

Futuro del tratamiento en la hipertensión arterial pulmonar a través del análisis de las nuevas vías patogenéticas

MANUEL LÓPEZ MESEGUER, ANTONIO ROMAN BROTO.

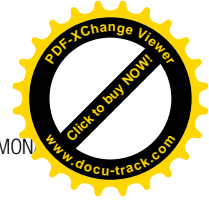
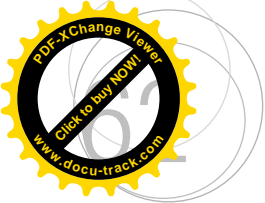
El tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial pulmonar (HAP) ha experimentado avances significativos en la última década con la aparición de fármacos específicos cuyo empleo ha supuesto una mejoría de la esperanza de vida de estos pacientes¹. Los avances terapéuticos obtenidos en la HAP siempre han surgido a partir del descubrimiento de nuevas vías patogenéticas, y los fármacos comercializados actualmente actúan sobre las tres mejor conocidas: la vía del óxido nítrico, la de la endotelina y la de las prostaglandinas. En los últimos años, la investigación en este campo está posibilitando el conocimiento de nuevas vías y múltiples mecanismos que afectan al comportamiento de la vasculatura pulmonar e influyen en el desarrollo de la HAP² y abren un nuevo campo de posibilidades terapéuticas que analizaremos en este capítulo.

Antiangiogénesis

El fenómeno de angiogénesis descontrolada presente en la HAP comparte mecanismos con los procesos tu-

morales como son los fenómenos de expansión monoclonal producidos en las lesiones plexiformes de la HAP idiopática, no obstante, el papel de la angiogénesis en el desarrollo de la HAP se encuentra en estudio y aún existen dudas sobre si sus efectos son beneficiosos o perjudiciales en este proceso³. La tendencia predominante es a pensar que se debe inhibir la angiogénesis y la mayoría de estudios en marcha están evaluando moléculas antiangiogénicas pero se ha demostrado que la inhibición de factores angiogénicos, en especial el receptor del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR-2), favorece el desarrollo de HP inducida por hipoxia⁴.

El VEGF es el factor angiogénico mejor estudiado y está claramente descrito un aumento de su expresión en enfermedades vasculares y cardíacas. La inhibición del VEGF se ha planteado como una diana terapéutica en HAP, y ya existen fármacos que actúan inhibiendo la molécula de forma directa como el bevacizumab, un anticuerpo anti-VEGF; así como el sunitinib y el sorafenib, que actúan bloqueando su re-



ceptor, con resultados favorables en el campo de la oncología. La principal limitación que presenta este grupo de fármacos es que ambos han sido asociados con un riesgo aumentado de eventos cardiovasculares cuyos mecanismos causales aún se desconocen; esto obliga a profundizar en la investigación de estos fármacos antes de que se pueda plantear su comercialización.

Otra molécula estudiada en oncología es el factor de crecimiento endotelial (EGF) sobre el que cetuximab y panitumumab, anticuerpos monoclonales contra su receptor, han sido probados.

El imatinib, actúa inhibiendo la vía de la tirosín kinasa a través del bloqueo del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). El bloqueo de la vía de la tirosín kinasa parece un objetivo interesante al ser ésta una molécula que promueve el remodelado vascular pulmonar y está implicada en los procesos de proliferación celular así como en los de reclutamiento de células de músculo liso vascular. Imatinib ha mostrado efectos beneficiosos tanto en modelos animales como en series de casos de HAP refractaria⁵ y ya se encuentra en fase de ensayo clínico. Una de las principales limitaciones para su desarrollo clínico es que se ha asociado a fenómenos de cardiotoxicidad, efecto que parece ausente en otras moléculas de su mismo grupo como el sorafenib.

