

Biopatología de la hipertensión arterial pulmonar idiopática

Edgar G Bautista Bautista,¹ Luis Efrén Santos,¹ José Luis Hernández¹

RESUMEN. El conocimiento bio-patológico actual de la hipertensión arterial pulmonar idiopática (HAPI), se sustenta en los hallazgos patológicos de la enfermedad descritos hace más de 30 años, consistentes en importantes alteraciones morfológicas y funcionales de células endoteliales, células del músculo liso vascular pulmonar (CMLVP) y de la propia adventicia. El concepto fisiopatológico de la HAPI centrado en vasoconstricción ha cedido su lugar al de un endotelio vascular entendido como un complejo formador de una innumerable cantidad de sustancias con propiedades vasoactivas, antitrombóticas y antiproliferativas, cuyo desequilibrio favorece la aparición de vasoconstricción, trombosis y proliferación celular anormal. Es en base a estos conceptos que en la actualidad se considera a la HAPI como una enfermedad con carácter angioproliferativo.

Palabras clave: Patobiología, hipertensión arterial pulmonar idiopática, células endoteliales, células de músculo liso vascular, proliferación vascular.

ABSTRACT. Actual knowledge from cellular and molecular pathobiology of idiopathic pulmonary hypertension (IPAH) initially derived from pathological findings described more than thirty years ago. However, it is recognized now that pulmonary arterial obstruction observed at IPAH it is a multifactor problem characterized by abnormal vasoconstriction and out of control proliferation from endothelial cells, smooth muscle vascular cells and altered metabolism at extra cellular matrix an adventitia causing an altered lung vascular remodeling as the hallmark of IPAH pathogenesis.

Key words: Pathobiology; idiopathic pulmonary arterial hypertension, endothelial cells, smooth muscle vascular cells, vascular proliferation.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento biológico de la hipertensión arterial pulmonar (HAP) ha evolucionado desde las descripciones iniciales de los hallazgos patológicos hasta su concepción actual como una enfermedad con carácter angioproliferativo y un sustrato genético muy importante. Los hallazgos patológicos de la enfermedad descritos hace más de 50 años, confinados a la información obtenida de laminillas teñidas con hematoxilina y eosina ha evolucionado significativamente, la incorporación de técnicas para la detección de proteínas y antígenos por diferentes métodos como la inmunohistoquímica, hibridación *in situ* de ácido ribonucleico mensajero (RNA-m) y estudios de biología molecular espe-

cíficos de estructuras celulares. Además, los avances en la genética han abierto el horizonte de la patogénesis y con ello el tratamiento de esta enfermedad, es ahora cuando el sustrato biológico y patológico de la enfermedad han adquirido una relevancia insospechable conceptualizando ahora a la circulación pulmonar como una compleja y extensa red endotelial capaz de sintetizar un gran número de sustancias con propiedades vasoactivas, antitrombóticas y antiproliferativas, las cuales forman parte esencial en el mantenimiento del tono vascular y aún más importante en los mecanismos homeostáticos celulares de crecimiento, proliferación, reparación y apoptosis, los cuales al verse alterados ocasionan un comportamiento anormal consistente en vasoconstricción, proliferación desorganizada y muerte celular descontrolada ocasionando graves alteraciones morfológicas y funcionales en el propio endotelio, en las células del músculo liso vascular pulmonar (CMCVP), en la matriz extracelular y en la adventicia.

Patología

El estudio patológico de la hipertensión arterial pulmonar en los años de 1900 es resultado del interés clínico en pacientes con cianosis y crecimiento del corazón dere-

¹ Departamento de Cardioneumología, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

Correspondencia y solicitud de sobretiros:

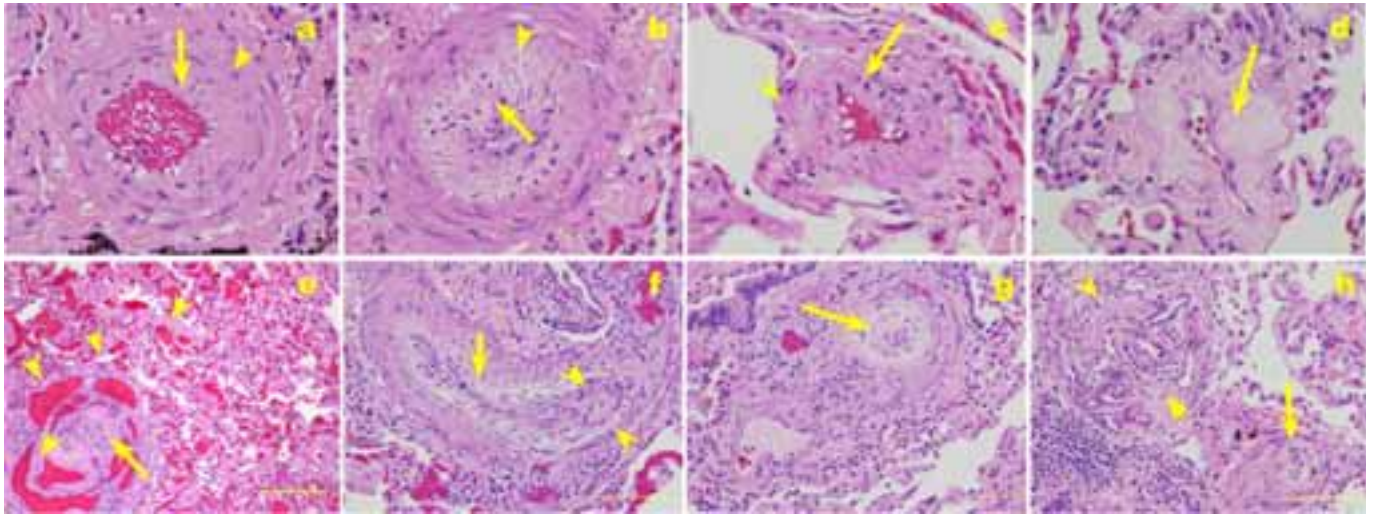
Dr. Edgar G Bautista Bautista. Departamento de Cardiopulmonar. Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Juan Badiano. Núm. 1. Colonia Sección XVI, Tlalpan 14080. México D.F. México. Correo electrónico: bauegd@cardiologia.org.mx

cho, incluso del interés de la afección vascular en pacientes con sífilis, un culpable popular de enfermedades vasculares en aquellos tiempos. Así, los intentos tempranos por identificar las lesiones presentes en el lecho vascular de pacientes con enfermedades cardíacas posiblemente congénitas condujo al conocimiento de las lesiones en la capa íntima de los vasos.

Heath y Edwards en 1958,¹ dieron a conocer una serie de alteraciones patológicas en el lecho vascular pulmonar (LVP) encontradas en el estudio de 67 pacientes con cardiopatía congénita, en dicha clasificación se describen 6 grados que

son: (I) Hipertrofia de la capa media en pequeñas arterias musculares (que afecta particularmente arterias de pequeño calibre < 200 μm en pacientes con HAP idiopática).²

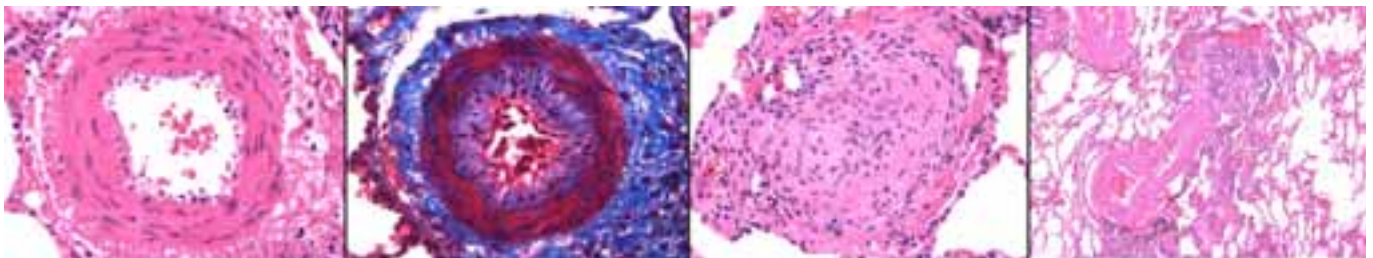
(II) Proliferación celular progresiva y engrosamiento de la capa íntima con disminución de su calibre, (III) Oclusión progresiva con fibrosis de la íntima, (IV) Dilatación anormal de arterias musculares por atrofia de la media y aparición de lesiones plexiformes, (V) Adelgazamiento y fibrosis de la media superpuesto con numerosas lesiones plexiformes y finalmente el grado (VI) representado por necrosis fibrinoide (*Figuras 1 y 2*).



