiyomiyopati
CMR	: Kardiyak Manyetik Rezonans
CNP	: C-Tipi Natriüretik Peptid
CTCA	: Bilgisayarlı Tomografi Koroner Anjiyografi
DAG	: Diaçilgliserol
DCM	: Dilate Kardiyomiyopati
DM	: Diabetes Mellitus
DMAH	: Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin
DNP	: Dendroaspis Natriüretik Peptid
Dox	: Doksorubisin

EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
EMA	: Avrupa İlaç Ajansı
ERK	: Ekstrasellüler Sinyalle Düzenlenmiş Kinaz
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
GFR	: Glomeruler Filtrasyon
HbA1c	: Glikolize Hemoglobin
HFmEF	: Hafif Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği
HFpEF	: Korunmuş Ejeksiyonlu Kalp Yetmezliği
HFrEF	: Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği
ICD	: İmplant Edilebilir Kardiyoverter-Defibrilatör
IP3	: İnozitol 1,4,5 Trifosfat
IVS	: İnterventriküler Septum Kalınlık
i.v.	: İntravenöz
ip	: İntraperitoneal
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
KKY	: Kronik Kalp Yetmezliği
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KRT	: Kardiyak Resenkronizasyon Tedavisi
KVH	: Kardiyovasküler Hastalık
KY	: Kalp Yetmezliği
LA	: Sol Atriyum
LGE	: Geç Gadolinyum Geliştirme
LV	: Sol Ventrikül
LVEF	: Sol Ventrikül Ejeksiyon Fraksiyonu
LVFS	: Sol Ventrikül Fraksiyonel Kısılma
LVH	: Sol Ventrikül Hipertrofi
LVIDd	: Sol Ventrikül End-Diastolik Çap
LVIDs	: Sol Ventrikül End-Sistolik Çap
MCS	: Mekanik Dolaşım Desteği

MI	: Miyokard İnfarktüs
MME	: Membran Metallo-Endopeptidaz
MR pro-ANP	: MR-Pro Atrial Natriüretik Peptid
MRA	: Mineralokortikoid Reseptör Antagonistleri
NEP	: Nötral Endopeptidaz
NO	: Nitrik Oksid
NOS	: Nitrik Oksid Sentaz
NP	: Natriüretik Peptid
NPR	: Natriüretik Peptid Reseptör
NT-proBNP	: NT-Pro B-Tipi Natriüretik Peptid
NYHA	: New York Heart Association
PCWP	: Pulmoner Kapiler Kama Basıncı
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PI3K	: Fosfoinozitol 3 Kinaz
PIP2	: Fosfatidilinositol 4,5-Bifosfat
PKA	: Protein Kinaz A
PKB	: Protein Kinaz B
PKC	: Protein Kinaz C
PW	: Posterior Duvar Kalınlığı
RAAS	: Renin Anjiyotensin Aldosteron
RRT	: Renal Replasman Tedavisi
RV	: Sağ Ventrikül
RVEDP	: Sağ Ventrikül Diyastol Sonu Basıncı
SBP	: Sistolik Kan Basıncı
SGLT2	: Sodyum-Glikoz Yardımcı Taşıyıcı 2
SPECT	: Tek Foton Emisyonlu Bilgisayarlı Tomografi
SV	: Sakubitril/Valsartan
TSAT	: Transferrin Doygunluğu
TSH	: Tiroid Stimüle Edici Hormon
TTE	: Transtorasik EKO
TY	: Triküspit Yetmezliği

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. HFrEF tanı algoritması	16
Şekil 2.2. Mortalitenin azaltılmasına yönelik sınıf I endikasyonlar için HFrEF'li hastalarda ilaçlar ve cihazlar.	18
Şekil 2.3. Frank-Starling mekanizması.....	41
Şekil 2.4. Dox kardiyotoksisite mekanizmaları.....	50
Şekil 2.5. Apelinin etki mekanizması	52
Şekil 2.6. Apelinin hücre içerisinde yaptığı etkilerin genel görünümü	54
Şekil 2.7. SV'nin etki mekanizması	60
Şekil 3.1. Kontrol grubuna ait EKO görüntüsü	64
Şekil 3.2. Dox grubuna ait EKO görüntüsü, sol ventrikül hipertrofisi	64
Şekil 3.3. Dox grubuna ait EKO görüntüsü, kardiyak efüzyon	65
Şekil 3.4. Dox grubuna ait EKO görüntüsü, sol ventrikül dilatasyonu.....	65
Şekil 3.5. Sol karotis kanülasyonu yoluyla invazif KB ölçümü.	66
Şekil 3.6. Total protein tayini	69
Şekil 3.7. Kalp ve damar dokusunda biyokimyasal analiz (ELISA) çalışmaları.....	70
Şekil 4.1. Deney öncesi ve sonrası rat ağırlığı.....	79
Şekil 4.2. Ratların deney sonrası kalp ağırlığı.....	81
Şekil 4.3. Ratların EKO bulguları.....	83
Şekil 4.4. Hemodinami bulguları.....	85
Şekil 4.5. Kontrol grubunun histolojik görüntüsü	87
Şekil 4.6. Kontrol grubunun imMünohistokimyasal görüntüsü.	87
Şekil 4.7. Dox grubunun histopatolojik görüntüsü.	88
Şekil 4.8. Dox grubunun imunohistokimyasal görüntüsü	89
Şekil 4.9. Apelin+Dox grubunun histopatolojik ve imMunohistokimyasal görüntüsü	90
Şekil 4.10. SV+Dox grubunun histopatolojik ve imMunohistokimyasal görüntüsü.....	91
Şekil 4.11. Apelin+SV+Dox histopatolojik ve imMunohistokimyasal görüntüsü	92
Şekil 4.12. Grupların damar yapıların genel histopatolojik görüntüsü.....	94
Şekil 4.13. Grupların damar yapıların genel histopatolojik görüntüsü.....	95

Şekil 4.14. Gruplar arası ACE2 ve NT-ProBNP düzeyleri	99
Şekil 4.15. Gruplar arası vasküler parametreler (anlamlı olanlar)	99



TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Düşük ejeksiyon fraksiyonlu, hafif azalmış ejeksiyon fraksiyonlu ve korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliğinin tanımı.....	4
Tablo 2.2. Kalp yetmezliğinin semptomların şiddetine ve fiziksel aktiviteye dayalı fonksiyonel sınıflandırması.....	6
Tablo 2.3. Kalp yetmezliğinin nedenleri, yaygın sunum biçimleri ve özel araştırmalar	7
Tablo 2.4. Kalp yetmezliğine özgü semptom ve bulgular.....	10
Tablo 2.5. Konjestif kalp yetmezliği şüphesi olan tüm hastalarda önerilen tanı testleri.....	12
Tablo 2.6. Natriüretik peptidlerin yüksek konsantrasyonlarının nedenleri	12
Tablo 2.7. Kalp yetmezliğinin geri dönüşümlü/tedavi edilebilir nedenlerini saptamak için kullanılan özel tanı testleri için öneriler.....	14
Tablo 2.8. Düşük ejeksiyon fraksiyonu ile (NYHA sınıf II-IV) kalp yetmezliği olan hastalarda belirtilen farmakolojik tedaviler.....	17
Tablo 2.9. Düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği hastalarında yapılan randomize çalışmalarda kanıta dayalı ilaç dozları	19
Tablo 2.10. Düşük ejeksiyon fraksiyonu ($LVEF \leq 40$) ile NYHA sınıf II-IV kalp yetmezliği olan seçilmiş hastalarda belirtilen diğer farmakolojik tedaviler.....	22
Tablo 2.11. Hafif derecede azalmış ejeksiyon fraksiyonlu (NYHA sınıf II-IV) kalp yetmezliği olan hastalarda düşünülmesi gereken farmakolojik tedaviler.....	27
Tablo 2.12. Sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu/artmış sol ventrikül dolum basınçları ile tutarlı kardiyak yapısal, fonksiyonel ve serolojik anormalliklerin objektif kanıtları	31
Tablo 2.13. Kalp yetmezliği gelişimi için risk faktörleri ve önleyici stratejiler	33
Tablo 2.14. Gelişimi için risk faktörleri olan hastalarda kalp yetmezliğinin birincil önlenmesi için öneriler.....	34
Tablo 2.15. Korunmuş ejeksiyonlu kalp yetmezliği hastalarının tedavisi için öneriler	34

Tablo 2.16. İleri kalp yetmezliği tanımı için kriterler	35
Tablo 2.17. Akut kalp yetmezliğini tedavi etmek için kullanılan inotropik ve/veya vazopresörler	46
Tablo 4.1. Deney öncesi ve sonrası ortalama rat ağırlıkları	78
Tablo 4.2. Gruplar arası mortalite oranları (%).....	79
Tablo 4.3. Ratların deney sonrası kalp ağırlığı ve kalp/rat ağırlık oranı.....	80
Tablo 4.4. EKO bulguları	82
Tablo 4.5. Hemodinami bulguları	84
Tablo 4.6. EKG değişiklikleri	86
Tablo 4.7. Aritmi bulguları	86
Tablo 4.8. Histopatolojik hasar skoru	93
Tablo 4.9. Tunika intima-media kalınlığı histolojik skor sonuçları	95
Tablo 4.10. Biyokimyasal bulgular	97

1. GİRİŞ

Kalp yetmezliği (KY) tek bir patolojik tanı olmayıp yüksek juguler ven basıncı, pulmoner ral ve periferik ödem gibi bulguların da eşlik edebileceği kardinal semptomlardan (örneğin nefes darlığı, ayak bileği şişmesi ve yorgunluk) oluşan klinik bir sendromdur. Spesifik patoloji tedavi aşamasını belirleyeceğinden, KY tanısında altta yatan kardiyak disfonksiyonun etiyolojisinin belirlenmesi önemlidir. KY en yaygın bir şekilde sistolik, diyastolik veya her ikisinin de olduğu miyokardiyal disfonksiyondan kaynaklanır. Genel olarak KY sınıflandırması ekokardiyografik (EKO) ölçümlere göre belirlenmektedir (1):

1. Düşük sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF)'li KY: $LVEF \leq 40\%$ olarak tanımlananlar, yani sol ventrikül (LV)'nin sistolik fonksiyonunda önemli bir azalma olanlar. Bu düşük ejeksiyon fraksiyonlu KY (HFrEF) olarak belirlenmiştir.

2. LVEF'si $41-49\%$ arasında olan hastalarda hafif derecede azalmış LV sistolik fonksiyonu, yani HFmrEF vardır. LVEF'si $40-50\%$ aralığında olan hastaları içeren ve HFrEF veya KY'de korunmuş ejeksiyon fraksiyonuna (HFpEF) sahip hastalardan elde edilen randomize kontrollü çalışmaların retrospektif analizlerinin sonucunda bu hastaların da $LVEF \leq 40\%$ olan hastalara benzer şekilde tedavilerden fayda görebileceğini göstermektedir (2, 3). Bu HFmrEF şeklinde yeniden adlandırılmasını gerekli kılmaktadır (4).

3. KY semptom ve bulguları olanlar, yapısal ve/veya fonksiyonel kardiyak anormallikler ve/veya artmış natriüretik peptid (NP)'ler ve $LVEF \geq 50\%$ olanlar HFpEF'ye sahiptir. Avrupa'da KY insidansı yaklaşık 3/1000 kişi-yıl (tüm yaş grupları) veya yetişkinlerde yaklaşık 5/1000 kişi-yıldır (5, 6). KY prevalansı yetişkinler için $1-2\%$ gibi görünmektedir (7, 8). European Society of Cardiology Uzun Vadeli Kayıt'tan elde edilen verilere göre ayakta tedavi gören hastaların 60% 'inde HFrEF, 24% 'ünde HFmrEF ve 16% 'sında HFpEF bulunmaktadır (9). Cinsiyet olarak bakıldığında KY hastalarının 50% 'den biraz fazlasını kadınlar oluşturmaktadır (10).

Antrasiklinler, antikanser ilaçlar kategorisinde yer alan kemoterapötik bir ilaç grubu olup birçok hematolojik ve solid organ tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır (11). Kullanımına bağlı en önemlisi kardiyotoksisite olan birçok yan tesire de neden

olmaktadır. Bu yan tesirler kümülatif olarak ortaya çıkmaktadır ve ilacın klinik kullanımını önemli derecede sınırlandırmaktadır (12).

Doksorubisin (Dox) ile indüklenen KY'nin patofizyolojisi ve mekanizması net olarak bilinmemektedir. Ancak ortamdaki serbest oksijen radikallerini artırarak meydana getirdiği oksidatif stresin hücrel yapılar zarar vermesi en bilinen toksisite mekanizmasıdır. Dox sadece eksojen değil aynı zamanda endojen antioksidanların da yanıtlarının azalmasına yol açar. Kardiyotoksisite mekanizmaları arasında serbest radikal üretiminin artması, lipid peroksidasyonu, adrenerjik sistem disfonksiyonu, sarkoplazmik retikulumun kalsiyuma karşı geçirgenliğinin değişmesi, inflamatuvar sitokin seviyesinin artışı, apoptozis, mitokondriyal disfonksiyon, antioksidan enzim düzeyinin azalması, lizozom değişiklikleri ve miyokard dokusundaki elektrolit dengesinin bozulması yer almaktadır (13-16). Ayrıca etkiyi topoizomerez-DNA kompleksini stabilize ederek DNA ikili sarmal yapısının tekrar birleşmesini engelleyerek DNA replikasyonunu inhibe eder (17, 18). Dox, DNA'da guanin-sitozin baz çiftleri içeren bölgeye bağlanarak Dox-DNA kompleks oluşturur ve DNA'nın tekrar kapanmasına engel olur. Bu durum DNA'da hasara neden olacak mekanizmaların aktive olmasını sağlar. Genel olarak Dox toksisitesinden sorumlu olan temel mekanizma serbest radikal ve lipid peroksidasyon düzeyinin artmasına karşılık göreceli olarak antioksidan düzeyinde azalmanın gerçekleşmesidir (19). Dox kardiyotoksisitesinin önlenmesinde iki temel yol bulunmaktadır. Ya Dox'un kümülatif dozu azaltılmalı ya da Dox toksisitesine karşı kardiyoprotektif ajanlar kullanılmalıdır.

Sakubitril/valsartan (SV); neprilisin inhibitörü (sakubitril) ve anjiyotensinreseptör blokleri (valsartan) kombinasyonunu içeren ve KY tedavisinde kullanımına onay verilen yeni bir ajandır (20). Apelin ise pozitif inotropik etkisi ve kardiyoprotektif özellikleri olan endojen bir peptiddir (21).

KY tedavisi ve yönetiminde güncel rehberlerin yanında patogenezinin araştırılması ve KY'ye bağlı ortaya çıkan komplikasyonların daha etkili yönetilmesi amacıyla deneysel çalışmalar devam etmektedir. Çalışmayla ratlarda Dox ile oluşturulan KY'de apelin, SV ve kombinasyonunun profilaktik etkilerinin hemodinamik, biyokimyasal ve histopatolojik düzeydeki etkilerinin araştırılması amaçlandı. Projeden elde edilecek veriler sayesinde Dox ile indüklenen KY'deki yeni koruyucu ajanların kullanılması ve bu konuda literatüre yeni bilgilerin kazandırılması düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalp Yetmezliğinin Tanımı

KY tek bir patolojik tanı olmayıp yüksek juguler ven basıncı, pulmoner ral ve periferik ödem gibi bulguların da eşlik edebileceği kardinal semptomlardan (örneğin nefes darlığı, ayak bileği şişmesi ve yorgunluk) oluşan klinik bir sendromdur. Bu, istirahat ve/veya egzersiz sırasında yüksek intrakardiyak basınçlar ve/veya yetersiz kardiyak output ile sonuçlanan kalbin yapısal ve/veya fonksiyonel anormalliğinden kaynaklanır.

Spesifik patoloji tedavi aşamasını belirleyeceğinden, KY tanısında altta yatan kardiyak disfonksiyonun etiyolojisinin belirlenmesi önemlidir. KY en yaygın bir şekilde sistolik, diyastolik veya her ikisinin de olduğu miyokardiyal disfonksiyondan kaynaklanır.

Bununla birlikte, kapakçık, perikard ve endokard dokusundaki patolojik değişiklikler ve kalp ritmindeki anormal iletim bozuklukları da KY'ye neden olabilir veya KY'nin gelişimine katkı sağlayabilir (1).

2.2. Terminoloji

2.2.1. Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu ve Hafif Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği

Geleneksel olarak KY, LVEF'nin ölçümüne dayalı olarak farklı fenotiplere ayrılmıştır (Tablo 2.1). Burdaki temel mantık $LVEF \leq 40\%$ olan hastalarda önemli ölçüde iyileştirilmiş sonuçlar gösteren KY'deki orijinal tedavi denemeleriyle ilgilidir. Genel olarak KY sınıflandırması EKO ölçümlere göre belirlenmektedir (1):

- Düşük LVEF'li KY: $LVEF \leq 40\%$ olarak tanımlananlar, yani LV'nin sistolik fonksiyonunda önemli bir azalma olanlar. Bu HFrEF olarak belirlenmiştir.
- LVEF'si $41-49\%$ arasında olan hastalarda hafif derecede azalmış LV sistolik fonksiyonu, yani HFmrEF vardır. LVEF'si $40-50\%$ aralığında olan hastaları içeren ve HFrEF veya KY'de HFpEF sahip hastalardan elde edilen randomize kontrollü çalışmaların retrospektif analizlerinin sonucunda bu hastaların da $LVEF \leq 40\%$ olan hastalara benzer şekilde tedavilerden fayda

görebileceğini göstermektedir (2, 3, 22). Bu HFmrEF şeklinde yeniden adlandırılmasını gerekli kılmaktadır (4).

- KY semptom ve bulguları olanlar, yapısal ve/veya fonksiyonel kardiyak anormallikler ve/veya artmış NP'ler ve LVEF $\geq$ %50 olanlar HFpEF'ye sahiptir.
- Bu tanımlar, KY evrensel tanımı hakkında yakın tarihli bir raporla tutarlıdır (23).

Kardiyovasküler hastalık (KVH)'ye sahip olmayan diğer hastalar (anemi, pulmoner, renal, tiroid veya karaciğer hastalığı gibi) KY'ye çok benzer semptom ve bulgulara sahip olabilir, ancak kardiyak fonksiyon bozukluğu olmadığında KY kriterlerini karşılamazlar. Ancak bu patolojiler KY ile birlikte bulunabilir ve KY sendromlarını alevlendirebilir.

Tablo 2.1. Düşük ejeksiyon fraksiyonlu, hafif azalmış ejeksiyon fraksiyonlu ve korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliğinin tanımı

KY Tipi	HFpEF	HFmrEF	HFpEF
Kriter	1	2	3
	Semptomlar $\pm$ Belirtiler ^a	Semptomlar $\pm$ Belirtiler ^a	Semptomlar $\pm$ Belirtiler ^a
	2	LVEF $\leq$ %40	LVEF $\geq$ %50
	3	-	Kardiyak yapısal ve/veya fonksiyonel bulgu LV diyastolik varlığı ile uyumlu anormallikler Yükselmiş NP'ler dahil olmak üzere disfonksiyon/artmış LV dolum basınçları ^c

KY, kalp yetmezliği; HFmrEF, hafif düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; HFpEF, korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; HFpEF, düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; LV, sol ventrikül; LVEF, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu; NP, natriüretik peptid.

^a KY'nin erken evrelerinde (özellikle HFpEF'de) ve optimal olarak tedavi edilen hastalarda belirtiler mevcut olmayabilir.

^b HFmrEF tanısı için, yapısal kalp hastalığına ilişkin diğer kanıtların (örneğin artmış sol atriyal boyutu, LV hipertrofisi veya bozulmuş LV dolumunun EKO ölçümleri) varlığı tanıyı daha olası kılar.

^c HFpEF tanısı için, mevcut anormalliklerin sayısı arttıkça, HFpEF olasılığı da artar.

2.2.2. Sağ Ventrikül Disfonksiyonu

KY ayrıca RV işlev bozukluğunun bir sonucu olarak da meydana gelebilir. RV'nin mekanik yapısı ve işlevi, artan basınç veya aşırı hacim yüklenmesi durumunda değişir (24). Kronik RV yetmezliğinin ana etiyolojisi, LV disfonksiyonuna bağlı

pulmoner hipertansiyon olmasına rağmen, RV disfonksiyonunun bir dizi başka nedeni de vardır [miyokard infarktüsü (MI), aritmojenik RV kardiyomiyopati veya kapak hastalığı gibi] (25). Tanı, aşağıdaki ölçümlerden en az biri kullanılarak, en yaygın olarak EKO ile global RV fonksiyonunun nicel bir değerlendirmesiyle belirlenir: fraksiyonel alan değişikliği (FAC); triküspit anüler düzlem sistolik gezi (TAPSE); ve triküspit halkanın doppler doku görüntülemesinden türetilen sistolik S' hızı. RV disfonksiyonunun tanısı ve yönetimi, yakın tarihli bir Kalp Yetmezliği Derneği tarafından kapsamlı bir şekilde ele alınmıştır (26).

2.2.3. Kalp Yetmezliğinde Kullanılan Diğer Yaygın Terminoloji

KY; kronik kalp yetmezliği (KKY) ve akut kalp yetmezliği (AKY) şeklinde genellikle iki ana gruba ayrılır. KKY yerleşik bir KY tanısı almış veya kademeli bir semptom başlangıcı olan kişileri tanımlar. KKY aniden veya yavaş yavaş bozulursa dekompanse KY olarak tanımlanabilir (1).

KY'si olan bazı hastalar (alkole bağlı kardiyomiyopati, viral miyokardit, takotsubo sendromu, peripartum kardiyomiyopati veya taşikardiyomiyopati nedeniyle olanlar) tamamen iyileşebilir. LV sistolik disfonksiyonu olan diğer hastalarda, ilaç ve cihaz tedavisini aldıktan sonra LV sistolik fonksiyonunda önemli seviyede veya tam bir iyileşme görülebilir (1).

2.2.4. Kalp Yetmezliğinin Semptomatik Şiddeti ile İlgili Terminoloji

KY'nin şiddetini tanımlamak için kullanılan en basit terminoloji New YorkHeart Association (NYHA) fonksiyonel sınıflandırmasıdır (Tablo 2.2). Bu yalnızca semptomlara dayanır ve KY'de daha iyi prognoz göstergesi olan birçok belirteç bulunmaktadır (27). Daha da önemlisi, hafif semptomları olan hastalarda hastaneye yatış ve ölüm riski hala yüksek olabilir (28).

İleri KY hastalarında transplantasyon veya cihaz terapisi gibi tedavi seçeneklerinin seçiminde KY semptomatik şiddeti özellikle önemlidir.

Tablo 2.2. Kalp yetmezliğinin semptomların şiddetine ve fiziksel aktiviteye dayalı fonksiyonel sınıflandırması.

Sınıf I	Fiziksel aktivite sınırlaması yoktur. Basit fiziksel aktiviteler aşırı nefes darlığına, yorgunluğa veya çarpıntıya neden olmaz.
Sınıf II	Fiziksel aktivitenin hafif sınırlaması. Dinlenirken rahattır, ancak olağan fiziksel aktiviteler aşırı nefes darlığına, yorgunluk veya çarpıntıya neden olur.
Sınıf III	Fiziksel aktivitede belirgin sınırlama. Dinlenirken rahattır, ancak hafif egzersizler bile aşırı nefes darlığına, yorgunluk veya çarpıntıya neden olur.
Sınıf IV	İstirahat durumunda bile semptomlar mevcut olabilir. Herhangi bir fiziksel aktivite yapılırsa rahatsızlık artar.

NYHA, New York Heart Association.

2.3. İnsidans ve Prevalans

Gelişmiş ülkelerde, yaşa göre ayarlanmış KY insidansı düşüyor olabilir, bu muhtemelen KVVH'nin daha iyi yönetimini yansıtmaktadır, ancak yaşlanma nedeniyle genel insidans artmaktadır (29). Hali hazırda Avrupa'da KY insidansı yaklaşık 3/1000 kişi-yıl (tüm yaş grupları) veya yetişkinlerde yaklaşık 5/1000 kişi-yıldır (5, 6). KY prevalansı yetişkinler için %1-2 gibi görünmektedir (8). Çalışmalar genellikle yalnızca doğrulanmış KY vakalarını içerdiğinden, gerçek prevalansın daha yüksek olması muhtemeldir (30). Prevalans yaşla birlikte artmaktadır. Örneğin 55 yaşın altındakiler için yaklaşık %1 olan KY prevalansı, 70 yaş ve üzerindeki kişilerde >%10'a kadar çıkabilmektedir (31). Genel olarak, KY hastalarının yaklaşık %50'sinde HFrEF, diğer %50'sinde de HFpEF/HFmrEF olduğu düşünülmektedir. Bu da esas olarak hastanede yatan hastalarda yapılan çalışmalara dayanmaktadır (32). European Society of Cardiology Uzun Vadeli Kayıt'tan elde edilen verilere göre ayakta tedavi gören hastaların %60'ında HFrEF, %24'ünde HFmrEF ve %16'sında HFpEF bulunmaktadır(9). Cinsiyet olarak bakıldığında KY hastalarının %50'den biraz fazlasını kadınlar oluşturmaktadır (10).

2.4. Kalp Yetmezliği Etiyolojisi

KY'nin en yaygın nedenleri Tablo 2.3'te gösterilmiştir. KY'nin etiyolojisi bulunulan coğrafyaya göre de değişmektedir. Batı tipi ve gelişmiş ülkelerde koroner arter hastalığı (KAH) ve hipertansiyon baskın faktörlerdir (33)

İskemik etiyoloji dikkate alındığında HFrEF ve HFmrEF hastalarının HFpEF hastalarına kıyasla daha fazla KAH'a sahip olduğu görülmektedir (34).

Tablo 2.3. Kalp yetmezliğinin nedenleri, yaygın sunum biçimleri ve özel araştırmalar

Neden	Örnek	Spesifik araştırmalar
KAH	MI	İnvazif koroner anjiyografi
	Anjina	BT koroner anjiyografi
	Aritmiler	Görüntüleme stres testleri (EKO, nükleer, CMR)
Hipertansiyon	Korunmuş sistolik işlevli kalp yetmezliği	24 saat ayaktan kan basıncı
	Malign hipertansiyon/akut pulmoner ödem	Plazma metanefrinleri, renal arter görüntüleme
		Renin ve aldosteron
Kapak hastalığı	Primer kapak hastalığı, örneğin aort stenozu	EKO-transözofageal/stres
	İkincil kapak hastalığı, örneğin fonksiyonel yetersizlik	
	Konjenital kapak hastalığı	
Aritmiler	Atriyal taşiaritmiler	EKG kaydı
	Ventriküler aritmiler	Endike ise elektrofizyoloji çalışması
CMP'ler	Tümü	CMR, genetik test
	Dilate	Sağ ve sol kalp kateterizasyonu
	Hipertrofik	CMR, anjiyografi
	Restriktif	Eser elementler, toksikoloji, LFT'ler, GGT
	ARVC	
	Peripartum	
	Takotsubo sendromu	
	Toksinler: alkol, kokain, demir, bakır	
Konjenital kalp hastalığı	Büyük arterlerin doğuştan düzeltilmiş/onarılmış transpozisyonu	CMR
	Şant lezyonları	
	Onarılmış fallot tetralojisi	
	Ebstein anomalisi	
İnfektif	Viral miyokardit	CMR, EMB
	Chagas hastalığı	Seroloji
	HIV	
	Lyme hastalığı	

İlaç-indüklenen	Antrasiklinler Trastuzumab VEGF inhibitörleri İmmün checkpoint inhibitörleri Proteozom inhibitörleri RAF+MEK inhibitörleri	
İnfiltratif	Amiloid Sarkoidoz Neoplastik	Serum elektroforezi ve serumsuz hafif zincirler, bence jones proteini, kemik sintigrafisi, CMR, CT-PET, EMB Serum ACE, CMR, FDG-PET, göğüs CT, EMB CMR, EMB
Depolama bozuklukları	Hemokromatoz Fabry hastalığı Glikojen depo hastalıkları	Demir çalışmaları, genetik, CMR (T2 görüntüleme), EMB α -galaktosidaz A, genetik, CMR (T1 haritalaması)
Endomiyokardiyal hastalıklar	Radyoterapi Endomiyokardiyal fibroz/eozinofili Karsinoid	CMR EMB 24 saatlik idrar 5-HIAA
Perikardiyal hastalıklar	Kalsifikasyon İnfiltratif	Akciğer BT, CMR, sağ ve sol kalp kateterizasyonu
Metabolik	Endokrin hastalığı Beslenme hastalığı (tiamin, B1 vitamini ve selenyum eksiklikleri) Otoimmün hastalık	TFT'ler, plazma metanefrinler, renin ve aldosteron, kortizol Spesifik plazma besinleri ANA, ANCA, romatoloji incelemesi
Nöromusküler hastalıklar	Friedreich ataksisi Kas distrofisi	Sinir iletim çalışmaları, elektromiyogram, genetik CK, elektromiyogram, genetik

5-HIAA, 5-hidroksiindolasetik asit; ACE, anjiyotensin dönüştürücü enzim; ANA, anti-nükleer antikor; ANCA, anti-nükleer sitoplazmik antikor; ARVC, aritmojenik sağ ventriküler kardiyomiyopati; CMP, kardiyomiyopati; CMR, kardiyak manyetik rezonans; CK, kreatinin kinaz; BT, bilgisayarlı tomografi; EKG, elektrokardiyogram; EKO, ekokardiyografi; EMB, endomiyokardiyal biyopsi; FDG, florodeoksiglukoz; GGT, gama glutamil transferaz; HIV, insan immün yetmezlik virüsü; KAH, koroner arter hastalığı; LFT, karaciğer fonksiyon testi; LGE, geç gadolinyum geliştirme; MEK, mitojenle aktive olan protein kinaz; MI, miyokard infarktüsü; PET, pozitron emisyon tomografisi; TFT, tiroid fonksiyon testi; VEGF, vasküler endotelial büyüme faktörü.

2.5. Doğal Tarihi ve Prognoz

KY hastalarının prognozu, birkaç on yıl önce ilk tedavi denemelerinin yayınlanmasından bu yana önemli ölçüde iyileşmiştir. Bu gelişmeye rağmen yaşam kalitesi belirgin bir şekilde azalmıştır. Çünkü prognozdaki iyileşmeler sadece HFrEF'lilerle sınırlı kalmıştır.

Ölüm oranları gözlemsel çalışmalarda klinik araştırmalara göre daha yüksektir (35). Olmsted County kohort çalışmasında 2000-2010 yılları arasındaki tüm KY hastaları için tanıdan sonraki 1 ve 5 yıllık ölüm oranları sırasıyla %20 ve %53 olarak tespit edilmiştir (36). Framingham Kalp Çalışması ve Kardiyovasküler Sağlık Çalışması kohortlarını birleştiren bir çalışma, tanıdan sonraki 5 yıl içinde %67'lik bir ölüm oranı bildirmiştir (37). Daha az kanıta dayalı tedavi görmelerine rağmen, kadınlar erkeklerden daha iyi bir prognoz sergilemektedir (38).

HFmrEF'de genel prognoz HFrEF'e kıyasla daha iyidir (9). Zaman içinde ejeksiyon fraksiyonunda gruplar arasında geçişlerin meydana gelmesi mümkündür ve HFmrEF'den HFrEF'e ilerleyen hastaların prognozu, stabil kalan veya daha yüksek bir ejeksiyon fraksiyonu kategorisine geçiş yapanlara göre daha kötü seyretmektedir (39-41).

HFpEF'in genellikle HFrEF'den daha iyi bir sağkalım gösterdiği kabul edilir, ancak çoğu gözlemsel çalışma bu farkın ihmal edilebilir düzeyde olduğunu ortaya koymaktadır (36, 37). Aksine, MAGGIC meta-analizi sonucuna göre HFpEF'li hastalar HFrEF'li hastalar ile kıyaslandığında düzeltilmiş mortalite riskinin önemli ölçüde daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır (42).

Çeşitli ülkelerde yapılan araştırmalar, 1980-2000 yılları arasında KY hastalarında sağkalımın belirgin şekilde arttığını göstermiştir (43).

İlk tanıdan sonra KY hastalarının yılda ortalama bir kez hastaneye yatışı yapılmaktadır (44). 2000 yılından 2010 yılına kadar süreci kapsayan Olmsted County kohort çalışmasında ortalama hastaneye yatış oranı kişi başına yılda 1,3'tür. İlginç bir şekilde, hastaneye yatışların çoğunluğu (%63) kardiyovasküler olmayan nedenlere bağlıdır (36). Birkaç Avrupa ülkesi ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yapılan araştırmalar, KY'ye bağlı hastaneye yatış oranlarının 1990'larda zirve yaptığını ve ardından düştüğünü göstermiştir (45). Bununla birlikte, 1998-2017 yılları arasında Birleşik Krallık'ta gerçekleştirilen yakın tarihli bir çalışmada, yaşa göre düzeltilmiş ilk hastaneye yatış oranları hem tüm nedenlere hem de KY'ye bağlı nedenler açısından %28 oranında artmıştır (46). Daha yüksek komorbidite oranlarına sahip olmaları nedeniyle bu artışların kadınlarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Diabetes mellitus (DM) olan hastalarda KY'ye bağlı hastaneye yatış riski; DM'si olmayan KY hastalarına göre 1,5 kat daha fazladır. Atriyal fibrilasyon (AF), daha yüksek vücut kitle indeksi

(BMI) ve daha yüksek glikolize hemoglobin (HbA1c) ile düşük glomerüler filtrasyon oranı (GFR), KY'ye bağlı hastaneye yatışların güçlü belirleyicileridir (47).

Nüfus artışı, yaşlanma ve artan komorbidite prevalansı nedeniyle, KY nedeniyle hastaneye başvuruların mutlak sayısının gelecek dönemlerde önemli ölçüde artması, belki de gelecek 25 yılda %50'ye kadar artması beklenmektedir (48).

2.6. Kronik Kalp Yetmezliği

KKY tanısı KY semptom ve/veya bulgularının varlığını ve kardiyak disfonksiyonun objektif kanıtını gerektirir. Tipik semptomları nefes darlığı, yorgunluk ve ayak bileği şişmesidir (Tablo 2.4). Semptomlar ve belirtiler, KY tanısını koymak içintek başına kullanılacak yeterli doğruluktan yoksundur (1, 49).

Tablo 2.4. Kalp yetmezliğine özgü semptom ve bulgular

Semptomlar	Bulgular
<i>Tipik</i>	<i>Daha spesifik</i>
Nefes darlığı	Yüksek juguler ven basıncı
Ortopne	Hepatojuguler reflü
Paroksizmal nokturnal dispnesi	Üçüncü kalp sesi lateralize apikal impuls
Azalmış egzersiz toleransı	
Yorgunluk	
Egzersizden sonra uzayan iyileşme zamanı	
Ayak bileği şişmesi	
<i>Daha az tipik</i>	<i>Daha az spesifik</i>
Gece öksürüğü	Kilo alımı (>2 kg/hafta)
Wheezing	Kilo kaybı (ileri KY'de)
Şişkinlik hissi	Kaşeksi
İştah kaybı	Kardiyak üfürüm
Konfuzyon (özellikle yaşlılarda)	Periferik ödem (ayak bileği, sakral, skrotal)
Depresyon	Pulmoner krepitasyon
Çarpıntı	Plevral efüzyon
Baş dönmesi	Taşikardi
Senkop	Düzensiz nabız
Bendopne ^a	Takipne
	Cheyne-stokes solunumu
	Hepatomegali
	Asit
	Soğuk ekstremiteler
	Oligüri
	Dar nabız basıncı

^a İleri KY'nin bu semptomu, öne eğilirken nefes darlığına karşılık gelir.

MI, arteriyel hipertansiyon, KAH, DM, alkol kullanımı, kronik böbrek hastalığı (KBH), kardiyotoksik kemoterapi öyküsü olan hastalarda ve ailesinde kardiyomyopati veya ani ölüm öyküsü olan hastalarda KKY tanısı daha olasıdır. KKY'den şüphelenilen hastaların değerlendirilmesi için aşağıdaki tanı testleri önerilir:

(1) Elektrokardiyogram (EKG). Normal bir EKG, KY tanısını olası kılmaz (50). EKG, AF, Q dalgaları, sol ventrikül hipertrofisi (LVH) ve KY tanısı olasılığını artıran genişlemiş bir QRS kompleksi (Tablo 2.5) gibi anormallikleri ortaya çıkarabilir ve tedaviye rehberlik sağlar.

(2) Mümkünse natriüretik peptidlerin ölçülmesi önerilir. B tipi natriüretik peptid (BNP)<35 pg/mL, N-terminal pro-B tipi natriüretik peptid (NT-proBNP)<125 pg/mL veya orta-bölgesel pro-atrilyal natriüretik peptid (MR) plazma konsantrasyonu-proANP)<40 pmol/L (51), KY tanısını olası kılmaz.

(3) Serum üre ve elektrolitler, kreatinin, tam kan sayımı, karaciğer ve tiroid fonksiyon testleri gibi temel araştırmalar, KY'yi diğer durumlardan ayırt etmek, prognostik bilgi sağlamak ve potansiyel tedaviye rehberlik etmek için önerilir.

(4) Kardiyak fonksiyonun değerlendirilmesinde anahtar araştırma olarak EKO önerilir. EKO LVEF'nin belirlenmesinin yanı sıra odacık boyutu, eksantrik veya eşmerkezli LVH, bölgesel duvar hareket anormallikleri (altta yatan KAH, takotsubo sendromu veya miyokarditi düşündürülebilir), RV işlevi, pulmoner hipertansiyon, kapak fonksiyonu ve diyastolik fonksiyon gibi durumların tanımlanmasına katkı sunmaktadır (24, 52).

(5) Nefes darlığının diğer olası nedenlerini (örneğin akciğer hastalığı) araştırmak için bir akciğer röntgeni önerilir. Ayrıca KY için destekleyici kanıtlar da sağlayabilir (örneğin pulmoner tıkanıklık veya kardiyomegali).

Tablo 2.5. Konjestif kalp yetmezliği şüphesi olan tüm hastalarda önerilen tanı testleri

Öneriler	Sınıf ^a	Seviye ^b
BNP/NT-proBNP ^c	I	B
12 derivasyonlu EKG	I	C
TTE	I	C
Akciğer radyografisi (X-ray)	I	C
Tam kan sayımı, üre ve elektrolitler, tiroid fonksiyonu, açlık glikozu ve HbA1c, lipidler, demir durumu (TSAT ve ferritin) dahil olmak üzere komorbiditeler için rutin kan testleri	I	C

BNP, B tipi natriüretik peptid; EKG, elektrokardiyogram; EKO, ekokardiyografi; HbA1c, glikolize hemoglobin; NT-proBNP, N-terminal pro-B tipi natriüretik peptid; TSAT, transferrin doygunluğu.

^a Bir tavsiye sınıfı, ^b Kanıt düzeyi, ^c Bu madde için referanslar bölüm 4.2'de listelenmiştir.

2.7. Natriüretik Peptidler

NP'lerin plazma konsantrasyonu KY'yi düşündüren semptomları olan hastalarda tanıyı dışlamak için ilk tanı testleri olarak önerilir. Yüksek konsantrasyonlar KY tanısını destekler ve prognozu hakkında bilgi verir (53). Bununla birlikte, yüksek NP'nin birçok nedeninin olduğu unutulmamalıdır (Tablo 2.6). Bu nedenler arasında AF, artan yaş ve akut veya KBH yer alır (54). Tersine, obez hastalarda NP konsantrasyonları orantısız olarak düşük olabilir (55).

Tablo 2.6. Natriüretik peptidlerin yüksek konsantrasyonlarının nedenleri

Kardiyak	Kalp yetmezliği, AKS, pulmoner emboli, miyokardit, LVH, hipertrofik veya restriktif kardiyomiyopati, kalp kapak hastalığı, konjenital kalp hastalığı, atriyal ve ventriküler taşiaritmiler, kalp kontüzyonu, kardiyoversiyon, ICD şoku, kardiyak cerrahi işlemler, pulmoner hipertansiyon
Non-kardiyak	İleri yaş, iskemik inme, subaraknoid kanama, böbrek yetmezliği, karaciğer fonksiyon bozukluğu (esas olarak asitli karaciğer sirozu), paraneoplastik sendrom, koah, şiddetli enfeksiyonlar (pnömoni ve sepsis dahil), şiddetli yanıklar, anemi, şiddetli metabolik ve hormon anormallikleri (örneğin tirotoksikoz, diyabetik ketoz)

AKS, akut koroner sendrom; KOAH, kronik obstrüktif akciğer hastalığı; ICD, implante edilebilir kardiyoverter-defibrilatör; LVH, sol ventrikül hipertrofisi.

2.7.1. Akut Olmayan Ortamda Kullanım

EKG gibi diğer tanı testlerine ve KY semptomlarına ek olarak NP'lerin tanısal değeri birinci basamakta yapılan çeşitli çalışmalar ile değerlendirilmiştir (56, 57). Bu çalışmaların amacı KY tanısı koymak veya dışlamaktır. Akut olmayan ortamda normalin üst sınırları BNP için 35 pg/mL, NT-proBNP için 125 pg/mL'dir. Bu çalışmalarda, bu eşiklerin altındaki NP konsantrasyonlarının negatif tahmin değerleri 0.94-0.98 arasında değişmektedir (49). KKY'de MR-proANP için AKY'ye göre daha az veri mevcuttur. KY'yi ekarte etmek için <40 pmol/L'lik bir konsantrasyon kullanılabilir (51).

2.7.2. Kronik Kalp Yetmezliğinin Altında Yatan Etiyolojiyi Belirlemeye Yönelik Araştırmalar

KKY'nin altında yatan etiyolojiyi belirlemek için önerilen testler Tablo 2.7'de özetlenmiştir. Koroner revaskülarizasyon için uygun görülenlerde indüklenebilir iskeminin değerlendirilmesi için egzersiz veya farmakolojik stres EKO'su kullanılabilir (58). KY, kapak hastalığı veya açıklanamayan dispnesi olan hastalarda stres EKO'su tanıyı netleştirmeye yardımcı olabilir (59).

Geç gadolinyum güçlendirme (LGE), T1 haritalama ve hücre dışı hacim ile kardiyak manyetik rezonans (CMR) görüntüleme, dilate kardiyomiyopati (DCM)'nin tipik olarak orta duvar skarının aksine iskemik kalp hastalığı olan hastalarda tipik olarak subendokardiyal bölgedeki miyokardiyal fibrozisi/skarı belirleyecektir. Ek olarak, CMR miyokardit, amiloidoz, sarkoidoz, Chagas hastalığı, Fabry hastalığı, hemokromatoz ve aritmojenik kardiyomiyopati tanımlanmasında da yardımcı olmaktadır (60).

Tek foton emisyonlu BT (SPECT) ayrıca miyokardiyal iskemi ve canlılığı, miyokardiyal inflamasyonu veya infiltrasyonu değerlendirmek için de kullanılabilir. Teknesyum etiketli bifosfonat ile sintigrafi, kardiyak transtiretin amiloidin görüntülenmesi için yüksek hassasiyet ve özgüllük göstermektedir (61).

Tablo 2.7. Kalp yetmezliğinin geri dönüşümlü/tedavi edilebilir nedenlerini saptamak için kullanılan özel tanı testleri için öneriler

Öneri	Sınıf ^a	Seviye ^b
<i>CMR</i>		
EKO akustik pencereleri zayıf olanlarda miyokardiyal yapı ve işlevin değerlendirilmesi için CMR önerilir.	I	C
Şüpheli infiltratif hastalık, Fabry hastalığı, inflamatuvar hastalık (miyokardit), amiloid, sarkoidoz, aşırı demir yüklenmesi/hemokromatozda miyokard dokusunun karakterizasyonu için CMR önerilir.	I	C
DCM'de iskemik ve iskemik olmayan miyokard hasarını ayırt etmek için LGE'li CMR düşünülmelidir.	IIA	C
<i>İnvaziv koroner anjiyografi (potansiyel koroner revaskülarizasyon için uygun görülenlerde)</i>		
Farmakolojik tedaviye veya semptomatik ventriküler aritmilere rağmen anjinal hastalarda invazif koroner anjiyografi önerilir.	I	B
Test öncesi KAH olasılığı orta-yüksek olan ve non-invazif stres testlerinde iskemi bulunan KKY'si olan hastalarda invazif koroner anjiyografi düşünülebilir.	IIB	B
<i>Non-invazif testler</i>		
Koroner arter stenozunu ekarte etmek için, test öncesi KAH olasılığı düşük-orta arasında olan veya invazif olmayan stres testleri şüpheli olan hastalarda CTCA düşünülmelidir.	IIA	C
Koroner revaskülarizasyon için uygun görülen KAH'de miyokard iskemisi ve canlılığının değerlendirilmesi için non-invazif stres görüntüleme (CMR, stres EKO'su, SPECT, PET) düşünülebilir.	IIB	B
Tersinir miyokard iskemisini saptamak ve dispnenin nedenini araştırmak için egzersiz testi düşünülebilir.	IIB	C

<i>Kardiyopulmoner egzersiz testi</i>		
Kalp transplantasyonu ve/veya MCS I değerlendirmesinin bir parçası olarak kardiyopulmoner egzersiz testi önerilir.		C
Egzersiz eğitimi reçetesini optimize etmek için kardiyopulmoner egzersiz testi düşünülmelidir.	IIA	C
Açıklanamayan dispne ve/veya egzersiz intoleransının nedenini belirlemek için kardiyopulmoner egzersiz testi düşünülmelidir.	IIA	C
<i>Sağ kalp kateterizasyonu</i>		
Kalp transplantasyonu veya MCS için değerlendirilen şiddetli KY hastalarında sağ kalp kateterizasyonu önerilir.	I	C
Konstriktif perikardit, restriktif kardiyomiyopati, konjenital kalp hastalığı ve yüksek output durumlarına bağlı KY olduğu düşünülen hastalarda sağ kalp kateterizasyonu düşünülmelidir.	IIA	C
Olası pulmoner hipertansiyonu olan hastalarda, kapak/yapısal kalp hastalığının düzeltilmesinden önce tanıyı doğrulamak ve geri dönüşümlülüğünü değerlendirmek için EKO ile değerlendirilen sağ kalp kateterizasyonu düşünülmelidir.	IIA	C
Tanıyı doğrulamak için HFpEF'li seçilmiş hastalarda sağ kalp kateterizasyonu düşünülebilir.	IIB	C
<i>EMB</i>		
Standart tedaviye rağmen hızlı ilerleyen KY'si olan hastalarda, sadece miyokard örneklerinde doğrulanabilen spesifik bir tanı olasılığı varsa EMB düşünülmelidir.	IIA	C

CMR, kardiyak manyetik rezonans; CTCA, bilgisayarlı tomografi koroner anjiyografi; DCM, dilate kardiyomiyopati; EKO, elektrokardiyografi; EMB, endomiyokardiyal biyopsi; HFpEF, korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; HFrEF, düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; KAH, koroner arter hastalığı; LGE, geç gadolinyum geliştirme; MCS, mekanik dolaşım desteği; PET, pozitron emisyon tomografisi; SPECT, tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi.

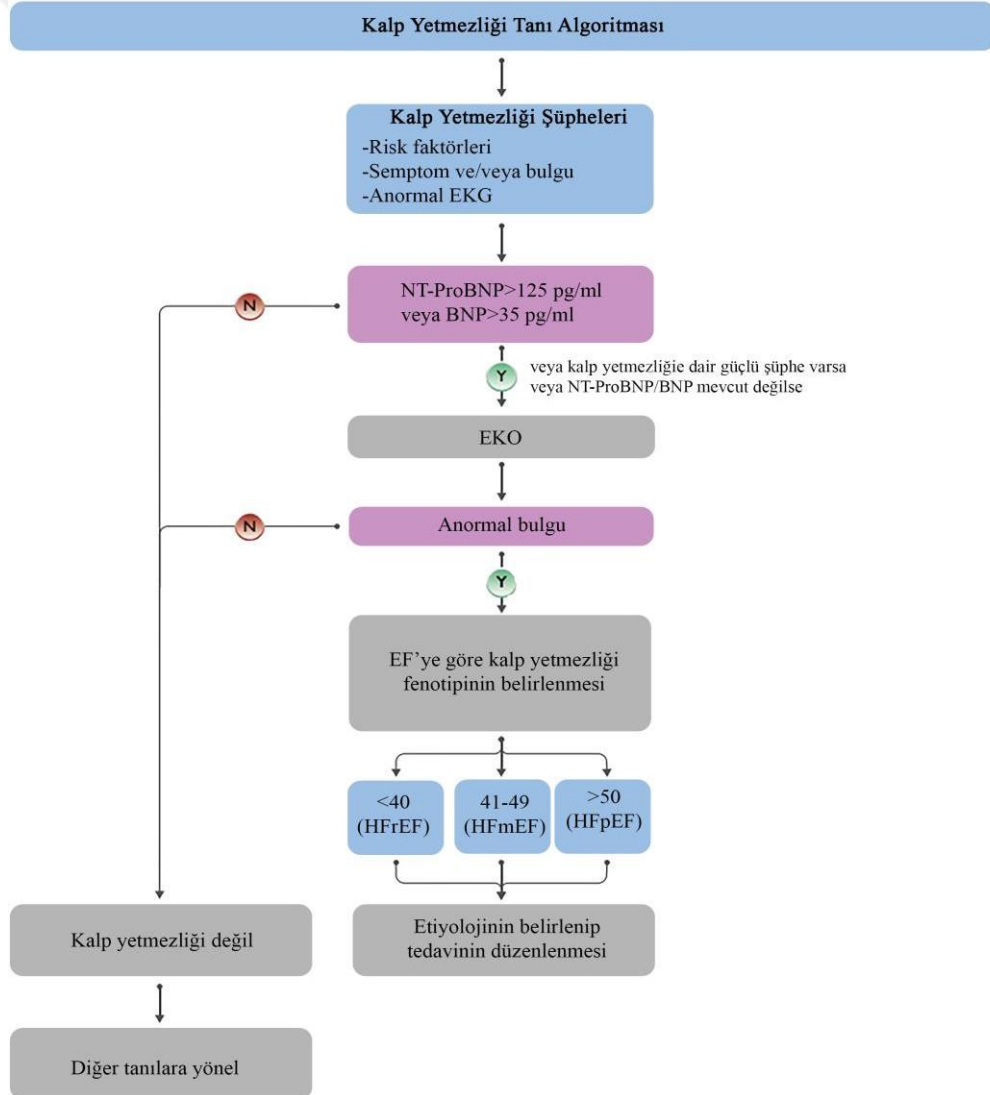
^a Öneri sınıfı, ^b Kanıt düzeyi.