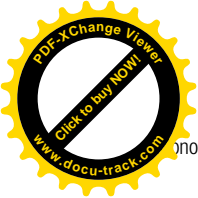
La adrenomedulina es un péptido que se estimula en situaciones de estrés cardiovascular como son el esfuerzo físico intenso, la hipertensión arterial, la insuficiencia cardíaca, el infarto de miocardio y la HAP, cuyos niveles aumentan en paralelo con los de Pro-BNP estando correlacionados con la intensidad de la enfermedad de base⁶. Actualmente está siendo testada administrada tanto por vía endovenosa como por vía inhalada con efectos vasodilatadores e inhibidores de la proliferación y ha demostrado corregir la resistencia vascular pulmonar en pacientes afectos de HAP idiopática⁷.

También la rapamicina, un inhibidor del ciclo celular, ha presentado resultados favorecedores al ser aplicada sobre ratas con HAP inducida por hipoxia, demostrando inhibir tanto el engrosamiento y la proliferación vasculares como la hipertrofia de ventrículo derecho^{8,9}.

Son numerosos y prometedores los fármacos en estudio que actúan sobre las múltiples vías participantes en la angiogénesis, pero aún es pronto para saber qué papel acabarán desempeñando dentro la terapéutica de la enfermedad que nos ocupa ya que hasta ahora, los trabajos presentados pertenecen mayoritariamente al campo de la oncología y, como se ha comentado, todavía está por determinar qué papel juega la angiogénesis en la HAP.

Inhibidores del receptor de la serotonina (5-HT)

La 5-HT es una molécula con una potente acción vasoconstrictora y mitogénica cuyos niveles plasmáticos en la HAP se encuentran aumentados¹⁰. Distintos estudios han objetivado que tanto el receptor 5-HT_{1B} como su transportador transmembrana están sobreactivados en la HAP, y se sabe que la fenfluramina, un anorexígeno relacionado con el desarrollo de HAP, tiene un efecto activador del transportador de la 5-HT, lo que indica que la inhibición de la vía metabólica de esta molécula puede ser un objetivo terapéutico interesante en esta enfermedad¹¹. Actualmente se está estudiando el papel que pueden jugar los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (ISRS) sobre el comportamiento de la vasculatura pulmonar ya que, aunque parece razonable atribuirles un efecto beneficioso al provocar una disminución de la concentración de serotonina intracelular y no se han descrito casos de HAP asociada a la toma de ISRS, se desconocen las consecuencias que puede tener el dar un tratamiento que provoca una elevación mantenida en plasma de los niveles de serotonina en pacientes afectos de HAP¹².



Péptido intestinal vasoactivo (VIP)

El VIP es un neuropéptido secretado por distintos tipos celulares que presenta una importante actividad antiproliferativa y vasodilatadora, cuyo déficit está descrito en pacientes afectados de HAP idiopática¹³; y que ejerce efectos de modulación genética sobre distintas vías participantes en el desarrollo de la HAP al estimular la expresión de genes proinflamatorios e inhibir la de antiproliferativos como óxido nítrico sintasa (NOS), prostaciclina sintasa, GTP ciclohidrolasa-1 y tetrahidrobiopterina (BH₄)¹⁴. Diversos trabajos han constatado mejorías tanto clínicas como hemodinámicas en pacientes afectados de HAP de distintas etiologías a los que se trataba con VIP administrado por vía inhalada^{13, 15}, en los que la mayor limitación era la corta vida media de la molécula. Posteriormente se han desarrollado formulaciones liposomales de la misma que alargan sus efectos y facilitarán el empleo de este fármaco en un futuro si los ensayos actuales, actualmente en fase III, demuestran un beneficio derivado de su empleo.

Inhibición de la Rho kinasa

La Rho kinasa forma parte de una familia de enzimas participantes tanto en el proceso de crecimiento celular como en el de estimulación del tono del músculo liso. En modelos animales de HAP, tanto el de monocrotalina como por hipoxia mantenida, se ha observado una sobreexpresión de esta vía que afecta de forma global a la función y estructura vasculares al inducir una respuesta proliferativa e hipertensión vascular mantenida con una limitación de la capacidad vasodilatadora y desarrollo ulterior de remodelado vascular. El fasudil, un inhibidor selectivo de la Rho-kinasa, ha demostrado efectos beneficiosos en modelos animales al normalizar por completo la resistencia vascular pulmonar al mismo tiempo que contribuye a la repara-

ción del daño vascular pulmonar sin afectar a la hemodinámica sistémica¹⁶.