- a) Hipertrofia medial con engrosamiento de la íntima en hojas de cebolla, grado I
- b) Proliferación y engrosamiento de la íntima con lámina elástica interna de bordes irregulares, grado II
- c) Muscularización periférica de una arteria pulmonar pequeña pre-capilar
- d) Arteria pulmonar periférica con engrosamiento de la íntima por colágena e y h) Lesión plexiforme, grado IV
- f) Sección longitudinal de una arteria Pulmonar con distribución concéntrica
- g) Lesión concéntrica con oclusión progresiva de la íntima, grado III

Modificado de Zaiman Ari, Fijalkowska I, Hassoun and Tuder R. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33: 425-431.

Figura 1. Patología de la hipertensión arterial pulmonar idiopática.



Hipertrofia de la media

Proliferación de la íntima

Oclusión progresiva

Lesión plexiforme

Figura 2. Patología de la HAP idiopática. Cortesía del Dr. Alberto Aranda Fraustro Departamento Patología, INCICH.

Posteriormente, Reid³ y colaboradores describieron anomalías cuantitativas en la estructura de las arterias pulmonares asociadas con hipertensión arterial pulmonar secundaria a cardiopatía congénita. Estas alteraciones fueron descritas como: Extensión anormal del músculo liso a arterias periféricas de menor calibre (grado A), hipertrofia de la media en arterias pulmonares e incremento del grosor de la íntima (grado B) y disminución en el número de vasos distales (grado C).

Patogénesis y biología patológica de la hipertensión arterial pulmonar situación actual

La biopatología de la HAP es el estudio de los mecanismos íntimos de daño vascular en esta entidad. En este capítulo vamos a señalar y analizar con detalle los conceptos más importantes obtenidos hasta la actualidad.

1. La vasoconstricción pulmonar es un componente temprano en HAP y se debe a:
 - a. Disfunción de canales de potasio
 - b. Expresión anormal de los canales de potasio
 - c. Desequilibrio de vasodilatadores – vasoconstrictores
2. La proliferación celular contribuye a los cambios estructurales de remodelado de la circulación pulmonar e incluye:
 - a. Proliferación anormal de las CMLVP, lo cual es una característica patológica de la HAP, esta proliferación *in vitro* se presenta sólo en presencia de serotonina o suero pero no de otros factores de crecimiento comunes.
 - b. Proliferación anormal de células endoteliales con carácter monoclonal
3. Los cambios fenotípicos en células endoteliales y CMLVP se relacionan a alteraciones genéticas principalmente:
 - a. Mutaciones del gen receptor II de proteínas morfogénicas (BMPR-II)
 - b. Polimorfismos del gen que codifica a la serotonina (5HT) y al transportador de la serotonina (5-HTT).⁴
4. Las proteínas de la matriz extracelular y el remodelado de la misma juegan un papel fundamental en el remodelado del LVP en HAP, los factores involucrados son:
 - a. Elastinas y metaloproteinasas de la matriz extracelular que controlan el remodelado de la matriz extracelular, la migración celular y el crecimiento.
5. La apoptosis contribuye significativamente al remodelado del LVP en HAP, el principal argumento a esta hipótesis es que a nivel experimental la apoptosis de células endoteliales ocasiona remodelado del LVP.

6. La interacción de plaquetas circulantes y células inflamatorias con la pared del vaso contribuye al remodelado del LVP.
7. La tensión de rozamiento (shear stress). La hemodinámica pulmonar alterada a través de fuerzas mecánicas ejercidas en la pared vascular puede influenciar el proceso de remodelado del LVP como se observa en las cardiopatías congénitas.

VASOCONSTRICCIÓN

La descripción de Euler y Liljestrand del fenómeno de vasoconstricción pulmonar hipóxica⁵ (VPH) puso al descubierto la posibilidad, de que un estímulo en este caso la hipoxia pudiera inducir vasoconstricción pulmonar, más aún que dicho efecto fuera reversible. Sumado a los hallazgos patológicos y basados en este concepto, años más tarde se especuló acerca de la vasoconstricción pulmonar como causa directa del incremento anormal y sostenido en la presión pulmonar, de las resistencias vasculares pulmonares y como mecanismo patogénico de hipertensión arterial pulmonar. La VPH ha sido objeto de intensa investigación desde hace mucho tiempo y fue en este modelo experimental donde se observó que la hipoxia aguda inhibe la corriente de potasio por disfunción de los canales de potasio dependientes de voltaje (Kv) como mecanismo contribuyente de la vasoconstricción anormal y sostenida observada en pacientes con HAP idiopática.⁶

ENDOTELIO

El concepto fisiopatológico de la HAP idiopática centrado en vasoconstricción y remodelado hipóxico se ha modificado sustancialmente al de una enfermedad con carácter angioproliferativo, parte de este cambio inició con observaciones muy cuidadosas en las lesiones plexiformes, de las que resaltan las siguientes: La alteración del fenotipo celular en pacientes con HAP idiopática como una de las causas de proliferación anormal del propio endotelio y de las CMLVP, así como el carácter monoclonal de esta proliferación en las células endoteliales comparado al de pacientes con HAP secundaria cuya proliferación de células endoteliales es policlonal.⁷ Es esta observación la que permite considerar a la HAP idiopática como una verdadera neoplasia vascular.

Así mismo, el estudio de los mecanismos de regulación del tono vascular pulmonar condujeron a la identificación de una gran cantidad de sustancias vasoactivas y factores de crecimiento así como su expresión en la circulación pulmonar, de las primeras, las más relevantes: prostaciclina (PGI₂), tromboxano A₂ (TXA₂), óxido nítrico (NO), endotelina (ET-1) y serotonina (5-HT) aun-

que existen otras no tan extensamente explorados ello no demerita su importancia, entre ellos están: Angiotensina III, péptido natriurético auricular (ANP), péptido natriurético ventricular (BNP), adrenomedulina (AM) y el péptido vasoactivo intestinal (VIP).

De los factores de crecimiento podemos citar: los factores inducidos por hipoxia 1α y 2α (HIF- 1α y HIF- 1β), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) el factor de crecimiento endotelial (VEGF), el factor transformador de crecimiento beta (TGF β), el factor beta de crecimiento derivado de los fibroblastos (FGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento básico derivado de las plaquetas (PDGF).

Estos factores de crecimiento a pesar de haber sido descritos desde hace ya algún tiempo, han adquirido una gran relevancia recientemente por su profundo efecto sobre la proliferación celular y los mecanismos de apoptosis que más adelante revisaremos con detalle (Cuadro 1).

