

Nueva clase de fármacos para la hipertensión arterial pulmonar y la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica

José A. Delmonte¹

Resumen

En los últimos quince años se produjeron grandes descubrimientos en investigación básica y clínica en el avance del entendimiento de la fisiopatología, diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar (HAP). El óxido nítrico (NO) activa a la guanilato ciclasa soluble (GCs), catalizando la síntesis de guanosina monofosfato cíclico (GMPc). El GMPc provoca vasodilatación y puede inhibir la proliferación de las células del músculo liso vascular y la agregación plaquetaria. Esta vía NO-GCs-GMPc está alterada en la HAP, un síndrome que presenta aumento de la resistencia vascular pulmonar, inflamación y trombosis, conduciendo a la muerte por insuficiencia cardíaca derecha. La expresión de la GCs se incrementa en la HAP, pero su función se reduce por la disminución de la biodisponibilidad del NO, la oxidación de la GCs y la pérdida relacionada del grupo hemo de la GCs. Los moduladores de la GCs aumentan la síntesis de GMPc para el tratamiento de la HAP. Riociguat es el primer miembro de una nueva clase de fármacos estimuladores de la GCs, produciendo vasodilatación. En la actualidad el tratamiento con riociguat está aprobado para la HAP y la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (HPTEC) inoperable o persistente/recurrente después de la intervención quirúrgica, con el objetivo de mejorar la capacidad de ejercicio, la clase funcional y retrasar el deterioro clínico. Riociguat es el primer fármaco que ha mostrado beneficios clínicos en la HPTEC, una entidad para la cual no existía ningún tratamiento farmacológico específico autorizado. Su principal efecto adverso grave es la hipotensión arterial sistémica, dependiente de la dosis. En esta actualización, se realiza una revisión de la clasificación de la hipertensión pulmonar, en particular de la HAP, su histología, los mecanismos fisiopatológicos, especialmente la vía del NO, la GCs y sus moduladores, GMPc y su papel en la HAP; por último, se resumen los estudios clínicos de los estimuladores de la GCs, con un enfoque en riociguat.

Insuf Card 2016; 11(3): 130-149

Palabras clave: Hipertensión arterial pulmonar - Hipertensión pulmonar tromboembólica crónica - Histología - Mecanismos fisiopatológicos - Óxido nítrico - Guanilato ciclasa soluble - GMPc - Moduladores de la GCs - Riociguat

Summary

New class of drugs for pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension

In the last fifteen years there were major discoveries in basic and clinical research in advancing the understanding of the pathophysiology, diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension (PAH). Nitric oxide (NO) activates soluble guanylate cyclase (sGC), thereby catalyzing cyclic guanosine monophosphate (cGMP) synthesis. cGMP causes vasodilation and may inhibit vascular smooth muscle cell proliferation and platelet aggregation. The NO-sGC-cGMP pathway is disordered in PAH, a syndrome in which increased pulmonary vascular resistance, inflammation, and thrombosis lead

¹ Médico cardiólogo. Internal Medicine Doctor. Sección de Medicina Interna. Brooklyn Hospital Center. Brooklyn. New York. NY. USA.

Correspondencia: José A. Delmonte, MD
Section of Internal Medicine, Brooklyn Hospital Center 121 Dekalb Avenue Brooklyn, NY 11201 - USA Tel: 718-250-8000
E-mail: cardiaca100@gmail.com

Recibido: 16/05/2016
Aceptado: 12/08/2016

to death from right heart failure. Expression of sGC is increased in PAH but its function is reduced by decreased NO bioavailability, sGC oxidation, and the related loss of sGC's heme group. The sGC modulators increase cGMP synthesis for the treatment of PAH. Riociguat is the first member of a new class of drugs sGC stimulators, causing vasodilation. Currently riociguat is approved for PAH and inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) or persistent / recurrent after surgery, with the aim of improving exercise capacity, functional class, and time delay in clinical deterioration. Riociguat is the first drug that has shown clinical benefits in CTEPH, an entity for which there was no specific drug treatment authorized. Its main serious adverse effect is dose-dependent hypotension. In this review, the pulmonary hypertension classification is update, particularly PAH, histology, pathophysiological mechanisms, especially the NO pathway, sGC and their modulators, cGMP and its role in PAH; and finally, clinical trials of sGC stimulators are summarized, with a focus on riociguat.

Keywords: Pulmonary arterial hypertension - Chronic thromboembolic pulmonary hypertension - Histology - Pathophysiological mechanisms - Nitric oxide - Soluble guanylate cyclase - cGMP - Modulators of sGC - Riociguat

Resumo

Nova classe de fármacos para a hipertensão arterial pulmonar e a hipertensão pulmonar tromboembólica crônica

Nos últimos quinze anos, houve grandes descobertas em pesquisa básica e clínica no avanço da compreensão da fisiopatologia, diagnóstico e tratamento da hipertensão arterial pulmonar (HAP). O óxido nítrico (NO) ativa a guanilato ciclase solúvel (GCs), que catalisa a síntese dos monofosfato de guanosina cíclico (GMPc). A GMPc causa vasodilatação e pode inibir a proliferação de células do músculo liso vascular e a agregação de plaquetas. A via NO-GCs-GMPc é alterada na HAP, uma síndrome em que o aumento da resistência vascular pulmonar, inflamação e trombose, levando à morte por insuficiência cardíaca direita. A expressão da GCs é aumentada na HAP, mas a sua função é reduzida pela diminuição da biodisponibilidade do NO, a oxidação da GCs e a perda relacionada do grupo heme da GCs. Os moduladores da GCs aumentam a síntese de GMPc para o tratamento da HAP. Riociguat é o primeiro membro de uma nova classe de medicamentos estimuladores da SGC, causando vasodilatação. Atualmente o tratamento com riociguat é aprovado na HAP e hipertensão pulmonar tromboembólica crônica (HPTEC) inoperável ou persistente/recorrente após a cirurgia, a fim de melhorar a capacidade de exercício, classe funcional e atraso na deterioração clínica. Riociguat é o primeiro fármaco que tem mostrado benefícios clínicos em HPTEC, uma entidade para a qual não havia nenhum tratamento medicamentoso específico autorizado. Seu principal efeito adverso grave é a hipotensão sistêmica dependente da dose. Nesta revisão, é realizada uma atualização da classificação da hipertensão pulmonar, especialmente HAP, sua histologia, os mecanismos fisiopatológicos, especialmente a via do NO, a GCs e seus moduladores, GMPc e seu papel na HAP; e, finalmente, são resumidos os estudos clínicos dos estimuladores da GCs, com foco em riociguat.

Palavras-chave: Hipertensão arterial pulmonar - Hipertensão pulmonar tromboembólica crônica - Histologia - Mecanismos fisiopatológicos - Óxido nítrico - Guanilato ciclase solúvel - GMPc - Moduladores da GCs - Riociguat

Abreviaturas

ADMA: dimetil-L-arginina asimétrica	HPTEC: hipertensión pulmonar tromboembólica crónica	PaO ₂ : presión parcial de oxígeno en sangre arterial
ARE: antagonista del receptor de la endotelina	HTA: hipertensión arterial	PAP: presión arterial pulmonar
ATP: adenosina trifostato	HVD: hipertrofia ventricular derecha	PAPm: presión arterial pulmonar media
BNP: péptido natriurético cerebral	i5-PDE: inhibidor de la 5-fosfodiesterasa	PAS: presión arterial sistémica
cNOS: óxido nítrico sintasa dependiente del calcio	IC: insuficiencia cardíaca	pg: picogramos
DSVI: disfunción sistólica del ventrículo izquierdo	ICFEP: insuficiencia cardíaca con fracción de eyección conservada	PKG: proteína quinasas dependiente del GMPc
eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial	iNOS: óxido nítrico sintasa inducible	PM6M: prueba de la marcha de los 6 minutos
EPI: enfermedad pulmonar intersticial	IV: intravenoso	RVP: resistencia vascular pulmonar
EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica	MCT: monocrotalina	RVS: resistencia vascular sistémica
ET: Endotelina	mtALDH: aldehído deshidrogenasa mitocondrial	TEP: tromboembolismo pulmonar
Fe ²⁺ : hierro reducido	NADPH: nicotinamida adenín-dinucleótido fosfato reducido o NAD-fosfato reducido	TID: tres veces por día
Fe ³⁺ : hierro oxidado	NO: óxido nítrico	TNF-α: factor de necrosis tumoral-alfa
GCs: guanilato ciclase soluble	NOHA: N(ω)-hidroxi-L-arginina	VD: ventrículo derecho
GMPc: guanosina 3,5-monofosfato cíclico	NOS: óxido nítrico sintasa	VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular
GTP: guanosina trifostato	OMS: Organización Mundial de la Salud	VI: ventrículo izquierdo
GTP: guanosina trifostato	PACAP: polipéptido activador de la adenilil ciclase de la pituitaria	VIH: virus de inmunodeficiencia humana
HAP: hipertensión arterial pulmonar		VIP: péptido intestinal vasoactivo
HIF-1α: factor inducible de hipoxia 1 alfa		
HNOX: hemo-óxido nítrico/oxígeno		
HP: hipertensión pulmonar		

Introducción

En los últimos quince años se produjeron grandes descubrimientos en investigación básica y clínica en el avance del entendimiento de la fisiopatología, diagnóstico y tratamiento de la hipertensión pulmonar (HP)¹. Esta enfermedad está integrada por un grupo de enfermedades crónicas caracterizadas por el aumento de la presión en la circulación pulmonar, ocasionando un aumento de la postcarga del ventrículo derecho (VD)¹. En esta actualización, se realiza una revisión de la clasificación de la HP, en particular la hipertensión arterial pulmonar (HAP), su histología, los mecanismos fisiopatológicos, especialmente la vía del óxido nítrico (NO), la guanilato ciclasa soluble (GCs) y sus moduladores, guanosina 3,5-monofosfato cíclico (GMPC) y su papel en la HAP; por último, se resumen los estudios clínicos de los estimuladores de la GCs, con un enfoque en riociguat, el primer estimulador de la GCs aprobado para el tratamiento de la HAP y la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (HPTEC).

Clasificación actual de la hipertensión pulmonar

La clasificación clínica de la HP (Tabla 1)^{1,2} brinda una categorización clara de las principales subcategorías clínicas de la HP^{3,4}, en base a los mecanismos fisiopatológicos, presentaciones clínicas similares y enfoques terapéuticos⁵⁻⁹. En el Grupo 1, se encuentra la HAP, que ha sido objeto de los mayores avances en términos de conocimientos y opciones de tratamiento en los últimos años¹⁰.

La HAP es una enfermedad rara y devastadora, caracterizada por una remodelación obstructiva en el lecho vascular pulmonar, que produce un aumento progresivo de la resistencia vascular pulmonar (RVP) y de la presión arterial pulmonar (PAP), conduciendo finalmente a la insuficiencia cardíaca derecha y a la muerte. La HP es definida por valores de presión arterial pulmonar media (PAPm) ≥ 25 mm Hg en reposo; este parámetro hemodinámico es resultado del cateterismo derecho¹¹. Se identifica por ser una enfermedad de baja prevalencia, rápida progresión y difícil diagnóstico; situándola en un contexto médico de desafío, ya que estos pacientes son subdiagnosticados o caracterizados de manera equívoca, y el tratamiento de los mismos termina siendo errado o ineficiente. Su evolución es insidiosa y su diagnóstico precoz requiere un alto índice de sospecha. La morbilidad y la mortalidad de la HAP son la consecuencia del fracaso de la compensación del VD al aumento de la postcarga. En la actualidad, es un padecimiento incurable a pesar de los múltiples tratamientos aparecidos en los últimos años^{11,12}. Se ha comunicado que la HAP tiene una prevalencia de 5 a 52 casos/1.000.000 de habitantes y una incidencia de 1 a 7,1 casos/año/1.000.000 de habitantes en los adultos¹³⁻¹⁸.

En el Grupo 2 de la clasificación clínica de la HP se encuentra la HP causada por disfunción sistólica ventricular izquierda (DSVI), estando asociada con altos niveles de morbilidad y mortalidad en pacientes con insuficiencia cardíaca (IC)¹.

Las terapias establecidas para la IC, como los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, los bloqueadores del receptor de angiotensina, los beta bloqueantes y los diuréticos, pueden ser efectivos al mejorar la función del ventrículo izquierdo (VI) y reducir la presión de llenado de éste, pero actualmente estos fármacos no afectan a la circulación pulmonar¹. Hasta la fecha, los ensayos aleatorios de agentes dirigidos a la vasculatura pulmonar no han demostrado beneficio en los pacientes con HP por DSVI o no han sido adecuadamente potentes para detectar cambios en la morbilidad o mortalidad¹⁹⁻²³, destacando una urgente necesidad médica no cubierta.

En el Grupo 3 de la clasificación clínica de la HP se encuentra la HP debida a enfermedades pulmonares y/o hipoxia¹. Este grupo comprende los pacientes con enfermedades pulmonares parenquimatosas u otras causas de la hipoxia (por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica [EPOC], enfermedad pulmonar intersticial [EPI], hipoxia crónica o apnea obstructiva del sueño) en los que la presencia de HP se considera directamente relacionados con aquéllos que padecen la enfermedad. Por lo tanto, incluye todas las formas de trastornos ventilatorios: obstructivos, restrictivos y mixtos. En particular, la presencia de un patrón mixto (obstructivo y restrictivo), como se presenta en la coexistencia de fibrosis pulmonar y enfisema, da como resultado un aumento de la prevalencia de la HP. Hasta el momento, en este grupo no se ha demostrado ningún beneficio significativo con la utilización de las terapias para la HAP.

En el Grupo 4 de la clasificación clínica se encuentra la HPTEC y otras obstrucciones de las arterias pulmonar¹. Más del 4% de todos los pacientes que presentan un tromboembolismo pulmonar agudo (TEP) puede desarrollar HPTEC, considerada una forma curable de HP en el caso de ser posible la realización de una endarterectomía pulmonar. La operabilidad depende de varios factores, incluyendo el patrón de obstrucción vascular, la estabilidad hemodinámica del paciente y la experiencia de un centro de referencia, entre otros. Recientemente, el tratamiento médico específico de la HAP y la angioplastia pulmonar con balón han sido utilizados eficazmente en los pacientes que no eran candidatos para la cirugía o que permanecieron con una HP residual después de la cirugía.

Por último, en el Grupo 5 de la clasificación se encuentra la HP por mecanismos inciertos y/o multifactoriales¹. Se incluyen en este grupo numerosas formas de HP en las cuales múltiples mecanismos fisiopatológicos pueden estar implicados en la elevación de las presiones vasculares pulmonares. Dada la heterogeneidad de este grupo, se necesita más investigación para establecer mejores criterios de diagnóstico apropiados y estrategias de manejo para cada caso, específicamente.

