

PATOGENIA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL PULMONAR (HAP)

Juan Manuel Díez Piña

RESUMEN

La hipertensión arterial pulmonar (HAP) tradicionalmente ha sido considerada como un proceso de vasoconstricción y en los últimos años se han ido implicando factores de crecimiento y alteraciones en mecanismos de apoptosis. Esta enfermedad tiene una biopatología multifactorial que incluye varios tipos de células y varios procesos bioquímicos distintos (Tabla 1). Aún no se conocen bien las interacciones entre estos mecanismos que desencadenan y hacen progresar los procesos patológicos. La clásica explicación ha sido la interacción entre predisposición genética y factores de riesgo que pueden inducir cambios en diferentes células (células musculares lisas, endoteliales, inflamatorias y plaquetas) y en la matriz extracelular de la microcirculación pul-

monar. El desequilibrio entre factores trombogénicos, mitogénicos, proinflamatorios y vasoconstrictores frente a los mecanismos anticoagulantes, antimitóticos y vasodilatadores puede iniciar y, posteriormente, perpetuar, procesos como la vasoconstricción, la proliferación, la trombosis y la inflamación de la microcirculación pulmonar⁽¹⁾. Estos mecanismos son los que causan el inicio y progresión de los cambios patológicos obstructivos típicos de la HAP. Como consecuencia, aumenta la resistencia vascular pulmonar (RVP), que conduce a una sobrecarga del ventrículo derecho y, finalmente, a la insuficiencia cardíaca y muerte.

Vamos a repasar en este capítulo los factores implicados en la patogenia de la hipertensión arterial pulmonar, revisando los diferentes mecanismos celulares y moleculares,

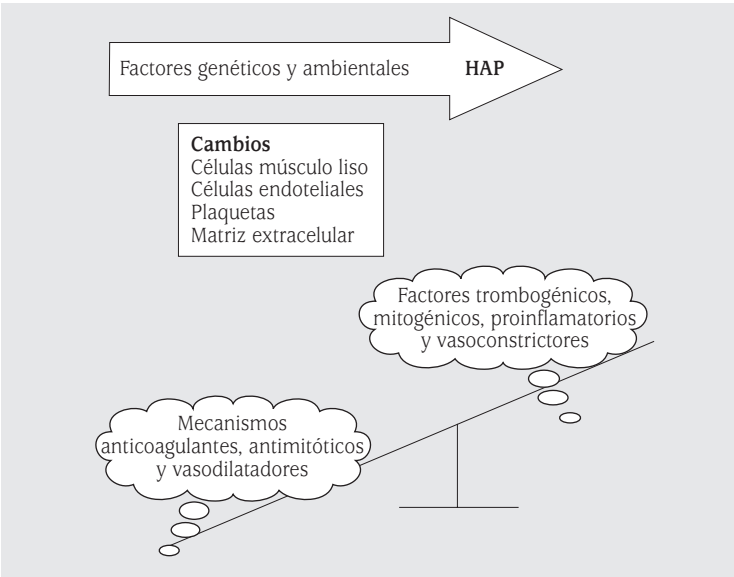


FIGURA 1. Biopatología multifactorial de la HAP.

TABLA 1. Factores promotores, mecanismos celulares y moleculares implicados en la patogenia de la HAP

Factores ambientales	Factores genéticos	Sustancias vasoactivas		Remodelado vascular	Sustancias inflamatorias	Coagulación
		VD	VC			
Hipoxia	BMPR2	NO	ET-1 endotelial	Proliferación	IL-1 coagulación	Alteración cascada
Anorexígenos	ALK-1	PGI-2	TxA2	Inhibición apoptosis	IL-6	Disfunción plaquetaria
Aceite tóxico	5-HT	VIP	5-HT	Aumento matriz extracelular	OPG	
VIH			Canales K ⁺	VEGF	Otros	
Otros						

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; BMPR-2: gen del receptor tipo 2 de las proteínas morfogenéticas del hueso; ALK-1: gen de la activina-cinasa "receptor-like" tipo 1; 5-HT: serotonina; NO: óxido nítrico; PGI-2: prostaciclina; VIP: péptido intestinal vasoactivo; ET-1: endotelina 1; TxA2: tromboxano A2; K⁺: potasio; VEGF: factor de crecimiento vascular del endotelio; IL-1: interleucina 1; IL-6: interleukina 6; OPG: osteoprotegerina.

y los sustratos genéticos conocidos hasta ahora⁽²⁾.