Mientras que el comportamiento de la célula endotelial está más o menos caracterizado, los mecanismos de patogénesis no se han aclarado del todo, se conocen múltiples factores que pueden inducir la activación de estos cambios a diferentes niveles. Incluida en esta lista

están: Tensión de rozamiento endotelial, mutación genética (BMPR-II), autoinmunidad (CREST; calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismotilidad esofágica, telangiectasia), lupus eritematoso sistémico (LES), inflamación, drogas y virus.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

El endotelio pulmonar como sintetizador de sustancias vasoactivas

Los vasodilatadores derivados del endotelio vascular tienen además un efecto anti-proliferativo y en la mayoría de los casos un efecto antiagregante plaquetario, este entendimiento y conceptualización ha favorecido que se continúen buscando nuevas formas de evitar la progresión de la enfermedad no sólo a través del mecanismo vasodilatador sino impidiendo la proliferación y la apoptosis.

A continuación haremos una breve descripción de las principales sustancias vasoactivas que se encuentran en desequilibrio y los mecanismos a través de los cuales ejercen sus efectos vasodilatadores-antiproliferativos o bien vasoconstrictores, trombóticos y proliferativos.

Cuadro 1. Moléculas involucradas en la bio-patología de la HAP.

Molécula	Localización, efecto vascular pulmonar y mecanismo	
	VD; Vasodilatador, AT; Anti-trombótico, AP; Antiproliferador, VC; Vasoconstrictor, P; Proliferador, T; Trombótico, A; Apoptoico, FC; Factor de crecimiento	
Prostaciclina	VD, AT, AP	AMPc
Endotelina,	VC, P	Receptores A y B
Tromboxano A_2	VC, T, P	AMPc
NO	VD, AT, AP	GMPc
Serotonina 5HT	VC, T, P	5HTT (Transportador) , receptores 5HT1B, 5HT2B, 5HT2A
Canales de potasio Kv 1.5	Disfunción Kv 1.5	VC
VIP y VPAC 1 y 2	VD, AP	AMPc, GMPc,
Adrenomedulina	VD, AP	
Angiopoyetina-1,	TIE2	
Estrógenos		
EVE	Matriz extracelular (MEX)	Activa factores de crecimiento
Tenascina	MEX	amplifica la proliferación celular
Metaloproteinasas	MEX	induce migración celular
PAF	FC	VC, T, P
TGF- β	FC	AP, A
VEGF	FC	proliferativo y angiogénico VEGFR-1 y VEGFR-2
PDGF	FC	mitogénico y quimiotáctico PDGFR α y β
FCF β	FC	proliferativo y angiogénico, induce la síntesis de tenascina
IIGF	FC	proliferativo, incrementa la síntesis de colágena y elastina
EGF	FC	proliferativo, incrementa la síntesis de colágena y elastina
Gen BMPR II	> 45 mutaciones descritas.	Modula el crecimiento de cmlv a través de las SMAD y LIM.
Gen ALK-1	Receptores BMPR 1 y 2	Modula el crecimiento de cmlv

Prostaciclina (PGI₂). Es una prostaglandina capaz de inhibir potencialmente la agregación plaquetaria y tiene un efecto vasodilatador sobre la circulación pulmonar obtenido a través de adenosin monofosfato cíclico (AMPC).⁸ La evidencia derivada de la interferencia del anticoagulante lúpico sobre la síntesis de prostaciclina en pacientes con LES y HAP sugirió su probable participación en la génesis de HAP,⁹ más tarde esta observación se confirmó de forma experimental en un modelo animal de HAP inducida por monocrotalina, demostrando que la presencia de prostaciclina podía prevenir la producción de tromboxano, resaltando más tarde sus efectos antiplaquetarios y sus efectos vasodilatadores en pacientes con HAP, recientemente se ha resaltado su efecto estimulador de la formación de VEGF, por lo cual tendría inclusive un efecto antiproliferativo.^{10,11}

Se ha identificado disminución en la expresión de prostaciclina en arterias de pacientes con HAP idiopática, estas observaciones condujeron a que se propusiera el uso de prostaciclina en pacientes con HAP idiopática,¹² más tarde se demostraría un desequilibrio en los niveles de prostaciclina-tromboxano¹³ que alentaría aún más el uso de la prostaciclina.

El tromboxano A₂ se encuentra dentro de esta misma vía ya que también es un producto del metabolismo del araquidonato, sin embargo su efecto es más bien vasoconstrictor además de ser un estimulante de la agregación plaquetaria. Los niveles urinarios del metabolito estable de esta sustancia se encuentran elevados en pacientes con HAP idiopática y HAP secundaria.

Óxido nítrico (NO). Es probablemente el vasodilatador más importante producido por células endoteliales. Es sintetizado a partir de la L-arginina en presencia de la enzima NO sintasa, su efecto relajante sobre las CMLV es obtenido a través del guanosin monofosfato cíclico GMPc.¹⁴

Aunque se ha demostrado una disminución de NO en pacientes con HAP idiopática, mucho del conocimiento de los mecanismos íntimos a través de los cuales el NO controla el tono vascular pulmonar y el remodelado deriva de modelos animales en los cuales se han demostrado algunos de sus efectos, entre ellos: la protección contra la vasoconstricción inducida por hipoxia, la inhibición de la proliferación de las células del músculo liso, la inhibición de la agregación plaquetaria y la disminución en la regulación de producción de endotelina-1.¹⁵

A concentraciones bajas el NO tiene más bien una función regulatoria del tono vascular a través de la activación de la guanilato ciclasa soluble, lo que incrementa el GMPc en las CMLVP produciendo vasodilatación.

El incremento del GMPc reduce el calcio (Ca²⁺) intracelular por 2 mecanismos principalmente:

1. Inhibición del flujo intracelular de Ca²⁺, otro mecanismo más es a través de 2. Activación de los canales

de potasio del sarcolema causando hiperpolarización de la membrana reduciendo así el flujo de Ca²⁺ al interior de la célula a través de los canales de Ca²⁺ operados por voltaje (Kv).

Se ha demostrado que los pacientes con HAP idiopática y HAP secundaria muestran una disminución en la expresión de NO y NO sintetasa¹⁶ la enzima encargada de convertir la L-Arginina en NO y de la cual existen 3 isoformas; la endotelial ecNOs, la neuronal y la inducible iNOs.

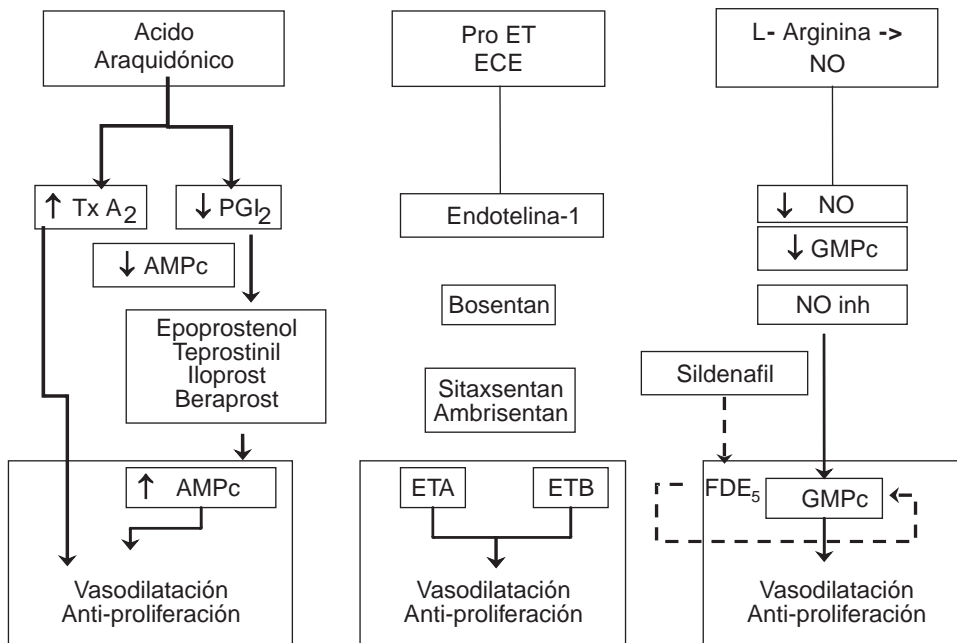
Aunque algunos autores cuestionan la consistencia de esta disminución de niveles de NO o de su expresión tisular, ya que en varios reportes se ha demostrado que por el contrario existe incremento en la expresión de NO así como de las NO sintetas (ecNOs e iNOs). Mientras tanto, otros más señalan que bien pudiera tratarse de una doble fase consistente en elevación durante la edad pediátrica y disminución en etapas tardías de la enfermedad.