Histología

El examen histológico de la vasculatura pulmonar en la HAP revela hipertrofia de la media, hiperplasia de la íntima, proliferación y fibrosis de la adventicia de las ar-

Tabla 1. Clasificación clínica de hipertensión pulmonar¹

- 1. Hipertensión arterial pulmonar (HAP)**
 - 1.1 Idiopática (HAPI)
 - 1.2 Hereditaria (HAPH): (historia familiar de HAP con mutaciones)
 - 1.2.1 Mutación BMPR2
 - 1.2.2 Otras mutaciones
 - 1.3 Inducida por drogas o toxinas
 - 1.4 Asociada (HAPA) con:
 - 1.4.1 Enfermedad del tejido conectivo
 - 1.4.2 Infección por VIH
 - 1.4.3 Hipertensión portal
 - 1.4.4 Cardiopatía congénita (shunts sistémico-pulmonar)
 - 1.4.5 Esquistosomiasis
- 1'. Enfermedad veno-oclusiva pulmonar (EPVO) y/o hemangiomatosis capilar pulmonar (HCP)**
 - 1'.1 Idiopática
 - 1'.2 Hereditaria
 - 1'.2.1 EIF2AK4 mutación
 - 1'.2.2 Otras mutaciones
 - 1'.3 Inducida por drogas, toxinas o radiación
 - 1'.4 Asociada con:
 - 1'.4.1 Enfermedad del tejido conectivo
 - 1'.4.2 Infección por VIH
- 1". Hipertensión pulmonar persistente del recién nacido**
- 2. Hipertensión pulmonar debida a enfermedad del corazón izquierdo**
 - 2.1 Disfunción sistólica del ventrículo izquierdo
 - 2.2 Disfunción diastólica del ventrículo izquierdo
 - 2.3 Enfermedad valvular
 - 2.4 Obstrucción del tracto de entrada/salida del corazón izquierdo congénito o adquirido y miocardiopatías congénitas
 - 2.5 Estenosis de venas pulmonares congénita o adquirida
- 3. Hipertensión pulmonar debida a enfermedades pulmonares y/o hipoxia**
 - 3.1 Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)
 - 3.2 Enfermedad del intersticio pulmonar
 - 3.3 Otras enfermedades pulmonares con patrón obstructivo, restrictivo o mixto
 - 3.4 Desórdenes de la respiración asociados con el sueño
 - 3.5 Trastornos de hipoventilación alveolar
 - 3.6 Exposición crónica a la altura
 - 3.7 Enfermedades pulmonares del desarrollo
- 4. Hipertensión pulmonar tromboembólica crónica y otras obstrucciones de las arterias pulmonares**
 - 4.1 Hipertensión pulmonar tromboembólica crónica
 - 4.2 Otras obstrucciones de las arterias pulmonares
 - 4.2.1 Angiosarcoma
 - 4.2.2 Otros tumores intravasculares
 - 4.2.3 Arteritis
 - 4.2.4 Estenosis congénita de las arterias pulmonares
 - 4.2.5 Parásitos (hidatidosis)
- 5. Hipertensión pulmonar por mecanismos inciertos y/o multifactoriales**
 - 5.1 Desórdenes hematológicos: anemia hemolítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, esplenectomía, etc.
 - 5.2 Desórdenes sistémicos: sarcoidosis, histiocitosis pulmonar, linfangioleiomiomatosis, neurofibromatosis, vasculitis, etc.
 - 5.3 Desórdenes metabólicos: enfermedad del depósito de glucógeno, enfermedad de Gaucher, trastornos de la tiroides, etc.
 - 5.4 Otros: microangiopatía trombótica tumoral pulmonar, mediastinitis fibrosante, insuficiencia renal crónica (con/sin diálisis), hipertensión pulmonar segmentaria

BMPR2: receptor tipo 2 de la proteína ósea morfogénica.
 EIF2AK4: factor de iniciación eucariótico 2 alfa quinasa 4.
 VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

terias pulmonares pequeñas y medianas, oclusión de las arterias pequeñas, trombosis *in situ* e infiltración de células progenitoras e inflamatorias. En muchos casos también se presenta inflamación perivascular. Algunos pacientes con HAP presentan lesiones plexiformes angioproliferativa, pero este hallazgo no se presenta en otras categorías de HP. Las lesiones plexiformes (y otras lesiones complejas) a menudo se encuentran luego de la oclusión de las arterias y expresan la transcripción y los factores de crecimiento típicamente visto en la angiogénesis, incluyendo el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF: *vascular endothelial growth factor*) y el factor inducible de hipoxia (HIF-1α: *hypoxia inducible factor 1 alfa*)²⁴. La histopatología de la HAP normalmente exceptúa a: las vías respiratorias, las venas, la circulación bronquial, los capilares y la vasculatura sistémica. Las diversas anomalías histológicas de la HAP son heterogéneas en su distribución y prevalencia dentro de los pulmones.

La progresión natural de la gravedad de la lesión (presumiblemente de la hipertrofia de la media de la arteriopatía plexiforme) y la relevancia funcional de las lesiones plexiformes siguen siendo inciertas, aunque se encuentra documentada la regresión de la HAP histológicamente probada^{25,26}. Por lo tanto, la histología de la HAP sugiere que es una vasculopatía obstructiva e inflamatoria. Menos del 30% de los patrones de la HAP cumple con los criterios para dar una respuesta vasodilatadora, definida como una reducción de la PAPm de 10 mm Hg o menor a 40 mm Hg. Aunque los estudios posteriores encontraron porcentajes incluso inferiores de vasodilatadores respondedores, es evidente que el aumento del tono arterial pulmonar es un componente menor de la enfermedad. A pesar de este hecho, los agentes terapéuticos más aprobados para el tratamiento de la HAP son principalmente vasodilatadores y han demostrado poco beneficio en cuanto a la restauración de la vasculatura arterial pulmonar o la mejora de la función ventricular derecha. Por lo tanto parece que hay una falta de coincidencia entre los mecanismos de acción de la terapéutica de aprobada para la HAP y la fisiopatología de la enfermedad subyacente²⁷.

Las arterias intrapulmonares en la HAP presentan además de disfunción endotelial, inflamación, proliferación celular excesiva, alteración de la apoptosis y desorden metabólico. En la HAP, la proliferación excesiva de las células del músculo liso vascular y la resistencia a la apoptosis de las células vasculares presentan semejanzas fenotípicas a las vistas en el cáncer²⁸. Estas similitudes neoplásicas incluyen cambios en el metabolismo de la glucosa, tanto en la vasculatura pulmonar como en el VD²⁹. Se aguardan más estudios que investiguen estos rasgos fenotípicos de la HAP para brindar una terapia específica.

Mecanismos fisiopatológicos

Los mecanismos fisiopatológicos de la HAP abarcan una serie de modificaciones vasculares que producen un aumento de la RVP (Tabla 2)^{30,31}.

Fisiológicamente, existe un balance entre la vasoconstricción y la vasodilatación. La vasoconstricción, que a su vez lleva a la proliferación endotelial y del músculo liso vascular, está mediada por: la endotelina 1 (ET 1), la angiotensina II, la serotonina, el tromboxano y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas. Estando la vasodilatación y la anti-proliferación inducidas por: la prostaciclina, el óxido nítrico (NO: *nitric oxide*), el factor natriurético atrial, el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y el polipéptido activador de la adenilil ciclasa de la pituitaria (PACAP), la adrenomedulina y el factor de crecimiento vascular endotelial (Figura 1)³².

En la actualidad, existen tres vías o caminos terapéuticos, en base a los conocimientos de los mecanismos fisiopatológicos, si bien existen otros que están siendo estudiados. El primero de estos mecanismos es el de la endotelina: la pro-endotelina o BIG-endotelina transformada en ET 1 actúa uniéndose a los receptores de endotelina A y B. El receptor A es estimulante, produciendo vasoconstricción y proliferación, y el receptor B es inhibidor. Este mecanismo se encuentra aumentado en la HAP. El segundo mecanismo es el de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), que a partir de la L-arginina, produce NO, el cual por el mecanismo de la guanidil-ciclasa produce vasodilatación y anti-proliferación. La producción de NO está disminuida en la HAP. El tercer mecanismo es la disminución de la producción de prostaciclina por las células endoteliales. Los niveles bajos de prostaciclina producen vasoconstricción y proliferación vascular³³⁻³⁶. En un clásico trabajo de Humbert, se muestran estas tres vías patogénicas y terapéuticas: a) la vía de la endotelina con aumento de la producción de la misma; b) la vía del NO con disminución de su concentración celular, y c) la vía de la prostaciclina con disminución de su producción (Figura 2)³.

A diferencia de otras patologías cardiovasculares o respiratorias donde el tratamiento está establecido por el uso de uno o más fármacos escalonados o no, en la HAP la estrategia terapéutica se basa en la aplicación de varios fármacos asociados o de un algoritmo de tratamiento^{1,5,6}. En el último Simposio (5° SMHP, 2013) en la ciudad de Niza

Tabla 2. Características vasculares de la HAP

- Vasoconstricción
- Remodelación de los vasos pulmonares
- Proliferación endotelial resistente a la apoptosis
- Hipertrofia de la media de las arterias pulmonares
- Hiperplasia de la íntima de las arterias pulmonares
- Proliferación del músculo liso vascular de las arterias pulmonares pequeñas y medianas
- Fibrosis de la adventicia de las arterias pulmonares pequeñas y medianas
- Oclusión de las arterias pulmonares pequeñas
- Trombosis *in situ* e infiltración de células progenitoras e inflamatorias
- Apoptosis endotelial
- Inflamación perivascular
- Lesiones plexiformes angioproliferativa
- Heterogeneidad en distribución y prevalencia en los pulmones
- Libre de lesiones en: vías respiratorias, venas pulmonares, circulación bronquial, capilares pulmonares y la vasculatura sistémica

HAP: hipertensión arterial pulmonar.

(Francia), se profundizó en la evidencia existente en los últimos cinco años acerca del tratamiento de HAP^{1,8,30,33-36}. Estas drogas han mejorado el tratamiento de la HAP en la última década, incluyendo una gran cantidad de fármacos (más de 9) aprobados³⁷. Entre ellas encontramos a: la prostaciclina y sus análogos para la vía de homónima; el NO inhalado, los inhibidores de la 5-fosfodiesterasa (i5-PDE) y los moduladores de la guanilato ciclasa soluble (GCs) para mejorar la vía del NO, y los antagonistas de los receptores de la ET (ARE) para inhibir la vía de la ET³³⁻³⁶. A pesar de estos nuevos fármacos, la morbilidad y mortalidad prematura siguen siendo el pronóstico para los pacientes con HAP, aunque por supuesto el tiempo de progresión de esta patología cada vez se retrasa más³⁸. Se desconoce aún si el tratamiento de la HAP contribuye a mejorar la falla del VD. Pues, si bien estudios en modelos experimentales de roedores con HP y en cultivos de células sugieren que los prostanoides, los i5-PDE, los

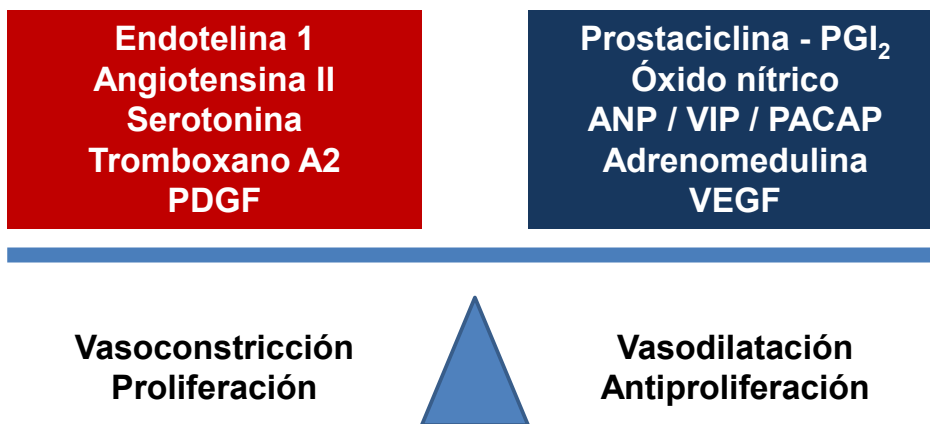


Figura 1. Balance endotelial (vasoconstricción - vasodilatación) que interactúan en el desarrollo de la hipertensión arterial pulmonar. PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas. ANP: péptido natriurético atrial. VIP: péptido intestinal vasoactivo. PACAP: polipéptido activador de la adenilil ciclasa de la pituitaria. VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial.

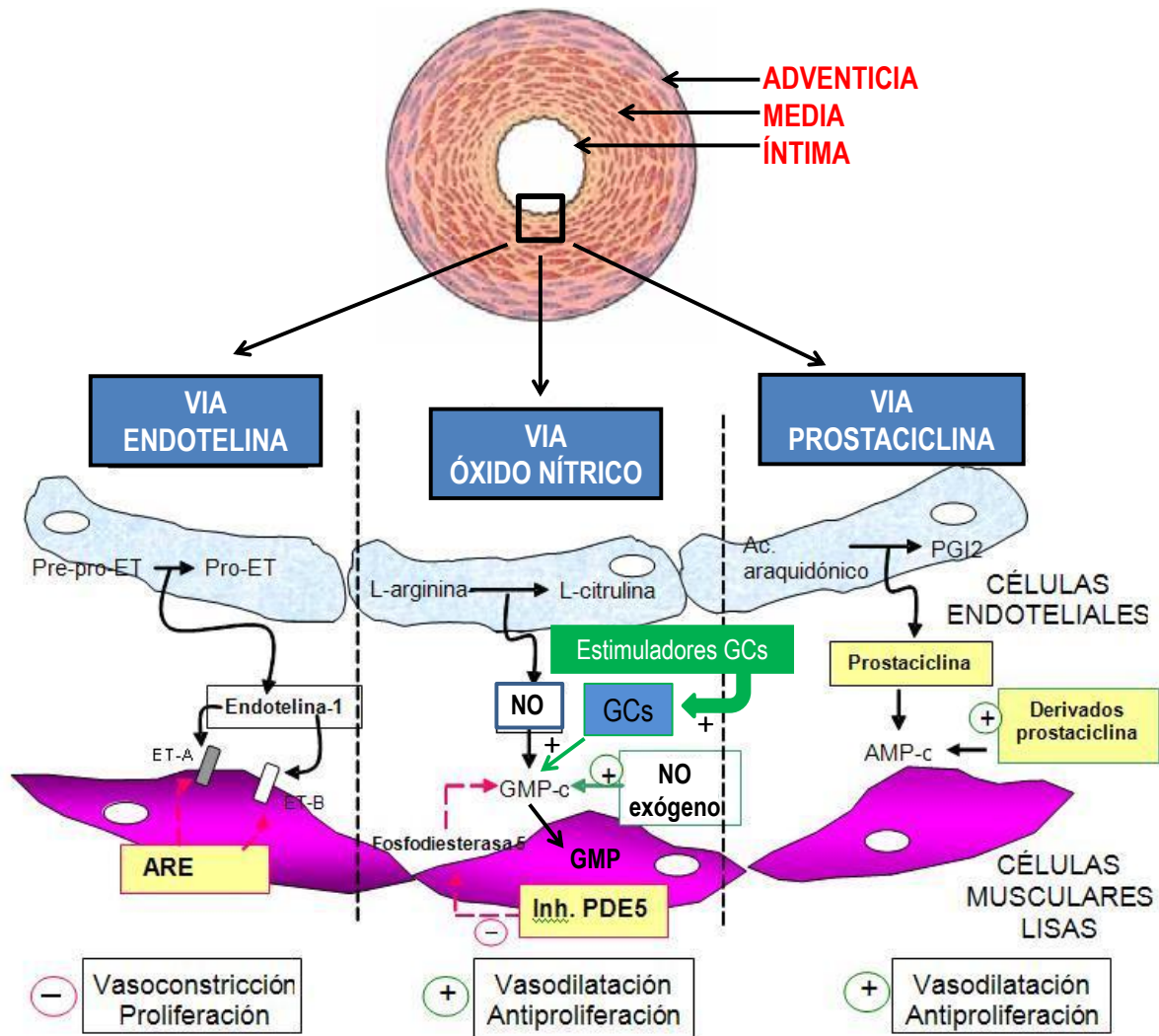


Figura 2. Vías fisiopatológicas que orientan a los objetivos terapéuticos en la hipertensión arterial pulmonar (HAP). Arriba: sección transversal de una arteria pulmonar pequeña (< 500 μ m) de un paciente con HAP severa. AMP-c: adenosina monofosfato cíclico. ARE: antagonista de los receptores de la endotelina. GMP-c: guanosina monofosfato cíclico. ET: endotelina. ETA y ETB: receptores A y B de la ET. NO: óxido nítrico. PDE5: fosfodiesterasa tipo 5. PGI₂: prostaglandina I₂. GCs: guanilato ciclasa soluble. Modificado de Mazzei JA. *Insuf Card* 2009; 4 (1): 3-10

ARE y los moduladores de la GCs tienen cierto potencial para mejorar el remodelado vascular adverso y/o reducir la tendencia a la trombosis en la HAP; no obstante, los resultados de estudios clínicos que avalan estos beneficiosos efectos pleotrópicos en humanos, mejorando múltiples características, son insuficientes. Un ejemplo de ello es que la misma prostaciclina, con su comprobada eficacia en el tratamiento de la HAP, no puede impedir la proliferación celular o retroceder el remodelado vascular adverso.

