

Farmakologia śródbłonna w nadciśnieniu płucnym

Endothelium pharmacology in pulmonary hypertension

Andrzej Fedorowicz^{1,2}, Stefan Chłopicki²

¹Zakład Farmakodynamiki, Katedra Farmakodynamiki, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

²Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Streszczenie

Dysfunkcja śródbłonna płucnego jest warunkiem koniecznym do rozwoju nadciśnienia płucnego. Niewydolność śródbłonkowej syntezy prostacykliny (PGI₂), tlenku azotu (NO) i wzrost aktywności endoteliny 1 (ET-1) są związane z rozwojem tej choroby. Celem niniejszego artykułu jest omówienie trzech podstawowych przekaźników śródbłonna płucnego, takich jak NO, PGI₂, ET-1, ich roli w nadciśnieniu płucnym oraz zarysowanie możliwości farmakologicznej modulacji czynności tych przekaźników.

Abstract

The dysfunction of lung endothelium is crucial in the development of pulmonary hypertension. Dysfunction of endothelial synthesis of prostacyclin (PGI₂) and nitric oxide (NO) and increased activity of endothelin 1 (ET-1) are connected to the progress of the disease. In this review the authors describe three major mediators of pulmonary endothelium: NO, PGI₂ and ET-1. Their role in pulmonary hypertension and possibilities of pharmacological modulation of their activity are also discussed.

Kardiologia Polska 2005; 63; 4 (Supl. 2): 462-471

Wprowadzenie

Krążenie płucne różni się od krążenia systemowego pod wieloma względami. Jednak znaczenie prawidłowej czynności śródbłonna dla zdrowia układu krążenia i rola dysfunkcji śródbłonna w patologii układu krążenia nabierają podobnego, fundamentalnego znaczenia. Istotnie, nadciśnienie płucne związane jest z niewydolnością śródbłonkowej syntezy prostacykliny (PGI₂), tlenku azotu (NO) i wzrostem aktywności endoteliny 1 (ET-1) [1-3]. Towarzyszą temu z jednej strony zmiany zakrzepopodne śródbłonna (np. spadek ekspresji śródbłonkowej trombomoduliny [4]) wzrost aktywności płytkowego TXA₂ [5], a z drugiej aktywacja procesów zapalnych śródbłonna, przejawiająca się wzrostem stężenia osoczkowego cytokin prozapalnych (takich jak np. IL-1β, IL-6) [6], rozpuszczalnych cząsteczek adhezyjnych (np. sVCAM-1, sICAM-1) i chemokin (np. MIP-1α, RANTES) [7, 8]. Istnieją więc uderzające podobieństwa pomiędzy fenotypem dysfunkcji śródbłonna w nadciśnieniu płucnym i w chorobach krążenia systemowego [9].

Rzecz jasna, inne czynniki wywołują dysfunkcję śródbłonna płucnego w nadciśnieniu płucnym, a inne dys-

funkcję krążenia systemowego, prowadzącą do *atherothrombosis*. Pomimo że w zarysie w jednym i drugim przypadku upośledzona jest produkcja naczynioprotekcyjnych mediatorów śródbłonna, aktywowane są mechanizmy zapalne i zakrzepowe śródbłonna, nasilenie tych procesów, ich biochemiczne podłoże, jak również znaczenie w rozwoju patologii mogą być odmienne. Jednak w jednym i drugim przypadku patologiczne zmiany w śródbłonnku odgrywają kluczową rolę. Dysfunkcja śródbłonna obwodowego jest warunkiem sine qua non rozwoju *atherothrombosis* [9], a dysfunkcja śródbłonna płucnego – rozwoju nadciśnienia płucnego [1].

Farmakoterapia nadciśnienia płucnego przez wiele lat błędziła [2, 10]. Dopiero niedawno w leczeniu nadciśnienia płucnego pojawili się antagoniści kanału wapniowego typu L, a obecnie są podstawową grupą leków w leczeniu tej choroby [11]. Nowe nadzieje pojawiły się jednak dopiero wtedy, gdy zaproponowano terapię z użyciem wziewnego NO, analogów PGI₂ oraz antagonistów receptorowych dla ET-1 [10, 12]. Dzisiejsza farmakologia nadciśnienia płucnego zasadza się więc na terapii substytucyjnej

Adres do korespondencji:

Stefan Chłopicki, Zakład Farmakologii Doświadczalnej Katedry Farmakologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Grzegorzewska 16, 31-531 Kraków, tel.: +48 12 421 11 68, +48 12 294 34 44, faks: +48 12 421 72 17, e-mail: mfschlop@cyf-kr.edu.pl

dla niewydolnego śródbłonka krążenia płucnego (zmniejszenie NO i PGI₂) albo na hamowaniu nadmiernej aktywności wytwarzanych przez niego przekaźników (ET-1). Ciekawe, że leki z grupy antagonistów kanału wapniowego, poza swoim klasycznym działaniem na mięśniówkę gładką naczyń, mogą zawdzięczać skuteczność terapeutyczną również działaniu śródbłonkowemu [13–15].

Wydaje się więc, że podstawę leczenia nadciśnienia płucnego stanowi farmakologia śródbłonka. Celem niniejszego artykułu jest omówienie trzech podstawowych przekaźników śródbłonka płucnego, takich jak NO, PGI₂, ET-1, ich roli w nadciśnieniu płucnym oraz zarysowanie możliwości farmakologicznej modulacji czynności tych przekaźników.

Fenotyp dysfunkcji śródbłonka w nadciśnieniu płucnym

U pacjentów z nadciśnieniem płucnym i w modelach zwierzęcych nadciśnienia płucnego rozwija się dysfunkcja śródbłonka obejmująca wiele różnych zmian biochemicznych [1]. Na pierwszy plan wysuwają się: zmniejszenie wydzielania NO i PGI₂ oraz zwiększenie wydzielania ET-1 przez śródbłonek. Towarzyszą temu zmiany strukturalne, prozapalne, prozakrzepowe ściany naczyń, jak również zaburzenia proliferacji komórek śródbłonka (*plexiform lesion*) [2].

Nie są poznane mechanizmy rozwoju dysfunkcji śródbłonka w krążeniu płucnym. Najprawdopodobniej powstaje ona pod wpływem innych czynników niż w przypadku dysfunkcji śródbłonka obwodowego. Dla przykładu hipercholesterolemia, hipertriglicerydemia, oporność na insulinę, paradontoza, nie mają wielkiego znaczenia w nadciśnieniu płucnym [2]. Znaczenie mają raczej takie czynniki, jak niedotlenienie, czynniki hemodynamiczne, działanie toksyczne leków, czynniki zakaźne i predyspozycje genetyczne [2, 16].

Interesujące, że podnoszone ostatnio czynniki genetyczne predysponujące do rozwoju nadciśnienia płucnego, takie jak mutacje w obrębie BMPR-2 (*bone morphogenic protein receptor 2*), Alk-1 (*activin-receptor-like kinase 1*), Endoglin, TIE/2 (receptor dla angiopoetyny 1) – wszystkie dotyczą sygnalizacji w śródbłonku płucnym. Ich omówienie można znaleźć w kilku ostatnio opublikowanych pracach [1, 2, 17, 18]. My ograniczamy się do opisanego trzech ważnych przekaźników śródbłonka płucnego, których aktywność determinuje fenotyp zdrowego i chorego śródbłonka.