Además de estos efectos se le han reconocido otros igualmente importantes dentro de los cuales figuran angiogénesis, supervivencia de las células endoteliales y movilización de células madre, es decir interviene también en la apoptosis celular.

Desafortunadamente el mecanismo a través del cual el NO induce vasodilatación es muy complejo, por lo que su exploración terapéutica no ha tenido mucho éxito, sin embargo debe quedar claro que es del final de estas dos vías; L-arginina-NO y la de las prostaciclina, donde un nuevo elemento terapéutico ha encontrado su lugar al impedir que los segundos mensajeros de las mismas sean desdoblados por la enzima fosfodiesterasa incrementando las concentraciones intracelulares de GMPc y AMPC que sería el caso de los inhibidores de la fosfodiesterasas.

Endotelina. El endotelio vascular genera en condiciones normales una cantidad de sustancias vasodilatadoras como las mencionadas previamente NO y prostaciclina con un efecto además antiagregante plaquetario y antiproliferativo. Sin embargo, bajo condiciones patológicas el endotelio puede producir componentes vasoconstrictores muy potentes, en forma notable los tres péptidos que conforman el sistema de las endotelinas: ET-1, ET-2 y ET-3, la primera ET-1 es la forma predominante de estas y promueve la proliferación celular, así como inflamación y fibrosis. Existen para estas sustancias dos subtipos de receptores A y B; ET_A y ET_B y hay evidencia que sugiere que la síntesis de ET-1 local en células del endotelio vascular juega un papel en la fisiopatología de HAP (Figura 3).

1. Existe pobre o ninguna inmunorreactividad a ET-1 y RNAm en células endoteliales vasculares de sujetos sin HAP, mientras que esta inmunorreactividad es intensa



Prostaciclina (PGI_2), Endotelina (ET) y óxido nítrico (NO) y sus mecanismos de acción; adenosin monofosfato cíclico (AMPc), guanosin monofosfato cíclico (GMPc) y receptores de la endotelina ET_A y ET_B . Estas 3 sustancias derivaron cada una en líneas de investigación y finalmente en formas de tratamiento contemporáneo para pacientes con HAP idiopática. Las fosfodiesterasas FDE son una familia de enzimas con alta especificidad y diversos efectos. La FDE 5 y la FDE 3 inhiben la degradación de GMPc y AMPc respectivamente permitiendo que el efecto vasodilatador de estas sustancias se mantenga.

Figura 3. Mecanismos biológicos de control del tono vascular y nuevos tratamientos.

en pacientes con HAP idiopática y en HAP asociada a fibrosis de la íntima y engrosamiento de la media.

2. Existe una fuerte correlación entre la intensidad de esta inmunorreactividad a ET-1 y la resistencia vascular pulmonar en pacientes con arteriopatía plexogénica pulmonar pero no en pacientes con HAP secundaria.
3. La densidad de los receptores de ET-1 fue considerablemente mayor en arterias pulmonares de pequeño calibre y parénquima pulmonar de pacientes con HAP que en sujetos sanos.
4. La ET-1 estimula la síntesis de ADN en células de músculo liso de la circulación pulmonar.^{17,18}

Serotonina (5-HT) y transportador de la serotonina (5-HTT)

Se ha acumulado una cantidad considerable de investigación para validar la hipótesis de que el transportador de la serotonina (5-HTT) a nivel pulmonar podría ser una clave determinante en el remodelado vascular pulmonar. Este transportador se codifica por un solo gen en el cromosoma 17q11.2 y se expresa en varios tipos celulares, incluyendo neuronas, plaquetas, endotelio y células del músculo liso vascular pulmonar.¹⁹

Se han sugerido varios efectos del 5-HTT sobre las funciones de las CMLV.

Además de contribuir en la captura de 5-HT en su paso a través del pulmón, el 5-HTT interviene en la proliferación de las CMLV a través de su habilidad para introducir

indoleamina, aunque investigaciones efectuadas en el laboratorio han propuesto otros mecanismos:

1. La exposición crónica a la hipoxia es un estímulo bien reconocido del remodelado vascular y del desarrollo de HAP. La hipoxia crónica ocasionó HAP e hipertrofia ventricular derecha de menor severidad en ratones con trastornos señalizados del gen 5-HTT comparados con animales controles.²⁰
2. Los inhibidores selectivos del 5-HTT atenúan la HAP hipóxica.
3. La infusión intraperitoneal de serotonina en un periodo de 2 semanas en ratones heterocigotos deficientes del BMPR-II ocasionó en este modelo animal el desarrollo de HAP y remodelado vascular.²¹
4. La expresión del 5-HTT y su actividad se encuentra incrementada en plaquetas y pulmones de pacientes con HAP y en arterias pulmonares de pacientes con HAP idiopática comparado contra células correspondientes de sujetos sanos.
5. Comparados con las CMLV pulmonar de pacientes controles, aquellas de pacientes con HAP son más susceptibles a los efectos promotores del crecimiento del 5-HT y del suero (que contiene altos niveles de 5-HT).
6. Se ha identificado en un mayor porcentaje (65%), polimorfismo ligado a proliferación de CMLVP en pacientes con HAP idiopática comparado a sujetos sanos (27%),²² aunque esta evidencia no es concluyente.

La observación de que los derivados del aminorex y la fenfluramina interactúan con el 5-HTT de una manera específica, ha provisto de un mayor apoyo a la hipótesis de que este transportador puede ser un objetivo crítico de los supresores del apetito y quizás de otros factores agresores desencadenantes de HAP. En ratas que recibieron tratamiento por 4 semanas con dexfenfluramina, el nivel de expresión del 5-HTT en el tejido pulmonar permaneció sin cambio, sin embargo a partir de que se discontinuó el tratamiento con dexfenfluramina, el nivel de expresión incrementó junto con el desarrollo de HAP hipóxica. Este puede ser un ejemplo de sobreexpresión del 5-HTT, el cual se agrega como mecanismo de promoción de la hiperplasia de CMLVP pulmonar dependiente de 5-HTT (Figura 4).

Disfunción de los canales de potasio de las CMLVP

El control del potencial trans-membrana (Em) es la función más importante de todas las células excitables. En las CMLVP este potencial controla la apertura de los canales de calcio tipo L regulados por voltaje. Se ha descrito que los canales de potasio controlan el potencial transmembrana de las CMLVP. Los canales de potasio son proteínas transmembrana, de las cuales existen varios tipos (inward recti-