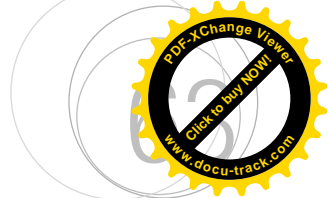
Inhibidores del tromboxano A2

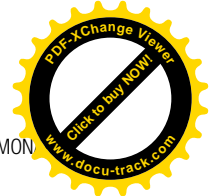
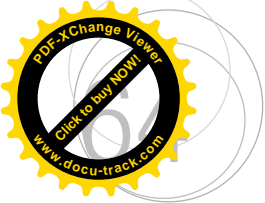
La producción de tromboxano A2 se halla elevada en adultos con HAP de distintas etiologías¹⁷. El terbogrel, un inhibidor de la síntesis del tromboxano A2 que actúa también como antagonista de su receptor ha sido evaluado en modelos animales de hipoxia donde parece inhibir el establecimiento y el desarrollo posterior de HAP inducida por hipoxia crónica. Este hallazgo podría tener su más interesante aplicación práctica complementando a las prostaglandinas en neonatos con patología cardiorrespiratoria¹⁸.

Intervención sobre la vía de la guanilato ciclasa

Hoy en día contamos con distintas terapias que elevan los niveles plasmáticos de guanilato ciclasa, una enzima clave en la vasorregulación pulmonar, que induce vasodilatación a través de la producción de GMPc. Estas terapias son el NO de administración inhalada que estimula directamente a la guanilato ciclasa promoviendo la producción de GMPc, y de los inhibidores de la fosfodiesterasa-5, cuya función es hidrolizar el GMPc.

La investigación actual sobre esta vía va orientada a desarrollar moléculas activadoras de la guanilato ciclasa que actúen por mecanismos independientes del NO. Son varios los fármacos que se encuentran ya en fase de ensayo clínico; de éstos, el BAY 41-2272 ha mostrado marcados efectos vasodilatadores en modelos animales, y sus resultados preliminares muestran un efecto más intenso y duradero que los obtenidos por el sildenafil, un inhibidor de la fosfodiesterasa-5¹⁹. También ha demostrado potenciar y alargar los efectos del NO si se administra simultáneamente. Riociguat (BAY 63-2521), con un perfil de seguridad y tolerancia favorables y efectos demostrados





similares a los de BAY 41-2272, es la molécula que se halla en una fase más avanzada de desarrollo clínico y actualmente está en situación de ensayo clínico en fase III^{20, 21}.

Actualmente se investigan, pero aún lejos de obtener aplicaciones clínicas, nuevas vías de actuación sobre la guanilato ciclasa, como es la de la BH4, un cofactor de la NOS sin cuya intervención no es posible la creación de NO o los estimuladores de la transcripción de la NOS²².

Estatinas

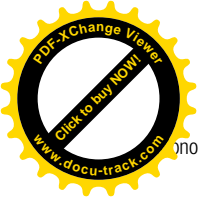
Las estatinas han demostrado extensos beneficios sobre el sistema cardiovascular, y estudios recientes les atribuyen efectos beneficiosos en el tratamiento de la HAP, ya que tienen la propiedad de intervenir en la vía de la RhoA/Rho-kinasa inhibiendo su producción y controlando su influencia en la proliferación vascular y de células de músculo liso²³. A su vez, se ha comprobado que estimulan la expresión de NOS, que presentan propiedades antiinflamatorias e incrementan los niveles de BH₄ en la vasculatura pulmonar. Tanto la simvastatina como la fluvastatina han demostrado en modelos animales propiedades que van desde la inhibición del remodelado vascular y la angiogénesis y la reversión completa de la formación de neoíntima²⁴ a la inhibición de la proliferación de fibroblastos en la vasculatura pulmonar²⁵. No obstante, los resultados obtenidos indican que no todas las estatinas ofrecen efectos beneficiosos en este campo, y así la atorvastatina, incapaz de regular la actividad de la Rho-kinasa, no ha demostrado ninguno de los efectos antes enumerados en los pocos estudios practicados hasta el momento. Son necesarios estudios randomizados y controlados con placebo en humanos para confirmar la utilidad de estos hallazgos en modelo animal y lo observado en series de casos²⁶.