Tlenek azotu (NO)

Śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (NOS-3) wytwarza NO w złożonej reakcji oksydoredukcyjnej z udziałem wielu kofaktorów (takich jak np. NADPH,

FMN, FAD, BH₄, kalmodulina-Ca²⁺), w której substratem jest L-arginina a produktami NO i L-cytrulina [19]. Choć w modelach doświadczalnych nadciśnienia płucnego obserwowano upośledzenie aktywności biologicznej NO [20] i kompensacyjny wzrost ekspresji NOS-3 [21, 22], to u pacjentów z nadciśnieniem płucnym ekspresja NOS-3 w śródbłonku zmniejsza się wraz z postępem choroby [23]. O kluczowej roli NO w nadciśnieniu płucnym świadczą też obserwacje, że zwiększona ekspresja NOS-3 u myszy transgenicznych zapobiega rozwojowi nadciśnienia płucnego, natomiast myszy genetycznie pozbawione NOS-3 rozwijają ciężkie nadciśnienie płucne w odpowiedzi na łagodną hipoksję [24, 25].

Znany profil śródbłonkowego działania NO, w tym jego działanie naczyniorozszerzające, hamujące proliferację i przebudowę mięśniówki gładkiej ściany naczynia, przeciwplatek, przeciwzapalne i naczynioprotekcyjne tłumaczy, dlaczego niedobór śródbłonkowego NO może doprowadzić do nadciśnienia płucnego i związanej z tym przebudowy naczyń płucnych. Istotnie, niektóre z elementów charakteryzujących patologiczny obraz nadciśnienia płucnego, takie jak obkurczenie drobnych tętnic płucnych, patologiczny przerost mięśniówki gładkiej naczyń płucnych, zwłóknienie w ścianie naczyń, mogą być ściśle związane z upośledzeniem śródbłonkowego wydzielania NO [21–23, 26]. Charakterystyczna dla nadciśnienia płucnego nadmierna, patologiczna proliferacja śródbłonka może być również związana z zaburzeniem czynności śródbłonkowego NO [18]. U pacjentów z nadciśnieniem płucnym upośledzone jest bowiem wydzielanie śródbłonkowego NO w odpowiedzi na VEGF (*vascular endothelial growth factor*), które warunkuje prawidłową proliferację śródbłonka [27, 28].

Powstający w śródbłonku NO wywiera swoje biologiczne działanie przez pobudzenie rozpuszczalnej cyklicznej guanylowej (sCG) [29–31]. Prowadzi to do obniżenia wewnątrzkomórkowego stężenia Ca²⁺, modyfikacji czynności kanałów jonowych [32, 33], pobudzenia/zahamowania fosfodiesteraz i wtórnych zmian w szlakach zależnych od cAMP, pobudzenia szlaku kinaz MAP czy wreszcie aktywacji kinazy Rho [34–38]. Ten ostatni szlak ma istotne znaczenie w nadciśnieniu płucnym i jego zahamowanie przez fasudil obniża nadciśnienie płucne [39]. NO może wpływać na proliferację mięśni gładkich przez szlaki zależne i niezależne od cGMP [38, 40]. Wydaje się, że główną rolę spełniają te ostatnie mechanizmy, w których udział biorą poliaminy [40].

Działanie przeciwplatekowe NO jest ściśle związane z działaniem PGI₂, bowiem oba te przekaźniki synergistycznie hamują aktywację płytek krwi odpowiednio przez mechanizmy zależne od cGMP i cAMP [41, 42]. Pobudzenie szlaków zależnych od cAMP i cGMP prowadzi do hamowania wapniowozależnych mechanizmów

pobudzenia płytki, ekspresji selektyny P, zahamowania powstawania aktywnej konformacji receptora GPIIb/IIIa [43].

Warto dodać, że NO może stymulować aktywność oksydazy hemowej [44], która stanowi ważny mechanizm utrzymujący w ryzach procesy proliferacji komórek mięśni gładkich w naczyniach płucnych [45, 46]. NO jest też inhibitorem ekspresji mRNA dla preproET-1 [47].

Upośledzenie działania NO w nadciśnieniu płucnym może być związane z spadkiem ilości NO w związku ze zmniejszoną ekspresją NOS-3 [23], zwiększonym stresem oksydacyjnym i wytwarzaniem O_2^- przez oksydazę ksantynową, oksydazę NADPH lub przez rozprężoną syntazę NO (NOS-3) [48], a wreszcie ze zwiększoną ekspresją PDE5 [49], która przyspieszając rozkład cGMP, osłabia działanie NO [48].

Zgodnie z tymi obserwacjami w modelach zwierzęcych nadciśnienia płucnego niedobór tetrahydrobiopteryny (BH_4) prowadził do zmniejszonego wytwarzania NO i zwiększonego wytwarzania O_2^- przez rozprężoną NOS-3, co prowadziło do nadciśnienia płucnego i wygórowanej reakcji krążenia płucnego na ostre niedotlenienie [50]. Również suplementacja L-argininą (L-Arg) poprawiała zdolność naczyń płucnych do rozkurczu zależnego od NO oraz zmniejszała przerost prawej komory, ciśnienie w tętnicy płucnej, zmniejszała stężenie ET-1, hamowała patologiczną przebudowę naczyń [51, 52].

Jak dotąd nie ma zbyt wielu dowodów na skuteczność L-Arg czy BH_4 w przywracaniu prawidłowej czynności śródbłonna w nadciśnieniu płucnym u ludzi [11]. Farmakologia NO w nadciśnieniu płucnym dotyczy jak na razie głównie wziewnego podawania NO, które może być potęgowane przez zablokowanie PDE5 (sildenafil) [53, 54].

Wziewne podawanie NO, choć selektywnie obniża nadciśnienie płucne związane np. z nieomogą oddechową u dzieci i dorosłych i wadami rozwojowymi serca, choć wiązano z tym sposobem leczenia duże nadzieje, to dzisiaj ma ograniczone znaczenie w długotrwałej terapii nadciśnienia płucnego u dorosłych. Ten sposób terapii jest natomiast szeroko stosowany w diagnostyce nadciśnienia płucnego i w leczeniu ciężkich postaci nadciśnienia płucnego [11, 55]. Jedną z bardzo istotnych niedogodności leczenia wziewnym NO jest oporność na jego działanie naczyniorozszerzające u wielu pacjentów oraz paradoksalny wzrost ciśnienia płucnego po zaprzestaniu leczenia [11, 56].

Prostacyklina (PGI_2)

Niedługo po odkryciu prostacykliny, pierwszego przekaźnika śródbłonna [57, 58], prof. Ryszard Gryglewski postawił hipotezę, że głównym źródłem ustrojowej prostacykliny jest śródbłonek naczyń płucnych [59], a wytwarzanie PGI_2 w płucach chroni nie tylko krążenie

płucne, ale również inne łożyska naczyniowe przez tworzeniem się zakrzepów [59]. Istotnie prostacyklina jest najsilniejszym ze znanych przekaźników hamujących aktywację płytek krwi [60]. Wytwarzana jest z kwasu arachidonowego w dwuetapowej syntezie z udziałem COX-1 lub COX-2 oraz syntazy prostacykliny (PGIS). Jej wewnątrzkomórkowy mechanizm działania związany jest ze wzrostem stężenia cAMP w komórkach docelowych [61]. Obok efektu przeciwplatekowego [57], PGI_2 powoduje zahamowanie proliferacji mięśniówki gładkiej naczyń tętnic płucnych [62], działa cytoprotekcyjnie na komórki śródbłonna, przeciwdziała aktywacji zapalnej śródbłonna i rozwojowi jego dysfunkcji [63]. W przeciwieństwie do NO endogenna PGI_2 nie uczestniczy w mechanizmach naczyniorozszerzających śródbłonna płucnego. Rzeczywiście tylko zahamowanie syntezy NO nasila skurcz naczyń płucnych wywołany przez hipoksję [64]. PGI_2 w krążeniu płucnym musi więc pełnić inną rolę niż NO.