Vía del óxido nítrico

El NO o monóxido de nitrógeno es un radical nitrógeno gaseoso (gas incoloro y poco soluble en agua) que actúa como una molécula de señalización (hormona). En los años 70 del siglo pasado, el farmacólogo Ferid Murad descubrió que los nitratos utilizados en el tratamiento de dolores de pecho y algunas indicaciones cardiovascu-

lares liberaban monóxido de nitrógeno en condiciones fisiológicas. Éste presentaba efectos dilatadores vasculares a través de la relajación de la capa muscular vascular por el endotelio (Figura 3). En 1987, se descubrió que el cuerpo humano produce pequeñas cantidades de NO a partir del aminoácido arginina. Esto ayudó a entender el mecanismo de acción de diversos nitratos orgánicos empleados para el tratamiento de la angina de pecho (*angor pectoris*) por la liberación de NO. Todos estos descubrimientos culminaron en la otorgación del premio Nobel a Robert Furchgott, Ferid Murad y Louis J. Ignarro en 1998³⁷. La síntesis de NO se realiza por acción de una enzima, la óxido nítrico sintasa (NOS: *nitric oxide synthase*) que es una oxidoreductasa (ya que tiene un dominio oxidasa y un dominio reductasa), a partir del aminoácido L-arginina que produce NO y L-citrulina, requiriendo la presencia de un cofactor (específicamente, una coenzima): nicotinamida adenina-dinucleótido fosfato reducido o nad-fosfato reducido (NADPH) y de oxígeno (como dioxígeno: O₂)

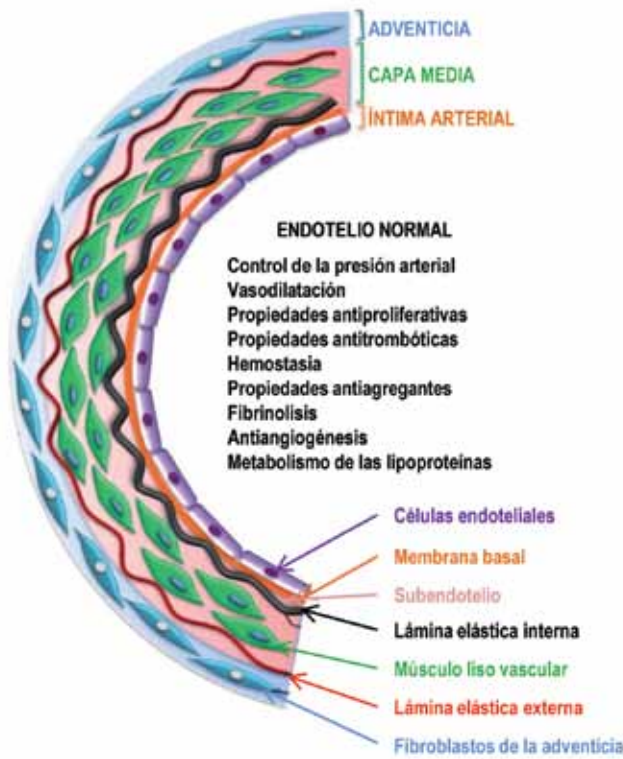


Figura 3. Capas de la vasculatura arterial pulmonar y características del endotelio normal y las acciones del óxido nítrico (NO).

(Figura 4)³⁹. La reacción catalizada por NOS se lleva a cabo sin gasto de energía (sin gasto de ATP). El NO es producido por una amplia variedad de tipos celulares que incluyen células epiteliales, nerviosas, endoteliales e inflamatorias. Existen tres formas de NOS, 2 denominadas constitutivas y dependientes del calcio (eNOS), que son la endotelial y la neuronal, las cuales sintetizan NO en condiciones normales, y una inducible e independiente del calcio (iNOS), que no se expresan o lo hacen muy débilmente en condiciones fisiológicas. Es sintetizado por las células endoteliales, macrófagos y cierto grupo de neuronas del cerebro. En las neuronas puede funcionar como neurotransmisor, atravesando fácilmente las membranas celulares por su carácter lipófilo. El NO cuando es producido en las células endoteliales de los vasos sanguíneos funciona como regulador paracrino; difunde al interior de las células musculares lisas, donde induce la producción de GMPc, que a su vez produce un efecto de relajación en la musculatura con vasodilatación y broncodilatación (Figura 5). Los macrófagos sintetizan NO para destruir los microorganismos que han sido fagocitados. La función normal de la isoforma endotelial de la NOS (eNOS) en la circulación pulmonar es contrarrestar la vasoconstricción y la trombosis. La inhibición crónica de la NOS se logra farmacológicamente usando antagonistas de L-arginina⁴⁰ o en modelos experimentales moleculares

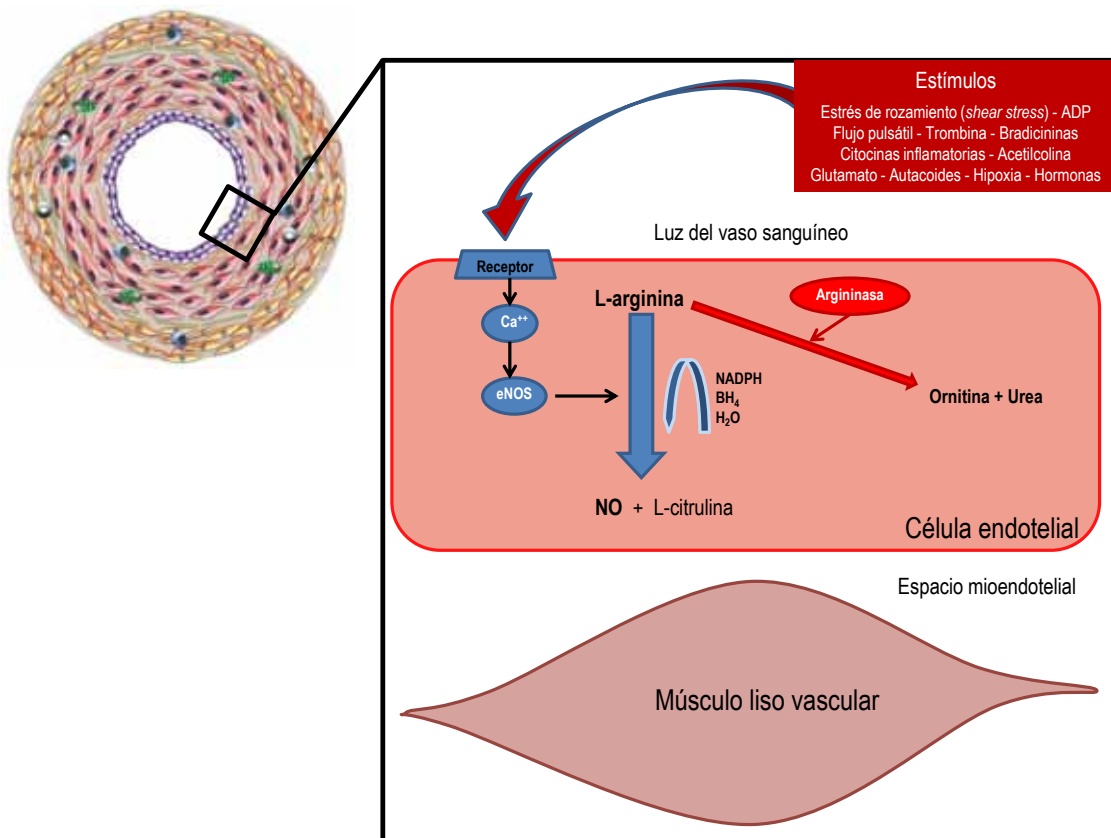


Figura 4. Endotelio vascular y la síntesis del óxido nítrico (NO) endotelial a partir de L-arginina catalizada por la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS).
 ADP: adenosina difosfato. NADH: nicotinamida adenina-dinucleótido fosfato reducido o NAD-fosfato reducido. BH₄: tetrahidrobiopterina.

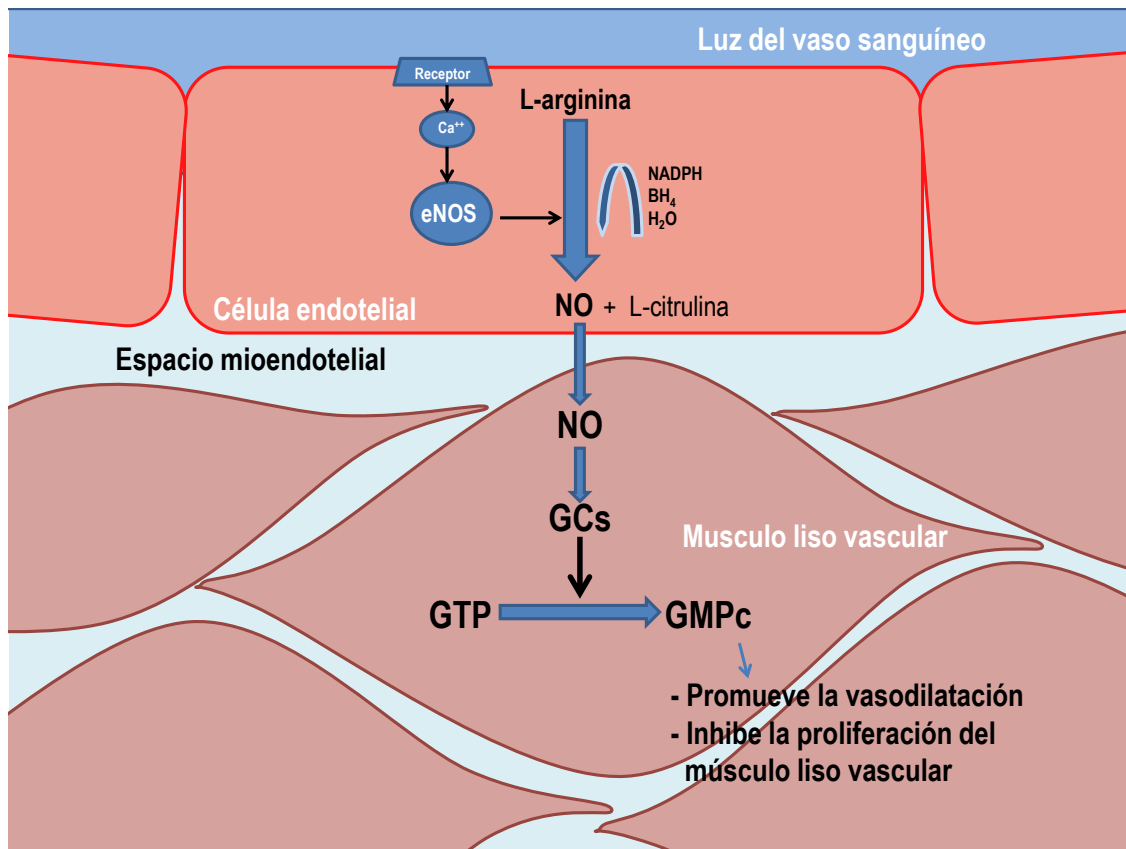


Figura 5. Ilustración que esquematiza la vía del óxido nítrico (NO) utilizada por las terapias actuales y emergentes en la hipertensión arterial pulmonar, que participan en la regulación del tono vasomotor pulmonar. La disfunción endotelial provoca disminución de la producción de mediadores vasodilatadores endógenos, promoviendo la vasoconstricción y la proliferación celular del músculo liso vascular. La vía del óxido nítrico puede ser beneficiada por la estimulación de guanilato ciclasa soluble (GCs). NADH: nicotinamida adenina-dinucleótido fosfato reducido o NAD-fosfato reducido. BH₄: tetrahydrobiopterina. GTP: guanosina trifosfato. GMPC: guanosina monofosfato cíclico.

de roedores con HP⁴¹.

La GCs actúa como un receptor endógeno para el NO y tiene un papel central en la señalización de NO. La GCs es una enzima heterodimérica que contiene un grupo prostético hemo (Figura 5)⁴². La GCs cataliza la conversión de guanosina trifosfato (GTP) al segundo mensajero GMPC. Los efectos celulares y fisiológicos del GMPC, incluyendo la vasodilatación, la inhibición de la proliferación de células del músculo liso, la prevención de fibrosis y de efectos anti-inflamatorios y antitrombóticos, están mediados por tres principales objetivos celulares: proteínas quinasas dependiente del GMPC (PKG), canales de cationes dependientes del GMPC para su apertura y fosfodiesterasas⁴²⁻⁴⁷. En la circulación pulmonar, los efectos vasodilatadores del GMPC están mediados a través de una variedad de mecanismos subcelulares los cuales conjuntamente disminuyen los niveles del calcio intracelular y desensibilizan el aparato contráctil. Uno de estos mecanismos es la activación de los canales de potasio de gran conductancia sensibles al calcio dependiente de las PKG, que conduce a la hiperpolarización del potencial de membrana celular del músculo liso de la arteria pulmonar y la inhibición de la entrada de calcio a través de los canales de calcio dependientes de voltaje tipo L⁴⁸.

Alteración de la vía del óxido nítrico en la HP

La vía del NO (NO→GCs→GMPC) se encuentra alterada en varias de sus etapas en la HAP⁴² (Figura 5). La disminución de la biodisponibilidad del NO puede ser el resultado de la disminución de la expresión y/o actividad de la eNOS y de la disminución de la biodisponibilidad de la L-arginina debido al incremento de la actividad de arginasa⁴⁹.

La enzima arginasa fue descubierta hace 110 años; pero recién desde hace unos 20 años, cobró una especial relevancia al descubrirse que compite por la L-arginina con la iNOS. Por tanto, el control de la expresión génica de la arginasa en diferentes tejidos y células regula la disponibilidad de L-arginina para la producción de NO. Como intermediario de esta reacción se produce N(ω)-hidroxi-L-arginina (NOHA), que a su vez es un potente inhibidor de la arginasa (Figuras 4 y 6). De esta manera, fisiológicamente la producción de NOHA garantiza que no se consuma L-arginina por la arginasa, sino que vaya para la vía iNOS, es decir producción de NO⁵⁰.