VASOCONSTRICCIÓN

La vasoconstricción es uno de los primeros componentes de la hipertensión pulmonar, y guarda relación con disfunción del endotelio y con función anormal de los canales de potasio en las células del músculo liso.

Efectos vasculares

El endotelio vascular detecta variaciones del flujo de la luz vascular y genera estímulos que afectan al tono de las células del músculo liso. Si estos estímulos se mantienen en el tiempo, pueden originar el remodelado de dichas células⁽³⁾.

Sustancias vasodilatadoras

El óxido nítrico (NO) es un potente vasodilatador pulmonar, un inhibidor de la activación de las plaquetas y de la proliferación de las células del músculo liso. Su síntesis está mediada por la familia de las enzimas de la

NOS (e-NOS). La isoforma endotelial eNOS está regulada por multitud de factores vasoactivos y por estímulos fisiológicos, como la hipoxia, inflamación y estrés oxidativo. Los pacientes con HAP tienen una disminución de la expresión de la enzima óxido nítrico-sintasa, lo que conduce a vasoconstricción y proliferación celular, así como a un incremento en la apoptosis de células endoteliales⁽⁴⁾.

La prostaciclina (PGI2) activa la vía independiente de la adenosina monofosfato ciclasa (cAMP), y actúa como vasodilatador, factor antiproliferativo del músculo liso vascular e inhibidor de la activación y agregación de las plaquetas. Los niveles de prostaciclina y la actividad de la prostaciclina sintetasa están disminuidos en pacientes con HAP⁽⁵⁾.

Otros factores vasodilatadores que se han implicado en la patogenia de la HAP cuando son deficitarios son: el péptido intestinal vasoactivo (VIP), vasodilatador pulmonar que también inhibe la agregación plaquetaria y la proliferación de células musculares lisas vasculares^(6,7); el monóxido de carbono (CO),

cuya enzima de producción hemooxigenasa 1 (HO-1) está relacionada con el desarrollo de HAP cuando es deficitaria; y el sulfito de hidrógeno (H₂S), que es también inhibidor de la proliferación vascular.

Sustancias vasoconstrictoras

La endotelina 1 (ET-1) se expresa en las células endoteliales del pulmón y es un mediador vascular en la HAP, ya que es un potente vasoconstrictor y un agente mitogénico de células musculares lisas vasculares. Esta acción mitogénica se produce a través de los receptores A como de los receptores B, siendo el primero el responsable de la mitogénesis en arterias principales, mientras que en las arterias de resistencia están ambos implicados. Esta vasoconstricción, la mitogénesis y el remodelado vascular resultante, provocan cambios hemodinámicos importantes en la circulación pulmonar. En plasma de animales y humanos con HAP se han podido detectar niveles elevados de ET-1⁽⁸⁾.

El tromboxano A₂ (TxA₂) es un derivado araquidónico que aumenta la vasoconstricción y activa las plaquetas. En orina de pacientes con HAP se han visto niveles bajos de un producto de la degradación de la prostaciclina (6-keto-prostaciclina F₂ alfa), así como un aumento de las concentraciones de un metabolito del TxA₂, tromboxano B₂⁽⁵⁾.

La serotonina (5-HT) se codifica en el gen del cromosoma 17q11.2 y se expresa en varios tipos de células, como neuronas, plaquetas y células endoteliales y de músculo liso de arteria pulmonar. Los niveles de expresión en pulmón son mucho mayores que en cerebro, lo cual sugiere que modificaciones en su expresión pueden tener consecuencias directas en la función de las células musculares lisas de la arteria pulmonar.

Existen estudios que han comprobado cómo la serotonina promueve el desarrollo de HAP hipóxica mediante el estímulo de crecimiento de células musculares lisas de la arteria pulmonar⁽⁹⁾.