Istotnie, zarówno prostacyklina (podawana dożylnie jako epoprostenol) jak i jej analogi (takie jak: beraprost, teprostinil, iloprost) silnie hamują niektóre elementy biochemiczne dysfunkcji śródbłonna i związanej z nią aktywacji zapalnej i prozakrzepowej śródbłonna. W nadciśnieniu płucnym stwierdza się podniesiony poziom rozpuszczalnej selektyny P, obniżony poziom trombomoduliny [4] i zwiększony poziom czynnika von Willebranda (vWF) [65]. Prostacyklina podana dożylnie obniża stężenie rozpuszczalnej selektyny P oraz podnosi poziom trombomoduliny u pacjentów z nadciśnieniem płucnym [66]. Stężenie trombomoduliny *in vitro* obniża również beraprost [67]. Długoterminowa terapia prostacykliną zmniejsza także poziom vWF [39]. Ten efekt terapeutyczny PGI_2 jest o tyle istotny, że poziom vWF jest wyznacznikiem postępu choroby i czynnikiem prognostycznym dla śmiertelności w nadciśnieniu płucnym [68]. Prostacyklina podana dożylnie nie wpływa jednak na poziom sCD40L, IL-8 i MCP-1 u pacjentów z nadciśnieniem płucnym [3].

Wydaje się więc, że terapia PGI_2 lub jej analogami poprawia czynność śródbłonna płucnego w nadciśnieniu płucnym i łagodzi niektóre objawy jego aktywacji zapalnej i zakrzepowej.

Wydzielanie NO i PGI_2 w śródbłonnku jest w wielu przypadkach sprzężone [69, 70]. Upośledzenie aktywności biologicznej śródbłonna NO jest niejednokrotnie związane z upośledzeniem aktywności PGI_2 [9]. Tak jest również w dysfunkcji śródbłonna płucnego. U pacjentów z nadciśnieniem płucnym stężenie stabilnego metabolitu prostacykliny 6-keto- $PGF1\alpha$ w moczu jest zmniejszone, a wytwarzanie TXB_2 jest zwiększone [71]. Stwierdzono też, że nadekspresja syntazy prostacykliny w tętniczkach płucnych jest zmniejszona [72]. Z drugiej strony inhibitory cyklooksygenazy, a zwłaszcza selek-

tywne inhibitory COX-2 (która jest głównym źródłem PGI₂ w ustroju), mogą nasilać patologię nadciśnienia płucnego [73]. Podobnie więc jak w dysfunkcji śródbłonka w krążeniu systemowym, niewystarczająca śródbłonkowa produkcja prostacykliny niesie ze sobą nadmierną aktywację płytek krwi, zwiększone wytwarzanie płytkowego TXA₂ i prozakrzepowe tego konsekwencje. Opisano również, że aktywowane płytki krwi uwalniają mikrocząstki, a te, wykorzystując śródbłonkowy kwas arachidonowy (a nie PGH₂ [74]), syntetyzują dodatkowe ilości TXA₂ [75], wzmacniając prozakrzepowe skutki upośledzonego wydzielania PGI₂.

W modelu zwierzęcym genetyczne pozbawienie myszy receptora dla prostacykliny (IP) związane jest z ogromnym nasileniem rozwoju nadciśnienia płucnego [76]. Z kolei selektywna ograniczona do krążenia płucnego nadekspresja syntazy prostacykliny u myszy chroni przed rozwojem nadciśnienia płucnego wywołanego przez przewlekłe niedotlenienie [77].

Nie są znane mechanizmy prowadzące do niewydolności śródbłonkowej produkcji PGI₂ w nadciśnieniu płucnym. W dysfunkcji śródbłonka systemowego syntaza PGI₂ zostaje unieczynniona przez nitrację tyrozyny w centrum aktywnym enzymu [78]. Czynnikiem ONOO⁻ powstający w jednej z najszybszych znanych reakcji w układach biologicznych pomiędzy NO i O₂⁻ [79]. Istnieją dowody na to, że w dysfunkcji śródbłonka płucnego produkcja O₂⁻ jest zwiększona. Źródłem O₂⁻ może być oksydaza NADPH [80], rozprężona syntaza NO (NOS-3) [81] lub oksydaza ksantynowa [82]. Pozostaje do wyjaśnienia, czy powstający w toku nadciśnienia płucnego ONOO⁻ prowadzi do nitracji syntazy PGI₂ tak jak to dzieje się w krążeniu systemowym na przykład w cukrzycy. Być może do upośledzenia wydzielania PGI₂ przez śródbłonek płucny prowadzą inne mechanizmy.

Już w 1980 r. podjęto pierwsze próby leczenia nadciśnienia płucnego przez dożylną podawanie PGI₂ [83]. Dzisiejsza terapia substytucyjna PGI₂ polega na dożylnym (epoprostenol), podskórnym (teprostynil), doustnym (beraprost), a przede wszystkim wziewnym (iloprost) podawaniu analogów PGI₂ [11, 56]. Sugeruje się większe korzyści terapeutyczne dla analogów PGI₂ niż NO podawanego wziewnie [11, 56, 84]. Istnieje coraz więcej prac opisujących profil farmakologicznego działania analogów PGI₂ u pacjentów z nadciśnieniem płucnym; niektóre z nich cytowano powyżej [11, 39, 55, 66]. Warto jeszcze dodać, że PGI₂ i jej analogi, podobnie jak NO, zmniejszają aktywność ET-1 *in vitro* i w nadciśnieniu płucnym [11, 85-87].

Inhibitory fosfodiesterazy (PDE)

Istnieje co najmniej 11 izoenzymów PDE. Z punktu widzenia farmakologii nadciśnienia płucnego interesu-

jące są jednak tylko 3 z nich: PDE3, PDE4 i PDE5. PDE3 i 4 (hamowane przez odpowiednio: motapizon, rolipram) są nakierowane przede wszystkim na rozkład cAMP [88], natomiast PDE5 (występująca przede wszystkim w tkance płucnej, selektywnie hamowana przez sildenafil [89, 90]) jest enzymem o wysokiej specyficzności do cGMP [91]. W nadciśnieniu płucnym ekspresja PDE3 i PDE5 w mięśniach gładkich naczyń płucnych rośnie [49, 92]. Ciekawe, że aktywność PDE3 zależy od cGMP i w ten sposób od aktywności PDE5 [93, 94]. Do grupy inhibitorów PDE dołączają coraz to nowe leki (głównie ze względu na swoje działanie pozapłucne), jednak najwięcej danych dotyczących nadciśnienia płucnego opisano dla sildenafilu. Jest on już dziś stosowany w monoterapii lub w połączeniu z wziewnym NO oraz w połączeniu z bosentanem [11, 95]. W modelach zwierzęcych nadciśnienia płucnego sildenafil podnosi cGMP w osoczu, hamuje rozwój nadciśnienia płucnego, przerost prawej komory [90], zmniejsza patologiczny przerost mięśniówki naczyniowej [38], pozostając bez wpływu na ciśnienie obwodowe [54].