Farmakolojik tedaviye rağmen anjina pectorisi olan KY hastalarında KAH'nin tanısını ve şiddetini belirlemek için koroner anjiyografi önerilir. Koroner anjiyografi, test öncesi KAH olasılığı orta-yüksek olan ve potansiyel olarak koroner revaskülarizasyon için uygun olduğu düşünülen HFrEF hastalarında da düşünülebilir (62).

2.8. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği

2.8.1. Tanısı

HFrEF tanısı, KY semptomlarının ve/veya belirtilerinin varlığını ve $LVEF \leq 40\%$ 'ı gerektirir. Bu genellikle EKO ile elde edilir. EF'nin EKO ile değerlendirilmesi mümkün değilse CMR veya nadiren nükleer teknikler kullanılabilir. HFrEF tanı algoritması Şekil 2.1'de gösterilmiştir (63).



Şekil 2.1. HFrEF tanı algoritması

2.8.2. Farmakolojik Tedaviler

Farmakoterapi, HFrEF tedavisinin temel taşıdır ve cihaz tedavisi düşünülmeden önce uygulanmalıdır.

KY hastalarında tedavinin üç ana hedefi vardır: (i) mortalitede azalma, (ii) kötüleşen KY nedeniyle tekrarlayan hastaneye yatışların önlenmesi ve (iii) klinik durumda, fonksiyonel kapasitede ve yaşam kalitesinde iyileşme (1).

Semptomatik HFrEF'li hastalar için bu bölümdeki önerileri destekleyen temel kanıtlar Tablo 2.8'de verilmiştir.

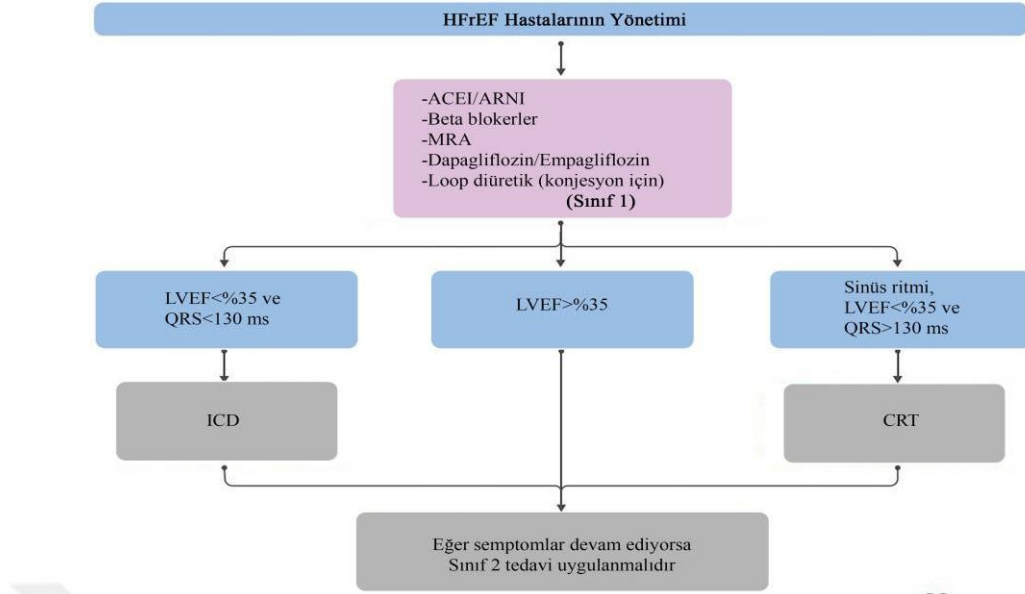
Tablo 2.8. Düşük ejeksiyon fraksiyonu ile (NYHA sınıf II-IV) kalp yetmezliği olan hastalarda belirtilen farmakolojik tedaviler

Öneri	Sınıf ^a	Seviye ^b
KY'nin hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için KY hastalarına bir ACEI önerilir.	I	A
KY'nin hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için, stabil KY'si olan hastalara bir beta bloker önerilir.	I	A
KY'nin hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için KY hastalarına MRA önerilir.	I	A
Dapagliflozin/empagliflozin, KY'ye bağlı hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için önerilir.	I	A
KY'nin hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için KY hastalarına ACEI yerine SV önerilir.	I	B

ACEI, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; HFrEF, düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; LVEF, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu; MRA, mineralokortikoid reseptör antagonisti; NYHA, New York Kalp Derneği; SV, sakubitril/valsartan

^a Öneri sınıfı, ^b Kanıt düzeyi

Şekil 2.2, mortalitenin azaltılmasına yönelik sınıf I endikasyonlar için HFrEF'li hastalarda ilaçlar ve cihazlar dahil olmak üzere tedavi stratejisi için algoritmayı göstermektedir. Her bir tedavi için öneriler aşağıda özetlenmiştir (63).



Şekil 2.2. Mortalitenin azaltılmasına yönelik sınıf I endikasyonlar için HFrEF'li hastalarda ilaçlar ve cihazlar.

Renin anjiyotensin aldosteron (RAAS) ve sempatik sinir sistemlerinin anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEI) veya bir anjiyotensin reseptör-neprilisin inhibitörü (ARNI), beta blokerler ve mineralokortikoid reseptör antagonistleri (MRA) ile modülasyon yapılmasının sağkalımı iyileştirdiği, KY'ye bağlı hastaneye yatış riskini azalttığı ve HFrEF'li hastalarda semptomları azalttığı gösterilmiştir. Bu ilaçlar, HFrEF'li hastalar için farmakoterapinin temelini oluşturur. ACEI/ARNI, bir beta bloker ve bir MRA üçlüsü, ilaçlar kontrendike olmadığı veya tolere edilmediği sürece bu hastalar için köşe taşı tedaviler olarak önerilmektedir (1, 64). Dozları da klinik çalışmalarda kullanılan maksimum tolere edilen dozlara yükseltilmelidir. Kılavuz ACEI, beta bloker ve MRA tedavilerine rağmen semptomatik olan uygun hastalarda ACEI'nin yerine ARNI'nin kullanılmasını önermektedir (65). Bu ilaçların önerilen dozları Tablo 2.9'da verilmiştir. Anjiyotensin reseptör blokerleri (ARB'ler), ACEI veya ARNI'yi tolere edemeyen hastalar için büyük bir öneme sahiptir.

ACEI/ARNI/beta bloker/MRA ile tedaviye eklenen sodyum-glikoz yardımcı taşıyıcı 2 (SGLT2) inhibitörleri dapagliflozin ve empagliflozin, KY hastalarında kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm ve kötüleşen KY riskini azaltmıştır (66, 67). Kontrendike olmadığı sürece, dapagliflozin veya empagliflozin, DM'si olsun ya da

olmasın, halihazırda bir ACEI/ARNI, bir beta bloker ve bir MRA ile tedavi edilen tüm KY hastalarına önerilir.

Tablo 2.9. Düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği hastalarında yapılan randomize çalışmalarda kanıta dayalı ilaç dozları.

	Başlama dozu	Hedef dozu
<i>ACEI</i>		
Kaptopril ^a	6.25 mg t.i.d.	50 mg t.i.d.
Enalapril	2.5 mg b.i.d.	1020 mg b.i.d.
Lisinopril ^b	2.55 mg o.d.	2035 mg o.d.
Ramipril	2.5 mg b.i.d.	5 mg b.i.d.
Trandolapril ^a	0.5 mg o.d.	4 mg o.d.
<i>ARNI</i>		
SV	49/51 mg b.i.d. ^c	97/103 mg b.i.d.
<i>Beta-blokerler</i>		
Bisoprolol	1.25 mg o.d.	10 mg o.d.
Karvedilol	3.125 mg b.i.d.	25 mg b.i.d. ^e
Metoprolol suksinat (CR/XL)	12.525 mg o.d.	200 mg o.d.
Nebivolol ^d	1.25 mg o.d.	10 mg o.d.
<i>MRA</i>		
Eplerenon	25 mg o.d.	50 mg o.d.
Spironolakton	25 mg o.d. ^f	50 mg o.d.
<i>SGLT2 inhibitörleri</i>		
Dapagliflozin	10 mg o.d.	10 mg o.d.
Empagliflozin	10 mg o.d.	10 mg o.d.
<i>Diğer</i>		
Kandesartan	4 mg o.d.	32 mg o.d.
Losartan	50 mg o.d.	150 mg o.d.
Valsartan	40 mg b.i.d.	160 mg b.i.d.
Ivabradin	5 mg b.i.d.	7.5 mg b.i.d.
Verisiguat	2.5 mg o.d.	10 mg o.d.
Digoksin	62.5 mg o.d.	250 mg o.d.
Hidralazin/isosorbid dinitrat	37.5 mg t.i.d./20 mg t.i.d.	75 mg t.i.d./40 mg t.i.d.

ACEI, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; ARNI, anjiyotensin reseptör neprilisin inhibitörü; bis in die (günde iki kez); CR, kontrollü salım; CV, kardiyovasküler; MRA, mineralokortikoid reseptör antagonisti; o.d., omne in die (günde bir kez); SGLT2, sodyum-glikoz yardımcı taşıyıcı 2; t.i.d., kalıpta ter (günde üç kez); XL, genişletilmiş sürüm.

^a Dozlama hedefinin MI sonrası denemelerden türetildiği bir ACEI gösterir.

^b Aynı ilacın daha düşük bir dozuna kıyasla daha yüksek bir dozun morbidite/mortaliteyi azalttığı gösterilen, ancak anlamlı randomize, plasebo kontrollü bir çalışma olmadığı ve optimum dozun belirsiz olduğu ilaçları belirtir.

^c SV, semptomatik hipotansiyon öyküsü olanlar için 24/26 mg günde iki kez daha düşük bir başlangıç dozuna sahip olabilir.

^d Kalp yetmezliği olan hastalarda kardiyovasküler veya tüm nedenlere bağlı mortaliteyi azalttığı gösterilmeyen bir tedaviyi gösterir.

^e 85 kg'nin üzerindeki hastalara günde iki kez maksimum 50 mg doz uygulanabilir.

^f Spironolakton, böbrek durumu veya hiperkaleminin dikkat gerektirdiği hastalarda 12.5 mg'lık isteğe bağlı bir başlangıç dozuna sahiptir.

ACEI

ACEI'ler, HFrEF'li hastalarda mortalite ve morbiditeyi azalttığı gösterilen ilk ilaç sınıfıdır (68). Ayrıca semptomları iyileştirdiği de gösterilmiştir (68). Kontrendike olmadıkça veya tolere edilmediği sürece tüm hastalarda önerilir. Tolere edilen maksimum önerilen dozlara yükseltilmelidir.

Beta blokerler

Beta blokerlerin ACEI ve diüretik tedavisine ek olarak KY hastalarında mortalite ve morbiditeyi azalttığı gösterilmiştir (69). Ayrıca semptomları da iyileştirmektedir(70). ACEI ve beta blokerlerin semptomatik HFrEF tanısı konur konmaz birlikte başlayabileceği konusunda fikir birliği vardır. ACEI'den önce bir beta blokerin başlatılmasını ve bunun tersini destekleyen hiçbir kanıt yoktur (71). Beta blokerler klinik olarak stabil, övolemik hastalarda düşük dozda başlatılmalı ve kademeli olarak tolere edilen maksimum doza yükseltilmelidir. AKY ile başvuran hastalarda, hasta hemodinamik olarak stabilize edildikten sonra hastane ortamında beta blokerler dikkatle başlatılmalıdır.

HFrEF'deki tüm majör beta bloker denemelerinin bireysel hasta verileri (IPD) meta-analizi, AF'si olan HFrEF'li hasta alt grubunda hastane başvuruları ve mortalite üzerinde hiçbir fayda göstermemiştir (72).

MRA

KY'ye bağlı mortaliteyi ve hastaneye yatış riskini azaltmak için tüm KY hastalarında bir ACEI ve bir beta blokere ek olarak MRA (spironolakton veya eplerenon) önerilir (73, 74). Ayrıca semptomları da düzeltirler (73). MRA'lar aldosteron reseptörlerini ve farklı afinite dereceleriyle diğer steroid hormon (örneğin kortikosteroid ve androjen) reseptörlerini bloke eder. Eplerenon, aldosteron blokajı için daha spesifiktir ve bu nedenle daha az jinekomastiye neden olur.

MRA'lar böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda ve serum potasyum konsantrasyonları >5.0 mmol/L olan hastalarda kullanıldığında dikkatli olunmalıdır (1).

Anjiyotensin reseptörü-neprilisin inhibitörü

PARADIGM-HF çalışmasında, bir ARNI olan SV'nin LVEF $\leq$ %40 olan ambulator HFrEF'li hastalarda KY, kardiyovasküler mortaliteyi ve tüm nedenlere bağlı mortaliteyi, hastaneye yatışları azaltmada enalapriliden üstün olduğu gösterildi. SV'nin

ek faydaları arasında hastaların yaşam kalitesinin artırılması (64), semptomlarda iyileşme (64), insülin tedavisi gerektiren DM insidansında bir azalma (75), ve GFR'deki düşüşte bir azalma (76) ayrıca hiperkalemi oranında bir azalma (77) bulunmaktadır. Ek olarak, SV kullanımı loop diüretik gereksinimini de azaltabilir (78). Enalapril ile karşılaştırıldığında SV ile tedavi edilen hastalarda semptomatik hipotansiyon daha yaygın olarak rapor edilmiştir, ancak gelişen hipotansiyona rağmen bu hastalar SV tedavisinden de klinik yararlar elde etmişlerdir (79).

Bu nedenle, yukarıda ana hatları verilen optimal tedaviye rağmen semptomatik kalan, ayaktan tedavi gereken HFrEF hastalarında ACEI veya ARB'nin SV ile değiştirilmesi önerilir. Daha önce ACEI ile tedavi edilmemiş hastanede yatan hastalarda ARNI kullanımı enalapril ile karşılaştırıldığında kardiyovasküler ölümleri veya KY'ye bağlı hastaneye yatışları %42 oranında azaltmıştır (80). Bu nedenle, ACEI tedavisi almamış KY hastalarında SV tedavisine başlanması düşünülebilir (öneri sınıfı IIB, kanıt düzeyi B). SV tedavisine başlanan hastalarda yeterli kan basıncı ve $GFR \geq 30 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ olmalıdır. Anjiyoödem riskini en aza indirmek için ACEI tedavisinden sonra en az 36 saatlik bir arınma periyodu gereklidir (1).

Sodyum-glikoz yardımcı taşıyıcı 2 inhibitörleri

DAPA-HF çalışmasında, optimal tıbbi tedaviye ek olarak dapagliflozin (SGLT2 inhibitörü)'in plaseboya kıyasla uzun vadeli etkileri, ayaktan takip edilen KY hastalarında morbidite ve mortalite üzerine etkileri araştırılmıştır (66). Dapagliflozin ile tedavi edilmesi sonrasında KY kötüleşmesinde veya kardiyovasküler ölümden %26'lık bir azalma ile ortaya konuldu. Ayrıca, dapagliflozin tüm nedenlere bağlı mortaliteyi de azaltmıştır (66). KY semptomlarını sadece hafifletmekle kalmayıp aynı zamanda semptomatik HFrEF'si olan hastalarda fiziksel işlevi ve yaşam kalitesini de iyileştirmiştir (81). Sağkalım üzerine olumlu etkiler DM'si olan ve olmayan KY hastalarında aynı ölçüde görülmüştür (66).

EMPEROR-Reduced çalışmasında empagliflozinin, NYHA sınıf II-IV semptomları olan hastalarda ve $LVEF \leq 40$ olan hastalarda kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm veya KY'ye bağlı hastaneye yatış gibi birleşik birincil sonlanım oranını %25 oranında azalttığı gösterilmiştir (67). Bu çalışmada empagliflozin alan bireylerde GFR'deki düşüşte de bir azalma ve yaşam kalitesinde bir artış olmuştur. Tüm bu nedenlere bağlı olarak DM durumundan bağımsız olarak HFrEF hastalarında

ACEI/ARNI, beta bloker ve MRA'ya ek olarak dapagliflozin veya empagliflozin de önerilir. SGLT2 inhibitörlerinin diüretik/natriüretik özellikleri, konjesyonu azaltmadaek faydalar da sunabilir ve loop diüretik gereksiniminde bir azalma sağlayabilir (81).

Kombine SGLT1 ve 2 inhibitörü sotagliflozin, KY ile hastaneye yatırılan DM hastalarında da incelenmiş ve KY nedeniyle ölümler ile hastaneye yatışları azaltmıştır (82). SGLT2 inhibitörleri ile tedavi, tekrarlayan ürünler sistem enfeksiyonları riskini artırabilir. Başlamanın ardından GFR'de küçük bir azalma beklenir, geri dönüşümlüdür ve ilacın erken kesilmesine yol açmamalıdır.

Ejeksiyon fraksiyonu azalmış kalp yetmezliği olan seçilmiş hastalarda önerilen veya düşünülmesi gereken diğer ilaçlar

Gerekli ilaçlar Tablo 2.10'da gösterilmiştir.

Tablo 2.10. Düşük ejeksiyon fraksiyonu ($LVEF \leq 40\%$) ile NYHA sınıf II-IV kalp yetmezliği olan seçilmiş hastalarda belirtilen diğer farmakolojik tedaviler

Öneri	Sınıf^a	Seviye^b
<i>Loop diüretikleri</i>		
KY semptomlarını hafifletmek, egzersiz kapasitesini artırmak ve KY'ye bağlı hastaneye yatışları azaltmak için konjesyon belirtileri ve/veya semptomları olan KY hastalarında diüretikler önerilir.	I	C
<i>ARB</i>		
ACEI veya ARNI'yi tolere edemeyen semptomatik hastalarda KY'ye bağlı hastaneye yatış ve kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm riskini azaltmak için bir ARB ^c önerilir (hastalara ayrıca bir beta bloker ve bir MRA verilmelidir).	I	B
<i>If-kanal inhibitörü</i>		
Kanıtı dayalı bir beta bloker dozu (veya bunun altında tolere edilen maksimum doz), ACEI/(veya ARNI) ve bir MRA ile tedaviye rağmen, KY'ye bağlı yatış ve kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm riskini azaltmak için $LVEF \leq 35\%$, SR'de ve istirahat kalp hızı ≥ 70 atım/dk olan semptomatik hastalarda ivabradin düşünülmelidir.	IIA	B
Bir beta blokeri tolere edemeyen veya kontrendikasyonları olan $LVEF \leq 35\%$, SR'de ve istirahat kalp hızı ≥ 70 atım/dk olan semptomatik hastalarda KY'ye bağlı hastaneye yatış ve kardiyovasküler nedeni ölüm riskini azaltmak için ivabradin düşünülmelidir. Hastalar ayrıca bir ACEI (veya ARNI) ve bir MRA almalıdır.	IIA	C
<i>Çözünür guanilat siklaz reseptör uyarıcısı</i>		
ACEI (veya ARNI), beta bloker ve MRA ile tedaviye rağmen KY'si kötüleşen NYHA sınıf II-IV hastalarında, kardiyovasküler mortalite veya KY'ye bağlı hastaneye yatış riskini azaltmak için verisigat düşünülebilir.	IIB	B

<i>Hidralazin ve izosorbid dinitrat</i>		
Hidralazin ve izosorbid dinitrat, ACEI (veya ARNI), beta bloker, ACEI (veya ARNI) ile tedaviye rağmen NYHA sınıf III-IV'te LVEF≤35 veya LVEF<%45 dilate LV ile birlikte kendini tanımlayan siyahi hastalarda KY'ye bağlı hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için bir beta bloker ve bir MRA ile birlikte kullanımı düşünülmelidir.	IIA	B
Hidralazin ve izosorbid dinitrat, ACEI, ARB veya ARNI'den herhangi birini tolere edemeyen (veya kontrendikasyon durumunda) semptomatik KY hastalarında ölüm riskini azaltmak için düşünülebilir.	IIB	B
<i>Digoksin</i>		
Bir ACEI (veya ARNI), beta bloker ve MRA ile tedaviye rağmen sinüs ritminde semptomatik HFrEF'si olan hastalarda, hastaneye yatış riskini azaltmak için (hem tüm nedenlere bağlı hem de KY'ye bağlı hastaneye yatışları) digoksin düşünülebilir.	IIB	B
ACEI, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; ARB, anjiyotensin reseptör blokleri; ARNI, anjiyotensin reseptörü-neprilisin inhibitörü; b.p.m., dakikadaki vuruş sayısı; HFrEF, düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; LVEF, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu; MRA, mineralokortikoid reseptör antagonisti; NYHA, New York Kalp Derneği; SR, sinüs ritmi. ^a Öneri sınıfı, ^b Kanıt düzeyi, ^c HFrEF'de kanıt bulunan ARB'ler kandesartan, losartan ve valsartandır.		

Diüretik

HFrEF'li hastalarda konjesyon belirtilerini ve/veya semptomlarını azaltmak için loop diüretikleri önerilir. Diüretiklerle ilgili kanıtların kalitesi zayıftır ve bunların morbidite ve mortalite üzerindeki etkileri randomize kontrollü çalışmalarda incelenmemiştir. Bir meta-analiz, HFrEF'li hastalarda loop ve tiyazid diüretiklerinin plaseboya kıyasla ölümleri ve KY'yi kötüleştirme riskini azalttığını ve diüretiklerin egzersiz kapasitesini iyileştirdiğini göstermiştir (83).

Loop diüretikleri, sinerjik hareket etmelerine rağmen, tiyazidlerden daha güçlü ve daha kısa süreli diüretik etki gösterir ve kombinasyon diüretik direncini tedavi etmek için kullanılabilir. Bununla birlikte yan tesirler daha olasıdır ve bu kombinasyonlar dikkatli kullanılmalıdır. ARNI, MRA'lar ve SGLT2 inhibitörleri de diüretik özelliklere sahip olabilir (78).

Diüretik tedavisinin amacı, en düşük diüretik dozu ile övolemiyi sağlamak ve sürdürmektir. Bazı övolemik/hipovolemik hastalarda diüretik ilaç kullanımı azaltılabilir veya kesilebilir (84).

Semptomlar/tıkanıklık belirtilerinin izlenmesine ve günlük kilo ölçümlerine dayanarak diüretik dozlarını kendi kendilerine ayarlamaları konusunda hastalar eğitilmelidir.

Anjiyotensin II tip I reseptör blokerleri

HFrEF yönetiminde ARB'lerin yeri son birkaç yılda değişmiştir. Artık ciddi yan etkileri nedeniyle ACEI veya ARNI'yi tolere edemeyen hastalar için tavsiye edilmektedir. CHARM-Alternative çalışmasında kandesartan, önceki intoleransı nedeniyle ACEI alamayan hastalarda kardiyovasküler ölümleri ve KY'ye bağlı hastaneye yatışları azaltmıştır (85). Valsartan, Val HeFT çalışmasında KY'ye bağlı hastaneye yatışları azaltmıştır (86). Bununla birlikte, ARB hiçbir çalışmada tüm nedenlere bağlı mortaliteyi azaltmamıştır.

If-kanal inhibitörü

İvabradin sinüs düğümündeki If kanalını inhibe ederek kalp hızını yavaşlatır ve bu nedenle sadece sinüs ritmine sahip hastalarda etkilidir. İvabradin, LVEF $\leq$ %35 olan semptomatik KY hastalarında, son 12 ayda KY'ye bağlı hastaneye yatışı olan, sinüs ritminde ve kalp hızı >70 atım/dk olan hastalarda kardiyovasküler mortalite ve KY'ye bağlı hastaneye yatışı azaltır (87). Bununla birlikte, Avrupa İlaç Ajansı (EMA) ivabradinin Avrupa'da LVEF $\leq$ 35 olan KY hastalarında ve dinlenme kalp hızı $\geq$ 75 atım/dk olan sinüs ritminde kullanılmasını onaylamıştır. Çünkü analizler sonucunda bu grupta ivabradinin geriye dönük bir alt gruba dayalı olarak hayatta kalma yararı sağladığı gösterilmiştir (88).

Hidralazin ve izosorbid dinitrat kombinasyonu

HFrEF'li tüm hastalarda bu sabit doz kombinasyon tedavisinin kullanılmasını öneren net bir kanıt yoktur. Afrikoamerikalı hastalarda yürütülen küçük bir çalışma konvansiyonel tedaviye (ACEI, beta bloker ve MRA) hidralazin ve izosorbid dinitrat kombinasyonunun eklenmesinin, HFrEF'li hastalarda mortaliteyi ve KY'ye bağlı hastaneye yatışları azalttığını göstermiştir (89). Bu sonuçların diğer ırk veya etnik kökendeki hastalara uyarlanması zordur. Ek olarak ACEI, ARNI veya ARB'den (veya kontrendike iseler) herhangi birini tolere edemeyen HFrEF'li semptomatik hastalarda mortaliteyi azaltmak için hidralazin ve izosorbid dinitrat kombinasyonu düşünülebilir. Ancak bu öneri, sadece digoksin ve diüretiklerle tedavi edilen semptomatik KYB'si olan

erkek hastaları içeren nispeten küçük Veterans Administration Cooperative Study'nin sonuçlarına dayanmaktadır (90).

Digoksin

Digoksin sinüs ritminde HFrEF'si olan hastalarda hastaneye yatış riskini azaltmak için düşünülebilir (91), ancak rutin olarak beta blokerlerle tedavi edilenler üzerindeki etkisi test edilmemiştir. DIG denemesinde digoksinin mortalite üzerindeki genel etkisi nötr olarak tespit edilmiştir. HFrEF ve AF'si olan hastalarda digoksinin etkileri randomize kontrollü çalışmalarda incelenmemiştir. Bazı çalışmalar, digoksin alan AF hastalarında olay riskinin potansiyel olarak daha yüksek olduğunu öne sürerken(92, 93), başka bir meta-analiz çalışması sonucunda, randomize kontrollü olmayan çalışmalara dayanarak, digoksinin AF ve KY (çoğu HFrEF hastası) hastalarında mortalite üzerinde zararlı bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (94). Bu nedenle semptomatik KY, AF'si ve ventriküler hızlı atımı olan hastalarda diğer tedavi seçeneklerinin uygulanamadığı durumlarda digoksin yararlı olabilir (95, 96).

Digoksinin dar bir terapötik penceresi vardır ve bu nedenle serum digoksin konsantrasyonu <1.2 ng/mL olacak şekilde kontrol edilmelidir (97). Kadınlarda, yaşlılarda, zayıf, hipokalemik ve yetersiz beslenen kişilerde kullanırken daha dikkatli olunmalıdır. Böbrek fonksiyonu azalmış hastalarda digitoksin düşünülebilir. KY ve sinüs ritminde digitoksin kullanımı şu anda araştırılmaktadır (98).

HFrEF'de yapılan çalışmalardan yakın zamanda bildirilen ilerlemeler

Çözünür guanilat siklaz reseptör uyarıcısı

VICTORIA çalışmasında oral çözünür guanilat siklaz reseptör stimülatörü verisigat'ın EF'si azalmış ve yakın zamanda dekompanse KKY hastalarında etkililiği ve güvenliliği değerlendirilmiştir. Kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm veya KY nedeniyle hastaneye yatış insidansı, verisigat alanlarda plasebo alanlara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (99). Ancak tüm ve kardiyovasküler nedenlere bağlı mortalitede azalma olmamıştır. Bu nedenle, HFrEF için standart tedaviye ek olarak, KY hastalarında kardiyovasküler nedenlere bağlı mortalite ve hastaneye yatış riskini azaltmak için verisigat düşünülebilir.

Kardiyak miyozin aktivatörü

GALACTIC-HF çalışması, kardiyak miyozin aktivatörü olan omekamtiv mekarbil'in hem yatan hem de ayakta tedavi gören HFrEF hastalarında etkililiğini ve güvenliliğini değerlendirmiştir. İlk KY olayını veya kardiyovasküler nedenlere bağlı ölümleri %8 oranında azalttığı gösterilmiştir, ancak kardiyovasküler mortalitede anlamlı bir azalma sağlamamıştır. Şu anda, bu ilaç KY'de kullanım için lisanslı değildir. Ancak gelecekte KY için standart tedaviye ek olarak kardiyovasküler mortalite ve KY nedeniyle hastaneye yatış riskini azaltmak için düşünülebilir (100).

2.9. Hafif Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği

2.9.1. Tanısı

HFmrEF tanısı, KY semptomlarının ve/veya belirtilerinin ve hafif derecede azalmış bir EF'nin (%41-49) varlığını gerektirir. Yüksek NP'lerin varlığı ($BNP \geq 35$ pg/mL veya $NT-proBNP \geq 125$ pg/mL) ve diğer yapısal kalp hastalığı kanıtları (örneğin artmış LA boyutu, LVH veya LV dolumunun EKO ölçümleri) tanıyı daha olası kılar ancak LVEF ölçümüyle ilgili kesinlik varsa tanı için zorunlu değildir (1).

2.9.2. Klinik Özellikleri

KY'deki LVEF kategorileri arasında klinik özellikler, risk faktörleri, kardiyak yeniden şekillenme paternleri ve sonuçlar açısından önemli bir örtüşme vardır. HFmrEF'li hastalar, ortalama olarak, HFrEF'ye HFpEF'den daha benzer özelliklere sahiptir, çünkü hastaların çoğu erkektir, daha gençtir ve KAH olma olasılıkları daha yüksektir (%50-60) (32, 34, 101); AF ve kardiyak olmayan komorbiditeler ise daha azdır. Bununla birlikte, HFmrEF'li ayaktan tedavi gören hastalar, HFrEF'li hastalara göre daha düşük mortaliteye sahiptir, bu özelliği ile de HFpEF'li hastalara benzemektedir.

HFmrEF'li hastalar, LVEF'si %40-50 arasında olan hastaları da içerebilir.

2.9.3. Tedaviler

Gerekli ilaçlar Tablo 2.11'de gösterilmiştir.

Tablo 2.11. Hafif derecede azalmış ejeksiyon fraksiyonlu (NYHA sınıf II-IV) kalp yetmezliği olan hastalarda düşünülmesi gereken farmakolojik tedaviler.

Öneriler	Sınıf ^a	Seviye ^b
Semptom ve bulguları hafifletmek için konjesyonu olan KY hastalarında diüretikler önerilir.	I	C
KY'ye bağlı hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için HFmrEF'li hastalarda bir ACEI düşünülebilir.	IIB	C
KY nedeniyle hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için KY hastalarında bir ARB düşünülebilir.	IIB	C
KY'ye bağlı hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için KY hastalarında bir beta bloker düşünülebilir.	IIB	C
KY'ye bağlı hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için KY hastalarında MRA düşünülebilir.	IIB	C
KY'ye bağlı hastaneye yatış ve ölüm riskini azaltmak için KY hastalarında SV düşünülebilir.	IIB	C

ACEI, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü; ARB, anjiyotensin reseptör blokeri; HFmrEF, hafif düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; MRA, mineralokortikoid reseptör antagonisti; NYHA, New York Kalp Derneği; SV, sakubitril/valsartan.

^a Öneri sınıfı, ^b Kanıt düzeyi.

Diğer KY formlarında olduğu gibi, konjesyonu kontrol etmek için diüretikler kullanılmalıdır. Yalnızca HFmrEF'li hastalarda önemli bir prospektif randomize kontrollü çalışma yapılmamıştır. Bazı veriler, hiçbir birincil sonlanım noktalarına ulaşmamış olan HFpEF'deki çalışmaların alt grup analizinden toplanabilir. Bu noktada spesifik tedaviler hakkında güçlü tavsiyeler de bulunulmamaktadır.

ACEI

HFmrEF'li hastalarda ACEI ile ilgili spesifik bir çalışma yoktur. PEP-CHF çalışması, HFpEF'si olan hastalarda yürütülmüş ve LVEF>%40 olan hastaları içerse de LVEF'e göre sonuçları bildirilmemiştir (22).

Bununla birlikte, HFmrEF'li hastaların birçoğunda KAH, hipertansiyon veya MI sonrası LV sistolik disfonksiyonu olacaktır ve bu nedenle zaten ACEI ile tedavi edilecektir. Bu nedenle HFmrEF'li hastalarda ACEI kullanımı düşünülebilir.

Anjiyotensin reseptör II tip 1 reseptör blokerleri

HFmrEF'de ARB'lerin spesifik denemeleri bulunmamaktadır. CHARM-Preserved çalışması, kardiyovasküler ölüm veya KY'ye bağlı hastaneye yatışları olan

birincil sonlanım sonuçları eksiktir (102). Bununla birlikte, retrospektif bir analiz, kandesartanın HFmrEF'si olanlar arasında KY nedeniyle hastaneye yatırılan hasta sayısını azalttığını göstermiştir (103). Ayrıca HFmrEF'li olanlar da dahil olmak üzere tüm CHARM-Preserved çalışmasında KY nedeniyle hastaneye yatışlarda bir azalma olduğu gösterilmiştir (104).

ACEI'ye gelince, HFmrEF'li birçok kişi diğer kardiyovasküler endikasyonlar için zaten bir ARB kullanıyor olacağı için HFmrEF'li hastalarda ARB tedavisi düşünülebilir.

Beta blokerler

HFmrEF'de spesifik bir beta bloker denemesi yoktur. Beta blokerlerle ilgili önemli çalışmaların bir metaanalizi, HFrEF ve HFmrEF'li sinüs ritmindeki hastalarda kardiyovasküler ve tüm nedenlere bağlı mortalitede benzer azalmalar (%50) gözlenmiştir (22). LVEF (hastaların %35'inde %35-50 LVEF bulunmaktadır) ile nebivololün birincil sonuç üzerindeki etkileşimi arasında bir bağlantı bulunamamıştır (105). HFmrEF'li birçok hastada beta bloker kullanımını gerektirecek AF veya anjina gibi başka bir KVH olabilir. Bu nedenle, HFmrEF'li hastalarda beta blokerlerle tedavi düşünülebilir.

MRA

HFmrEF hastalarında MRA'ların özel bir denemesi bulunmamaktadır. LVEF $\geq$ %45 olan hastaların yer aldığı TOPCAT çalışmasının retrospektif analizinde (106), spironolakton kullanımı LVEF $<$ %55 olanlarda KY nedeniyle hastaneye yatışları azaltmıştır. Kardiyovasküler için benzer bir eğilim olmasına rağmen tüm nedenlere bağlı ölümlerde bu durum tespit edilmemiştir (1). HFmrEF'li hastalarda MRA ile tedavi düşünülebilir.

Anjiyotensin reseptörü-neprilisin inhibitörü

HFmrEF'de spesifik bir ARNI denemesi yoktur. EF $\geq$ %45 olan hastaları içeren PARAGON-HF çalışmasında, tedavi ile önemli bir EF etkileşimi gözlemlenmiştir. Valsartan ile karşılaştırıldığında SV, EF medyan değeri %57'nin altında veya buna eşit olanlarda kardiyovasküler ölüm ve toplam KY'ye bağlı hastaneye yatışlarında %22 azalma sağlamıştır (3). Kombine bir analizden daha fazla veri elde edilebilir PARADIGM-HF ve PARAGON-HF çalışmalarının, SV'nin, diğer RAAS blokaj biçimleriyle karşılaştırıldığında, özellikle HFmrEF'si olanlarda KY nedeniyle hastaneye

yatışlar üzerinde yararlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (107). HFmrEF'li hastalarda ARNI ile tedavi düşünülebilir.

Cihazlar

Dönüm noktası olan KRT çalışmalarının posthoc analizleri, KRT'nin LVEF>%35 olan hastalara fayda sağlayabileceğini öne sürse de HFmrEF için KRT denemeleri, yetersiz veri nedeniyle netlik kazanmamıştır (108). HFmrEF için ventriküler aritmilerin birincil önlenmesine yönelik önemli ICD çalışmaları bulunmamaktadır. 20 yıldan daha uzun bir süre önce yürütülen araştırmalar, HFmrEF için ventriküler aritmilerin ikincil önlenmesi için ICD'nin hiçbir yararı olmadığını göstermektedir. Bu nedenle, HFmrEF'li hastalarda KRT veya ICD tedavisi önermek için yeterli kanıt bulunmamaktadır.

LVEF $\geq$ %40 olan KY hastalarında, interatriyal şant cihazının implantasyonunun güvenli olduğu gösterilmiştir ancak HFpEF veya HFmrEF'de kullanımına yönelik öneri olarak ele alınabilmesi için yeterli büyük bir çalışmaya gereksinim duyulmaktadır (109).

2.10. Korunmuş Ejeksiyonlu Kalp Yetmezliği

2.10.1. Arka Planı

'Korunmuş' terimi ilk olarak Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) programında, EF>%40 olan hastaları belirtmek için kullanılmıştır (110). European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI), sistolik disfonksiyonu erkeklerde <%52 ve kadınlarda <%54 olarak tanımlar (24).

Tüm değişkenler dikkatle incelendiğinde klinisyenler LVEF'nin genel popülasyonda normal dağılıma sahip sürekli bir değişken olduğunu ve bu nedenle tanımlarda kullanılan EF sınır değerlerinin esnek olabileceği vurgulanmaktadır. Ayrıca, 'normal'i tanımlarken LVEF eşiği muhtemelen %50'den yüksek olacakken, çok yüksek bir EF'nin varlığı (örneğin %65-70'in üzerinde) durumunda (kardiyak amiloidoz veya hipertrofik kardiyomiyopati gibi), burada 'normal üstü' bir EF, LV diyastol sonu hacminin daralmasından kaynaklanabilir (111).

2.10.2. Klinik Özellikleri

Diğer iki gruba göre kıyaslandığında HFpEF kategorisindeki hastaların dahayaşlı ve çoğunlukla kadın hastalar olduğu görülmektedir. AF, KBH ve KVH dışı komorbiditeler, HFpEF'li hastalarda, HFrEF'li hastalara göre daha yaygın görülmektedir (112).

HFpEF'nin çok sayıda potansiyel nedeni vardır. Çeşitli HFpEF sendromlarının patofizyolojisi farklıdır ve bu nedenle farklı tedaviler gerektirir. Kardiyak amiloidozis varlığı için potansiyel kırmızı bayraklar, hipertansiyon öyküsü olan hastalarda düşük normal kan basıncı, beta blokerlere veya ACEI intoleransı, bilateral karpal tünel sendromu öyküsü, EKG'de düşük voltaj ve septum kalınlaşması gibi EKO özellikleri, arka duvar veya RV duvarı, genişlemiş atriyum, küçük bir perikardiyal efüzyon veya kapak kalınlaşması şeklindedir. Ayrıca HFpEF sendromunu taklit edebilecek diğer durumları (örneğin akciğer hastalığı, anemi, obezite) da dışlamak önemlidir.

2.10.3. Tanısı

HFpEF tanısını koymada yaşanan zorluklar devam etmektedir. Klinik çalışmalarda birkaç tanı kriteri önerilmiştir. Bu kriterler, HFpEF tanısı için duyarlılıkları ve özgüllükleri bakımından büyük farklılıklar gösterir. Daha yakın zamanlarda, tanıya yardımcı olmak için iki puana dayalı algoritma (H2FPEF ve HFA-PEFF) önerilmiştir (113). Puanların genellenebilirliği çeşitli deneme ve gözlem gruplarında test edilmiş olsa da tanısal performansları değişmiştir (114).

Her iki skor da şüpheli HFpEF hastalarının önemli bir kısmını orta olasılık olarak gösterir bu nedenle ek tanımlar önerilmiştir. Ayrıca puanların geniş klinik uygulanabilirliği sınırlıdır ve HFpEF'de devam eden tanısal belirsizliğin ortadan kalkmasını sağlamaz (115).

Tanı aşağıdakileri içermelidir:

(1) KY semptom ve belirtileri.

(2) LVEF $\geq$ %50*

(3) Artmış NP'ler dahil olmak üzere LV diyastolik disfonksiyonu/artmış LV dolum basınçları ile tutarlı kardiyak yapısal ve/veya fonksiyonel anormalliklerin objektif göstergesi (Tablo 2.12).

*Açıkça azalmış LVEF ($\leq$ %40) öyküsü olan ve daha sonra LVEF $\geq$ %50 ile başvuran hastaların iyileşmiş HFrEF olarak adlandırılması önerilir. Bu hastalarda HFrEF tedavisine devam edilmesi önerilir (116). Ancak LVEF'si düzelen hastalarda KY tedavisine başlamanın faydalı olup olmadığı bilinmemektedir. HFpEF'li hastalar zaman içinde stabil LVEF yörüngesine sahip olma eğilimindedir (117). Bununla birlikte, takip sırasında tekrar EKO için klinik bir endikasyon geliştirenlerde (yaklaşık üçte birinde) LVEF'de düşüş görülmektedir (118).

Tablo 2.12. Sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu/artmış sol ventrikül dolum basınçları ile tutarlı kardiyak yapısal, fonksiyonel ve serolojik anormalliklerin objektif kanıtları

Parametreler	Eşik değeri	Yorumlar
LV kitle indeksi	≥ 95 g/m ² (Kadın),	Konsantrik LV yeniden şekillenmesi veya
Bağıl duvar kalınlığı	≥ 115 g/m ² (Erkek)	hipertrofinin varlığı destekleyici olsa da LV
	>0.42	hipertrofinin olmaması HFpEF tanısını dışlamaz.
LA hacim indeksi	>34 mL/m ² (SR)	AF veya kapak hastalığı yokluğunda, LA genişlemesi kronik olarak yükselmiş LV dolum basıncını yansıtır (AF varlığında eşik >40 mL/m ² 'dir)
Dinlenme halinde E/e' oranı	>9	İnvaziv egzersiz testi ile HFpEF varlığı için duyarlılık %78, özgüllük %59, ancak bildirilen doğruluk değişkendir.
NT-proBNP	>125 (SR) veya	İnvaziv olarak kanıtlanmış HFpEF'li hastaların
BNP	>365 (AF) pg/mL	%20 kadarında, özellikle obezite varlığında
	>35 (SR) veya	tanısal eşiklerin altında NP'ler vardır.
	>105 (AF) pg/mL	
PA sistolik basıncı	>35 mmHg	İnvaziv egzersiz testi ile HFpEF varlığı için
Dinlenme halinde TY	>2.8 m/s	duyarlılık %54, özgüllük %85'tir.
velosiditesi		

AF, atriyal fibrilasyon; BNP, B tipi natriüretik peptid; E/e'ratio, verici Doppler'de erken dolum hızı/doku Doppler'de erken gevşeme hızı; HFpEF, korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; LA, sol atriyum; LV, sol ventrikül; NP, natriüretik peptid; NT-proBNP, N-terminal pro-B tipi natriüretik peptid; PA, pulmoner arter; SR, sinüs ritmi; TY, triküspit yetmezliği

Tanıya yönelik yaklaşım; kardiyopulmoner egzersiz testi (egzersiz kapasitesindeki azalmayı doğrulamak ve dispnenin nedenini ayırt etmeye yardımcı

olmak için), egzersiz stres testi ve invazif hemodinamik testler gibi tanısal belirsizlik durumlarında ek doğrulayıcı testleri içermelidir (113).

Dinlenme EKO ve laboratuvar belirteçleri şüpheli ise, diyastolik stres testi önerilir (113). HFpEF tanısı için invazif hemodinamik egzersiz testi yapılır. İnvaziv olarak ölçülen pulmoner kapiller kama basıncı (PCWP) ≥ 15 mmHg (istirahatte) veya ≥ 25 mmHg (egzersizle) veya LV diyastol sonu basıncı ≥ 16 mmHg (istirahatte) olan bulgular tanısal olarak kabul edilir (119). İnvaziv hemodinamik egzersiz testinin dünya çapında pek çok merkezde bulunmadığı ve risklerle ilişkili olduğu kabul edildiğinden, temel kullanımı araştırma ortamıyla sınırlıdır. Herhangi bir hastalığı modifiye edici tedavinin yokluğunda, mevcut kılavuzlar her hastada tanı koymak için altın standart testi zorunlu kılmaz, ancak artmış LV dolum basınçlarının objektif invazif olmayan belirteçlerinin sayısının ne kadar fazla olduğunu vurgular ve bu da HFpEF tanı olasılığını o derece yükseltir.

2.10.4. Tedavisi

Genel HFpEF şemsiyesi içindeki hastaların bazı spesifik fenotiplerinde iyileşmeler görülmesine rağmen, bugüne kadar hiçbir tedavinin HFpEF'li hastalarda mortalite ve morbiditeyi ikna edici bir şekilde azalttığı gösterilmemiştir. Bununla birlikte, HFpEF'de yürütülen büyük randomize kontrollü çalışmaların hiçbiri birincil son noktalarına ulaşamamıştır. Bunlar arasında PEP-CHF (perindopril) (120), CHARM-Preserved (kandesartan) (102), I-PRESERVE (irbesartan) (121), TOPCAT (spironolakton) (73), DIG-Preserved (digoksin) (122) ve PARAGON-HF (SV) (3) bulunur. KY nedeniyle hastaneye yatışlar kandesartan ve spironolakton kullanımı ile azaltılmıştır ve SV ile azalmaya doğru bir eğilim bulunmuştur ancak bu denemeler birincil son noktaları için nötr olduğundan, bunlar yalnızca hipotez oluşturan bulgulardır. SENIORS çalışmasında nebivolol, tüm nedenlere bağlı mortalite veya kardiyovasküler nedenli hastaneye yatıştan oluşan birleşik birincil sonlanım noktasını önemli ölçüde azaltmış olsa da bu çalışmada LVEF > 50 olan sadece %15 hasta bulunmaktadır (105, 123). Nitrik oksid (NO)-siklik guanozin monofosfat yolunu hedefleyen denemeler de egzersiz kapasitesini veya yaşam kalitesini etkilemede başarısız olmuştur. (NEAT-HfpEF (124), INDIE HfpEF (125), VITALITY-HfpEF (126) ve CAPACITY-HfpEF (pralicigat) (127).)

HFpEF hastalarının büyük çoğunluğunda altta yatan hipertansiyon ve/veya KAH olduğundan, HFpEF'de hastalığı modifiye edici spesifik tedaviler için kanıt olmamasına rağmen, birçoğu halihazırda ACEI/ARB, beta blokerler veya MRA'lar ile tedavi edilmektedir. Başlangıçta PARAGON-HF çalışmasında hastaların %86'sından fazlası ACEI/ARB, %80 beta bloker ve %24'ten fazlası MRA kullanmıştır (3).

Amerika Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA), LVEF'si "normalden düşük" olanlarda SV ve spironolakton kullanımını onayladığı bilinmektedir. Bu ifadeler hem HFmrEF hem de HFpEF kategorilerindeki hastalarla ilgilidir. SV için bu karar, LVEF<%57 olanlarda KY'ye bağlı hastaneye yatışlarda bir azalma gösteren PARAGON-HF çalışmasından elde edilen alt grup analizine ve PARADIGM-HF ve PARAGON-HF'nin meta analizine dayanmaktadır (107).

Spironolakton ile ilgili olarak, TOPCAT çalışmasındaki LVEF<%55'li bireylerden oluşan alt grup analizi kardiyovasküler ölüm ve KY nedenli hastaneye yatış birincil sonlanım noktasında önemli bir azalmaya sahip olduğu gösterilmiştir (107). Ayrıca SGLT2 inhibitörleri ile de devam eden denemeler bulunmaktadır. Bu gelişmeler gelecekte HFpEF'nin yeniden tanımlanmasını hızlandırabilir ve terapötik etkileri olabilir.

HFpEF'de altta yatan risk faktörlerini, etiyolojiyi ve eşlik eden komorbiditeleri belirlemek ve tedavi etmek önemlidir. Kuşkusuz, HFpEF sendromunun altında yatan bazı fenotiplerin tedavisi daha iyi sonuçlara yol açar (Tablo 2.13, 2.14, 2.15)

Tablo 2.13. Kalp yetmezliği gelişimi için risk faktörleri ve önleyici stratejiler

KY için risk faktörleri	Önleyici stratejiler
Hareketsiz yaşam	Düzenli fiziksel aktivite
Sigara içmek	Sigara bırakma
Obezite	Fiziksel aktivite ve sağlıklı beslenme
Aşırı alkol alımı	Genel nüfus için hiç/hafif alkol alımı faydalıdır. Alkole bağlı KMP'si olan hastalar alkolden uzak durmalıdır.
Grip	Grip aşısı
Mikroorganizma (Trypanosoma cruzi, Streptococci)	Erken tanı, önleme ve/veya tedavi için spesifik antimikrobiyal tedavi
Kardiyotoksik ilaçlar (antrasiklinler)	Kardiyak fonksiyon ve yan tesir takibi, doz adaptasyonu, kemoterapi değişikliği
Akciğer radyasyonu	Kardiyak fonksiyon ve yan tesir takibi, doz adaptasyonu
Hipertansiyon	Yaşam tarzı değişiklikleri, antihipertansif tedavi
Dislipidemi	Sağlıklı beslenme, statin kullanımı
DM	Fiziksel aktivite ve sağlıklı beslenme, SGLT2 inhibitörleri
KAH	Yaşam tarzı değişiklikleri, statin tedavisi

CMP, kardiomiopati; DM, diyabetes mellitus; SGLT2, sodyum-glikoz ko-transporter 2; KAH, koroner arter hastalığı.

