

# Hipertensión pulmonar: señalización mediada por canales de calcio, dianas farmacológicas presentes y futuras

BRUNO ACUÑA<sup>1,a</sup>, JUAN BELLO-ZEPEDA<sup>1,a</sup>,  
GERMÁN MONTENEGRO<sup>1,a</sup>, ROBERTO V. REYES<sup>1,b</sup>

## Pulmonary hypertension: calcium channel-mediated signaling, present and future pharmacological targets

*Pulmonary arterial hypertension is characterized by increased mean pulmonary arterial pressure, resistance, and pathological remodeling of pulmonary arteries. Calcium entry from the extracellular to the intracellular space through voltage-dependent and -independent channels play a major role in the increase of contractility of pulmonary arteries and in the loss of regulation of the proliferative behavior of the cells from the different layers of the pulmonary arterial wall. In doing so, these channels contribute to enhanced vasoconstriction of pulmonary arteries and their pathological remodeling. This review aims to summarize the evidence obtained from animal and cellular models regarding the involvement of the main plasma membrane calcium channels in these key pathophysiological processes for pulmonary arterial hypertension, discussing the potential value as pharmacological targets for therapies in the present and the future.*

(Rev Med Chile 2023; 151: 753-763)

**Key words:** Hypertension, Pulmonary; Vasoconstriction; Calcium Channels.

### RESUMEN

*La hipertensión arterial pulmonar se caracteriza por una presión arterial pulmonar media y resistencia vascular pulmonar elevadas y remodelado patológico de las arterias pulmonares. La entrada de calcio desde el espacio extracelular al intracelular a través de canales dependientes e independientes de voltaje juega un rol fundamental en el aumento de la contractilidad de las arterias pulmonares y la pérdida de regulación del comportamiento proliferativo de las células de las distintas capas de la pared de las arterias pulmonares. De esta manera, estos canales contribuyen con la vasoconstricción exacerbada de las arterias pulmonares y a su remodelado patológico. El objetivo de esta revisión es recapitular la evidencia obtenida desde modelos celulares y animales respecto a la contribución de los principales canales de calcio de membrana plasmática en estos mecanismos fisiopatológicos claves en el desarrollo de la hipertensión pulmonar, discutiendo su valor potencial como diana farmacológica para terapias presentes y futuras.*

**Palabras clave:** Hipertensión Pulmonar; Vasoconstricción; Canales de Calcio.

<sup>1</sup>Unidad de Fisiología y Fisiopatología Perinatal, Programa de Fisiopatología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

<sup>a</sup>Estudiante de Medicina. Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

<sup>b</sup>Bioquímico, MSc, PhD.

Financiamiento: Proyectos Fondecyt 1210504 y Puente ICBM.

Recibido el 10 de diciembre de 2021, aceptado el 16 de mayo de 2023.

Correspondencia a:  
Roberto V. Reyes,  
Avenida Salvador 486,  
Programa de Fisiopatología,  
Instituto de Ciencias Biomédicas,  
Facultad de Medicina Campus  
Oriente, Providencia.  
vreyes@uchile.cl  
virreyc@gmail.com

### Criterios diagnósticos, clasificación, generalidades

La hipertensión pulmonar (HP) es un aumento de presión arterial pulmonar media (PAPm) que ocurre en enfermedades de etiología diversa que incluyen: hipertensión arterial pulmonar, afecciones del ventrículo izquierdo, enfermedad pulmonar crónica, obstrucción arterial pulmonar y causas misceláneas<sup>1</sup>, permitiendo su clasificación en 5 grupos con subgrupos según la Tabla 1<sup>2</sup>. Su diagnóstico requería demostrar PAPm  $\geq$  25 mmHg en reposo mediante cateterismo cardíaco derecho<sup>2</sup>. El Sexto Simposio Mundial de Hipertensión Pulmonar propuso establecer PAPm de 20 mmHg como corte, calculado a partir de 2 desviaciones estándar de la media, y resistencia vascular pulmonar (RVP)  $>$  3 unidades Wood, como complemento para discriminar etiologías de origen vascular y extravascular<sup>2</sup>.

Existen modelos animales y celulares, que buscan emular a los grupos clínicos de HP, que se resumen en la Tabla 2<sup>3-7</sup>, y que han sido utilizados para identificar mecanismos implicados en la etiología y progresión de la enfermedad. La disfunción endotelial pulmonar con menor producción de vasodilatadores como prostaciclina y óxido nítrico, y mayor producción de vasoconstrictores como endotelina-1, forma parte de los mecanismos clásicos identificados en la fisiopatología de la enfermedad, contribuyendo a la vasoconstricción y el remodelado arterial patológico, proporcionando alternativas terapéuticas mediante fármacos moduladores de estas vías<sup>8</sup>. Un factor común a estas vías de señalización es su capacidad de modificar directa- o indirectamente la concentración de  $Ca^{2+}$  citosólico ( $[Ca^{2+}]_i$ ) y la sensibilidad contráctil del músculo liso vascular a  $Ca^{2+}$ <sup>9</sup>. El potencial terapéutico de las vías emergentes que modifican  $[Ca^{2+}]_i$  no ha sido clínicamente explorado.

### Vías de modificación de $Ca^{2+}$ en músculo liso arterial pulmonar

La contribución más importante al  $[Ca^{2+}]_i$  del músculo liso vascular está dada por entrada desde el espacio extracelular mediante canales de  $Ca^{2+}$  de membrana plasmática dependientes o independientes de voltaje<sup>10</sup>. Las células músculo liso (CML) arterial pulmonar expresan canales tipo L activados por alto voltaje y tipo T activados

por bajo voltaje relacionados con la contracción de estas células, en respuesta a despolarización y acetilcolina respectivamente (Figura 1). Los canales tipo L están compuestos por una subunidad  $\alpha 1$  que forma el poro permeable a  $Ca^{2+}$ : existen cuatro isoformas  $\alpha 1$  conocidas como Cav1.1, Cav1.2, Cav1.3 y Cav1.4. Estos canales pueden presentar subunidades auxiliares  $\alpha 2$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  que regulan sus propiedades biofísicas. Los canales tipo T están constituidos por subunidades  $\alpha 1$  cuyas isoformas son CaV3.1, CaV3.2 y CaV3.3 y no presentan subunidades auxiliares. Todas las subunidades CaV presentan una estructura de 6 segmentos de transmembrana y contienen un dominio cargado como sensor de voltaje. Solo las CaV1 presentan afinidad por los antagonistas orgánicos de  $Ca^{2+}$  clásicos utilizados en terapias<sup>10</sup>.