Równie obiecujący profil terapeutyczny mają inhibitory PDE3/PDE4 (tolafentryna), które w zwierzęcych modelach nadciśnienia płucnego potęgują korzystne działanie PGI₂ [94], oraz zmniejszają ekspresję metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej MMP-2 i MMP-9 i hamują przerost prawej komory [96].

Endotelina 1 (ET-1)

ET-1 jest najsilniejszym znanym przekaźnikiem naczynioskurczowym ustroju. Jej odkrycie w 1988 r. [97], niedługo po identyfikacji EDRF jako NO, wywołało zdumienie. Nie dawano wiary, że śródbłonek może produkować tak silny przekaźnik kurczący naczynia krwionośne. ET-1, która jest peptydem 21-aminokwasowym, jest wytwarzana przez śródbłonek jako big-endotelina i dopiero pod wpływem działania konwertazy endoteliny przekształca się do ET-1 [98]. ET-1 wywołuje efekty przez dwa rodzaje receptorów: ET_A i ET_B. Oba receptory są zlokalizowane w mięśniówce gładkiej naczyń, a ich aktywacja prowadzi do zależnego od fosfolipazy C (PLC) wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia [98] i skurczu komórki mięśniowej gładkiej [99]. Z drugiej strony receptor ET_B znajduje się na śródbłonku i jego aktywacja pobudza komórkę śródbłonka do syntezy NO i PGI₂ [100]. Działanie ET-1 mediowane przez receptory ET_B może więc mieć znaczenie w endogennej modulacji naczynioskurczowego, promitotycznego [101], prozapalnego i prozakrzepowego działania ET-1, wywieranego przez receptory ET_A, ale również w unieczynnianiu ET-1 [102-104].

W nadciśnieniu płucnym obserwuje się zwiększoną ekspresję ET-1 [105, 106], co więcej – istnieje korelacja

między poziomem ET-1 we krwi a występowaniem zmian patologicznych i progresją choroby. Poziom ET-1 we krwi stanowi więc dobry marker postępu tego schorzenia [107, 108]. Nie są znane dokładne mechanizmy prowadzące do zwiększonej aktywności ET-1 w nadciśnieniu płucnym. Sugeruje się aktywację konwersji big-ET do ET-1 [99], wzrost produkcji ET-1, jak również upośledzenie unieczynniania ET-1 [109].

Istnieje wiele dowodów z doświadczalnych modeli nadciśnienia płucnego, potwierdzających kluczową rolę receptora ET_A i ochronną rolę receptora ET_B w patogenezie nadciśnienia płucnego. W szczurzym modelu nadciśnienia płucnego selektywny antagonist receptoru ET_A BQ-123 bardzo skutecznie hamuje rozwój nadciśnienia płucnego, przerost prawej komory i chroni przed patologicznym przerostem mięśniówki gładkiej naczyń płucnych [110], podczas gdy selektywny antagonist receptoru ET_B (ABT-627) zaostrza przebieg choroby [111]. O pneumoprotekcyjnej roli śródbłonkowego receptora ET_B świadczy również fakt, że myszy genetycznie pozbawione receptora ET_B (co prowadziło do upośledzenia śródbłonkowego wydzielania NO i PGI₂) rozwijały cięższe nadciśnienie płucne z większym przerostem prawej komory, mniejszym wyrzutem sercowym, większymi oporami przepływu, 5-krotnie większym stężeniem ET-1 w osoczu, większą ekspresją konwertazy endoteliny (ECE) niż myszy posiadające oba podtypy receptora dla ET-1 [112, 113]. Nie ma jednak jak dotąd wystarczających dowodów na to, że selektywne blokowanie receptora ET_A jest skuteczniejsze niż nieselektywne blokowanie receptora ET_A i ET_B. Nie ma jednak wątpliwości, że nieselektywny antagonist receptorów ET_A/ET_B, Ro 47-0203 (bosentan), hamuje rozwój nadciśnienia płucnego w modelach doświadczalnych [114]. Bosentan ma szerokie zastosowanie również u pacjentów z nadciśnieniem płucnym i wiele jest dowodów przemawiających za jego skutecznością kliniczną. Warto dodać, że coraz większe znaczenie zyskuje preferencyjny antagonist receptoru ET_A: sitaksentran, który wykazuje 6 000-krotnie większe powinowactwo do ET_A niż do ET_B [11]. Dane kliniczne dotyczące selektywnych antagonistów ET_A (ambrisentan) są jednak jeszcze ciągle niepełne [115].

Płytki krwi

Od dawna sugeruje się, że aktywowana płytka krwi jest ważnym elementem w odpowiedzi naczyń krwionośnych na uraz. Ta hipoteza, zasugerowana po raz pierwszy przez Ross i wsp. w kontekście patogenezy miażdżycy [116], nabiera szczególnego znaczenia w nadciśnieniu płucnym. Aktywowane płytki są bowiem ważnym źródłem mediatorów naczynioskurczowych, prozakrzepowych (TXA₂, serotoninina (5-HT)), a także czynników wzrostowych (VEGF, PDGF – *platelet-derived growth factor*, TGF β – *transforming growth factor*),

mających udział w przebudowie ściany naczyń płucnych [117]. Istotnie inhibitory syntazy TXA₂/antagoniści receptora TP są skuteczne w zwierzęcych modelach nadciśnienia płucnego [118]. Sugeruje się też powiązania między stosowaniem leków wpływających na mechanizmy serotoninergiczne a nadciśnieniem płucnym, bowiem zaburzenia płytkowego wychwytu serotonininy i nadmierne pobudzenie receptora 5HT_{2B} mogą prowadzić do patologicznej proliferacji śródbłonka i naczyń płucnych, a w konsekwencji do rozwoju nadciśnienia płucnego [119–121]. Istotnie nordeksenfluramina, agonista receptora 5-HT_{2B}, wywołuje nadciśnienie płucne [121].

Ostatnio pojawiają się bardzo ciekawe prace dotyczące udziału płytkowych czynników wzrostu w przebudowie naczyń w nadciśnieniu płucnym. Aktywowane płytki krwi uwalniają VEGF, PDGF, TGF β . Sugeruje się, że VEGF i TGF β mają udział w patologicznej proliferacji komórek śródbłonka, natomiast PDGF, ale także TGF β aktywują proliferację fibroblastów oraz komórek mięśni gładkich [122, 123]. Antagonista receptora PDGF, NX1975 zmniejsza patologiczny przerost naczyń płucnych w nadciśnieniu płucnym [124]. Uwalnianie PDGF przez płytki jest również hamowane przez PGI₂ lub jej analogi [122].

Istnieją również inne zależne od płytek krwi mechanizmy, które mogą przyczyniać się do patologicznej przebudowy naczyń płucnych. Płytki krwi są głównym źródłem sCD40L [3]. Kompleks sCD40L-CD40 stymuluje wydzielanie MCP-1, IL-8 przez komórki śródbłonka naczyń płucnych oraz syntezę czynnika tkankowego [125]. MCP-1 jest ważnym przekaźnikiem w odpowiedzi zapalnej śródbłonka w rozwoju nadciśnienia płucnego, ponieważ zahamowanie jego aktywności hamuje rozwój nadciśnienia płucnego [126].