Dicloroacetato

Los tejidos de crecimiento rápido patológico como son los tumorales y el vascular pulmonar en la HAP, presentan un metabolismo celular alterado a distintos niveles. Una de las vías afectadas es la del consumo de glucosa, que en la HAP deja de hacerse por oxidación glucídica en la mitocondria para pasar a hacerlo por fenómenos de glicolisis aeróbica citoplasmática. Dicho proceso, menos eficiente que el mitocondrial para extraer energía pero que promueve la proliferación celular, puede ser modificado con el empleo de dicloroacetato (DCA), un tratamiento ya ensayado en el campo de la oncología y que a través de la inhibición de la piruvato deshidrogenasa mitocondrial promueve la entrada de glucosa en la mitocondria favoreciendo la vía metabólica correcta. Este tratamiento presenta una ventaja añadida y es que sólo actúa sobre las células patológicas, no interviniendo sobre las que realizan un metabolismo fisiológico. Con esta acción, provoca un efecto antiproliferativo y proapoptótico que en modelos animales ha demostrado revertir la HAP ya establecida y prolongar la supervivencia^{27, 28}.

Elastasa

La elastasa ejerce su actividad patológica a través de la liberación de factores de crecimiento desde la matriz extracelular que estimulan la mitogenicidad de las células de músculo liso. El empleo de inhibidores exógenos de la elastasa en el modelo animal de HAP por hipoxia mantenida ha conseguido revertir la enfermedad²⁹ pero éstos presentan efectos tóxicos que hacen imposible su aplicación en humanos. Los grupos que centran su investigación en este campo sugieren que puede ser más rentable, a día de hoy, aplicar este conocimiento para desarrollar fármacos que provoquen una estimulación de los inhibidores endógenos de la elastasa.



Inhibición de los factores de crecimiento

La fisiopatología de la HAP se fundamenta en un crecimiento descontrolado de la arteriola pulmonar caracterizado por un engrosamiento de todas sus capas a través de fenómenos de proliferación, fibrosis y obstrucción vascular denominado en su conjunto remodelado vascular³⁰. La capa íntima sufrirá la aparición de lesiones angioma-toides, plexiformes y cicatrizantes, la media fenómenos de hipertrofia e hiperplasia muscular y depósito mesenquimal, y la adventicia se engrosará debido a un depósito de colágeno y contendrá fibroblastos especialmente sensibles a la hipoxia o la hiperpresión vascular que se diferenciarán en células de músculo liso para migrar a la capa media y secretarán factores de crecimiento que estimularán a su vez a las células de músculo liso ya existentes³¹.

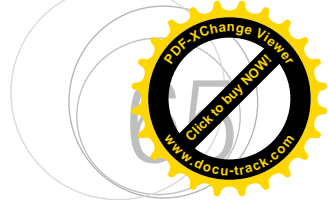
En este conjunto de procesos influyen, tanto las vías patogénicas ya comentadas como fenómenos de disregulación de factores de crecimiento tanto estimuladores como supresores que empiezan a ser identificados actualmente. Ya se han reportado anomalías en genes supresores del crecimiento como el TGFBR2 que está ausente en las lesiones plexiformes típicas de esta enfermedad, así como en apoptóticos como el BAX³². El único fármaco que de momento presenta resultados esperanzadores es el imatinib, un antagonista del receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), molécula con una potente actividad mitógena sobre el músculo liso sobreexpresada en la HAP, que en modelos animales ha demostrado revertir el remodelado vascular^{6,33} y en este momento se encuentra en fase de ensayo clínico.