La entrada de  $Ca^{2+}$  independiente de voltaje puede ser mediada por receptores (ROCE del inglés "receptor operated  $Ca^{2+}$  entry") o por depósito (SOCE por "store operated  $Ca^{2+}$  entry"). Los canales responsables de la ROCE son activados por receptores acoplados a la señalización por diacilglicerol (DAG) o ácido araquidónico (AA), como los receptores ETa y ETb de endotelina-1 o el receptor sensor de calcio (CaSR) mientras que los canales responsables del SOCE son activados por disminución del contenido intraluminal de  $Ca^{2+}$  del retículo sarcoplasmático, a medida que este es liberado desde receptores de inositol-<sup>1,4,5</sup> trisfosfato (IP3R) o receptores de ryanodina (RyR)<sup>10,11</sup>. SOCE y ROCE participan de la respuesta de la circulación pulmonar a hipoxia y agonistas<sup>3,12</sup>.

El poro de los canales activados por receptor está formado por proteínas TRPC, ya que casi todas ellas, en especial TRPC3 y 6, son activadas por DAG, o por proteínas Orai3 activables por AA<sup>3,13</sup>. En los canales activados por depósito, las proteínas Orai1 y Stim1 que forman el poro en la membrana plasmática y el sensor de  $Ca^{2+}$  del retículo sarcoplasmático respectivamente. La disminución del  $Ca^{2+}$  del retículo sarcoplasmático promueve la oligomerización y redistribución de Stim1 a regiones cercanas a la membrana plasmática, favoreciendo el contacto con Orai1 y su activación, generando una corriente de entrada selectiva para  $Ca^{2+}$  denominada corriente de  $Ca^{2+}$  activada por liberación de  $Ca^{2+}$ . En CML y células endoteliales (CE) arteriales pulmonares, esta corriente inicia el reclutamiento de subunidades TRPC, principalmente TRPC1, amplifica la entrada de  $Ca^{2+}$  y

**Tabla 1. Clasificación clínica de hipertensión pulmonar****1. Hipertensión pulmonar arterial (HPA)**

- a. Idiopática
- b. Heredable
- c. Inducido por drogas y toxinas
- d. Asociado a:
  - i. Enfermedades de tejido conectivo
  - ii. Infección por VIH
  - iii. Hipertensión portal
  - iv. Cardiopatía congénita
  - v. Esquistosomiasis
- e. HPA que responde a largo plazo a bloqueadores de canales de calcio
- f. HPA con características evidentes de compromiso venoso/capilar (Enfermedad pulmonar veno-oclusiva, hemangiomas pulmonar capilar)
- g. Hipertensión pulmonar persistente del recién nacido

**2. Hipertensión pulmonar causada por enfermedades de corazón izquierdo**

- a. Hipertensión pulmonar causada por insuficiencia cardiaca con fracción de eyección preservada del ventrículo izquierdo
- b. Hipertensión pulmonar causada por insuficiencia cardiaca con fracción de eyección disminuida del ventrículo izquierdo
- c. Enfermedad valvular
- d. Condiciones cardiovasculares congénitas/adquiridas que conducen a HP post-capilar

**3. Hipertensión pulmonar causada por enfermedad pulmonar y/o hipoxia**

- a. Enfermedad pulmonar obstructiva
- b. Enfermedad pulmonar restrictiva
- c. Enfermedad pulmonar con patrón mixto restrictivo y obstructivo
- d. Hipoxia sin enfermedad pulmonar
- e. Anomalías del desarrollo pulmonar

**4. Hipertensión pulmonar tromboembólica crónica y otras obstrucciones arteriales pulmonares**

- a. Hipertensión pulmonar tromboembólica crónica
- b. Otras obstrucciones arteriales pulmonares
  - i. Angiosarcoma
  - ii. Otros tumores intravasculares
  - iii. Arteritis
  - iv. Estenosis congénitas de las arterias pulmonares
  - V. Parasitosis (hidatidosis)

**5. Hipertensión pulmonar de origen no clarificado y/o multifactorial**

- a. Enfermedades hematológicas: anemia hemolítica crónica, desórdenes mieloproliferativos, esplenectomía
- b. Enfermedades sistémicas y metabólicas
- c. Otros: microangiopatía pulmonar tumoral trombótica, mediastinitis fibrosante, insuficiencia renal crónica (con/sin diálisis), hipertensión pulmonar segmentaria
- d. Cardiopatía congénitas complejas

Adaptado desde Simonneau, G., Montani, D., et al. 2019 Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2019, 53(1), 1801913. <https://doi.org/10.1183/13993003.01913-2018>

Tabla 2. Modelos animales de hipertensión pulmonar

Grupo clínico que emula	Modelos animales de hipertensión pulmonar más utilizados	Autor
1 y 3	Exposición a hipoxia crónica o crónica intermitente en rata, ratón, cobayo, cerdo y oveja entre otros. Estos modelos presentan vasoconstricción y remodelado cardiopulmonar caracterizado por muscularización de arteriolas pulmonares, hiperplasia medial y deposición de matriz extracelular, con una hipertensión pulmonar y la hipertrofia ventricular derecha que suelen ser moderadas, y que varían dependiendo de la especie	3,4
4	Obstrucción vascular en perros, cerdos, ratas y ovejas siendo modelos que representan embolia de arterias pulmonares causadas por la administración de microesferas sintéticas	5
1	Ligadura de arteria pulmonar en ratones, ratas y cabra que conduce a una progresiva estenosis de las arterias pulmonares y una hipertrofia del ventrículo derecho	5
1	Tratamiento con monocrotalina en perro, cerdo, rata y oveja, caracterizado por remodelado vascular, incremento de la muscularización, inflamación vascular e hipertrofia del ventrículo derecho	5
4	Tratamiento con bleomicina en ratón, conejo y ratas, provocando fibrosis e inflamación pulmonares, y muscularización arterial siendo útil para el estudio de hipertensión pulmonar en enfermedades intersticiales pulmonares	5
1	Knockout para BMPRII en ratón, ocasionando incremento en el grosor de la capa media muscular y muscularización de arterias pequeñas arterias pulmonares	6
1 y 3	SU5416 más hipoxia crónica en ratones y rata, caracterizado por un bloqueo de VEGFR-2 en conjunto de una hipoxia crónica que conduce a un desarrollo de hipertensión pulmonar con lesiones plexiformes	5,7

genera un incremento sostenido conocido como SOCE<sup>3,10,14,15</sup> (Figura 1). Proteínas homólogas a Stim1, Orail y TRPC1 pueden generar entradas de Ca<sup>2+</sup> con otras características al asociarse con las primeras<sup>3,10,12</sup>. Stim1 además puede inhibir a CaV1.2 y CaV3.1 en algunos tipos celulares, determinando la abundancia relativa de estas vías de calcio. No está claro si este mecanismo opera en la circulación pulmonar<sup>16</sup>.