Uwalnianie sCD40L z płytki krwi nie jest hamowane przez PGI₂, lecz przez antagonistów receptora GPIIb/IIIa (abciximab, infliximab), niestosowanych w terapii nadciśnienia płucnego [127]. Wydaje się, że brak wpływu PGI₂ na sCD40L może tłumaczyć niepełną skuteczność monoterapii PGI₂.

Podsumowując, aktywowane płytki krwi przez wiele mechanizmów zależnych od czynników wzrostu, TXA₂, 5-HT i sCD40L mogą przyczyniać się do patologii nadciśnienia płucnego. Zaskakujące, że leki przeciwplatekcyjne nie są standardem leczenia nadciśnienia płucnego. Być może klasyczne leki przeciwplatekcyjne, których zastosowanie w leczeniu *atherothrombosis* jest nie do przecenienia, nie wpływają na te płytkowe mechanizmy mające znaczenie w patologii nadciśnienia płucnego. Z drugiej strony, być może, badacze nadciśnienia płucnego poświęcają zbyt mało uwagi roli płytek krwi w rozwoju i progresji nadciśnienia płucnego.

Podsumowanie

Główny nurt rozwoju farmakoterapii nadciśnienia płucnego ogniskuje się wokół trzech mediatorów śródbłonna naczyń płucnych: NO, PGI₂, ET-1. Korekcja zaburzeń ich czynności stanowi podstawę współczesnego leczenia nadciśnienia płucnego, opierającego się na kombinacjach leków naśladujących działanie NO, PGI₂ lub/i hamujących działanie ET-1. Istnieją jednak możliwości jednoczesnej korekcji czynności tych trzech mediatorów przez inne leki o śródbłonkowym profilu działania, takie jak np. statyny. Istotnie statyny (inhibitory reduktazy 3-hydroksy-metyloglutarylo-CoA) [128], wprowadzone do medycyny jako leki hipolipemizujące, ujawniają ostatnio szerokie spektrum działań plejotropowych na śródbłonek i inne komórki układu sercowo-naczyniowego [129-132]. Działanie śródbłonkowe statyn obejmuje zwiększenie wydzielania NO i PGI₂ oraz obniżenie aktywności ET-1 [133-139] i te efekty działania statyn warunkują ich skuteczność w modelach zwierzęcych nadciśnienia płucnego. Być może ten śródbłonkowy mechanizm działania statyn stanowi też wyjaśnienie dla efektywności simwastatyny u ludzi z nadciśnieniem płucnym [140].

Inhibitory konwertazy angiotensyny (ACE-I) posiadają podobne do statyn, szerokie spektrum działania na śródbłonek i podobnie jak statyny, ich działanie obejmuje zwiększenie aktywności biologicznej NO i PGI₂ oraz zmniejszenie aktywności ET-1 [9]. Jednak dowody na ich skuteczność w nadciśnieniu płucnym nie są przekonujące i nie ma miejsca na ich zastosowanie we współczesnych standardach farmakoterapii nadciśnienia płucnego [11].

Obok statyn i ACE-I jest wiele innych leków śródbłonkowych, które mogłyby mieć znaczenie w farmakologii śródbłonna w nadciśnieniu płucnym [60]. Wśród nich obiecujący profil w modelach doświadczalnych nadciśnienia płucnego rysuje się dla agonistów PPAR_γ, inhibitorów oksydazy ksantynowej, inhibitorów FLAP (5-lipoxygenase-activating protein), antagonistów receptorów leukotrienowych, agonistów receptora B₂, peptydów natriuretycznych [34, 96, 139, 141-146].

Na przestrzeni kilku lat zmieniły się zasady terapii nadciśnienia płucnego: od postępowania objawowego, poprzez leki naczyniorozszerzające, do farmakologii śródbłonna. Ten ostatni etap rysuje też ciekawe dalsze perspektywy wykraczające poza modulację czynności NO, PGI₂ i ET-1.

Piśmiennictwo

- Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Circulation* 2004; 109: 159-65.
- Braunwald E, Zipes DP, Libby P (eds). Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. W. B. Saunders Company, Philadelphia 2001.
- Damas JK, Otterdal K, Yndestad A, et al. Soluble CD40 ligand in pulmonary arterial hypertension: possible pathogenic role of the interaction between platelets and endothelial cells. *Circulation* 2004; 110: 999-1005.
- Cella G, Bellotto F, Tona F, et al. Plasma markers of endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Chest* 2001; 120: 1226-30.
- 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.
- Humbert M, Monti G, Brenot F, et al. Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension (abstract). *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1628-31.
- Dorfmueller P, Zarka V, Durand-Gasselin I, et al. Chemokine RANTES in severe pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 534-9.
- Fartoukh M, Emilie D, Le Gall C, et al. Chemokine Macrophage Inflammatory Protein-1α mRNA Expression in Lung Biopsy Specimens of Primary Pulmonary Hypertension. *Chest* 1998; 114: 505-515.
- Chłopicki S. Farmakologia śródbłonna w atherothrombosis. *Kardiologia po Dyplomie* 2005; 4: 60-8.
- Humbert M, Sitbon O, Simonneau G. Treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2004; 351: 1425-36.
- Badesch DB, Abman SH, Ahearn GS, et al. American College of Chest Physicians. Medical therapy for pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2004; 126 (1 Suppl.): 355-62S.
- Humbert M, Barst RJ, Robbins IM, et al. Combination of bosentan with epoprostenol in pulmonary arterial hypertension: BREATHE-2. *Eur Respir J* 2004; 24: 353-9.
- Zhang X, Hintze TH. Amlodipine releases nitric oxide from canine coronary microvessels: an unexpected mechanism of action of a calcium channel-blocking agent. *Circulation* 1998; 97: 576-80.
- Dhein S, Zhao Y, Simsek S, et al. Actions of 1,4-dihydropyridines in isolated mesenteric vascular beds (abstract). *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: 784-91.
- Brovkovich V, Kalinowski L, Müller-Peddinghaus R, et al. Synergistic antihypertensive effects of nifedipine on endothelium. Concurrent release of NO and scavenging of superoxide. *Hypertension* 2001; 37: 34-9.
- Farber HW, Loscalzo J. Pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2004; 351: 1655-65.
- Newman JH, Fanburg BL, Archer SL, et al. Pulmonary arterial hypertension: future directions: report of a National Heart, Lung and Blood Institute/Office of Rare Diseases workshop. *Circulation* 2004; 109: 2947-52.
- Runo JR, Loyd JE. Primary Pulmonary Hypertension. *Lancet* 2003; 361: 1533-44.
- Demiryurek AT, Karamsetty MR, McPhaden AR, et al. Accumulation of nitrotyrosine correlates with endothelial NO synthase in pulmonary resistance arteries during chronic hypoxia in the rat. *Pulm Pharmacol Ther* 2000; 13: 157-65.
- Nakazawa H, Hori M, Ozaki H, et al. Mechanisms underlying the impairment of endothelium-dependent relaxation in the pulmonary artery of monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 1098-104.