Tablo 2.14. Gelişimi için risk faktörleri olan hastalarda kalp yetmezliğinin birincil önlenmesi için öneriler

Öneriler	Sınıf ^a	Seviye ^b
KY'nin başlamasını önlemek veya geciktirmek ve KY'ye bağlı hastane yatışlarını önlemek için hipertansiyon tedavisi önerilmektedir.	I	A
KY'nin başlamasını önlemek veya geciktirmek ve KY'ye bağlı hastane yatışlarını önlemek için KVH riski yüksek veya KVH'si olan hastalarda statinlerle tedavi önerilir.	I	A
SGLT2 inhibitörleri (kanagliflozin, dapagliflozin, empagliflozin, ertugliflozin, sotagliflozin), KVH riski yüksek DM'li hastalar veya KVH'si olan hastalarda KY'ye bağlı hastane yatışlarını önlemek için önerilmektedir.	I	A
KY'nin başlamasını önlemek veya geciktirmek için sedanter yaşam, obezite, sigara ve alkol kötüye kullanımına karşı danışmanlık önerilir.	I	C
SGLT2, sodyum-glikoz ortak taşıyıcı 2. ^a Öneri sınıfı, ^b Kanıt düzeyi.		

Tablo 2.15. Korunmuş ejeksiyonlu kalp yetmezliği hastalarının tedavisi için öneriler

Öneriler	Sınıf ^a	Seviye ^b
HFpEF'li hastalarda etiyolojilerin ve kardiyovasküler ve kardiyovasküler olmayan komorbiditelerin taranması ve tedavisi önerilir.	I	C
Semptom ve bulguları hafifletmek için KY'si olan konjesyonlu hastalarda diüretikler önerilir.	I	C
HFpEF = korunmuş ejeksiyon fraksiyonu ile kalp yetmezliği. ^a Bir tavsiye sınıfı ^b Kanıt düzeyi		

2.11. İlerlemiş Kalp Yetmezliği

2.11.1. Epidemiyoloji, Tanı ve Prognoz

KY'li birçok hasta, maksimum tedaviye rağmen kalıcı semptomlarla karakterize ileri KY evresine ilerler (128). KY'li hasta sayısının artması, popülasyonun yaşlanması ve KY'nin daha iyi tedavisi ve sağkalımı nedeniyle ilerlemiş KY prevalansını artırmaktadır. Ayrıca %25-75 arasında değişen 1 yıllık mortalite ile prognozda da kötüleşme devam etmektedir (129). İlerlemiş KY tanımı için güncellenmiş 2018 kriterleri Tablo 2.16'da rapor edilmiştir. Ciddi derecede azalmış bir LVEF yaygındır ancak ileri KY tanısı için gerekli değildir, çünkü HFpEF'li hastalarda KY ilerleyebilir.

Bildirilen kriterlere ek olarak, KY'ye bağıli ekstra kardiyak organ disfonksiyonu (örneğin kardiyak kaşeksi, karaciğer veya böbrek disfonksiyonu) veya tip II pulmoner hipertansiyon mevcut olabilir, ancak ileri KY tanımı için gerekli değildir (130).

Prognostik sınıflandırma, uygun bir merkeze (yani gelişmiş KY tedavileri sağlayabilen bir merkeze) sevk için ideal zamanı belirlemek, beklentileri hastalara ve ailelere uygun şekilde iletme ve tedavi ve takip stratejilerini planlamak için önemlidir (130).

Tablo 2.16. İleri kalp yetmezliği tanımı için kriterler

1. Şiddetli ve kalıcı KY semptomları (NYHA sınıf III-IV).
2. Aşağıdakilerden en az biri ile tanımlanan şiddetli kardiyak fonksiyon bozukluğu: • LVEF≤%30 • İzole RV yetmezlik (örneğin ARVC) • Ameliyat edilemeyen ciddi kapak anormallikleri • Ameliyat edilemeyen ağır konjenital anormallikler • Sürekli olarak yüksek (veya artan) BNP veya NT-proBNP değerleri ve ciddi LV diyastolik işlev bozukluğu veya yapısal anormallikler (HFpEF tanımlarına göre).
3. Yüksek doz i.v. diüretik (veya diüretik kombinasyonları) gerektiren pulmoner veya sistemik konjesyon epizodları veya inotropik/vazoaktif ilaçlar gerektiren düşük çıkış atakları veya son 12 ayda >1 plansız hastaneye uğrama veya hastaneye yatışa neden olan malign aritmiler.
4. Egzersiz yapamama veya düşük 6MWT mesafesi (<300 m) veya pVO ₂ <12 mL/kg/dk veya kardiyak kaynaklı olduğu tahmin edilen <%50 öngörülen değer ile birlikte egzersiz kapasitesinde ciddi bozulma.

6MWT, 6 dakikalık yürüme testi; ARVC, aritmogenik sağ ventriküler kardiyomiyopati; BNP, B tipi natriüretik peptid; HFpEF, korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği; i.v., intravenöz; LV, sol ventrikül; LVEF, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu; NT-proBNP, N-terminal pro-B tipi natriüretik peptid; NYHA, New York Kalp Derneği; pVO₂, tepe oksijen tüketimi; RV, sağ ventrikül.

2.11.2. Yönetim

İlerlemiş KY hastalarında, uzun süreli MCS implantasyonu veya kalp transplantasyonu mevcut olana kadar farmakolojik tedavi ve kısa süreli MCS gerekebilir.

2.12. Akut Kalp Yetmezliği

2.12.1. Epidemiyoloji, Tanı ve Prognoz

AKY hastalarının acil tıbbi yardım almasını gerektiren şiddette, plansız bir hastane yatışına veya acil servise başvurmasına neden olan, hızlı veya kademeli olarak KY semptomlarının ve/veya belirtilerinin başlaması anlamına gelir. AKY'li hastaların tedavisinde i.v. terapiler veya prosedürler bulunur. AKY, 65 yaş üstü kişilerde önde gelen hastaneye yatış nedenidir ve yüksek mortalite ve yeniden hastaneye yatış oranları

ile ilişkilidir. Hastane içi ölüm oranı %4-10 arasında değişmektedir (131). Taburculuk sonrası 1 yıllık ölüm oranı %25-30 olabilir ve ölüm veya yeniden hastaneye kabul oranları %45'ten fazladır (1, 132).

AKY, KY'nin (yeni başlangıçlı) ilk belirtisi olabilir veya daha sıklıkla KKY'nin akut dekompansementasyonuna bağlı olabilir. Akut dekompanse KKY olan hastalarla karşılaştırıldığında, yeni başlayan KY hastalarında hastane içi mortalite daha yüksek olabilir (133) ancak taburculuk sonrası mortalite ve yeniden hastaneye yatış oranları daha düşüktür (134).

AKY'nin tanısal çalışması, ilk tıbbi temas anında başlar ve klinik görünümü belirlemeyi ve potansiyel olarak geri döndürülebilir nedenleri/tetikleyicileri/birlikte var olan yaşamı tehdit eden koşulları zamanında tanınımın konmasını ve yönetmeyi amaçlamaktadır. Klinik belirti ve semptomlara ek olarak tanısal çalışma, mümkünse EKG ve EKO içerir. Özellikle NP testi mevcut olmadığında AKY tanısını doğrulamak için akciğer röntgeni ve akciğer ultrasonu gibi ek araştırmalar da kullanılabilir. Plazma NP seviyeleri (BNP veya NT-proBNP veya MR-proANP), tanı belirsizse ve bir bakım noktası testi mevcutsa ölçülmelidir. Normal NP konsantrasyonları, AKY tanısını olası kılmaz. Akut KY için eşik değerleri; BNP<100 pg/mL, NT-proBNP<300 pg/mL ve MR-proANP<120 pg/ mL'dir (54, 135). Bununla birlikte, yüksek NP değerleri ilişkili çok çeşitli kardiyak ve kalp dışı durumlar bulunmaktadır. İleri düzeyde dekompanse sonevre KY, obezite, pulmoner ödem veya sağ taraflı AKY olan bazı hastalarda düşük konsantrasyonlar saptanabilir. Eşzamanlı AF ve/veya böbrek fonksiyonu azalmış hastalarda daha yüksek seviyeler bulunabilir (54).

Diğer laboratuvar testleri arasında, troponin AKS'nin saptanması için yararlıdır, ancak AKY'li hastaların büyük çoğunluğunda yüksek seviyeler tespit edilir (136). BUN, üre, serum kreatinin, elektrolitler ve antijen karbonhidrat 125 tedavinin kişiye özel hale getirilmesine yardımcı olabilir (137). Anormal karaciğer fonksiyonunun saptanması, kötü prognozlu hastaları tanımlar (138). Hem hipotiroidizm hem de hipertiroidizmA KY'yi hızlandırabileceğinden, yeni tanı konmuş AKY hastalarında tiroid stimüle edici hormon (TSH) değerlendirilmelidir. O₂ ve CO₂ kısmi basıncının kesin bir ölçümü gerektiğinde (yani solunum sıkıntısı olan hastalar) arteriyel kan gazı analizi yapılmalıdır. Kardiyojenik şoklu hastalarda laktat ve pH seviyeleri ölçülmelidir. Akut pulmoner emboliden şüphelenildiğinde D-dimer ölçülmelidir. Pnömoni tanısında prokalsitonin kullanılabilir ve plazma seviyeleri >0,2 lg/L olduğunda antibiyotik

tedavisinin endikasyonu olabilir. Bununla birlikte, prospektif kontrollü bir çalışmada, rutin prokalsitonin ölçümlerine dayalı bir stratejinin sonuçlar üzerinde hiçbir etkisi gösterilmemiştir (139). AKY'li hastaların ilk başvuru anında nabız oksimetresi rutin olarak ölçülmelidir ve ilk saat/günlerde sürekli izlem gerekebilir (140).

Akut dekompanse kalp yetmezliği (ADKY)

Akut dekompanse kalp yetmezliği (ADKY), AKY'nin en yaygın şeklidir ve başvuruların %50-70'ini oluşturur (141, 142). Genellikle KY öyküsü olan ve LVEF spektrumunda önceden kardiyak disfonksiyonu olan hastalarda görülür ve RV disfonksiyonunu içerebilir. Akut pulmoner ödem fenotipinden farklı olarak, daha kademeli bir başlangıcı vardır; ana değişiklik, sistemik konjesyon ile sonuçlanan, hipoperfüzyonla ilişkili olan ve progresif seyreden bir konjesyonu bulunur (142). Tedavinin amaçları acil durumların belirlenmesi, konjesyonun giderilmesi ve nadir durumlarda hipoperfüzyonun düzeltilmesidir.

2.13. Kalp Yetmezliği Patofizyolojisi

KY etiyolojik bir nedenin kalp kasına zarar vermesi, bunun sonucunda da işleyen kardiyak miyositlerin kaybıyla sonuçlanması ya da alternatif olarak, miyokardın kasılma yeteneğini bozması ve böylece kalbin normal şekilde kasılmasını önlemesi sonrasında başlayan ilerleyici bir hastalıktır (143). Bu neden bir MI durumunda olduğu gibi ani bir başlangıca sahip olabilir; hemodinamik basınç veya aşırı hacim yüklenmesi durumunda olduğu gibi de kademeli veya sinsi bir başlangıç seyredebilir veya genetik kardiyomiyopatilerin çoğunda olduğu gibi kalıtsal da olabilir. Tetikleyici olayın doğasından bağımsız olarak, bu tetikleyici olayların her birinde ortak olan özellik, hepsinin bir şekilde kalbin pompalama kapasitesinde bir düşüşe yol açmasıdır. Çoğu durumda hastalar, kalbin pompalama kapasitesindeki ilk düşüşten sonra asemptomatik veya minimal düzeyde semptomatik kalırlar veya disfonksiyon bir süre mevcut olduktan sonra ilerleyen süreçte semptom geliştirir (144).

LV disfonksiyonu olan hastaların asemptomatik kalmasının nedenleri kesin olmamakla birlikte kardiyak hasar ve/veya LV disfonksiyonu varlığında hastaların aylardan yıllara kadarki süreç içerisinde LV fonksiyonunu sürdürmesine ve modüle etmesine izin veren bir dizi kompensatuar mekanizmanın aktif hale gelmesidir. Şimdiye kadar açıklanan telafi edici mekanizmalar arasında (1) artan tuz ve su tutma yoluyla kalp debisini korumaktan sorumlu olan RAAS, (2) adrenerjik sinir sisteminin

aktivasyonunu ve (3) artan miyokardiyal kontraktilite yer alır (144). Ek olarak, aşırı periferik vasküler vazokonstriksiyonu dengeleyen ANP ve BNP, bradikinin, prostaglandinler (PGE2, PGI2) ve NO dahil olmak üzere dengeleyici vazodilatör moleküller ailesi aktive edilir. Bradikinin ve NP'ler dahil olmak üzere bu vazodilatör peptidlerin çoğu, membrana bağlı bir peptidaz olan bir neprilisin tarafından parçalanır. Bu kompansatuvar mekanizmalar, fizyolojik/homeostatik bir aralık içinde LV fonksiyonunu modüle edebilir, böylece hastanın fonksiyonel kapasitesi korunur veya minimal olarak bastırılır. Bu nedenle hastalar yıllarca asemptomatik veya minimal düzeyde semptomatik kalabilirler; bununla birlikte, bir noktada hastalar açıkça semptomatik hale gelir ve bunun sonucunda morbidite ve mortalite oranlarında dikkat çekici bir artış meydana gelir. Aşağıda tartışılacağı gibi, bu geçişten sorumlu mekanizmalar tam olarak bilinmemekle birlikte, semptomatik KY'ye geçiş, toplu olarak miyokard içinde bir dizi adaptif değişikliğe yol açan nörohormonal, adrenerjik vesitokin sistemlerinin artan aktivasyonu eşlik eder. Bu durum LV remodeling olarak adlandırılır (144, 145).

HFrEF patogenezinin aksine HFpEF gelişimine katkıda bulunan mekanizmalara ilişkin bilgiler hala netlik kazanmamıştır. Yani, diyastolik disfonksiyonun korunmuş bir EF ile KY gelişiminden sorumlu tek mekanizma olduğu düşünülse de toplum temelli çalışmalar artmış vasküler sertlik ve bozulmuş böbrek fonksiyonu gibi ek kalp dışı mekanizmaların önemli olabileceğini düşündürmektedir (144).

2.13.1. Kalp Yetmezliğindeki Temel Mekanizmaları

Düşük ejeksiyonlu KY'de remodeling, hücresel ve moleküler seviyelerde meydana gelen bir dizi karmaşık olaya yanıt olarak gelişir. Bu değişiklikler şunları içerir: (1) miyosit hipertrofisi; (2) miyositin kasılma özelliklerindeki değişiklikler; (3) nekroz, apoptoz ve otofajik hücre ölümü yoluyla ilerleyici miyosit kaybı; (4) betaadrenerjik duyarsızlaştırma; (5) anormal miyokardiyal enerji ve metabolizma; ve (6) miyositleri çevreleyen organize yapısal kolajen yapının çözünmesi ve ardından miyositlere yapısal destek sağlamayan bir interstisyel kolajen matrisi ile değiştirilmesiyle hücre dışı matrisin yeniden düzenlenmesi (144). Bu değişiklikler için biyolojik uyaranlar arasında miyositlerin mekanik gerilmesi, dolaşımdaki nörohormonlar (örneğin norepinefrin, anjiyotensin II), inflamatuvar sitokinler [örneğin

tümör nekroz faktörü (TNF), diğer peptidler ve büyüme faktörleri (örneğin endotelin) ve reaktif oksijen türleri (örneğin süperoksit)]rol alır (146).

Kardiyak dokunun normal fizyolojisinde uyarılma-kasılma eşleşmesini ve çapraz köprü etkileşimini düzenleyen genlerde ve proteinlerde sürekli nörohormonal aktivasyon ve mekanik değişiklikler meydana gelir (144).

Eksitasyon kontraksiyonunu düzenleyen değişiklikler, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} adenozin trifosfataz (SERCA2A) fonksiyonunun azalmasını içerir, bu da sarkoplazmik retikuluma kalsiyum alımının azalmasına ve sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum sızıntısına yol açan ryanodin reseptörünün hiperfosforilasyonuna neden olur. Çapraz köprülerde meydana gelen değişiklikler arasında α -miyozin ağır zincir ekspresyonunun azalması ve beta-miyozin ağır zincir ekspresyonunun artması, miyositoliz ve sarkomerler ile hücre dışı matris arasındaki hücre iskeleti bağlantılarının bozulması yer alır. Toplu olarak, bu değişiklikler miyositlerin kasılma yeteneğini bozar ve bu nedenle KY hastalarında sistolik fonksiyon başta olmak üzere çeşitli patolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır (144).

Kalp hızındaki bir artış, diyastolik dolum süresini orantısız bir şekilde kısaltır, bu da özellikle uyumlu olmayan ventriküllerde yüksek LV dolum basınçlarına yol açabilir. Yüksek LV diyastol sonu dolum basınçları, diyastolik disfonksiyonu olan hastaların yaşadığı dispneye katkıda bulunabilen pulmoner kapiller basınçlarda artışa neden olur. Bozulmuş miyokardiyal gevşemeye ek olarak, artan aşırı yüklenmeye ve kardiyak hipertrofiye neden olur ve miyokardiyal kollajen içeriğinin artması diyastolik yetmezliğe de katkıda bulunabilir. Diyastolik disfonksiyon, KY hastalarında tek başına veya sistolik disfonksiyon ile birlikte ortaya çıkabilir (144, 145).

2.13.2. Sol Ventrikül Remodeling

Ventriküler yeniden şekillenme, kardiyak hasar ve/veya anormal hemodinamik yükleme koşullarından sonra LV kütlesi, hacmi/şeklindeki ve kalbin bileşimindeki değişiklikleri ifade eder. LV yeniden şekillenmesi, yeniden şekillenen LV'nin geometrisindeki değişikliklerin neden olduğu mekanik yükler sayesinde KY'nin ilerlemesine katkıda bulunur (144). LV diyastol sonu hacmindeki artışa ek olarak, LV genişlemeye başladığında LV duvarında incelme meydana gelir. LV dilatasyonu tarafından oluşturulan art yükteki artışla birlikte duvar incelmesindeki artış, atım hacminde daha fazla azalmaya katkıda bulunabilecek fonksiyonel bir art yük

uyumsuzluğuna yol açar. Ayrıca, yüksek diyastol sonu duvar stresinin (1) subendokardiyumda hipoperfüzyona yol açması ve bunun sonucunda LV fonksiyonunun kötüleşmesine yol açması beklenebilir; (2) serbest radikal oluşumuna (örneğin, TNF ve interlökin 1) duyarlı olan gen ailelerinin sonuçta aktivasyonu ile artan oksidatif stres; ve (3) hipertrofik sinyal yollarının aktivasyonunun sürekli ifadesi ile sonuçlanır. Artan LV dilatasyonu, aynı zamanda, mitral kapağının yetersizliği ile sonuçlanan papiller kaslarda problemlere neden olur. Bu da ventrikülün daha fazla hemodinamik aşırı yüklenmesine yol açar. Birlikte ele alındığında LV yeniden şekillenmesinden kaynaklanan mekanik yükler KY'nin ilerlemesine katkıda bulunur(144, 145).

2.13.3. Koruyucu Mekanizmalar

LV disfonksiyonundaki birincil patofizyolojik mekanizma, kalp hızında telafi edici bir artışa rağmen LV'de bir azalma ve ardından gözlenen CO'daki düşüştür.CO'daki düşüş, sırayla kalp debisi X toplam periferik direnç olarak tanımlanan ortalamaarter basıncında (MAP) bir azalmaya yol açar. Bu azalma doku hipoperfüzyonunandeden olur ve bu da birkaç telafi edici önlemin aktivasyonu ile sonuçlanır (147). Daha sonra kaçınılmaz şekilde ilerleyici tarzda kısır bir döngü içinde hastanın klinik durumunu kötüleştirir (148). Erken dönemdeki kompanse edici mekanizmalar olumlu etkiler gösterse de süreç ilerlediğinde olumsuz etkilere de neden olmaktadır (149). KY'nin tedavisi, büyük ölçüde kardiyak fonksiyonu desteklemeye ve bu telafi edici mekanizmaların kontrolden çıkmasını önlemeye çalışır. Bu sürecin engellenmesi KY'nin etkili tedavi protokollerinin temelini şekillendirmektedir (143).

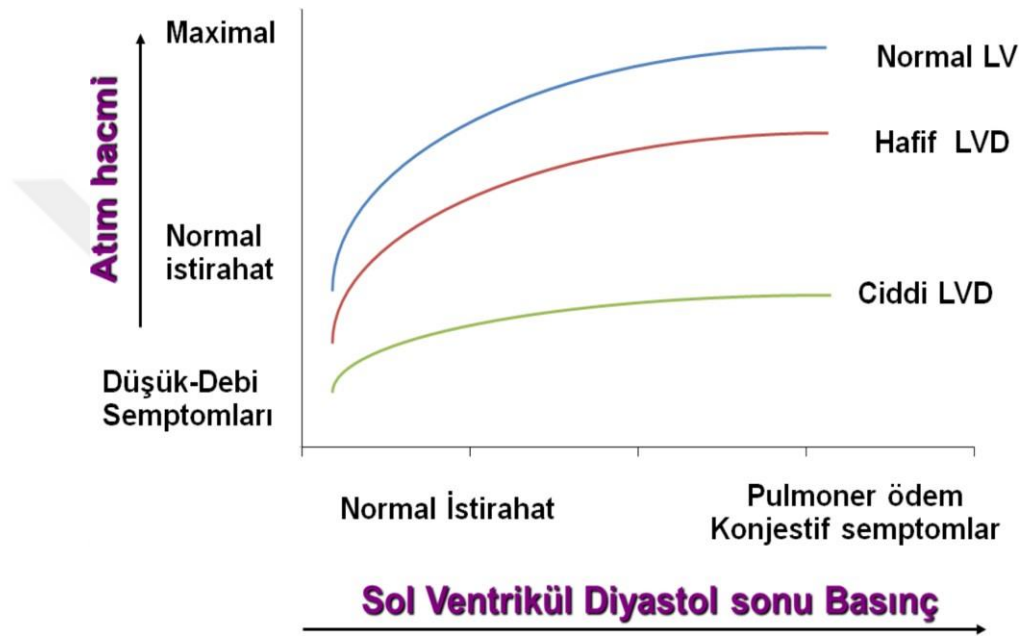
En fazla bilinen ve öneme sahip olan kompensasyon mekanizmaları şunlardır (150):

1. Frank-Starling mekanizması
2. Nörohormonal adaptasyon
3. Ventriküler yeniden şekillenme (remodeling)

2.13.4. Frank-Starling Mekanizması

Frank-Starling mekanizması, LV disfonksiyonunun eşlik ettiği KY'nin ilk aşamalarında kilit bir rol oynar (148). Sağlıklı bir kalpte, daha fazla kasılma kuvveti oluşturan miyokardiyal liflerin daha fazla gerilmesi nedeniyle kardiyak output, artan ön

yük ile artar. Bunun nedeni, sarkomer uzunluğunun artması olası aktin-miyozin etkileşimlerinin sayısını artırdığı kalp kasının benzersiz uzunluk-gerilim ilişkisinden kaynaklanmaktadır. İskelet kasının aksine, kalp kası lifleri istirahatte optimum uzunluklarında değildir ve bu nedenle venöz dönüşün artması miyokardı önceden gerer, kas liflerinin uzunluğunu artırır, bu da LV diyastol sonu hacmini artırır ve potansiyel aktin-miyozin etkileşimlerinin sayısını artırır ve böylece daha güçlü bir kasılma oluşturarak atım volümünü ve kardiyak outputu artırır (147).



Şekil 2.3. Frank-Starling mekanizması

Frank-Starling mekanizması, LV disfonksiyonunun eşlik ettiği KY'nin patofizyolojisinin merkezinde yer alır, çünkü venöz dönüşte sürekli artışlar, miyokardiyal nekroz ve skarlaşma ile birlikte, miyokardın patolojik olarak aşırı gerilmesine neden olur, uzunluk-gerilimini de bozar. Aktin-miyozin etkileşimleri ve dolayısıyla kasılma kuvveti de azalır. Bu nedenle, KY'nin en başında atım volümü düşer. Kasılmadaki azalma nedeniyle, ön yükte bir artış olur ve bu da kardiyak outputta telafi edici bir artışa yol açar. Ancak KY kötüleştikçe, belirli bir ön yük artışı için atım volümünde yalnızca hafif bir artış olur. Eğri sonunda düzleşir ve hatta dekompanseasyon meydana geldiğinde dengeleyici mekanizma aşağı yönde ilerler. Bu değişimler KY hastalarında ortaya çıkan dispnenin sebebi olan yüksek pulmoner kapiller basınç artışınaneden olur (147).

2.13.5. Nörohormonal Aktivasyon

Sempatik sinir sistemi, RAAS ve NP sistemi dahil olmak üzere çeşitli telafi edici önlemlerin aktivasyonu, periferik dokulara oksijen iletiminde daha sonra iyileşme ile kalbin olumsuz yönde etki gösteren mekanik fonksiyonunu optimize etmeyi amaçlar.

2.13.6. Sempatik Sinir Sistemi

Ortalama kan basıncındaki azalma, kardiyopulmoner dolaşımdaki mekanoreseptörler ile birlikte karotid sinüslerdeki ve aortik arkadaki baroreseptörler tarafından algılanır, bu da sempatik (adrenerjik) aktivitenin artmasına ve ardından nörohormonların aktivasyonu ile azalan parasempatik (kolinerjik) aktiviteye neden olur. Sempatik sinir sistemi stimülasyonu kalp ve damar sistemi üzerinde doğrudan etkileri olan katekolaminlerin (adrenalin ve noradrenalin) salınımını artırır, bu da kalp ritmini ve kontraktileti artırır; ayrıca periferik vazokonstriksiyonu indükler, toplam periferik direnci artırarak ortalama arter basıncını da artırır. Sempatik sinir sistemi üç adrenerjik reseptör (β_1 , β_2 ve α_1) aracılığıyla miyokardiyumu etkiler ve noradrenalin tarafından kronik stimülasyon, miyosit büyümesini ve hipertrofiyi indükler (147, 151). KY'deyaygın olarak kullanılan beta blokerler, örneğin bisoprolol, beta reseptörlerini bloke ederek, kalp atım hızını yavaşlatarak, diyastol süresini uzatarak miyokard dolumunu iyileştirir ve miyokardın oksijen ihtiyacını azaltarak kalp pompası fonksiyonunu artırarak olumlu etkiler gösterir.

2.13.7. Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi

RAAS'ın uyarılması renal hipoperfüzyon ve distal tübülün makula densasına sodyum iletiminin azalması nedeniyle β_1 ve α_1 reseptörleri aracılığıyla aktive olan başka bir telafi edici önlemdir. Bu, vazokonstriksiyon yoluyla intravasküler hacmin korunması sağlanır, sodyum tutulmasına ve artan susuzluk hissinin oluşmasına neden olur. Bu, anjiyotensinojenin renin tarafından anjiyotensin I'e dönüştürülmesi ve ardından ACE tarafından anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüştürülmesiyle elde edilir. Anjiyotensin II, sistemik dolaşımın güçlü bir vazokonstriktörüdür ve etkilerininbeş şekilde ortaya çıkarır (151):

- Sempatik sinir sistemi aktivitesini artırma
- Henle döngüsünden Na^+ ve Cl^- absorpsiyonunun artması
- Adrenal korteksten aldosteron salınımının uyarılması

- Arteriolar vazokonstriksiyonun uyarılması (sistemik ve renal)
- Hipofiz bezinin arka lobundan anti-diüretik hormon salgılanmasını uyarır.

Tüm bu etkiler sonrasında net etki tuz ve suyun tutulmasıdır. Bu, plazma hacmini ve dolayısıyla kısa vadede doku perfüzyonunu iyileştiren kan basıncını artırır. Bu nörohormonal sistemlerin de birbirini etkilediğini, net sonucun sürekli aktivasyon döngülerinden sonra ventriküllerin remodelinge uğraması olduğunu göstermektedir. Hem ACEI (örneğin ramipril) hem de ARB (kandesartan) bu yolu bloke ederek toplam periferik direnci azaltır ve böylece miyokardiyal çalışmayı azaltarak kalp üzerindeki art yükü azaltmayı sağlar (147).

2.13.8. Natriüretik Peptidler

NP'lerin nörohormonal adaptasyondaki rolleri oldukça önemlidir. Etkiler sonucu cGMP artışına bağlı olarak vazodilatasyon meydana gelir, AT II ve arjinin- vazopresinin kardiyak fonksiyonlarının inhibe edilmesi yoluyla da olumsuz etkilerin ortadan kaldırılmasını sağlar (26). Natriüretik peptidler afferent renal arteriyolde vazodilatasyona neden olurken efferent renal arteriyolde vazokonstriksiyona neden olur. Böylece GFR'yi artırırken toplayıcı kanallardan cGMP vasıtasıyla Na reabsorbsiyonunu azaltır ve natriürezise neden olur (152). ANP ve BNP sadece olumlu etkiler ortaya çıkarmakla kalmayıp hastalığın ayırıcı tanısında, tedavisinde ve prognozunda da önemli bir yol göstericidir (153).

2.14. Yönetim

2.14.1. Genel Hususlar

Yönetim, farklı hedeflere sahip ve farklı yaklaşımlar gerektiren üç aşamaya (hastane öncesi, hastanede ve taburculuk öncesi) göre ayrılabilir.

Hastane öncesi aşama

Hastane öncesi ortamda, AKY hastaları; nabız oksimetresi, kan basıncı, kalp hızı, solunum hızı ve EKG dahil olmak üzere, hastayla temastan sonraki dakikalar içinde ve mümkünse ambulansla yapılan invazif olmayan izleminden yararlanmalıdır(154). Oksijen satürasyonu <%90 ise klinik yargıya dayalı olacak şekilde oksijen tedavisi verilebilir. Solunum sıkıntısı olan hastalarda, solunum hızı >25 nefes/dk, oksijen satürasyonu <%90 ise non-invazif ventilasyon başlatılmalıdır (136).Hastane

öncesi yönetim aşamasında, AKY hastalarının en uygun tıbbi ortama hızlı transferi gerçekleştirilmelidir (155).

Hastane içi yönetim

Tedavi, AKY'nin spesifik nedenlerinin araştırılmasıyla başlar (1, 154). Bunlar arasında AKS, hipertansif acil durum, taşikardik aritmiler veya şiddetli bradikardi/iletim bozukluğu, akut kapak yetersizliği veya akut pulmoner emboli gibi akut mekanik nedenler, miyokardit dahil enfeksiyon ve tamponad bulunur (CHAMPIT). Acil olarak tedavi edilmesi/düzeltilmesi gereken bu durumların dışlanmasıyla sonra AKY'nin yönetimi klinik tablolara göre farklılık göstermektedir.

2.14.2. Oksijen Tedavisi ve/veya Solunum Desteği

AKY'de oksijen kullanımı vazokonstriksiyona ve kalp debisinde azalmaya neden olduğu için hipoksemik olmayan hastalarda rutin olarak kullanılmamalıdır (156). $SpO_2 < 90\%$ veya $PaO_2 < 60$ mmHg olan AKY hastalarında hipoksemiye düzeltmek için oksijen tedavisi önerilir. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) durumunda, hiperoksijenasyon ventilasyon-perfüzyon uyumsuzluğunu artırabilir, ventilasyonu baskılayabilir ve hiperkapniye yol açabilir. Oksijen tedavisi sırasında asit-baz dengesi ve SpO_2 izlenmelidir.

Oksijen verilmesine veya non-invazif ventilasyona rağmen ilerleyici solunum yetmezliği için entübasyon önerilir. (157).

2.14.3. Diüretikler

AKY tedavisinin temel taşı i.v. diüretiklerdir. Tuz ve suyun renal atılımını artırır ve AKY hastalarının büyük çoğunluğunda aşırı sıvı yüklenmesi ve konjesyonun tedavisinde endikedir.

Loop diüretikleri hızlı ve güçlü etkinlikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılır. Optimal dozlarını, zamanlamasını ve uygulama yöntemini tanımlayan veriler sınırlıdır. DOSE çalışmasında, düşük doz rejimine kıyasla yüksek doz rejimi ile hastaların semptomlarının genel değerlendirmesinin birincil etkililik sonuçlarında hiçbir fark gösterilmemiştir. Bununla birlikte, daha yüksek doz rejiminde dispne, kilodaki değişiklik ve net sıvı kaybında (serum kreatinin artışları için prognostik bir rol olmaksızın) daha büyük bir iyileşme sağlamıştır (158).

Yüksek diüretik dozlar daha fazla nörohormonal aktivasyona ve elektrolit anormalliklerine neden olabilir ve sıklıkla daha kötü sonuçlarla ilişkilidir, ancak bu geriye dönük analizlerle bir neden-sonuç ilişkisi kanıtlanamaz (159, 160). Bu gözlemlere dayanarak, i.v. diüretik tedavisinin düşük dozlarda başlanması ve diüretik yanıt değerlendirilerek dozu artırmak gerekir.

Hastanın klinik durumu stabil olduğunda oral tedaviye geçilmelidir. Konjesyon çözüldükten sonra, konjesyonu önlemek için oral loop diüretiklere mümkün olan en düşük dozda devam edilmesi önerilir (161). Ayrıca hastaların hastaneden sürekli konjesyon ile taburcu edilmesini önlemek için dikkatli olunmalıdır, çünkü artan ve tekrarlayan konjesyonlar mortalite ve yeniden hastaneye yatış açısından majör bir göstergedir (162). Bu nedenle, yeterli dekonjesyonun sağlanmasına ve taburculuktan önce uygun bir uzun süreli diüretik dozunun belirlenmesine özen gösterilmelidir (163).

2.14.4. Vazodilatörler

Intravenöz vazodilatörler, yani nitratlar veya nitroprussid, venöz ve arteriyel damarları genişleterek kalbe venöz dönüşün azalmasına, daha az konjesyona, dahadüşük ard yüke, artan atım hacmine ve bunun sonucunda semptomların iyileşmesine neden olur. Nitratlar esas olarak periferik damarlar üzerinde etkilidir, oysa nitroprussid daha dengeli bir arteriyel ve venöz dilatör etkiye sahiptir (164). Etki mekanizmaları nedeniyle, i.v. vazodilatörler, akut pulmoner ödeminin artmış afterload ve akciğerlere sıvı yeniden dağılımının yokluğunda veya minimal sıvı birikimi ile neden olduğu hastalarda diüretiklerden daha etkili olabilir (165). Bununla birlikte sürekli, yoğun ve tekrarlı vazodilatasyon, yüksek doz diüretiğe göre anlamlı bir farklılık göstermemiştir (166).

2.14.5. İnotropolar

Düşük kalp debisi ve hipotansiyonu olan hastaların tedavisi için inotropoları ihtiyaç vardır (Tablo 2.17). Bunlar, LV sistolik disfonksiyonu, düşük kardiyak debisi ve düşük SBP olanlarda düşük dozlardan başlayarak dikkatli bir şekilde kullanılmalı ve yakın izleme ile titrasyonları artırılmalıdır (167, 168).

İnotropolar, özellikle adrenerjik mekanizmalı olanlar, sinüs taşikardisine neden olabilir, AF'si olan hastalarda ventrikül hızını artırabilir, miyokard iskemi ve aritmilerini indükleyebilir ve mortaliteyi artırabilir (167, 168). Beta bloker alan

hastalarda bağımsız mekanizmalar yoluyla hareket ettikleri için dobutamin yerine levosimendan veya tip-3 fosfodiesteraz inhibitörleri tercih edilebilir (169). Aşırı periferik vazodilatasyon ve hipotansiyon, özellikle yüksek dozlarda uygulandığında ve/veya bolus dozla başlandığında, tip-3-fosfodiesteraz inhibitörlerinin veya levosimendanın başlıca sınırlamaları olabilir (169).

Tablo 2.1. Akut kalp yetmezliğini tedavi etmek için kullanılan inotropik ve/veya vazopresörler

İlaç	İnfüzyon hızı
Dobutamin	2-20 µg/kg/dk (beta+)
Dopamin	3-5 µg/kg/dk; inotropik (beta+) >5 µg/kg/dk: inotropik (beta+), vasopresör (alfa+)
Milrinon	0.375-0.75 µg/kg/dk
Enoksimon	5-20 µg/kg/dk
Levosimendan	0.1 µg/kg/dk, 0.05 µg/kg/dk'ye düşürülebilir veya 0.2 µg/kg/dk'ye artırılabilir.
Norepinefrin	0.2-1.0 µg/kg/dk
Epinefrin	0.05-0.5 µg/kg/dk

2.14.6. Vazopresörler

AKY tedavisinde kullanılan vazopresörler Tablo 2.17'de rapor edilmiştir.

Şiddetli hipotansiyonu olan hastalarda belirgin bir periferik arter vazokonstriktör etkisi olan ilaçlar arasından norepinefrin tercih edilebilir. Amaç hayati organlara perfüzyonu artırmaktır. Ancak bu, sol ventrikül art yükünde bir artışa neden olur. Bu nedenle, özellikle ileri KY ve kardiyojenik şoku olan hastalarda norepinefrin ve inotropik ajanların bir kombinasyonu düşünülebilir.

2.14.7. Opiyatlar

Opiyatlar dispne ve anksiyeteyi giderir. Hastanın uyumunu iyileştirmek için invazif olmayan pozitif basınçlı ventilasyon sırasında sedatif ajan olarak kullanılabilir. Doza bağlı yan etkiler arasında bulantı, hipotansiyon, bradikardi ve solunum depresyonunu yer alır. Retrospektif analizler, morfin uygulamasının daha sık mekanik ventilasyon, daha uzun hastanede yatış, daha fazla yoğun bakım ünitesine yatış ve artan mortalite ile ilişkili olduğunu göstermektedir (170, 171). Bu nedenle, AKY'de

opiyatların rutin kullanımı önerilmemektedir ve şiddetli/inatçı ağrı veya anksiyete durumunda veya palyasyon durumunda kullanılması önerilmektedir.

2.14.8. Digoksin

Beta blokerlere rağmen ventriküler taşikardisi olan (>110 atım/dk) AF hastalarında digoksin düşünülmelidir (94). Daha önce kullanılmamışsa 0.25-0.5 mg i.v. boluslarda verilebilir. Bununla birlikte, eşlik eden hastalıkları (yani KBH) veya digoksin metabolizmasını etkileyen diğer faktörleri ve/veya yaşlılarda, idame dozunun teorik olarak tahmin edilmesi zor olabilir ve serum digoksin konsantrasyonlarının ölçümleri yapılmalıdır. Digoksin, digoksine potansiyel bir alternatiftir ve şu anda randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada değerlendirilmektedir (ClinicalTrials.gov: NCT03783429) (98).

2.14.9. Tromboembolizm Profilaksisi

Kontrendike olmadıkça veya gereksiz olmadıkça (oral antikoagülanlarla mevcut tedavi nedeniyle) heparin veya başka bir antikoagülan ile tromboembolizm profilaksisi önerilir (172).

2.14.10. Kısa Süreli Mekanik Dolaşım Desteği

Kardiyojenik şok ile başvuran hastalarda, kalp debisini artırmak ve son organ perfüzyonunu desteklemek için kısa süreli MCS gerekli olabilir. 450-452 Kardiyak debi, kan basıncı ve arteriyel laktattaki ilk gelişmeler, önemli komplikasyonlarla dengelenebilir. Sonuçlarla ilgili yüksek kaliteli kanıtlar yetersiz kalmaktadır (173). Yakın zamanda yapılan araştırmalar, erken MCS implantı için önceden tanımlanmış algoritmaları kullanan ve yakın izleme (invazif hemodinamik, laktat, son organ hasarı belirteçleri) kullanan “standartlaştırılmış ekip tabanlı bir yaklaşımın” potansiyel olarak daha iyi sağkalıma dönüşebileceğini göstermektedir (174).

2.15. Dokсорubisin

2.15.1. Genel Özellikleri

Dox antrasiklin yapıda bir antibiyotik olup kimyasal formülü $C_{27}H_{29}NO_{11}$ şeklindedir. Geniş spektrumlu bir kemoterapötik ajan olması nedeniyle birçok malignitede terapötik amaçlı uzun zamandır kullanılmaktadır (11). Geniş terapötik kullanıma sahip olmasına karşın sitotoksik etkileri de bulunmaktadır. En çok

kardiyotoksisite ve hepatotoksisiteye neden olmaktadır (175). Dox genel olarak 21-28 günlük intervallerde 60-75 mg/m² vücut yüzey alanı dozlarında i.v. yoldan kullanılmaktadır. Vücut yüzey alanı ve karaciğer fonksiyon durumuna göre doz değişikliği ihtiyacı duyulmaktadır. Yaygın bir şekilde ortaya çıkan yan tesirleri arasında kemik iliği supresyonu, bulantı, kusma, mukozit, diyare, baş ağrısı, baş dönmesi, konfüzyon, nöropati, alopesi, deri döküntüsü ve ateş yer almaktadır. Dox tedavisinin uzun süreli veya yüksek dozda kullanılması kardiyotoksisite ve hepatotoksisiteye de neden olur. Bu durumlar ilaç dozunun kısıtlanmasına neden olmaktadır. Ayrıca uygulama esnasında ilacın ekstrasvasküler dokuya geçmesi de lokal ciddi doku hasarına neden olmaktadır. Klinik çalışmalardan elde edilen verilere göre terapötik amaçlı Dox kullanan hastalarda ilacın kümülatif etkisine bağlı olarak ikincil malignitelere neden olduğu gösterilmiştir (175).

Ek olarak Dox kullanımına bağlı olarak kardiyotoksisite, hepatotoksisite, nefrotoksisite ve kemik iliği toksisitesinin geliştiğini gösteren çeşitli deneysel modeller de bulunmaktadır (176, 177).

2.15.3. Farmakokinetiği

Dox gastrointestinal sistemde aktivite gösteremez, absorpsiyonu da çok kısıtlıdır ve uygulandığı dokuda ekstrasvazyona neden olarak lokal doku nekrozunu tetikleyebilir. Bu nedenle Dox i.v. yoldan uygulanır. Dox'un gastrointestinal yoldan absorbe edilmemesi ve uygulandığı dokularda nekroza yol açması nedeniyle sadece i.v. olarak uygulanır. Uygulandıktan kısa bir süre sonra CYP3A4 gibi karaciğer mikrozomal enzimleriyle doksorubisinol (majör metabolitidir), doksorubisinon ve 7-deoksidoskorubisinona dönüşecek şekilde metabolize olur. Bu metabolitler ana bileşiğe göre daha az aktiftirler. Ayrıca bu metabolizma sırasında oksidatif stresi artıracak çeşitli semikinon radikalleri de üretilmektedir (178).

Metabolizma aşamasında farklı dokuda farklı reaksiyonlar görev almaktadır. Karaciğerde karbonil redüktaz 1 (CBR1) enzimi daha aktif olmasına karşın kalpteki metabolizması esnasında aldo-keto redüktaz 1a (AKR1A) enzimi daha fazla rol almaktadır (179).

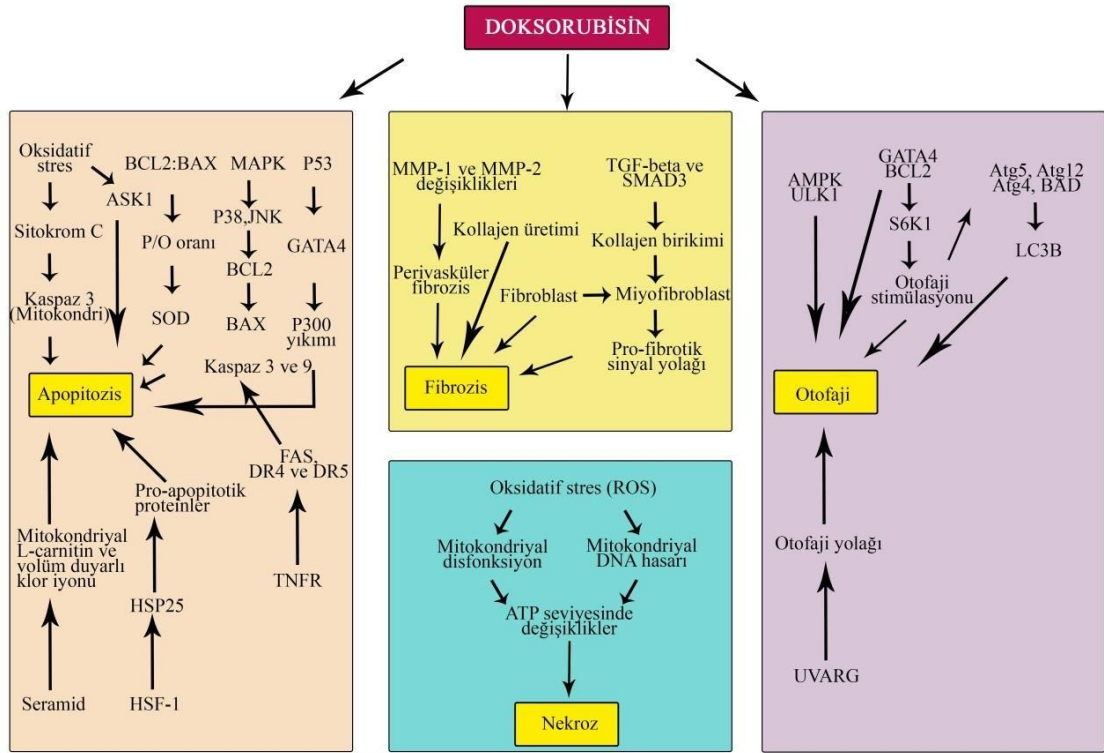
Metabolizması kısa olmasına rağmen vücuttaki dağılımı ve etki süresi uzundur. Dox, %75 oranında plazma proteinlerine bağlı bir şekilde bulunur. Göreceli olarak tümör dokusunda daha fazla birikir (180). Ancak kan beyin bariyerini geçemez (181).

En önemli eliminasyon yolu karaciğerden safra yoluyla olmasına karşın metabolitlerin yaklaşık %3-10'u renal yoldan, %40-50'si de feçesle dışarı atılır (182). Ek olarak Dox'un yaklaşık yarısı değişmeden vücuttan atılır (183). Bu sebeple renal ve karaciğer problemi olması durumunda dikkatli kullanılmalı ve mutlaka gerekli doz ayarlaması yapılmalıdır (184).

2.15.4. Etki Mekanizması

Fizyolojik Ph'da pozitif yüklü olup planar yapıdadır. Bu nedenle DNA çift sarmalı arasına girer ve yapısında çeşitli değişikliklere neden olur. Burada DNA ve RNA polimeraz ile etkileşimde bulunarak transkripsiyon esnasında DNA'nın sarmal yapısının açılmasında rol alan topoizomeraz II enziminin hareketini önler. Bu etkiyi topoizomeraz-DNA kompleksini stabilize ederek DNA ikili sarmal yapısının tekrar birleşmesini engelleyerek DNA replikasyonunu inhibe eder (17, 185). Dox, DNA'da guanin-sitozin baz çiftleri içeren bölgeye bağlanarak Dox-DNA kompleks oluşturur ve DNA'nın tekrar kapanmasına engel olur. Bu durum DNA'da hasara neden olacak mekanizmaların aktive olmasını sağlar. Dox sadece nükleer DNA değil aynı zamanda mitokondriyal DNA üzerinde de bu etkileri gösterir (11).

Ayrıca topoizomeraz II'nin inhibisyonu DNA'da kırıklar oluşturur ve apoptozisin aktive olmasına neden olur (186). Dox'un yapısındaki kinon NADPH oksido redüktaz aracılığı ile semikinon radikale dönüşür. Oluşan semikinon radikalleri hızla oksijenle reaksiyona girerek DNA hasarına neden olan süperoksit ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olur. Ayrıca Dox bir demir şelatörüdür ve Dox-demir kompleksi, hidrojen peroksite reaktif hidroksil radikallerine dönüşümünü katalize eder. Böylece, Dox aracılığıyla serbest radikallerin salınımı DNA hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanan oksidatif strese de neden olabilir. Ayrıca hücre membranına da etki göstererek hücre membranının yapısını bozar, membranın iyon dengesinin bozulmasına neden olur ve böylelikle serbest radikal üretilmesi ve dolayısıyla lipid peroksidasyonu ile hücre hasarına yol açar (186). Dox tedavisi serbest radikal oluşumu ve oksidatif metabolizma artışına ek olarak seramid seviyesini de artırır (11). Böylece sonuç olarak S ve G2 fazında etki ederek tümör hücresinin replikasyonunu önleyerek antitümoral etki meydana getirir (11). Tüm bu etki mekanizmaları ve özellikler Dox'u güçlü bir kemoterapötik ilaç yaparken aynı zamanda birçok yan tesiri de beraberinde meydana getirmektedir (Şekil 2.3) (187)



Şekil 2.4. Dox kardiyotoksiste mekanizmaları

2.15.5. Yan Tesirleri

Dox kullanımına bağlı birçok yan tesir ortaya çıkmaktadır. Bu yan tesirler akut, subakut veya kronik süreçte ortaya çıkmaktadır. En sık gözlenen yan tesirleri arasında kemik iliği supresyonu, alopesi, mukozit, bulantı-kusma ve diyare yer alır. Ayrıca anoreksi, ülser, azospermi, amenore, halüsinasyonlar, vertigo, baş dönmesi de gözlenmektedir. Miyelosupresyon sonucu nötropeni, trombositopeni ve anemi de görülebilir. Ayrıca ilaca karşı aşırı duyarlılık sonucu ateş, ürtiker, döküntü de gelişebilir (188). Dox kullanımına bağlı olarak uygulama bölgesinde lokal nekroz da meydana gelebilmektedir. Buna ek olarak selülit, vezikül, tromboflebit, lenfanjit ve fleboskleroza da neden olabilir (189).

Dox kullanımına bağlı gelişen en önemli toksisite kardiyotoksiste olup bu yan tesir doz sınırlayıcıdır. Bu yan tesir sadece akut dönemde olmayıp subakut ve kronik dönemde de görülebilir. Akut süreçte genellikle reversibil etkiye sahip hipotansiyon, kardiyak ritim bozukluğu ve kalbin fonksiyonel yapısında bozulmalar ortaya çıkmaktadır (190). Subakut dönemde de irreversibil etkiye sahip kardiyomiyopatilere de neden olmaktadır. Kronik dönemde ise ilaç kullanımından yaklaşık 4-20 yıl sonra

kardiyotoksisite meydana gelmektedir ve ciddi düzeyde KY'nin gelişmesine neden olmaktadır (191).