### Canales de calcio y vasoconstricción

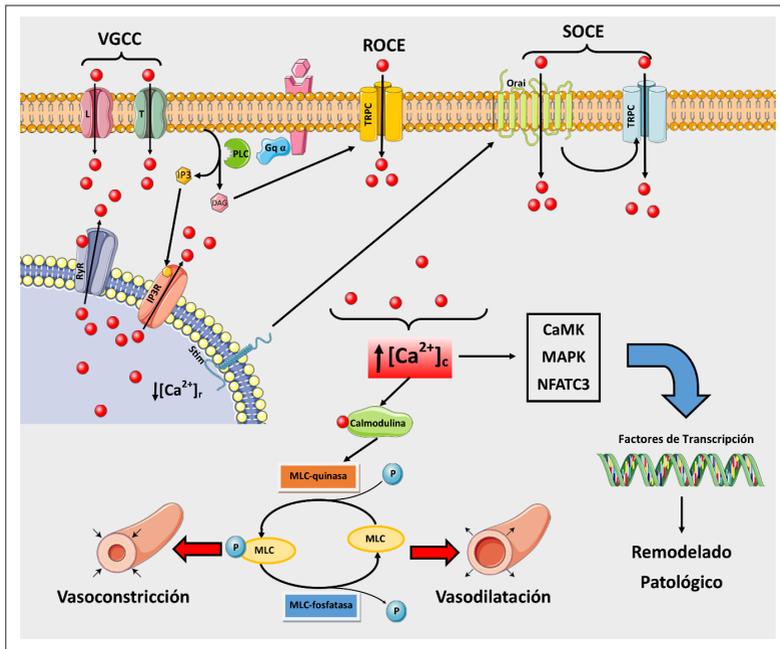
La tensión del músculo liso vascular depende de la fosforilación de la cadena ligera de miosina (MLC20) en serina 19<sup>17</sup>, determinada por el balance de actividad entre la quinasa (MLC-quinasa) que fosforila generando vasoconstricción y la fosfatasa (MLC-fosfatasa) que desfosforila generando vasodilatación<sup>18</sup>. MLC-quinasa depende de Ca<sup>2+</sup> y calmodulina, mientras que MLC-fosfatasa depende de interacciones con dos reguladores proteicos conocidos como MYPT1 y CPI17. La tensión desarrollada se modula por [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> y MLC-quinasa y la sensibilidad de la maquinaria contráctil a Ca<sup>2+</sup>, por medio de MLC-fosfatasa y sus reguladores proteicos<sup>19,20</sup> (Figura 1).

La hipoxia es un factor de riesgo de HP, ya

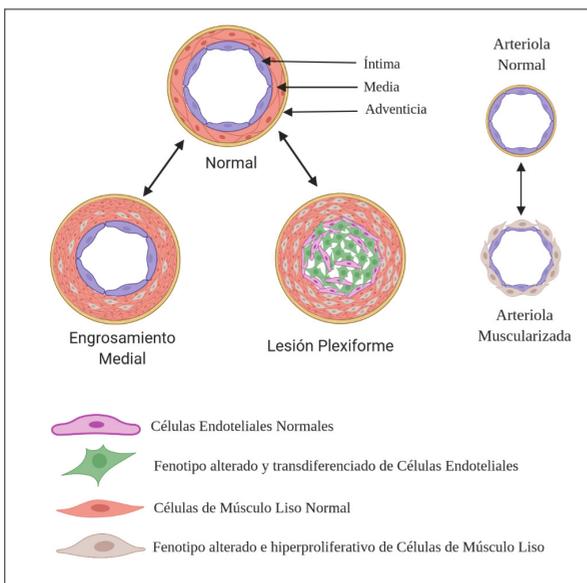
que constituye un estímulo vasoconstrictor y mitogénico capaz de originar algunas formas de HP, como las del grupo 3 de la clasificación general (Tabla 1), pero también está presente en otras formas de HP de etiología distinta como la hipertensión pulmonar persistente del recién nacido y la hipertensión arterial pulmonar (HAP) idiopática pertenecientes al grupo 1. En esta última, poco más del 50% de los pacientes son hipoxémicos, y esta condición contribuye a la progresión de la enfermedad asociándose a peor sobrevida<sup>21,22</sup>.

La vasoconstricción pulmonar hipóxica (VPH) es una contracción rápida de las arterias pulmonares en hipoxia, que aumenta la RVP en 2 a 5 minutos, y que revierte cuando se restablece la normoxia. Este mecanismo, presente en la vida fetal y postnatal, es independiente de factores neurales y humorales y resulta en aumento de PAPm y RVP en diversas formas de HP<sup>23,24</sup>.

La magnitud de la VPH aumenta con la hipoxia crónica en especies sin historia evolutiva en altura como las ovejas, pero no se modifica o está atenuada en especies que han evolucionado en altura como llamas, Yaks y humanos nativos del Tíbet, sugiriendo que la regulación a la baja de este mecanismo protege de los aumentos de PAPm excesivos y mejora la tolerancia a hipoxia



**Figura 1.** Canales de calcio, vasoconstricción y remodelado pulmonar. El calcio entra al músculo liso mediante canales tipo T, tipo L y los SOCE, produciendo un aumento del calcio intracelular. Los canales tipo T y L se activan por despolarización. El vaciamiento de los depósitos de calcio intracelulares del retículo sarcoplásmico favorece el contacto de Stim1 con Orai1 y las subunidades TRPC activando la SOCE. Receptores acoplados a proteína G generan IP3 y DAG, este último también activa otras subunidades TRPC estimulando ROCE. El aumento de calcio intracelular a través de estas vías puede activar calmodulina, y consecuentemente, la MLC-quinasa, promoviendo el estado fosforilado de la MLC y vasoconstricción, lo que aumenta la RVP y la PAPm, por otro lado, MLC fosfatasa, promueve la desfosforilación y la vasodilatación. El incremento de calcio también activar vías de señalización proliferativas como CaMK, MAPK y NFATC3, lo que resulta en la activación de la expresión de genes asociados al remodelado patológico. Creado con Biorender. Elaboración propia. SOCE: Store operated calcium entry; IP3: Inositoltrifosfato; DAG: Diacilglicerol; ROCE: Receptor operated calcium entry; MLC-quinasa: Cadena ligera de miosina; RVP: Resistencia vascular pulmonar; PAPm: Presión arterial pulmonar media; MLC-fosfatasa: Cadena ligera de miosina.