También se ha publicado que la expresión del gen de la serotonina está incrementada

en arterias pulmonares remodeladas de animales con HAP secundaria a exposición crónica a hipoxia⁽¹⁰⁾. Además, se ha visto que ratones con modificaciones en el gen de la serotonina desarrollan HAP hipóxica menos severa que aquellos a los que no se les modifica⁽¹¹⁾.

Eddahibi y cols. encontraron que las células del músculo liso de arteria pulmonar crecen más rápido cuando son estimuladas con serotonina y que estos efectos eran debidos a la mayor expresión del transportador de serotonina. En este mismo estudio se comprueba que este efecto se reduce cuando se usan inhibidores de la serotonina. La expresión de serotonina estaba incrementada en cultivos de células del músculo liso de la arteria pulmonar, en plaquetas y pulmones de pacientes con HAP, sobre todo en la media de arterias pulmonares engrosadas y en las lesiones "en bulbo de cebolla"⁽¹²⁾.

Canales de potasio

El potencial transmembrana de reposo del músculo liso vascular se regula a través del potasio mediante canales voltaje-dependientes. La despolarización de estos canales provoca una despolarización celular, incrementando el calcio citoplasmático por apertura de los canales del calcio, lo que conlleva a vasoconstricción pulmonar, proliferación celular e inhibición de la apoptosis⁽¹³⁾.

Un defecto en los canales de potasio en células del músculo liso puede ser el mecanismo desencadenante y de mantenimiento en la vasoconstricción pulmonar de pacientes con HAP primaria. Yuan y cols. demostraron que la función de los canales de potasio voltaje-dependientes en las células del músculo liso de las arterias pulmonares de pacientes con HAP primaria está inhibida en comparación con los pacientes con HAP secundaria. Esta inhibición origina una despolarización de la membrana y un incremento del calcio citoplasmático, con las consecuencias referidas anteriormente⁽¹⁴⁾. Además, este incremento del calcio intracitoplasmático se relaciona con

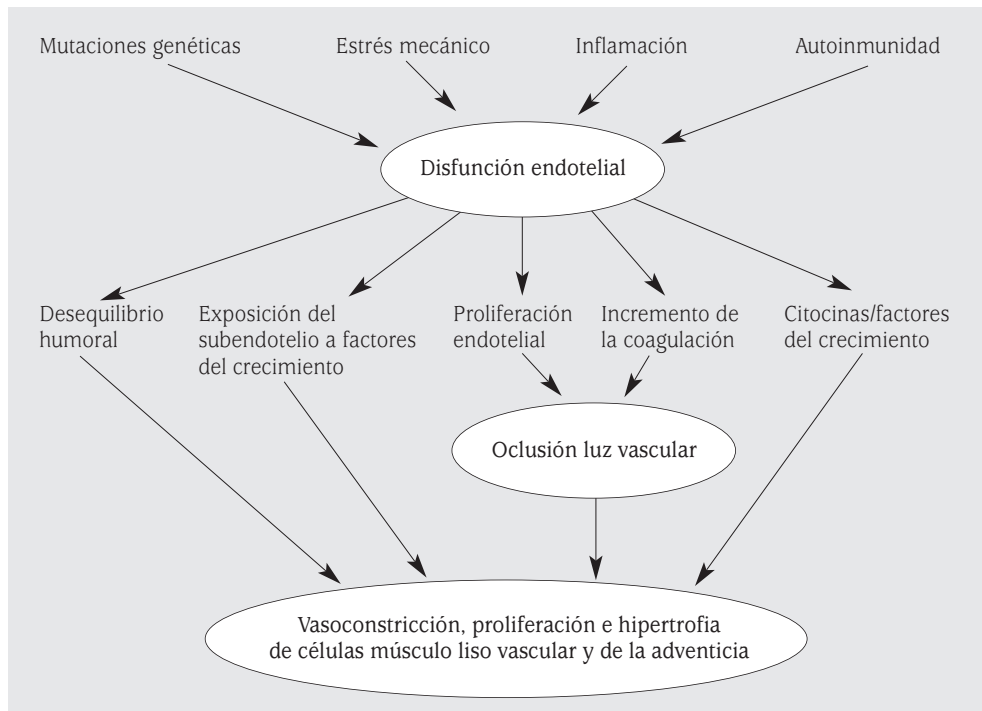


FIGURA 2. Mecanismos de disfunción endotelial y remodelado vascular en HAP. Modificado de Budhiraja et al⁽¹⁹⁾.

el desarrollo y mantenimiento de la HAP, ya que se ha visto que el 26% de los pacientes con HAP primaria presentan reducciones en la presión de la arteria pulmonar y de la resistencia vascular en respuesta a bloqueantes de los canales del calcio⁽¹⁵⁾.