Dox aynı zamanda nefrotoksisiteye de neden olmaktadır ve süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon gibi antioksidan düzeylerini azaltarak akut renal yetmezliği tetiklemektedir (192).

Genel olarak Dox toksisitesinden sorumlu olan temel mekanizma serbest radikal ve lipid peroksidasyon düzeyinin artmasına karşılık göreceli olarak antioksidandüzeyinde azalmanın gerçekleşmesidir (19).

2.16. Apelin Moleküler Yapısı ve Özellikleri

Apelin *Tatemato ve ark.* tarafından 1998'de sığır mide özsuyundan izole edilen nöropeptid olup aynı zamanda kardiyovasküler bir peptiddir (193). İlk olarak 1993 yılında reseptörü tanımlandıktan sonra 1998 yılında reseptörün endojen ligandı olarak apelin molekülü izole edilmiştir (194). Apelin geni Xq25-26.1 kromozomu üzerinde yer alır (195). Apelin 77 aminoasitlik bir preproapelininden sentezlenir ve enzimatik reaksiyonla yıkımlanarak önce 55 aminoasitli proapelin molekülü meydana gelir. Daha sonra da posttranslasyonel modifikasyonlarla apelin-13, apelin-17 gibi değişik yapılara dönüşür. Bunlardan apelin-13 formu, postranslasyonel modifikasyona uğrayarak, N- terminal pozisyonundaki glutaminin piroglütamine dönüşmesi ile piroglutamatlanmış apelin-13'ü (Pyr (I) apelin-13) oluşturabilmektedir (196).

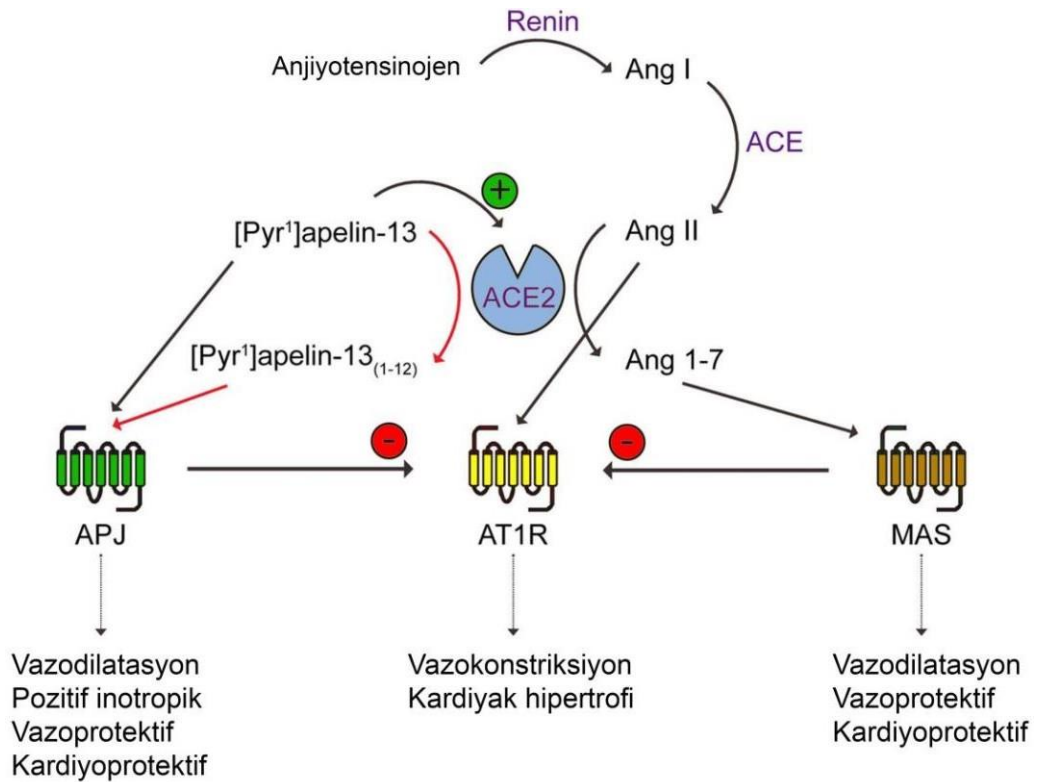
Değişik formda bulunan apelinin etkileri de çeşitli farklılıklar göstermektedir. Apelin-13 ve 17, 36 aminoasit içeren apelin formundan daha güçlü bir biyolojik aktivite göstermektedir (193). Kıyaslama açısından apelin-13 apelin-17'ye göre 8 kat, apelin-36'ya göre de 60 kat daha fazla etkilidir (197). Apelin-13'ün daha fazla biyolojik aktivite göstermesi sebebiyle araştırmaların büyük bir kısmı bu ajan üzerinde yapılmıştır. Ancak apelin-36'nın apelin reseptörü (APJ)'ye bağlanma afinitesi apelin 13'e göre daha fazladır (198). Yapılan çalışmalar sonucunda plazmadaki temel apelin formları apelin-13, apelin-17 ve apelin-36'dır (199). Apelin izoform düzeyleri dokulara göre değişiklikler göstermektedir (198). Örneğin apelin-36 akciğer, testis ve uterus dokusunda görece olarak daha fazla bulunmasına karşın apelin-13 de meme dokusunda daha fazla bulunmaktadır (198). Aynı şekilde apelin-17 de rat kalp dokusunda diğer dokulara kıyasla daha fazla bulunurken plazmada daha az bulunmaktadır (198). Apelinin plazma konsantrasyon seviyesi diğer dokulara kıyasla daha azdır. Bu durum

apelinin sadece hormon olmayıp nörotransmitter olarak da parakrin bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir (200). İnsan plazmasındaki apelin konsantrasyonu 208-466 pg/ml arasında olup yarı ömrü de yaklaşık 8 dk'dır (201).

Apelin ve reseptörü başta kardiyovasküler sistem olmak üzere, böbrek, karaciğer, akciğer, yağ dokusu, dalak, timus, prostat, testis, ovaryum, bağırsak ve memebezi gibi birçok periferik dokuda hipokampus, serebellum, striatum ve hipotalamus gibi merkezi sinir sisteminde tespit edilmiştir (202).

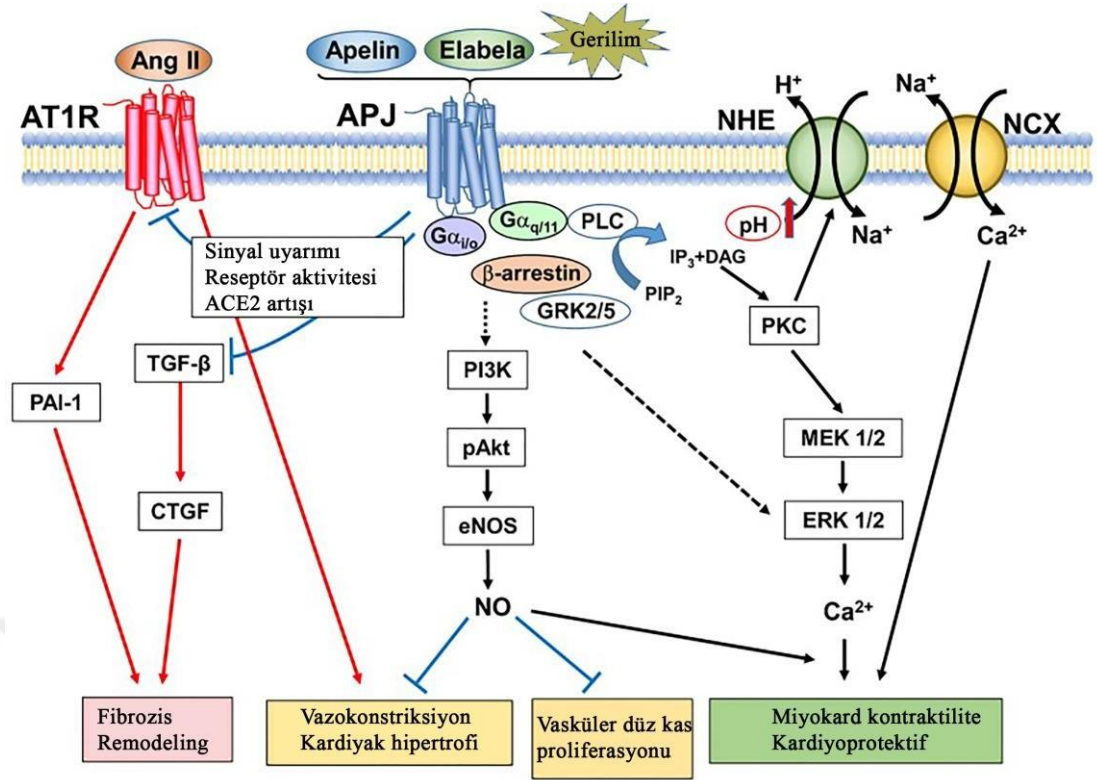
Apelin ve APJ birçok dokuda lokalizasyona sahip olması nedeniyle çoğu çalışmada genel bir tanımlama sağlanması açısından "apelinerjik sistem" ifadesi kullanılmaktadır (203).

APLNR yapısal açıdan yaklaşık %54 oranında anjiyotensin II tip 1 (AT1) reseptörüne benzemekle birlikte benzer bir doku ekspresyonu da göstermektedir. Bu nedenle homolog oldukları düşünülmüştür (204). Buna karşın yapılan çalışmalar sonucunda apelinin AT1 reseptörüne bağlanarak etki göstermediği ve anjiyotensin II'nin de APJ reseptörü üzerinde herhangi bir etkileşime girmediği tespit edilmiştir. Ayrıca apelin/APJ bağı reversibil/iki taraflı, doyurulabilir ve tek bağlanma bölgesine özel yapıdadır (Şekil 2.4) (205, 206).



Şekil 2.5. Apelinin etki mekanizması

Apelin G-proteininin $G\alpha$ altbirimine bağlanır. $G\alpha$ 'nın subfamilyal üyeleri $G\alpha_s$, $G\alpha_i/o$, $G\alpha_q/11$ ve $G\alpha_{12/13}$ 'tür. Her bir alt grup üyenin aktive olması sonucunda çeşitli hücrel fonksiyonlar meydana gelir. $G\alpha_s$ adenilat siklaz (AC) aktivasyonuna, $G\alpha_i/o$ adenilat siklaz (AC) inhibisyonuna, $G\alpha_q/11$ fosfolipaz C- β (PLC- β) aktivasyonu sonucu da sitozoldeki kalsiyum artışına, $G\alpha_{12/13}$ ise aktin sitoskeletonun düzenlenmesinde görev alan Rho GTPazların aktivasyonuna neden olur (207). Apelin ve APLNR/APJ uyarılması sonucunda farklı dokuda farklı görevlerin düzenlenmesini ve fizyolojik süreçlerin gerçekleşmesini sağlar. Örneğin insanda umbilikal ven endotel hücresinde apelin $G\alpha_i$ 'ye bağlanmaktadır (208). $G\alpha_i$ üzerinden adenilat siklazın inhibe olmasına neden olur ve cAMP düzeyi azalır. Bunun sonucunda protein kinaz A (PKA) inhibisyonuyla sonuçlanır. Ek olarak $G\alpha_i$, serin/threonin kinaz (Protein Kinaz B/PKB)'nin aktivasyona neden olarak fosfoinozitol 3 kinaz (PI3K)'ın uyarılmasını sağlar. Ayrıca direkt olarak protein kinaz C (PKC)'yi aktive ederek mitojenik ERK (ekstrasellüler sinyalle düzenlenmiş kinaz) yolak aktivasyonu da sonuçlanabilir (203). Apelin $G\alpha_q/11$ 'e bağlanırsa, fosfolipaz C'nin aktivasyonuna neden olur. Bu aktivasyon fosfatidilinositol 4,5-bifosfat (PIP2)'in, inozitol 1,4,5 trifosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG)'e dönüşümünü uyarır. DAG, Ras aktivatörü olan PKC'yi uyarır. Aktive olan Ras da JNK aktivasyonu ile sonuçlanan transkripsiyon faktörleri olan SP-1 ve c JUN'u aktifler veya Raf-1'in MAPK kaskadı ile c-Jun gibi çok sayıda transkripsiyon faktörünü aktifler. Apelinin ortaya çıkardığı bir diğer etki de vazodilatasyona neden olmasıdır. Bu etkiyi de hücre içi Ca^{+2} ve kalmodulin kompleks düzeyinin artışı sonucu aktive olan nitrik oksid sentaz (NOS) aracılığıyla gerçekleştirir (Şekil 2.5) (209).



Şekil 2.6. Apelinin hücre içerisinde yaptığı etkilerin genel görünümü

Apelin/APJ vücutta kardiyovasküler sistem, hipofiz-hipotalamuz fonksiyonu, homeostatik denge, immün sistem, endokrin sistem dahil bir çok önemli fizyolojik ve patolojik süreçlerde de görev almaktadır (202).

Apelin ve APJ reseptörleri arter, ven ve damar endoteli, vasküler düz kas dokusu ve kardiyomiyositlerde tespit edilmiştir (198). Apelinin kardiyovasküler sistem üzerindeki fizyopatolojik görevlerinin araştırılması için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda apelinin kardiyovasküler sistem regülasyonunda görev alabileceği düşünülmüştür (210). Yapılan çalışmalar sonucunda apelin ile kardiyovasküler sistem arasında bir ilişki saptanmış ve apelin uygulamasının prelinik çalışmalarda hayvanlardaki hem kalp hızını hem de de kardiyak kontraktileti artırdığı gösterilmiştir (211). Ancak fareler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda infüzyonla apelin uygulamasının kan basıncında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (212). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada da infüzyon yoluyla apelin verilmesinin vazodilatasyon sonucu hipotansiyona neden olduğu gösterilmiştir (200). Apelinin damar üzerindeki bu etkisini NO bağımlı mekanizmalar ile meydana getirdiği gösterilmiştir (213). *Tatemoto* ve *ark.*'lerinin yaptığı bir başka çalışmada da NO bağımlı bir yolak üzerinden apelinin sistolik, diastolik ve ortalama kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir

(214). Bir başka çalışmada da i.v. ve intraserebroventriküler yoldan apelin uygulamasının etkileri araştırılmış; intraserebroventriküler enjeksiyon ile apelin uygulandığında hemodinamik parametrelerde bir değişikliğe neden olmadığı ancak apelin-13'ün i.v. yoldan uygulandığında kronotropik etkiyi artırdığı ve ortalama kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir (215). NOS inhibitörü eklendiğinde ise bu etki ortadan kaldırılmıştır (214). Apelinerjik sistemin normal endotel dokusuna sahip damarlarda oluşturduğu bu vazodilatasyon Protein Kinaz B aktivasyonu üzerinden gerçekleştirmektedir. Aktivasyonu sonrasında NOS enzimi fosforillenir ve NO sentezlenir, böylece endotel altındaki vasküler düz kas hücrelerinde cGMP artışı sağlayarak vazodilatasyon gerçekleşir (197). Apelinin bu etkilerini normal damarda gösterirken disfonksiyonel endotelde ise Gi bağımlı mekanizmalar üzerinden vazokonstrüksiyona neden olduğu sonradan yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (216). Tüm bu etkiler incelendiğinde apelinin düşük dozlarda arteriyel basıncı çok fazla etkilemediği ancak doz artırıldığında bifazik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Yani ilk başta hipertansiyon daha sonra da hipotansiyona neden olmaktadır (197). Apelin izole insan ve fare kalp dokusunda tanımlanan en güçlü inotropik ajanlardan biridir (217). Fareler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda apelinin hemodinamik parametreleri etkilediği, kardiyak hipertrofiye neden olmaksızın LV önyük ve ard yükünü düşürerek kronik süreçte kardiyak outputu artırdığı tespit edilmiştir (218). Apelin-APJ geni eksik fareler üzerinde yapılan çalışmalarda anjiyotensin II'nin neden olduğu vazopressör etkinin arttığı gösterilmiştir. Ancak farelerde normal kan basıncı düzeyleri izlenmektedir (213).

Genel olarak bakıldığında apelin/APJ sisteminin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri ile anjiyotensin II/AT1 arasında bir antagonizma olduğu gösterilmiştir. Yani anjiyotensin II/AT reseptörü kan basıncını artırırken apelin tam tersi bir etki göstermektedir. Ayrıca anjiyotensin II/AT1 LV'de fibrozis ve hipertrofiyi uyarırken apelinin bu etkiyi göstermeksizin kardiyak outputu artırdığı tespit edilmiştir (219).

KY durumunda erken dönemde apelin düzeyi plazmada artarken ilerleyen süreçte normale gelip daha sonra azalma eğilimindedir (220). Bu durum da apelinin KY'nin erken dönemlerinde koruyucu bir mekanizma olarak görev yaptığını ve kardiyak kontraksiyonu artırmak için apelin düzeyinin arttığını göstermektedir. Ancak ilerleyen süreçte kardiyak oksijen ihtiyacının artması sonucunda apelin ve reseptörünün

down regülasyona uğradığını düşündürmektedir (221). KY patogenezi ile apelin-APJ sistemi arasındaki veriler her ne kadar çelişkili veya karışık olsa da mevcut verilere göre apelin düzeyi ve reseptör durumu KY’de down regüle olurken LV remodelinginde upregüle olmaktadır (222). Ayrıca bu bağlantı klinik açıdan netlik kazanmamış olup KY’nin prognoz tahminindeki rolü de tam olarak aydınlatılamamıştır (223). Apelinin kardiyovasküler sistemdeki bir diğer önemli görevi de MI sonrası miyokardı iskemiden korumak amaçlı anjiyogenezisi indüklemesidir. Bunu VEGF, VEGF reseptör-2 ve NOS ekspresyonunu artırarak gerçekleştirdiği çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir (224). Ayrıca apelin-APJ sisteminin endotel dokusundaki oksidatif sistemde ve koroner aterosklerotik plak formasyonunda da önemli rollerinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hiperlipidemik hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda apelin uygulamasının anjiyotensinojen II tarafından indüklenen ateroskerozun engellendiği gösterilmiştir (225). Apelin ile aort anevrizması arasındaki ilişkiyi inceleyen ve fareler üzerinde yapılan bir çalışmada da apelin uygulamasının dokudaki makrofajları inhibe ederek inflamasyonu azattığı ve böylece aort anevrizması oluşumunu önlediği gösterilmiştir (226).

Sonuç olarak apelinin ateroskerozu önlediği, KY’yi azalttığı, makrofaj inflamasyonunu bastırdığı, sistolik, diyastolik ve ortalama kan basıncını azalttığı gösterilmiştir. Ancak bu etkilerin hangi mekanizmalar ile gerçekleştiği henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.17. Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi

RAAS, vücutta kan basıncının düzenlenmesinde görev alan temel nöro hormonal bir sistemdir. Renal arter basıncın düşmesine bağlı olarak jukstaglomerular hücrelerde prorenin renine dönüşür. Renin, anjiyotensinojenin anjiyotensine dönüşümüne neden olur. Daha sonra Anjiyotensin I de ACE enzimi aracılığıyla anjiyotensin II’ye dönüşür. Anjiyotensin II AT1 reseptörünü aktive ederek vazokonstriksiyon, endotel hasarı, proinflammatuar ve profibrotik genlerin ifadenmesinde artış, hipertrofi ve apoptoziste artış, Na ve su tutulumu ile artmış sempatik sinir aktivitesi ve oksidatif strese neden olur (227). Bu nedenle AT1R aracılı ortaya çıkan metabolik etkiler hem kardiyovasküler hem de renal patofizyolojik değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (228). Buna karşılık anjiyotensin II’nin AT2R’ye bağlanması sonrasında ise vazodilatör, natriüretik, antifibrotik, antiproliferatif ve antiinflammatuar etkiler

meydana gelir. Haliyle AT1R tarafından meydana gelen olumsuz değişkliklerin önlenmesini sağlar (229). Tüm bu nedenlerden dolayı RAAS'ı hedef alan ACEI ve ARB gibi ilaçlar klinikte yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (227). RAAS başta kardiyovasküler ve renal sistem olmak üzere birçok doku ve sistem çok sayıda hastalığın patofizyolojik sürecinde yer almaktadır. Bu hastalıklar arasında hipertansiyon, ateroskleroz, böbrek yetmezliği, KY yer almaktadır (228).

2.18. Natriüretik Sistem

KY patofizyolojisinde sadece RAAS değil aynı zamanda NP sistemi de büyük bir rol oynamaktadır. KY'nin ilk başlarında koruyucu mekanizma olarak görev alan RAAS ilerleyen süreçte semptomların kötüleşmesine neden olmaktadır. Ancak NP sisteminin KY'nin olumlu etkileri bulunmaktadır (230). NP'ler ANP, BNP, C tipi natriüretik peptid (CNP), dendroaspis natriüretik peptid (DNP) ve ürodilatin olmak üzere beş alt tipte bulunur (231).

KVH patofizyolojisinde koruyucu mekanizma olarak görev alanlar ise ANP, BNP ve CNP'dir (232). ANP ve BNP fizyolojik şartlarda atriyumda bulunurken (233), volüm artışı sonucunda ANP ve BNP sırasıyla atriyum ve ventriküldeki kardiyomiyositlerde sentezlenir (234). CNP ise yoğunlukla beyinde bulunmakla birlikte (230) kalp dokusunda da sentezlenmektedir (232). ANP ve BNP metabolik etkilerini natriüretik peptid reseptör (NPR)-A'ya bağlanarak gösterirken CNP de NPR-B'ye bağlanarak gösterir (234).

KY durumunda artan volümün tetiklediği kardiyak stres sonucunda dolaşımdaki BNP miktarı artar (235). Hem ANP hem de BNP, NPR-A'ya bağlandığında guanilat siklaz yolağı uyarılır ve cGMP miktarı artar. Bu da PKG yolağı ile kardiyovasküler sistem üzerinde metabolik etkiler ortaya çıkarır (234). Bu etkiler sonucunda vazodilatasyon, diürez, natriürez ve RAAS'de inhibisyon gözlenir. Haliyle kardiyak ön yük ve ard yükte azalmaya neden olur (230).

Ayrıca NP'ler kardiyak remodelingte de olumlu gelişmelere neden olur ve antiproliferatif, antimitojenik, pozitif lusitropik etkilerin meydana gelmesini sağlar (236). KY'de koruyucu olarak görev yapan BNP düzeyi kalp yetmezliği hastalığının tanı ve prognostik değeri olarak ölçülmektedir (237). Hastalığın erken döneminde artan BNP ilerleyen süreçte azalmakta veya direnç gelişmektedir (236). KY'de artan volüm/basınç nedeniyle ventriküllerde pre-proBNP sentezlenmesi uyarılır. Daha sonra

pre-proBNP'den proBNP1-108 peptidi sentezlenir. Ardından aktif form olan BNP1-32 ile inaktif form olan amino terminal fragmana (NT-proBNP) dönüşür (232).

NT-proBNP'nin yarılanma ömrü 1-2 saat olmasına karşın BNP'nin yarılanma ömrü yaklaşık 20 dk'dır. Bu durum NT-proBNP'nin daha yüksek konsantrasyonda olmasına ve daha az dalgalanma göstermesine neden olmaktadır (232). Ayrıca BNP'nin tam tersine NT-proBNP, nötral endopeptidaz (NEP) tarafından yıkılmamaktadır. Bu da KY'nin takibinden NT-proBNP seviyesinin daha değerli olduğunu göstermektedir (232). Ayrıca KY'de LCZ696'nın etkinliği değerlendirilirken NT-proBNP seviyesinin ölçülmesi önerilmektedir (234).

2.19. Sakubitril/valsartan

SV, KY tedavisi için onaylanmış sınıfının ilk anjiyotensin reseptör neprilisin inhibitörüdür. Molekül sayımına göre 1:1 karışım halinde neprilisin inhibitörü "sakubitril" ve anjiyotensin reseptör blokleri "valsartan"dan oluşur. Kombinasyon bu nedenle bir "anjiyotensin reseptörü-neprilisin inhibitörü" olarak pazarlanmaktadır (238).

FDA, PARADIGM-HF sonuçlarına göre NYHA sınıf II-IV KY semptomları ve HFrEF'si olan hastaların tedavisi için Temmuz 2015'te SV kombinasyonunu onaylamıştır (238, 239).

2.19.1. Etki Mekanizması

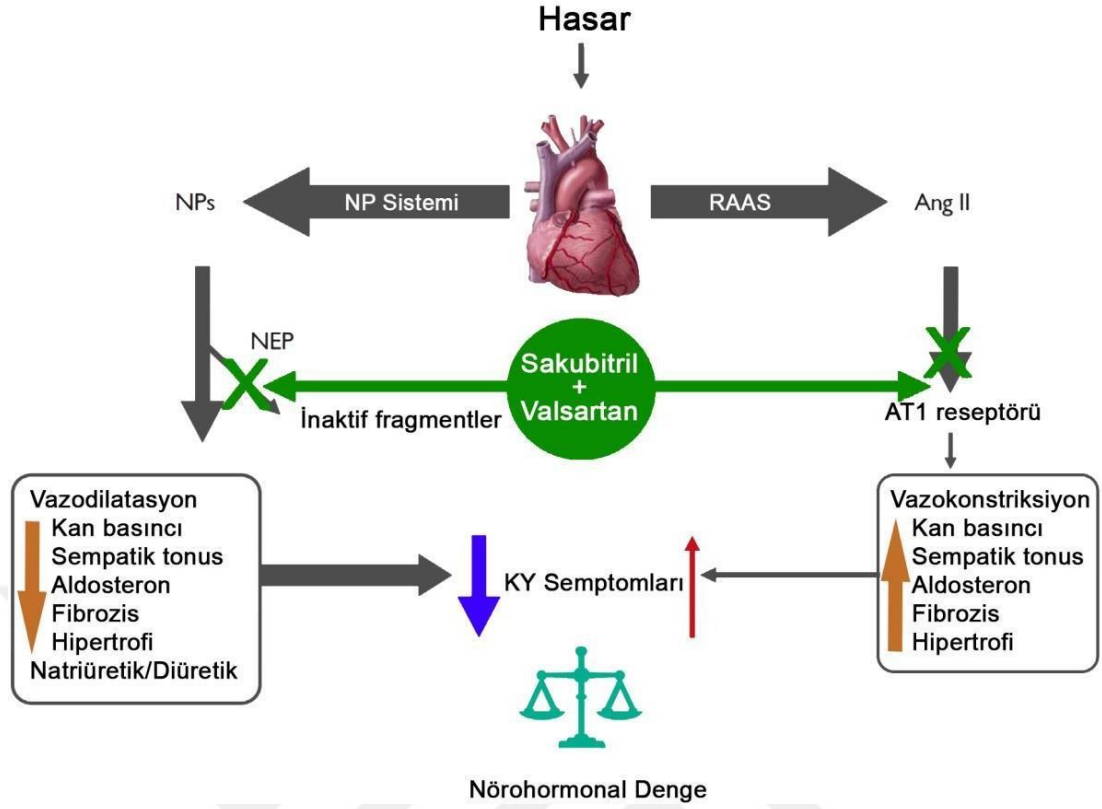
Membran metallo-endopeptidaz (MME), NEP, farklılaşma kümesi 10 (CD10) ve yaygın akut lenfoblastik lösemi antijeni (CALLA) olarak da bilinen neprilisin, insanlarda MME geni tarafından kodlanan bir enzimdir. Birçok dokuda, özellikle böbrekte proksimal tübüllerin fırça kenarında ve glomerüler epitelde bulunur. Neprilisin ANP, BNP ve CNP dahil biyolojik olarak aktif NP'lerin yıkılmasına neden olur.

NP'ler; anjiyotensin 2, endotelin 1, adrenomedullin, opioidler ve amiloid- β peptid ($A\beta$) dahil olmak üzere çoklu vazoaktif peptidlerin parçalanması için temelenzimidir. Hidrofobik kalıntıların amino tarafındaki peptidleri parçalar ve glukagon, enkefalinler, P maddesi, nörotensin, oksitosin ve bradikinin dahil olmak üzere çeşitli peptid hormonları inaktive eder (240).

Neprilisin inhibitörü olan sakubitril (AHU-377), esterazlar yoluyla deetilasyon yoluyla aktif metabolit 'sakubitrilat'a (LBQ657) aktive edilen bir ön ilaçtır. Böylece sakubitril, sodyum atılımı yoluyla natriürezis, vazodilatasyonu sıvı volümünün

azalmasını teşvik ederek bu peptidlerin seviyelerini artırır; sonunda ön yükü ve ventriküler remodelingi azaltır (241). ANP ve BNP kardiyak volüm yükünün artması sonucunda ortaya çıkan strese bağlı olarak salınmaktadır. Böylece su-tuz dengesini sağlayarak renin ve aldosteron sistemini inhibe eder. Ayrıca aktif NP'lerin etkilerini artırarak miyokardiyal glikozin 3'5' monofosfat üretimini artırmak yoluyla miyokardiyal gevşemeyi de sağlar ve miyokardiyal hipertrofinin azalmasına katkı sağlar. Buna ek olarak diüretik, natriüretik ve vazodilatör etkileri de fibrozisin azalmasını sağlamaktadır. Neprilisin inhibisyonu NP'ler, bradikinin ve adrenomedullin dahil olmak üzere birçok endojen vazoaaktif peptidin seviyelerini yükseltir ve bu nedenle KY hastalarında faydalı etkilere sahip olabilir (Şekil 2.6) (242).

Valsartan, AT1'i seçici olarak bloke ederek ve eş zamanlı olarak anjiyotensin-II'ye bağlı aldosteron salınımını inhibe ederek anjiyotensin-II'nin etkilerini inhibe eder. AT1'in blokajı vazokonstriksiyonu, sodyum ve su tutulmasını ve miyokardiyal hipertrofiyi azaltır (243). Deneysel çalışmalarda, SV'nin deneysel MI'dan sonra anjiyotensin-II aracılı kardiyo-renal fibrozis ve kardiyak remodelingi ve işlev bozukluğunu azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca SV tarafından kardiyak fibrozis ve hipertrofi üzerinde tek başına neprilisin inhibitörü veya ARB'den daha üstün olduğu da gösterilmiştir (244). Genel olarak bakıldığında RAAS'ı inhibe eden ilaç kullanımına bağlı olarak sadece kan basıncını düşürmediği aynı zamanda KY'de yaşam süresini artırdığı, proteinürik renal yetmezliğin ilerlemesini yavaşlattığı ve KAH'da kardiyak remodelingi de azalttığı gösterilmiştir (Şekil 2.6) (242).



Şekil 2.7. SV'nin etki mekanizması

Özetle, SV'nin KY hastalarında kardiyovasküler ve renal yararları, neprilisin tarafından parçalanan artan peptid seviyelerine ve AT1 reseptörünün etkilerinin valsartan tarafından eşzamanlı inhibisyonuna atfedilir.

2.19.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler

SV kompleksi, sırasıyla 1:1:3:2,5 molar oranında sakubitril ve valsartanın anyonik formlarından, sodyum katyonlarından ve su moleküllerinden oluşur. Tek bir kompleks, 6 valsartan anyonu, 6 sakubitril anyonu, 18 sodyum katyonu ve 15 molekül sudan oluşur, sonuçta $C_{288}H_{330}N_{36}Na_{18}O_{48}.15H_2O$ moleküler formüle ve 5748.03 g/mol moleküler kütleye sahiptir (242). Madde, ince altıgen plakalardan oluşan beyaz bir tozdur. pH'ı 5- 7 arasında olup erime noktası yaklaşık 138 °C'dir (242).

2.19.3. Farmakokinetik

Absorpsiyon

Oral uygulamayı takiben SV, sırasıyla 0,5 saat, 2 saat ve 1,5 saatte piklere ulaşan sakubitril, sakubitrilat ve valsartan plazma konsantrasyonları ile ayrı bileşenlere ayrışır.

Sakubitrilin oral mutlak biyoyararlanımının yaklaşık %60 olduğu tahmin edilmektedir. Günlük 2 dozunu takiben, 3 gün içinde sakubitril, sakubitrilat ve valsartanın kararlı durum seviyelerine ulaşılır. Gıda ile uygulamanın sakubitril, sakubitrilat veya valsartan üzerinde klinik olarak anlamlı bir etkisi yoktur (242).

Dağılım

Sakubitril, sakubitrilat ve valsartan plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır (%94-97), valsartan ve sakubitrilin ortalama dağılım hacimleri sırasıyla 75 L ve 103 L civarındadır (242).

Metabolizma

Sakubitril, önemli ölçüde metabolize edilmeyen esterazlar tarafından kolaylıkla sakubitrilat'a dönüştürülür. Valsartan minimal düzeyde metabolize olur; dozun sadece yaklaşık %20'si metabolitler olarak geri kazanılır. Plazmada düşük konsantrasyonlarda (<%10) bir hidroksil metaboliti şeklinde tanımlanabilir (242).

Eliminasyon

Oral uygulamayı takiben sakubitrilin (esas olarak sakubitrilat olarak) %52-68'i ve metabolitlerinin %13'ü idrarla atılır. Sakubitril, sakubitrilat ve valsartan, sırasıyla yaklaşık 1,4 saat, 11,5 saat ve 9,9 saat ortalama eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2}$) ile plazmadan elimine edilir. Yüksek protein bağlanması nedeniyle SV'nin hemodiyaliz yoluyla sistemik dolaşımdan uzaklaştırılması olası değildir (242).

2.19.4. Farmakodinamik

HFrEF hastalarında yapılan 7 günlük valsartan kontrollü bir çalışmada, SV uygulaması valsartana göre kıyaslandığında natriürezde kalıcı olmayan önemli bir artış, idrar cGMP'sinde artış ve plazma MR-proANP ve NT-proBNP'de azalma ile sonuçlanmıştır (242). HFrEF'li hastalarda yapılan 21 günlük bir çalışmada SV, idrar ANP'sini, cGMP'yi ve plazma cGMP'sini önemli ölçüde artırmış ve plazma NT-proBNP, aldosteron ve endotelin-1 seviyesini azaltmıştır. Artmış plazma renin aktivitesi ve plazma renin konsantrasyonları ile kanıtlandığı gibi AT1 reseptörünü de bloke etmiştir (245).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları, Beslenmesi ve Grupların Oluşturulması

Araştırmaya başlamadan önce İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) Başkanlığı'ndan 2020/6-3 karar sayılı, 9747 nolu Haybis kayıt numaralı Etik Kurul onayı alındı. Çalışmamız İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmesi uygun görülmüştür (Proje No: TCD-2020-2223). Çalışma kapsamında gerekli sayıdaki ratlar İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Birimi'nden sağlandı. Ratlar uygun sıcaklık ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), nem ($60\pm 5\%$) ortamında ve 12:12 saat aydınlık/karanlık siklusundakafeslerde muhafaza edildi. Çalışmada 4 aylık 250-300 g ağırlığında toplam 50 adet *Sprague Dawley* ırkı erkek rat kullanıldı ve standart yem ile beslenildi. Ratlar aynı biyolojik/fizyolojik özelliklere sahip olup ratların ad libitum olarak beslenmesi sağlandı. Hayvanların bakımı, beslenmesi, su ihtiyaçlarının giderilmesi ve temizliklerinin sağlanarak kafes temizliğinin yapılması İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Birimi'nde görevli veteriner hekim ve görevli personeller tarafından sağlandı.

Kontrol grubunda 8, deney grubunda 12 ve diğer gruplarda 10'ar tane olmak üzere toplam 50 rat basit randomize ve tek kör yöntemle beş gruba ayrıldı. Analizlerde Web Tabanlı Numune Boyutu ve Güç Analizi Yazılımı kullanıldı ve her grupta en az 8 ratın olması gerektiği belirlendi. Gruplar ve uygulama prosedürleri aşağıda verilmiştir:

Kontrol grubu (n=8): Taşıt maddenin (mısır yağı) perioral uygulandığı grup.

Dox grubu (n=12): İki haftalık bir süre içinde 6 eşit dozda (her biri 2,5 mg/kg; kümülatif dozu 15 mg/kg) olacak şekilde ip yolla Dox verilen grup.

Apelin+Dox grubu (n=10): İki haftalık bir süre içinde 6 eşit dozda (her biri 2,5 mg/kg; kümülatif dozu 15 mg/kg) olacak şekilde ip yolla Dox ve 14 gün boyunca 20 nmol/kg/gün dozunda ip yolla apelin uygulanan grup.

SV+Dox grubu (n=10): İki haftalık bir süre içinde 6 eşit dozda (her biri 2,5 mg/kg; kümülatif dozu 15 mg/kg) olacak şekilde ip yolla Dox ve 14 gün boyunca günde 1 kez 68 mg/kg/gün (sakubitril:valsartan, 97:103) dozunda perioral yolla SV uygulanan grup.

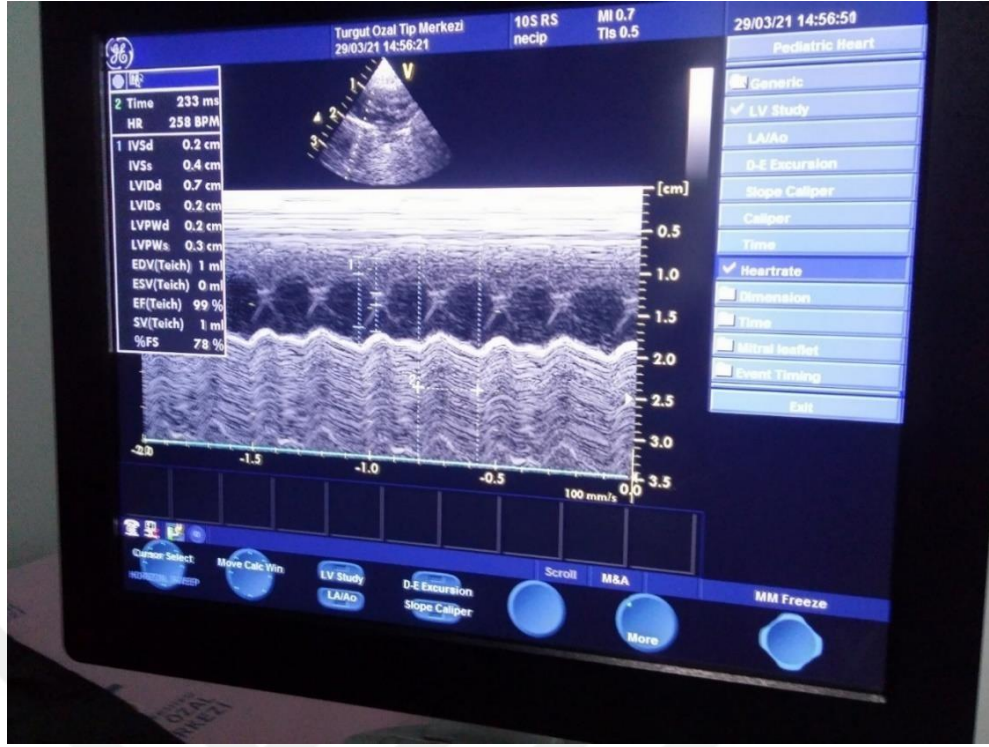
Apelin+ SV+Dox grubu (n=10): İki haftalık bir süre içinde 6 eşit dozda (her biri 2,5 mg/kg; kümülatif dozu 15 mg/kg) olacak şekilde ip yolla Dox verilen ve aynı sürede 20 nmol/kg/gün dozunda ip yolla apelin ile günde 1 kez 68 mg/kg/gün (sakubitril:valsartan, 1:1) dozunda perioral yolla SV uygulanan grup.

3.2. İlaç Uygulaması

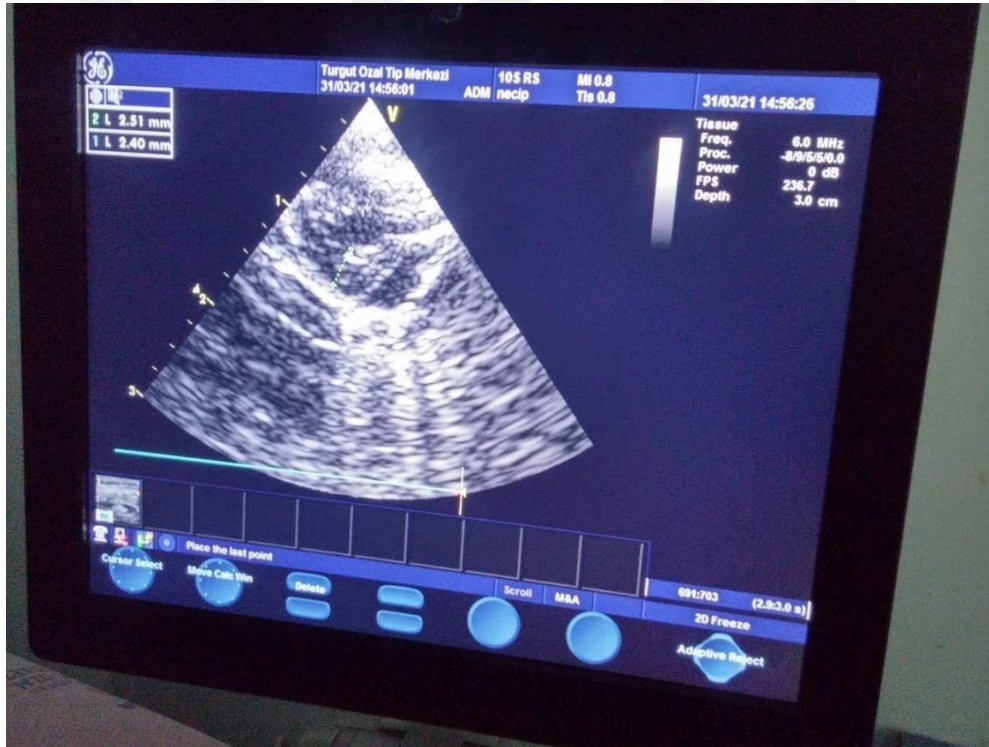
KY modelinin oluşturulması için Doksorubisin HCl (Dox) kullanıldı. Doksorubisin (Doksorubisin HCl, Koçak Farma, İstanbul, Türkiye) ve [Pyr1] -Apelin- 13 trifloroasetat tuzu (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO ABD; CAS numarası: 217082- 60- 5) için çözücü olarak %0.9 izotonik solüsyon kullanıldı. SV (Oneptus® 97 mg/103 mg 56 film kaplı tablet, Farmanova Sağlık Hizmetleri Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) için deçözücü olarak mısır yağı kullanıldı. Uygun ilaç dozlarının seçiminde güncel literatürden faydalanıldı (246-248). Kontrol grubuna da 1 ml hacimde perioral yoldan mısır yağı uygulandı.

3.3. EKO Uygulaması

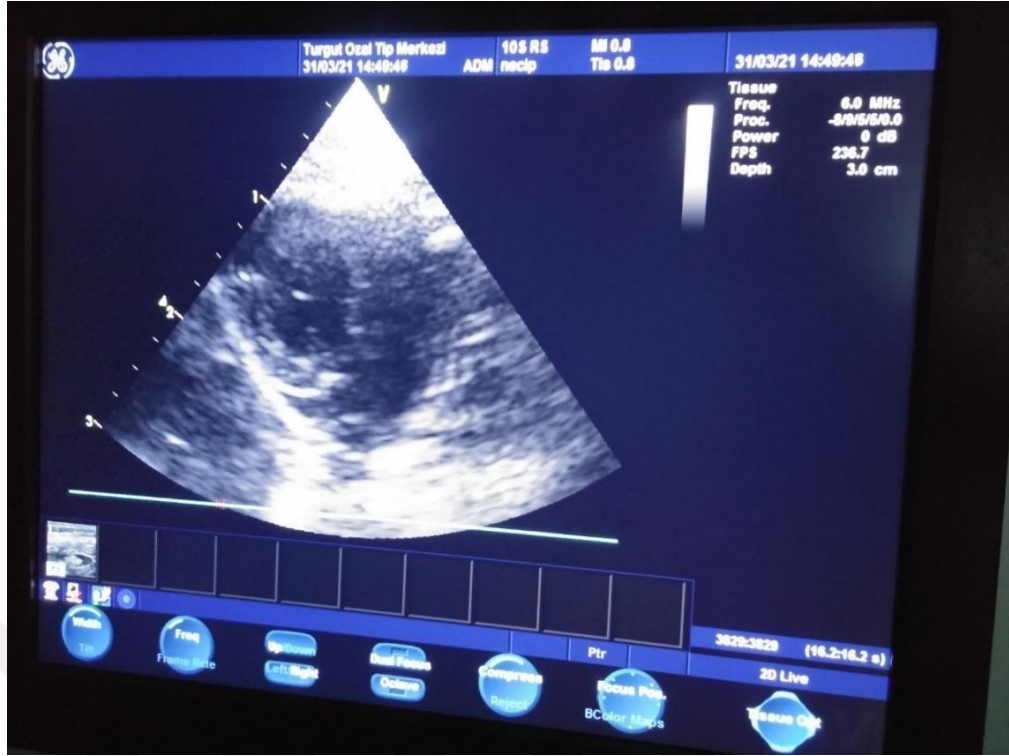
Çalışmanın sonunda deneyin sonlandırıldığı gün tüm gruptaki ratlara transtorasik EKO (TTE) ile kardiyak fonksiyon değerlendirmesi yapıldı. TTE (Vivid S6, USA, 10s prob) işlemi yapılmadan hemen önce ratlar tartıldı ve anestezi için etil karbamat (Sigma-Aldrich ABD; CAS numarası: 51-79-6)'ın distile sudaki çözeltisi 1.2 g/kg dozunda ip yoldan uygulandı. Tüm işlemler kardiyovasküler EKO protokollerine uygun olarak gerçekleştirildi. Ratlar anestezi altındayken göğüsleri traşlandı ve sol dekübit pozisyonda 2D-MMode ve Doppler ölçümleri yapıldı (Şekil 3.1-3.4). Ölçümlerde interventriküler septum kalınlık (IVS), posterior duvar kalınlığı (PW), sol ventrikül end-diastolik çap (LVIDd), sol ventrikül end-sistolik çap (LVIDs), sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF), sol ventrikül fraksiyonel kısalma (LVFS), sol atriyum ve aort kökü çapı, E dalgası deselerasyon zamanı, mitral valv E/A oranı ve kalp hızı değerlerine bakıldı. Optimal değerlendirme yapılmadığında işlem tekrarlandı.



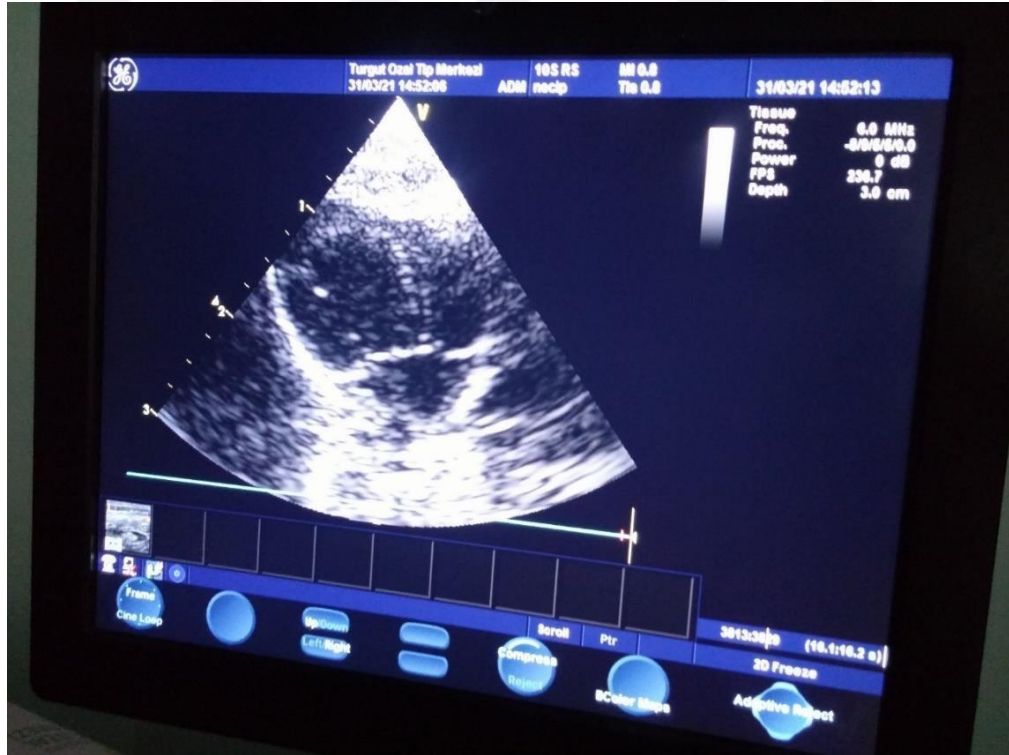
Şekil 3.1. Kontrol grubuna ait EKO görüntüsü



Şekil 3.2. Dox grubuna ait EKO görüntüsü, sol ventrikül hipertrofisi



Şekil 3.3. Dox grubuna ait EKO görüntüsü, kardiyak efüzyon



Şekil 3.4. Dox grubuna ait EKO görüntüsü, sol ventrikül dilatasyonu

3.4. EKG ve Hemodinamik Parametrelerin Değerlendirilmesi

TTE işlemi tamamlandıktan sonra anestezi altındaki ratların sistolik, diyastolik ve ortalama kan basıncı ve kalp hızı tayini için anestezi altındaki ratlar cerrahi masada supin pozisyonunda yatırıldıktan sonra karotis arter kanülasyonu yapıldı. Bu işlemesnasında EKG değişikliklerini de gözlemlemek için eş zamanlı 3 derivasyonlu EKG elektrotları kullanıldı (Şekil 3.5). Karotis artere yerleştirilen bir kanül yardımı ile ortalama arteriyel kan basıncı, kalp hızı ve EKG'ye ilişkin elde edilen veriler transdüser ve kaydedici (Biopac MP-100 Veri Kayıt Sistemi) ile 3 dk'lık kayıtlar alındı. Elde edilen veriler daha sonra aritmi varlığı, aritmi türü, ST segment ve T dalga değişikliklerinin tespitinde ve PR, QRS ve QT sürelerini hesaplamada kullanıldı.