**Figura 2.** Remodelado arterial en hipertensión arterial pulmonar. El remodelado en la hipertensión arterial pulmonar puede presentarse como engrosamiento medial, lesión plexiforme y muscularización de arteriolas precapilares. El engrosamiento se debería a la hiperplasia de las células del músculo liso fenotípicamente alteradas e hiperproliferativas. La lesión plexiforme está compuesta por células endoteliales fenotípicamente alteradas transdiferenciadas y resistentes a la apoptosis. La muscularización es la formación de nuevas capas musculares en arterias distales pobremente musculares o no musculares. El cambio de células del músculo liso entre un fenotipo proliferativo y no proliferativo puede atribuirse a plasticidad celular, lo que sugiere que esta forma de remodelado vascular (hiperplasia medial y muscularización) puede ser reversible. El remodelado irreversible estaría asociado con el deterioro de la des-regulación apoptótica de la célula endotelial y disfunción endotelial, con participación de este fenotipo alterado y transdiferenciado de célula endotelial (lesión plexiforme). Adaptado de (33). Creado con BioRender.com

hipobárica, disminuyendo complicaciones como el edema pulmonar de altura<sup>24</sup>.

En pulmón aislado de ratón adulto, el bloqueo de canales tipo L con nifedipino atenúa significativamente la VPH mientras que el bloqueo de canales tipo T con TTA-A2 solo reduce levemente el tono vascular pulmonar basal sin modificar la contracción a hipoxia aguda<sup>25</sup>. Sin embargo, los canales tipo L y T contribuyen a la vasoconstricción pulmonar en respuesta a despolarización y agonistas de tromboxano<sup>26</sup>.

Los canales activados por depósito y por receptor contribuyen al aumento de  $Ca^{2+}$  en hipoxia aguda, a la VPH, y a la contracción por agonistas. El bloqueo de SOCE con  $La^{3+3n}$ , 2-APB o SKF-96365, de ROCE por inhibición farmacológica de TRPC6 con BI-749327 o la supresión génica de *Orai1*, *Stim1*, *TRPC1* o *TRPC6* atenúan el aumento de  $[Ca^{2+}]_i$  y la respuesta contráctil a endotelina-1 e hipoxia en miocitos, arterias pulmonares y pulmón aislado de roedores y ovejas, mientras que la asociación funcional de algunas de estas proteínas aumenta en células hipóxicas<sup>25,27,28,29,30,31</sup>. Además, existe VPH aumentada en ovejas criadas en altura, correlacionando con mayor expresión y función de estos canales<sup>30</sup>.

La regulación de la sensibilidad contráctil a  $Ca^{2+}$  es una estrategia fisiológica relevante en la respuesta a hipoxia aguda y crónica<sup>20</sup>. En hipoxia, PKC fosforila a IP3R, acelera la liberación de  $Ca^{2+}$  desde depósitos intracelulares y potencia la SOCE generando un feedback positivo entre control de  $[Ca^{2+}]_i$  y sensibilidad a  $Ca^{2+}$  de la maquinaria contráctil<sup>32</sup>.

### Canales de calcio y remodelado arterial pulmonar

El remodelado arterial pulmonar es un engrosamiento de la pared que genera reducción de distensibilidad y flujo sanguíneo pulmonar con aumento de RVP. Este proceso puede volverse irreversible causando un aumento sostenido de PAPm y un deterioro progresivo de la condición del paciente<sup>33</sup>.

Las tres capas de la pared de los vasos sanguíneos se engrosan debido a hiperplasia del tipo celular predominante en cada una de ellas y por aumento de la síntesis de proteínas de matriz extracelular, colágeno, elastina y fibronectina. La hiperplasia medial es el rasgo más prominente, y se

observa de manera consistente en la mayor parte de las ramas del árbol arterial pulmonar, desde las menos a las más distales, y menos frecuentemente en venas<sup>33</sup>.

El origen y las características de las células responsables del remodelado puede variar y ser determinante en la gravedad e irreversibilidad de las alteraciones histológicas en los vasos pulmonares.

Por una parte, hay engrosamiento medial dado por CML que poseen plasticidad y que frente a hipoxia prolongada, entre otros estímulos, cambian de fenotipo quiescente a proliferativo provocando un remodelado reversible, visto en presentaciones más leves de la patología en modelos experimentales animales<sup>7,34,35</sup>.

Por otra parte, el proceso de "muscularización" produce formación de nuevas capas musculares en arterias precapilares distales, debido a migración y diferenciación de células precursoras, como pericitos y CML, hacia CML hiperproliferativa, y a transdiferenciación de fibroblastos a miofibroblastos, un fenotipo híbrido con potencial proliferativo y reducida respuesta a estímulos vasodilatadores. Existe controversia acerca de cuán reversible es este proceso<sup>33</sup>.

Una tercera forma de presentación son las lesiones plexiformes que presentan un conjunto de CE hiperproliferativas y desorganizadas rodeadas de un estroma de miofibroblastos. Se originan por una transición endotelio mesenquimática (TEM), en que algunas CE pulmonares entran en apoptosis, generando señales que propician la selección y sobrevivencia de un fenotipo hiperproliferativo resistente a la apoptosis. Algunas de estas CE alteradas transdiferencian a miofibroblastos, perdiendo marcadores de endotelio y adquiriendo marcadores de músculo liso como  $\alpha$ -actina<sup>33,35,36</sup>. Las lesiones plexiformes no suelen revertir, relacionándose con estadios más graves de esta patología<sup>33</sup>. Estos mecanismos no son excluyentes y pueden presentarse de manera concomitante (Figura 2).

La entrada de calcio a través de canales dependientes e independientes de voltaje contribuye a la proliferación, aunque la evidencia del rol de estos últimos en remodelado arterial es mucho mayor<sup>37</sup>.