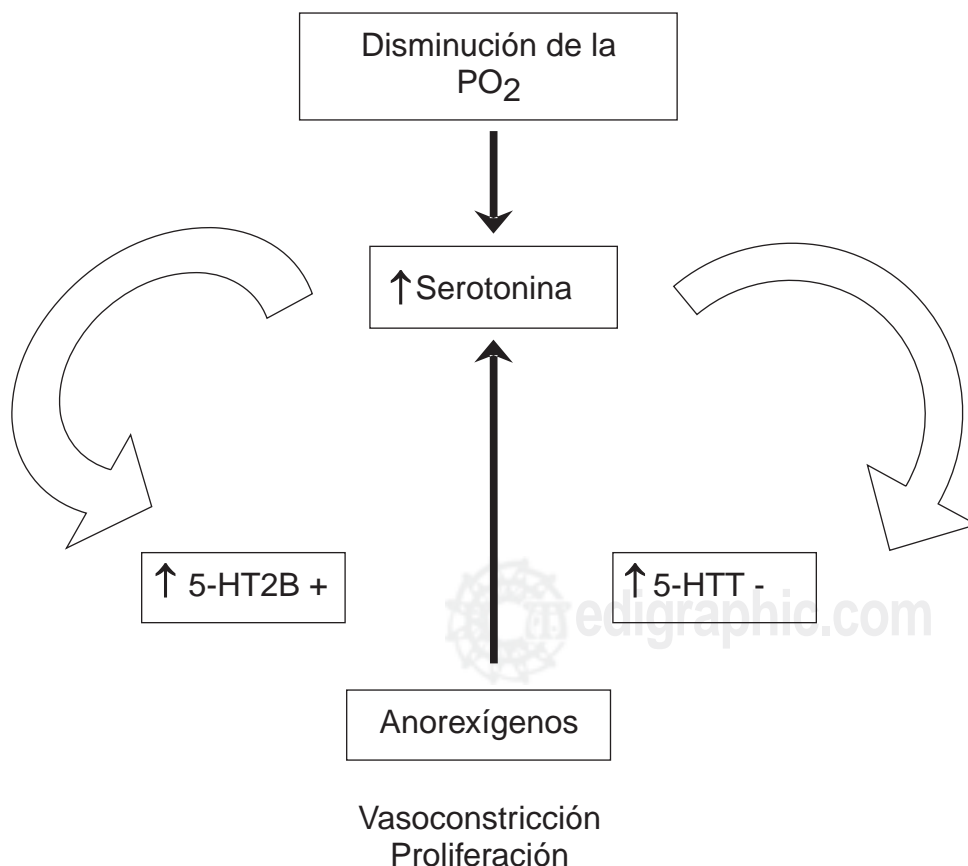
fier (Kir), calcio-sensibles (Kca) y los activados por voltaje (Kv) de estos últimos existen 9 familias (Kv 1-9) cada una con varios miembros (ejem; Kv 1.1-Kv1.6))

Se han reportado en pacientes con HAP idiopática, anomalías en las propiedades electrofisiológicas de la CMLVP, una de las más importantes se representa por la disfunción de los canales de potasio particularmente los tipo Kv1.5,²³ que son los más importantes en el mantenimiento del tono vascular pulmonar y de su estado de proliferación. La inhibición de los Kv1.5, ocasiona una acumulación de K⁺ intracelular, lo cual abre los canales de Ca⁺ tipo L, permitiendo la entrada de Ca⁺ a la CMLVP e incrementando el Ca⁺ intracelular, todo ello ocasiona la contracción de la CMLVP (vasoconstricción) como resultado de la regulación en la concentración del Ca⁺ libre en el citosol y por influencia sobre el potencial de membrana.

Estos pacientes tienen expresión disminuida de Kv1.5 a nivel de las CMLVP y por ende corrientes de K⁺ disminuidas, por lo que se encuentran despolarizadas

INFLAMACIÓN: Un mecanismo patogénico en HAP

La identificación de infiltrados perivasculares en lesiones plexiformes consistentes de células inflamatorias tales



En la vía serotoninérgica, la hipoxia incrementa la expresión del receptor de la serotonina 5-HT2B. El incremento en la expresión del transportador de la serotonina 5-HTT se acompaña de un incremento en la sensibilidad a la serotonina como estímulo de proliferación de CMLVP y remodelado vascular.

La dexfenfluramina magnifica (+) el incremento en la respuesta a 5-HT2B dependiente de serotonina y suprimen (-) el incremento en la respuesta a 5-HTT dependiente de serotonina.

Figura 4. Serotonina.

como leucocitos, macrófagos, linfocitos T, linfocitos B así como la presencia de depósitos anticuerpo-complejo apoyan la posibilidad de un mecanismo inflamatorio dentro de la patogénesis de la HAP,²⁴ situación a la que se agrega la asociación entre infecciones virales y HAP, particularmente de pacientes con infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y la asociación de HAP y enfermedades autoinmunes. El rol del reclutamiento de linfocitos T por citocinas quimiotáxicas y todo el proceso de tráfico leucocitario involucra una serie de eventos en sucesión incluyendo su desplazamiento, su adhesión firme y su extravasación en respuesta a ese gradiente quimiotáxico que involucra quimioquinas que en realidad no son otra cosa que proteínas básicas, que al ser secretadas dirigen la migración de diversos grupos leucocitarios.²⁵

La fractalquina (FKN/CX3CL1; es una quimiocina única porque existe en una forma soluble como proteína de quimiotaxis y en una forma molecular adherida a la membrana de células endoteliales,²⁶ sus acciones son mediadas por CX3CR1 un receptor expresado por monocitos, células de la microglia, neuronas, células asesinas naturales, células cebadas y sub-poblaciones de linfocitos T.²⁷ La FKN promueve el reclutamiento leucocitario por CX3CR1. Existen reportes recientes relacionados al polimorfismo en esta última molécula, asociado con una disminución del riesgo de enfermedad coronaria lo que sugiere que la FKN juega un papel crítico en el reclutamiento de células T/monocitos en la pared del vaso.²⁸ La FKN ha recibido bastante atención porque ha demostrado estar sobre-expresado en linfocitos CD4+ y CD8+ circulantes de pacientes con HAP comparados con los controles, e incluso ha demostrado particularidades en su comportamiento específico de pacientes con HAP comparados con otras formas de HAP²⁹ (TEPCNR).

RANTES (Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted) es un quimiotáxico de importancia para los monocitos y células T. Se presume que esta molécula juega un rol muy importante en diversos procesos inflamatorios, tales como glomerulonefritis, enfermedad de Kawasaki, arteritis de Takayasu, incluso se han reportado resultados exitosos en su antagonismo al emplearlo en enfermedades inflamatorias. Al parecer su rol en HAP es a través de la inducción de la enzima convertidora de endotelina-1 y de esa manera estimulando niveles altos de endotelina-1.³⁰ Modelos animales experimentales (ratas sometidas a transplante renal) tratadas con antagonistas de los receptores de RANTES mostraron propiedades anti-inflamatorias relevantes caracterizadas por disminución de IL-1 β e IL-2 del factor de necrosis tumoral alfa³¹ FNT α .

Además de las moléculas mencionadas previamente, otras han sido consideradas como marcadores de infla-

mación, tales como las interleucinas IL-1 β e IL-6,³² el receptor 1 y 2 del VEGF, 5-lipo-oxigenasa, factor activador de la 5 lipo-oxigenasa, genes HOX, P27/Kip 1, sintasa de la prostaciclina y la angiopoyetina-1³³ (factor angiogénico esencial para el desarrollo vascular pulmonar, producido por CMLVP y pericitos), esta molécula estabiliza el desarrollo de vasos sanguíneos a través de la migración y división a tubos endoteliales que crea estructuras arteriales maduras.

PLAQUETAS Y TROMBOSIS

De los estudios patológicos deriva la innegable afirmación de un componente de trombosis. Se sabe que durante condiciones normales las funciones pro-coagulantes del endotelio tienen una expresión mínima predominando sus propiedades anticoagulantes y pro-fibrinolíticas.