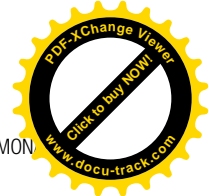
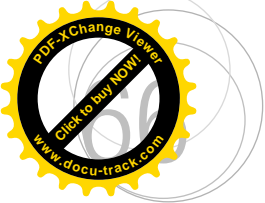
Progenitores endoteliales y células troncales. Reparación pulmonar

La opción de emplear la terapia celular en la HAP parece muy atractiva *a priori* al ser ésta una enfermedad

con un sustrato anatomopatológico bien definido de remodelado vascular sobre el que se podría intervenir. Desde la publicación de Asahara en *Science* en 1997³⁴ que demuestra que los progenitores endoteliales derivados de la médula ósea (EPC) son movilizados a la sangre periférica para contribuir a la revascularización tras un daño vascular agudo, se ha abierto un nuevo y productivo campo de investigación. Ya se sabe que las EPC tienen la capacidad de acelerar la reendotelización de un vaso dañado así como la de reducir la formación de neointima, y existen trabajos en los que se ha conseguido atenuar el daño endotelial en modelos animales de HAP mediante infusiones de progenitores de células, tanto endoteliales como mesenquimales con alta expresión de NOS³⁵.³⁶ Actualmente se llevan a cabo estudios en humanos con HAP refractaria al tratamiento farmacológico de los que aún no hay resultados³⁷. No todos los efectos derivados de las EPC son positivos ya que existen indicios de que su empleo podría promover la aparición de tumores, retinopatía diabética o arterioesclerosis al estimular los procesos de angiogénesis asociados a estas enfermedades en algunos pacientes³⁸ si trabajan bajo la influencia de ciertos condicionantes que promuevan su transformación a célula de músculo liso o a macrófagos como son la edad avanzada, la diabetes mellitus, el tabaquismo o la hipercolesterolemia³⁹. En cualquier caso, este campo de investigación aún está en el proceso de establecer sus bases⁴⁰, y hoy en día son múltiples las limitaciones a salvar: La dificultad para conseguir la expansión celular, los problemas de rechazo inmunológico, inestabilidad genética y diferenciación, su potencial tumorigénico y las cuestiones éticas que quedan por resolver para que en algún momento se trate de una opción terapéutica realista de la que nos podamos beneficiar.

En resumen, la investigación sobre nuevos fármacos para la HAP se encuentra actualmente en su momento de máxima actividad, son múltiples las moléculas a



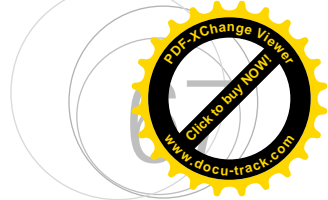
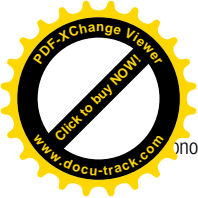


estudio y los avances en el campo de las células madre ofrecen interesantes avances.

Múltiples estudios han demostrado la presencia de mecanismos patogénicos coincidentes con los procesos tumorales, lo que puede posibilitar en el futuro que algunos de los tratamientos empleados en la oncología puedan tener su utilidad en el manejo de nuestros pacientes. Por último, la reversión del remo-

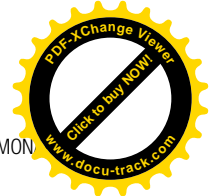
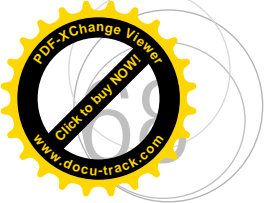
delado vascular, lo que supondría la curación de los pacientes con HAP parece más cercana que hace unos años gracias a los avances en la investigación en regeneración de tejidos a través del empleo de células madre.