Se han identificado subtipos de canales de K⁺ en células musculares de la arteria pulmonar que se inhiben ante el estímulo hipóxico, lo cual podría estar en el origen de la HAP de algunas enfermedades⁽¹⁶⁾.

También en la HAP secundaria a hipoxia crónica se ha implicado a los canales de K⁺, como se ha visto en células musculares lisas de arteria pulmonar cultivadas en las que existía una disminución del ARNm y de la expresión de las subunidades α de los canales, lo que provocaba una reducción en el flujo de iones⁽¹⁷⁾.

Se ha demostrado igualmente implicación de los canales de K⁺ en la HAP secundaria a fármacos anorexígenos, ya que existe una

menor expresión de los mismos en las arterias pulmonares de estos pacientes⁽¹⁸⁾.

Disfunción endotelial

La disfunción endotelial juega un papel fundamental en los cambios estructurales que se producen en la vasculatura pulmonar. Un endotelio dañado provoca una exposición del tejido vascular subyacente a factores circulantes que pueden originar mayores cambios patológicos. La disfunción endotelial también puede tener consecuencias adversas para la hemostasia pulmonar, alterando la producción de factores anticoagulantes (Fig. 2)⁽¹⁹⁾.

La permeabilidad de las células endoteliales puede verse alterada por daño directo, por excesiva producción del factor de crecimiento del endotelio vascular por el epitelio alveolar en respuesta a hipoxia, o por mediadores inflamatorios, como citocinas y oxidantes.

El endotelio vascular contribuye al mantenimiento de la coagulabilidad mediante la elaboración de sustancias como factores humorales, heparina, trombomodulina, activador tisular del plasminógeno, activador del plasminógeno tipo urocinasa, y el factor de von Willebrand. Por tanto, una disfunción del mismo contribuye a la formación de procesos trombóticos.

Determinados estímulos, como pequeñas grietas en el endotelio debidas a un flujo sanguíneo pulmonar aumentado, hipoxia alveolar, mutaciones genéticas (BMPPR-2, ALK-1) o fenómenos inflamatorios, pueden producir una activación endotelial. Esta activación originaría una proliferación de células endoteliales, un incremento de la coagulabilidad, liberación de factores de crecimiento y desbalance entre éstos y mediadores vasoactivos, y una exposición del subendotelio a factores de crecimiento solubles. Como consecuencia, se produce una obliteración de la luz vascular que origina una vasoconstricción, hipertrofia y proliferación de la adventicia y del músculo liso arterial.

El reflejo patológico de la disfunción endotelial es la lesión plexiforme, una proliferación de células endoteliales que aparece en hipertensión pulmonar idiopática (HAPI) y que parece tener un origen monoclonal. Estas lesiones, no sólo se ven en la HAPI, sino que también se pueden ver en HAP secundarias a malformaciones cardíacas o secundarias a colagenopatías. En estas lesiones se pueden apreciar marcadores de angiogénesis, como el factor de crecimiento endotelial (VEGF)⁽²⁰⁾.

REMODELADO VASCULAR

Capa íntima

El remodelado de la capa íntima puede ser el resultado de daño endotelial y posterior activación de la migración de células musculares lisas, depósito de matriz extracelular y proliferación endotelial.

El factor de crecimiento endotelial (VEGF) es un factor mitogénico específico de la célula

endotelial, y un factor angiogénico que en la circulación pulmonar se une a las células endoteliales mediante dos tipos de receptores, el VEGF-R1 (FLT) y VEGF-R2 (KDR). En la HAP están aumentados tanto la expresión del VEGF como los receptores VEGF-R1 en el endotelio pulmonar, y VEGF-R2 en las lesiones plexiformes⁽²⁰⁾. Estos hallazgos también se han observado en pulmones sometidos a hipoxias aguda y crónica⁽²¹⁾.