El endotelio en reposo produce una variedad de factores de coagulación en forma inactiva o en pequeñas cantidades, tal es el caso del factor de von Willebrand, factor tisular y factor V. Las células endoteliales tienen también un potencial para ligarse con otros factores de coagulación tales como el factor IX/IXa, factor X, trombina y posiblemente el fibrinógeno. Sin embargo, está regulado de manera que esta cascada se mantenga inactiva, mientras tanto la propiedad anticoagulante y su mecanismo más prominente incluye la inactivación de los factores IIa, IXa y Xa por el sistema de heparina-antitrombina III, inactivación del factor Va y VIIa por el sistema de proteína S- proteína C-trombomodulina-trombina e inhibición de la agregación plaquetaria por acción de la prostaciclina y el NO. Existe evidencia en pacientes con HAP idiopática de la presencia de un perfil protrombótico,³⁴ caracterizado por incremento en los niveles de fibrinopéptido A (que refleja actividad de trombina), factor VIII y factor de von Willebrand, incluso se ha postulado que estos pacientes pudieran cursar con un fenómeno muy similar al de coagulación intravascular diseminada CID de manera crónica. Por otra, parte se ha involucrado a la serotonina como parte de los mecanismos de trombosis aunque de esta última sustancia se han demostrado además efectos vasoconstrictores y proliferativos sobre las CMLVP, el sustrato de estos conocimientos deriva de pacientes con HAP asociada a la ingesta de anorexígenos,³⁵ al demostrar que algunos de ellos inhiben la mono amino oxidasa, una acción que potencialmente podría inhibir el metabolismo de la serotonina, incrementando por lo tanto sus niveles plasmáticos, en este sentido podemos decir que lo mismo pasa con otras sustancias, de las cuales además de su efecto vasodilatador o vasoconstrictor se ha identificado un efecto anticoagulante o procoagulante y/o incluso un

efecto proliferativo o antiproliferativo tal es el caso de la prostaciclina, NO y trombomodulina. Cabe señalar que además de lo comentado previamente acerca del VEGF como un factor de crecimiento y mitógeno endotelial específico, éste es sintetizado por varios tipos de células y tejidos entre los cuales están los megacariocitos, es almacenado en los gránulos α de plaquetas circulantes donde se encuentra con otro factor de crecimiento, el PDGF (platelet derived growth factor); ambos son segregados después de la adhesión plaquetaria a la membrana basal sub-endotelial en los sitios de lesión vascular, de esta manera mientras que el PDGF y la serotonina son potentes mitógenos de los fibroblastos y CMLVP, el VEGF puede iniciar angiogénesis y acelerar la reparación de la capa endotelial.³⁶

CÉLULAS DE MÚSCULO LISO VASCULAR

Matriz extracelular; proliferación y migración de CMLVP a la íntima

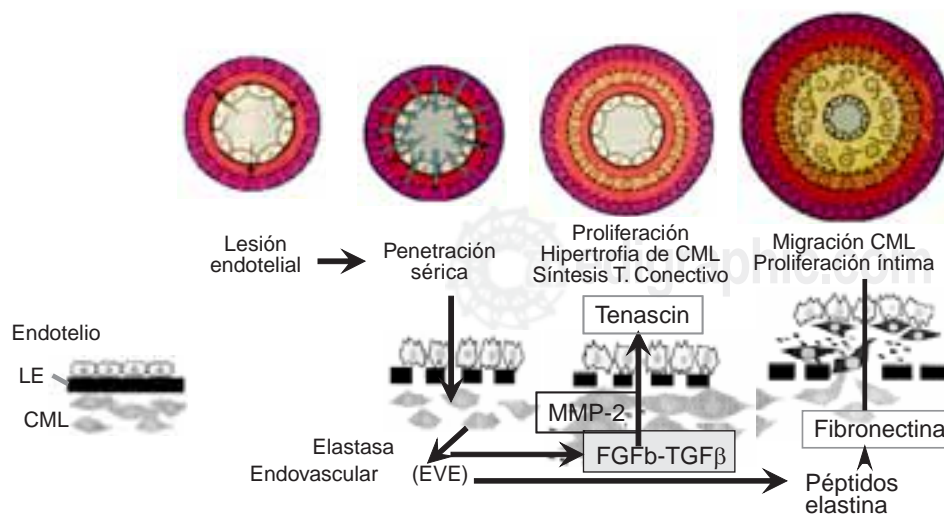
¿Cómo es posible que células musculares de la capa media y fibroblastos de la matriz extracelular migren y/o proliferen hacia el interior del vaso?

Se ha demostrado que un endotelio morfológica y funcionalmente anormal al perder su distensibilidad causa la aparición de un endotelio de aspecto acanalado y rígido, lo que ocasiona incremento en el stress mecánico (flujo turbulento) sobre los elementos formes principalmente plaquetas y leucocitos, así como un incremento en la actividad metabólica del sub-endotelio.³⁷ Mientras que el flujo laminar se asocia con la activación de genes tales como el de la eNOs y la ciclo-oxigenasa COX2, el flujo turbulento se asocia con la sobreexpresión de moléculas de adhesión, tales como la molécula de ad-

hesión vascular No 1 y la molécula de adhesión intercelular No 1 (VCAM-1 e ICAM-1³⁸) respectivamente, las cuales causan reclutamiento y activación leucocitaria, estos cambios propiciados por el estrés mecánico también alteran la expresión genética de la CMLVP, tales como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas PDGF. Por otra parte cuando hablamos de un incremento en la actividad metabólica del sub-endotelio ésta consiste en proteólisis e incremento en la síntesis de proteínas de tejido conectivo, que ocasiona interrupción de la integridad de la lámina elástica interna de arterias musculares, permitiendo la fuga de sustancias séricas al sub-endotelio que induce activación de la elastasa (EVE; endothelial vascular elastase) de la CMLVP (Figura 5).

Estas enzimas liberadas por precursores de las CMLVP sobreexpresan las metaloproteasas de la matriz extracelular (Matrixinas MMP2 y MMP9) las cuales están involucradas en esta migración celular, además que la propia EVE activa factores de crecimiento normalmente almacenados en la matriz extracelular en una forma inactiva (FGF β , IGF, TGF β) los cuales inducen hipertrofia y proliferación de las CMLVP e incremento en la síntesis de colágena y elastina.³⁹

El FGF β además induce síntesis de tenascina, una glicoproteína de la matriz que amplifica la proliferación, mientras tanto la actividad continua de EVE causa diferenciación de células de músculo liso a partir de células precursoras e hipertrofia y migración de células de músculo liso hacia la íntima. Los péptidos productos de degradación de la elastina pueden estimular la fibronectina, una glicoproteína de la matriz extracelular clave en alterar la forma de las CMLVP e inducir el cambio de fenotipo de célula contráctil a célula móvil.



Modificado de Rabonovitch M. *It all begins with EVE (endogenous vascular elastase)*. *Isr J Med Sci* 1996; 32: 803.

Figura 5. HAP idiopática: Rol de la matriz extracelular.

Consideraciones genéticas

La HAP idiopática se presenta como una enfermedad familiar o esporádica, de acuerdo al registro de la NIH (Institutos Nacionales de Salud) la variedad familiar es responsable del 6% de los casos, el patrón autosómico dominante con penetrancia incompleta se desarrolla en no más de 20% de las personas en riesgo. Las alteraciones genéticas observadas son mutaciones heterocigóticas que involucran el gen que codifica el receptor 2 de proteínas morfogenéticas (BMPR-II; Bone morphogenetic protein receptor), un miembro de la superfamilia de factores β transformadores del crecimiento (TGF β) gen que se encuentra en el cromosoma 2q31 que modula el crecimiento de células vasculares a través de la activación de las vías intracelulares de las quinasas Smad y LIM (Lin-11, Is1-1 y proteína Mec-3).⁴⁰ Bajo condiciones normales las proteínas morfogenéticas 2, 4 y 7 señalizan a través de los receptores BMPR tipo I y II para suprimir el crecimiento de CMLVP, más de 45 mutaciones en el BMPR-II se han identificado en pacientes con HAP idiopática familiar (*Cuadro 2*).

Mutaciones similares se han encontrado hasta en 26% de pacientes con HAP aparentemente esporádica, lo que

Cuadro 2. Mecanismos íntimos de daño en HAP.