21. Le Cras TD, Tyler RC, Horan MP, et al. Effects of chronic hypoxia and altered hemodynamics on endothelial nitric oxide synthase expression in the adult rat lung. *J Clin Invest* 1998; 101: 795-801.
22. Igari H, Tatsumi K, Sugito K, et al. Role of EDRF in pulmonary circulation during sustained hypoxia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 31: 299-305.
23. 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.
24. Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T, et al. Reduced hypoxic pulmonary vascular remodeling by nitric oxide from the endothelium. *Hypertension* 2001; 37: 322-7.
25. Steudel W, Ichinose F, Huang PL, et al. Pulmonary vasoconstriction and hypertension in mice with targeted disruption of the endothelial nitric oxide synthase (NOS 3) gene. *Circ Res* 1997; 81: 34-41.
26. Cooper CJ, Landzberg MJ, Anderson TJ, et al. Role of nitric oxide in the local regulation of pulmonary vascular resistance in humans. *Circulation* 1996; 93: 266-71.
27. 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 (abstract). *J Pathol* 2001; 195: 367-74.
28. He H, Venema VJ, Gu X, et al. Vascular endothelial growth factor signals endothelial cell production of nitric oxide and prostacyclin through flk-1/KDR activation of c-Src. *J Biol Chem* 1999; 274: 25130-5.
29. Gao Y, Dhanakoti S, Tolsa JF, et al. Role of protein kinase G in nitric oxide- and cGMP-induced relaxation of newborn ovine pulmonary veins. *J Appl Physiol* 1999; 87: 993-8.
30. Komalavilas P, Shah PK, Jo H, et al. Activation of mitogen-activated protein kinase pathways by cyclic GMP and cyclic GMP-dependent protein kinase in contractile vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 34301-9.
31. Sauzeau V, Jeune HL, Cario-Toumaniantz C, et al. Cyclic GMP-dependent protein kinase signaling pathway inhibits RhoA-induced Ca²⁺ sensitization of contraction in vascular smooth muscle. *J Biol Chem* 2000; 275: 21722-9.
32. Lim I, Yun J, Kim S, et al. Nitric Oxide Stimulates a Large-Conductance Ca-Activated K (+) Channel in Human Skin Fibroblasts through Protein Kinase G Pathway. *Skin Pharmacol Physiol* 2005; 18: 279-87.
33. Triggie CR, Hollenberg M, Anderson TJ, et al. The endothelium in health and disease – a target for therapeutic intervention. *J Smooth Muscle Res* 2003; 39: 249-67.
34. Ameshima S, Golpon H, Cool CD, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) expression is decreased in pulmonary hypertension and affects endothelial cell growth. *Circ Res* 2003; 92: 1162-9.
35. Mason NA, Springall DR, Burke M, et al. High expression of endothelial nitric oxide synthase in plexiform lesions of pulmonary hypertension. *J Pathol* 1998; 185: 313-8.
36. Pilz RB, Casteel DE. Regulation of gene expression by cyclic GMP. *Circ Res* 2003; 93: 1034-46.
37. Wennerberg K, Ellerbroek SM, Liu RY, et al. RhoG signals in parallel with Rac1 and Cdc42. *J Biol Chem* 2002; 277: 47810-7.
38. Sauzeau V, Rolli-Derkinderen M, Lehoux S, et al. Sildenafil prevents change in RhoA expression induced by chronic hypoxia in rat pulmonary artery. *Circ Res* 2003; 93: 630-7.
39. Abe K, Shimokawa H, Morikawa K, et al. Long-term treatment with a Rho-kinase inhibitor improves monocrotaline-induced fatal pulmonary hypertension in rats. *Circ Res* 2004; 94: 385-93.
40. Ignarro LJ, Buga GM, Wei LH, et al. Role of the arginine-nitric oxide pathway in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4202-8.
41. Pigazzi A, Heydrick S, Folli F, et al. Nitric oxide inhibits thrombin receptor-activating peptide-induced phosphoinositide 3-kinase activity in human platelets. *J Biol Chem* 1999; 274: 14368-75.
42. Yang J, Wu J, Jiang H, et al. Signaling through Gi family members in platelets. Redundancy and specificity in the regulation of adenyl cyclase and other effectors. *J Biol Chem* 2002; 277: 46035-42.
43. Mendelsohn ME, O'Neill S, George D, et al. Inhibition of fibrinogen binding to human platelets by S-nitroso-N-acetylcysteine. *J Biol Chem* 1990; 265: 19028-34.
44. Polte T, Abate A, Dennery PA, et al. Heme oxygenase-1 is a cGMP-inducible endothelial protein and mediates the cytoprotective action of nitric oxide. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1209-15.
45. Li QF, Dai AG. Hypoxia inducible factor-1 alpha correlates the expression of heme oxygenase 1 gene in pulmonary arteries of rat with hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Acta Biochim Biophys Sin* 2004; 36: 133-40.
46. Stanford SJ, Walters MJ, Hislop AA, et al. Heme oxygenase is expressed in human pulmonary artery smooth muscle where carbon monoxide has an anti-proliferative role. *Eur J Pharmacol* 2003; 473: 135-41.
47. Smith AP, Demoncheaux EA, Higenbottam TW. Nitric oxide gas decreases endothelin-1 mRNA in cultured pulmonary artery endothelial cells. *Nitric Oxide* 2002; 6: 153-9.
48. Steinhorn RH, Russell JA, Lakshminrusimha S, et al. Altered endothelium-dependent relaxations in lambs with high pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 2001; 280: 311-7.
49. Black SM, Fineman JR, Steinhorn RH, et al. Altered molecular expression of nitric oxide synthase in a lamb model of increased pulmonary blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1998; 275: H1643-51.
50. Khoo JP, Zhao L, Alp NJ, et al. Pivotal role for endothelial tetrahydrobiopterin in pulmonary hypertension. *Circulation* 2005; 111: 2126-33.
51. Wei B, Du J, Li J, et al. The modulating effect of L-arginine on collagen metabolism of pulmonary artery in pulmonary hypertension induced by a left-to-right shunt. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2002; 82: 1273-5.
52. Sasaki S, Asano M, Ukai T, et al. Nitric oxide formation and plasma L-arginine levels in pulmonary hypertensive rats. *Respir Med* 2004; 98: 205-12.
53. Wodniecki J, Jachec W, Poloński L, et al. Sildenafil reduces pressure and pulmonary resistance and increases susceptibility of pulmonary arteries to nitric oxide in primary pulmonary arterial hypertension. *Przegl Lek* 2005; 62: 135-8.
54. Sebki A, Strange JW, Phillips SC, et al. Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 2003 Jul 1; 107 (25): 3230-5.