Debido a la importancia mencionada de la arginasa en la regulación de biodisponibilidad del NO, es probable que ésta sea de relevancia fisiopatológica en la HAP⁵¹. Varios estudios dan muestra de ello. En el trasplante hepático

y la posterior reperfusión del órgano trasplantado está presente una liberación aguda de la arginasa hepática y consiguiente respuesta de vasoconstricción pulmonar⁵². En las condiciones asociadas con un aumento de la liberación crónica de la arginasa de las células rojas de la sangre, tales como trastornos hemolíticos, se las han relacionado con el desarrollo de la HAP⁵³. Además, la HAP también está etiológicamente asociada con un aumento de la actividad de la arginasa vascular. La HP debido al tromboembolismo pulmonar experimental se asocia con aumento de la expresión de la arginasa II en la arteria pulmonar, depleción plasmática de L-arginina y disfunción endotelial^{54,55}. La inhibición de la arginasa mejora la dilatación dependiente del endotelio de la arteria pulmonar. Otro mecanismo que conduce a HP es la hipoxia, pues aumenta el mRNA de la arginasa II y su expresión proteica, así como la actividad de la arginasa en células endoteliales microvasculares del pulmón⁵⁶. En el mismo estudio, se demostró que la inhibición de la arginasa por pequeños y específicos ARN de interferencia o por un inhibidor farmacológico mejora la producción de NO. Estos resultados están en línea con un estudio que demuestra una mayor expresión de la arginasa II en las células endoteliales de las arterias pulmonares de pacientes con HAP⁵⁷. Conduciendo a un agotamiento de L-arginina, lo cual ha sido demostrado estar fuertemente correlacionado con la presión de la aurícula derecha, el índice cardíaco, y de la prueba de la marcha de los 6

minutos (PM6M) en pacientes con HAP idiopática⁵⁸. Es importante señalar que aunque el aumento de la arginasa se asocia con una disminución de la producción del NO, la arginasa puede también contribuir a la vasculopatía de la HAP a través de vías independientes del NO, especialmente a través del aumento de la síntesis de poliamina y la posterior estimulación de la proliferación y remodelación vascular^{59,60}.

Los elevados niveles de un inhibidor endógeno de la eNOS, la dimetil-L-arginina asimétrica (ADMA: *asymmetrical dimethyl arginine*), también pueden disminuir la biodisponibilidad del NO^{61,62}. La ADMA plasmática se encuentra incrementada en la HP Grupo 1 idiopática, en la HP Grupo 4^{63,64}, así como en la HP Grupo 1 de pacientes con enfermedad cardíaca congénita⁶⁵ o con infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)⁶⁶. La capacidad de respuesta vasodilatadora arterial del NO se ve afectada en modelos experimentales de ratas tanto en la HP hipóxica como en la HAP inducida por monocrotalina (MCT)⁶⁷.

Después de la exposición al estrés oxidante, el NO se oxida a nitrito y nitrato, siendo relativamente inactivos. En los pacientes con HAP, a pesar de existir una disminución en la actividad del NO, éste se conservan en los pulmones y sus niveles plasmáticos se elevan. Esto avala la hipótesis de que en la HAP existe un aumento de la inactivación oxidativa del NO, en lugar de una producción insuficiente

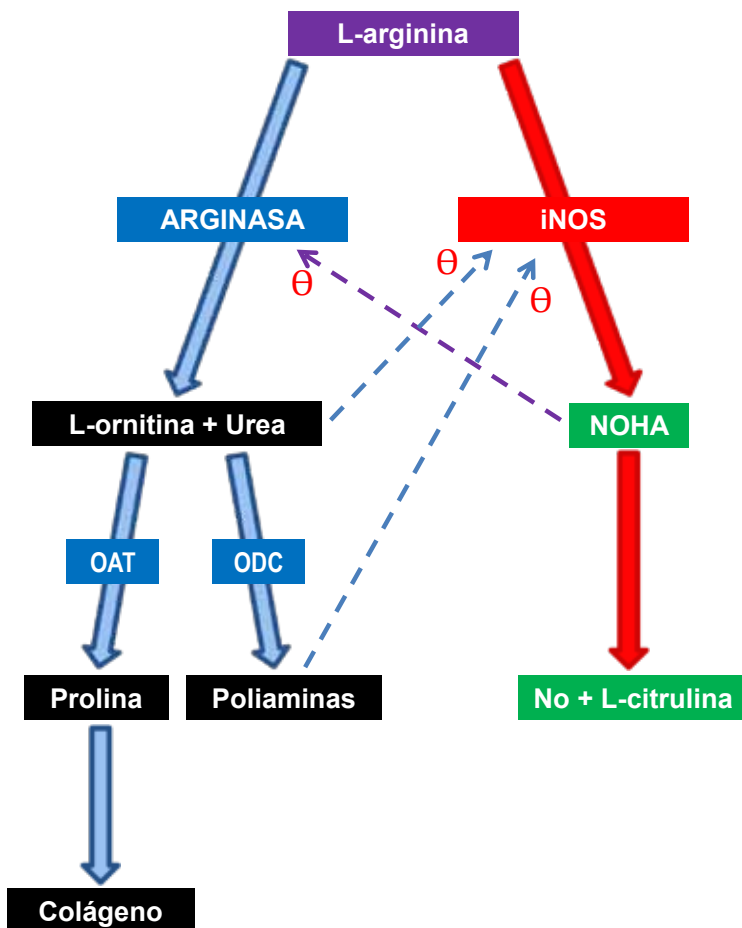


Figura 6. Ilustración esquemática de la encrucijada de los dos posibles destinos de la L-arginina a través de la arginasa o de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). El primero favorece una función proliferativa y vasoconstrictora; mientras que el segundo, activa los mecanismos antiproliferativos y de vasodilatación. La arginasa se expresa en células de músculo liso endoteliales y vasculares través de la regulación de las citoquinas, la trombina, la hipoxia, especies reactivas de oxígeno, hiperglucemia y LDL oxidada. El aumento de la actividad de la arginasa produce la hidrólisis de L-arginina a ornitina y urea, reduciendo la disponibilidad de L-arginina por la óxido nítrico sintasa (NOS), disminuyendo así la producción de óxido nítrico (NO). La generación de superóxido por la eNOS desacoplada, la NADPH oxidasa y el peroxinitrito de superóxido aumentan la actividad de la arginasa y ponen en peligro la producción de NO a través de la oxidación de tetrahydrobiopterina. En conjunto, estos cambios reducirán la biodisponibilidad de NO y contribuyen a la disfunción endotelial. En las células del músculo liso vascular, la ornitina aumentará la formación de L-prolina y poliaminas que estimulan la proliferación celular.

LPS: lipopolisacárido. NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato. NOHA: N(ω)-hidroxi-L-arginina. OAT: ornitina aminotransferasa. ODC: ornitina de carboxilasa.

de NO. Con el estrés oxidativo, el NO también puede reaccionar con aniones superóxido para generar peroxinitrito. El peroxinitrito puede oxidar y desacoplar la eNOS, perjudicando de este modo la síntesis de NO y causando desacoplamiento de la eNOS para generar especies reactivas de oxígeno (ROS)⁶⁸.

Importantes datos experimentales también indican el deterioro de la actividad de la GCs en la patogénesis de la HAP. El estrés oxidativo también produce la oxidación del grupo hemo de la GCs, disminuyendo la sensibilidad al NO y pudiendo provocar la disociación del grupo hemo de la GCs⁶⁹. Curiosamente, en las muestras de tejido arterial pulmonar obtenidas de pacientes con HAP idiopática, la expresión de la GCs se incrementa en comparación con la de los sujetos controles⁷⁰. Una observación similar se hizo en modelos experimentales de ratones con HP crónica inducida por hipoxia y con HAP inducida con MCT en ratas⁷⁰. El aumento de expresión de la GCs puede reflejar una respuesta compensatoria por los niveles elevados de la disfuncional oxidación de la GCs deficiente de hemo, tal como se ha informado en las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y en modelos animales de hiperlipidemia e hipertensión arterial (HTA) sistémica⁴³. Los ratones, modificados genéticamente y que sobreexpresan la GCs libre de hemo, presentan un deterioro de la relajación inducida por el NO, desarrollan HTA sistémica y tienen una vida más corta⁷¹. La GCs libre de hemo puede ser medida en los ensayos basados en plaquetas, haciéndolo un potencial biomarcador⁷².

Los moduladores farmacológicos de la GCs se dividen en 2 categorías basadas en sus mecanismos de acción: estimuladores y activadores⁴³. Estimuladores y activadores difieren en el hecho de que los estimuladores requieren un grupo hemo intacto mientras los activadores de la GCs requieren que el grupo hemo esté ausente (por lo general debido a la oxidación). Los estimuladores de la GCs pueden activar a la GCs en ausencia del NO; lo cual, teóricamente, puede ser ventajoso en la HAP por su baja biodisponibilidad del NO. En estudios preclínicos, los estimuladores de la GCs son eficaces en la disminución de las alteraciones estructurales hemodinámicas y de regresión en varios modelos experimentales con HP Grupo 1⁷³⁻⁷⁷. No obstante, la GCs es igualmente importante para la vasculatura sistémica⁷⁸ y como era de esperar, los estimuladores y activadores de la GCs carecen de especificidad para la circulación pulmonar y causan hipotensiones o disminuciones de la presión arterial sistémica dependientes de la dosis.

Guanilato ciclasa soluble

La GCs es una hemoproteína citosólica formada por dos subunidades: α (82 Kda) y β (70 Kda)⁷⁹. La forma activa y mayoritaria suele ser un heterodímero, aunque las formas heterodiméricas coexisten en equilibrio con los homodímeros, que son inactivos, quizá como mecanismo de regulación fisiológica⁸⁰. Se han clonado unos doce cDNAs de GCs de 5 especies diferentes (rata, oveja, pez

medaka, drosophila y humano). La primera en purificarse fue $\alpha 1\beta 1$, de tejidos de oveja y rata⁸¹, y que, más tarde fue clonada en el ser humano (originalmente se la denominó $\alpha 3\beta 3$)⁸². Otra subunidad humana clonada en cerebro fetal, sólo detectable en cerebro, placenta, páncreas y útero, se denominó $\alpha 2$ ^{83,84}. También se clonaron subunidades $\beta 2$ del riñón e hígado de rata⁸⁵. Aunque la isoforma mayoritaria es $\alpha 1\beta 1$, en muchos tejidos humanos las tres subunidades se encuentran en diferentes proporciones⁸⁶. Así, hay tejidos donde se encuentra mayor concentración de $\beta 1$ que de $\alpha 1$ como es el caso del cerebro y el pulmón, donde Budworth y colaboradores proponen que existirá la presencia adicional de $\alpha 2$, o en la placenta, donde se ha descrito el dímero $\alpha 2\beta 1$ ⁸⁷. La forma $\alpha 1\beta 2$ no se ha demostrado que exista *in vivo*.

La homología entre ambas subunidades es del 32%. La región amino terminal es la que menos similitud guarda, con un 20%. Es la región α hélice central, con un 70%, y la región catalítica con un 40% donde más homología se encuentra. La subunidad $\beta 2$ tiene un 34% de homología con la $\beta 1$ sobre todo en la zona amino terminal⁸⁸. Unido a la histidina 105 de la subunidad $\beta 1$ se encuentra el grupo hemo⁸⁹, formado por una protoporfirina IX a la que está unida un ion ferroso, y a la que se une el NO⁹⁰. También al grupo hemo se puede unir otra molécula gaseosa, el monóxido de carbono (CO), que activa a la GCs, pero no de manera fisiológica⁹¹⁻¹⁰⁰. La subunidad β se une al grupo hemo en su extremo amino-N-terminal, denominado sitio de unión hemo-óxido nítrico/oxígeno (HNOX). En contraste, la subunidad α no se une al hemo¹⁰¹. Cuatro subunidades de GCs han sido reportadas en los seres humanos: $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ y $\beta 2$; sin embargo, los heterodímeros $\alpha 1/\beta 2$ y $\alpha 2/\beta 1$ son los más estudiados^{102,103}. Un dominio de unión a hemo de 200 residuos se encuentra en el extremo N-terminal de la subunidad β ¹⁰².

La activación de la GCs se consigue principalmente por la unión del NO al grupo hemo, la cual es funcionalmente un receptor del NO^{102,104-106}. Mientras que la unión de una sola molécula de NO conduce a una activación moderada de la GCs, la actividad se ve aumentada aún más por la unión de varias moléculas de NO adicionales a los sitios de baja afinidad no identificados en la GCs¹⁰⁵⁻¹⁰⁷.

La GCs es una enzima sensible a la reacción reducción/oxidación (redox). Por ejemplo, el peróxido de hidrógeno puede activar a la GCs, provocando vasodilatación arterial pulmonar¹⁰⁸⁻¹¹⁰. Sin embargo, cuando existe estrés oxidativo excesivo, como ocurre en estados de enfermedad o ROS, la GCs puede cambiar el estado de oxidación del hierro de hemo reducido normal (Fe^{2+}) a hemo oxidado (Fe^{3+}), provocando que ésta sea menos activa y menos sensible al NO. Posteriormente, la GCs con hemo oxidado pierde su resto hemo, después de lo cual con el tiempo será degradada por el proteasoma (complejo proteico de gran tamaño presente en todas las células eucariotas, que se encarga de realizar la degradación de las proteínas [proteólisis] no necesarias o dañadas. En las células eucariotas los proteosomas suelen encontrarse en el citoplasma y representan un importante mecanismo por el cual las células controlan la concentración

de determinadas proteínas mediante la degradación de las mismas. Las proteínas a ser degradadas son marcadas por una pequeña proteína llamada ubiquitina, y una vez que una de estas moléculas de ubiquitina se ha unido a una proteína a eliminar, por medio de la enzima ubiquitina ligasa, se empiezan a agregar más proteínas de ubiquitina dando como resultado la formación de una cadena poliubiquitínica que le permite al proteasoma identificar y degradar la proteína. La degradación proteosómica es un mecanismo esencial en varios procesos celulares, incluyendo el ciclo celular, la regulación de la expresión génica y las respuestas al estrés oxidativo. La importancia de la degradación proteica dentro de las células y el rol de la ubiquitina en dicho proceso fue reconocido con el Premio Nobel de Química en 2004, otorgado a Aarón Ciechanover, Avram Hershko y Irwin Rose)¹¹¹⁻¹¹⁶. Ésta es la forma libre del hemo de la GCs, siendo el destino para los activadores de la GCs.

Estimuladores y activadores de la GCs

Hay dos clases de fármacos que aumentan la actividad de GCs: los estimuladores de la GCs (por ejemplo: riociguat) y los activadores de la GCs (por ejemplo: cinaciguat). En conjunto, estos fármacos se conocen como moduladores de la GCs. Los estimuladores de la GCs pueden funcionar sinérgicamente con el NO mediante la estabilización del complejo hemo-nitrosilo pentacoordinado de la enzima, sensibilizando a la GCs a bajos niveles de NO biodisponible. También pueden aumentar directamente la actividad de la GCs en ausencia del NO biodisponible, siempre que el grupo hemo esté presente^{102,117}. La actividad de los estimuladores de la GCs depende del hemo reducido (Fe^{2+}) estando presente en el grupo prostético de la GCs. El sitio de unión alostérico de los estimuladores de la GCs se ha postulado que reside en la cisteína 238/cisteína 243 de la región N-terminal de la subunidad $\alpha 1$ de la GCs o bien en un sitio de sustrato pseudosimétrico que se encuentra en el dominio catalítico de la subunidad β ^{118,119}. En contraste con el hemo reducido dependiente de los estimuladores de la GCs, los activadores de la GCs activan principalmente la GCs cuando la enzima se encuentra en su estado oxidado y/o libre de hemo⁴³ y funcionan tomando el lugar del complejo NO-hemo, o bien la unión al desocupado bolsillo de unión hemo o reemplazan el hemo oxidado débilmente unido.

El desarrollo de los moduladores de la GCs deriva del reconocimiento de su utilidad en las moléculas que inducen vasodilatación en condiciones de disminución de la biodisponibilidad del NO o cuando hay tolerancia a los nitratos orgánicos. La HAP es una condición con disminución de la biodisponibilidad del NO, como se indicó anteriormente. En contraste, la tolerancia a los nitratos orgánicos, tales como nitroglicerina y nitroprusiato de sodio, es más relevante para las enfermedades vasculares sistémicas, tales como la enfermedad coronaria y la insuficiencia cardíaca congestiva. Los nitratos orgánicos son vasodilatadores eficaces que liberan NO o sustancias

afines al NO dentro de la vasculatura, tras un proceso de biotransformación que requiere tioles o compuestos que contienen sulfhidrilo¹²⁰.