Vasoconstricción

Desequilibrio vasoconstrictores y vasodilatadores en el LVP

Alteración de la función de los canales de K⁺ dependientes de voltaje (Kv)

Proliferación endotelial anormal y remodelado del LVP

Trombosis

Inflamación

Proliferación anormal endotelial y disfunción endotelial

Proliferación anormal de células del músculo liso vascular pulmonar

Proliferación en la adventicia

Alteraciones de la matriz extracelular

Incremento en la producción de factores de crecimiento

Genética

Mutación del gen BMPRII en el cromosoma 2q33

Mutaciones de la ALK 1

Alteración de las señalizaciones de crecimiento, proliferación y apoptosis

Otros genes candidatos que pudieran modificar el riesgo de HAP:

Sintasa del NO (1 y 3), VIP, 5-HTT, enzimas del ciclo de la urea (Vía de la Arginina y NO)

Receptor de la prostaciclina, receptores beta-adrenérgicos, polimorfismos en las cascadas de la coagulación (PAI-1, glicoproteínas plaquetarias), antecedente inmunogenético relacionado a HLA y proceso inmune, mutaciones somáticas del BMPR1, canales de potasio

sugiere que la variedad familiar pudiera ser más común de lo que se pensaba. Sin embargo, los portadores de mutaciones BMPR-II tienen sólo un 10 a 20% de riesgo de desarrollar clínicamente HAP y sólo 60% de los pacientes con variedad familiar tienen mutaciones BMPR-II detectables. Lo que sugiere heterogeneidad genética y obliga a considerar la existencia de otros genes, polimorfismos genéticos y factores ambientales, involucrados en el inicio de la secuencia patológica que finaliza en el desarrollo de la enfermedad, esta evidencia ha sido recientemente obtenida por la identificación de mutaciones en otro grupo de pacientes con telangiectasia hereditaria hemorrágica y/o HAP grave, en la cual otro miembro es afectado de la familia de receptores TGF β .

Como es el caso del receptor de activinas similar a la quinasa ALK-1 (activins receptor like kinasa), la evidencia de que mutaciones en dos genes diferentes pero relacionados pueden producir el mismo cuadro clínico fenotípico, apunta a que la vía molecular de los receptores TGF- β es el origen del remodelado vascular anormal.

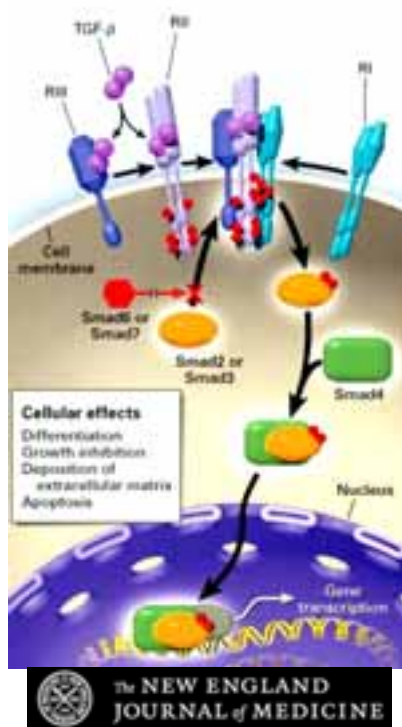
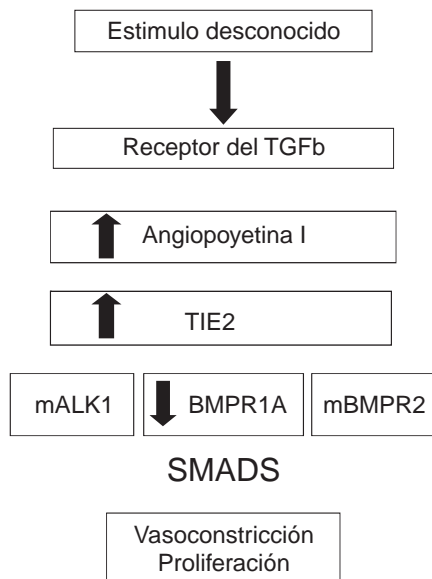
En forma reciente se han señalado defectos en pacientes con HAP⁴¹ en otra vía común de señalización vascular que incluye a la angiopoyetina 1 y la forma fosforilada de su receptor endotelial específico TIE independiente de la causa asociada a la enfermedad. Este incremento en la señalización de la angiopoyetina es acompañado de una disminución en otro miembro de la familia de receptores de TGF- β , el BMPR1A un receptor de tipo complementario requerido para la señalización adecuada del BMPR-II (*Figura 6*).

Factores de crecimiento y apoptosis

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas PDGF se encuentra estrechamente involucrado en la patología vascular pulmonar de pacientes con HAP idiopática. El PDGF actúa como potente mitogénico y quimiotáctico de CMLVP y actúa a través de 2 receptores; PDGFR α y β .

Recientemente se ha explorado un antagonista ST1571 de estos receptores PDGFR (Imatinib o Gleevec) aprobado para el tratamiento de ciertos tumores estromales del tracto digestivo; se ha demostrado en modelos animales experimentales de HAP de grado grave, ratas con HAP inducida por monocrotalina y en ratones expuestos a condiciones de hipoxia crónica; ventilación con O₂ al 10% por 35 días, revertir el remodelado vascular pulmonar avanzado y el cor pulmonale.⁴²

Con respecto al factor de crecimiento vascular endotelial VEGF podemos decir que es el principal factor de crecimiento endotelial. Es necesario para el desarrollo pulmonar y el mantenimiento del pulmón estructuralmente normal incluyendo la supervivencia de las células endoteliales pulmonares. Es una sustancia proliferativa y



Modificado de *Globe G et al. N Engl J Med 2000; 342: 1350-1358.*

La figura ilustra el mecanismo a través del cual un estímulo desconocido incrementa la expresión de angiopoyetina-I, así como la de su receptor TIE2 a través del receptor del factor transformador del crecimiento (TGFβ) lo que ocasiona una disminución en la expresión del receptor tipo 1^a de la proteína morfogénica ósea (BMPR1A). Este miembro de la familia de receptores TGF es requerido para la señalización óptima con un receptor asociado BMPR tipo 2 (BMPR2). Las formas mutantes del BMPR2 (mBMPR2) y el receptor de actividad similar kinasa (mALK1) se asocian con formas familiares de HAP idiopática y ambas mutaciones resultan en una mejoría en la señalización, sin restricciones a través de las SMADS promotoras de crecimiento, las cuales son las que directamente estimulan la proliferación y el remodelado de las células del músculo liso vascular pulmonar.

Figura 6. Receptor del TGFβ.

angiogénica, específica de células endoteliales que actúa a través de 2 receptores de tirosina kinasa de alta afinidad VEGFR-1 y VEGFR-2, en HAP idiopática la expresión de VEGFR-1 se encuentra aumentada mientras que dentro de la lesión plexiforme es el VEGFR-2 el que se encuentra aumentado. En ratas se ha demostrado que la combinación de bloqueo crónico de VEGFR-2 e hipoxemia pueden causar disfunción endotelial y apoptosis, permitiendo la selección de un fenotipo endotelial proliferativo resistente a la apoptosis con el desarrollo de remodelado vascular desorganizado y HAP. Dado que la muerte celular endotelial, la proliferación celular y el desarrollo de HAP severa podrían ser bloqueados por un inhibidor de caspasas de amplio espectro, parecería que la selección de un fenotipo celular endotelial resistente a la apoptosis es el evento crucial y responsable de la proliferación celular endotelial desordenada. Por eso es que la apoptosis de células endoteliales sería un factor subyacente a la propensión de enfermedad vascular. Es decir que la apoptosis de células endoteliales conduce a remodelado vascular.⁴³

CONCLUSIÓN

En la biología y patología de la HAP idiopática existen múltiples factores asociados a un sustrato genético importante igualmente múltiple. Sin embargo, el entendimien-

to de estos mecanismos de patogénesis ha conducido a nuevas formas de tratamiento de la enfermedad y permitirá formas acordes con los nuevos hallazgos que involucran las anomalías electrofisiológicas y los tratamientos de reemplazo de canales iónicos, así como terapias basadas en la modulación del remodelado y proliferación, involucrando más la manipulación de los factores de crecimiento a través del uso de células madres de médula ósea.