La hipoxia crónica estimula la expresión de subunidades *CaV1.2* de canales tipo L en CML de arterias pulmonares, efecto mediado por la supresión del microRNA-328, un regulador negativo de estas, atenuando la contracción dependiente de

voltaje y el remodelado. Sin embargo, los efectos sobre el remodelado no pueden atribuirse exclusivamente a CaV1.2 ya que el microRNA-328 también regula la expresión del receptor de IGF1, un potente mitógeno celular<sup>38,26</sup>. En un modelo de HP inducido por monocrotalina, el bloqueo farmacológico de canales tipo L con LassBio-1289 atenúa parcialmente el remodelado arterial pulmonar<sup>39</sup> sugiriendo que la participación de estos en el remodelado dependería de la etiología de la HP.

Las subunidades CaV3.1 y CaV3.2 de canales tipo T se sobre-expresan en CML de pacientes con HAP idiopática, asociándose con estimulación de la vía de quinasas Akt1, promoviendo resistencia a la apoptosis y desarrollo de fenotipo hiperproliferativo: el bloqueo de estos canales con TTA-A2, previene la progresión del ciclo celular y la proliferación de CML de arterias pulmonares en estos pacientes<sup>40</sup>. Estos resultados destacan la señalización del canal de tipo T como un desencadenante del fenotipo patológico de las CML de arterias pulmonares de los pacientes con HAP idiopática, siendo dianas terapéuticas prometedoras. Observaciones análogas se documentan en roedores hipóxicos: sobre expresión de CaV3.1 y CaV3.2, mientras que la administración de ARN interferente contra CaV3.1 o el bloqueo farmacológico de canales tipo T inhiben la proliferación celular y el remodelado arterial pulmonar<sup>26,41,42</sup>.

La SOCE y la expresión de subunidades Orai1, Orai2, TRPC1, TRPC6, Stim1 y Stim2 aumentan en miocitos arteriales pulmonares sometidos a hipoxia crónica de intensidad similar a la que induce proliferación, mientras que su silenciamiento atenúa los efectos de hipoxia sobre la entrada de Ca<sup>2+</sup><sup>43,44,45,46,47,48</sup>. La expresión de Orai1, Orai2, Orai3, TRPC6 y Stim2 correlaciona inversamente con detención proliferativa y diferenciación de CML, como aquellas de vasos pulmonares funcionales y sanos<sup>49</sup>. Las CML de pacientes con HP idiopática y de ratas con HP inducida por monocrotalina sobreexpresan Orai1, y su inhibición con BTP2 revierte el remodelado y la HP en estas últimas y en ratas con HP inducida por sugen/hipoxia<sup>50</sup>. Los miocitos arteriales pulmonares de pacientes con HAP idiopática o de roedores hipóxicos, sobre-expresan CaSR, estimulando TRPC6, ROCE y SOCE, y el bloqueo selectivo de TRPC6 disminuye la señalización proliferativa y el remodelado patológico<sup>11,51,31</sup>. Además, estos canales participan en la liberación de mitógenos desde

CE arterial pulmonar y señalización por estos mitógenos desde CML. En CE arterial pulmonar hipóxica, aumenta la expresión de TRPC4 y la SOCE, lo que activa AP-1, factor de transcripción que promueve expresión de ET-1, VEGF y PDGF y contribuye de modo paracrino al remodelado arterial pulmonar<sup>52,53</sup>. Además, parte de la vía de señalización proliferativa de PDGF en la célula muscular lisa involucra la sobreexpresión de Stim1 y Orai1 y la estimulación de SOCE<sup>54,55</sup>.

La proliferación celular en respuesta a [Ca<sup>2+</sup>]<sub>intracelular</sub> es mediada directamente por estimulación de calmodulina quinasa, p38-MAPK, y por factores de transcripción como NFATC3<sup>37</sup>. La desfosforilación de NFATC3 es mediada por el aumento de Ca<sup>2+</sup> y calcineurina, promoviendo su translocación al núcleo, activación de genes diana relacionados con proliferación, resistencia a apoptosis y síntesis de proteínas contráctiles, como  $\alpha$ -actina del músculo liso. De hecho, la hipoxia crónica estimula la translocación al núcleo de NFATC3 y la inactivación de Stim1 la inhibe, reduciendo la proliferación de las CML de arterias pulmonares<sup>44</sup> (Figura 1).

Los SOCs se expresan fisiológicamente en la CML en el periodo fetal y se sobre-expresan bajo condiciones patológicas como HP<sup>10</sup>.

### **Bloqueadores de canales de calcio: la deuda presente y perspectivas**

Actualmente, los bloqueadores de canales de calcio (BCC) utilizados en clínica para tratar la HP, como diltiazem, felodipino, nifedipino verapamilo y amlodipino entre otros, son antagonistas tipo L.

Los pacientes con HAP candidatos a terapias con antagonistas tipo L se seleccionan mediante prueba previa de vasodilatación pulmonar aguda, con epoprostenol o adenosina intravenosos o con iloprost u óxido nítrico inhalado, recomendándose este último por selectividad, seguridad y bajo costo<sup>2</sup>. Esta prueba establece la contribución relativa de la vasoconstricción reversible, y se considera positiva si produce una disminución de PAPm de al menos 10 mmHg hasta alcanzar un valor absoluto menor o igual a 40 mmHg, con preservación o aumento del gasto cardíaco<sup>2</sup>. El 12,6% de los pacientes con HAP responden positivamente a pruebas de vasodilatación con epoprostenol intravenoso u óxido nítrico inhalado. El 54% de estos respondedores agudos (6,8%

Tabla 3. Dosis de antagonistas de canales de calcio tipo L de uso corriente en hipertensión arterial sistémica y pulmonar

Fármaco	Dosis usual en hipertensión esencial	Dosis usual en hipertensión pulmonar
Nifedipino	Inicialmente 30 a 60 mg por día, hasta llegar a una dosis máxima de 90 si es necesario	En un rango de 60 a 240 mg por día
Diltiazem	En un rango de 240 a 360 mg por día	En un rango de 360 a 720 mg por día
Amlodipino	Inicialmente 2,5 a 5 mg por día, hasta llegar a una dosis máxima de 10 si es necesario	En un rango de 20 a 40 mg por día

del total) tienen beneficio a largo plazo con BCC orales como monoterapia<sup>56</sup>, siendo clasificados en el grupo 1 como HPA que responde a largo plazo a BBC. Las dosis eficaces de BCC tipo L son muy altas<sup>57,58</sup> y frecuentemente requieren de un ajuste gradual hasta llegar a la máxima dosis efectiva (Tabla 3). Más aún, algunos BCC tipo L como nifedipino y nicardipino, estimulan CaSR, y por lo tanto la señalización por ROCE y SOCE en miocitos arteriales pulmonares de pacientes con HAP idiopática; esto podría limitar su acción terapéutica, y explicar porqué solo la mitad de los pre-seleccionados responden adecuadamente<sup>11</sup>. Desafortunadamente, esta terapia puede perjudicar a los pacientes con HAP si no son candidatos adecuados, pudiendo disminuir el gasto cardíaco y la resistencia vascular sistémica sin mejorar la PAP ni la RVP<sup>54</sup>. Tampoco hay evidencia que esta estrategia tenga acción significativa sobre el remodelado patológico.