Los avances descritos muestran un panorama de gran actividad, que seguro aportará importantes avances en un futuro a medio plazo.

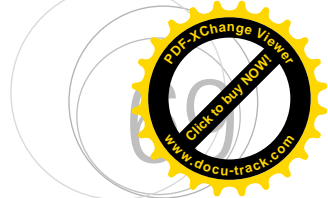


Bibliografía

1. Galie N, Manes A, Negro L, Palazzini M, Bacchi-Reggiani ML, Branzi A. A meta-analysis of randomized controlled trials in pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J* 2009; 30(4):394-403.
2. Rhodes CJ, Davidson A, Gibbs JS, Wharton J, Wilkins MR. Therapeutic targets in pulmonary arterial hypertension. *Pharmacol Ther* 2009; 121(1):69-88.
3. Papaioannou AI, Kostikas K, Kollia P, Gourgouliani KI. Clinical implications for vascular endothelial growth factor in the lung: friend or foe? *Respir Res* 2006; 7:128.
4. Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Alger L et al. Inhibition of the VEGF receptor 2 combined with chronic hypoxia causes cell death-dependent pulmonary endothelial cell proliferation and severe pulmonary hypertension. *FASEB J* 2001; 15(2):427-438.
5. Souza R, Sitbon O, Parent F, Simonneau G, Humbert M. Long term imatinib treatment in pulmonary arterial hypertension. *Thorax* 2006; 61(8):736.
6. Kato J, Kobayashi K, Etoh T et al. Plasma adrenomedullin concentration in patients with heart failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(1):180-183.
7. Nagaya N, Kangawa K. [Adrenomedullin in pulmonary hypertension]. *Nippon Rinsho* 2004; 62 Suppl 9:264-268.
8. Nishimura T, Faul JL, Berry GJ, Veve I, Pearl RG, Kao PN. 40-O-(2-hydroxyethyl)-rapamycin attenuates pulmonary arterial hypertension and neointimal formation in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163(2):498-502.
9. Paddenberg R, Stieger P, von Lilien AL et al. Rapamycin attenuates hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling and right ventricular hypertrophy in mice. *Respir Res* 2007; 8:15.
10. Herve P, Launay JM, Scrobhaci ML et al. Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension. *Am J Med* 1995; 99(3):249-254.
11. Belohlavkova S, Simak J, Kokesova A, Hnilickova O, Hampel V. Fenfluramine-induced pulmonary vasoconstriction: role of serotonin receptors and potassium channels. *J Appl Physiol* 2001; 91(2):755-761.



12. Marcos E, Adnot S, Pham MH et al. Serotonin transporter inhibitors protect against hypoxic pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168(4):487-493.
13. Petkov V, Mosgoeller W, Ziesche R et al. Vasoactive intestinal peptide as a new drug for treatment of primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 2003; 111(9):1339-1346.
14. Hamidi SA, Prabhakar S, Said SI. Enhancement of pulmonary vascular remodelling and inflammatory genes with VIP gene deletion. *Eur Respir J* 2008; 31(1):135-139.
15. Leuchte HH, Baezner C, Baumgartner RA et al. Inhalation of vasoactive intestinal peptide in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2008; 32(5):1289-1294.
16. McNamara PJ, Murthy P, Kantores C et al. Acute vasodilator effects of Rho-kinase inhibitors in neonatal rats with pulmonary hypertension unresponsive to nitric oxide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 294(2):L205-L213.
17. 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(2):70-75.
18. Fike CD, Zhang Y, Kaplowitz MR. Thromboxane inhibition reduces an early stage of chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in piglets. *J Appl Physiol* 2005; 99(2):670-676.
19. Deruelle P, Grover TR, Storme L, Abman SH. Effects of BAY 41-2272, a soluble guanylate cyclase activator, on pulmonary vascular reactivity in the ovine fetus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288(4):L727-L733.
20. Mittendorf J, Weigand S, Onso-Alija C et al. Discovery of Riociguat (BAY 63-2521): A Potent, Oral Stimulator of Soluble Guanylate Cyclase for the Treatment of Pulmonary Hypertension. *ChemMedChem* 2009.
21. Grimminger F, Weimann G, Frey R et al. First acute haemodynamic study of soluble guanylate cyclase stimulator riociguat in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2009; 33(4):785-792.
22. Sasaki K, Heeschen C, Aicher A et al. Ex vivo pretreatment of bone marrow mononuclear cells with endothelial NO synthase enhancer AVE9488 enhances their functional activity for cell therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(39):14537-14541.
23. Xing XQ, Gan Y, Wu SJ, Chen P, Zhou R, Xiang XD. Statins may ameliorate pulmonary hypertension via RhoA/Rho-kinase signaling pathway. *Med Hypotheses* 2007; 68(5):1108-1113.
24. 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(13):1640-1645.
25. Carlin CM, Peacock AJ, Welsh DJ. Fluvastatin inhibits hypoxic proliferation and p38 MAPK activity in pulmonary artery fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37(4):447-456.
26. Kao PN. Simvastatin treatment of pulmonary hypertension: an observational case series. *Chest* 2005; 127(4):1446-1452.