En la HAPI, la progresión de las células endoteliales hacia lesiones plexiformes y concéntricas puede deberse a mutaciones en genes supresores, como el gen del receptor 2 de la proteína morfogénica ósea (BMPPR2) (ver apartado: "Mutaciones genéticas"), que también se expresa en lesiones plexiformes y en arterias pulmonares remodeladas de pacientes con HAPI⁽²²⁾.

El VEGF, la ET-1 y la survivina están presentes en las lesiones plexiformes y podrían influir aumentando la proliferación de células endoteliales y musculares lisas, o disminuyendo su apoptosis. Además, en estas lesiones están disminuidos factores como la NOS, la PGI2-sintasa y proteínas de supresión tumoral, como la caveolina 1 (CAV-1).

Capa media

El remodelado de la capa media incluye: presencia de hiperplasia e hipertrofia de la capa muscular; inhibición de la apoptosis celular de la capa muscular y acúmulo de la matriz extracelular.

La hipoxia causa HAP al inducir hipertrofia y metaplasia de células precursoras potenciales, como los pericitos, apareciendo así músculo liso en arterias precapilares que habitualmente no tienen capa muscular⁽²³⁾.

Los déficits del receptor gamma activado del peroxisoma (PPAR- γ) y de la apoproteína E (apo-E) se han relacionado con la resistencia a la insulina, y esta resistencia puede ser un factor que predisponga a HAP. En pacientes con HAPI se ha comprobado una menor expresión de PPAR- γ . También existen evidencias que relacionan al factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) con la pato-

genia de la HAP. Este factor produce proliferación y migración de células musculares lisas vasculares. Se ha visto también que el receptor de PDGF está sobre-expresado en el tejido pulmonar de pacientes con HAP⁽²⁴⁾.

Adventicia y matriz extracelular

Los fibroblastos de la adventicia son capaces de diferenciarse en células musculares lisas ante determinados estímulos de estrés, como la hipoxia, monocrotalina y otros, y así migrar hacia la capa media remodelada. Además, también pueden secretar factores de crecimiento que activan la proliferación de células musculares lisas, permiten el reclutamiento de células progenitoras de la médula ósea y crean un nicho favorable para la expansión de los nuevos vasos⁽²⁴⁾.

El aumento de depósito de proteínas del tejido conectivo (colágeno y elastina) se ha relacionado con el aumento de la capa media de las arterias pulmonares musculares, causante de una reducción de la luz vascular⁽²⁴⁾.

CÉLULAS INFLAMATORIAS Y PLAQUETAS

Determinadas células inflamatorias, como macrófagos y linfocitos, están aumentadas en lesiones plexiformes de los vasos de HAP. Un importante porcentaje de pacientes con HAP presentan niveles elevados de anticuerpos anti-nucleares, de citocinas proinflamatorias (IL-1 y -6) y una mayor expresión pulmonar del factor de crecimiento plaquetario y de la proteína 1- α de macrófagos. Esto proporciona una evidencia de un componente de autoinmunidad y/o inflamación activa^(25,26).

Existe en la bibliografía evidencia de un componente inflamatorio sistémico en la HAP, tal y como se puede ver en el estudio de Balabanian y cols., que encontraron niveles significativamente elevados de varios marcadores inflamatorios (factor de vonWillebrand, P-selectina, CD25, etc.) en pacientes con HAP grave frente a controles⁽²⁷⁾.

La osteoprotegerina (OPG) es una glicoproteína de 60 kDa que pertenece a la superfamilia del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-

α). Se expresa y se produce en varios tejidos que incluyen el corazón y el pulmón. Esta proteína está modulada por proteínas morfogenéticas de hueso (BMP), serotonina e interleucina-1. En un reciente estudio, Lawrie y cols. han realizado estudios inmunohistoquímicos de lesiones de HAP y han demostrado un incremento en la expresión de la osteoprotegerina, así como niveles aumentados de la misma en plasma de pacientes con HAP idiopática. En este mismo trabajo se demuestra que: la OPG recombinante estimula la proliferación y migración de células del músculo liso de la arteria pulmonar *in vitro*; la disminución de la función de BMP-R2 aumenta la secreción de OPG; y que la serotonina e IL-1 aumentan la secreción de OPG. Así demuestran que la OPG está aumentada en HAP y que puede regular la proliferación y migración de células musculares lisas de la arteria pulmonar, jugando así un papel importante en la patogénesis de la HAP⁽²⁸⁾.