Şekil 3.5. Sol karotis kanülasyonu yoluyla invazif KB ölçümü.

3.5. Cerrahi İşlem

EKO, EKG ve hemodinamik parametrelerin ölçülmesi sonrasında steril gazlı bez ile cerrahi alan temizliği yapıldı. Ardından ratın toraks bölgesinde yaklaşık 3 cm uzunluğunda yapılan medyan insizyon ile cilt, cilt altı, kas ve toraks açıldı. Serum çalışmaları için intrakardiyak yöntemle kan alındı. Daha sonra ratın toraks ve abdomen kısmı açılarak kalp ve torasik aort dokusu çıkarıldı. Çıkarılan organların histopatolojik olarak değerlendirilecek kısımları %10 formol içeren tam idrar tetkik kabına alındı, biyokimyasal olarak değerlendirilecek kısımlar da alüminyum folyoya sarıldı. Elde edilen numuneler -80°C’de saklandı. Ardından işlemi tamamlanan ratlar sakrifiye edildi. Gün sonunda, alınan kanlar santrifüj edildi ve alınan serum kısımları ile biyokimyasal analizler için alınan dokular -80°C koşullarına alındı, histopatolojik çalışmada kullanılacak numuneler de histopatolojiye teslim edildi.

3.6. Histopatolojik Analizler

3.6.1. Histokimyasal Analizler

Histopatolojik değerlendirme için ratların kalp dokuları 3-4 mm’lik küçük parçalara ayrıldı. Ardından plastik doku takip kasetlerine konuldu ve %10’luk formaldehit içerisinde 24 saat süre boyunca ile fiksasyonu sağlandı. Bu işlemin ardından dokular 24 saat boyunca akan çeşme suyu kullanılarak yıkandılar. Dereceli alkollerde dehidrate edildikten sonra ksilende şeffaflaştırılıp parafine gömüldüler. Parafin bloklardan Leica RM2145 marka mikrotom yardımıyla 5’er µ’luk kesitler alındı. Alınan kesitleri genel histolojik açıdan gözlemek için Hematoksilen ve eozin, kolajen artışı tespit etmek için Masson trikrom ve MMP-2, MMP-9 aktivitesini gösterebilmek amacıyla immünohistokimyasal boyama yöntemleri uygulandı. Preparatlar 10 farklı alanda X40 objektif kullanılarak kör olarak incelendi ve kardiyak hasarın şiddeti histopatolojik olarak skorlandı. Skorlamada kullanılan parametreler eozinofilik sitoplazmalı, koyu nükleuslu dejenere kardiyomyositler, kardiyomyositlerde intrasitoplazmik vakuolizasyon, hemoraji, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kolajen artışı. Her dokunun mikroskopik skoru, her kritere verilen skorların toplamı olarak hesaplandı. Puanlar her kriter için 0, yok; 1, hafif; 2, orta ve 3, şiddetli olarak verildi. Preparatlar Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q (Leica Micros Imaging solution Ltd, Cambridge, UK) görüntü analiz sistemleri kullanılarak fotoğrafların çekimi sağlandı.

Deney sonunda damar dokuları %10'luk formaldehit içerisinde alınarak tespit edildi. Doku takibi işlemlerinden sonra hazırlanan parafin bloklardan, 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Damar kesitlerine, genel morfolojik yapının belirlenmesi için H-E boyama metodu, elastik lamellerin belirlenmesi için orsein boyama metodu uygulandı. Damar için yapılan histolojik değerlendirmede; tüm alan incelenerek damar duvarında izlenen histopatolojik değişiklikler (düz kas hücrelerinde miyofibril kaybı, elastik lif dejenerasyonu) şiddetine göre sağlam; 0, hafif; 1, orta; 2 ve şiddetli; 3 olacak şekilde x40'lık büyütmede skorlandı. Ayrıca, H-E boyama metodu uygulanan her kesitten 20'lik büyütmede, rastgele 3 alan seçilerek tunika intima-medya (TİM) kalınlığı ölçüldü.

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

3.6.2. İmmünohistokimyasal Analizler

İmmünohistokimyasal analizler için kesitler öncelikle deparafinizasyon ve işlemlerinden geçirildi. Kesitler daha sonra 2100 Antijen Retriever inkübatöre alınarak 0.01 M sitrat (pH 6.0) içinde 15-20 dk. kaynatıldı. Endojen peroksidaz enzim aktivitesini bloke etmek için kesitlere 12 dk. süresince %3'lük hidrojen peroksit uygulandı. Kesitler daha sonra PBS ile yıkandı ve 5 dk. boyunca protein blok (ultra V blok) uygulaması gerçekleştirildi. Ardından kesitler 37 °C'de 60 dk. boyunca primer antikor ile inkübe edildi. PBS ile yıkanan dokulara daha sonra 37 °C'de 10 dk. süresince biotinli sekonder antikor uygulandı. Bu işlemlerin ardından kesitler 37 °C'de 10 dk. boyunca streptavidin peroksidaz ile inkübe edildi. Sonra kesitlere kromojen uygulaması yapıldı ve hematoksilin ile boyanarak su bazlı kapatıcı ile kapatıldı. Boyanma immünreaktivitenin yaygınlığına (0: 0-%25, 1:%26-50, 2:%51-75, 3:%76-100) ve şiddetine (0:yok, +1:hafif, +2: orta, +3: şiddetli) göre semikantitatif olarak skorlandı. Toplam boyanma skoru; yaygınlık X şiddet şeklinde hesaplanarak elde edildi.

3.7. Biyokimyasal Analizler ve ELISA

3.7.1. Dokuların Homojenizasyonu ve Sonifikasyonu

Rat kalp dokusu için 100 mg, torasik aortun ise tamamı alındı ve plastik tüplere konulduktan sonra kalp dokusu örneklerinin üzerine 1000 µL, torasik aort dokusu örneklerinin üzerine ise 500 µL RIPA tamponu eklendi. Daha sonra her iki örnek için de

1,6 ml proteaz inhibitörü (Protease Inhibitor Cocktail powder, Sigma; P2714-1BTL) eklendi. Tüplerdeki numune örnekleri buzlu ortam şartları altında bir homojenizatör (Ultra-Turrax T25, IKA-Werke) yardımıyla doku örnekleri tamamen parçalanıncaya kadar (2 tur, 20 sn) homojenize edilerek homojenatlar elde edildi. Daha sonra homojenatlar buzlu ortamda bir sonifikatör (Bandelin Hd 2070) yardımıyla (4 tur, 15 saniye) sonifiye işlemine tabi tutuldu. İşlemin ardından homojenatlar soğutmalı bir santrifüjde (+4 °C, 14.000 rpm, 15 dk.) santrifüj (Hettich Universal 320 R) edildi. En son olarak elde edilen süpernatantlar ölçüm yapılacak zamana kadar +4 °C ortamında depolandı.

3.7.2. Total protein Miktarı Tayini

Doku örneklerinin total protein tayini Bradford yöntemi ile belirlendi (249). Bunun için torasik aort dokusundan 10 µL alındı ve 550 nm’de renk absorbansı ölçüldü. Ardından numunelere 200 µL Bradford reaktifi eklendi. Bu esnada rengin kahverengiden maviye dönüştüğü gözlemlendi (Şekil 3.6). Daha sonra 550 nm’de yeniden absorbans değeri ölçülerek total protein miktarı tespit edildi.

Kalp dokusu için yukardaki işlemler yapılmadan önce 5 kat seyreltildi (20 mikrolitreye numuneye 80 mikrolitre PBS eklendi.) ve ardından torasik aort dokusundan yapılan adımlar tekrar edildi.

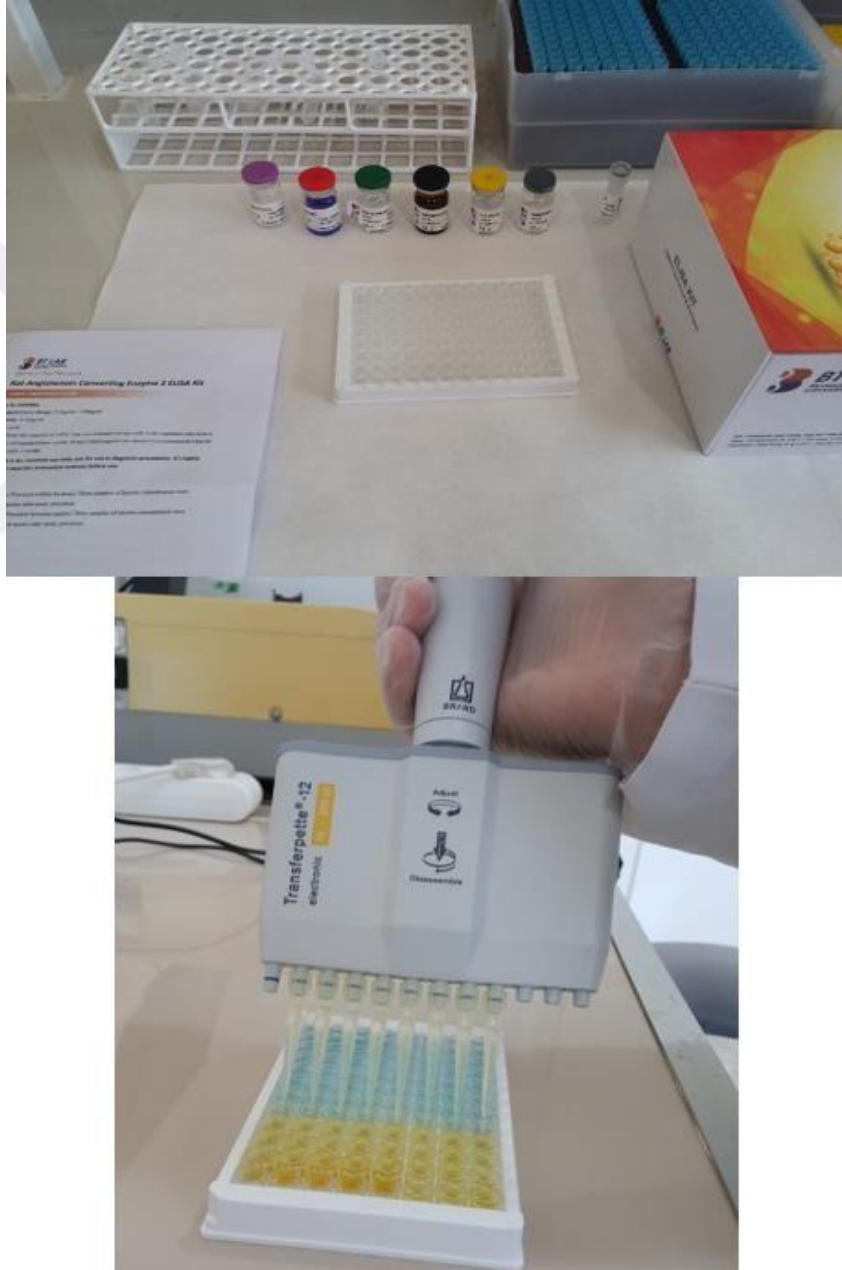


Şekil 3.6. Total protein tayini

3.7.3. Serum Örneklerinin Hazırlanması

Ratlardan sarı renkli jelli biyokimya tüpüne kan örnekleri alındıktan sonra santrifüj cihazında (Nüve-NF200) 5 bin devirde 3 dk. boyunca çevrildi. Ardından serum örnekleri eppendorf tüplerine alındı. Daha sonra numunelerin çalışılacağı güne kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklandı. Tüm çözeltiler ve numuneler çalışma günü kullanılmadan önce erimesi için oda sıcaklığına maruz bırakıldı.

3.7.4. ELISA Kitlerinin Çalışılması



Şekil 3.1. Kalp ve damar dokusunda biyokimyasal analiz (ELISA) çalışmaları.

ACE-2

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak ACE-2 düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 128ng/ml'dir. Her biri 120 µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

64 ng/ml	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
32 ng/ml	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
16 ng/ml	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
8 ng/ml	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
4 ng/ml	1 numaralı tüp	120 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

NT-ProBNP

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak NT-ProBNP düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 2000ng/L'dir. Her biri 120 µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

1000 ng/L	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
500 ng/L	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
250 ng/L	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
125 ng/L	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
62,5 ng/L	1 numaralı tüp	120 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

ST-2

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak ST-2 düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 1600 ng/L'dir. Her biri 120µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

800 ng/L	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
400 ng/L	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
200 ng/L	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
100 ng/L	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
50 ng/L	1 numaralı tüp	120 µl 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

Troponin I

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak Troponin I düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 32 ng/ml'dir. Her biri 120µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

16 ng/ml	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
8 ng/ml	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
4 ng/ml	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
2 ng/ml	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
1 ng/ml	1 numaralı tüp	120 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

Galektin 3

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak galektin 3 düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 24 ng/ml'dir. Her biri 120µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

12 ng/ml	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
6 ng/ml	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
3 ng/ml	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
1,5 ng/ml	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
0,75 ng/ml	1 numaralı tüp	120 µl 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

Lizil Oksidaz

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak lizil oksidaz düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 24 ng/ml'dir. Her biri 120µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

12 ng/ml	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
6 ng/ml	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
3 ng/ml	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
1,5 ng/ml	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
0, 75 ng/ml	1 numaralı tüp	120 µl 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

MMP-2

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak MMP-2 düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 80 ng/ml'dir. Her biri 120µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

40 ng/ml	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
20 ng/ml	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
10 ng/ml	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
5 ng/ml	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
2,5 ng/ml	1 numaralı tüp	120 µl 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

MMP-9

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak MMP-9 düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 12,8 ng/ml'dir. Her biri 120µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

6.4 ng/ml	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
3.2 ng/ml	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
1.6 ng/ml	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
0.8 ng/ml	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
0.4 ng/ml	1 numaralı tüp	120 µl 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

NADPH Oksidaz 4

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak NADPH oksidaz 4 düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 64 ng/ml'dir. Her biri 120µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3 numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

32 ng/ml	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
16 ng/ml	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
8 ng/ml	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
4 ng/ml	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
2 ng/ml	1 numaralı tüp	120 µl 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

Siklofilin A

Yukarıdaki işlemlerin ardından elde edilen serum örneklerinden ELISA yöntemi kullanılarak siklofilin A düzeyi analiz edildi (Bioassay Technology Laboratory, Şangay, Çin).

Standart çözeltisinin hazırlanması: Stok solüsyondaki standartın konsantrasyonu 16000 ng/L'dir. Her biri 120µl standart seyreltici içeren 5 adet tüp hazırlandı. Stok standarttan 120 µl alınıp 2 numaralı tüpe kondu. 2 numaralı tüpten 120 µl alınıp 3

numaralı tübe kondu. Bu işlem 6 numaralı tübe kadar tekrarlandı. Tüpler arası transferden hemen önce vorteks kullanıldı. Standartların konsantrasyonları:

8000 ng/L	5 numaralı tüp	120 µl orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
4000 ng/L	4 numaralı tüp	120 µl 5 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
2000 ng/L	3 numaralı tüp	120 µl 4 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
1000 ng/L	2 numaralı tüp	120 µl 3 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon
500 ng/L	1 numaralı tüp	120 2 numaralı tüp + 120 µl standart dilüsyon

En son kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin değerleri hesaplandı.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Tip I hata (alfa) 0,05, güç (1-beta) 0,8 ve LVEF değerlerine göre etki büyüklüğü 0.54 iken gruplar arasında anlamlı bir farklılığı tespit etmek için gereken minimum örneklem büyüklüğü her grupta en az 8 olmalıdır. Çalışmada deney modelinin yüksek mortalitesi dikkate alınarak Kontrol grubunda 8, Dox grubunda 12, Apelin+Dox grubunda 10, SV+Dox grubunda 10 ve Apelin+SV+Dox grubunda 10 olmak üzere toplam 50 rat kullanıldı. Bu örneklem genişliği için çalışmanın etki büyüklüğünün yorumu büyük olarak hesaplandı.

Çalışma kapsamında sayısal veriler ortanca (minimum-maksimum), kategorik veriler ise sayı ile verildi. Verilerin normalite dağılımının analizi için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Grup değişkeninin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analizi kullanıldı. Grup kategorilerinin çoklu karşılaştırmaları için Conover testi kullanıldı. Bağımlı değişkenlerin analizi için Wilcoxon işaretli sıra testi kullanıldı. Analizlerde Web Tabanlı Numune Boyutu ve Güç Analizi Yazılımı kullanılmıştır. Histopatolojik bulgular için de kalp dokusu için sayısal veriler ortanca (minimum-maksimum) olarak verildi. İstatistiksel analizler için SPSS istatistiksel yazılım programı (SPSS for Windows version 17) kullanıldı. Çalışmada yer alan tüm değişkenlerin normal dağılım göstermediği saptanması nedeniyle istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi, tüm değişkenler yönünden grupların genel karşılaştırılmasında kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar, Bonferroni düzeltmesi yapılarak Mann-Whitney-U testi ile yapıldı. $p < 0,05$ çıkan veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Histopatolojik bulgular için de aort dokusu için istatistiksel

analizler, IBM SPSS istatistiksel yazılım programı (SPSS Inc., Chicago, IL) ile yapıldı. Gruplar arası karşılaştırma için, veriler normal dağılım ve homojenite gösterdiğinden, ANOVA-Tamhane testi kullanıldı. Veriler $\text{ortama} \pm \text{standart hata}$ olarak ifade edildi.



4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanlarının Özellikleri

4.1.1. Deney Öncesi ve Sonrası Ortalama Rat Ağırlıkları ve Mortalite

Deney öncesi rat ağırlıkları; Kontrol için 325 g, Dox için 352 g, Apelin+Dox için 351g, SV+Dox için 340,5 g, Apelin+SV+Dox için 386,5 g olarak ölçüldü (Tablo 4.1).

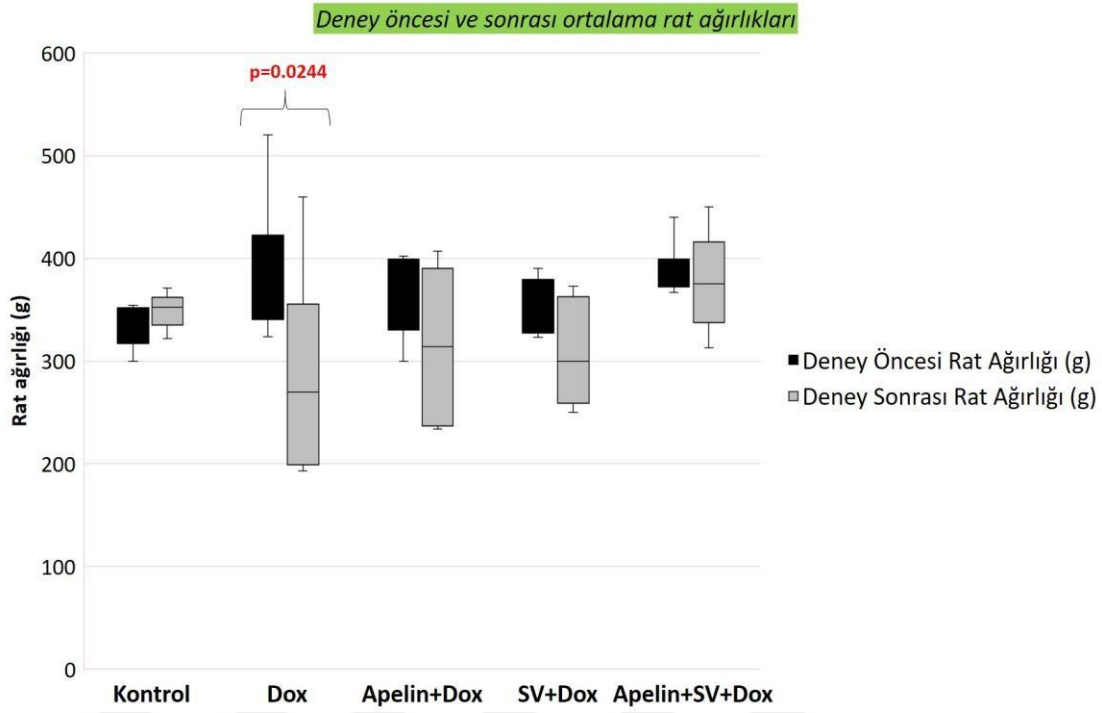
Deney sonrası rat ağırlıkları; Kontrol için 352,5 g, Dox için 270 g, Apelin+Dox için 314 g, SV+Dox için 300 g ve Apelin+SV+Dox için 375 g olarak ölçüldü (Tablo 4.1).

Deney öncesi ve sonrası kıyaslandığında Dox grubunda istatistiksel açıdan anlamlı azalma görüldü (Şekil 4.1). ($p=0,0244$).

Deney sürecinde görülen mortalite oranları Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Deney öncesi ve sonrası ortalama rat ağırlıkları

Belirteçler	Gruplar				
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox
Deney Öncesi Rat Ağırlığı (g)	325(300-354)	352(324-520)	351(300-402)	340.5(323-390)	386.5(367-440)
Deney Sonrası Rat Ağırlığı (g)	352.5(322-371)	270(193-460)	314(234-407)	300(250-373)	375(313-450)
<i>p</i>	0,058	0,0244	0,2769	0,0829	0,3823



Şekil 4.1. Deney öncesi ve sonrası rat ağırlığı

Tablo 4.2. Gruplar arası mortalite oranları (%)

Belirteç	Gruplar				
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox
Mortalite (n)	0 (%0)	3 (%25)	3 (%30)	2 (%20)	2 (%20)

4.1.2. Ratların Deney Sonrası Kalp Ağırlığı ve Kalp/Rat Ağırlık Oranı

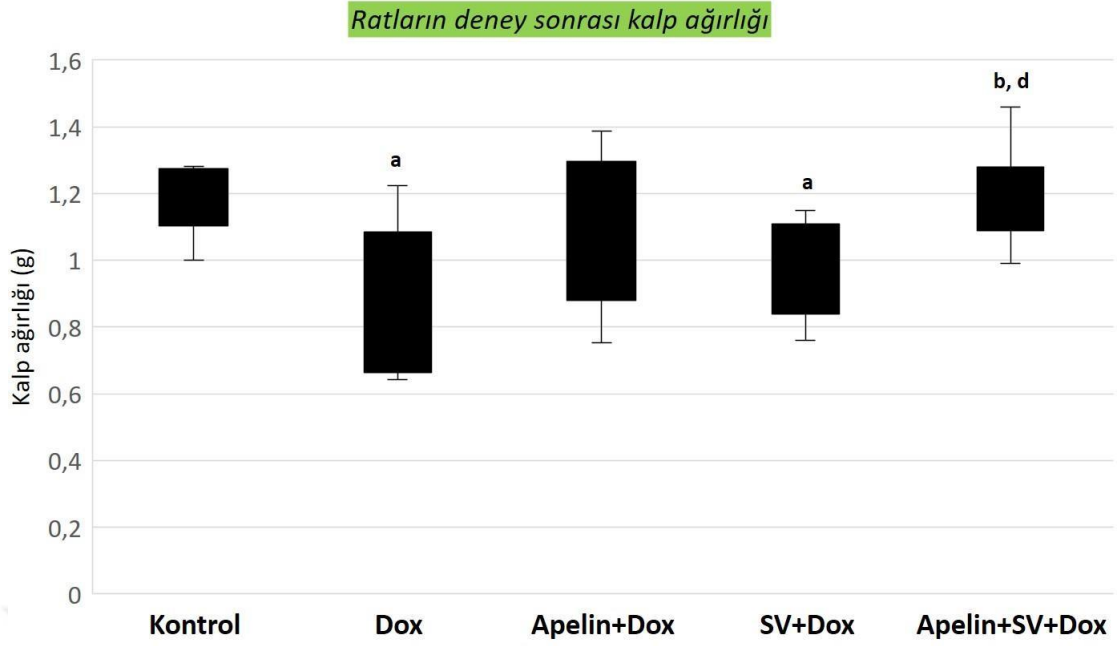
Deney sonrası kalp ağırlıkları: Kontrol için 1,132 g, Dox için 0,843 g, Apelin+Dox için 0,912, SV+Dox için 0,9285 g, Apelin+SV+Dox için 1,1375 g olarak ölçüldü (Tablo 4.3). İstatistiksel açıdan kontrol grubuna göre hem Dox hem de SV+Dox grubunda anlamlı azalma ve Apelin+SV+Dox grubunda hem Dox hem de SV+Dox grubuna göre anlamlı bir artma gözlemlendi (Şekil 4.2) ($p=0,01035$).

Deney sonrası kalp/rat ağırlık oranları: Kontrol için 0,00328, Dox için 0,00326, Apelin+Dox için 0,00329, SV+Dox için 0,00316, Apelin+SV+Dox için 0,00307 olarak ölçüldü (Tablo 4.3). Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Tablo 4.3. Ratların deney sonrası kalp ağırlığı ve kalp/rat ağırlık oranı.

Belirteç	Gruplar					<i>p</i>
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox	
Kalp Ağırlığı (g)	1,132 (1,001- 2,415)	0,843 ^a (0,643-1,224)	0,912 (0,752-1,386)	0,9285 ^a (0,759-1,15)	1,1375 ^{bd} (0,991-1.46)	0,01035
Kalp/ Rat ağırlığı oranı	0,00328 (0,00311-0,00682)	0,00326 (0,00257-0.00379)	0,00329 (0.00262-0,00376)	0,00316 (0.00241-0,00412)	0,00307 (0.0025-0,00406)	0,82658

^a Kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^b Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$)



^a Kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^b Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$)

Şekil 4.2. Ratların deney sonrası kalp ağırlığı

4.2. EKO Bulguları

Deney sonrasında uygulanan TTE bulgularına göre; kontrol grubu kıyaslandığında Dox ve Apelin+Dox gruplarında LVEF ve LVFS açısından anlamlı bir azalma gözlemlendi. Ayrıca Dox grubuna göre kıyaslandığında SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında LVEF ve LVFS değerlerinde anlamlı bir artış tespit edildi (Şekil 4.3) ($p = 0,00666$, $p = 0,00224$).

Aort kökü çapı değerlerine bakıldığında SV+Dox grubunda kontrol ve Apelin+Dox grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü. Ayrıca Apelin+SV+Dox grubunda da SV+Dox grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 4.3) ($p = 0,03785$).

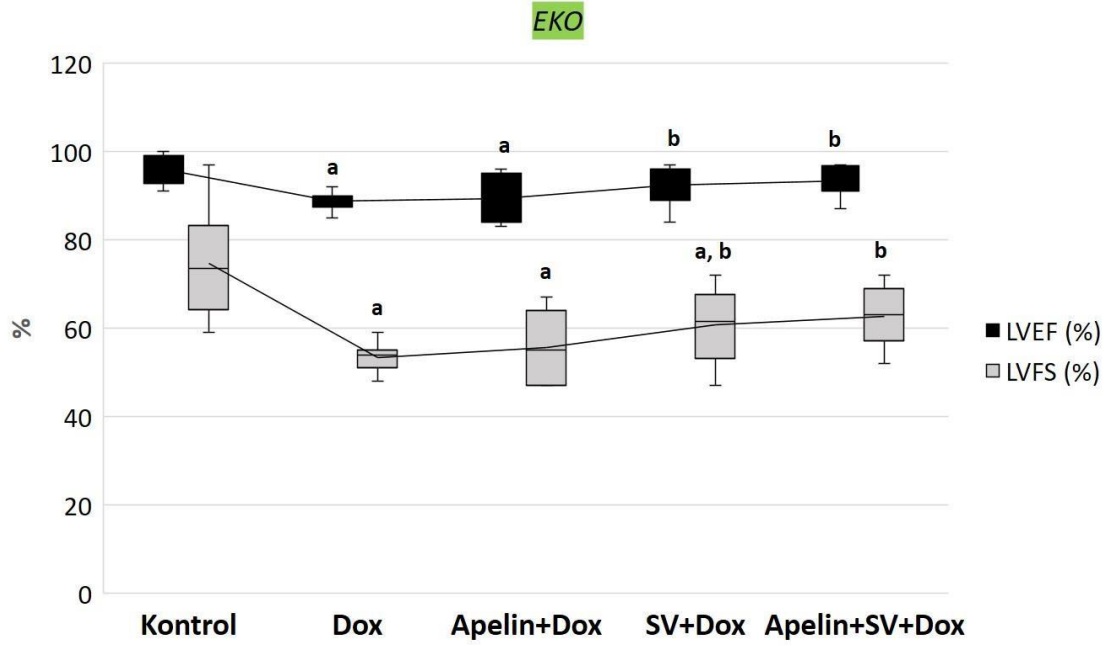
Diğer parametrelerde anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi.

EKO bulguları Tablo 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4.4. EKO bulguları

Belirteçler	Gruplar					<i>p</i>
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox	
Kalp hızı (atım/dk)	349,5 (232-406)	285 (229-369)	301 (196-369)	238.5 (203-345)	329,5 (205-427)	0,14158
LVEF (%)	96 (91-100)	89 ^a (85-92)	90 ^a (83-96)	93.5 ^b (84-97)	94 ^b (87-97)	0,00666
LVFS (%)	73,5 (59-97)	54 ^a (48-59)	55 ^a (47-67)	61.5 ^{ab} (47-72)	63 ^b (52-72)	0,00224
LVIDd (mm)	6 (5-7)	4 (3-8)	5 (3-7)	5 (3-7)	6 (5-8)	0,22744
LVIDs (mm)	2 (1-2)	2 (2-3)	2 (1-4)	2 (1-3)	2 (2-3)	0,14737
LV (mm)	5,155 (4.63-5.69)	4,03 (3.77-5.85)	4,68 (4.17-5.26)	4,9 (3.72-5.94)	5,32 (4.71-6.05)	0,07511
RV (mm)	3,685 (3.38-4.28)	3,02 (2.82-4.27)	3,47 (2.8-3.87)	3,505 (2.42-4.9)	3,835 (3.37-4.38)	0,17999
Aort kökü (mm)	5,07 (4.49-5.5)	4,515 (3.69-5.88)	4,94 (4.44-5.35)	4,205 ^{ac} (3.83-4.72)	5,155 ^d (3.87-5.9)	0,03785
Sol atriyum (mm)	3,065 (2.74-3.33)	2,985 (2.52-3.53)	2,92 (2.41-3.21)	2,89 (2.58-3.91)	2,9 (2.29-3.06)	0,4948

^a Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^b Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05)



^a Kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^b Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$)

Şekil 4.3. Ratların EKO bulguları

4.3. Hemodinami Bulguları

Kalp hızı açısından SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma; ayrıca SV+Dox grubunda Dox grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi (Şekil 4.4) ($p = 0,0184$).

Sistolik kan basıncı açısından Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma; ayrıca SV+Dox grubunda hem Dox hem de Apelin+Dox grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi (Şekil 4.4) ($p = 0,0028$).

Ortalama kan basıncı açısından SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma; ayrıca SV+Dox grubunda hem Dox hem de Apelin+Dox grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi (Şekil 4.4) ($p = 0,00209$).

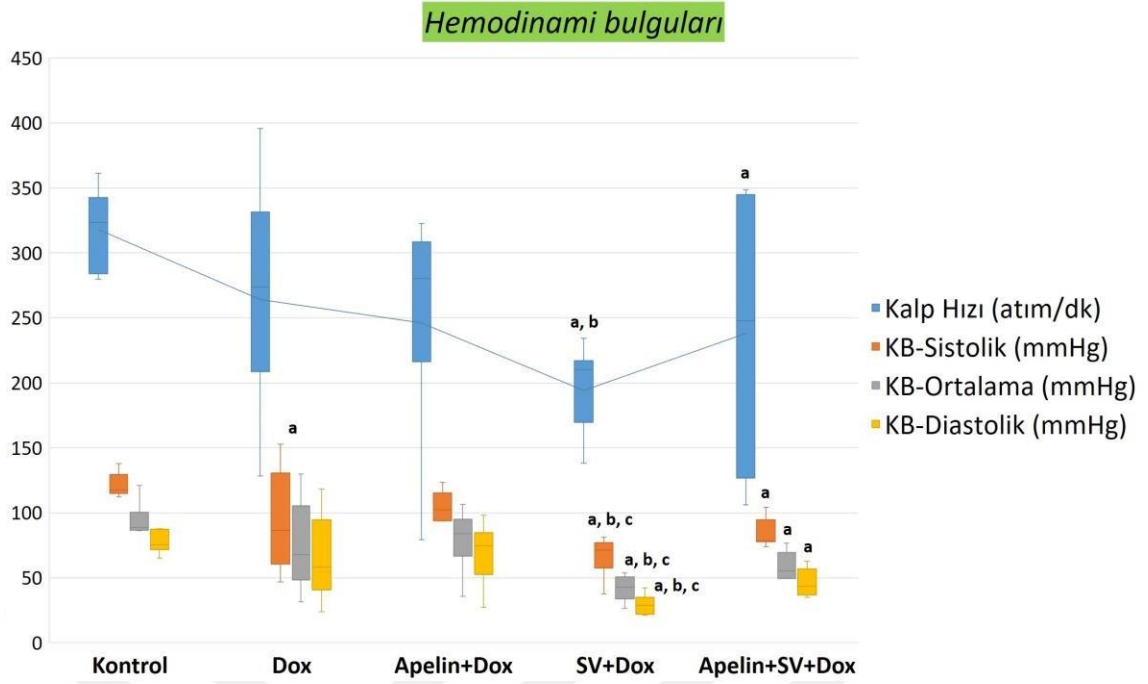
Diyastolik kan basıncı açısından SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma; ayrıca SV+Dox grubunda hem Dox hem de Apelin+Dox grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi (Şekil 4.4) ($p = 0,00156$).

Hemodinami bulguları Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Hemodinami bulguları

Belirteçler	Gruplar					<i>p</i>
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox	
Kalp hızı (atım/dk)	323,555 (279,65-361,44)	273,62 (128,28-395,79)	280,37 (79,11-322,58)	210,06 ^{ab} (138,09-234,33)	247,52 ^a (106,05-348,83)	0,0184
Kan basıncı-sistolik (mmHg)	117,645 (112,3-138,02)	86,55 ^a (46,79-152,9)	102,15 (52,67-123,39)	71,09 ^{abc} (37,76-81,31)	78,61 ^a (73,91-104,22)	0,0028
Kan basıncı-ortalama (mmHg)	88,43333 (86,13-120,83333)	67,77667 (31,39667-129,92)	83,77 (35,78333-106,37667)	42,56333 ^{abc} (26,61333-53,80333)	54,99667 ^a (49,28333-76,56)	0,00209
Kan basıncı-diastolik (mmHg)	75,43 (65,3-112,24)	58,39 (23,7-118,43)	74,58 (27,34-97,87)	28,66 ^{abc} (21,04-42,27)	43,19 ^a (35-62,73)	0,00156

^a Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^b Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05)



^a Kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^b Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı ($p < 0,05$)

Şekil 4.4. Hemodinami bulguları

4.4. EKG Değişiklikleri

Kontrol grubunda; PR mesafesi 56 (46-60) ms, QRS mesafesi 70 (64-92) ms, QT mesafesi 108 (100-138) ms, cQT süresi 8.13307 (6.86803-9.17962), RR mesafesi de 185 (174-226) olarak hesaplandı.

Dox grubunda; PR mesafesi 54 (38-66) ms, QRS mesafesi 96 (58-126) ms, QT mesafesi 134 (98-178) ms, cQT süresi 8.95 (6.1-10.5), RR mesafesi de 234 (178-306) olarak hesaplandı.

Apelin+Dox grubunda; PR mesafesi 56 (46-64) ms, QRS mesafesi 86 (70-98) ms, QT mesafesi 124 (88-148) ms, cQT süresi 7.62 (5.2-9.0), RR mesafesi de 216 (186-810) olarak hesaplandı.

SV+Dox grubunda; PR mesafesi 64 (46-82) ms, QRS mesafesi 94 (72-114) ms, QT mesafesi 122 (96-136) ms, cQT süresi 7.16 (5.2-8.6), RR mesafesi de 290 (248-348) olarak hesaplandı.

Apelin+SV+Dox grubunda; PR mesafesi 48 (46-68) ms, QRS mesafesi 86 (48-96) ms, QT mesafesi 118 (78-130) ms, cQT süresi 7.78 (5.9-8.5) ms, RR mesafesi de 230 (170-388) olarak hesaplandı.

RR mesafesi; Dox, Apelin+Dox ve SV+Dox gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artma gözlenirken Apelin+SV+Dox grubunda SV+Dox grubuna göre anlamlı anlamlı bir azalam tespit edildi (p=0,00626).

EKG ve aritmi bulguları Tablo 4.6 ve Tablo 4.7’da verilmiştir.

Tablo 4.6. EKG değişiklikleri

Belirteçler	Gruplar					P
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox	
PR (ms)	56 (46-60)	54 (38-66)	56 (46-64)	64 (46-82)	48 (46-68)	0,16469
QRS (ms)	70 (64-92)	96 (58-126)	86 (70-98)	94 (72-114)	86 (48-96)	0,09101
QT (ms)	108 (100-138)	134 (98-178)	124 (88-148)	122 (96-136)	118 (78-130)	0,36284
RR (ms)	185 (174-226)	234 ^a (178-306)	216 ^a (186-810)	290 ^a (248-348)	230 ^d (170-388)	0,00626
cQT (ms)	8,1 (6,8-9,1)	8,9 (6,1-10,5)	7,6 (5,2-9,0)	7,1 (5,2-8,6)	7,7 (5,9-8,5)	0,11913

^a Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,05)

^b Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05)

^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05)

^d SV+Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05)

Tablo 4.7. Aritmi bulguları

EKG değişiklikleri					
Belirteç	Gruplar				
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox
Aritmi	1	3	1	2	2
ST Depresyonu	0	2	2	0	1
ST Elevasyonu	2	1	1	1	0
T negatifliği	1	5	2	1	0
Blok	0	6	1	0	0

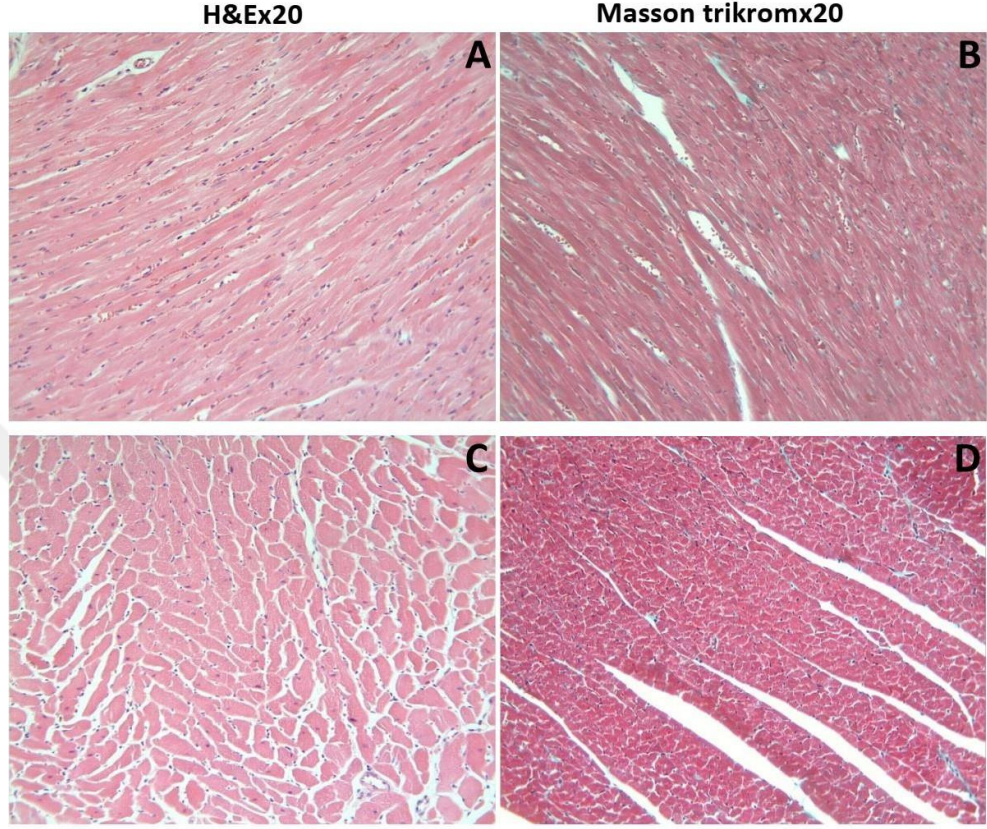
4.5. Histopatolojik Bulgular

4.5.1. Kalp Dokusu

Kontrol grubu

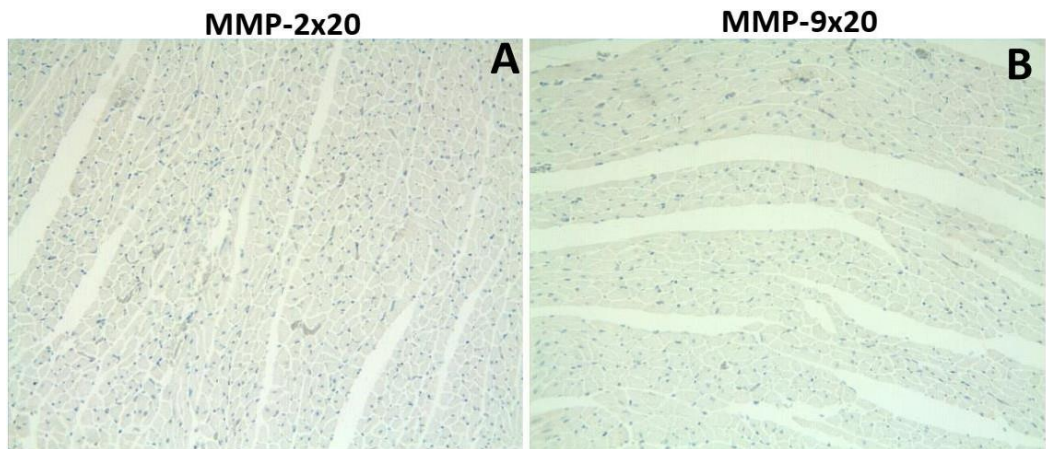
H-E ve Masson trikrom boyama metotları uygulanmış kesitlerde kalp dokusunun longitudinal ve transvers kesitlerinin normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.5).

MMP-2 boyama metodu uygulanmış kesitlerde MMP-2 (+) miyositlere rastlanmadı. MMP-9 boyama metodu uygulanmış kesitlerde MMP-9 (+) miyositlere rastlanmadı (Şekil 4.5).



Kalp dokusunun longitudinal (A, B) ve transvers kesitleri (C, D) normal histolojik yapıda izlenmekte.

Şekil 4.5. Kontrol grubunun histolojik görüntüsü



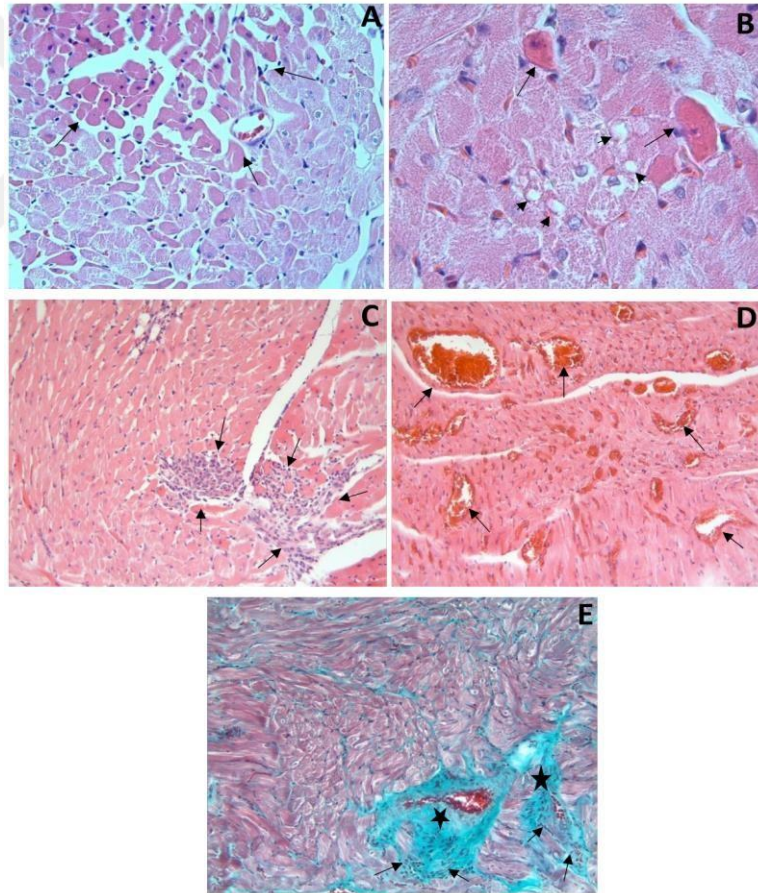
MMP-2 (A) ve MMP-9 (B) pozitif kardiyomiyositlere rastlanmadı.

Şekil 4.6. Kontrol grubunun imMünohistokimyasal görüntüsü.

Dox grubu

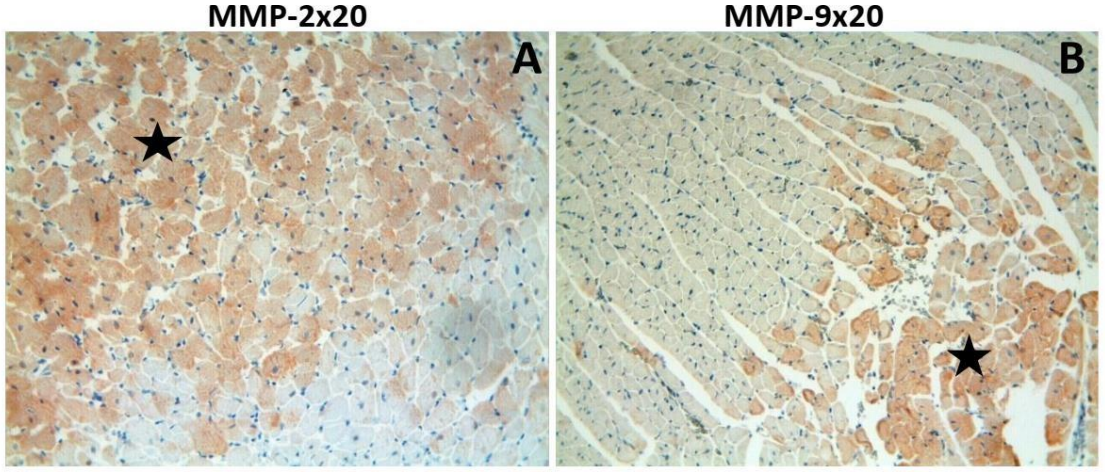
H-E boyama metodu uygulanmış kesitlerde eozinofilik sitoplazmalı, koyu nükleuslu dejenere kardiyomiyositler gözlemlendi. Ayrıca kardiyomiyositlerde intrasitoplazmik vakuolizasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hemoraji tespit edildi. Masson trikrom boyama metodu uygulanmış kesitlerde kolajen miktarında artış gözlemlendi (Şekil 4.7). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik hasar skorunun bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görüldü ($p<0,0001$).

MMP-2 boyama metodu uygulanan kesitlerde MMP-2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ($p<0,0001$). MMP-9 boyama metodu uygulanan kesitlerde MMP-9 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ($p<0,0001$) (Şekil 4.8).



Eozinofilik sitoplazmalı, koyu nükleuslu dejenere kardiyomiyositler (oklar) (A, B), kardiyomiyositlerde intrasitoplazmik vakuolizasyon (ok başı) (B) inflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (C), hemoraji (oklar) (D), H&EX20. Kolajen miktarında artış (yıldız) ve inflamatuvar hücreler (oklar) (E) izlenmekte. Masson trikrom X20.

Şekil 4.7. Dox grubunun histopatolojik görüntüsü.



MMP-2 (A) ve MMP-9 (B) pozitif kardiyomiyositler yoğun olarak izlenmekte (yıldız).

Şekil 4.8. Dox grubunun immunohistokimyasal görüntüsü

Apelin+Dox grubu

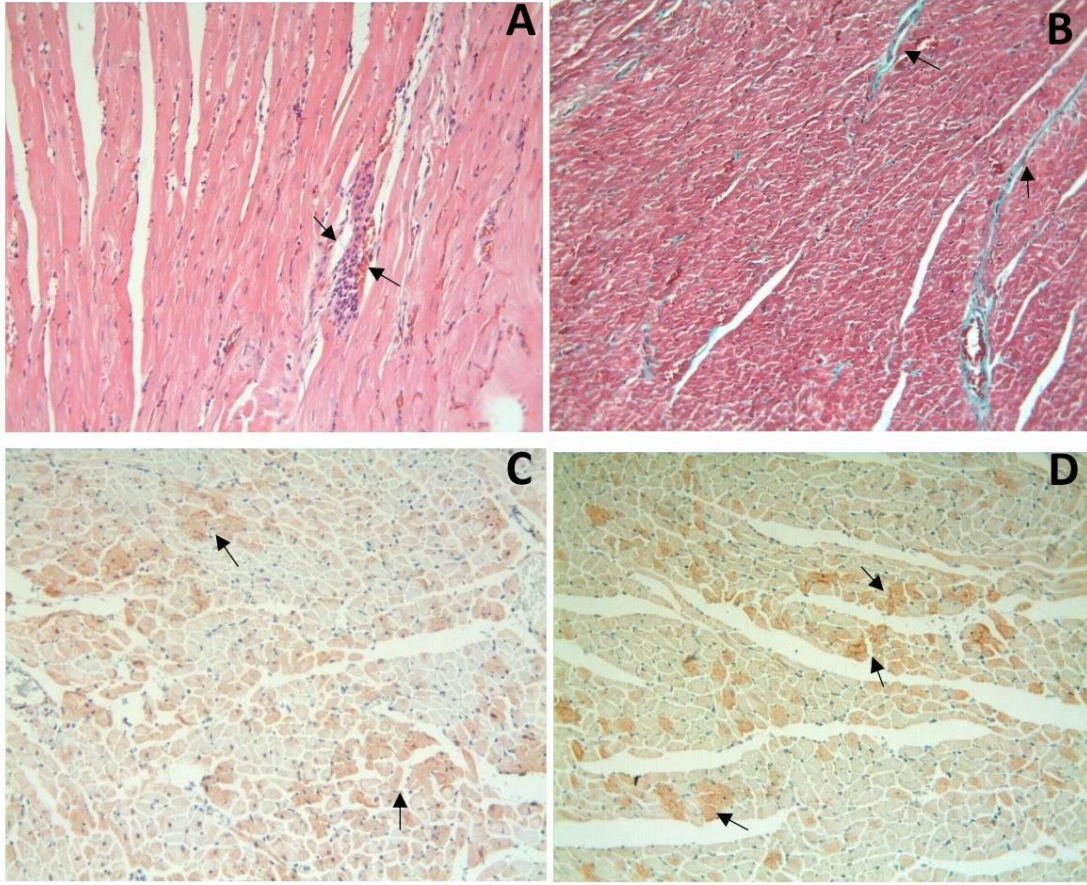
H-E boyama metodu uygulanmış kesitlerde Dox grubu ile karşılaştırıldığında hasarın azaldığı fakat bazı yerlerde hücre infiltrasyonu içeren alanların bulunduğu tespit edildi (Şekil 4.9).