27. McMurtry MS, Bonnet S, Wu X et al. Dichloroacetate prevents and reverses pulmonary hypertension by inducing pulmonary artery smooth muscle cell apoptosis. *Circ Res* 2004; 95(8):830-840.
28. Bonnet S, Archer SL, Lalunis-Turner J et al. A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth. *Cancer Cell* 2007; 11(1):37-51.
29. Zaidi SH, You XM, Ciura S, Husain M, Rabinovitch M. Overexpression of the serine elastase inhibitor elafin protects transgenic mice from hypoxic pulmonary hypertension. *Circulation* 2002; 105(4):516-521.
30. Tuder RM, Marecki JC, Richter A, Fijalkowska I, Flores S. Pathology of pulmonary hypertension. *Clin Chest Med* 2007; 28(1):23-42, vii.
31. Ismail S, Sturrock A, Wu P et al. NOX4 mediates hypoxia-induced proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells: the role of autocrine production of transforming growth factor- β 1 and insulin-like growth factor binding protein-3. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 296(3):L489-L499.
32. Yeager ME, Halley GR, Golpon HA, Voelkel NF, Tuder RM. Microsatellite instability of endothelial cell growth and apoptosis genes within plexiform lesions in primary pulmonary hypertension. *Circ Res* 2001; 88(1):E2-E11.
33. Herve P, Humbert M, Sitbon O et al. Pathobiology of pulmonary hypertension. The role of platelets and thrombosis. *Clin Chest Med* 2001; 22(3):451-458.
34. Asahara T, Murohara T, Sullivan A et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275(5302):964-967.
35. Zhao YD, Courtman DW, Deng Y, Kugathasan L, Zhang Q, Stewart DJ. Rescue of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension using bone marrow-derived endothelial-like progenitor cells: efficacy of combined cell and eNOS gene therapy in established disease. *Circ Res* 2005; 96(4):442-450.
36. Kanki-Horimoto S, Horimoto H, Mieno S et al. Implantation of mesenchymal stem cells overexpressing endothelial nitric oxide synthase improves right ventricular impairments caused by pulmonary hypertension. *Circulation* 2006; 114(1 Suppl):1181-1185.
37. Wang XX, Zhang FR, Shang YP et al. Transplantation of autologous endothelial progenitor cells may be beneficial in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension: a pilot randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(14):1566-1571.
38. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* 2005; 438(7069):820-827.
39. Hill JM, Zalos G, Halcox JP et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348(7):593-600.
40. Weiss DJ, Kolls JK, Ortiz LA, Panoskaltis-Mortari A, Prockop DJ. Stem cells and cell therapies in lung biology and lung diseases. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5(5):637-667.