ANOMALÍAS PROTROMBÓTICAS

Las alteraciones de la coagulación de la HAP pueden ser debidas a la disfunción endotelial, a alteraciones en la cascada de la coagulación y a una función plaquetaria alterada. Las lesiones trombóticas son frecuentes en la HAP, apareciendo entre un 20 y un 56 % de pacientes con HAP esporádica o hereditaria, pudiendo encontrarse en cualquier tipo de HAP grave. Existe suficiente evidencia de que, en pacientes con HAP, se producen fenómenos de coagulación intravascular, detectándose niveles plasmáticos elevados de fibrinopéptido A y dímero-D. De la misma forma, la actividad procoagulante y fibrinolítica del endotelio pulmonar está alterada en la HAP, como se comprueba al detectar niveles altos del factor de von Willebrand y del inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno. Tanto la HAP como otras formas de hipertensión pulmonar comparten la diátesis protrombótica descrita ampliamente en la literatura⁽²⁹⁾. Este estado protrombótico puede contribuir a la progresión de la HAP.

Cada vez está más aceptado que las anomalías vasculares de la HAP provocan una

liberación de factores procoagulantes, factores vasoactivos (tromboxano A₂, el factor activador de plaquetas, serotonina) y mediadores mitogénicos (factor del crecimiento derivado de las plaquetas, TGF- β y VEGF) por parte de las plaquetas. No obstante, no acaba de quedar claro si la disfunción plaquetaria y la trombosis son realmente causa o consecuencia de la enfermedad⁽⁵⁰⁾.

Los pacientes con HAPI grave pueden presentar trombocitopenia, lo cual se ha relacionado con la formación de agregados plaquetarios secundarios a la activación de las plaquetas por el endotelio⁽⁵¹⁾. La plaquetopenia suele asociarse a hemólisis microangiopática que se produce por depósitos de fibrina en las lesiones plexiformes.

MUTACIONES GENÉTICAS

La mutación del gen que codifica el receptor tipo 2 de las proteínas morfogenéticas del hueso (BMPR2) constituye el factor con mayor predisposición genética a padecer HAP. Este gen pertenece a la superfamilia del factor- β transformador de crecimiento y está involucrado en el control de la proliferación vascular celular. Mutaciones en este gen son responsables de alteraciones en la transducción de las proteínas morfogenéticas del hueso, que conllevan a la proliferación de células musculares lisas en las arterias pulmonares. No obstante, la penetrancia es baja (en torno al 20%) y se desconocen aún los factores implicados en el inicio de la enfermedad y en el mecanismo molecular, que justifica la responsabilidad de la mutación de BMPR2 en el desarrollo de la misma. En la hipertensión pulmonar arterial familiar se detectan mutaciones de este gen en al menos el 70% de los casos, habiéndose descrito ya hasta 140 mutaciones^(52,53).

Estas mutaciones también pueden ser detectadas en casos esporádicos en un porcentaje que varía entre el 10 y 25%. El estudio más amplio es el que incluía a 99 pacientes, de los cuales 11 eran portadores de la mutación⁽⁵⁴⁾. En porcentajes menores se han visto en HAP en pacientes con enfermedad

congénita cardiaca (6%)⁽⁵⁵⁾ y casos asociados a fármacos anorexígenos⁽⁵⁶⁾. Por contra, no se han visto mutaciones en pacientes con HAP asociada a esclerodermia⁽⁵⁷⁾ o SIDA⁽⁵⁸⁾.