Masson trikrom boyama metodu uygulanmış kesitlerde Dox grubu ile karşılaştırıldığında kolajen miktarındaki artışın azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.9).

Dox grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik hasar skorunun bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0,0001$).

MMP-2 boyama metodu uygulanan kesitlerde MMP-2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun Dox grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ($p<0,0001$) (Şekil 4.9).

MMP-9 boyama metodu uygulanan kesitlerde MMP-9 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun Dox grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ($p<0,0001$) (Şekil 4.9).



İnflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (A) H&E X20. Hafif kolajen miktarında artış (oklar) (B) Masson trikrom X20., MMP-2 (C) ve MMP-9 (D) pozitif kardiyomiyositler izlenmekte (oklar) X20.

Şekil 4.9. Apelin+Dox grubunun histopatolojik ve imMunohistokimyasal görüntüsü

SV+Dox grubu

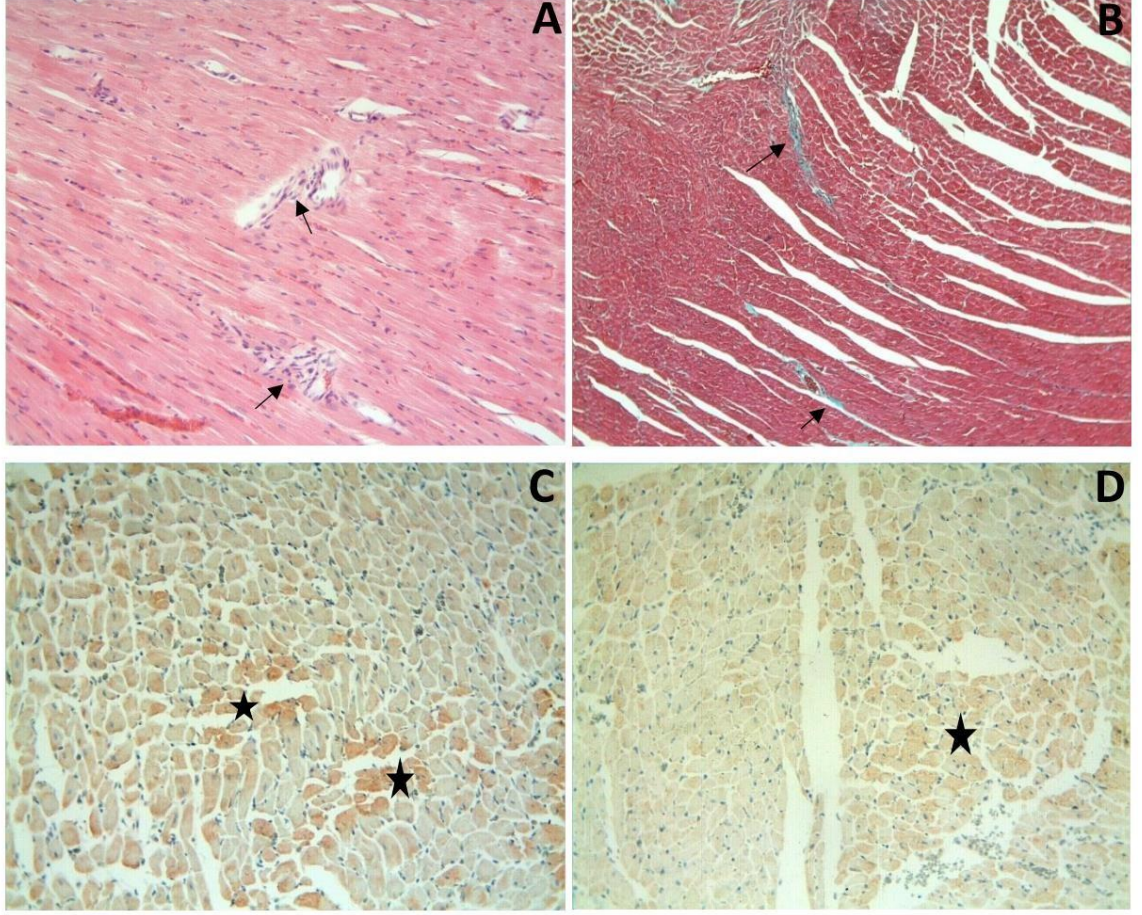
H-E boyama metodu uygulanmış kesitlerde Dox grubu ile karşılaştırıldığında hasarın azaldığı fakat Apelin+Dox grubuna benzer şekilde hücre infiltrasyonu içeren alanların bulunduğu tespit edildi (Şekil 4.10).

Masson trikrom boyama metodu uygulanmış kesitlerde ve Dox ve Apelin+Dox gruplarıyla ile karşılaştırıldığında kolajen miktarındaki artışın azaldığı gözlemlendi.

Dox ve Apelin+Dox gruplarıyla ile karşılaştırıldığında histopatolojik hasarın bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p < 0,0001$) (Şekil 4.10).

MMP-2 boyama metodu uygulanan kesitlerde MMP-2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun Dox ve Apelin+Dox gruplarıyla ile karşılaştırıldığında bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ($p < 0,0001$) (Şekil 4.10).

MMP-9 boyama metodu uygulanan kesitlerde MMP-9 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun Dox ve Apelin+Dox gruplarıyla ile karşılaştırıldığında bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0,0001$) (Şekil 4.10).



Hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonu (oklar) (A) H&EX20. Hafif kolajen miktarında artış (oklar) Masson trikrom X20 (B), MMP-2 (C) ve MMP-9 (D) pozitif kardiyomiyositler izlenmekte (oklar) X20.

Şekil 4.10. SV+Dox grubunun histopatolojik ve immunohistokimyasal görüntüsü

Apelin+SV+Dox grubu

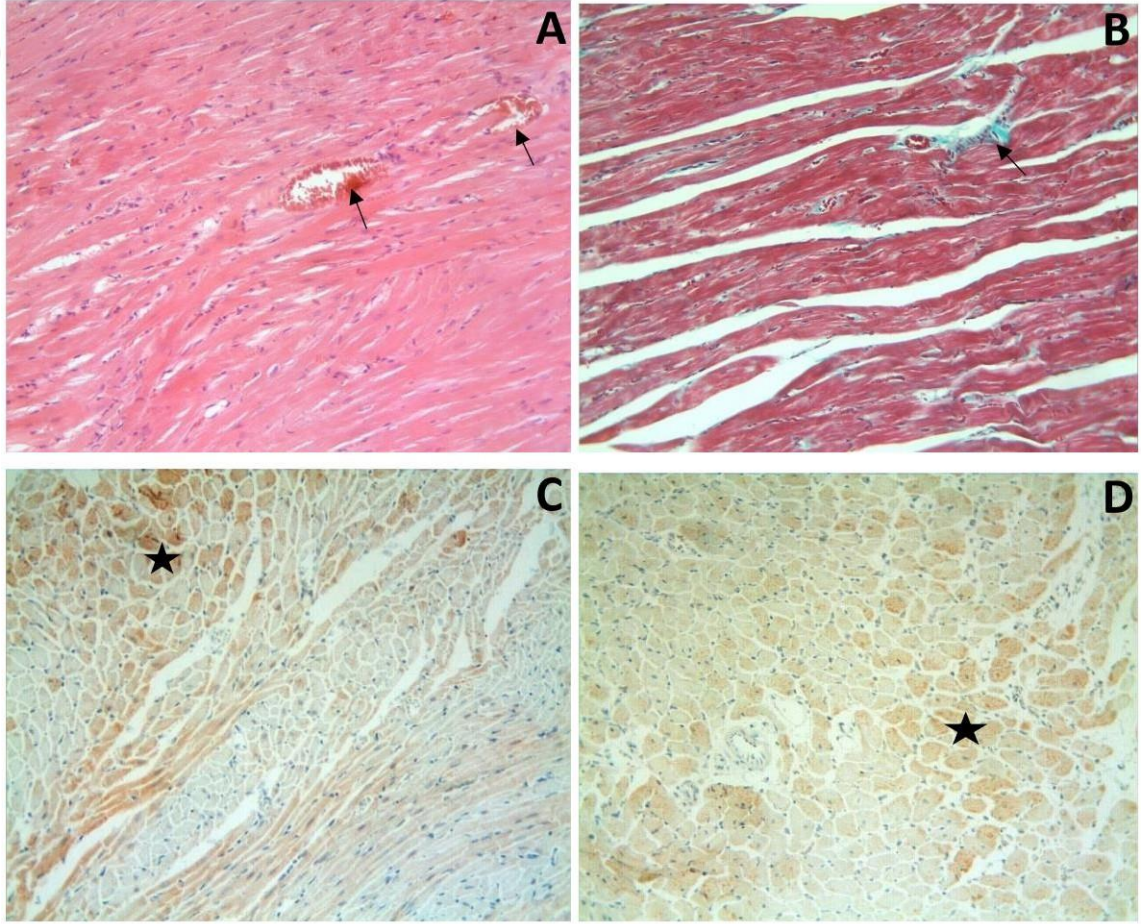
H-E boyama metodu uygulanmış kesitlerde histopatolojik hasar skoru Dox grubu ile karşılaştırıldığında hasarın azaldığı fakat hemorajinin bazı alanda görülmeye devam ettiği tespit edildi (Şekil 4.11). SV+Dox grubu ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken Apelin+Dox grubuyla karşılaştırıldığında hasarın istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi.

Masson trikrom boyama metodu uygulanmış kesitlerde Dox grubu ile karşılaştırıldığında kolajen miktarındaki artışın azaldığı gözlenirken SV+Dox grubuyla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.11).

Apelin+Dox grubu ile karşılaştırıldığında ise kolajen artışının anlamlı derecede azaldığı tespit edildi.

MMP-2 boyama metodu uygulanan kesitlerde MMP-2 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun Dox ve Apelin+Dox gruplarıyla ile karşılaştırıldığında bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı, SV+Dox grubuyla karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı gözlemlendi (Şekil 4.11).

MMP-9 boyama metodu uygulanan kesitlerde MMP-9 (+) kardiyomiyosit yoğunluğunun Dox ve Apelin+Dox gruplarıyla ile karşılaştırıldığında bu grupta istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı, SV+Dox grubuyla karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı gözlemlendi (Şekil 4.11).



Küçük hemorajik alanlar (oklar) (A) H&EX20. Hafif kolajen miktarında artış (oklar) (B) Masson trikromX20. MMP-2 (C) ve MMP-9 (D) pozitif kardiyomiyositler izlenmekte (oklar) X20.

Şekil 4.11. Apelin+SV+Dox histopatolojik ve imMunohistokimyasal görüntüsü

Histopatolojik hasar skorları Tablo 4.8’de verilmiştir.

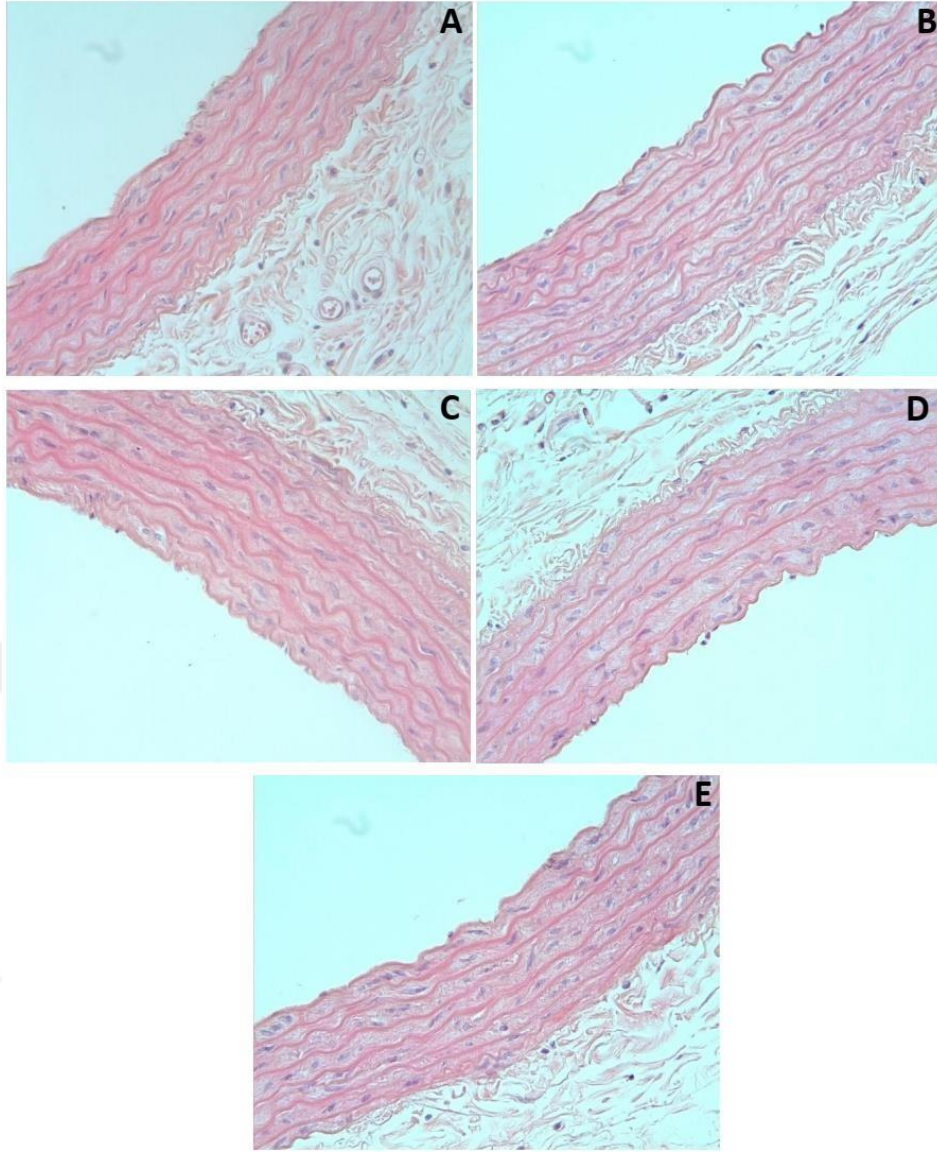
Tablo 4.8. Histopatolojik hasar skoru

Belirteçler	Gruplar				
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox
Dejenere kardiyomiyosit	0.00 (0-0)	1.00 (0-3) ^a	0.00 (0-2) ^b	0.00 (0-1) ^{bc}	0.00 (0-1) ^{bc}
Vakuolizasyon	0.00 (0-0)	1.00 (0-3) ^a	0.00 (0-2) ^b	0.00 (0-1) ^{bc}	0.00 (0-1) ^{bc}
Hemoraji	0.00 (0-1)	1.00 (0-3) ^a	0.00 (0-2) ^b	0.00 (0-1) ^{bc}	0.00 (0-1) ^{bc}
İnfiltrasyon	0.00 (0-0)	1.00 (0-3) ^a	0.00 (0-2) ^b	0.00 (0-1) ^{bc}	0.00 (0-1) ^{bc}
Kollajen artışı	0.00 (0-0)	1.00 (0-3) ^a	0.00 (0-2) ^b	0.00 (0-1) ^{bc}	0.00 (0-1) ^{bc}
MMP-2 yoğunluğu	0.00 (0-0)	1.00 (0-3) ^a	0.00 (0-2) ^b	0.00 (0-1) ^{bc}	0.00 (0-1) ^{bc}
MMP-9 yoğunluğu	0.00 (0-0)	1.00 (0-3) ^a	0.50 (0-2) ^b	0.00 (0-2) ^{bc}	0.00 (0-1) ^{bc}

^a Kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,0001$), ^b Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,0001$), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,0001$)

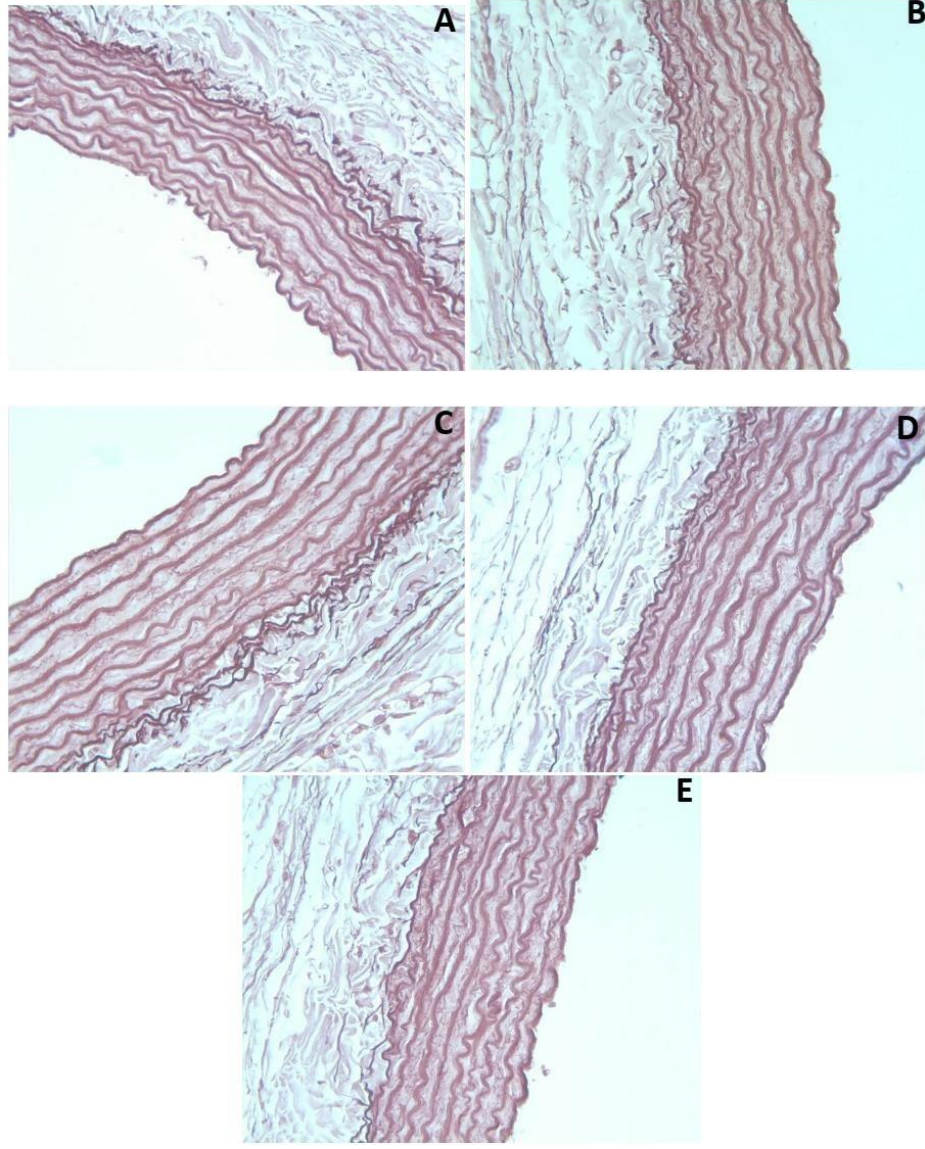
4.5.2. Aort Dokusu

H-E (Şekil 4.12) ve orsein (Şekil 4.13) boyama metodları uygulanmış kesitler histopatolojik değişiklikler açısından incelendi. Damar dokularının kontrol ve diğer deney gruplarında normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi. Ayrıca, kontrol, Dox ve Apelin+Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox grubuna ait kesitlerde tunika intima-media kalınlıkları ölçüldü ve gruplar arasında tunika intima-media kalınlığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Tablo 4.9).



A (Kontrol), B (Dox), C (Apelin+Dox), D (SV+Dox), E (Apelin+SV+Dox) damar duvarının genel görünümü. H-E x400.

Şekil 4.12. Grupların damar yapıların genel histopatolojik görüntüsü.



A (Kontrol), B (Dox), C (Apelin+Dox), D (SV+Dox), E (Apelin+SV+Dox) damar duvarının genel görünümü. Orsein x400.

Şekil 4.13. Grupların damar yapıların genel histopatolojik görüntüsü

Tablo 4.2. Tunika intima-media kalınlığı histolojik skor sonuçları

Gruplar	Tunika intima-media kalınlığı
Kontrol	92,13 ± 3,70
Dox	106,89 ± 4,13
Apelin+Dox	109,47± 5,61
SV+Dox	101,25±2,88
Apelin+SV+Dox	103,75±2,97

($p>0,05$).

4.6. Biyokimyasal Bulgular

Kardiyak ACE-2 analizinde; Apelin+SV+Dox grubunda kontrol, Dox ve Apelin+Dox gruplarına göre anlamlı bir azalma tespit edildi ($p=0,02197$).

Kardiyak NT-proBNP analizinde; Apelin+Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p=0,03594$).

Vasküler Galektin 3 analizinde; Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında ise Dox gruplarına göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p=0,00174$).

Vasküler Lizil Oksidaz analizinde; Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma, Apelin+Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında ise Dox gruplarına göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p=0,00626$).

Vasküler MMP-2 analizinde; Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma, Apelin+Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında ise Dox gruplarına göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p=0,00479$).

Vasküler MMP-9 analizinde; Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma, Apelin+Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında ise Dox gruplarına göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p=0,00135$).

Vasküler NADPH Oksidaz 4 analizinde; Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma, Apelin+Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında ise Dox gruplarına göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p=0,00991$).

Vasküler Siklofilin A analizinde; Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma, Apelin+Dox, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında ise Dox gruplarına göre anlamlı bir artış tespit edildi ($p=0,01509$).

Diğer parametrelerde ise gruplar arası anlamlı bir farklılık bulunmadı.

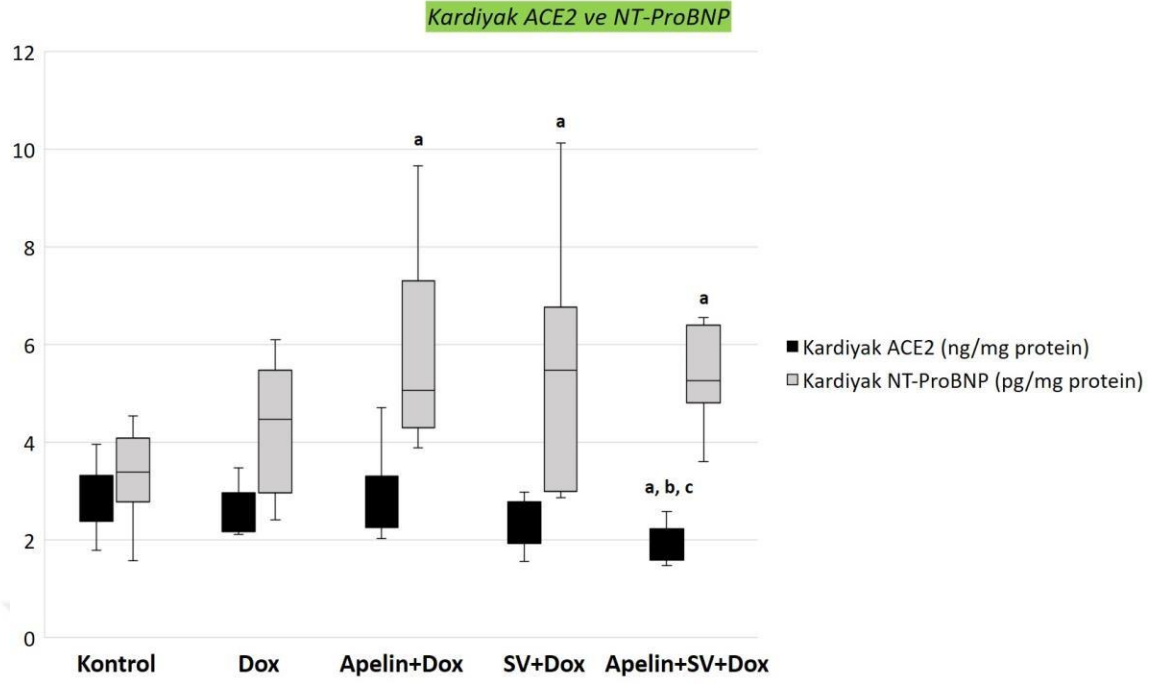
Biyokimyasal bulgular Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. Biyokimyasal bulgular

Belirteçler	Gruplar					<i>P</i>
	Kontrol	Dox	Apelin+Dox	SV+Dox	Apelin+SV+Dox	
Kardiyak ACE-2 (ng/mg protein)	2,53961 (1,78776-3,96739)	2,82018 (2,12219-3,47889)	2,61485 (2,02972-4,71209)	2,23504 (1,55622-2,97515)	1,92221 ^{abc} (1,48294-2,59042)	0,02197
Serum ACE-2 (ng/ml)	13,65698 (9,28198-14,36919)	10,99709 (9,19477-13,99128)	11,6657 (9,1657-14,4564)	13,27907 (9,1657-27,625)	10,64826 (9,31105-12,74128)	0,44834
Kardiyak NT-proBNP (pg/mg protein)	3,39211 (1,57987-4,54669)	4,47413 (2,41906-6,10367)	5,07079 ^a (3,88695-9,66479)	5,47776 ^a (2,86967-10,13333)	5,26618 ^a (3,60061-9,15325)	0,03594
Serum NT-proBNP (ng/l)	19,13462 (7,96154-40,19231)	16,73077 (12,73077-48,5)	15,30769 (9,57692-40,23077)	17,86538 (7,65385-59,03846)	14,84615 (4,30769-25,84615)	0,7419
Kardiyak ST-2 (pg/mg protein)	59,14947 (47,45648-74,94133)	50,47639 (41,19188-71,84436)	46,66525 (41,47245-119,15284)	47,66376 (38,1047-72,47521)	41,29571 (33,06822-86,77561)	0,20065
Serum ST-2 (ng/l)	384,85185 (319,85185-449,48148)	378,37037 (279,85185-479,48148)	354,66667 (306,14815-447,25926)	380,40741 (220,96296-953,55556)	384,48148 (343,92593-437,62963)	0,92221
Kardiyak Troponin I (ng/mg protein)	0,71481 (0,64008-0,78544)	0,70973 (0,6268-0,9036)	0,80137 (0,66743-1,07054)	0,75429 (0,62016-1,02188)	0,69349 (0,55589-0,85609)	0,42171
Serum Troponin I (ng/ml)	3,98532 (3,75821-4,79245)	3,91894 (3,61146-5,02306)	3,93291 (3,29001-12,9406)	3,85954 (3,27603-4,90426)	3,84906 (3,13627-4,21943)	0,71274
Kardiyak Galektin 3 (ng/mg protein)	0,27225 (0,25042-0,36252)	0,25896 (0,2137-0,35722)	0,28678 (0,24619-0,42142)	0,26188 (0,21029-0,34611)	0,23731 (0,20737-0,34833)	0,16067
Vasküler Galektin 3 (ng/mg protein)	2,43613 (1,42246-3,86381)	1,05324 ^a (0,72993-1,65796)	2,31354 (1,48048-4,52812)	1,65038 ^b (1,18015-4,97796)	2,45242 ^b (1,86672-2,79476)	0,00174

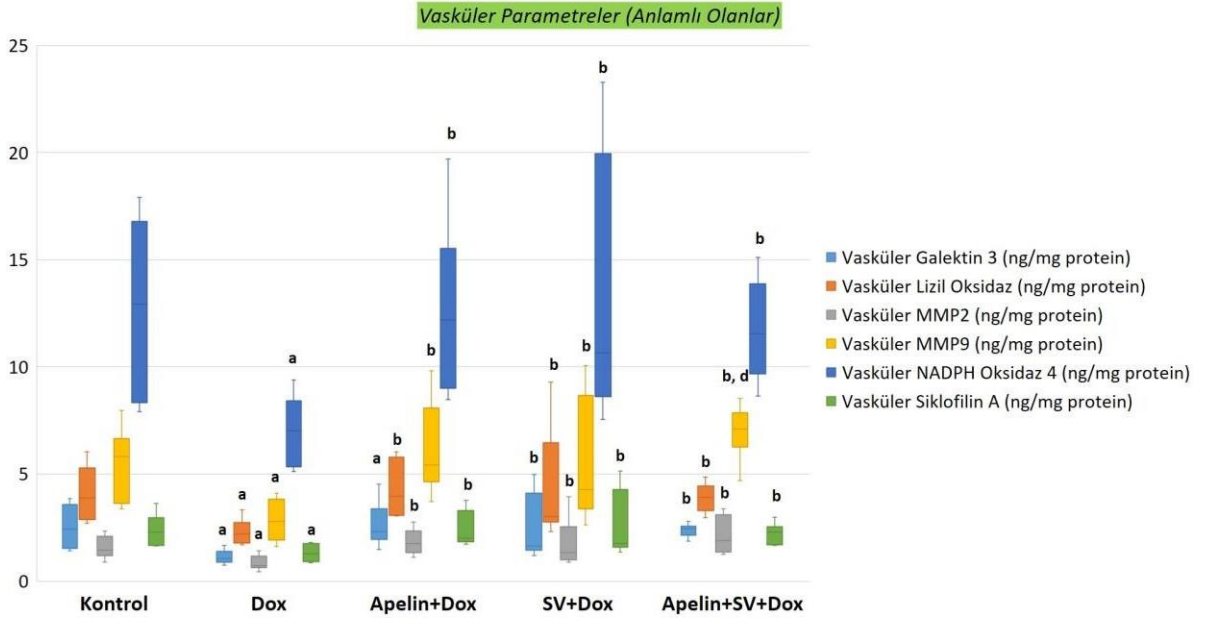
Kardiyak Lizil Oksidaz (ng/mg protein)	0,4671 (0,44114-0,54604)	0,4617 (0,36863-0,53401)	0,54574 (0,42173-0,76348)	0,50275 (0,41396-0,69202)	0,50275 (0,41396-0,69202)	0,48721
Vasküler Lizil Oksidaz (ng/mg protein)	3,88228 (2,69877-6,03838)	2,2034 ^a (1,7005-3,32802)	3,96334 ^b (3,03205-6,04274)	3,02056 ^b (2,30861-9,29097)	3,90877 ^b (2,96451-4,86742)	0,00626
Kardiyak MMP-2 (ng/mg protein)	1,58998 (0,62772-1,85069)	1,60651 (1,44078-2,07762)	1,37092 (1,17381-2,26727)	1,82498 (1,40397-2,27517)	1,66734 (1,51837-2,16088)	0,25686
Vasküler MMP-2 (ng/mg protein)	1,45107 (0,88775-2,33584)	0,70769 ^a (0,44398-1,42497)	1,73917 ^b (1,10232-2,75859)	1,32844 ^b (0,87307-3,93799)	1,90437 ^b (1,25548-3,36682)	0,00479
Kardiyak MMP-9 (ng/mg protein)	0,58772 (0,45953-0,65159)	0,57676 (0,48552- 0,71146)	0,72445 (0,4402-1,39841)	0,63816 (0,56171-0,78525)	0,5833 (0,53836-0,66114)	0,31927
Vasküler MMP-9 (ng/mg protein)	5,79913 (3,37213-7,97637)	2,77683 ^a (1,60127-4,10435)	5,4128 ^b (3,71189-9,81799)	4,26547 ^b (2,62669-17,42983)	7,0967 ^{bd} (4,6782-8,53112)	0,00135
Kardiyak NADPH Oksidaz 4 (ng/mg protein)	1,41747 (1,15002-1,60172)	1,40083 (1,2987-1,87117)	1,7033 (1,2238-3,19179)	1,61411 (1,11637-1,96563)	1,53177 (1,3375-2,0712)	0,17291
Vasküler NADPH Oksidaz 4 (ng/mg protein)	12,92434 (7,92656-17,92294)	7,01963 ^a (5,10487-9,38518)	12,20167 ^b (8,47525-19,70326)	10,66472 ^b (7,55635-23,29059)	11,55971 ^b (8,64693-15,09812)	0,00991
Kardiyak Siklofilin A (pg/mg protein)	259,58423 (238,32006-316,55316)	243,0788 (188,16973-364,95182)	257,32907 (233,30351-431,47418)	318,79997 (201,5282-372,7017)	264,00708 (186,43151-306,44266)	0,53646
Vasküler Siklofilin A (ng/mg protein)	2,27163 (1,64376-3,61629)	1,28692 ^a (0,86506-1,80087)	1,99597 ^b (1,72142-3,76838)	1,74574 ^b (1,37008-5,14517)	2,28729 ^b (1,67711-2,98147)	0,01509

^a Kontrol grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^b Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı (p<0,05)



^a Kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^b Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$)

Şekil 4.14. Gruplar arası ACE2 ve NT-ProBNP düzeyleri



^a Kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^b Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^c Apelin+Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), ^d SV+Dox grubuna göre anlamlı ($p<0,05$)

Şekil 4.151. Gruplar arası vasküler parametreler (anlamlı olanlar)

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda ratlarda deneysel KY modelini taklit etmek amacıyla Dox kullandık. Oluşturduğumuz bu deneysel modelde apelin, SV ve kombinasyonlarının profilaktik etkilerini ve mekanizmasını inceledik.

KY; kalp dokusunun işlevine bağlı veya yapısından kaynaklanan bir problemten dolayı dolmasının/boşalmasının tam olarak gerçekleşmediği, buna bağlı olarak özellikle periferik dokuların metabolik ihtiyacını karşılayacak yeterli kanı gönderememesi ile sonuçlanan ve genellikle progresif seyreden bir klinik tablodur (63). KY dünya genelinde birçok kimseyi etkileyen ve yüksek mortalite/morbidite ile seyreden önemli bir sağlık sorunudur.

Rehberlerde belirtilen tedavilere uyulmasına rağmen KY'ye bağlı mortalite (100.000'de 87,9) ve morbidite seviyeleri hala yüksek seyretmektedir. Ayrıca bu hastalardaki en önemli sorunlardan biri de KY'ye bağlı ortaya çıkan, yaşam kalitesini olumsuz etkileyen morbiditenin fazla olması ve buna bağlı olarak hastaneye yatış oranlarının fazla olmasıdır. 5 yıl boyunca takip edilen KY hastalarının bu süre zarfında en az bir kez hastaneye yatma oranı %83, birden fazla yatış oranı ise %67 olarak bulunmuştur (250). Ayrıca, bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de artan sağlık giderleri nedeniyle daha kolay ve ucuz tedavi yöntemleri uygulama düşüncesiyle hareket ederek sağlık giderlerini düşürmek hedeflenmektedir. KY patogenezinin aydınlatılması, KY'ye bağlı ortaya çıkan komplikasyonların daha etkin yönetilebilmesi deneysel ve farmakolojik çalışmaların gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Genel olarak Dox toksisitesinden sorumlu olan temel mekanizma serbest radikal ve lipid peroksidasyon düzeyinin artmasına karşılık göreceli olarak antioksidandüzeyinde azalmanın gerçekleşmesidir (19).

Dox'un meydana getirdiği kardiyak bozukluklar arasında hemodinamik değişiklikler, EKG değişiklikleri, miyokardit, MI ve KY yer alır. Tüm bu değişiklikler alınan ilacın dozuna, süresine ve tedavi sonrasında geçen süreye bağlı çeşitli değişiklikler göstermektedir (251).

Dox doz bağımlı olarak kardiyotoksitesiyeye neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda Dox dozunun artmasına bağlı olarak KY'nin arttığı gösterilmiştir (190). KY total 550 mg/m² dozda %7 oranında ortaya çıkmaktadır ve doz arttıkça

KY'nin görülme oranı da paralel bir şekilde artmaktadır (252). Bu nedenle kardiyotoksisiteyi önlemek veya azaltmak için mutlaka doz ayarlaması yapılmalıdır ve hastaya göre karar verilmelidir (253). Ancak doz azaltılması kemoterapinin etkinliğini de azaltmaktadır. Dox kullanımına bağlı ortaya çıkan kardiyak disfonksiyonun tanımlanması ve tanınabilmesi için fizik muayene, akciğer grafisi, EKG, EKO, radyonüklid görüntüleme, endomiyokardiyal biyopsi ve biyokimyasal testler gibi çeşitli yöntemler kullanılabilir.

Çalışmamızda Dox grubunda mortalite %25 olarak görülürken Apelin+Dox grubunda %30, SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında %20 olarak görüldü. Bu sonuçlar literatürdeki benzer çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile örtüşmektedir. Yapılan başka çalışmalar sonucunda Dox uygulamasındaki sağ kalım oranlarının %75 civarında olduğu gösterilmiştir (254, 255).

Dox uygulama süresinin uzatılması durumunda sağ kalımın daha fazla düştüğü yapılan diğer çalışmalarla da gösterilmiştir (256). Bizim çalışmamıza göre Apelin+Dox grubunda mortalite çok az seviyede artmış olup SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında bir miktar iyileşme görüldü. Bu nedenle, çalışmamız Dox ile SV'nin birlikte kullanılmasının hayvanlarda KY'ye bağlı mortaliteyi azalttığı görülmektedir.

2 hafta sonunda ratlardaki ağırlık değişikliklerine bakıldığında deney başına göre kilo alımı görülen kontrol grubunun aksine Dox grubunda %23,29 oranında kilo kaybı görüldü. Bu bulgumuz da aynı şekilde literatürdeki verilerle uyumludur (257, 258). Diğer gruplarda da kilo kaybının olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Dox uygulamasına bağlı görülen kilo kaybının gastrointestinal sistemde Dox'a bağlı epitel hasarının gelişmesi ve gıda isteksizliğinden dolayı olduğu düşünülmektedir (259). Dox uygulanan hayvanlarda görülen kilo kaybının bir diğer nedeni olarak Dox'un yağ dokusunda metabolik ve endokrin işlevleri bozarak adiposit ölümündeki artış gösterilmektedir (260).

Ötenazi sonrası ratların kalp dokusu tartıldı ve Dox ve SV+Dox gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma görülürken Apelin+SV+Dox grubunda Dox grubuna göre anlamlı bir iyileşme görüldü. Dox uygulaması hayvanlarda anoreksiya nervozaya neden olabilir ve bu da hem hayvanın ağırlığında hem de bununla orantılı olarak kalp ağırlığının azalmasına neden olmaktadır (261). Buna karşın bu anlamlı değişiklikler kap/rat ağırlığı kıyaslamasında ise görülmedi. Elde ettiğimiz bu sonuçlar

kalp ağırlığındaki azalmanın vücut ağırlığı ile orantılı olduğunu göstermektedir. Dox kullanımı sonucunda kardiyomiyositlerde histopatolojik düzeyde çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir. Bunlar arasında miyofibril kaybı, sitoplazmik vakuolizasyon, apopitoz ve nekroz yer almaktadır. Tüm bu değişiklikler de kalp ağırlığında azalmaya neden olduğu daha önce yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir (262). Buna ek olarak Dox'un kardiyotoksik özelliği ve kalp ağırlığında azalmaya neden olduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiş olup bizim sonuçlarımızı destekleyecek niteliktedir (262, 263). Apelin+Dox grubunda apelinin pozitif ibotropik etkileri nedeniyle kalp ağırlığında iyileşme görülmüş olup Apelin+SV+Dox grubundaki iyileşmenin nedeni olarak da apelinin etkileri olduğu düşünülmektedir.

Mohd Imran ve ark. tarafından yapılan, deneysel miyokard infarktüsü oluşturulan ve SV tedavisi uygulanan bir çalışma sonucundan elde edilen veriler bizim sonuçlarımızla uyumlu bir şekilde rat ağırlığında iyileşme sağlamadığı ancak kalp dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir (264).

Po-Cheng Chang ve ark. tarafından miyokard infarktüsüne bağlı oluşturulan kalp yetmezliği modelinde de SV grubunda deney grubuna göre kalp hızı ve vücut ağırlığı açısından anlamlı bir değişiklik gözlenmezken LVEF değerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir iyileşme görülmüştür. Bu bulgular da çalışmamızdan elde edilen verilerle benzerlik göstermektedir (265).

Hemodinamik parametrelerden olan kalp hızı ve kan basıncı değerleri gruplar arasında kıyaslandığında literatürde Dox uygulamasının kalp hızını artırdığı gösterilmesine rağmen (266) Dox uygulamasının kalp hızını etkilemediğini gösteren çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır (267, 268). Ayrıca bir başka çalışmada da Dox verilmesinin kalp hızını kontrol grubuna göre düşürmüştür (269). Bizim yaptığımız bu çalışma sonucunda da, Dox grubunda kalp hızı açısından anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi.

Robison ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Dox uygulamasının hem sistolik hem de diyastolik kan basıncını azalttığı ve bradikardiye neden olduğu gösterilmiştir (270). Çalışmamızda da aynı şekilde Dox'un sistolik kan basıncını azalttığı gösterilmiştir ancak literatürün aksine diyastolik ve ortalama kan basıncında bir değişiklik tespit edilmedi.

Literatürde apelinin hücre içi Ca^{+2} ve kalmodulin kompleks düzeyinin artışı sonucu aktive olan NOS aracılığıyla vazodilatasyona neden olduğu bildirilmektedir(21). Ayrıca apelin uygulamasının prelinik çalışmalarda hayvanlardaki hem kalp hızını hem de de kardiyak kontraktileti de artırdığı gösterilmiştir (211). Ancak fareler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda infüzyon yoluyla apelin uygulamasının kan basıncında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (212). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada da infüzyon yoluyla apelin verilmesinin vazodilatasyon sonucu hipotansiyona neden olduğu gösterilmiştir (200). Bununla birlikte apelin erjik sistemin normal endotel dokusuna sahip damarlarda oluşturduğu bu vazodilatasyon Protein Kinaz B aktivasyonu üzerinden gerçekleştirmektedir. Aktivasyonu sonrasında NOS enzimi fosforillenir ve NO sentezlenir, böylece endotel altındaki vasküler düz kas hücrelerinde cGMP artışını sağlayarak vazodilatasyon gerçekleşir (197).

Cheng ve ark. tarafından yapılan bir hayvan çalışmasında da apelin'in ratlarda ortalama arter basıncını düşürdüğü ve refleks olarak kalp hızını artırdığı gösterilmiştir (271). Ancak çalışmamızda apelin kullanımının hemodinamik parametrelerde bir değişikliğe neden olmadığı tespit edildi. Buna rağmen SV kullanımı hemodinamik parametrelerde önemli bir iyileşme gösterdi. Çalışma bulgularımıza benzer şekilde Kawa ve ark. tarafından kap yetmezliği oluşturulan hayvanlarda yapılan prelinik bir çalışmada sakubitril kullanımının sistolik, diyastolik ve ortalama kan basıncını azalttığı gösterilmiştir. Bu da çalışma bulgularımızla paralellik göstermektedir (272).

Dox ile indüklenen KY'de miyokard dokusunda ortaya çıkan hasar ve apoptoz nedeniyle sol ventrikülünde patolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişikliklerin de LV fonksiyonunda bozulmaya neden olduğu bilinmektedir. Klinik açıdan bu değişikliklerin erken dönemde tespit edilmesi hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılması yolunda önemli bir kazanım olmaktadır.

Ekokardiyografik işlemler non-invazif olup miyokard performansının değerlendirilmesinde güvenilir bir yöntem olup Dox ile indüklenen KY'nin tespit ve takibinde de kullanılmaktadır. Ekokardiyografik yöntemler sonucunda LVEF ve LVFS'nin ölçülmesi sol ventrikül fonksiyonunun değerlendirilmesinde önemli bir yere sahiptir (273). Literatürde Dox ile indüklenen KY çalışmaları Dox alan gruptaki hayvanlarda LVEF ve LVFS değerlerinin azaldığı gösterilmiştir. Bu veriler de çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile uyumluluk göstermektedir. Paiva ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (274) Dox tedavisi alan hastalarda hem LVEF hem de

LVFS’de azalma olduğu gösterilmiştir. Barış ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da Dox ile indüklenen kardiyotoksisitede (275) Dox’un sol ventrikül sistol ve diyastol sonu çaplarını artırmıştır ancak çalışmamızdaki bulgulara göre gruplar arasında bu parametreler açısından anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

Deneysel hayvan çalışmalarında apelin’in potent inotropik özelliğinin olduğu, anjiyotensin II’nin damar ve kalp dokusu üzerindeki olumsuz özelliklerine karşı antagonistik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (276). Apelin, hücre içi alkalinizasyonu da artırıp hücre içi kalsiyumu ve kalsiyum duyarlılığını artırarak kontraktiletiyi de etkilemektedir (277). Anjiyotensin II/AT1 LV’de fibrozis ve hipertrofiyi uyarırken apelinin bu etkiyi göstermeksizin kardiyak outputu artırdığı tespit edilmiştir (219). Başka bir çalışmada da 6 saatlik apelin-13 infüzyonu, kronik KY olan hastalarda artmış LVEF ve kardiyak indekste bir artışa yol açmıştır (278). Ancak çalışmamızda EKO bulguları açısından apelin tek başına anlamlı bir iyileşme sağlayamadı. Buna rağmen SV kullanımı iyileşme sağladı. Aynı şekilde Suematsu ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ratlara 4 hafta boyunca SV verilmesinin kontrol grubuna göre LVEF, stroke volüm ve kardiyak output değerlerinde ciddi iyileşmeler sağladığı gösterilmiştir (279).

Daniel ve ark, SV’nin miyokardiyal yeniden şekillenmeyi azaltıp azaltmadığını ve kardiyak perfüzyonu iyileştirip iyileştirmediğini araştırmak için LAD koroner arterin kalıcı ligasyonu ile indüklenen MI sonrası deneysel bir KY modeli oluşturulmuş. Beş hafta sonra SV’nin miyokard dokusunda CtGF ekspresyonunu azalttığı ve interstisyel fibrozu önlediği gösterilmiştir. Ayrıca SV’nin kardiyomiyosit boyutunu azalttığı da tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre SV kullanımı LV fonksiyonunda iyileşme sağlamakla birlikte kardiyak dokunun perfüzyonunu da artırdığı gösterilmiştir (280).

Çalışmamızda Dox uygulanan grupta yapılan H-E boyama sonuçları kontrol grubuna göre anlamlı derecede dejenere kardiyomiyosit, vakuolizasyon, hemoraji ve infiltrasyon artışı tespit edildi. Dox grubunda görülen bu patolojik değişiklikler Dox ile indüklenen KY bulgularını desteklemektedir ve literatür ile benzerlik göstermektedir. Yapılan bir çalışmada Dox uygulanan ratların kardiyak dokusunun bütünlüğünün bozulduğu, vasküler konjesyon ve hidropik dejenarasyonun geliştiği ve inflamatuvar hücrelerin biriktiği gösterilmiştir (281). Aynı şekilde P. Shivakumar ve ark. yaptıkları bir çalışmada da Dox’un kalp dokusunun boyunu küçülttüğü, hemoraji ve konjesyona neden olduğu bildirilmiştir (282). Yapılan bir başka çalışmada da Dox uygulamasının

ratta kardiyak dokusunda miyofibriler yapıda parçalanma ve kayıplara neden olduğu, sitoplazmik vakuolizasyon geliştiği, nekroza neden olduğu ve inflamatuvar hücre alanlarının oluştuğu gösterilmiştir (283). Warpe ve ark. da aynı şekilde Dox uygulamasının rat kardiyak dokusunda infiltrasyona neden olduğu ve nekroz gelişimini tetiklediği gösterilmiştir (284). Yapılan diğer çalışmalar sonucunda da Dox ile indüklenen KY ve hasarı durumunda çalışmamıza benzer şekilde kardiyomiyositlerde dejenerasyon, apoptoz artışı ve nekroz gelişimine neden olduğu tespit edilmiştir (285). Ayrıca Dox ilişkili kardiyotoksisite çalışmalarından elde edilen verilere göre Dox uygulaması deney hayvanlarında miyofibrillerin kısmi veya total kaybına, vakuolizasyona, nukleus-kromatin disorganizasyonuna ve kromatinin yerini soluk filamanlara bırakması gibi tipik değişikliklere neden olmaktadır (285, 286). Ancak çalışmamızda alınan aort dokusu üzerinde yapılan çalışmalarda Dox uygulanan grupta histopatolojik anlamda anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Dox uygulamasının damarda bir değişikliğe neden olmaması Dox toksisitesinin damarda segmenter tutulum yapabileceği fikrini veya deney süresinin daha uzun olması gerekliliğini güçlendirmektedir.