Por otra parte, los moduladores de la GCs son eficaces vasodilatadores en condiciones de tolerancia a la nitroglicerina¹⁰².

El desarrollo de los moduladores de la GCs fue investigado en gran medida por Bayer Healthcare AG (Wuppertal, Alemania)^{42,43,102}.

La búsqueda de moduladores de la GCs comenzó en 1994 cuando científicos examinaron unos 20.000 compuestos por su capacidad para activar a la GCs e identificaron derivados estimuladores de la GCs independientes del NO¹⁰². Sin embargo, la potencia de estos fármacos se incrementó por la exposición a la luz y tenían efectos adversos para el uso clínico, por lo tanto su desarrollo se detuvo⁴². Ese mismo año, se descubrió que el YC-1 (un derivado indazol estructuralmente relacionado) era un estimulador de la GCs hemo-dependiente, independiente del NO. YC-1 podía elevar drásticamente los niveles de GMPc e inhibir la agregación plaquetaria, y no era afectado por la luz. YC-1 puede provocar la estimulación de la GCs tanto dependiente como independiente del NO¹²¹. *In vitro*, la unión de YC-1 a la GCs purificada aumenta su actividad aproximadamente unas 10 veces, lo que supera los efectos logrados por el NO¹²². YC-1 unido a la GCs podría estabilizar el complejo hemo-nitrosilo y así mantener la configuración activa de la enzima^{123,124}. Aunque el mecanismo molecular preciso de YC-1 aún no se ha dilucidado, puede ser comparable a la activación inducida por la forskolina de la adenilato ciclasa e involucrar YC-1 unido al dominio catalítico de las dos subunidades de la GCs^{102,124,125}.

Un programa de optimización química y farmacológica, utilizando YC-1, genera varios pirazolopiridinas, en particular BAY 41-2272 y BAY 41-8543^{42,43}. Estos compuestos tienen un modo de acción similar a YC-1, tanto la activación de la GCs directa y sinérgicamente con el NO mediante la estabilización del complejo hemo-nitrosilo de la GCs¹²⁶. Sin embargo, estos compuestos tienen una mayor especificidad y una mayor capacidad para estimular a la GCs que YC-1^{119,127}, BAY 41-8543 y BAY 41-2272, pudiendo aumentar la actividad de la GCs hasta 200 veces¹²⁶. Por otra parte, BAY 41-2272 carece de las propiedades de los inhibidores de la 5-PDE, una debilidad de algunas moléculas anteriores de esta clase. Del mismo modo, BAY 41-8543 no inhibe la 5-PDE en las concentraciones necesarias para estimular a la GCs^{119,127}.

Riociguat (estimulador de la GCs) fue el resultado de la optimización farmacocinética de unos 800 fármacos candidatos de pirimidina, como BAY 41-8543 y BAY 41-2272. Riociguat provoca un aumento dependiente de la dosis de la actividad de la GCs *in vitro*. La estimulación máxima de esta droga se produce a una dosis de 100 μM y provoca un aumento de 73 veces en la actividad por encima de la línea de base. Riociguat exhibe un mayor grado de especificidad a la GCs que YC-1 y tiene efectos inhibidores sobre la PDE⁷⁰.

Riociguat requiere la presencia de un complejo hemo reducido de la GCs. Esta forma de la GCs puede ser deficiente en estados de estrés oxidativo como la HAP⁴³. Riociguat tiene un perfil de metabolismo y farmacocinética superior en comparación con otros miembros de la clase y, dada su biodisponibilidad oral y perfil hemodinámico favorable, fue seleccionado para el desarrollo clínico.

Se desarrollaron varios estimuladores de la GCs: CFM-1571 trabaja en sinergia con el NO para la estimulación de la GCs y está desprovisto de inhibición de la PDE. Sin embargo, este compuesto tiene una baja biodisponibilidad y baja potencia y como resultado no se ha desarrollado clínicamente^{42,117,128}. A-350 619 es un derivado de acrilamida que es estructuralmente distinto a YC-1, pero comparte un mecanismo de acción similar (es decir, es un estimulador de la GCs dependiente de hemo que puede actuar en sinergia con o independientemente del NO)¹²⁹.

Debido a que los estimuladores de la GCs requieren la presencia del grupo hemo, el cual a menudo está ausente en estados de enfermedad, el desarrollo de fármacos también se centró en la creación de moléculas que podrían activar a la GCs deficientes de hemo. En 2002 se identificó BAY 58-2667 (cinaciguat) y demostró ser el primer activador de la GCs independiente de hemo y del NO¹³⁰. Otros activadores de la GCs independientes de hemo, tales como BAY W 1449, se descubrieron a través de un programa de cribado para moléculas que inducen la producción de GMPc en las células de ovario de roedores^{130,131}. Posteriormente fueron generados otros activadores de la GCs. El derivado del ácido antranílico: ataciguat (HMR 1677) activa la GCs que contiene hemo oxidado^{132,133}. Sin embargo, a diferencia de cinaciguat, ataciguat no pueden protegerse libre de hemo, oxidando a la GCs por la degradación proteasomal¹³⁴. BAY 60-2770 y GSK 2181236A son nuevos activadores de la GCs que se han desarrollado recientemente y están siendo probados en estudios preclínicos¹³⁵.

Estudios con estimuladores de la GCs

Existen docenas de estudios preclínicos de YC-1 y sus derivados. Estos estudios ilustran el desarrollo de programas de fármacos en las últimas dos décadas. Ellos destacan ciertas propiedades de la clase de estimuladores de la GCs, como sinergia con el NO, la capacidad de inhibir la agregación plaquetaria y una relativa falta de especificidad como vasodilatadores pulmonares en comparación con vasodilatadores sistémicos⁴².

YC1

Este fármaco inhibe la remodelación del músculo liso vascular, la agregación plaquetaria y en menor medida provoca vasodilatación. En ratones con HP hipóxica, YC-1 disminuyó la hipertrofia del ventrículo derecho (HVD) y la remodelación pulmonar adverso⁴². Sin embargo, al igual que otros estimuladores de la GCs, YC-1 tiene efectos adversos, incluyendo la potenciación de la liberación de

TNF- α por los macrófagos alveolares¹³⁶ y la inhibición de las fosfodiesterasas^{125,137}.

BAY 41-2272

BAY 41-2272 es aproximadamente 30 veces más potente como vasodilatador que YC-1. Tiene una actividad vasodilatadora pulmonar eficaz en varias especies animales¹²². En ovejas con RVP elevada inducida por el tromboxano A2, este fármaco provoca vasodilatación pulmonar y sistémica dependiente de la dosis, y aumenta la magnitud y la duración de la respuesta al NO inhalado⁷³. En un modelo de neonato de rata con HP inducida por hipoxia crónica reduce la HVD y la mejora de la remodelación vascular pulmonar¹³⁸.

En corderos con vasoconstricción pulmonar inducida por U-46619, micropartículas inhaladas de BAY 41-2272 producen vasodilatación pulmonar e induce la liberación de GMPc, sin perder significativamente la presión arterial sistémica¹¹⁹. BAY 41-2272 intravenosa también redujo la RVP y PAPm, aumentando el índice cardíaco en modelos experimentales de perros con HP inducida¹³⁹. Sin embargo, BAY 41-2272 carece de selectividad para la vasculatura pulmonar, disminuyendo la presión arterial sistémica en ratas y perros¹⁴⁰. BAY 41-2272, cuando se administra por vía intravenosa, se elimina rápidamente y tiene una vida media corta (30 minutos en ratas y 1 hora en perros)¹⁴⁰. En ratas con hipertensión sistémica, BAY 41-2272 tiene efectos anti-plaquetarios, disminuye la presión arterial sistémica y aumenta la supervivencia¹¹⁹.

BAY 41-8543

Es un fármaco oral prometedor derivado de la optimización de YC-1 y tiene mayor potencia que YC-1 o BAY 41-2272. Estimula la actividad de de la GCs unas 92 veces más que la medición basal en ausencia del NO y tiene sinergia con éste¹²⁷. Posee una actividad vasodilatadora 500 veces mayor que YC-1 y 3 veces mayor que BAY 41-2272. En modelos de ratas estudiadas, provocó una modesta vasodilatación pulmonar con disminución de la presión arterial sistémica dependientes de la dosis, así como incremento en el gasto cardíaco¹⁴¹. BAY 41-8543 y la coadministración de nitroprusiato de sodio producen una respuesta vasodilatadora sinérgica.

En un modelo porcino de HP inducida por hipoxia, BAY 41-8543 por vía intravenosa, administrado solo o en combinación con tezosenán, reduce la PAPm y la RVP de una manera dependiente de la dosis sin afectar a la oxigenación¹⁴². En un estudio para evaluar los efectos del tratamiento con nitrito en ratas con HAP inducida con MCT o vasoconstricción inducida por U 46619, BAY 41-8543 intravenosa (0,1 mg/kg) provoca una vasodilatación de similar magnitud al nitrito (6 mg/kg)¹⁴³. En un modelo ovino de HAP, BAY 41-8543, administrado como monoterapia o en combinación con NO inhalado provoca vasodilatación pulmonar con mínima vasodilatación sistémica¹⁴⁴. Sin embargo, en la mayoría de los estudios BAY

41-8.543 tuvo una similar eficacia como vasodilatador en los lechos sistémico y pulmonar. A pesar de estos efectos fisiológicos favorables por su rápida eliminación y la no lineal dosis-respuesta, se considera inferior al perfil farmacodinámico del riociguat, lo que llevó a la selección de riociguat sobre BAY 41-8543 para realizar los estudios clínicos¹⁴⁵.

Riociguat

Este fármaco (BAY 63-2521) reduce la vasoconstricción pulmonar por hipoxia en ratones⁴². En modelos experimentales de ratones con HP por hipoxia crónica y ratas con HAP inducida por MCT, riociguat por vía oral reduce la presión sistólica del VD y la RVP total. También disminuyó la HVD y provocó una mejoría en la remodelación vascular pulmonar⁷⁰. En un modelo de roedor de HAP inducida por hipoxia crónica más SU5416, riociguat causó una beneficiosa remodelación vascular pulmonar, incluyendo disminución del espesor medial de las arterias pulmonares¹⁴⁶. Estos efectos antiproliferativos beneficiosos de riociguat son el resultado de la fosforilación inducida por la PKG isotipo 1 de Smad 1/5¹⁴⁶ (las proteínas Smad constituyen una familia de proteínas que funcionan a nivel celular como segundo mensajero, propagando señales intracelulares que se traducen en acciones extracelulares con la participación de ligandos del factor transformante de crecimiento beta hasta el núcleo celular donde activan la transcripción de genes)¹⁴⁷.

Riociguat no actúa específicamente sobre la circulación pulmonar, una limitación de toda la clase de moduladores de la GCs. Por ejemplo, en el corazón de rata, riociguat provoca vasodilatación coronaria¹¹⁷. También inhibe la contracción de las arterias coronarias de conejos y de porcinos y estimula la relajación vascular en la arteria safena aislada de conejos tolerantes a los nitrato^{117,148}. Riociguat tiene efectos protectores en modelos de hipertensión sistémica, evitando tanto el daño cardíaco como el renal y prolongando la supervivencia^{148,149}. Riociguat también tiene un efecto antihipertensivo sinérgico cuando se administra junto con un bloqueador del receptor de la angiotensina II en ratones¹⁵⁰. Estos estudios preclínicos no sólo ponen de relieve el beneficio potencial de los estimuladores de la GCs como agentes terapéuticos antihipertensivos; sino que también anunciaron el principal efecto adverso del riociguat en ensayos clínicos humanos: hipotensión sistémica. Esta hipotensión es mal tolerada en la HAP, debido a que estos pacientes carecen de reserva ventricular derecha (pues al producirse una HVD por la HAP, se pierde la capacidad de manejar volúmenes por parte del VD y así aumentar rápida y sustancialmente el gasto cardíaco). Esto refleja tanto la enfermedad intrínseca del VD, así como pérdida del área de sección transversa de la arterial pulmonar y la disminución de la *compliance* o distensibilidad de la circulación pulmonar, provocando una elevación estructural de la RVP. Por lo tanto, los pacientes con HAP tienen una capacidad limitada para aumentar el gasto cardíaco cuando son estimulados con

un vasodilatador sistémico, pudiendo provocar en una cascada hipotensora peligro de muerte por hipoperfusión de órganos vitales.

Aunque los efectos de riociguat sobre el VD han sido relativamente poco estudiados, presentan un beneficio del VI isquémico. En roedores, riociguat (1,2 mM), administrado en el momento de la inducción de la isquemia y continuando durante 5 minutos después del inicio de la reperfusión, redujo significativamente el tamaño del infarto y mejora la fracción de eyección del VI a los 28 días (riociguat: 63,5% vs placebo: 48,2%)¹⁵¹.

Estudios clínicos con riociguat

En 2008, en estudios clínicos de fase I, la farmacodinamia y la tolerabilidad de dosis orales únicas de riociguat fueron probados en 58 voluntarios sanos de sexo masculino¹⁵². Riociguat, administrado en solución (0,25-5 mg) y como comprimidos de liberación inmediata de 2,5 mg en ayuno, fue bien tolerado; pero, aumentó la frecuencia cardíaca y redujo la presión arterial sistémica media, indicando que es un vasodilatador sistémico. La dosis de 5 mg aumentó la frecuencia cardíaca en 11 latidos por minuto y fue mal tolerado debido a los efectos secundarios clásicos de los vasodilatadores (dolor de cabeza, congestión nasal, sofocaciones, palpitaciones). Curiosamente, hubo una considerable variación interindividual en las concentraciones plasmáticas de la droga, lo que sugirió la necesidad de personalizar la dosis de fármaco a cada paciente individualmente.

En estudios clínicos de fase II, en 19 pacientes con HAP, fue evaluada la seguridad y tolerabilidad de una dosis única oral de riociguat ($\leq 2,5$ mg) frente al NO inhalado. Riociguat mejoró los parámetros hemodinámicos pulmonares y aumentó el gasto cardíaco, de forma dependiente de la dosis, y con mayor efecto que el NO inhalado. A diferencia de este último, riociguat redujo significativamente la presión arterial sistémica y no demostró selectividad para la vasculatura pulmonar¹⁵³.

En un estudio de fase II, 75 pacientes con HAP o HPTEC fueron tratados durante 12 semanas con riociguat vía oral. La dosis de riociguat se valoró gradualmente (de 1 mg a 2,5 mg tres veces por día [TID]) con el objetivo de mantener la presión arterial sistémica por encima de 100 mm Hg¹⁵⁴. Riociguat redujo en forma significativa la RVP (-215 dinas.seg.cm⁻⁵ respecto a los valores basales) y aumentó la distancia de la PM6M (en la HPTEC: +55 m y en la HAP: +57 m). Sin embargo, el tratamiento activo dio lugar a una relativamente alta incidencia de efectos adversos leves a moderados, especialmente hipotensión en el 15% de los pacientes (definida la hipotensión arterial como presión arterial sistólica <90 mm Hg). Otros efectos adversos comunes leves incluyen dispepsia y dolor de cabeza. No obstante, con este protocolo de ajuste de dosis cuidadoso, sólo el 4% de los pacientes requirió la interrupción de riociguat.

En un estudio de fase II (PATENT PLUS *study*), se proba-

ron los efectos de la administración de riociguat (0,5-2,5 mg por vía oral TID) a 19 pacientes con HAP sintomática que recibían una dosis estable de sildenafil. No hubo efectos adversos en comparación con placebo en cuanto a la hipotensión en las primeras 12 semanas. Sin embargo, en la extensión del estudio con la combinación con sildenafil, se evidenció una alta tasa de discontinuación del fármaco debido a la hipotensión, no observándose efectos clínicos favorables¹⁵⁵. Por lo tanto, riociguat sumado a sildenafil no parece ser una combinación racional de tratamiento.