Otras alteraciones genéticas descritas en la literatura son las del gen de la activina-kinasa “receptor-like” tipo 1 (ALK-1), que se encuentra en el cromosoma 12q13, cromosoma en el que se encuentran también las alteraciones genéticas de pacientes con telangiectasia hemorrágica hereditaria. Estas mutaciones genéticas serían responsables de la dilatación vascular característica de la telangiectasia y de la obstrucción de arterias pulmonares de pequeño calibre de la HAP⁽⁵⁹⁾.

La variante alélica-L del gen promotor de serotonina se asocia con sobreexpresión de serotonina y mayor crecimiento de células de músculo liso de arterias pulmonares. Además, esta mutación estaba presente en la forma homocigótica en el 65% de los pacientes, y sólo en 27% de controles. Por lo tanto, estos hallazgos sugieren que la serotonina tiene un papel activo en la patogénesis de HAP primaria y que los polimorfismos de la misma le proporcionan susceptibilidad a padecerla⁽¹¹⁾.

CONCLUSIONES

Existen múltiples mecanismos celulares, moleculares y genéticos, implicados en el proceso de instauración y mantenimiento de la HAP, sin que se conozca aún bien la interacción entre ellos. Estos mecanismos originan un desequilibrio entre factores trombogénicos, mitogénicos, proinflamatorios y vasoconstrictores, por un lado, frente a mecanismos anticoagulantes, antimitóticos y vasodilatadores, por otro.

Es preciso conocer mejor estos mecanismos para desarrollar moléculas que actúen directamente sobre ellos y controlar la progresión de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Galiè N, Torbicki A, Barst R, et al. Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. The Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hyper-

- tension of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2004; 25: 2243-78.
2. McLaughlin VV, McGoon MD. Pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2006; 114: 1417-31.
 3. Voelkel NF, Tuder RM. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: a model for what human disease? *J Clin Invest* 2000; 106: 733-8.
 4. Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1995; 333: 214-21.
 5. 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
 6. Cox CP, Linden J, Said SI. VIP elevates platelet cyclic AMP (AMPC) levels and inhibits in vitro platelet activation induced by platelet-activating factor (PAF). *Peptides*. 1984; 5: 325-8.
 7. Petkov V, Mosgoeller W, Zieske R, et al. Vasoactive intestinal peptide as a new drug for treatment of primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest*. 2003; 111:1339-46.
 8. 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: 1732-9.
 9. Eddahibi S, Raffestin B, Pham I, et al. Treatment with 5-HT potentiates development of pulmonary hypertension in chronically hypoxic rats. *Am J Physiol*. 1997; 272: 1173-81.
 10. Eddahibi S, Fabre V, Boni C, et al. Induction of serotonin transporter by hypoxia in pulmonary vascular smooth muscle cells. Relationship with the mitogenic action of serotonin. *Circ Res*. 1999; 84: 329-36.
 11. Eddahibi S, Hanoun N, Lanfumey L, et al. Attenuated hypoxic pulmonary hypertension in mice lacking the 5-hydroxytryptamine transporter gene. *J Clin Invest*. 2000; 105: 1555-62.
 12. Eddahibi S, Humbert M, Fadel E, et al. Serotonin transporter overexpression is responsible for pulmonary artery smooth muscle hyperplasia in primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest*. 2001;108:1141-50.
 13. Yuan XJ. Voltage-gated K⁺ currents regulate resting membrane potential and [Ca²⁺]_i in pulmonary arterial myocytes. *Circ Res*. 1995; 77: 370-8.
 14. Yuan JX, Aldinger AM, Juhaszova M, et al. Dysfunctional voltage-gated K⁺ channels in pulmonary artery smooth muscle cells of patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation*. 1998; 98: 1400-6.
 15. Rich S, Kaufmann E, Levy PS. The effect of high doses of calcium-channel blockers on survival in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 1992; 327: 76-81.
 16. Archer SL, Weir EK, Reeve HL, et al. Molecular identification of O₂ sensors and O₂-sensitive potassium channels in the pulmonary circulation. *Adv Exp Med Biol*. 2000; 475: 219-40.
 17. Takimoto K, Fomina AF, Gealy R, et al. Dexamethasone rapidly induces Kv1.5 K⁺ channel gene transcription and expression in clonal pituitary cells. *Neuron*. 1993; 11: 359-69.
 18. Wang J, Juhaszova M, Conte JV Jr, et al. Action of fenfluramine on voltage-gated K⁺ channels in human pulmonary-artery smooth-muscle cells. *Lancet*. 1998; 352: 290.
 19. Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Circulation*. 2004; 109: 159-65.
 20. Tuder RM, Chacon M, Alger L, et al. Expression of angiogenesis-related molecules in plexiform lesions in severe pulmonary hypertension: evidence for a process of disordered angiogenesis. *J Pathol*. 2001; 195: 367-74.
 21. Tuder RM, Flook BE, Voelkel NF. Increased gene expression for VEGF and the VEGF receptors KDR/Flk and Flt in lungs exposed to acute or to chronic hypoxia. Modulation of gene expression by nitric oxide. *J Clin Invest*. 1995; 95: 1798-807.
 22. Atkinson C, Stewart S, Upton PD, et al. Primary pulmonary hypertension is associated with reduced pulmonary vascular expression of type II bone morphogenetic protein receptor. *Circulation*. 2002; 105: 1672-8.
 23. Meyrick B, Reid L. Hypoxia and incorporation of 3H-thymidine by cells of the rat pulmonary arteries and alveolar wall. *Am J Pathol*. 1979; 96: 51-70.
 24. Sala E, Palou A, Carrera M. Mecanismos patogénicos en la hipertensión pulmonar. En: Sueiro A, Gaudó J, ed. *Tratado de hipertensión pulmonar*. Barcelona: Ars Medica; 2009. p. 37-54.
 25. Yamaguchi K, Kinoshita M, Goto M, et al. Characterization of structural domains of human osteoclastogenesis inhibitory factor. *J Biol Chem*. 1998; 273: 5117-23.