No hay estudios clínicos de uso de antagonistas tipo T para el tratamiento de la HAP humana debido al desarrollo incipiente de inhibidores selectivos para estos. El único antagonista tipo T admitido en humanos es etosuximide, utilizándose para trastornos de ansiedad<sup>59</sup>. Otros dos bloqueadores, ACT709478 y Z944 reúnen los requisitos de potencia (IC<sub>50</sub> = 6,5 - 18 nM y 50 - 160 nM respectivamente), selectividad y seguridad para avanzar a estudios clínicos de fase 2 como tratamiento para la epilepsia fotosensible (NCT03239691)<sup>60</sup>. Un estudio clínico estandarizado de uso antagonistas tipo T contra la HAP permitiría revelar el valor como alternativa terapéutica.

De manera análoga, la falta de inhibidores de canales independientes de voltaje, que combinaran potencia, selectividad y baja toxicidad impidió proyectarlos en medicina traslacional. Actualmente la lista de bloqueadores de Orai1, la subunidad formadora de poro de estos canales, que cumplen con los requisitos para iniciar estudios clínicos de fase 1 y 2 suma cinco compuestos:

CM2489 y CM4620 de Calcimedica, RP3128 y RP4010 de Rhizen Pharmaceuticals y PRCL02 de Syntha Pharmaceuticals<sup>61,62</sup>. El más promisorio, CM-4620 que presenta una IC<sub>50</sub> de 100 nM para Orai1 humano, se encuentra actualmente en estudios clínicos de fase 2 para tratamiento de pancreatitis aguda pediátrica y adulta y neumonía severa por SARS-CoV-2 (NCT 03401190, 03709342, 04195347 y 04345614), y un estudio clínico de su eficacia en el tratamiento de la HAP es factible y necesario.

## Conclusión

La vasoconstricción y el remodelado arterial patológico son los principales mecanismos responsables del aumento de la PAPm y la RVP en la HP, siendo el remodelado el factor más importante. El ingreso de Ca<sup>2+</sup> a través de canales dependientes de voltaje tipo L es un importante modulador de la vasoconstricción, mientras que los canales tipo T y los canales activados por depósito o por receptor participan tanto de la vasoconstricción como el remodelado. Un bajo porcentaje de pacientes son vasorreactivos y la mitad de estos responden a monoterapia con bloqueadores de canales tipo L. La evidencia proveniente de estudios básicos y preclínicos sugiere que los canales de Ca<sup>2+</sup> tipo T, Orai1 y TRPC surgen como dianas farmacológicas promisorias y se requieren estudios clínicos con compuestos emergentes capaces de bloquearlos, y que reviertan tanto la vasoconstricción como el remodelado con mínimos efectos cardiovasculares adversos.

## Referencias

1. Dodson M, Brown L, Elliott C. Pulmonary Arterial Hypertension. *Heart failure clin* 2018; 14(3): 255-69. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2018.02.003>