En un ensayo controlado con placebo, de un solo centro realizado en 22 voluntarios sanos, no hubo interacción significativa entre riociguat (2,5 mg por vía oral TID durante 10 días) y una sola dosis de warfarina (25 mg)¹⁵⁶. Aún no se ha realizado ninguna evaluación de los efectos de riociguat sobre la anticoagulación en pacientes con HP. Esto se hace relevante, pues la warfarina es prescrita comúnmente a los pacientes con HAP.

La utilidad clínica de riociguat en la disfunción sistólica del VI se realizó en un estudio aleatorizado, controlado con placebo y doble ciego. Este estudio incluyó a 201 pacientes con antecedentes de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección del VI $\leq 40\%$ y una PAPm ≥ 25 mm Hg, en seguimiento durante 16 semanas. Se asignaron al azar diferentes dosis de riociguat (67 pacientes recibieron la dosis máxima para este estudio de 2 mg vía oral TID). El criterio principal de valoración fue el descenso de la PAPm, la cual no fue estadísticamente afectada. Sin embargo, hubo un aumento estadísticamente significativo del gasto cardíaco (en $+0,4$ L/min/m²) y del volumen sistólico ($+5,2$ ml/m²), sin un aumento de la frecuencia cardíaca. No se evidenció una significativa reducción en la presión arterial sistémica sistólica ni diastólica. La RVP se redujo significativamente por 46,6 dinas.seg.cm⁻⁵ aunque no hubo cambio significativo en la relación de RVP/RVS. No hubo ningún cambio significativo en el volumen diastólico del VI en el ecocardiograma, pero no se obtuvo información sobre el tamaño o la función del VD¹⁵⁷.

Ni los ARE ni los i5-PDE han demostrado que aumentan la capacidad de ejercicio, ya sea en el Grupo 2 de la clasificación de HP (insuficiencia cardíaca izquierda con capacidad de ejercicio conservada) ni en el Grupo 3 de la HP (asociados con enfermedad pulmonar crónica o hipoxia crónica). Actualmente hay estudios que están evaluando a riociguat para su uso en estas formas de HP. La seguridad a corto plazo y la eficacia de riociguat en presencia de HP leve a moderada debido a la HPTEC, HAP o EPI leve a moderada fue examinada en un estudio de 19 pacientes. Riociguat provocó mejoras dependientes de la dosis en la RVP, la PAPm y el gasto cardíaco. No se evidenció un empeoramiento significativo de la relación ventilación-perfusión (V/Q). Sin embargo, sólo uno de los 19 pacientes estudiados tenían EPI leve a moderada, y por lo tanto, los efectos de riociguat en pacientes con EPI requieren más cantidad de estudios¹⁵³.

Un estudio abierto y no aleatorizado con riociguat se llevó a cabo en 23 pacientes con EPI e HP del Grupo 3 por 12

semanas. La mayoría de los pacientes (63,6%) toleraron bien los 2,5 mg TID de dosificación. Aunque la RVP disminuyó, la RVS se redujo de forma más desproporcionada, resultando en un aumento de la relación RVP/RVS. Hubo un ligero aumento en el gasto cardíaco y la PM6M aumentó en 25 metros a las 12 semanas. Sin embargo, la PaO₂ se redujo en 7 mm de Hg en la semana 12 del estudio (sugiriendo un cierto deterioro de la relación V/Q). Sin embargo, no hubo ningún cambio significativo en la escala de disnea de Borg. Deben realizarse estudios adicionales a fin de demostrar fehacientemente que no hay empeoramiento clínico debido al cortocircuito intrapulmonar o hipotensión sistémica y que sí existe una mejoría en la clase funcional en este grupo de pacientes.

Dos estudios de fase III, utilizando riociguat en pacientes con HP Grupo 1 y Grupo 4, se publicaron simultáneamente a mediados de 2013, mostrando un beneficio en ambos grupos.

El estudio PATENT-1 (*Pulmonary Arterial Hypertension Soluble Guanylate Cyclase-Stimulator Trial 1*) fue un ensayo internacional, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo que incluyó en 443 pacientes con HP Grupo 1 durante 12 semanas. Un grupo de pacientes recibió una dosis máxima titulada de riociguat vía oral de 2,5 mg TID, y otro grupo una dosis máxima titulada de riociguat vía oral de 1,5 mg TID. La HAP idiopática se representó en el 61% de todos los pacientes incluidos. La mayoría de los pacientes estaba en clase funcional II o III. Cabe destacar que aproximadamente el 50% de los pacientes no estaba recibiendo ninguna otra terapia para HAP, mientras que el 44% remanente recibía un ARE y el restante 6% continuó con un prostanoides. El punto final primario fue un cambio en la PM6M a las 12 semanas. De los pacientes asignados al azar, el grupo que recibió 2,5 mg vía oral de riociguat tres veces al día alcanzó el 75% de la dosis máxima y luego de las 12 semanas aumentó la distancia de la PM6M en 30 metros; mientras que el grupo tratado con placebo disminuyó en unos 6 metros en la PM6M. Además, esta diferencia fue más manifiesta en los pacientes que no tenían tratamiento previo, pues presentaron un aumento en la PM6M de 32 metros. Los pacientes, que previamente a recibir riociguat venían recibiendo un ARE, incrementaron sólo en 23 metros la PM6M en comparación con la disminución en 0,4 metros de esta prueba en el grupo placebo. Y llamativamente, los pacientes tratados previamente con prostanoides aumentaron en 56 metros la PM6M frente a una caída de 49 metros en el grupo placebo. El grupo que recibió riociguat vía oral 1,5 mg TID aumentó la PM6M en 31 metros frente a una disminución de 6 metros en el grupo placebo. Los objetivos secundarios también fueron favorables en el grupo de la dosis de riociguat 2,5 mg TID, con una disminución de la RVP de 223 dinas.seg.cm⁻⁵ frente a una caída de tan sólo 9 dinas.seg.cm⁻⁵ en el grupo placebo. También se evidenció con riociguat una significativa disminución de 1027 pg/mL en el péptido natriurético cerebral (NT-proBNP) y una mejora tanto en la clase funcional como en la escala de disnea de Borg³⁸. Como una fase de extensión del estudio PATENT-1, se

diseñó el estudio clínico PATENT-2 e incluyó 396 pacientes, fue abierto y a largo plazo. En las 8 semanas iniciales, doble ciego, se titularon las dosis hasta obtener el efecto óptimo o el máximo de 2,5 mg tres veces al día, en todos los pacientes. Los criterios primarios de valoración fueron seguridad y tolerancia. El perfil de seguridad se calificó como bueno con una tasa de discontinuación por efectos adversos del 7,2%. Al cabo del período de titulación se observó una mejoría de la PM6M en +51m y +49 en los tratados previamente con riociguat hasta un máximo de 2,5 o 1,5 mg, respectivamente, como así también en los que habían recibido placebo (+42 m) respecto de la distancia caminada al inicio del PATENT-1. Una nueva evaluación de 214 pacientes, a los 12 meses, mostró una mejoría de +48 metros asociada al tratamiento con riociguat. El 13% de los pacientes (n=47) requirió el agregado de otra medicación para tratar la HAP por agravamiento de su cuadro clínico^{38,154}.

Otro estudio, el CHEST-1¹⁵⁵ (*Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension Soluble Guanylate Cyclase-Stimulator Trial 1*) fue un estudio multicéntrico, aleatorizado, controlado con placebo, donde se incluyeron 261 pacientes portadores de HPTEC inoperable (72%) o HP persistente o recurrente después de una endarterectomía pulmonar; asignándose al azar en una relación 1:2 con placebo o riociguat, titulado a una dosis máxima vía oral de 2,5 mg TID. Los pacientes no recibieron ningún otro tratamiento para la HAP y fueron seguidos durante 16 semanas. El 77% de los pacientes que recibieron riociguat alcanzó la dosis máxima. El objetivo principal del estudio fue el cambio en la PM6M, que aumentó unos 39 metros en el grupo riociguat en comparación con una disminución de 6 metros en el grupo placebo. Los objetivos secundarios incluyeron una disminución de la RVP en 226 dinas.seg.cm⁻⁵ en los que recibieron riociguat y un aumento de la RVP en un 23 dinas.seg.cm⁻⁵ en el grupo placebo. En la semana 16, el NT-proBNP había disminuido en 291 pg/mL en los pacientes tratados con riociguat y había aumentado en 76 pg/mL en los que recibieron placebo. El grupo riociguat también presentó una mejoría en la clase funcional y en la escala de disnea de Borg¹⁵⁵.

El CHEST-1 fue el primer estudio que muestra una mejora en la hemodinamia y en la clase funcional en los pacientes con HPTEC inoperable o persistente/recurrente. El estudio PATENT-1 había mostrado que los pacientes con HAP tratados con riociguat podían mejorar la hemodinamia y la clase funcional; ya sea en aquellos pacientes que comenzaban con el tratamiento con riociguat como fármaco de primera línea o como terapia complementaria a los ARE¹⁵⁶⁻¹⁵⁹.

En una fase de extensión del estudio CHEST 1 se realizó el estudio CHEST-2, donde se incluyeron 237 pacientes. La investigación contó con un primer período en el cual a todos los pacientes se les administró riociguat con un esquema de titulación de dosis hasta alcanzar el efecto óptimo o un máximo de tres dosis diarias de 2,5 mg. Este estudio demostró la seguridad y eficacia clínica a largo plazo de riociguat. Un análisis preliminar de los datos de

194 individuos, en la semana 12^o, mostró la mejoría con la PM6M en los tratados con riociguat versus placebo. Los pacientes tratados con riociguat en el CHEST-1 aumentaron la distancia caminada a 63 metros y los que previamente habían recibido placebo 35 metros, respecto de los valores iniciales del CHEST-1. También mejoró la clase funcional de la OMS. La evaluación al año confirmó el beneficio sostenido de riociguat^{155,160}. La tolerancia y seguridad a largo plazo fueron buenas. Al año, el 97% de los pacientes estaba con vida y el 87% no había experimentado empeoramiento clínico^{155,160}.

Riociguat para el tratamiento de la HP

Los estudios finalizados a la fecha muestran a este estimulador de la GCs no muy diferente de las terapias existentes para la HAP. La seguridad, la tolerabilidad y la eficacia de riociguat no se distinguieron de otras terapias aprobadas para HAP, en el estudio PATENT-1¹⁶¹.

En contraste, para los pacientes que padecen HPTEC, riociguat es un fármaco específico de primera elección aprobado para esta patología. Sin embargo, riociguat sólo está indicado en pacientes con HPTEC en circunstancias muy específicas. La endarterectomía pulmonar quirúrgica sigue siendo el estándar de oro para los pacientes con HPTEC y es la única que puede lograr ese grado de magnitud de mejora de las presiones pulmonares y la hemodinamia¹⁶². Sin embargo, en pacientes que no pueden someterse a esta cirugía debido a la comorbilidad, otras enfermedades o en pacientes con HP persistente después de la endarterectomía pulmonar, riociguat puede mejorar significativamente la clase funcional, mejorando la PM6M, disminuyendo la RVP y aumentando el gasto cardíaco¹⁵⁵. Serán necesarios más estudios a largo plazo para asegurar que los beneficios significativos de riociguat en HPCTE persisten en el tiempo.

Para los pacientes con HAP, riociguat brinda una nueva opción entre las 4 clases diferentes de medicamentos existentes aprobados. Los ARE tienen una larga y exitosa trayectoria en el tratamiento de la HAP, existiendo estudios que avalan otro fármaco disponible recientemente, macitentan. Sin embargo, esta clase de drogas requiere monitorización de la función hepática. Los medicamentos más antiguos de esta clase tienen más interacciones medicamentosas, requiriendo su constante monitorización, especialmente con warfarina y antibióticos (prescritos con frecuencia). Estos últimos fármacos pueden provocar edema periférico significativo y anemia. Los fármacos prostanoideos requieren terapia intravenosa o subcutánea, sugiriéndose con frecuencia en una segunda etapa de tratamiento. El prostanoide inhalado, iloprost, requiere una administración de 6-9 veces al día.

Por lo tanto, los estimuladores de GCs, de los cuales riociguat es el primer fármaco clínicamente disponibles, pueden ser considerados como un complemento a los ARE (el 44% de la población del estudio PATENT-1 recibía tratamiento dual). También pueden ser considerados de

primera línea para los pacientes con HAP con y sin disfunción cardíaca derecha. Tampoco hay preocupación con respecto a las interacciones con warfarina o antibióticos, comúnmente recetados.

Efectos adversos

Además de la hipotensión arterial sistémica (aproximadamente de 10 mm Hg) existen otros efectos adversos que se producen en un 10% de la población de estudio, que incluyen: cefaleas, náuseas, vómitos, mareos, dispepsia, gastritis y diarrea³⁸. La administración de riociguat junto con nitratos e i5-PDE (como la teofilina y dipiridamol) está contraindicada debido al riesgo de desarrollar hipotensión sistémica.

Los inhibidores del citocromo CYP (tales como antifúngicos azólicos), los inhibidores de la P-glicoproteína/proteína de resistencia al cáncer de mama¹⁶³ y los inhibidores de la proteasa del VIH aumentan los niveles plasmáticos de riociguat, por lo que una dosis inicial más baja debe ser considerada para evitar la hipotensión en pacientes que utilizan estos fármacos. Los pacientes con una posible enfermedad veno-oclusiva pueden empeorar, como es común con todos los fármacos disponibles para el tratamiento de la HAP hasta la fecha. Por último, riociguat no está aprobado en las mujeres en edad de procrear, debido al riesgo teratogénico desconocido para el feto y, si es necesario, el medicamento debe ser prescrito a través del programa de acceso restringido. En la actualidad, no hay ninguna indicación aprobada para utilizar riociguat en la HP secundaria a otras enfermedades distintas de la HAP y la HPTEC.

Conclusiones

Riociguat es el primero de los estimuladores de la GCs aprobado y de suma utilidad en el arsenal de agentes farmacológicos disponibles para el tratamiento de la HP Grupo 1. Aunque todavía no está claro cómo riociguat debe ubicarse en los algoritmos de tratamiento para los pacientes con HP, su biodisponibilidad oral hace que sea un tratamiento potencial de primera línea. En cuanto al costo sustancial de las otras clases de terapias orales para la HP (i5-PDE, ARE y prostanoides) y sus eficacias relativamente similares, la rentabilidad puede convertirse en un factor cada vez más importante que influya en la selección inicial de la droga. Se necesitan una mayor cantidad de estudios para evaluar qué medicamentos para la HP es óptimo para su uso en combinación con riociguat.

La única indicación de riociguat, comparado con otros fármacos para la HP, es la HPTEC. Sin embargo, esta indicación se limita a pacientes considerados inoperables después de la evaluación de un centro quirúrgico cualificado o que padecen HP persistente o recurrente después de la endarterectomía pulmonar.

Riociguat parece ser bien tolerado en la dosis aprobada.

Sin embargo, su principal efecto adverso, la hipotensión sistémica, es probable que sea un efecto de clase de los moduladores de la GCs y puede limitar la dosis de éste y otros compuestos. Será importante para determinar si los activadores de la GCs tienen mayor propensión a causar vasodilatación sistémica que los estimuladores de la GCs. Si éste fuera el caso, su perfil vasodilatador sistémico podría limitar su potencial como terapia para la HP, pero podría ser beneficioso como terapia para la insuficiencia ventricular izquierda o la hipertensión sistémica.