55. Ichinose F, Roberts JD Jr, Zapol WM. Inhaled nitric oxide: a selective pulmonary vasodilator: current uses and therapeutic potential. *Circulation* 2004 Jun 29; 109 (25): 3106-11.
56. Galie N, Torbicki A, Barst R. Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. The Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2004; 25: 2243-78.
57. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, et al. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976; 263: 663-5.
58. Gryglewski RJ, Bunting S, Moncada S, et al. Arterial walls are protected against deposition of platelet thrombi by a substance (prostaglandin X) which they make from prostaglandin endoperoxides. *Prostaglandins* 1976; 12: 685-713.
59. Gryglewski RJ, Korbut R, Ocetkiewicz A. Generation of prostacyclin by lungs in vivo and its release into the arterial circulation. *Nature* 1978; 273: 765-7.
60. Chłopicki S. Zapalenie śródbłonna w atherothrombosis. *Kardiologia po Dyplomie* 2005; 4: 77-88.
61. Davidge ST. Prostaglandin H synthase and vascular function. *Circ Res* 2001; 89: 650-60.
62. Clapp LH, Finney P, Turcato S, et al. Differential effects of stable prostacyclin analogs on smooth muscle proliferation and cyclic AMP generation in human pulmonary artery. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 194-201.
63. Zardi EM, Zardi DM, Cacciapaglia F, et al. Endothelial dysfunction and activation as an expression of disease: role of prostacyclin analogs. *Int Immunopharmacol* 2005; 5: 437-59.
64. Gryglewski RJ, Chłopicki S, Uracz W, et al. Significance of endothelial prostacyclin and nitric oxide in peripheral and pulmonary circulation. *Med Sci Monit* 2001; 7: 1-16.
65. Muller AM, Skrzynski C, Skipka G, et al. Expression of von Willebrand factor by human pulmonary endothelial cells in vivo. *Respiration* 2002; 69: 526-33.
66. Sakamaki F, Kyotani S, Nagaya N, et al. Increased plasma P-selectin and decreased thrombomodulin in pulmonary arterial hypertension were improved by continuous prostacyclin therapy. *Circulation* 2000; 102: 2720-5.
67. Kainoh M, Maruyama I, Nishio S, et al. Enhancement by beraprost sodium, stable analogue of prostacyclin, in the thrombomodulin expression on membrane surface of cultured endothelial cells via increase in cyclic AMP level. *Biochem Pharmacol* 1991; 41: 1135-40.
68. Lopes AA, Maeda NY, Goncalves RC, et al. Endothelial cell dysfunction correlates differentially with survival in primary and secondary pulmonary hypertension. *Am Heart J* 2000; 139: 618-23.
69. Sun D, Huang A, Smith CJ, et al. Enhanced release of prostaglandins contributes to flow-induced arteriolar dilation in eNOS knockout mice. *Circ Res* 1999; 85: 288-93.
70. Puybasset L, Bea ML, Ghaleh B, et al. Coronary and systemic hemodynamic effects of sustained inhibition of nitric oxide synthesis in conscious dogs: evidence for cross talk between nitric oxide and cyclooxygenase in coronary vessels. *Circ Res* 1996; 79: 343-57.
71. 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.
72. Tuder 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: 1925-32.
73. Pidgeon GP, Tamosiuniene R, Chen G, et al. Intravascular thrombosis after hypoxia-induced pulmonary hypertension: regulation by cyclooxygenase-2. *Circulation* 2004; 110: 2701-7.
74. Gryglewski RJ. Transcellular biosynthesis of eicosanoids. *Pol J Pharmacol* 1999; 51: 113-7.
75. Pfister SL. Role of platelet microparticles in the production of thromboxane by rabbit pulmonary artery. *Hypertension* 2004; 43: 428-33.
76. Hoshikawa Y, Voelkel NF, Gesell TL, et al. Prostacyclin receptor-dependent modulation of pulmonary vascular remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 314-8.
77. Geraci MW, Gao B, Shepherd DC, et al. Pulmonary prostacyclin synthase overexpression in transgenic mice protects against development of hypoxic pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 1999; 103: 1509-15.
78. Zou M, Jendral M, Ullrich V. Prostaglandin endoperoxide-dependent vasospasm in bovine coronary arteries after nitration of prostacyclin synthase. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 1283-92.
79. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, et al. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1620-4.
80. Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 1996; 97: 1916-23.
81. Kawashima S, Yokoyama M. Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24: 998-1005.
82. White CR, Darley-Usmar V, Berrington WR, et al. Circulating plasma xanthine oxidase contributes to vascular dysfunction in hypercholesterolemic rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8745-9.
83. Borchert J, Franke J, Lichey J. Reduction of acute pulmonary hypertension by prostacyclin. *Cor Vasa* 1980; 22: 281-7.
84. Hoepfer MM, Olschewski H, Ghofrani HA, et al. A comparison of the acute hemodynamic effects of inhaled nitric oxide and aerosolized iloprost in primary pulmonary hypertension. German PPH study group. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 176-82.
85. Barst RJ, Rubin LJ, Long WA, et al. A comparison of continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin) with conventional therapy for primary pulmonary hypertension. The Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *N Engl J Med* 1996; 334: 296-302.
86. Wort SJ, Woods M, Warner TD, et al. Cyclooxygenase-2 acts as an endogenous brake on endothelin-1 release by human pulmonary artery smooth muscle cells: implications for pulmonary hypertension. *Mol Pharmacol* 2002; 62: 1147-53.
87. Prins B, Hu RM, Nazario B, et al. Prostaglandin E2 and prostacyclin inhibit the production and secretion of endothelin from cultured endothelial cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 11938-44.
88. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: Functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995; 75: 725-48.