2. Simonneau G, Montani D, Celermajer D, Denton C, Gatzoulis M, Krowka M, et al. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2019; 53(1): 1801913. <https://doi.org/10.1183/13993003.01913-2018>
3. Reyes R, Castillo-Galán S, Hernández I, Herrera E, Ebensperger G, Llanos A. Revisiting the Role of TRP, Orai, and ASIC Channels in the Pulmonary Arterial Response to Hypoxia. *Front Physiol* 2018; 9: 10-20. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00486>
4. Castillo-Galán S, Arenas G, Reyes R, Krause B, Iturriaga R. Stim-activated TRPC-Orai channels in pulmonary hypertension induced by chronic intermittent hypoxia. *Pulm circ* 2020; 10(1): 13-22. <https://doi.org/10.1177/2045894020941484>
5. Nogueira-Ferreira R, Faria-Costa G, Ferreira R, Henriques-Coelho T. Animal models for the study of pulmonary hypertension: potential and limitations. *Cardiol Cardiovasc Med* 2016; 1: 1-22. <https://doi.org/10.26502/fccm.9292001>
6. West J, Fagan K, Steudel W, Fouty B, Lane K, Jarral H, et al. Pulmonary hypertension in transgenic mice expressing a dominant-negative BMPRII gene in smooth muscle. *Circ Res* 94 (2004): 1109-14. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000126047.82846.20>
7. González-Candia A, Candia A, Ebensperger G, Reyes R, Llanos A, Herrera E. (2020). The newborn sheep translational model for pulmonary arterial hypertension of the neonate at high altitude. *J Dev Orig Health Dis* 2020; 11(5): 452-63. <https://doi.org/10.1017/S2040174420000616>
8. Dhoble S, Patravale V, Weaver E, Lamprou D, Patravale T. Comprehensive review on novel targets and emerging therapeutic modalities for pulmonary arterial Hypertension. *Int J Pharm* 2022; 621, 121792. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121792>
9. Christou H, Khalil R. Mechanisms of pulmonary vascular dysfunction in pulmonary hypertension and implications for novel therapies. *American journal of physiology. Am J Physiol Heart Circ* 2022; 322(5), H702-H724. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00021.2022>
10. Lambert M, Capuano V, Olschewski A, Sabourin J, Nagaraj C, Girerd B, et al. Ion Channels in Pulmonary Hypertension: A Therapeutic Interest?. *Int J Mol Sci* 2018; 19(10): 3162. <https://doi.org/10.3390/ijms19103162>
11. Zhou M, Cheng L, Chen L, Gu Y, Wang Y. Calcium-sensing receptor in the development and treatment of pulmonary hypertension. *Mol Biol Rep* 2021; 48(1): 975-81. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-06065-3>
12. Rode B, Bailey M, Marthan R, Beech D, Guibert C. Orai Channels as Potential Therapeutic Targets in Pulmonary Hypertension. *Physiology (Bethesda, Md.)* 2018; 33(4): 261-8. <https://doi.org/10.1152/physiol.00016.2018>
13. Yu Y, Li W, Jiang J. TRPC channels as emerging targets for seizure disorders. *Trends in pharmacological sciences* 2022; 43(9), 787-98. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2022.06.007>
14. Putney J. Forms and functions of store-operated calcium entry mediators, STIM and Orai. *Adv Biol Regul* 2018; 68, 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2017.11.006>
15. Ambudkar I, Brito de Souza L, Ong H. TRPC1, Orai1, and STIM1 in SOCE: Friends in tight spaces. *Cell calcium* 2017; 63: 33-9. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.12.009>
16. Harraz O, Altier C. STIM1-mediated bidirectional regulation of Ca(2+) entry through voltage-gated calcium channels (VGCC) and calcium-release activated channels (CRAC). *Front cell neurosci* 2014, 8, 43. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00043>
17. Murthy K. Signaling for contraction and relaxation in smooth muscle of the gut. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 345-74. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040504.094707>
18. Somlyo AP, Somlyo AV. Ca<sup>2+</sup> sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: Modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. *Physiol Rev* 2003; 83: 1325-58 <https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2003>
19. Jernigan N, Resta T. Calcium homeostasis and sensitization in pulmonary arterial smooth muscle. *Microcirculation* 2014; 21(3): 259-71. <https://doi.org/10.1111/micc.12096>
20. Liu Z, Khalil R. Evolving mechanisms of vascular smooth muscle contraction highlight key targets in vascular disease. *Biochem Pharmacol* 2018; 153: 91 - 122. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.02.012>
21. Naeije R, Richter M, Rubin L. The physiological basis of pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2022; 59(6), 2102334. <https://doi.org/10.1183/13993003.02334-2021>
22. Khirfan G, Naal T, Abuhlimeh B, Newman J, Heresi G, Dweik R, et al. Hypoxemia in patients with idiopathic or heritable pulmonary arterial hypertension. *PloS one* 2018; 13(1), e0191869. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191869>
23. Suresh K, Shimoda L. Lung Circulation. *Compr Physiol* 2016; 6(2): 897-943. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140049>
24. Dunham-Snary K, Wu D, Sykes E, Thakrar A, Parlow L, Mewburn J, et al. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: From Molecular Mechanisms to Medicine. *Chest* 2017; 151(1): 181-92. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2016.09.001>

25. Jain P, Hosokawa S, Xiong M, Babicheva A, Zhao T, Rodríguez M, et al. Revisiting the mechanism of hypoxic pulmonary vasoconstriction using isolated perfused/ventilated mouse lung. *Pulm circ* 2020; 10(4): 2045894020956592. <https://doi.org/10.1177/2045894020956592>
26. Wan J, Yamamura A, Zimnicka A, Voiriot G, Smith K, Tang H, et al. Chronic hypoxia selectively enhances L- and T-type voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel activity in pulmonary artery by upregulating Cav1.2 and Cav3.2. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2013; 305(2): L154–L164. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00313.2012>
27. Lu W, Wang J, Peng G, Shimoda L, Sylvester J. Knockdown of stromal interaction molecule 1 attenuates store-operated Ca<sup>2+</sup> entry and Ca<sup>2+</sup> responses to acute hypoxia in pulmonary arterial smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 297(1): L17–L25. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00063.2009>
28. Ng L, O'Neill K, French D, Airey J, Singer C, Tian H, et al. TRPC1 and Orail1 interact with STIM1 and mediate capacitative Ca(2+) entry caused by acute hypoxia in mouse pulmonary arterial smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012; 303(11): C1156–C1172. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00065.2012>
29. Weigand L, Foxson J, Wang J, Shimoda L, Sylvester J. Inhibition of hypoxic pulmonary vasoconstriction by antagonists of store-operated Ca<sup>2+</sup> and nonselective cation channels. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 289(1): L5–L13. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00044.2005>
30. Parrau D, Ebensperger G, Herrera E, Moraga F, Riquelme R, Ulloa C, et al. Store-operated channels in the pulmonary circulation of high- and low-altitude neonatal lambs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2013; 304(8): L540–L548. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00024.2012>
31. Jain P, Lai N, Xiong M, Chen J, Babicheva A, Zhao T, et al. TRPC6, a therapeutic target for pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 321(6): L1161–L1182. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00159.2021>
32. Yadav V, Song T, Mei L, Joseph L, Zheng Y, Wang Y. PLCγ1-IP3R1 signaling plays an important role in hypoxia-induced calcium response in pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2018; 314(5): L724–L735. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00243.2017>
33. Sakao S, Tatsumi K, Voelkel N. Reversible or irreversible remodeling in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010; 43(6): 629–34. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0389TR>
34. Maarman G, Lecour S, Butrous G, Thienemann F, Sliwa K. A comprehensive review: the evolution of animal models in pulmonary hypertension research; are we there yet?. *Pulm Circ* 2013; 3(4): 739–56. <https://doi.org/10.1086/674770>
35. Tudor R. Pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Cell Tissue Res* 2017; 367(3): 643–9. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2539-y>
36. Thompson A, Lawrie A. Targeting Vascular Remodeling to Treat Pulmonary Arterial Hypertension. *Trends Mol Med* 2017; 23(1): 31–45. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.11.005>
37. Kuhr F, Smith K, Song M, Levitan I, Yuan J. New mechanisms of pulmonary arterial hypertension: role of Ca<sup>2+</sup> signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 302(8): H1546–H1562. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00944.2011>
38. Guo L, Qiu Z, Wei L, Yu X, Gao X, Jiang S, et al. The microRNA-328 regulates hypoxic pulmonary hypertension by targeting at insulin growth factor 1 receptor and L-type calcium channel-α1C. *Hypertension* 2012; 59(5): 1006–13. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONA-HA.111.185413>
39. Pereira S, Kummerle A, Fraga C, Barreiro E, Rocha N, Ferraz E, et al. A novel Ca<sup>2+</sup> channel antagonist reverses cardiac hypertrophy and pulmonary arteriolar remodeling in experimental pulmonary hypertension. *Eur J Pharmacol* 2013; 702(1-3): 316–22. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.01.050>
40. Sankhe S, Manousakidi S, Antigny F, Arthur J, Bentebbal S, Ruchon Y. T-type Ca<sup>2+</sup> channels elicit pro-proliferative and anti-apoptotic responses through impaired PP2A/Akt1 signaling in PSMCs from patients with pulmonary arterial hypertension. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2017; 1864(10): 1631–41. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.018>
41. Rodman D, Reese K, Harral J, Fouty B, Wu S, West J, et al. Low-voltage-activated (T-type) calcium channels control proliferation of human pulmonary artery myocytes. *Circ Res* 2005; 96(8): 864–72. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000163066.07472.ff>
42. Chevalier M, Gilbert G, Roux E, Lory P, Marthan R, Savineau J, et al. T-type calcium channels are involved in hypoxic pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res* 2014; 103(4): 597–606. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvu166>
43. Lin M, Leung G, Zhang W, Yang X, Yip K, Tse C, et al. Chronic hypoxia-induced upregulation of store-operated and receptor-operated Ca<sup>2+</sup> channels in pulmonary arterial smooth muscle cells: a novel mechanism of hypoxic pulmonary hypertension. *Circ Res* 2004; 95(5): 496–505. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000138952.16382.ad>
44. Hou X, Chen J, Luo Y, Liu F, Xu G, Gao Y. Silencing of STIM1 attenuates hypoxia-induced PSMCs proliferation