La importancia de las propiedades no vasodilatadoras de los moduladores de la GCs, tales como efectos antiproliferativos y antitrombóticos, requiere estudios en seres humanos. Aunque existe alguna evidencia de beneficio en estos dominios en modelos de roedores, será importante establecer si, en dosis que no causen hipotensión sistémica, riociguat y otros moduladores de la GCs puedan producir efectos antiproliferativos, antiinflamatorios y antitrombóticos, necesarios para el tratamiento de la HAP.

En los futuros estudios clínicos de moduladores de la GCs se debería incluir la evaluación formal de los efectos del fármaco sobre la función del VD. Algunos fármacos para la HAP, en particular: sildenafil, ejercen un efecto inotrópico positivo en la hipertrofia del VD; sin embargo, otros (bosentan) parecen tener efectos inotrópicos negativos^{29,164-167}.

Recursos financieros

El autor no recibió ningún apoyo económico para la investigación.

Conflicto de intereses

El autor declaró no tener conflicto de intereses.

Referencias bibliográficas

1. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 2016; 37:67-119.
2. Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, Celermajer D, Denton C, Ghofrani A, et al. Updated Clinical Classification of Pulmonary Hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:D34-41.
3. Humbert M, Sitbon O, Simonneau G. Treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2004; 351: 1425-1436.
4. O'Callaghan DS, Savale L, Montani D, et al. Treatment of pulmonary arterial hypertension with targeted therapies. *Nat Rev Cardiol* 2011;8: 526-538.
5. Atamañuk NA. Algoritmo de tratamiento de hipertensión pulmonar Guías de Hipertensión Pulmonar 2013, Niza ¿Qué cambiará para 2015? *Insuf Card* 2015;10 (1): 36-48.
6. Galiè N, Hoeper MM, Humbert M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension

- of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J* 2009; 30: 2493-2537.
7. Naval N. Clasificación actual de la hipertensión pulmonar. *Insuf Card* 2011;6 (1):30-38.
 8. Bortman G. Presentación clínica y clasificación actual de la hipertensión arterial pulmonar. *Insuf Card* 2009; 4(1):27-32.
 9. Simonneau G, Robbins IM, Beghetti M, et al. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54: Suppl. 1: S43-S54.
 10. Bevacqua RJ, Perrone SV. Avances futuros en la hipertensión arterial pulmonar. *Insuf Card* 2013;8 (4): 185-190.
 11. Mazzei JA, Cánave JO, Perrone SV, Melero MJ, Scali JJ, Bortman G. Actualización en el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión pulmonar. *Medicina (Buenos Aires)* 2011; 71 (Supl. I): 1-48.
 12. Bichara VM, Ventura HO, Perrone SV. Hipertensión pulmonar: La mirada del especialista. *Insuf Card* 2011;6:65-79.
 13. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, et al. Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173: 1023-30.
 14. Appelbaum L, Yigla M, Bendayan D, et al. Primary pulmonary hypertension in Israel: a national survey. *Chest* 2001; 119: 1801-6.
 15. Hyduk A, Croft JB, Ayala C, Zheng K, Zheng ZJ, Mensah GA. Pulmonary hypertension surveillance-United States, 1980-2002. *MMWR Surveill Summ* 2005; 54: 1-28.
 16. Peacock AJ, Murphy NF, McMurray JJ, Caballero L, Stewart S. An epidemiological study of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2007;30: 104-9.
 17. Pass SE, Dusing ML. Current and emerging therapy for primary pulmonary hypertension. *Ann Pharmacother* 2002;36:1414-23.
 18. Mazzei JA, Cánave JO, Khoury M, Melero MJ. Mortalidad por hipertensión arterial pulmonar idiopática en la Argentina. *Insuf Card* 2015;10 (3): 111-118.
 19. Califf RM, Adams KF, McKenna WJ, Gheorghiadu M, Uretsky BF, McNulty SE, Darius H, et al. A randomized controlled trial of epoprostenol therapy for severe congestive heart failure: the Flolan International Randomized Survival Trial (FIRST). *Am Heart J* 1997;134:44-54.
 20. Kalra PR, Moon JC, Coats AJ. Do results of the ENABLE (Endothelin Antagonist Bosentan for Lowering Cardiac Events in Heart Failure) study spell the end for non-selective endothelin antagonism in heart failure? *Int J Cardiol* 2002;85:195-197.
 21. Lewis GD, Shah R, Shahzad K, Camuso JM, Pappagianopoulos PP, Hung J, et al. Sildenafil improves exercise capacity and quality of life in patients with systolic heart failure and secondary pulmonary hypertension. *Circulation* 2007;116:1555-1562.
 22. Mulder P, Richard V, Derumeaux G, Hogue M, Henry JP, Lallemand F, et al. Role of endogenous endothelin in chronic heart failure: effect of long-term treatment with an endothelin antagonist on survival, hemodynamics, and cardiac remodeling. *Circulation* 1997;96:1976-1982.
 23. Vachiéry JL, Adir Y, Barberà JA, Champion H, Coghlan JG, Cottin V, et al. Pulmonary Hypertension Due to Left Heart Diseases. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:D100-8.
 24. Tuder RM, Chacon M, Alger L, Wang J, Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, 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(3):367-374.
 25. Levy NT, Liapis H, Eisenberg PR, Botney MD, Trulock EP. Pathologic regression of primary pulmonary hypertension in left native lung following right single-lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001;20(3):381-384.
 26. Archer SL, Weir EK, Wilkins MR. The Basic Science of Pulmonary Arterial Hypertension for Clinicians: new concepts and experimental therapies. *Circulation* 2010; 121(18): 2045-2066.
 27. Das Gupta A, Bowman L, D'Arsigny CL, Archer SL. Soluble Guanylate Cyclase: A new therapeutic target for pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Clin Pharmacol Ther* 2015;97 (1): 88-102.
 28. Archer SL, Weir EK, Wilkins MR. Basic science of pulmonary arterial hypertension for clinicians: new concepts and experimental therapies. *Circulation* 2010; 121:2045-66.
 29. Ryan JJ, Archer SL. The right ventricle in pulmonary arterial hypertension: disorders of metabolism, angiogenesis and adrenergic signaling in right ventricular failure. *Circ Res* 2014; 115:176-88.
 30. Perrone SV. Estrategia terapéutica en el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar. *Insuf Card* 2009; 4(1):33-43.
 31. Mazzei JA. Hipertensión pulmonar en las enfermedades respiratorias crónicas. Prueba de marcha de 6 minutos: técnica y utilidad en el diagnóstico funcional, pronóstico y seguimiento. *Insuf Card* 2013;8(3): 125-133.
 32. Mazzei JA. Mecanismos fisiopatológicos involucrados y diagnóstico de la hipertensión arterial pulmonar. *Insuf Card* 2009; 4(1):3-10.
 33. Barst R, Gibbs J, Ghofrani A, Hoepfer MM, McLaughlin VV, Rubin LJ et al. Updated evidence-based treatment algorithm in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:S78-84.
 34. Galìè 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;30:394-403.
 35. Melero MJ. Estado actual de la hipertensión arterial pulmonar. *Insuf Card* 2009; 4(1):23-26.
 36. Naval N. Epidemiología de la hipertensión pulmonar. *Insuf Card* 2010;5(4):192-196.
 37. Michel T. Goodman And Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics. Edición 11ª. México. The McGraw-Hill.2006. p. 827.
 38. Ghofrani HA, et al. Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2013; 369:330-40.
 39. Mingorance C, Herrera MD, Álvarez De Sotomayor M. Mecanismos implicados en la disfunción endotelial asociada al envejecimiento. *Med Clin (Barc)* 2009;132(2):62-69.
 40. Hampl V, Archer SL, Nelson DP, Weir EK. Chronic EDRF inhibition and hypoxia: effects on pulmonary circulation and systemic blood pressure. *J App Physiol* 1993; 75:1748-57.
 41. Steudel W, 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.
 42. Stasch JP, Evgenov OV. Soluble guanylate cyclase stimulators in pulmonary hypertension. *Handb Exp Pharmacol* 2013; 218:279-313.
 43. Stasch JP, Pacher P, Evgenov OV. Soluble guanylate cyclase as an emerging therapeutic target in cardiopulmonary disease. *Circulation* 2011; 123:2263-73.
 44. Murad F. Shattuck Lecture. Nitric oxide and cyclic GMP in cell signaling and drug development. *N Engl J Med* 2006; 355:2003-11.
 45. Bryan NS, Bian K, Murad F. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. *Front Biosci* 2009; 14:1-18.
 46. Hofmann F, Feil R, Kleppisch T, Schlossmann J. Function of cGMP-dependent protein kinases as revealed by gene deletion. *Physiol Rev* 2006; 86:1-23.
 47. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995; 75:725-48.
 48. Archer SL, Huang JM, Hampl V, Nelson DP, Shultz PJ, Weir EK. Nitric oxide and cGMP cause vasorelaxation by activation of a charybdotoxin-sensitive K channel by cGMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91:7583-7.
 49. Xu W, et al. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension. *FASEB J* 2004; 18:1746-8.
 50. Schwappacher R, Kilic A, Kojonazarov B, Lang M, Diep T et al. A molecular mechanism for therapeutic effects of cGMP-elevating agents in pulmonary arterial hypertension. *J Biol Chem* 2013; 288(23): 16557-16566.

51. Pernow J, Jung C. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *Cardiovasc Res* 2013;98: 334-343.
52. Langle F, Roth E, Steininger R, Winkler S, Muhlbacher F. Arginase release following liver reperfusion. Evidence of hemodynamic action of arginase inhibitors. *Transplantation* 1995;59:1542-1549.
53. Morris CR, Gladwin MT, Kato GJ. Nitric oxide and arginine dysregulation: a novel pathway to pulmonary hypertension in hemolytic disorders. *Curr Mol Med* 2008;8: 620-632.
54. Watts JA, Marchick MR, Gellar MA, Kline JA. Up-regulation of arginase II contributes to pulmonary vascular endothelial cell dysfunction during experimental pulmonary embolism. *Pulm Pharmacol Ther* 2011;24:407-413.
55. Watts JA, Gellar MA, Fulkerson MB, Das SK, Kline JA. Arginase depletes plasma arginine and decreases pulmonary vascular reserve during experimental pulmonary embolism. *Pulm Pharmacol Ther* 2012;25:48-54.
56. Krotova K, Patel JM, Block ER, Zharikov S. Hypoxic upregulation of arginase II in human lung endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2010;299:C1541-C1548.
57. Xu W, Kaneko FT, Zheng S, Comhair SA, Janocha AJ, Goggans T et al. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension. *FASEB J* 2004;18:1746-1748.
58. Beyer J, Kolditz M, Ewert R, Rubens C, Opitz C, Schellong S et al. L-Arginine plasma levels and severity of idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Vasa* 2008;37: 61-67.
59. Chen B, Calvert AE, Cui H, Nelin LD. Hypoxia promotes human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation through induction of arginase. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009;297:L1151-L1159
60. Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34(9): 906-911.
61. Stuhlinger MC, et al. Asymmetric dimethyl L-arginine (ADMA) is a critical regulator of myocardial reperfusion injury. *Cardiovascular research* 2007; 75:417-25.
62. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2032-7.
63. Kielstein JT, et al. Asymmetrical dimethylarginine in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:1414-8.
64. Skoro-Sajer N, et al. Asymmetric dimethylarginine is increased in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176:1154-60.
65. Salvi E, et al. Genomewide association study using a high-density single nucleotide polymorphism array and case-control design identifies a novel essential hypertension susceptibility locus in the promoter region of endothelial NO synthase. *Hypertension* 2012; 59:248-55.
66. Parikh RV, et al. Increased levels of asymmetric dimethylarginine are associated with pulmonary arterial hypertension in HIV infection. *Aids* 2014; 28:511-9.
67. Mam V, Tanbe AF, Vitali SH, Arons E, Christou HA, Khalil RA. Impaired vasoconstriction and nitric oxide-mediated relaxation in pulmonary arteries of hypoxia- and monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 332:455-62.
68. Laursen JB, et al. Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation* 2001; 103:1282-8.
69. Roy B, Mo E, Vernon J, Garthwaite J. Probing the presence of the ligand-binding haem in cellular nitric oxide receptors. *Br J Pharmacol* 2008; 153:1495-504.
70. Schemuly RT, et al. Expression and function of soluble guanylate cyclase in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2008; 32:881-91.
71. Thoonen R, Buys E, Sips P, Nimmegeers S, Van den Hemel M, Hochepeid T, Van de Voorde J, Brouckaert P. Targeting the NO-cGMP pathway: phenotyping of NO-insensitive sGCbeta1 H105F knockin mice. *BMC Pharmacology* 2007, 7(Suppl 1): Poster 60.
72. Ahrens I, et al. Measuring oxidative burden and predicting pharmacological response in coronary artery disease patients with a novel direct activator of haem-free/oxidised sGC. *Atherosclerosis* 2011; 218:431-4.
73. Evgenov OV, et al. Soluble guanylate cyclase activator reverses acute pulmonary hypertension and augments the pulmonary vasodilator response to inhaled nitric oxide in awake lambs. *Circulation* 2004; 110:2253-9.
74. Dumitrascu R, et al. Activation of soluble guanylate cyclase reverses experimental pulmonary hypertension and vascular remodeling. *Circulation* 2006; 113:286-95.
75. Weissmann N, et al. The soluble guanylate cyclase activator HMR1766 reverses hypoxia-induced experimental pulmonary hypertension in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 297:L658-65.
76. Chester M, et al. Cinaciguat, a soluble guanylate cyclase activator, augments cGMP after oxidative stress and causes pulmonary vasodilation in neonatal pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011; 301:L755-64.
77. Lang M, et al. The soluble guanylate cyclase stimulator riociguat ameliorates pulmonary hypertension induced by hypoxia and SU5416 in rats. *PLoS one*. 2012; 7:e43433.
78. Friebe A, Mergia E, Dangel O, Lange A, Koesling D. Fatal gastrointestinal obstruction and hypertension in mice lacking nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104:7699-704.
79. Harteneck C, Koesling D, Söing A, Schultz G, Böhme E. Expression of soluble guanylyl cyclase. Catalytic activity requires two enzyme subunits. *FEBS Lett* 1990; 272: 221-223.
80. Zabel U, Häusler C, Weeger M, Schmidt H: Homodimerization of soluble guanylyl cyclase subunits. *J Biol Chem* 1999; 274: 18149-18152.
81. Nakane M, Arai K, Saheki S, Kuno T, Buechler W, Murad F. Molecular cloning and expression of cDNAs coding for soluble guanylate cyclase from rat lung. *J Biol Chem* 1990;265: 16841-16845.
82. Giuli G, Scholl U, Bulle F, Guellaen G. Molecular cloning of the cDNAs coding for the two subunits of guanylate cyclase due to alternative splicing. *FEBS Lett* 1992;304: 83-88.
83. Harteneck C, Wedel B, Koesling D, Malkewitz J, Böhme E, Schultz G. Molecular cloning and expression of a new a-subunit of soluble guanylyl cyclase. Interchangeability of the subunits of the enzyme. *FEBS Lett* 1991;292: 217-222.
84. Yu F, Warburton D, Wellington S, Danziger RS. Assignment of GUCIA2, the gene coding for the $\alpha 2$ subunit of soluble guanylyl cyclase, to position 11q21-q22 on human chromosome 11. *Genomics* 1996; 33: 334-336.
85. Yuen PS, Potter LR, Garbers DL. A new form of guanylyl cyclase is preferentially expressed in rat kidney. *Biochemistry* 1990;29: 10872-10878.
86. Budworth J, Meillerais S, Charles I, Powell K. Tissue distribution of human soluble guanylate cyclases. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;263: 696-701.
87. Zabel U, Weeger M, La M, Schmidt HHW. Human soluble guanylate cyclase: functional expression and revised isoenzyme family. *Biochem J* 1998;335: 51-57.
88. Russwurm M, Behrends S, Harteneck C, Koesling D. Functional properties of a naturally occurring isoform of soluble guanylyl cyclase. *Biochem J* 1998;335 (Pt 1): 125-30.
89. Zhao Y, Schelvis JP, Babcock GT, Marletta MA. Identification of histidine 105 in the $\beta 1$ subunit of soluble guanylate cyclase as the heme proximal ligand. *Biochemistry* 1998;37: 4502-4509.
90. Ignarro LJ. Haem-dependent activation of guanylate cyclase and cGMP formation by endogenous nitric oxide: a unique transduction mechanism for transcellular signalling. *Pharmacol Toxicol* 1990;67: 1-7.
91. Stone JR, Marletta MA. Soluble guanylate cyclase from bovine lung: activation with nitric oxide and carbon monoxide and spectral characterization of the ferrous and ferric states. *Biochemistry*