REFERENCIAS

1. Heath D, Edwards JE. The pathology of hypertensive pulmonary vascular disease. *Circulation* 1958; 18: 533-537.
2. Yi ES, Kim H, Ahn H, Strother J, Morris T, Hansen LA, et al. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(4 pt 1): 1577-1586.
3. Anderson EG, Simon G, Reid LM. Primary and thromboembolic pulmonary H: a quantitative pathologic study. *J Pathol* 1972; 10: 273-293.
4. Eddahibi S, Morrell N, d'Ortho M-P, Naeije R, Adnot D. Pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2002; 20: 1559-1572.
5. Euler USv, Liljeström G. Observations of the pulmonary arterial blood pressure on the cat. *Acta Physiol Scand* 1946; 12: 301-320.
6. Michelakis ED, Weir K. Smooth muscle cells and ion channels in clinics in chest medicine; Pulmonary hypertension. Rich S, McLaughlin V, Smiley I. ISSN 0272-4231. WB Saunders 2001: 405-432.

7. Tudor RM, Cool CD, Yeager M, Taraseviciene-Stewart, Bull T, Voelkel NF. The pathobiology of pulmonary hypertension; endothelium in clinics in chest medicine; pulmonary hypertension. Rich S, McLaughlin V, Smiley I. ISSN 0272-4231. WB Saunders 2001; 22: 405-418.
8. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976; 263(5579): 663-665.
9. Tudor RM, Cool CD, Geraci MW, et al. Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1925-1932.
10. Geraci MW, Gao B, Sheperd DC, et al. Pulmonary prostacyclin synthase overexpression in transgenic mice protects against development of hypoxic pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 1999; 103: 1509-1515.
11. Clapp LH, Finney P, Turcato S, Tran S, Rubin LJ, Tinker A. Differential effects of stable prostacyclin analogues on smooth muscle proliferation and cyclic AMP generation in human pulmonary artery. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 194-201.
12. Hyman AL, Chapnick BM, Kadowitz PJ, et al. Unusual pulmonary vasodilator activity of 13,14 dehydroprostacyclin methylester: comparison with endoperoxides and other prostanoids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 5711-5715.
13. Christman BW, McPherson CD, Newman JH, et al. An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992; 327: 70-5.
14. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: a pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 1709-1715.
15. Perrella MA, Edell ES, Krowka MJ, Cortese DA, Burnett JC Jr. Endothelium-derived relaxing factor in pulmonary and renal circulations during hypoxia. *Am J Physiol* 1992; 263: R45-R50.
16. Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995; 33: 14-221.
17. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1993; 328: 1732-1739.
18. Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease. *Ann Intern Med* 1991; 114: 464-469.
19. Eddahibi S, Hanoun N, Lanfumey L, Lesch KP, Raffestin B, Hamon M, Adnot S. Attenuated hypoxic pulmonary hypertension in mice lacking the 5-hydroxytryptamine transporter gene. *J Clin Invest* 2000; 105: 1555-1562.
20. Eddahibi S, Humbert M, Fadel E, Raffestin B, Darmon M, Capron F, Simonneau G, Darteville P, Hamon M, Adnot S. Serotonin transport overexpression is responsible for pulmonary artery smooth muscle hyperplasia in primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 2001; 108: 1141-1150.
21. Long, Maclean MR, Jeffery TK, Morecroft I, Yang X, Rudarakanchana N, Southwood M, James V, Trembath RC, Morrell NW. Serotonin increases susceptibility to pulmonary hypertension in BMPR2 deficient mice. *Circ Res* 2006; 98: 818-827.
22. Runo JR, Loyd JE. Primary pulmonary hypertension. *Lancet* 2003; 361: 1533-1544.
23. Yuan XJ, Wang J, Juhaszova M, Gaine SP, Rubin LJ. Attenuated K⁺ channel gene transcription in primary pulmonary hypertension. *Lancet* 1998; 351: 726-727.
24. Tudor, Groves B, Badesch DB, Voelkel NF, Tudor RM. Pathogenesis and evolution of plexiform lesions of pulmonary hypertension. *Am J Pathol* 1994; 144: 275-285.
25. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994; 76: 301-314.
26. Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, et al. A new class of membrane bound chemokine with a CX3C motif. *Nature* 1997; 385: 640-644.
27. Foussat A, Coulomb-L'Hermine A, Goslin J, et al. Fractalkine receptor expression by T lymphocyte subpopulations and in vivo production of fractaline in human. *Eur J Immunol* 2000; 30: 87-97.
28. Moatti D, Faure S, Fumaron F, et al. Polymorphism in the fractalkine receptor CX3CR1 as a genetic risk factor for coronary artery disease. *Blood* 2001; 97: 1925-1928.
29. Balabanian K, Foussat A, Drfmuller P, et al. CX(3)C Chemokine fractalkine in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1419-1425.
30. Dorfmueller P, Zarka V, Durand-Gasselini I, et al. Chemokine RANTES in severe pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 534-539.
31. Song E, Zou H, Yao Y, et al. Early application of Met-RANTES ameliorates chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 2002; 61: 676-685.
32. Humbert M, Monti G, Brenot F, et al. Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1628-1631.
33. Du L, Sullivan CC, Chu D, Cho AJ, Kido M, Wolf PL, Yuan JX, Deutsch R, Jamieson SW, Thistlethwaite PA. Signaling molecules in nonfamilial pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2003; 348: 500-509.
34. Chaouat A, Weitzenblum E, Higenbottam T. The role of thrombosis in severe pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1996; 9: 356.
35. Abenhaim L, Moride Y, Brenot F, Rich S, Benichou J, Kurz X, Higenbottam T, Oakley C, Wouters E, Aubier M, Simonneau G, Beagud B. Appetite-suppressant drugs and the risk of primary pulmonary hypertension. International Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *N Engl J Med* 1996; 335: 609-616.
36. Hervé P, Humbert M, Sitbon O, et al. Pathobiology of pulmonary hypertension: the role of platelets and thrombosis. *Clin Chest Med* 2001; 22: 451-8.
37. Rabinovitch M. It all begins with EVE (endogenous vascular elastase). *Isr J Med Sci* 1996; 32: 803-8.
38. Molossi S, Clausell N, Sett S, et al. ICAM-1 and VCAM expression in accelerated cardiac allograft arteriopathy and myocardial rejection are influenced differently by cyclosporine A and tumour necrosis factor blockade. *J Pathol* 1995; 176: 175-182.

39. Humbert M, Morrell N, Archer SL, Stenmark KR, et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 13S-24S.
40. Loscalzo J. Genetic clues to the cause of primary pulmonary hypertension (Editorial). *N Engl J Med* 2001; 345: 5.
41. Newman JH, Trembath RC, Morse JA, et al. Genetic basis of pulmonary arterial hypertension. Current understanding and future directions. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 33S-39S.
42. Schermuly RT, Dony E, Ghofrani HA, Pullamsetti S, Savai R, Roth M, Sydov A, Lai YJ, Weissmann, Seeger W, Grimminger F. Reversal of experimental pulmonary hypertension by PDGF inhibition. *J Clin Invest* 2005; 115: 2811-2821.
43. Taraseviciene-Stewart T, Kasahara Y, Alger L, et al. Inhibition of the VEGF receptor-2 combined with chronic hypoxia causes cell death dependent pulmonary hypertension. *FASEB J* 2001; 15: 427-38.