89. Ghofrani HA, Voswinckel R, Reichenberger F, et al. Differences in hemodynamic and oxygenation responses to three different phosphodiesterase-5 inhibitors in patients with pulmonary arterial hypertension: a randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1488-96.
90. Schermuly RT, Kreisselmeier KP, Ghofrani HA, et al. Chronic sildenafil treatment inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 39-45.
91. Rybalkin SD, Yan C, Bornfeldt KE, et al. Cyclic GMP phosphodiesterases and regulation of smooth muscle function. *Circ Res* 2003; 93: 280-91.
92. Wagner RS, Smith CJ, Taylor AM, Rhoades RA. Phosphodiesterase inhibition improves agonist-induced relaxation of hypertensive pulmonary arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282: 1650-7.
93. Giordano D, De Stefano ME, Citro G, et al. Expression of cGMP-binding cGMP-specific phosphodiesterase (PDE5) in mouse tissues and cell lines using an antibody against the enzyme amino-terminal domain. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1539: 16-27.
94. Schermuly RT, Roehl A, Weissmann N, et al. Subthreshold doses of specific phosphodiesterase type 3 and 4 inhibitors enhance the pulmonary vasodilatory response to nebulized prostacyclin with improvement in gas exchange. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 512-20.
95. Wilkins MR, Paul GA, Strange JW, et al. Sildenafil versus Endothelin Receptor Antagonist for Pulmonary Hypertension (SERAPH) study. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 1292-7.
96. Schermuly RT, Kreisselmeier KP, Ghofrani HA, et al. Antiremodeling effects of iloprost and the dual-selective phosphodiesterase 3/4 inhibitor tolfenetrine in chronic experimental pulmonary hypertension. *Circ Res* 2004; 94: 1101-8.
97. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells (abstract). *Nature* 1988; 332: 411-5.
98. Galie N, Manes A, Branzi A. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 227-37.
99. Lal H, Yu Q, Ivor Williams K, et al. Hypoxia augments conversion of big-endothelin-1 and endothelin ET (B) receptor-mediated actions in rat lungs. *Eur J Pharmacol* 2000; 402: 101-10.
100. Benigni A, Remuzzi G. Endothelin antagonists. *Lancet* 1999; 353: 133-8.
101. Alberts GF, Peifley KA, Johns A, et al. Constitutive endothelin-1 overexpression promotes smooth muscle cell proliferation via an external autocrine loop. *J Biol Chem* 1994; 269: 10112-8.
102. Touyz RM, Schiffrin EL. Effects of angiotensin II and endothelin-1 on platelet aggregation and cytosolic pH and free Ca²⁺ concentrations in essential hypertension. *Hypertension* 1993; 22: 853-62.
103. Ruetten H, Thiemeermann C. Endothelin-1 stimulates the biosynthesis of tumour necrosis factor in macrophages: ET-receptors, signal transduction and inhibition by dexamethasone. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48: 675-88.
104. Browatzki M, Schmidt J, Kubler W, et al. Endothelin-1 induces interleukin-6 release via activation of the transcription factor NF-kappaB in human vascular smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 2000; 95: 98-105.
105. Li H, Chen SJ, Chen YF, et al. Enhanced endothelin-1 and endothelin receptor gene expression in chronic hypoxia. *J Appl Physiol* 1994; 77: 1451-9.
106. 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.
107. Bressollette E, Dupuis J, Bonan R, et al. Intravascular ultrasound assessment of pulmonary vascular disease in patients with pulmonary hypertension. *Chest* 2001; 120: 809-15.
108. Collados MT, Velazquez B, Borbolla JR, et al. Endothelin-1 and functional tissue factor: a possible relationship with severity in primary pulmonary hypertension. *Heart Vessels* 2003; 18: 12-7.
109. 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.
110. Miyauchi T, Yorikane R, Sakai S, et al. Contribution of endogenous endothelin-1 to the progression of cardiopulmonary alterations in rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Circ Res* 1993; 73: 887-97.
111. Nishida M, Eshiro K, Okada Y, et al. Roles of endothelin ET_A and ET_B receptors in the pathogenesis of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 44: 187-91.
112. Ivy DD, McMurtry IF, Colvin K, et al. Development of occlusive neointimal lesions in distal pulmonary arteries of endothelin B receptor-deficient rats: a new model of severe pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2005; 111: 2988-96.
113. Ivy DD, Yanagisawa M, Garipey CE, et al. Exaggerated hypoxic pulmonary hypertension in endothelin B receptor-deficient rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: L703-12.
114. Hill NS, Warburton RR, Pietras L, et al. Nonspecific endothelin-receptor antagonist blunts monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *J Appl Physiol* 1997; 83: 1209-15.
115. Galie N, Badesch D, Oudiz R, et al. Ambrisentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 529-35.
116. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999; 138: S419-20.
117. Humbert M, Morrell NW, Archer SL, et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43 (12 Suppl. S): 13S-24S.
118. Nagata T, Uehara Y, Hara K, et al. Thromboxane inhibition and monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Respirology* 1997; 2: 283-9.
119. Welsh DJ, Harnett M, MacLean M, et al. Proliferation and signalling in fibroblasts: role of 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor and transporter. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 252-9.
120. 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.
121. Launay JM, Herve P, Peoc'h K, et al. Function of the serotonin 5-hydroxytryptamine 2B receptor in pulmonary hypertension. *Nat Med* 2002; 8: 1129-35.
122. Eddahibi S, Humbert M, Sediame S, et al. Imbalance between platelet vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor in pulmonary hypertension. Effect of prostacyclin therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1493-9.

123. Li ZD, Bork JP, Krueger B, Patsenker E, et al. VEGF induces proliferation, migration, and TGF-beta1 expression in mouse glomerular endothelial cells via mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 334: 1049-60.
124. Balasubramaniam V, Le Cras TD, Ivy DD, et al. Role of platelet-derived growth factor in vascular remodeling during pulmonary hypertension in the ovine fetus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284: L826-33.
125. Andre P, Prasad KS, Denis CV, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin-dependent mechanism. *Nat Med* 2002; 8: 247-52.
126. Ikeda Y, Yonemitsu Y, Kataoka C, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy attenuates pulmonary hypertension in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H2021-8.
127. Furman MI, Krueger LA, Linden MD, et al. Release of soluble CD40L from platelets is regulated by glycoprotein IIb/IIIa and actin polymerization (abstract). *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 2319-25.
128. Tobert JA. New developments in lipid-lowering therapy: the role of inhibitors of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase. *Circulation* 1987; 76: 534-8.
129. Laufs U, Marra D, Node K, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors attenuate vascular smooth muscle proliferation by preventing rho GTPase-induced down-regulation of p27 (Kip1). *J Biol Chem* 1999; 274: 21926-31.
130. Vaughan CJ, Murphy MB, Buckley BM. Statins do more than just lower cholesterol. *Lancet* 1996; 348: 1079-82.
131. Takai Y, Sasaki T, and Matozaki T. Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev* 2001; 81: 153-208.
132. Takemoto M and Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1712-9.
133. Nishimura T, Vaszar LT, Faul JL, et al. Simvastatin rescues rats from fatal pulmonary hypertension by inducing apoptosis of neointimal smooth muscle cells. *Circulation* 2003; 108: 1640-5.
134. Nishimura T, Faul JL, Berry GJ, et al. Simvastatin attenuates smooth muscle neointimal proliferation and pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 1403-8.
135. Girgis RE, Li D, Zhan X, et al. Attenuation of chronic hypoxic pulmonary hypertension by simvastatin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H938-45.
136. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Soria E, et al. Involvement of Rho GTPases in the transcriptional inhibition of preproendothelin-1 gene expression by simvastatin in vascular endothelial cells. *Circ Res* 2000; 87: 616-22.
137. Xu CB, Stenman E, Edvinsson L. Reduction of bFGF-induced smooth muscle cell proliferation and endothelin receptor mRNA expression by mevastatin and atorvastatin. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 497-505.
138. Degraeve F, Bolla M, Blaie S, et al. Modulation of COX-2 expression by statins in human aortic smooth muscle cells. Involvement of geranylgeranylated proteins. *J Biol Chem* 2001; 276: 46849-55.
139. Hoshikawa Y, Ono S, Suzuki S, et al. Generation of oxidative stress contributes to the development of pulmonary hypertension induced by hypoxia. *J Appl Physiol* 2001; 90: 1299-306.
140. Kao PN. Simvastatin treatment of pulmonary hypertension: an observational case series. *Chest* 2005; 127: 1446-52.
141. Matsuda Y, Hoshikawa Y, Ameshima S, et al. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Nihon Kogyaku Gakkai Zasshi* 2005; 43: 283-8.
142. Itoh T, Nagaya N, Murakami S, et al. C-type natriuretic peptide ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 1204-11.
143. Taraseviciene-Stewart L, Scerbavicius R, Stewart JM, et al. Treatment of severe pulmonary hypertension: a bradykinin receptor 2 agonist B9972 causes reduction of pulmonary artery pressure and right ventricular hypertrophy. *Peptides* 2005; 26: 1292-300.
144. Voelkel NF, Tuder RM, Wade K, et al. Inhibition of 5-lipoxygenase-activating protein (FLAP) reduces pulmonary vascular reactivity and pulmonary hypertension in hypoxic rats. *J Clin Invest* 1996; 97: 2491-6.
145. Morganroth ML, Reeves JT, Murphy RC, et al. Leukotriene synthesis and receptor blockers block hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J Appl Physiol* 1984; 56: 1340-6.
146. Schreiber MD, Heymann MA, Soifer SJ. Leukotriene inhibition prevents and reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction in newborn lambs. *Pediatr Res* 1985; 19: 437-41.