26. Dorfmueller P, Perros F, Balabanian K, et al. Inflammation in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 2003; 22: 358-63.
27. Balabanian K, Foussat A, Dorfmueller P, et al. CX(3)C chemokine fractalkine in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1419-25.
28. Lawrie A, Waterman E, Southwood M, et al. Evidence of a role for osteoprotegerin in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Am J Pathol.* 2008; 172: 256-64.
29. Humbert M, Morrell NW, Archer SL, et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43: 13S-24S.
30. Herve P, Humbert M, Sitbon O, et al. Pathobiology of pulmonary hypertension. The role of platelets and thrombosis. *Clin Chest Med.* 200; 22: 451-8.
31. Lopes AA, Maeda NY, Almeida A, et al. Circulating platelet aggregates indicative of in vivo platelet activation in pulmonary hypertension. *Angiology.* 1993; 44: 701-6
32. Machado RD, Aldred MA, James V, et al. Mutations of the TGF-beta type II receptor BMPR2 in pulmonary arterial hypertension. *Hum Mutat.* 2006; 27: 121-32.
33. Cogan JD, Pauculo MW, Batchman AP, et al. High frequency of BMPR2 exonic deletions/duplications in familial pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006; 174: 590-8.
34. Koehler R, Grünig E, Pauculo MW, et al. Low frequency of BMPR2 mutations in a German cohort of patients with sporadic idiopathic pulmonary arterial hypertension. *J Med Genet.* 2004; 41: 127.
35. Roberts KE, McElroy JJ, Wong WP, et al. BMPR2 mutations in pulmonary arterial hypertension with congenital heart disease. *Eur Respir J.* 2004; 24: 371-4.
36. Humbert M, Deng Z, Simonneau G, et al. BMPR2 germline mutations in pulmonary hypertension associated with fenfluramine derivatives. *Eur Respir J.* 2002; 20: 518-23.
37. Morse J, Barst R, Horn E, et al. Pulmonary hypertension in scleroderma spectrum of disease: lack of bone morphogenetic protein receptor 2 mutations. *J Rheumatol.* 2002; 29: 2379-81.
38. Nunes H, Humbert M, Sitbon O, et al. Prognostic factors for survival in human immunodeficiency virus-associated pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167: 1433-9
- 39.- Trembath RC, Thomson JR, Machado RD, et al. Clinical and molecular genetic features of pulmonary hypertension in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N Engl J Med.* 2001; 345: 325-34.