Bu açıdan literatürdeki benzer çalışmalar ile kıyaslandığında çalışmamızdan elde ettiğimiz verilerin benzerlik gösterdiği görülmektedir (287). Dox ile indüklenen KY'de görülen bir diğer değişiklik de apoptozis gelişimi olup apoptotik indeksi artırdığı çeşitli çalışmalar sonucu gösterilmiştir (288). Fareler üzerinde yapılan diğer çalışmalardan elde edilen veriler Dox ile indüklenen kardiyotoksisite deneylerinde ortaya çıkan histopatolojik bulgular (289, 290) çalışmamızdan elde edilen veriler ile uyumludur. Bir diğer çalışmada da Dox uygulamasının ratlarda kardiyomiyosit düzensizliğine, miyofibrillerin kaybına ve kalpte sitoplazmik vakuolizasyon gibi morfolojik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (267). Tüm bu değişiklikler hem çalışmamızla hem de literatürdeki benzer çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Yapılan bir çalışmada da çalışma bulgularımızla uyumlu bir şekilde Pyr-apelin 13'ün, son aşama KY'li hipertansif ratlara uygulanması, TNF- α , monosit kemoatraktan protein-1 ve IL gibi inflamasyon faktörlerinin azalması yanında kardiyak disfonksiyon ve kardiyovasküler yeniden şekillenmenin inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir (291). Ayrıca apelin ile aort anevrizması arasındaki ilişkiyi inceleyen ve fareler üzerinde yapılan bir çalışmada da apelin uygulamasının dokudaki makrofajları inhibe ederek inflamasyonu azattığı ve böylece aort anevrizması oluşumunu önlediği

gösterilmiştir (226) Ancak çalışmamızda aort dokusunda yapılan histopatolojik değerlendirmeler literatürdeki aksine normal olarak tespit edildi (267).

Bir başka çalışmaya göre Dox uygulaması kardiyak hasarı tetiklediği ve sadece inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olmadığı aynı zamanda miyokardiyal fibrozisi de artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular da çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir (292).

RAS'ın artırılmış aktivitesi, KY'nin ilerlemesinde anahtar bir yoldur. Bu nedenle Apelin-APJ/Apelin reseptör sisteminin RAAS üzerindeki antagonistik etkisi, Apelin'in kardiyak yeniden şekillenmeyi ve fibrozu baskılayan anahtar mekanizmalarından biridir. AT1R ve APJ'nin AT1R aktivasyonunu inhibe etmek için oligomerik etkileşimi (293), anjiyotensin II seviyelerini azaltan ACE2 ekspresyon seviyelerinin düzenlenmesi ve kalplerdeki RAAS aktivitesini aşağı regüle eder (294). Pchejetski ve ark. apelinin, SphK1 aktivitesini azaltarak, kardiyak fibroblastların TGF- β ile indüklenen aktivasyonunu ve kollajen üretimini önlediğini gösterdi (295). Ayrıca reaktif fibrozis sırasında apelin uygulamasının miyokardın yapısal yeniden şekillenmesini ve ventriküler disfonksiyonu engellediğini ve kardiyak fibrozis ile KY arasında yeni bir bağlantı ortaya koyduğunu göstermişlerdir (295).

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre SV kullanımı kardiyak fibrozisi azalttı. Aynı şekilde Muhammad Atteya ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmadan elde edilen sonuçlara göre SV tedavisi hücre nekrozu oranını, TNF- α ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokin düzeyinde iyileşme sağlamış olup fibrozis ve LVEF değerinde anlamlı iyileşmeler göstermiştir (296). LCZ696'nın sadece in vivo değil aynı zamanda in vitro ortamda da miyositler üzerinde yapılan kardiyak hipertrofiyi azalttığı tespit edilmiştir (297). Yine literatürde SV kullanımı kardiyak hipertrofiyi iyileştirdiği gösterilmiştir (298, 299). Rishi ve ark. tarafından hipertansif ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada da bulgularımızı destekleyecek nitelikte SV kullanımının LVEF'yi iyileştirdiği gösterilmiştir (300). Ancak gruplar arasında fibrozis oluşumu açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık göstermedi. Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde SV kullanımının fibrozisi iyileştirdiği tespit edildi.

Preklinik çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre KY modeli oluşturulan modellerde MMP'lerin LV yeniden şekillenmesinde ve kardiyak disfonksiyonda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (301, 302). Klinik çalışmalarda da aynı şekilde KY'si

olan hastalarda MMP-2 ve MMP-9 seviyesinin arttığı gösterilmiştir (303). Andrew T Yan ve ark tarafından yapılan bir çalışmada da plazma MMP düzeyi ile LV remodeling arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (304). Wang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada da MMP-9 uyarılmasının kollajen sentezini artırdığı ve kardiyak fibroblastların miyofibroblasta dönüşümüne neden olduğu gösterilmiştir (305). Oluşan miyofibroblastlar da ekstraselüler matriksin şekillenmesini tetiklemektedir. Tüm bunlar MMP'lerin KY'deki önemini ortaya koymaktadır. Julia Münch ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada da MMP ile kardiyak fibrozis arasında güçlü bir bağlantı bulunmuştur (306). Biz ise yaptığımız çalışmada Dox ile indüklenen KY'de histopatolojik olarak MMP-2 ve MMP-9 artışı tespit ettik ancak serum ve doku biyokimya analizinde anlamlı bir artış tespit edilemedi. Buna rağmen profilaktik gruplarda anlamlı iyileşme görüldü.

İlk olarak 2000'li yılların başlarında nükleer bir faktör olarak keşfedilen endojen IL-33'ün hücre nükleusunda eksprese edildiği ortaya konulmuştur (307, 308). Doku hasarının meydana gelmesi ile birlikte IL-33 seviyesi artar ve ekstraselüler bölgeye salınır. Ortama salgılanan IL-33 bölgedeki inflamasyonun habercisi rolünü üstlenir ve komşu hücreler ile dokuları inflamasyona karşı uyarır (309). IL-33 reseptörü ST-2 de 1989 yılında tanımlanmıştır. Normal şartlar altında saptanamazken KY gibi durumlarda seviyesi tespit edilebilir olmaktadır. Rat miyositleri üzerinde yapılan çalışmalarda sST-2'nin miyokard dokusundan salındığı tespit edilmiştir (310). Daha sonra yapılan çalışmalar ise salınımın sadece kardiyak kökenli olmadığı aynı zamanda vasküler endotel hücrelerin de görev aldığı gösterilmiştir (311). Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda LV disfonksiyonu durumunda ST-2'nin mortalite tayininde önemli olabileceği gösterilmiştir (312). Bu nedenle sST2, 2013 ACC/AHA rehberinde hastane yatışını ve mortaliteyi göstermesi nedeniyle eklenen yeni bir belirteç olmuştur (313). sST2 düzeyinin artması sonrasında IL-33'e bağlanır ve IL-33'ün ST2L'ye bağlanmasını engelleyerek kardiyoprotektif etkiyi önlediği gösterilmiştir (314, 315). Tedavi modaliteleri olarak IL-33 ve ST2L arasındaki etkileşimin sağlanması için sST2 düzeyinin azaltılması ve böylece miyokardiyal fibrozisi azaltmak hedeflenmektedir. KY hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada yüksek sST2 seviyelerinin KY şiddetini artırdığı ve ani kardiyak ölümü tetiklediği, KY'ye bağlı hastaneye yatışları artırdığı gösterilmiştir (316, 317). Çok merkezli olarak yürütülen klinik bir çalışmada da sST2 seviyesinin artmasının KY'ye bağlı hastaneye yatışı artırdığı gösterilmiştir (316). Ek

olarak fareler üzerinde transvers aortik daralma oluşturularak gerçekleştirilen bir çalışmada nedeniyle basınç aşırı yüklenmesinden sonra, ST2 düzeyinin arttığı ve aşırı LV hipertrofisinin geliştiği, fibrotik yapıların oluştuğu ve sağ kalımın azaldığı gösterilmiştir (318). Koroner arter ligasyonu ile oluşturulan deneysel MI modellerinde de ilk başta ST2 seviyesinin arttığı, kreatin kinaz ile doğru, LVEF ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir. Ancak çalışmamızdan elde edilen verilere göre ST2 açısından gruplar arasında anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi.

Anjiyotensin (1-7), RAS'ın önemli bileşenlerinden olup antifibrotik, antioksidan özelliklere sahip olması önemli kardiyoprotektif etkilere sahip olmasını mümkün kılmıştır (319, 320). ACE2 reseptör ekseninin aktive olması MI, diyabetik kardiyomiyopati ve miyokardit gibi birçok deneysel modelde koruma sağlamıştır (321, 322). Yapılan bir çalışmada ACE2'nin aşırı ekspresyonu, yetişkin erkek ratlarda Dox ile indüklenen kardiyotoksisitede hasardan korumuştur (323). Ek olarak, 2 hafta boyunca Dox (15 mg/kg) ile tedavi edilen 8-10 haftalık erkek ratlarda oluşturulan bir modelde ACE2'nin aşırı ekspresyonu diyastolik disfonksiyonu iyileştirmiştir (323). Basınç artışı uygulanarak oluşturulan bir prelinik çalışmada rekombinant ACE2 verilmesinin anjiyotensin (1-7) seviyesini artırarak dilate kardiyomiyopati bulgularını geriletmediği gösterilmiştir. Bu değişimin temel mekanizmasının JAK2/STAT3 aktivasyonuna bağlı olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca kardiyak dokuda ROS üretimini azaltarak ve NO üretimini artırarak da etki gösterdiği düşünülmüştür (324). Bir başka çalışmada da LAD ligasyonu ile MI modeli oluşturulmuş ve LV'ye verilen anjiyotensin (1-7) sonucunda LV duvarında iyileşme ile birlikte hipertrofinin önlendiği ve ACE2 aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir (325). Ancak çalışmamızdan elde edilen verilere göre gruplar arasında ACE2 seviyesinde anlamlı bir değişiklik görülmedi.

Natriüretik peptidler kalp dokusunda üretilen ve burdan salınan vazoaktif hormonlardır. pro-BNP şeklinde sentezlenir ve daha sonra enzimatik işlemlerin ardından BNP ve NT-proBNP'ye dönüşür. Acil servise başvuran hastalarda KY tanısında kullanılması önerilmektedir (326). NT-proBNP, LVEF'nin azalması, LV diyastol sonu basıncının artması, yüksek LV diyastol sonu hacim durumunda artmaktadır. Bu nedenle kardiyak fonksiyonların değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (327). Dox ile tedavi edilen meme kanseri hastalarında yapılan bir çalışmada kardiyak fonksiyonda asemptomatik azalmalar görülmüştür. Yapılan analizlerde NT-proBNP, antrasiklinin neden olduğu kardiyotoksisitenin erken tespiti için uygun bir serum biyobelirteç işlevi

görebileceği ortaya konulmuştur. Ancak bu etkinin ortaya çıkması için 3 hafta veya üzeri bir uygulama gerektiği tespit edilmiştir (328). Çalışmamızda deney sürenin düşük olması nedeniyle Dox grubunda anlamlı bir artış olmamıştır. LCZ696, valsartan ve neprilisin inhibitörü sakubitrilin moleküler bileşenlerinden oluşur. (329) SV verilen grupta NT-proBNP düzeyinin artış göstermesinin nedeni olarak sakubitrilin neprilisini inhibe ederek NT-proBNP düzeyini artırdığı düşünülmektedir.

Galektin-3, 29-35 kDa'lık ağırlığa sahip bir β -galaktosidaz bağlayıcı protein aile üyesidir (330) İntraselüler/ekstraselüler bölgede, hücre membranında veya nükleusta bulunarak hücre ile matriks arasındaki ilişkinin devam ettirilmesinde, nükleusta pre-MRNA bağlanmasının regülasyonunda ve apoptozisden korunmada görev alır (331). Ayrıca KY'de miyokardiyal fibrozun gelişimini saptamada biyolojik bir belirteç olarak kullanılmaktadır (330). Ayrıca Galektin-3 makrofajlar tarafından ortama salınarak kardiyak dokudaki fibroblastların proliferasyonunu artırdığı, kollajen birikimine neden olduğu ve LV fonksiyonunu olumsuz etkilediği bilinmektedir (332). Ky ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada önce yapılan çalışmaların aksine EKO ile saptanan ve Dox ile indüklenen kardiyotoksisiteyi yansıtan bulgular ile Galektin-3 seviyesinin korele olmadığı gösterilmiştir (333). Aynı şekilde Van boxtel ve ark. tarafından da yapılan bir klinik çalışmada antrasiklin tedavisi alan hastalarda oluşan kardiyotoksisiteyi öngörmede galektin-3'ün başarılı bir belirteç olmadığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde LVEF ile de galektin-3 seviyesi arasında anlamlı bir artış da tespit edilmemiştir (334). Biz de çalışmamızda kardiyak galektin-3 seviyesinde anlamlı bir değişiklik tespit etmedik ancak aort biyokimyasında Dox ile indüklenen KY grubunda anlamlı bir azalma, tedavi gruplarında ise anlamlı bir artış tespit edildi. Yapılan çalışmalar sonucunda Dox'un sarkoplazmik retikulumdan Ca^{+2} sızıntısına neden olduğu bilinmektedir (335). Bu değişiklikten dolayı sistolik kalsiyum seviyesi azalmakta ancak diyastolik kalsiyum seviyesi artmaktadır (336). Bu kalsiyum seviyesinin azalması KY oluşmasına da katkı sağlamaktadır.

KY patogenezinde görülen fizyolojik gerilme esnasında kardiyovasküler sistemde ROS üretiminde önemli rolü olan NADPH oksidaz (NOX) aktive olmaktadır (337, 338). NOX ile alakalı yapılan çalışmalar sonucunda miyokard dokusunda önemli ROS kaynağı olduğu görülmektedir (339). Çeşitli izoformları olan NOX'lar özellikle kardiyovasküler sistem için önemi büyüktür. Kardiyomiyositler, fibroblastlar ve endotel hücrelerinde eksprese edilen NOX2 ve NOX4 başlıca kardiyak izoformlarıdır (340). Bu

enzimler, NADPH'den kinon Dox'a bir elektron transferinde görev alan Dox semikinon radikalının oluşmasına neden olmaktadır. Böylelikle süperoksit radikal oluşumunu da tetikleyebilir. Daha sonra semikinon radikali H_2O_2 ile reaksiyona girmesi sonucunda hidroksil radikallerinin oluşumuna zemin hazırlamaktadır (341). Ayrıca, NOX'a bağımlı ROS üretimi, miyosit hipertrofisi, kontraktıl disfonksiyon, apoptoz ve fibroz gibi kardiyak yeniden şekillenmenin birkaç temel bileşenini de düzenlemektedir (342). Vasküler NADPD oksidaz sisteminin önemli özelliklerinden biri de anjiyotensin II ile indüklenebilir olmasıdır. Anjiyotensin II endotelde NADPD sistemi etkileyerek ROS üretimini tetiklemektedir ve inflamasyonu artırarak hücre büyümesi, endotel disfonksiyonu gibi patolojik değişikliklerin meydana gelmesini sağlamaktadır (343). Tüm bu nedenlere bakıldığında NADPH oksidaz aktivitesi ve ekspresyonunun deneysel LV hipertrofisi (344) ve MI'da (345) arttığı da ayrıca gözlenmiştir. Biz de yaptığımız çalışmada Dox ile indüklenen KY'de NOX-4 rolünü araştırdık ve elde ettiğimiz sonuçlara göre gruplar arasında anlamlı bir değişiklik saptanmadı.

Siklofilin A, immünofilinler olarak bilinir ve protein katlanması, T hücresi aktivasyonu ve hücre sinyali dahil olmak üzere birçok biyolojik koşulda hayati roller oynayan bir protein grubuna aittir (346). Siklofilin A'yı hücre dışı boşluğa salgılamak için çeşitli hücre tipleri tarif edilmiştir. Çeşitli çalışmalar in vitro ve in vivo olarak siklofilin A'nın inflamatuvar ve kemotaktik bir aracı olarak önemli bir hücre dışı işlevi olduğunu göstermiştir (347). Örneğin siklofilin A yüksek seviyelerde glikoz ile uyarıldıktan sonra makrofajlar tarafından salınır (348). Ayrıca, siklofilin A'nın vasküler düz kas hücreleri tarafından salınmasının abdominal aort anevrizmalarında, vasküler restenozda ve aterosklerozda vasküler inflamasyonun patofizyolojisini yüksek oranda desteklediği görülmektedir (349). Ek olarak, hem aktive trombositlerin hem de hipoksik kardiyomiyositlerin hücre dışı boşluğa siklofilin A salgıladığı gösterilmiştir (350). Hücre dışı siklofilin A insan monositleri, nötrofilleri ve T hücreleri için güçlü bir kemoatraktandır (351), ateroskleroz (349), MI ve reperfüzyon hasarı (347) ve anjiyotensin aracılı kardiyak hipertrofi (352) ve aort anevrizmaları gibi çeşitli kardiyovasküler patofizyolojilerde rol oynar. Koroner arter hastalığı olan kimselerde siklofilin A'nın plazma düzeylerinin, bozukluğun şiddetiyle orantılı olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (353). Daha önce tip 2 DM'li koroner arterhastalığı olanlarda siklofilin A'nın plazma düzeylerinin önemli ölçüde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (354). Siklofilin A'nın kardiyovasküler sistem hastalıkları için

önemli bir belirteç olabileceği de bildirilmiştir (355). Huang ve ark. akut MI'den 1 ay sonra siklofilin A plazma düzeyleri ile hastaların prognozunu öngördüğünü bildirmiştir (355). Siklofilin A ile ilgili daha derinlemesine yapılan çalışmalar, siklofilin A'nın çeşitli hücrelerde ROS'a yanıt olarak hücrelerin dışında salgılanabileceğini ve oksidatif stres derecesi arttıkça salgı miktarının arttığını belirlemiştir (356). Bu durum vasküler duvar hasarına, kardiyak fibroblastların proliferasyonuna ve göçüne, ayrıca sitokinlerin salınımına ve daha sonra parakrin mekanizmalar yoluyla kardiyomiyosit hipertrofisi ve apoptozu indükleyen daha fazla ROS üretimine yol açar. Bu, patolojik kardiyak hipertrofinin ortaya çıkması ve gelişmesiyle yakından ilişkilidir (357). Çalışmalar, çeşitli faktörlerin neden olduğu KY'si olan hastaların plazmasındaki siklofilin A ve oksidatif stres konsantrasyonunun önemli ölçüde arttığını göstermiştir (358). Bu da siklofilin A'nın vücutta kardiyak hipertrofi ve yeniden şekillenmeden KY'ye kadar olan süreçte proinflamatuvar ve prooksidatif bir faktör olarak yer aldığını düşündürmektedir. Biz de çalışmamızda siklofilin A düzeylerine baktık ancak kardiyak doku analizlerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit etmedik, buna rağmen aort dokusunda tersbir ilişki tespit edildi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Apelin, SV Apelin+SV kombinasyonunun Dox ile indüklenen KY’de profilaktik etkilerini araştırdığımız bu çalışmamızda kombinasyonun kalp ağırlığı açısından iyileşmelere neden olduğu görüldü. Ayrıca SV+Dox ve Apelin+SV+Dox gruplarında mortalitede azalmalar tespit edildi.

Kalp hızı açısından da Dox grubunda anlamlı bir değişiklik görülmemesine karşın SV verilen her iki grupta da kontrol grubuna göre anlamlı azalmalar tespit edildi. SV’nin antiaritmik etkisi ve sempatik tonusu azaltıcı özelliğe sahip olmasının bu duruma neden olduğu düşünülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar da bu fikri doğrulamaktadır (359, 360). Sistolik kan basıncı açısından bakıldığında Dox grubunda önemli bir azalma görülürken SV+Dox grubunda daha fazla olmak hem SV+Dox hemde Apelin+SV+Dox grubunda ciddi azalmalar görüldü. Apelin sistolik kan basıncını istatistiksel olarak anlamlı olmayacak bir şekilde sistolik kan basıncında bir miktar artışa neden olmuştur. Apelinin NOS bağımlı bir şekilde vazodilatasyona neden olduğu bilinmesine karşın sistolik kan basıncında bir miktar artış yapması, damar dokusunda çeşitli mekanizmalarla vazokonstriktif etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir. Bunaek olarak diyastolik ve ortalama kan basıncı açısından bakıldığında da SV+Dox grubunda daha fazla olmak üzere hem SV+Dox hem de Apelin+SV+Dox grubunda ciddi azalmalara neden olmuştur. Tüm bu bulgular sonucunda apelinin kalp hızı ve kan basıncında anlamlı olmayacak bir şekilde artışa neden olduğu tespit edildi.

EKO bulgularına bakıldığında LVEF ve LVFS parametreleri açısından Dox grubunda azalma tespit edilirken SV+Dox ve Apelin+SV+Dox grubunda iyileşmeler görüldü. Bu durum Dox’un kalbin kasılma gücünü ciddi derecede bozduğunu ve SV’nin tek başına veya apelin ile kombine kullanılmasının kalbin kontraktilesinin düzelmesine katkı sağladığını göstermektedir. Ayrıca EKO görüntülemesinde Dox grubunda sol ventrikül hipertrofisi, kardiyak efüzyon ve sol ventrikül dilatasyonu görülürken profilaktik gruplarda bu bulguların ortadan kalktığı görüldü.

Kalp dokusunda histopatolojik açıdan bakıldığında Dox grubunda dejenere kardiyomiyosit, vakuolizasyon, hemoraji, infiltrasyon, kollajen artışı, MMP-2 ve MMP-9 artışı görülürken tüm profilaktik gruplarda iyileşmeler görüldü. Ayrıca SV+Dox ve

Apelin+SV+Dox grubundaki iyileşmelerin daha fazla olduğu ortaya konuldu. Bununla birlikte aort dokusunda anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi.

Biyokimyasal sonuçlardan elde edilen veriler diğer bulgularımızı desteklememektedir. Bu nedenle biyokimyasal verilerin diğer bulgulara paralel olarak elde edilebilmesi için yeterli süre gereksinimine ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılacak ileriki çalışmalarda deney süresinin 2 haftadan daha uzun olması, tedavi gruplarına melatonin gibi antioksidan etkisi yüksek olan ajanların eklenmesi sonucunda ortaya konacak yeni bilgilerin literatürdeki ilgili alanın zenginleştirilmesi ve bu alanda çalışan bilim insanlarına yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

1. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Bohm M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European heart journal*. 2021;42(36):3599-726.
2. Abdul-Rahim AH, Shen L, Rush CJ, Jhund PS, Lees KR, McMurray JJV, et al. Effect of digoxin in patients with heart failure and mid-range (borderline) left ventricular ejection fraction. *European journal of heart failure*. 2018;20(7):1139-45.
3. Solomon SD, McMurray JJ, Anand IS, Ge J, Lam CS, Maggioni AP, et al. Angiotensin–neprilysin inhibition in heart failure with preserved ejection fraction. 2019;381(17):1609-20.
4. Lam CSP, Voors AA, Piotr P, McMurray JJV, Solomon SD. Time to rename the middle child of heart failure: heart failure with mildly reduced ejection fraction. *European heart journal*. 2020;41(25):2353-5.
5. Meyer S, Brouwers FP, Voors AA, Hillege HL, de Boer RA, Gansevoort RT, et al. Sex differences in new-onset heart failure. *Clin Res Cardiol*. 2015;104(4):342-50.
6. Brouwers FP, de Boer RA, van der Harst P, Voors AA, Gansevoort RT, Bakker SJ, et al. Incidence and epidemiology of new onset heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction in a community-based cohort: 11-year follow-up of PREVEND. *European heart journal*. 2013;34(19):1424-31.
7. Collaborators GBDM. Global, regional, and national age-sex-specific mortality and life expectancy, 1950-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet (London, England)*. 2018;392(10159):1684-735.
8. Smeets M, Vaes B, Mamouris P, Van Den Akker M, Van Pottelbergh G, Goderis G, et al. Burden of heart failure in Flemish general practices: a registry-based study in the Intego database. *BMJ open*. 2019;9(1):e022972.
9. Chioncel O, Lainscak M, Seferovic PM, Anker SD, Crespo-Leiro MG, Harjola VP, et al. Epidemiology and one-year outcomes in patients with chronic heart failure and preserved, mid-range and reduced ejection fraction: an analysis of the ESC Heart Failure Long-Term Registry. *European journal of heart failure*. 2017;19(12):1574-85.

10. Roger VL, Weston SA, Redfield MM, Hellermann-Homan JP, Killian J, Yawn BP, et al. Trends in heart failure incidence and survival in a community-based population. *JAMA*. 2004;292(3):344-50.
11. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev*. 2004;56(2):185-229.
12. Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak KJMSM. Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention--review of the literature. 2000;6(2):411-20.
13. Myers CE, McGuire WP, Liss RH, Ifrim I, Grotzinger K, Young RC. Adriamycin: the role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science*. 1977;197(4299):165-7.
14. De Beer EL, Bottone AE, Voest EE. Doxorubicin and mechanical performance of cardiac trabeculae after acute and chronic treatment: a review. *Eur J Pharmacol*. 2001;415(1):1-11.
15. Robinson TW, Giri SNJLs. Effects of chronic administration of doxorubicin on myocardial beta-adrenergic receptors. 1986;39(8):731-6.
16. Singal PK, Pierce GN. Adriamycin stimulates low-affinity Ca²⁺ binding and lipid peroxidation but depresses myocardial function. *Am J Physiol*. 1986;250(3 Pt 2):H419-25.
17. Momparler RL, Karon M, Siegel SE, Avila F. Effect of adriamycin on DNA, RNA, and protein synthesis in cell-free systems and intact cells. *Cancer Res*. 1976;36(8):2891-5.
18. Pommier Y, Leo E, Zhang H, Marchand CJC, biology. DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. 2010;17(5):421-33.
19. Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak K. Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention--review of the literature. *Med Sci Monit*. 2000;6(2):411-20.
20. Sauer AJ, Cole R, Jensen BC, Pal J, Sharma N, Yehya A, et al. Practical guidance on the use of sacubitril/valsartan for heart failure. 2019;24(2):167-76.

21. Tatemoto K, Takayama K, Zou M-X, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, et al. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. 2001;99(2-3):87-92.
22. Cleland JGF, Bunting KV, Flather MD, Altman DG, Holmes J, Coats AJS, et al. Beta-blockers for heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: an individual patient-level analysis of double-blind randomized trials. European heart journal. 2018;39(1):26-35.
23. Bozkurt B, Coats AJS, Tsutsui H, Abdelhamid CM, Adamopoulos S, Albert N, et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association. European journal of heart failure. 2021;23(3):352-80.
24. Galderisi M, Cosyns B, Edvardsen T, Cardim N, Delgado V, Di Salvo G, et al. Standardization of adult transthoracic echocardiography reporting in agreement with recent chamber quantification, diastolic function, and heart valve disease recommendations: an expert consensus document of the European Association of Cardiovascular Imaging. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2017;18(12):1301-10.
25. Arrigo M, Huber LC, Winnik S, Mikulicic F, Guidetti F, Frank M, et al. Right Ventricular Failure: Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. Cardiac failure review. 2019;5(3):140-6.
26. Gorter TM, van Veldhuisen DJ, Bauersachs J, Borlaug BA, Celutkienė J, Coats AJS, et al. Right heart dysfunction and failure in heart failure with preserved ejection fraction: mechanisms and management. Position statement on behalf of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. European journal of heart failure. 2018;20(1):16-37.
27. Felker GM, Pina IL, O'Connor CM, Lindenfeld J, Januzzi JL, Cohen LS, et al. Clinical Implications of the New York Heart Association Classification. 2019.

28. Solomon SD, Claggett B, Packer M, Desai A, Zile MR, Swedberg K, et al. Efficacy of Sacubitril/Valsartan Relative to a Prior Decompensation: The PARADIGM-HF Trial. *JACC Heart Fail.* 2016;4(10):816-22.
29. Conrad N, Judge A, Tran J, Mohseni H, Hedgecott D, Crespillo AP, et al. Temporal trends and patterns in heart failure incidence: a population-based study of 4 million individuals. *Lancet (London, England).* 2018;391(10120):572-80.
30. van Riet EE, Hoes AW, Limburg A, Landman MA, van der Hoeven H, Rutten FH. Prevalence of unrecognized heart failure in older persons with shortness of breath on exertion. *European journal of heart failure.* 2014;16(7):772-7.
31. Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2018;137(12):e67-e492.
32. Koh AS, Tay WT, Teng THK, Vedin O, Benson L, Dahlstrom U, et al. A comprehensive population-based characterization of heart failure with mid-range ejection fraction. *European journal of heart failure.* 2017;19(12):1624-34.
33. James SL, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. 2018;392(10159):1789-858.
34. Vedin O, Lam CSP, Koh AS, Benson L, Teng THK, Tay WT, et al. Significance of Ischemic Heart Disease in Patients With Heart Failure and Preserved, Midrange, and Reduced Ejection Fraction: A Nationwide Cohort Study. *Circ Heart Fail.* 2017;10(6):e003875.
35. Heiat A, Gross CP, Krumholz HM. Representation of the elderly, women, and minorities in heart failure clinical trials. *Arch Intern Med.* 2002;162(15):1682-8.
36. Gerber Y, Weston SA, Redfield MM, Chamberlain AM, Manemann SM, Jiang R, et al. A contemporary appraisal of the heart failure epidemic in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010. *JAMA Intern Med.* 2015;175(6):996-1004.
37. Tsao CW, Lyass A, Enserro D, Larson MG, Ho JE, Kizer JR, et al. Temporal Trends in the Incidence of and Mortality Associated With Heart Failure With Preserved and Reduced Ejection Fraction. *JACC Heart Fail.* 2018;6(8):678-85.

38. Motiejūnaitė J, Akiyama E, Cohen-Solal A, Maggioni AP, Mueller C, Choi D-J, et al. The association of long-term outcome and biological sex in patients with acute heart failure from different geographic regions. 2020;41(13):1357-64.
39. Dunlay SM, Roger VL, Weston SA, Jiang R, Redfield MM. Longitudinal changes in ejection fraction in heart failure patients with preserved and reduced ejection fraction. *Circ Heart Fail*. 2012;5(6):720-6.
40. Tsuji K, Sakata Y, Nochioka K, Miura M, Yamauchi T, Onose T, et al. Characterization of heart failure patients with mid-range left ventricular ejection fraction—a report from the CHART-2 Study. 2017;19(10):1258-69.
41. Lupón J, Gavidia-Bovadilla G, Ferrer E, de Antonio M, Perera-Lluna A, López-Ayerbe J, et al. Dynamic trajectories of left ventricular ejection fraction in heart failure. 2018;72(6):591-601.
42. Pocock SJ, Ariti CA, McMurray JJ, Maggioni A, Kober L, Squire IB, et al. Predicting survival in heart failure: a risk score based on 39 372 patients from 30 studies. *European heart journal*. 2013;34(19):1404-13.
43. Taylor CJ, Ordonez-Mena JM, Roalfe AK, Lay-Flurrie S, Jones NR, Marshall T, et al. Trends in survival after a diagnosis of heart failure in the United Kingdom 2000-2017: population based cohort study. *BMJ*. 2019;364:l223.
44. Barasa A, Schaufelberger M, Lappas G, Swedberg K, Dellborg M, Rosengren A. Heart failure in young adults: 20-year trends in hospitalization, aetiology, and case fatality in Sweden. *European heart journal*. 2014;35(1):25-32.
45. Lorenzoni G, Azzolina D, Lanera C, Brianti G, Gregori D, Vanuzzo D, et al. Time trends in first hospitalization for heart failure in a community-based population. *Int J Cardiol*. 2018;271:195-9.
46. Lawson CA, Zaccardi F, Squire I, Ling S, Davies MJ, Lam CSP, et al. 20-year trends in cause-specific heart failure outcomes by sex, socioeconomic status, and place of diagnosis: a population-based study. *Lancet Public Health*. 2019;4(8): e406-e20.
47. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007;93(9):1137-46.

48. Savarese G, Lund LH. Global Public Health Burden of Heart Failure. *Cardiac failure review*. 2017;3(1):7-11.
49. Kelder JC, Cramer MJ, Verweij WM, Grobbee DE, Hoes AW. Clinical utility of three B-type natriuretic peptide assays for the initial diagnostic assessment of new slow-onset heart failure. *J Card Fail*. 2011;17(9):729-34.
50. Mant J, Doust J, Roalfe A, Barton P, Cowie MR, Glasziou P, et al. Systematic review and individual patient data meta-analysis of diagnosis of heart failure, with modelling of implications of different diagnostic strategies in primary care. *Health Technol Assess*. 2009;13(32):1-207, iii.
51. Gohar A, Rutten FH, den Ruijter H, Kelder JC, von Haehling S, Anker SD, et al. Mid-regional pro-atrial natriuretic peptide for the early detection of non-acute heart failure. *European journal of heart failure*. 2019;21(10):1219-27.
52. Lancellotti P, Galderisi M, Edvardsen T, Donal E, Goliasch G, Cardim N, et al. Echo-Doppler estimation of left ventricular filling pressure: results of the multicentre EACVI Euro-Filling study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017;18(9):961-8.
53. Gardner RS, Ozalp F, Murday AJ, Robb SD, McDonagh TA. N-terminal pro-brain natriuretic peptide. A new gold standard in predicting mortality in patients with advanced heart failure. *European heart journal*. 2003;24(19):1735-43.
54. Mueller C, McDonald K, de Boer RA, Maisel A, Cleland JGF, Kozhuharov N, et al. Heart Failure Association of the European Society of Cardiology practical guidance on the use of natriuretic peptide concentrations. *European journal of heart failure*. 2019;21(6):715-31.
55. Madamanchi C, Alhosaini H, Sumida A, Runge MS. Obesity and natriuretic peptides, BNP and NT-proBNP: mechanisms and diagnostic implications for heart failure. *Int J Cardiol*. 2014;176(3):611-7.
56. Verdú JM, Comín-Colet J, Domingo M, Lupón J, Gómez M, Molina L, et al. Rapid point-of-care NT-proBNP optimal cut-off point for heart failure diagnosis in primary care. 2012;65(7):613-9.

57. Taylor CJ, Roalfe AK, Iles R, Hobbs FR, investigators R, Barton P, et al. Primary care REFerral for Echocardiogram (REFER) in heart failure: a diagnostic accuracy study. *Br J Gen Pract.* 2017;67(655):e94-e102.
58. Sicari R, Nihoyannopoulos P, Evangelista A, Kasprzak J, Lancellotti P, Poldermans D, et al. Stress Echocardiography Expert Consensus Statement--Executive Summary: European Association of Echocardiography (EAE) (a registered branch of the ESC). *European heart journal.* 2009;30(3):278-89.
59. Lancellotti P, Pellikka PA, Budts W, Chaudhry FA, Donal E, Dulgheru R, et al. The clinical use of stress echocardiography in non-ischaemic heart disease: recommendations from the European Association of Cardiovascular Imaging and the American Society of Echocardiography. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2016;17(11):1191-229.
60. Gonzalez JA, Kramer CM. Role of Imaging Techniques for Diagnosis, Prognosis and Management of Heart Failure Patients: Cardiac Magnetic Resonance. *Curr Heart Fail Rep.* 2015;12(4):276-83.
61. Witteles RM, Bokhari S, Damy T, Elliott PM, Falk RH, Fine NM, et al. Screening for Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy in Everyday Practice. *JACC Heart Fail.* 2019;7(8):709-16.
62. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *European heart journal.* 2020;41(3):407-77.
63. Members ATF, McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. 2012;33(14):1787-847.
64. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med.* 2014;371(11):993-1004.

65. Velazquez EJ, Morrow DA, DeVore AD, Duffy CI, Ambrosy AP, McCague K, et al. Angiotensin-Neprilysin Inhibition in Acute Decompensated Heart Failure. *N Engl J Med*. 2019;380(6):539-48.
66. McMurray JJV, Solomon SD, Inzucchi SE, Kober L, Kosiborod MN, Martinez FA, et al. Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *N Engl J Med*. 2019;381(21):1995-2008.
67. Packer M, Anker SD, Butler J, Filippatos G, Pocock SJ, Carson P, et al. Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med*. 2020;383(15):1413-24.
68. Garg R, Yusuf S. Overview of randomized trials of angiotensin-converting enzyme inhibitors on mortality and morbidity in patients with heart failure. Collaborative Group on ACE Inhibitor Trials. *JAMA*. 1995;273(18):1450-6.
69. Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, Wedel H, Waagstein F, Kjekshtus J, et al. Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and well-being in patients with heart failure: the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in congestive heart failure (MERIT-HF). MERIT-HF Study Group. *JAMA*. 2000;283(10):1295-302.
70. Fowler MB. Effects of beta blockers on symptoms and functional capacity in heart failure. *The American journal of cardiology*. 1997;80(11A):55L-8L.
71. Willenheimer R, van Veldhuisen DJ, Silke B, Erdmann E, Follath F, Krum H, et al. Effect on survival and hospitalization of initiating treatment for chronic heart failure with bisoprolol followed by enalapril, as compared with the opposite sequence: results of the randomized Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS) III. *Circulation*. 2005;112(16):2426-35.
72. Kotecha D, Holmes J, Krum H, Altman DG, Manzano L, Cleland JG, et al. Efficacy of beta blockers in patients with heart failure plus atrial fibrillation: an individual-patient data meta-analysis. *Lancet (London, England)*. 2014;384 (9961): 2235-43.

73. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med*. 1999;341(10):709-17.
74. Rywik TM. [Summary of the article: Zannad F, McMurray JJV, Krum H et al.; for the EMPHASIS-HF Study Group. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *N Engl J Med*, 2011; 364: 11-21]. *Kardiologia polska*. 2011;69(6):631-2.
75. Seferovic JP, Claggett B, Seidelmann SB, Seely EW, Packer M, Zile MR, et al. Effect of sacubitril/valsartan versus enalapril on glycaemic control in patients with heart failure and diabetes: a post-hoc analysis from the PARADIGM-HF trial. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2017;5(5):333-40.
76. Damman K, Gori M, Claggett B, Jhund PS, Senni M, Lefkowitz MP, et al. Renal Effects and Associated Outcomes During Angiotensin-Neprilysin Inhibition in Heart Failure. *JACC Heart Fail*. 2018;6(6):489-98.
77. Desai AS, Vardeny O, Claggett B, McMurray JJ, Packer M, Swedberg K, et al. Reduced Risk of Hyperkalemia During Treatment of Heart Failure With Mineralocorticoid Receptor Antagonists by Use of Sacubitril/Valsartan Compared With Enalapril: A Secondary Analysis of the PARADIGM-HF Trial. *JAMA cardiology*. 2017;2(1):79-85.
78. Vardeny O, Claggett B, Kachadourian J, Desai AS, Packer M, Rouleau J, et al. Reduced loop diuretic use in patients taking sacubitril/valsartan compared with enalapril: the PARADIGM-HF trial. *European journal of heart failure*. 2019;21(3):337-41.
79. Vardeny O, Claggett B, Kachadourian J, Pearson SM, Desai AS, Packer M, et al. Incidence, Predictors, and Outcomes Associated With Hypotensive Episodes Among Heart Failure Patients Receiving Sacubitril/Valsartan or Enalapril: The PARADIGM-HF Trial (Prospective Comparison of Angiotensin Receptor Neprilysin Inhibitor With Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor to Determine Impact on Global Mortality and Morbidity in Heart Failure). *Circ Heart Fail*. 2018;11(4):e004745.

80. Morrow DA, Velazquez EJ, DeVore AD, Desai AS, Duffy CI, Ambrosy AP, et al. Clinical Outcomes in Patients With Acute Decompensated Heart Failure Randomly Assigned to Sacubitril/Valsartan or Enalapril in the PIONEER-HF Trial. *Circulation*. 2019;139(19):2285-8.
81. Jackson AM, Dewan P, Anand IS, Belohlavek J, Bengtsson O, de Boer RA, et al. Dapagliflozin and Diuretic Use in Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction in DAPA-HF. *Circulation*. 2020;142(11):1040-54.
82. Bhatt DL, Szarek M, Steg PG, Cannon CP, Leiter LA, McGuire DK, et al. Sotagliflozin in Patients with Diabetes and Recent Worsening Heart Failure. *N Engl J Med*. 2021;384(2):117-28.
83. Faris R, Flather M, Purcell H, Henein M, Poole-Wilson P, Coats A. Current evidence supporting the role of diuretics in heart failure: a meta analysis of randomised controlled trials. *Int J Cardiol*. 2002;82(2):149-58.
84. Rohde LE, Rover MM, Figueiredo Neto JA, Danzmann LC, Bertoldi EG, Simoes MV, et al. Short-term diuretic withdrawal in stable outpatients with mild heart failure and no fluid retention receiving optimal therapy: a double-blind, multicentre, randomized trial. *European heart journal*. 2019;40(44):3605-12.
85. Granger CB, McMurray JJ, Yusuf S, Held P, Michelson EL, Olofsson B, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function intolerant to angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Alternative trial. *Lancet (London, England)*. 2003;362(9386):772-6.
86. Cohn JN, Tognoni G, Valsartan Heart Failure Trial I. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. *N Engl J Med*. 2001;345(23):1667-75.
87. Swedberg K, Komajda M, Bohm M, Borer J, Robertson M, Tavazzi L, et al. Effects on outcomes of heart rate reduction by ivabradine in patients with congestive heart failure: is there an influence of beta-blocker dose?: findings from the SHIFT (Systolic Heart failure treatment with the I(f) inhibitor ivabradine Trial) study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2012;59(22):1938-45.

88. Bohm M, Borer J, Ford I, Gonzalez-Juanatey JR, Komajda M, Lopez-Sendon J, et al. Heart rate at baseline influences the effect of ivabradine on cardiovascular outcomes in chronic heart failure: analysis from the SHIFT study. *Clin Res Cardiol.* 2013;102(1):11-22.
89. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, Carson P, D'Agostino R, Jr., Ferdinand K, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med.* 2004;351(20):2049-57.
90. Cohn JN, Archibald DG, Ziesche S, Franciosa JA, Harston WE, Tristani FE, et al. Effect of vasodilator therapy on mortality in chronic congestive heart failure. Results of a Veterans Administration Cooperative Study. *N Engl J Med.* 1986;314(24):1547-52.
91. Digitalis Investigation G. The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure. *N Engl J Med.* 1997;336(8):525-33.
92. Vamos M, Erath JW, Hohnloser SH. Digoxin-associated mortality: a systematic review and meta-analysis of the literature. *European heart journal.* 2015;36(28):1831-8.
93. Ouyang AJ, Lv YN, Zhong HL, Wen JH, Wei XH, Peng HW, et al. Meta-analysis of digoxin use and risk of mortality in patients with atrial fibrillation. *The American journal of cardiology.* 2015;115(7):901-6.
94. Ziff OJ, Lane DA, Samra M, Griffith M, Kirchhof P, Lip GY, et al. Safety and efficacy of digoxin: systematic review and meta-analysis of observational and controlled trial data. *BMJ.* 2015;351:h4451.
95. Freeman JV, Reynolds K, Fang M, Udaltsova N, Steimle A, Pomernacki NK, et al. Digoxin and risk of death in adults with atrial fibrillation: the ATRIA-CVRN study. *Circulation Arrhythmia and electrophysiology.* 2015;8(1):49-58.
96. Washam JB, Stevens SR, Lokhnygina Y, Halperin JL, Breithardt G, Singer DE, et al. Digoxin use in patients with atrial fibrillation and adverse cardiovascular outcomes: a retrospective analysis of the Rivaroxaban Once Daily Oral Direct Factor Xa Inhibition Compared with Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation (ROCKET AF). *Lancet (London, England).* 2015;385(9985):2363-70.

97. Rathore SS, Curtis JP, Wang Y, Bristow MR, Krumholz HM. Association of serum digoxin concentration and outcomes in patients with heart failure. *JAMA*. 2003;289(7):871-8.
98. Bavendiek U, Berliner D, Davila LA, Schwab J, Maier L, Philipp SA, et al. Rationale and design of the DIGIT-HF trial (DIGitoxin to Improve ouTcomes in patients with advanced chronic Heart Failure): a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *European journal of heart failure*. 2019;21(5):676-84.
99. Armstrong PW, Pieske B, Anstrom KJ, Ezekowitz J, Hernandez AF, Butler J, et al. Vericiguat in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *N Engl J Med*. 2020;382(20):1883-93.
100. Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, McMurray JJV, Metra M, Solomon SD, et al. Cardiac Myosin Activation with Omecamtiv Mecarbil in Systolic Heart Failure. *N Engl J Med*. 2021;384(2):105-16.
101. Kapoor JR, Kapoor R, Ju C, Heidenreich PA, Eapen ZJ, Hernandez AF, et al. Precipitating Clinical Factors, Heart Failure Characterization, and Outcomes in Patients Hospitalized With Heart Failure With Reduced, Borderline, and Preserved Ejection Fraction. *JACC Heart Fail*. 2016;4(6):464-72.
102. Yusuf S, Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, Held P, McMurray JJ, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left- ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial. *Lancet (London, England)*. 2003;362(9386):777-81.
103. Lund LH, Claggett B, Liu J, Lam CS, Jhund PS, Rosano GM, et al. Heart failure with mid-range ejection fraction in CHARM: characteristics, outcomes and effect of candesartan across the entire ejection fraction spectrum. *European journal of heart failure*. 2018;20(8):1230-9.
104. Rogers JK, Pocock SJ, McMurray JJ, Granger CB, Michelson EL, Ostergren J, et al. Analysing recurrent hospitalizations in heart failure: a review of statistical methodology, with application to CHARM-Preserved. *European journal of heart failure*. 2014;16(1):33-40.

105. van Veldhuisen DJ, Cohen-Solal A, Bohm M, Anker SD, Babalis D, Roughton M, et al. Beta-blockade with nebivolol in elderly heart failure patients with impaired and preserved left ventricular ejection fraction: Data From SENIORS (Study of Effects of Nebivolol Intervention on Outcomes and Rehospitalization in Seniors With Heart Failure). *Journal of the American College of Cardiology*. 2009;53(23):2150-8.
106. Solomon SD, Claggett B, Lewis EF, Desai A, Anand I, Sweitzer NK, et al. Influence of ejection fraction on outcomes and efficacy of spironolactone in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *European heart journal*. 2016;37(5):455-62.
107. Solomon SD, Vaduganathan M, B LC, Packer M, Zile M, Swedberg K, et al. Sacubitril/Valsartan Across the Spectrum of Ejection Fraction in Heart Failure. *Circulation*. 2020;141(5):352-61.
108. Hai OY, Mentz RJ, Zannad F, Gasparini M, De Ferrari GM, Daubert JC, et al. Cardiac resynchronization therapy in heart failure patients with less severe left ventricular dysfunction. *European journal of heart failure*. 2015;17(2):135-43.
109. Feldman T, Mauri L, Kahwash R, Litwin S, Ricciardi MJ, van der Harst P, et al. Transcatheter Interatrial Shunt Device for the Treatment of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction (REDUCE LAP-HF I [Reduce Elevated Left Atrial Pressure in Patients With Heart Failure]): A Phase 2, Randomized, Sham- Controlled Trial. *Circulation*. 2018;137(4):364-75.
110. Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, Held P, McMurray JJ, Michelson EL, et al. Effects of candesartan on mortality and morbidity in patients with chronic heart failure: the CHARM-Overall programme. *Lancet (London, England)*. 2003;362(9386): 759-66.
111. Stewart S, Playford D, Scalia GM, Currie P, Celermajer DS, Prior D, et al. Ejection fraction and mortality: a nationwide register-based cohort study of 499 153 women and men. *European journal of heart failure*. 2021;23(3):406-16.
112. Borlaug BA. Evaluation and management of heart failure with preserved ejection fraction. *Nature reviews Cardiology*. 2020;17(9):559-73.

113. Pieske B, Tschöpe C, De Boer RA, Fraser AG, Anker SD, Donal E, et al. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). 2019;40(40):3297-317.
114. Ouwerkerk W, Tromp J, Jin X, Jaufeerally F, Yeo PSD, Leong KTG, et al. Heart failure with preserved ejection fraction diagnostic scores in an Asian population. *European journal of heart failure*. 2020;22(9):1737-9.
115. Sanders-van Wijk S, Aizpurua AB, Brunner-La Rocca HP, Henkens MT, Weerts J, Knackstedt C, et al. The HFA-PEFF and H2FPEF scores largely disagree in classifying patients with suspected heart failure with preserved ejection fraction. 2021;23(5):838.
116. Halliday BP, Wassall R, Lota AS, Khalique Z, Gregson J, Newsome S, et al. Withdrawal of pharmacological treatment for heart failure in patients with recovered dilated cardiomyopathy (TRED-HF): an open-label, pilot, randomised trial. *Lancet (London, England)*. 2019;393(10166):61-73.
117. Lupon J, Gavidia-Bovadilla G, Ferrer E, de Antonio M, Perera-Lluna A, Lopez-Ayerbe J, et al. Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Infrequently Evolves Toward a Reduced Phenotype in Long-Term Survivors. *Circ Heart Fail*. 2019;12(3):e005652.
118. Savarese G, Vedin O, D'Amario D, Uijl A, Dahlstrom U, Rosano G, et al. Prevalence and Prognostic Implications of Longitudinal Ejection Fraction Change in Heart Failure. *JACC Heart Fail*. 2019;7(4):306-17.
119. Barandiarán Aizpurua A, Sanders-van Wijk S, Brunner-La Rocca HP, Henkens M, Heymans S, Beussink-Nelson L, et al. Validation of the HFA-PEFF score for the diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction. 2020;22(3):413-21.
120. Cleland JG, Tendera M, Adamus J, Freemantle N, Gray CS, Lye M, et al. Perindopril for elderly people with chronic heart failure: the PEP-CHF study. The PEP investigators. *European journal of heart failure*. 1999;1(3):211-7.
121. Massie BM, Carson PE, McMurray JJ, Komajda M, McKelvie R, Zile MR, et al. Irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *N Engl J Med*. 2008;359(23):2456-67.