- 1994;33: 5636-5640.
92. Gilles-González MA, González G, Perutz MK, Kiger L, Marden MC, Poyart C. Heme-based sensors, exemplified by the kinase FixL, are a new class of heme protein with distinctive ligand binding and autoxidation. *Biochemistry* 1994;33 (26): 8067-73.
93. Liu Y, Ruoho AE, Rao VD, Hurley JD. Catalytic mechanism of the adenyllyl and guanylyl cyclases: Modeling and mutational analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94: 13414-13419.
94. Denninger JW, Marletta MA. Guanylate cyclase and the NO-cGMP signalling pathway. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411: 334-350.
95. Gruetter CA, Barry BK, McNamara DB, Gruetter DY, Kadowitz PJ, Ignarro LJ. Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and carcinogenic nitrosamine. *J Cyclic Nucleotide Protein Phosphor Res* 1979;5: 211-224.
96. Fleming I, Busse R. Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovasc Res* 1999;43 (3): 532-41.
97. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288: 373-376.
98. Mayer B, Hemmens B. Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *Trends Biochem Sci* 1997;22 (12): 477-81.
99. Mellion BT, Ignarro LJ, Myers CB et al. Inhibition of human platelet aggregation by *s*-nitrosothiols: heme-dependent activation of soluble guanylate cyclase and stimulation of cGMP accumulation. *Mol Pharmacol* 1983;23: 653-664.
100. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43: 109-142.
101. Allerston CK, von Delft F, Gileadi O. Crystal structures of the catalytic domain of human soluble guanylate cyclase. *PLoS one* 2013; 8:e57644.
102. Evgenov OV, Pacher P, Schmidt PM, Hasko G, Schmidt HH, Stasch JP. NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5:755-68.
103. Derbyshire ER, Marletta MA. Structure and regulation of soluble guanylate cyclase. *Annu Rev Biochem* 2012; 81:533-59.
104. Schmidt PM, Schramm M, Schroder H, Wunder F, Stasch JP. Identification of residues crucially involved in the binding of the heme moiety of soluble guanylate cyclase. *J Biol Chem* 2004; 279:3025-32.
105. Gileadi O. Structures of soluble guanylate cyclase: implications for regulatory mechanisms and drug development. *Biochem Soc Trans* 2014; 42:108-13.
106. Martin E, Berka V, Sharina I, Tsai AL. Mechanism of binding of NO to soluble guanylyl cyclase: implication for the second NO binding to the heme proximal site. *Biochemistry* 2012; 51:2737-46.
107. Cary SP, Winger JA, Derbyshire ER, Marletta MA. Nitric oxide signaling: no longer simply on or off. *Trends Biochem Sci* 2006; 31:231-9.
108. White AA, Crawford KM, Patt CS, Lad PJ. Activation of soluble guanylate cyclase from rat lung by incubation or by hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 1976; 251:7304-12.
109. Burke TM, Wolin MS. Hydrogen peroxide elicits pulmonary arterial relaxation and guanylate cyclase activation. *Am J Physiol* 1987; 252:H721-32.
110. Wolin MS, Burke TM. Hydrogen peroxide elicits activation of bovine pulmonary arterial soluble guanylate cyclase by a mechanism associated with its metabolism by catalase. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 143:20-5.
111. Peters JM, Franke WW, Kleinschmidt JA. Distinct 19 S and 20 S subcomplexes of the 26 S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm. *J Biol Chem* 1994;269 (10): 7709-18.
112. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky SL, Darnell J. *Molecular cell biology*. 5th edición. Ed: W.H. Freeman and CO. Nueva York. 2004. Pp: 66-72. ISBN 0-7167-4366-3.
113. Ciechanover A, Hod Y, Hershko A. A heat-stable polypeptide component of an ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1978;81(4): 1100-1105.
114. Ciechanover A. Early work on the ubiquitin proteasome system. *Cell Death Differ* 2000;12 (9): 1167-77.
115. Wang J, Maldonado MA. The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases. *Cell Mol Immunol* 2006;3 (4): 255.
116. Meurer S, et al. Nitric oxide-independent vasodilator rescues heme-oxidized soluble guanylate cyclase from proteasomal degradation. *Circ Res* 2009; 105:33-41.
117. Stasch JP, Hobbs AJ. NO-independent, haem-dependent soluble guanylate cyclase stimulators. *Handb Exp Pharmacol* 2009;277-308.
118. Lamothe M, Chang FJ, Balashova N, Shirokov R, Beuve A. Functional characterization of nitric oxide and YC-1 activation of soluble guanylyl cyclase: structural implication for the YC-1 binding site? *Biochemistry* 2004; 43:3039-48.
119. Stasch JP, et al. NO-independent regulatory site on soluble guanylate cyclase. *Nature* 2001; 410:212-5.
120. Chen Z, et al. An essential role for mitochondrial aldehyde dehydrogenase in nitroglycerin bioactivation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:12159-64.
121. Ko FN, Wu CC, Kuo SC, Lee FY, Teng CM. YC-1, a novel activator of platelet guanylate cyclase. *Blood* 1994; 84:4226-33.
122. Nossaman B, Pankey E, Kadowitz P. Stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: review and potential therapeutic indications. *Crit Care Res Pract* 2012; 2012:290805.
123. Friebe A, Koesling D. Mechanism of YC-1-induced activation of soluble guanylyl cyclase. *Mol Pharmacol* 1998; 53:123-7.
124. Purohit R, et al. YC-1 binding to the beta subunit of soluble guanylyl cyclase overcomes allosteric inhibition by the alpha subunit. *Biochemistry* 2014; 53:101-14.
125. Friebe A, Mullershausen F, Smolenski A, Walter U, Schultz G, Koesling D. YC-1 potentiates nitric oxide- and carbon monoxide-induced cyclic GMP effects in human platelets. *Mol Pharmacol* 1998; 54:962-7.
126. Schmidt P, Schramm M, Schroder H, Stasch JP. Mechanisms of nitric oxide independent activation of soluble guanylyl cyclase. *Eur J Pharmacol* 2003; 468:167-74.
127. Stasch JP, et al. Pharmacological actions of a novel NO-independent guanylyl cyclase stimulator, BAY 41-8543: in vitro studies. *Br J Pharmacol* 2002; 135:333-43.
128. Selwood DL, et al. Synthesis and biological evaluation of novel pyrazoles and indazoles as activators of the nitric oxide receptor, soluble guanylate cyclase. *J Med Chem* 2001; 44:78-93.
129. Miller LN, et al. A-350619: a novel activator of soluble guanylyl cyclase. *Life Sci* 2003; 72:1015-25.
130. Stasch JP, et al. NO- and haem-independent activation of soluble guanylyl cyclase: molecular basis and cardiovascular implications of a new pharmacological principle. *Br J Pharmacol* 2002; 136:773-83.
131. Wunder F, Stasch JP, Hutter J, Alonso-Alija C, Huser J, Lohrmann E. A cell-based cGMP assay useful for ultra-high-throughput screening and identification of modulators of the nitric oxide/cGMP pathway. *Anal Biochem* 2005; 339:104-12.
132. Schindler U, et al. Biochemistry and pharmacology of novel anthranilic acid derivatives activating heme-oxidized soluble guanylyl cyclase. *Mol Pharmacol* 2006; 69:1260-8.
133. Zhou Z, et al. Soluble guanylyl cyclase activation by HMR-1766 (ataciguat) in cells exposed to oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295:H1763-71.
134. Hoffmann LS, Schmidt PM, Keim Y, Schaefer S, Schmidt HH, Stasch JP. Distinct molecular requirements for activation or stabilization of soluble guanylyl cyclase upon haem oxidation-induced degradation. *Br J Pharmacol* 2009; 157:781-95.
135. Pankey EA, et al. Pulmonary and systemic vasodilator responses to the soluble guanylyl cyclase activator, BAY 60-2770, are not

- dependent on endogenous nitric oxide or reduced heme. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 300:H792-802.
136. Hwang TL, Wu CC, Guh JH, Teng CM. Potentiation of tumor necrosis factor-alpha expression by YC-1 in alveolar macrophages through a cyclic GMP-independent pathway. *Biochem Pharmacol* 2003; 66:149-56.
137. Galle J, et al. Effects of the soluble guanylyl cyclase activator, YC-1, on vascular tone, cyclic GMP levels and phosphodiesterase activity. *Br J Pharmacol* 1999; 127:195-203.
138. Deruelle P, Balasubramaniam V, Kunig AM, Seedorf GJ, Markham NE, Abman SH. BAY 41-2272, a direct activator of soluble guanylate cyclase, reduces right ventricular hypertrophy and prevents pulmonary vascular remodeling during chronic hypoxia in neonatal rats. *Biol Neonate* 2006; 90:135-44.
139. Freitas CF, Morganti RP, Annichino-Bizzacchi JM, De Nucci G, Antunes E. Effect of BAY 41-2272 in the pulmonary hypertension induced by heparin-protamine complex in anaesthetized dogs. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34:10-4.
140. Straub A, Benet-Buckholz J, Fröde R, Kern A, Kohlsdorfer C, Schmitt P, Schwarz T, Siefert HM, Stasch JP. Metabolites of orally active NO-independent pyrazolopyridine stimulators of soluble guanylate cyclase. *Bioorg Med Chem* 2002;10(6):1711-7.
141. Badejo AM Jr, et al. Pulmonary and systemic vasodilator responses to the soluble guanylyl cyclase stimulator, BAY 41-8543, are modulated by nitric oxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299:H1153-9.
142. Lundgren J, Kylhammar D, Hedelin P, Radegran G. sGC stimulation totally reverses hypoxia-induced pulmonary vasoconstriction alone and combined with dual endothelin-receptor blockade in a porcine model. *Acta physiol* 2012; 206:178-94.
143. Pankey EA, et al. Effect of chronic sodium nitrite therapy on monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Nitric oxide* 2012; 27:1-8.
144. Evgenov OV, et al. Inhaled agonists of soluble guanylate cyclase induce selective pulmonary vasodilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 176:1138-45.
145. Mittendorf J, et al. Discovery of riociguat (BAY 63-2521): a potent, oral stimulator of soluble guanylate cyclase for the treatment of pulmonary hypertension. *ChemMedChem* 2009; 4:853-65.
146. Schwappacher R, Kilic A, Kojonazarov B, Lang M, Diep T et al. A molecular mechanism for therapeutic effects of cGMP-elevating agents in pulmonary arterial hypertension. *J Biol Chem* 2013; 288(23): 16557-16566.
147. Vanegas AL, Vásquez GM. Smad y otros blancos terapéuticos en esclerodermia. *Rev Colomb Reumatol* 2011;18(4): 285-294.
148. Sharkovska Y, et al. Nitric oxide-independent stimulation of soluble guanylate cyclase reduces organ damage in experimental low-renin and high-renin models. *J Hypertens* 2010; 28:1666-75.
149. Geschka S, et al. Soluble guanylate cyclase stimulation prevents fibrotic tissue remodeling and improves survival in salt-sensitive Dahl rats. *PloS one*. 2011; 6:e21853.
150. Ott IM, et al. Effects of stimulation of soluble guanylate cyclase on diabetic nephropathy in diabetic eNOS knockout mice on top of angiotensin II receptor blockade. *PloS one* 2012; 7:e42623.
151. Methner C, et al. Riociguat reduces infarct size and post-infarct heart failure in mouse hearts: insights from MRI/PET imaging. *PloS one* 2013; 8:e83910.
152. Frey R, Muck W, Unger S, Artmeier-Brandt U, Weimann G, Wensing G. Single-dose pharmacokinetics, pharmacodynamics, tolerability, and safety of the soluble guanylate cyclase stimulator BAY 63-2521: an ascending-dose study in healthy male volunteers. *J Clin Pharmacol* 2008; 48:926-34.
153. Grimminger F, et al. First acute haemodynamic study of soluble guanylate cyclase stimulator riociguat in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2009; 33:785-92.
154. Ghofrani HA, Grimminger F, Grünig E, et al. Predictors of long-term outcomes in patients treated with riociguat for pulmonary arterial hypertension: data from the PATENT-2 open-label, randomised, long-term extension trial. *Lancet Respir Med* 2016;4:361-71.
155. Ghofrani HA, et al. Riociguat for the treatment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 2013; 369:319-29.
156. Ghofrani HA, et al. Riociguat for chronic thromboembolic pulmonary hypertension and pulmonary arterial hypertension: a phase II study. *Eur Respir J* 2010; 36:792-9.
157. Galie N, Neuser D, Muller K, Scalise AV, Grunig E. A Placebo-Controlled, Double-Blind Phase II Interaction Study To Evaluate Blood Pressure Following Addition Of Riociguat To Patients With Symptomatic Pulmonary Arterial Hypertension (PAH) Receiving Sildenafil (PATENT PLUS). *Am J Resp Crit Care* 2013; 187:A3530.
158. Frey R, Muck W, Kirschbaum N, Kratzschmar J, Weimann G, Wensing G. Riociguat (BAY 63-2521) and warfarin: a pharmacodynamic and pharmacokinetic interaction study. *J Clin Pharmacol* 2011; 51:1051-60.
159. Bonderman D, et al. Riociguat for patients with pulmonary hypertension caused by systolic left ventricular dysfunction: a phase IIb double-blind, randomized, placebo-controlled, dose-ranging hemodynamic study. *Circulation* 2013; 128:502-11.
160. Simonneau G, D'Armini AM, Ghofrani HA, Grimminger F, Hoepfer MM, Jansa P, Kim NH, Wang C, Wilkins MR, Fritsch A, Davie N, Colorado P, Mayer E. Riociguat for the treatment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: a long-term extension study (CHEST-2). *Eur Respir J* 2015;45(5):1293-1302.
161. Archer SL. Riociguat for pulmonary hypertension-a glass half full. *N Engl J Med* 2013; 369:386-8.
162. Rahnavardi M, Yan TD, Cao C, Valley MP, Bannon PG, Wilson MK. Pulmonary thromboendarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension : a systematic review. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 17:435-45.
163. Rickert V, Haefeli WE, Weiss J. Pharmacokinetic interaction profile of riociguat, a new soluble guanylate cyclase stimulator, in vitro. *Pulm Pharmacol Ther* 2014; 28:130-7.
164. Bevacqua RJ, Bortman G, Perrone SV. Antagonistas de los receptores de la endotelina para la hipertensión arterial pulmonar. *Insuf Card* 2013;8(2): 77-94.
165. Grignola JC, Gómez Sánchez MA. Bosentan: rol en el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar. *Insuf Card* 2009; 4(1):11-22.
166. Kaplinsky EJ. Utilidad del bosentan en la hipertensión pulmonar tromboembólica crónica: Estudio BENEFIT. *Insuf Card* 2008;3(2):63-64.
167. Thierer J. Importancia del diagnóstico precoz en la hipertensión pulmonar. *Insuf Card* 2009;4(2):52-58.