- tion via inhibition of the SOC/Ca<sup>2+</sup>/NFAT pathway. *Respir Res* 2013; 14(1): 2. <https://doi.org/10.1186/1465-4546-14-2>.
45. Chen T, Xu X, Zhao Z, Zhao F, Gao Y, Yan X et al. Hydrogen peroxide is a critical regulator of the hypoxia-induced alterations of store-operated Ca<sup>2+</sup> entry into rat pulmonary arterial smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2017;312(4):L477-L487. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00138.2016>
  46. Wang J, Xu C, Zheng, Q, Yang K, Lai N, Wang T, et al. (2017). Orai1, 2, 3 and STIM1 promote store-operated calcium entry in pulmonary arterial smooth muscle cells. *Cell Death Discov* 2017; 3: 17074. <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2017.74>
  47. He X, Song S, Ayon R, Balisterieri A, Black S, Makino A, et al. Hypoxia selectively upregulates cation channels and increases cytosolic [Ca<sup>2+</sup>] in pulmonary, but not coronary, arterial smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2018; 314(4): C504-C517. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00272.2017>
  48. Song S, Carr S, McDermott K, Rodríguez M, Babicheva A, Balistrieri A, et al. STIM2 (Stromal Interaction Molecule 2)-Mediated Increase in Resting Cytosolic Free Ca<sup>2+</sup> Concentration Stimulates PASM C Proliferation in Pulmonary Arterial Hypertension. *Hypertension* 2018; 71(3): 518-29. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10503>
  49. Fernández R, Wan J, Song S, Smith K, Gu Y, Tauseef M, et al. Upregulated expression of STIM2, TRPC6, and Orai2 contributes to the transition of pulmonary arterial smooth muscle cells from a contractile to proliferative phenotype. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015; 308(8): C581-C593. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00202.2014>
  50. Masson B, Le Ribez H, Sabourin J, Laubry L, Woodhouse E, Foster R, et al. Orai1 inhibitors as potential treatments for pulmonary arterial hypertension. *Circ Res* 2022. 131(9): e102-e119. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.122.321041>
  51. Smith K, Ayon R, Tang H, Makino A, Yuan J. Calcium-Sensing Receptor Regulates Cytosolic [Ca<sup>2+</sup>] and Plays a Major Role in the Development of Pulmonary Hypertension. *Front Physiol* 2016: 7, 517. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00517>
  52. Fantozzi I, Zhang S, Platoshyn O, Remillard C, Cowling R, Yuan J. Hypoxia increases AP-1 binding activity by enhancing capacitative Ca<sup>2+</sup> entry in human pulmonary artery endothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 285(6): L1233-L1245. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00445.2002>
  53. Eferl R, Hasselblatt P, Rath M, Popper H, Zenz R, Komenovic V, et al. Development of pulmonary fibrosis through a pathway involving the transcription factor Fra-2/AP-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(30): 10525-30. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801414105>
  54. Zhang Y, Wang Y, Yang K, Tian L, Fu X, Wang Y, et al. BMP4 increases the expression of TRPC and basal [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> via the p38MAPK and ERK1/2 pathways independent of BMPRII in PASCs. *PLoS One* 2014; 9(12): e112695. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112695>
  55. Yang K, Lu W, Jia J, Zhang J, Zhao M, Wang S, et al. Noggin inhibits hypoxia-induced proliferation by targeting store-operated calcium entry and transient receptor potential cation channels. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015; 308(11): C869-C878. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00349.2014>
  56. Sitbon O, Humbert M, Jaïs X, Iosif V, Hamid A, Provencher S, et al. Long-term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2005; 111(23): 3105-11. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.488486>
  57. Chaumais M, Macari E, Sitbon O. Calcium-channel blockers in pulmonary arterial hypertension. *Handb exp pharmacol* 2013, 218, 161-75. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-38664-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-38664-0_7)
  58. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey Jr DE, Collins KJ, Himmelfarb CD y cols. ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APHA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension* 71(6), 1269-324. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000066>
  59. Kaur S, Maslov LN, Singh N, Jaggi AS. (2019). Dual role of T-type calcium channels in anxiety-related behavior. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 31(3), [/j/jbcp-2019-0067](https://doi.org/10.1155/jbcp-2019-0067). <https://doi.org/10.1155/jbcp-2019-0067>
  60. Nam G. T-type calcium channel blockers: a patent review (2012-2018). *Expert Opin Ther Pat* 2018; 28(12): 883-901. <https://doi.org/10.1080/13543776.2018.1541982>
  61. Stauderman K. CRAC channels as targets for drug discovery and development. *Cell calcium* 2018;74: 147-59. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2018.07.005>
  62. Bhuvaneshwari S, Sankaranarayanan K. Structural and Mechanistic Insights of CRAC Channel as a Drug Target in Autoimmune Disorder. *Curr Drug targets* 2020; 21 (1): 55-75. <https://doi.org/10.2174/1389450120666190926150258>