122. Ahmed A, Rich MW, Fleg JL, Zile MR, Young JB, Kitzman DW, et al. Effects of digoxin on morbidity and mortality in diastolic heart failure: the ancillary digitalis investigation group trial. *Circulation*. 2006;114(5):397-403.
123. Flather MD, Shibata MC, Coats AJ, Van Veldhuisen DJ, Parkhomenko A, Borbola J, et al. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *European heart journal*. 2005;26(3):215-25.
124. Redfield MM, Anstrom KJ, Levine JA, Koepp GA, Borlaug BA, Chen HH, et al. Isosorbide Mononitrate in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med*. 2015;373(24):2314-24.
125. Borlaug BA, Anstrom KJ, Lewis GD, Shah SJ, Levine JA, Koepp GA, et al. Effect of inorganic nitrite vs placebo on exercise capacity among patients with heart failure with preserved ejection fraction: the INDIE-HFpEF randomized clinical trial. 2018;320(17):1764-73.
126. Armstrong PW, Lam CSP, Anstrom KJ, Ezekowitz J, Hernandez AF, O'Connor CM, et al. Effect of Vericiguat vs Placebo on Quality of Life in Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction: The VITALITY-HFpEF Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020;324(15):1512-21.
127. Udelson JE, Lewis GD, Shah SJ, Zile MR, Redfield MM, Burnett J, Jr., et al. Effect of Praliquat on Peak Rate of Oxygen Consumption in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: The CAPACITY HFpEF Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020;324(15):1522-31.
128. Fang JC, Ewald GA, Allen LA, Butler J, Westlake Canary CA, Colvin-Adams M, et al. Advanced (stage D) heart failure: a statement from the Heart Failure Society of America Guidelines Committee. *J Card Fail*. 2015;21(6):519-34.
129. Xanthakis V, Enserro DM, Larson MG, Wollert KC, Januzzi JL, Levy D, et al. Prevalence, Neurohormonal Correlates, and Prognosis of Heart Failure Stages in the Community. *JACC Heart Fail*. 2016;4(10):808-15.

130. Crespo-Leiro MG, Metra M, Lund LH, Milicic D, Costanzo MR, Filippatos G, et al. Advanced heart failure: a position statement of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *European journal of heart failure*. 2018;20(11):1505-35.
131. Miró Ò, Garcia Sarasola A, Fuenzalida C, Calderón S, Jacob J, Aguirre A, et al. Departments involved during the first episode of acute heart failure and subsequent emergency department revisits and rehospitalisations: an outlook through the NOVICA cohort. 2019;21(10):1231-44.
132. Tomasoni D, Lombardi CM, Sbolli M, Cotter G, Metra M. Acute heart failure: More questions than answers. *Progress in cardiovascular diseases*. 2020;63(5):599- 606.
133. Nieminen MS, Brutsaert D, Dickstein K, Drexler H, Follath F, Harjola VP, et al. EuroHeart Failure Survey II (EHFS II): a survey on hospitalized acute heart failure patients: description of population. *European heart journal*. 2006;27(22):2725-36.
134. Butt JH, Fosbol EL, Gerds TA, Andersson C, McMurray JJV, Petrie MC, et al. Readmission and death in patients admitted with new-onset versus worsening of chronic heart failure: insights from a nationwide cohort. *European journal of heart failure*. 2020;22(10):1777-85.
135. Wu AH, Tabas J, Stein J, Potocki M, Mueller C, McCord J, et al. The effect of diabetes on the diagnostic and prognostic performance of mid-region pro-atrial natriuretic peptide and mid-region pro-adrenomedullin in patients with acute dyspnea. *Biomarkers*. 2012;17(6):490-7.
136. Masip J, Peacock WF, Price S, Cullen L, Martin-Sanchez FJ, Seferovic P, et al. Indications and practical approach to non-invasive ventilation in acute heart failure. *European heart journal*. 2018;39(1):17-25.
137. Núñez J, Llàcer P, García-Blas S, Bonanad C, Ventura S, Núñez JM, et al. CA125-guided diuretic treatment versus usual care in patients with acute heart failure and renal dysfunction. 2020;133(3):370-80. e4.
138. Nikolaou M, Parissis J, Yilmaz MB, Seronde MF, Kivikko M, Laribi S, et al. Liver function abnormalities, clinical profile, and outcome in acute decompensated heart failure. *European heart journal*. 2013;34(10):742-9.

139. Möckel M, de Boer RA, Slagman AC, von Haehling S, Schou M, Vollert JO, et al. Improve Management of acute heart failure with ProcAICiTonin in EUrope: results of the randomized clinical trial IMPACT EU Biomarkers in Cardiology (BIC) 18. 2020;22(2):267-75.
140. Masip J, Gaya M, Paez J, Betbese A, Vecilla F, Manresa R, et al. Pulse oximetry in the diagnosis of acute heart failure. *Revista espanola de cardiologia (English ed)*. 2012;65(10):879-84.
141. Javaloyes P, Miró Ò, Gil V, Martín-Sánchez FJ, Jacob J, Herrero P, et al. Clinical phenotypes of acute heart failure based on signs and symptoms of perfusion and congestion at emergency department presentation and their relationship with patient management and outcomes. 2019;21(11):1353-65.
142. Chioncel O, Mebazaa A, Harjola VP, Coats AJ, Piepoli MF, Crespo-Leiro MG, et al. Clinical phenotypes and outcome of patients hospitalized for acute heart failure: the ESC Heart Failure Long-Term Registry. *European journal of heart failure*. 2017;19(10):1242-54.
143. Shah AM, Mann DL. In search of new therapeutic targets and strategies for heart failure: recent advances in basic science. *Lancet (London, England)*. 2011;378(9792):704-12.
144. Jameson JL, Kasper DL, Fauci AS, Harrison's principles of internal medicine 2018.
145. Braunwald E. The war against heart failure: the Lancet lecture. *Lancet (London, England)*. 2015;385(9970):812-24.
146. Pagani FD, Baker LS, Hsi C, Knox M, Fink MP, Visner MS. Left ventricular systolic and diastolic dysfunction after infusion of tumor necrosis factor-alpha in conscious dogs. *The Journal of clinical investigation*. 1992;90(2):389-98.
147. Easa J, Chappell J, Warriner DJPN. Understanding the pathogenesis of heart failure. 2021;32(2):54-8.
148. Kemp CD, Conte JV. The pathophysiology of heart failure. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. 2012;21(5):365-71.
149. Griffin BP, CTD MV, WWMCCADJMOTI. Manual of cardiovascular medicine. 2013.

150. Mann DL, Zipes DP, Braunwald E. Braunwald's heart disease : a textbook of cardiovascular medicine 2015.
151. Carey RM, Siragy HM. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocrine reviews*. 2003;24(3):261-71.
152. Beltowski J, Wojcicka G. Regulation of renal tubular sodium transport by cardiac natriuretic peptides: two decades of research. *Med Sci Monit*. 2002;8(2):RA39-52.
153. Hartmann F, Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Krum H, Mohacsi P, et al. NT-proBNP in severe chronic heart failure: rationale, design and preliminary results of the COPERNICUS NT-proBNP substudy. *European journal of heart failure*. 2004;6(3):343-50.
154. Mebazaa A, Yilmaz MB, Levy P, Ponikowski P, Peacock WF, Laribi S, et al. Recommendations on pre-hospital and early hospital management of acute heart failure: a consensus paper from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, the European Society of Emergency Medicine and the Society of Academic Emergency Medicine--short version. *European heart journal*. 2015;36(30):1958-66.
155. Harjola P, Miro O, Martin-Sanchez FJ, Escalada X, Freund Y, Penalzoza A, et al. Pre-hospital management protocols and perceived difficulty in diagnosing acute heart failure. *ESC Heart Fail*. 2020;7(1):289-96.
156. Park JH, Balmain S, Berry C, Morton JJ, McMurray JJ. Potentially detrimental cardiovascular effects of oxygen in patients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *Heart*. 2010;96(7):533-8.
157. Gray A, Goodacre S, Newby DE, Masson M, Sampson F, Nicholl J, et al. Noninvasive ventilation in acute cardiogenic pulmonary edema. *N Engl J Med*. 2008;359(2):142-51.
158. Felker GM, Ellison DH, Mullens W, Cox ZL, Testani JM. Diuretic Therapy for Patients With Heart Failure: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology*. 2020;75(10):1178-95.

159. Ter Maaten JM, Martens P, Damman K, Dickstein K, Ponikowski P, Lang CC, et al. Higher doses of loop diuretics limit up-titration of angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *Clin Res Cardiol.* 2020;109(8):1048-59.
160. Kapelios CJ, Laroche C, Crespo-Leiro MG, Anker SD, Coats AJS, Diaz-Molina B, et al. Association between loop diuretic dose changes and outcomes in chronic heart failure: observations from the ESC-EORP Heart Failure Long-Term Registry. *European journal of heart failure.* 2020;22(8):1424-37.
161. Damman K, Kjekshus J, Wikstrand J, Cleland JG, Komajda M, Wedel H, et al. Loop diuretics, renal function and clinical outcome in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *European journal of heart failure.* 2016;18(3):328-36.
162. Ambrosy AP, Pang PS, Khan S, Konstam MA, Fonarow GC, Traver B, et al. Clinical course and predictive value of congestion during hospitalization in patients admitted for worsening signs and symptoms of heart failure with reduced ejection fraction: findings from the EVEREST trial. *European heart journal.* 2013;34(11):835-43.
163. Faselis C, Arundel C, Patel S, Lam PH, Gottlieb SS, Zile MR, et al. Loop Diuretic Prescription and 30-Day Outcomes in Older Patients With Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology.* 2020;76(6):669-79.
164. Young JB, Abraham WT, Stevenson L, Horton D, Elkayam U, Bourge RJJ- JotAMA. Intravenous nesiritide vs nitroglycerin for treatment of decompensated congestive heart failure-A randomized controlled trial. 2002;287(12):1531-40.
165. Mebazaa A, Motiejunaite J, Gayat E, Crespo-Leiro MG, Lund LH, Maggioni AP, et al. Long-term safety of intravenous cardiovascular agents in acute heart failure: results from the European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry. *European journal of heart failure.* 2018;20(2):332-41.
166. Freund Y, Cachanado M, Delannoy Q, Laribi S, Yordanov Y, Gorlicki J, et al. Effect of an Emergency Department Care Bundle on 30-Day Hospital Discharge and Survival Among Elderly Patients With Acute Heart Failure: The ELISABETH Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020;324(19):1948-56.

167. Maack C, Eschenhagen T, Hamdani N, Heinzl FR, Lyon AR, Manstein DJ, et al. Treatments targeting inotropy. *European heart journal*. 2019;40(44):3626-44.
168. Ahmad T, Miller PE, McCullough M, Desai NR, Riello R, Psotka M, et al. Why has positive inotropy failed in chronic heart failure? Lessons from prior inotrope trials. *European journal of heart failure*. 2019;21(9):1064-78.
169. Mebazaa A, Nieminen MS, Filippatos GS, Cleland JG, Salon JE, Thakkar R, et al. Levosimendan vs. dobutamine: outcomes for acute heart failure patients on beta-blockers in SURVIVE. *European journal of heart failure*. 2009;11(3):304-11.
170. Caspi O, Naami R, Halfin E, Aronson DJ. Adverse dose-dependent effects of morphine therapy in acute heart failure. 2019;293:131-6.
171. Miro O, Gil V, Martin-Sanchez FJ, Herrero-Puente P, Jacob J, Mebazaa A, et al. Morphine use in the ED and outcomes of patients with acute heart failure: a propensity score-matching analysis based on the EAHFE registry. 2017;152(4):821-32.
172. Tebbe U, Schellong SM, Haas S, Gerlach HE, Abletshauser C, Sieder C, et al. Certoparin versus unfractionated heparin to prevent venous thromboembolic events in patients hospitalized because of heart failure: a subgroup analysis of the randomized, controlled CERTIFY study. *American heart journal*. 2011;161(2):322-8.
173. Seferović PM, Piepoli MF, Lopatin Y, Jankowska E, Polovina M, Anguita-Sanchez M, et al. Heart Failure Association of the European Society of Cardiology Quality of Care Centres Programme: design and accreditation document. 2020;22(5):763-74.
174. Tehrani BN, Truesdell AG, Psotka MA, Rosner C, Singh R, Sinha SS, et al. A Standardized and Comprehensive Approach to the Management of Cardiogenic Shock. *JACC Heart Fail*. 2020;8(11):879-91.
175. Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Santos MS, et al. Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Curr Med Chem*. 2009;16(25):3267-85.

176. Mihailović-Stanojević N, Jovović D, Miloradović Z, Grujić-Milanović J, Jerkić M, Marković-Lipkovski JJNdt. Reduced progression of adriamycin nephropathy in spontaneously hypertensive rats treated by losartan. 2009;24(4):1142-50.
177. Dragojević-Simić V, Dobrić S, Jaćević V, Bokonjić D, Milosavljević I, Kovačević A, et al. Efficacy of amifostine in protection against doxorubicin-induced acute cardiotoxic effects in rats. 2013;70(1):38-45.
178. Minotti G. Reactions of adriamycin with microsomal iron and lipids. *Free Radic Res Commun*. 1989;7(3-6):143-8.
179. Kassner N, Huse K, Martin H-J, Gödtel-Armbrust U, Metzger A, Meineke I, et al. Carbonyl reductase 1 is a predominant doxorubicin reductase in the human liver. 2008;36(10):2113-20.
180. Hideg K, Kalai T. Novel antioxidants in anthracycline cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol*. 2007;7(2):160-4.
181. Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 13e. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 13e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2017.
182. Speth PA, van Hoesel QG, Haanen C. Clinical pharmacokinetics of doxorubicin. *Clinical pharmacokinetics*. 1988;15(1):15-31.
183. Viereckl M, Alojibaily N, Hydock D, Han Y. The Role of Creatine Supplementation in Alleviating Doxorubicin Induced Hepatotoxicity. 2020.
184. Whalen KFRPTA. Lippincott's illustrated reviews : pharmacology. Philadelphia, Pa.: Wolters Kluwer; 2015.
185. Pommier Y, Leo E, Zhang H, Marchand C. DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chemistry & biology*. 2010;17(5):421-33.
186. Pointon AV, Walker TM, Phillips KM, Luo J, Riley J, Zhang SD, et al. Doxorubicin in vivo rapidly alters expression and translation of myocardial electrontransport chain genes, leads to ATP loss and caspase 3 activation. *PLoS One*. 2010;5(9):e12733.

187. Renu K, VG A, Picchia PJMmodcau. T., & Arunachalam, S.(2018).818:241-53.
188. Vargel I, Erdem A, Ertoy D, Pinar A, Erk Y, Altundag MK, et al. Effects of growth factors on doxorubicin-induced skin necrosis: documentation of histomorphological alterations and early treatment by GM-CSF and G-CSF. *Ann Plast Surg.* 2002;49(6):646-53.
189. Ener RA, Meglathery SB, Styler M. Extravasation of systemic hemato-oncological therapies. *Ann Oncol.* 2004;15(6):858-62.
190. Outomuro D, Grana DR, Azzato F, Milei J. Adriamycin-induced myocardial toxicity: new solutions for an old problem? *Int J Cardiol.* 2007;117(1):6-15.
191. Willis MS, Parry TL, Brown DI, Mota RI, Huang W, Beak JY, et al. Doxorubicin exposure causes subacute cardiac atrophy dependent on the striated muscle–specific ubiquitin ligase MuRF1. 2019;12(3):e005234.
192. Lebrecht D, Setzer B, Rohrbach R, Walker UA. Mitochondrial DNA and its respiratory chain products are defective in doxorubicin nephrosis. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19(2):329-36.
193. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and biophysical research communications.* 1998;251(2):471-6.
194. Bełtowski JJMSM. Apelin and visfatin: unique. 2006;12(6):RA112-RA9.
195. Lee DK, Lanca AJ, Cheng R, Nguyen T, Ji XD, Gobeil F, Jr., et al. Agonist-independent nuclear localization of the Apelin, angiotensin AT1, and bradykinin B2 receptors. *J Biol Chem.* 2004;279(9):7901-8.
196. Castan-Laurell I, Dray C, Knauf C, Kunduzova O, Valet P. Apelin, a promising target for type 2 diabetes treatment? *Trends in endocrinology and metabolism: TEM.* 2012;23(5):234-41.
197. Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF. The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. *Arq Bras Cardiol.* 2008;90(5):343-9.

198. Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, et al. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochimica et biophysica acta*. 2001;1538(2-3):162-71.
199. Beltowski J. Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity? *Med Sci Monit*. 2006;12(6):RA112-9.
200. Japp AG, Cruden NL, Amer DA, Li VK, Goudie EB, Johnston NR, et al. Vascular effects of apelin in vivo in man. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008;52(11):908-13.
201. Mesmin C, Dubois M, Becher F, Fenaille F, Ezan E. Liquid chromatography /tandem mass spectrometry assay for the absolute quantification of the expected circulating apelin peptides in human plasma. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM*. 2010;24(19):2875-84.
202. Wang LY, Diao ZL, Zhang DL, Zheng JF, Zhang QD, Ding JX, et al. The regulatory peptide apelin: a novel inhibitor of renal interstitial fibrosis. *Amino acids*. 2014;46(12):2693-704.
203. Chapman NA, Dupre DJ, Rainey JK. The apelin receptor: physiology, pathology, cell signalling, and ligand modulation of a peptide-activated class A GPCR. *Biochem Cell Biol*. 2014;92(6):431-40.
204. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*. 2000;74(1):34-41.
205. Katugampola SD, Kuc RE, Maguire JJ, Davenport AP. G-protein-coupled receptors in human atherosclerosis: comparison of vasoconstrictors (endothelin and thromboxane) with recently de-orphanized (urotensin-II, apelin and ghrelin) receptors. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2002;103 Suppl 48:171S-5S.
206. Zhong J-C, Zhang Z-Z, Wang W, McKinnie SM, Vederas JC, Oudit GYJBeBA-MBoD. Targeting the apelin pathway as a novel therapeutic approach for cardiovascular diseases. 2017;1863(8):1942-50.
207. Ahmed SM, Angers S. Emerging non-canonical functions for heterotrimeric G proteins in cellular signaling. *Journal of receptor and signal transduction research*. 2013;33(3):177-83.

208. Kang Y, Kim J, Anderson JP, Wu J, Gleim SR, Kundu RK, et al. Apelin-APJ signaling is a critical regulator of endothelial MEF2 activation in cardiovascular development. *Circulation research*. 2013;113(1):22-31.
209. Kuba K, Sato T, Imai Y, Yamaguchi TJP. Apelin and Elabela/Toddler; double ligands for APJ/Apelin receptor in heart development, physiology, and pathology. 2019;111:62-70.
210. Kleinz MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & therapeutics*. 2005;107(2):198-211.
211. Berry MF, Pirolli TJ, Jayasankar V, Burdick J, Morine KJ, Gardner TJ, et al. Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. *Circulation*. 2004;110(11 Suppl 1):II187-93.
212. Lee DK, Saldivia VR, Nguyen T, Cheng R, George SR, O'Dowd BF. Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action. *Endocrinology*. 2005;146(1):231-6.
213. Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, Nishiwaki S, Iguchi T, Harada S, et al. Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J Biol Chem*. 2004;279(25):26274-9.
214. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, et al. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*. 2001;99(2-3):87-92.
215. Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, et al. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *J Neurochem*. 2001;77(4):1085-96.
216. El Messari S, Iturrioz X, Fassot C, De Mota N, Roesch D, Llorens-Cortes C. Functional dissociation of apelin receptor signaling and endocytosis: implications for the effects of apelin on arterial blood pressure. *J Neurochem*. 2004;90(6):1290- 301.
217. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem*. 2003;84(5):1162-72.

218. Ashley EA, Powers J, Chen M, Kundu R, Finsterbach T, Caffarelli A, et al. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc Res*. 2005;65(1):73-82.
219. Ashley E, Chun HJ, Quertermous T. Opposing cardiovascular roles for the angiotensin and apelin signaling pathways. *J Mol Cell Cardiol*. 2006;41(5):778-81.
220. Földes G, Horkay F, Szokodi I, Vuolteenaho O, Ilves M, Lindstedt KA, et al. Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure. 2003;308(3):480-5.
221. Ellinor PT, Low AF, Macrae CA. Reduced apelin levels in lone atrial fibrillation. *European heart journal*. 2006;27(2):222-6.
222. Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *European journal of heart failure*. 2008;10(8):725-32.
223. Przewlocka-Kosmala M, Kotwica T, Mysiak A, Kosmala W. Reduced circulating apelin in essential hypertension and its association with cardiac dysfunction. *J Hypertens*. 2011;29(5):971-9.
224. Azizi Y, Faghihi M, Imani A, Roghani M, Zekri A, Mobasheri MB, et al. Post- infarct treatment with [Pyr1] apelin-13 improves myocardial function by increasing neovascularization and overexpression of angiogenic growth factors in rats. 2015;761:101-8.
225. Chun HJ, Ali ZA, Kojima Y, Kundu RK, Sheikh AY, Agrawal R, et al. Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *The Journal of clinical investigation*. 2008;118(10):3343-54.
226. Leeper NJ, Tedesco MM, Kojima Y, Schultz GM, Kundu RK, Ashley EA, et al. Apelin prevents aortic aneurysm formation by inhibiting macrophage inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;296(5):H1329-35.
227. Tamargo M, Tamargo J. Future drug discovery in renin-angiotensin-aldosterone system intervention. *Expert Opin Drug Discov*. 2017;12(8):827-48.
228. Malek V, Gaikwad AB. Neprilysin inhibitors: A new hope to halt the diabetic cardiovascular and renal complications? *Biomed Pharmacother*. 2017;90:752-9.

229. Colafella KMM, Bovée DM, Danser AJJEer. The renin-angiotensin-aldosterone system and its therapeutic targets. 2019;186:107680.
230. Volpe M, Carnovali M, Mastromarino V. The natriuretic peptides system in the pathophysiology of heart failure: from molecular basis to treatment. Clinical science (London, England : 1979). 2016;130(2):57-77.
231. Fu S, Ping P, Wang F, Luo L. Synthesis, secretion, function, metabolism and application of natriuretic peptides in heart failure. J Biol Eng. 2018;12(1):2.
232. Daniels LB, Maisel ASJJotAcoc. Natriuretic peptides. 2007;50(25):2357-68.
233. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. Endocrine reviews. 2006;27(1):47-72.
234. Singh JSS, Burrell LM, Cherif M, Squire IB, Clark AL, Lang CC. Sacubitril/valsartan: beyond natriuretic peptides. Heart. 2017;103(20):1569-77.
235. Luchner A, Stevens TL, Borgeson DD, Redfield M, Wei CM, Porter JG, et al. Differential atrial and ventricular expression of myocardial BNP during evolution of heart failure. Am J Physiol. 1998;274(5):H1684-9.
236. Chen HH. Heart failure: a state of brain natriuretic peptide deficiency or resistance or both! : American College of Cardiology Foundation Washington, DC; 2007.
237. Doust J, Lehman R, Glasziou P. The role of BNP testing in heart failure. Am Fam Physician. 2006;74(11):1893-8.
238. Fala L. Entresto (Sacubitril/Valsartan): First-in-Class Angiotensin Receptor Neprilysin Inhibitor FDA Approved for Patients with Heart Failure. American health & drug benefits. 2015;8(6):330-4.
239. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, et al. Dual angiotensin receptor and neprilysin inhibition as an alternative to angiotensin-converting enzyme inhibition in patients with chronic systolic heart failure: rationale for and design of the Prospective comparison of ARNI with ACEI to Determine Impact on Global Mortality and morbidity in Heart Failure trial (PARADIGM-HF). European journal of heart failure. 2013;15(9):1062-73.

240. Jhund PS, McMurray JJ. The neprilysin pathway in heart failure: a review and guide on the use of sacubitril/valsartan. *Heart*. 2016;102(17):1342-7.
241. Mangiafico S, Costello-Boerrigter LC, Andersen IA, Cataliotti A, Burnett JC, Jr. Neutral endopeptidase inhibition and the natriuretic peptide system: an evolving strategy in cardiovascular therapeutics. *European heart journal*. 2013;34(12):886-93c.
242. Dargad RR, Prajapati MR, Dargad RR, Parekh JD. Sacubitril/valsartan: A novel angiotensin receptor-neprilysin inhibitor. *Indian heart journal*. 2018;70 Suppl 1(Suppl 1):S102-S10.
243. Gardner DG, Chen S, Glenn DJ, Grigsby CL. Molecular biology of the natriuretic peptide system: implications for physiology and hypertension. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2007;49(3):419-26.
244. von Lueder TG, Wang BH, Kompa AR, Huang L, Webb R, Jordaan P, et al. Angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 attenuates cardiac remodeling and dysfunction after myocardial infarction by reducing cardiac fibrosis and hypertrophy. *Circ Heart Fail*. 2015;8(1):71-8.
245. Kobalava Z, Kotovskaya Y, Averkov O, Pavlikova E, Moiseev V, Albrecht D, et al. Pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles of sacubitril/valsartan (LCZ 696) in patients with heart failure and reduced ejection fraction. 2016;34(4):191-8.
246. Wu Z, Zhao X, Miyamoto A, Zhao S, Liu C, Zheng W, et al. Effects of steroidal saponins extract from *Ophiopogon japonicus* root ameliorates doxorubicin-induced chronic heart failure by inhibiting oxidative stress and inflammatory response. *Pharmaceutical biology*. 2019;57(1):176-83.
247. Topcu A, Saral S, Mercantepe T, Akyildiz K, Tumkaya L, Yilmaz A. The effects of apelin-13 against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Drug and chemical toxicology*. 2021:1-11.
248. Trivedi RK, Polhemus DJ, Li Z, Yoo D, Koiwaya H, Scarborough A, et al. Combined Angiotensin Receptor-Neprilysin Inhibitors Improve Cardiac and Vascular Function Via Increased NO Bioavailability in Heart Failure. *Journal of the American Heart Association*. 2018;7(5).

249. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976;72:248-54.
250. Fida N, Pina IL. Trends in heart failure hospitalizations. *Curr Heart Fail Rep*. 2012;9(4):346-53.
251. Kim Y, Ma AG, Kitta K, Fitch SN, Ikeda T, Ihara Y, et al. Anthracycline-induced suppression of GATA-4 transcription factor: implication in the regulation of cardiac myocyte apoptosis. *Mol Pharmacol*. 2003;63(2):368-77.
252. Iarussi D, Indolfi P, Casale F, Martino V, Di Tullio MT, Calabro R. Anthracycline-induced cardiotoxicity in children with cancer: strategies for prevention and management. *Paediatr Drugs*. 2005;7(2):67-76.
253. Leandro J, Dyck J, Poppe D, Shore R, Airhart C, Greenberg M, et al. Cardiac dysfunction late after cardiotoxic therapy for childhood cancer. *The American journal of cardiology*. 1994;74(11):1152-6.
254. Cappetta D, Esposito G, Coppini R, Piegari E, Russo R, Ciuffreda LP, et al. Effects of ranolazine in a model of doxorubicin-induced left ventricle diastolic dysfunction. *Br J Pharmacol*. 2017;174(21):3696-712.
255. Sugiyama K, Sasano T, Kurokawa J, Takahashi K, Okamura T, Kato N, et al. Oxidative Stress Induced Ventricular Arrhythmia and Impairment of Cardiac Function in Nos1ap Deleted Mice. *Int Heart J*. 2016;57(3):341-9.
256. Vasić M, Lončar-Turukalo T, Tasić T, Matić M, Glumac S, Bajić D, et al. Cardiovascular variability and β -ARs gene expression at two stages of doxorubicin–Induced cardiomyopathy. 2019;362:43-51.
257. Herman EH, Zhang J, Chadwick DP, Ferrans VJ. Comparison of the protective effects of amifostine and dexrazoxane against the toxicity of doxorubicin in spontaneously hypertensive rats. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2000;45(4):329-34.
258. Herman EH, Zhang J, Ferrans VJ. Comparison of the protective effects of desferrioxamine and ICRF-187 against doxorubicin-induced toxicity in spontaneously hypertensive rats. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1994;35(2):93-100.

259. McLean BA, Patel VB, Zhabyeyev P, Chen X, Basu R, Wang F, et al. PI3K α pathway inhibition with doxorubicin treatment results in distinct biventricular atrophy and remodeling with right ventricular dysfunction. 2019;8(9):e010961.
260. Biondo LA, Lima Junior EA, Souza CO, Cruz MM, Cunha RD, Alonso-Vale MI, et al. Impact of Doxorubicin Treatment on the Physiological Functions of White Adipose Tissue. PLoS One. 2016;11(3):e0151548.
261. Oflaz S, Yucel B, Oz F, Sahin D, Ozturk N, Yaci O, et al. Assessment of myocardial damage by cardiac MRI in patients with anorexia nervosa. Int J Eat Disord. 2013;46(8):862-6.
262. Zare MFR, Rakhshan K, Aboutaleb N, Nikbakht F, Naderi N, Bakhshesh M, et al. Apigenin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity via reducing oxidative stress and apoptosis in male rats. Life Sci. 2019;232:116623.
263. Shaker RA, Abboud SH, Assad HC, Hadi N. Enoxaparin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis. BMC Pharmacol Toxicol. 2018;19(1):3.
264. Imran M, Hassan MQ, Akhtar MS, Rahman O, Akhtar M, Najmi AKJC, et al. Sacubitril and valsartan protect from experimental myocardial infarction by ameliorating oxidative damage in Wistar rats. 2019;41(1):62-9.
265. Chang P-C, Lin S-F, Chu Y, Wo H-T, Lee H-L, Huang Y-C, et al. LCZ696 therapy reduces ventricular tachyarrhythmia inducibility in a myocardial infarction-induced heart failure rat model. 2019;2019.
266. Botelho AFM, Lempek MR, Branco SEM, Nogueira MM, de Almeida ME, Costa AG, et al. Coenzyme Q10 cardioprotective effects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in Wistar Rat. 2019:1-13.
267. Disli OM, Sarihan E, Colak MC, Vardi N, Polat A, Yagmur J, et al. Effects of molsidomine against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. Eur Surg Res. 2013;51(1-2):79-90.
268. Ammar E-SM, Said SA, El-Damarawy SL, Suddek GMJPb. Cardioprotective effect of grape-seed proanthocyanidins on doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats. 2013;51(3):339-44.

269. Shah SL, Mali VR, Zambare GN, Bodhankar SL. Cardioprotective Activity of Methanol Extract of fruit of *Trichosanthes cucumerina* on Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in Wistar Rats. *Toxicol Int.* 2012;19(2):167-72.
270. Robison TW, Giri SN, Schiedt M, Parker HR, Ishizaki G, Curry DL. Effects of intravenous infusion of doxorubicin on blood chemistry, blood pressure and heart rate in rabbits. *J Appl Toxicol.* 1985;5(6):382-7.
271. Cheng X, Cheng XS, Pang CCJEjop. Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. 2003;470(3):171-5.
272. Dizaye K, Ali RHJBP, Toxicology. Effects of neprilysin-renin inhibition in comparison with neprilysin-angiotensin inhibition on the neurohumoral changes in rats with heart failure. 2019;20(1):1-7.
273. Thavendiranathan P, Grant AD, Negishi T, Plana JC, Popovic ZB, Marwick TH. Reproducibility of echocardiographic techniques for sequential assessment of left ventricular ejection fraction and volumes: application to patients undergoing cancer chemotherapy. *Journal of the American College of Cardiology.* 2013;61(1):77-84.
274. Paiva MG, Petrilli AS, Moisés VA, Macedo CRD, Tanaka C, Campos OJPb, et al. Cardioprotective effect of dexrazoxane during treatment with doxorubicin: a study using low-dose dobutamine stress echocardiography. 2005;45(7):902-8.
275. Barış VÖ. EMPAGLİFLOZİNİN SIÇANLARDA DOKSORUBİSİN İLE OLUŞTURULAN KARDİYOMİYOPATİ ÜZERİNE ETKİSİ. 2021.
276. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. 2000;74(1):34-41.
277. Szokodi I, Tavi P, Földes Gb, Voutilainen-Myllylä S, Ilves M, Tokola H, et al. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. 2002;91(5):434-40.
278. Barnes GD, Alam S, Carter G, Pedersen CM, Lee KM, Hubbard TJ, et al. Sustained cardiovascular actions of APJ agonism during renin–angiotensin system activation and in patients with heart failure. 2013;6(3):482-91.

279. Suematsu Y, Miura Si, Goto M, Matsuo Y, Arimura T, Kuwano T, et al. LCZ696, an angiotensin receptor–neprilysin inhibitor, improves cardiac function with the attenuation of fibrosis in heart failure with reduced ejection fraction in streptozotocin-induced diabetic mice. 2016;18(4):386-93.
280. Pfau D, Thorn SL, Zhang J, Mikush N, Renaud JM, Klein R, et al. Angiotensin receptor neprilysin inhibitor attenuates myocardial remodeling and improves infarct perfusion in experimental heart failure. 2019;9(1):1-13.
281. El-Agamy DS, Abo-Haded HM, Elkablawy MA. Cardioprotective effects of sitagliptin against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Exp Biol Med* (Maywood). 2016;241(14):1577-87.
282. Shivakumar P, Rani MU, Reddy AG, Anjaneyulu Y. A study on the toxic effects of Doxorubicin on the histology of certain organs. *Toxicol Int*. 2012;19(3):241-4.
283. Swamy AV, Wangikar U, Koti B, Thippeswamy A, Ronad P, Manjula DJIjop. Cardioprotective effect of ascorbic acid on doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats. 2011;43(5):507.
284. Warpe VS, Mali VR, Arulmozhi S, Bodhankar SL, Mahadik KRJJJoam. Cardioprotective effect of ellagic acid on doxorubicin induced cardiotoxicity in wistar rats. 2015;5(1):1-8.
285. Billingham M, Mason J, Bristow M, Daniels JJCTR. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. 1978;62(6):865-72.
286. Bertinchant J, Polge A, Juan J, Oliva-Lauraire M, Giuliani I, Marty-Double C, et al. Evaluation of cardiac troponin I and T levels as markers of myocardial damage in doxorubicin-induced cardiomyopathy rats, and their relationship with echocardiographic and histological findings. 2003;329(1-2):39-51.
287. Dai GF, Wang Z, Zhang JY. Octreotide protects doxorubicin-induced cardiac toxicity via regulating oxidative stress. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22 (18): 6139-48.
288. Elsurur C, Onal M, Selimoglu N, Erdur O, Yilmaz M, Erdogan E, et al. Postconditioning Ozone Alleviates Ischemia-Reperfusion Injury and Enhances Flap Endurance in Rats. *J Invest Surg*. 2020;33(1):15-24.

289. Mettler FP, Young DM, Ward JM. Adriamycin-induced cardiotoxicity (cardiomyopathy and congestive heart failure) in rats. *Cancer Res.* 1977;37(8 Pt 1): 2705-13.
290. Lenčová-Popelová O, Jirkovský E, Mazurová Y, Lenčo J, Adamcová M, Šimůnek T, et al. Molecular remodeling of left and right ventricular myocardium in chronic anthracycline cardiotoxicity and post-treatment follow up. 2014;9(5):e96055.
291. Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, Nishiwaki S, Iguchi T, Harada S, et al. Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. 2004;279(25):26274-9.
292. Cigremis Y, Parlakpınar H, Polat A, Colak C, Ozturk F, Sahna E, et al. Beneficial role of aminoguanidine on acute cardiomyopathy related to doxorubicin-treatment. *Mol Cell Biochem.* 2006;285(1-2):149-54.
293. Siddiquee K, Hampton J, McAnally D, May LT, Smith LHJBjop. The apelinreceptor inhibits the angiotensin II type 1 receptor via allosteric trans-inhibition. 2013;168(5):1104-17.
294. Zhang Z, Bo Y, Tao G-zJCmj. Apelin protects against cardiomyocyte apoptosis induced by glucose deprivation. 2009;122(19):2360-5.
295. Pchejetski D, Foussal C, Alfarano C, Lairez O, Calise D, Guilbeau-Frugier C, et al. Apelin prevents cardiac fibroblast activation and collagen production through inhibition of sphingosine kinase 1. 2012;33(18):2360-9.
296. Atteya M, Mohamed RA, Ahmed AM, Abdel-Baky NA, Alfayez MA, AlmalkeHD, et al. Lisinopril has a cardio-protective effect on experimental acute autoimmune myocarditis in rats. 2016;32(4):405-12.
297. von Lueder TG, Wang BH, Kompa AR, Huang L, Webb R, Jordaan P, et al. Angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 attenuates cardiac remodeling and dysfunction after myocardial infarction by reducing cardiac fibrosis and hypertrophy. 2015;8(1):71-8.
298. Ge Q, Zhao L, Liu C, Ren X, Yu Y-h, Pan C, et al. LCZ696, an Angiotensin Receptor-Neprilysin inhibitor, improves cardiac hypertrophy and fibrosis and cardiac lymphatic remodeling in transverse aortic constriction model mice. 2020;2020.

299. Suematsu Y, Jing W, Nunes A, Kashyap ML, Khazaeli M, Vaziri ND, et al. LCZ696 (sacubitril/valsartan), an angiotensin-receptor neprilysin inhibitor, attenuates cardiac hypertrophy, fibrosis, and vasculopathy in a rat model of chronic kidney disease. 2018;24(4):266-75.
300. Trivedi RK, Yoo D, Polhemus DJ, Koiwaya H, Zibilich C, Kapusta DR, et al. LCZ696 Attenuates Myocardial Fibrosis in Hypertensive Rats in the Setting of Heart Failure. 2017;136(suppl_1):A16508-A.
301. Coker ML, Thomas CV, Clair MJ, Hendrick JW, Krombach RS, Galis ZS, et al. Myocardial matrix metalloproteinase activity and abundance with congestive heart failure. 1998;274(5):H1516-H23.
302. Spinale FG, Coker ML, Thomas CV, Walker JD, Mukherjee R, Hebbar LJC. Time-dependent changes in matrix metalloproteinase activity and expression during the progression of congestive heart failure: relation to ventricular and myocyte function. 1998;82(4):482-95.
303. Reinhardt D, Sigusch H, Henße J, Tyagi S, Körfer R, Figulla HJH. Cardiac remodelling in end stage heart failure: upregulation of matrix metalloproteinase (MMP) irrespective of the underlying disease, and evidence for a direct inhibitory effect of ACE inhibitors on MMP. 2002;88(5):525-30.
304. Yan AT, Yan RT, Spinale FG, Afzal R, Gunasinghe HR, Arnold M, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 level is correlated with left ventricular volumes and ejection fraction in patients with heart failure. 2006;12(7):514-9.
305. Wang Y, Xu F, Chen J, Shen X, Deng Y, Xu L, et al. Matrix metalloproteinase-9 induces cardiac fibroblast migration, collagen and cytokine secretion: inhibition by salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza*. 2011;19(1):13-9.
306. Münch J, Avanesov M, Bannas P, Säring D, Krämer E, Mearini G, et al. Serum matrix metalloproteinases as quantitative biomarkers for myocardial fibrosis and sudden cardiac death risk stratification in patients with hypertrophic cardiomyopathy. 2016;22(10):845-50.
307. Baekkevold ES, Roussigné M, Yamanaka T, Johansen F-E, Jahnsen FL, Amalric F, et al. Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. 2003;163(1):69-79.

308. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. 2005;23(5):479-90.
309. Pei C, Barbour M, Fairlie-Clarke KJ, Allan D, Mu R, Jiang HRJL. Emerging role of interleukin-33 in autoimmune diseases. 2014;141(1):9-17.
310. Weinberg EO, Shimpo M, De Keulenaer GW, MacGillivray C, Tominaga S-i, Solomon SD, et al. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. 2002;106(23):2961-6.
311. Truong QA, Januzzi JL, Szymonifka J, Thai W-e, Wai B, Lavender Z, et al. Coronary sinus biomarker sampling compared to peripheral venous blood for predicting outcomes in patients with severe heart failure undergoing cardiac resynchronization therapy: the BIOCRT study. 2014;11(12):2167-75.
312. Aimo A, Vergaro G, Passino C, Ripoli A, Ky B, Miller WL, et al. Prognostic value of soluble suppression of tumorigenicity-2 in chronic heart failure: a meta-analysis. 2017;5(4):280-6.
313. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013;62(16):e147-e239.
314. Dalal JJ, Digrajkar A, Das B, Bansal M, Toomu A, Maisel ASJLh. ST2 elevation in heart failure, predictive of a high early mortality. 2018;70(6):822-7.
315. Kakkar R, Lee RTJNdD. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. 2008;7(10):827-40.
316. Vorovich E, French B, Ky B, Goldberg L, Fang JC, Sweitzer NK, et al. Biomarker predictors of cardiac hospitalization in chronic heart failure: a recurrent event analysis. 2014;20(8):569-76.
317. Ky B, French B, McCloskey K, Rame JE, McIntosh E, Shahi P, et al. High-sensitivity ST2 for prediction of adverse outcomes in chronic heart failure. 2011;4(2):180-7.

318. Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreiter ER, McKenzie AN, Lee RTJTJoci. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. 2007;117(6):1538-49.
319. Gallagher P, Arter A, Deng G, Tallant EJCmc. Angiotensin-(1-7): a peptide hormone with anti-cancer activity. 2014;21(21):2417-23.
320. Rabelo LA, Alenina N, Bader MJHR. ACE2–angiotensin-(1–7)–Mas axis and oxidative stress in cardiovascular disease. 2011;34(2):154-60.
321. Sukumaran V, Veeraveedu PT, Gurusamy N, Lakshmanan AP, Yamaguchi Ki, Ma M, et al. Telmisartan acts through the modulation of ACE-2/ANG 1–7/mas receptor in rats with dilated cardiomyopathy induced by experimental autoimmune myocarditis. 2012;90(7-8):289-300.
322. Mori J, Patel VB, Abo Alrob O, Basu R, Altamimi T, DesAulniers J, et al. Angiotensin 1–7 ameliorates diabetic cardiomyopathy and diastolic dysfunction in db/db mice by reducing lipotoxicity and inflammation. 2014;7(2):327-39.
323. Ma H, Kong J, Wang Y-L, Li J-L, Hei N-H, Cao X-R, et al. Angiotensin- converting enzyme 2 overexpression protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy by multiple mechanisms in rats. 2017;8(15):24548.
324. Zhong J, Basu R, Guo D, Chow FL, Byrns S, Schuster M, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 suppresses pathological hypertrophy, myocardial fibrosis, and cardiac dysfunction. 2010;122(7):717-28.
325. Qi Y, Shenoy V, Wong F, Li H, Afzal A, Mocco J, et al. Lentivirus-mediated overexpression of angiotensin-(1–7) attenuated ischaemia-induced cardiac pathophysiology. 2011;96(9):863-74.
326. Eryılmaz U, Serdar OA, İlgenli TF, Albayrak S, Dirican M, Serdar Z, et al. St segment yükselmeli miyokard enfarktüsü'nde n–terminal pro–brain natriüretik peptid düzeyinin prognostik önemi. 2014.
327. Lainchbury JG, Campbell E, Frampton CM, Yandle TG, Nicholls MG, Richards AMJJotACoC. Brain natriuretic peptide and n-terminal brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure in patients with acute shortness of breath. 2003;42(4):728-35.

328. Kittiwarawut A, Vorasettakarnkij Y, Tanasanvimon S, Manasnayakorn S, Sriuranpong VJAPJoCO. Serum NT-pro BNP in the early detection of doxorubicin-induced cardiac dysfunction. 2013;9(2):155-61.
329. Voors AA, Dorhout B, van der Meer PJEoid. The potential role of valsartan+ AHU377 (LCZ696) in the treatment of heart failure. 2013;22(8):1041-7.
330. Lok DJ, Van Der Meer P, Lipsic E, Van Wijngaarden J, Hillege HL, van Veldhuisen DJJCriC. Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic heart failure: data from the DEAL-HF study. 2010;99(5):323- 8.
331. Coli A, Bigotti G, Zucchetti F, Negro F, Massi GJH. Galectin-3, a marker of well-differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules with cytological atypia. 2002;40(1):80-7.
332. Liu M-H, Wang C-H, Chiou A-F, Yang N-I, Kuo L-TJBrfn. Factors associated with inadequate effectiveness of a multidisciplinary disease management program in heart failure patients stratified by galectin 3 level. 2017;19(1):77-86.
333. Ky B, Putt M, Sawaya H, French B, Januzzi JL, Sebag IA, et al. Early increases in multiple biomarkers predict subsequent cardiotoxicity in patients with breast cancer treated with doxorubicin, taxanes, and trastuzumab. 2014;63(8):809-16.
334. Van Boxtel W, Bulten B, Mavinkurve-Groothuis A, Bellersen L, Mandigers C, Joosten L, et al. New biomarkers for early detection of cardiotoxicity after treatment with docetaxel, doxorubicin and cyclophosphamide. 2015;20(2):143-8.
335. Abramson J, Buck E, Salama G, Casida J, Pessah INJJoBC. Mechanism of anthraquinone-induced calcium release from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. 1988;263(35):18750-8.
336. Sag CM, Köhler AC, Anderson ME, Backs J, Maier LSJJom, cardiology c. CaMKII-dependent SR Ca leak contributes to doxorubicin-induced impaired Ca handling in isolated cardiac myocytes. 2011;51(5):749-59.
337. Kim S-Y, Kim S-J, Kim B-J, Rah S-Y, Chung SM, Im M-J, et al. Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular Ca²⁺ increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes. 2006;38(5):535-45.

338. Timolati F, Ott D, Pentassuglia L, Giraud M-N, Perriard J-C, Suter TM, et al. Neuregulin-1 beta attenuates doxorubicin-induced alterations of excitation–contraction coupling and reduces oxidative stress in adult rat cardiomyocytes. 2006;41(5):845-54.
339. Grieve DJ, Byrne JA, Siva A, Layland J, Johar S, Cave AC, et al. Involvement of the nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate oxidase isoform Nox2 in cardiac contractile dysfunction occurring in response to pressure overload. 2006;47(4):817-26.
340. Cave AC, Brewer AC, Narayanapanicker A, Ray R, Grieve DJ, Walker S, et al. NADPH oxidases in cardiovascular health and disease. 2006;8(5-6):691-728.
341. Octavia Y, Brunner-La Rocca HP, Moens ALJFRB, Medicine. NADPH oxidase-dependent oxidative stress in the failing heart: From pathogenic roles to therapeutic approach. 2012;52(2):291-7.
342. Qin F, Patel R, Yan C, Liu WJFrb, medicine. NADPH oxidase is involved in angiotensin II-induced apoptosis in H9C2 cardiac muscle cells: effects of apocynin. 2006;40(2):236-46.
343. Kılınç KJOtamoorHTD. Kılınç A. 2002;33(2):110-8.
344. Li J-M, Gall NP, Grieve DJ, Chen M, Shah AMJH. Activation of NADPH oxidase during progression of cardiac hypertrophy to failure. 2002;40(4):477-84.
345. Fukui T, Yoshiyama M, Hanatani A, Omura T, Yoshikawa J, Abe YJB, et al. Expression of p22-phox and gp91-phox, essential components of NADPH oxidase, increases after myocardial infarction. 2001;281(5):1200-6.
346. Qu X, Wang C, Zhang J, Qie G, Zhou JJMoi. The roles of CD147 and/or cyclophilin A in kidney diseases. 2014;2014.
347. Seizer P, Ochmann C, Schönberger T, Zach S, Rose M, Borst O, et al. Disrupting the EMMPRIN (CD147)–cyclophilin A interaction reduces infarct size and preserves systolic function after myocardial ischemia and reperfusion. 2011;31(6):1377-86.

348. Ramachandran S, Venugopal A, Charles S, Chandran NP, Mullassari A, Pillai MR, et al. Proteomic profiling of high glucose primed monocytes identifies cyclophilin A as a potential secretory marker of inflammation in type 2 diabetes. 2012;12(18):2808-21.
349. Nigro P, Satoh K, O'Dell MR, Soe NN, Cui Z, Mohan A, et al. Cyclophilin A is an inflammatory mediator that promotes atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. 2011;208(1):53-66.
350. Coppinger JA, Cagney G, Toomey S, Kislinger T, Belton O, McRedmond JP, et al. Characterization of the proteins released from activated platelets leads to localization of novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions. 2004;103(6):2096-104.
351. Arora K, Gwinn WM, Bower MA, Watson A, Okwumabua I, MacDonald HR, et al. Extracellular cyclophilins contribute to the regulation of inflammatory responses. 2005;175(1):517-22.
352. Satoh K, Nigro P, Zeidan A, Soe NN, Jaffré F, Oikawa M, et al. Cyclophilin A Promotes Cardiac Hypertrophy in Apolipoprotein E-Deficient Mice. 2011;31(5):1116-23.
353. Satoh K, Tjoe J. Cyclophilin A in cardiovascular homeostasis and diseases. 2015;235(1):1-15.
354. Ramachandran S, Venugopal A, Kutty VR, Vinitha A, Divya G, Chitrasree V, et al. Plasma level of cyclophilin A is increased in patients with type 2 diabetes mellitus and suggests presence of vascular disease. 2014;13(1):1-8.
355. Huang C-H, Chang C-C, Kuo C-L, Huang C-S, Lin C-S, Liu C-S. Decrease in plasma cyclophilin A concentration at 1 month after myocardial infarction predicts better left ventricular performance and synchronicity at 6 months: a pilot study in patients with ST elevation myocardial infarction. 2015;11(1):38.
356. Suzuki J, Jin Z-G, Meoli DF, Matoba T, Berk BC. Cyclophilin A is secreted by a vesicular pathway in vascular smooth muscle cells. 2006;98(6):811-7.
357. Bang C, Antoniadis C, Antonopoulos AS, Eriksson U, Franssen C, Hamdani N, et al. Intercellular communication lessons in heart failure. 2015;17(11):1091-103.

358. Su H, Chen T, Li J, Xiao J, Wang S, Guo X, et al. Correlations of serum cyclophilin a and melatonin concentrations with hypertension-induced left ventricular hypertrophy. 2017;48(6):526-34.
359. KEMALOĞLU ÖZ T, KIVRAK T, GÜROL T, ZEHİR R, SOYLU Ö, DAĞDEVİREN BJTKCS. Sakubitril/Valsartan Kullanımının Kliniğe ve Laboratuvar Bulgularına Etkilerinin, İskemik ve Non-İskemik Kalp Yetersizliği Hastalarında Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi. 2019;31(3):135-42.
360. de Diego C, González-Torres L, Núñez JM, Centurión Inda R, Martin-Langerwerf DA, Sangio AD, et al. Effects of angiotensin-neprilysin inhibition compared to angiotensin inhibition on ventricular arrhythmias in reduced ejection fraction patients under continuous remote monitoring of implantable defibrillator devices. Heart rhythm. 2018;15(3):395-402.

EKLER

EK-1. Etik Kurulu İzin Formu

