

Pulmoner arter hipertansiyonun genetik ve genomikleri

Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension

**Dr. Florent Soubrier,* Dr. Wendy K. Chung,† Dr. Rajiv Machado,‡ Dr. Ekkehard Grünig,§
Dr. Micheala Aldred,|| Dr. Mark Geraci,¶ Dr. James E. Loyd,# Dr. C. Gregory Elliott,**
Dr. Richard C. Trembath,†† Dr. John H. Newman,# Dr. Marc Humbert‡‡**

*Pitié-Salpêtrière Genetik Bölümü, Paris Hastaneleri Halk Sağlığı Sistemi (APHP), Pierre et Marie Curie Paris 06 (UPMC) Üniversitesi, Unité Mixte de Recherche en Sante (UMRS) 956 Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale INSERM, Kardiyometabolizma ve Beslenme Enstitüsü, Paris, Fransa;

†Columbia Üniversitesi Tıp Merkezi, Çocuk Sağlığı ve Tıp Bölümü, New York, ABD;

‡Lincoln Üniversitesi, Hayat Bilimleri Okulu, Lincoln, İngiltere;

§Heidelberg Üniversite Hastanesi, Pulmoner Hipertansiyon Merkezi, Heidelberg, Almanya;

||Genomik Tıp Enstitüsü, Cleveland Kliniği, Cleveland, Ohio, ABD;

¶Kolorado Denver Üniversitesi, Pulmoner Bilimler ve Yoğun Bakım Bölümü, Aurora, Kolorado;

#Vanderbilt Üniversitesi Kuzey Tıp Merkezi, Pulmoner Hipertansiyon Merkezi, Alerji, Pulmoner ve Yoğun Bakım Bölümü, Nashville, Tennessee, ABD;

**Utah Üniversitesi, Intermountain Tıp Merkezi, Salt Lake City, Utah, ABD;

††Kings Koleji Genetik ve Moleküler Tıp Bölümü, Londra, İngiltere;

‡‡Centre de Référence de l'Hypertension Pulmonaire Sévère, Service de Pneumologie, Hôpital de Bicêtre, APHP, Le Kremlin Bicêtre, Université Paris-Sud, Faculté de Médecine, Le Kremlin Bicêtre; Département Hospitalo-Universitaire (DHU) thorax Innovation, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre; UMRS 999, INSERM, Université Paris-Sud, LabEx LERMIT, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson, Fransa.

Özet– Pulmoner arteriyel hipertansiyonun (PAH) kalıtsal yatkınlığı alanında geçtiğimizde dekatta majör bulgular elde edilmiştir. Bunların arasında, majör yatkınlık oluşturan gen olarak kemik morfogenetik protein reseptörü tip 2'nin (BMPR2) ve PAH herediter hemorajik telenjektazi ile ilişkili olduğunda majör gen olarak aktivin A reseptör tip-II benzeri kinaz-1'in (ACVRL1, ALK1 olarak da bilinir) tanımlanmasıdır. Ailesel PAH'da bilinen genler için mutasyonun tespiti yaklaşık %75'dir, ancak bu genlerin dikkatli bir incelemesinden sonra dahi olan mutasyon açığı halen açıklanamamıştır. PAH'a yatkınlık oluşturan ek genetik varyantların tanımlanması için, araştırmacılar bu makalede anlatılacak olan diğer genleri tanımlayabilmek için yeni nesil sekanslamanın gücünden yararlanmaktadır. İlave olarak, PAH için yaygın genetik yatkınlık faktörleri genom çapında ilişki çalışmaları ile tanımlanabilir ve bu makalede detaylandırılmıştır. Farklı ülkelerde PAH hastalarının geniş kayıt çalışmalarına dayanan ailelerin dikkatli araştırılması ve rutin genetik tanı ile kolaylaştırılmış çalışmalar düzenlenmektedir. Bu uzunlamasına veya kesitsel çalışmalar mutasyon taşıyıcılarında PAH'ın klinik özelliklerinin doğru bir şekilde tanımlanmasına izin verecektir. Moleküler genetik tanının yapılabilirliği majör predispozan genin aileler arasında oldukça farklı penetrans gösterebileceği hesaba katılarak ciddi bir hastalık için danışmanlık verilmesi dahil hasta bakımında yeni bir alanın açılmasına yol açmıştır. Hastalığın gelişimine yol açan mekanizmaların kavranması için moleküler bilgiler PAH'da etkilmiş dokuların özellikle pulmoner vasküler dokular ve hücrelerin genomik çalışmaları ile elde edilebilir. Yüksek verimli genomik teknikler, yeni nesil sekanslama temelinde, ribonükleik asitlerin, mikro-ribonükleik asitler dahil örneklerin doğru kantitatif analizine izin verir ve deoksiribonükleik asit metilasyonu, histon metilasyonu ve asetilasyonu veya transkripsiyon faktörü bağlanması dahil epigenetik veya düzenletici mekanizmaların genom çapında araştırılmasına müsaade etmektedir. (J Am Coll Cardiol 2013;62:D13–21) ^a 2013 by the American College of Cardiology Foundation.

Summary– Major discoveries have been obtained within the last decade in the field of hereditary predisposition to pulmonary arterial hypertension (PAH). Among them, the identification of bone morphogenetic protein receptor type 2 (BMPR2) as the major predisposing gene and activin A receptor type II-like kinase-1 (ACVRL1, also known as ALK1) as the major gene when PAH is associated with hereditary hemorrhagic telangiectasia. The mutation detection rate for the known genes is approximately 75% in familial PAH, but the mutation shortfall remains unexplained even after careful molecular investigation of these genes. To identify additional genetic variants predisposing to PAH, investigators harnessed the power of next-generation sequencing to successfully identify additional genes that will be described in this report. Furthermore, common genetic predisposing factors for PAH can be identified by genome-wide association studies and are detailed in this paper. The careful study of families and routine genetic diagnosis facilitated natural history studies based on large registries of PAH patients to be set up in different countries. These longitudinal or cross-sectional studies permitted the clinical characterization of PAH in mutation carriers to be accurately described. The availability of molecular genetic diagnosis has opened up a new field for patient care, including genetic counseling for a severe disease, taking into account that the major predisposing gene has a highly variable penetrance between families. Molecular information can be drawn from the genomic study of affected tissues in PAH, in particular, pulmonary vascular tissues and cells, to gain insight into the mechanisms leading to the development of the disease. High-throughput genomic techniques, on the basis of next-generation sequencing, now allow the accurate quantification and analysis of ribonucleic acid, species, including micro-ribonucleic acids, and allow for a genome-wide investigation of epigenetic or regulatory mechanisms, which include deoxyribonucleic acid methylation, histone methylation, and acetylation, or transcription factor binding. (J Am Coll Cardiol 2013;62:D13–21) ^a 2013 by the American College of Cardiology Foundation.

Geliş tarihi: 15.10.2013 Kabul tarihi: 22.10.2013

Yazışma adresi: Dr. Florent Soubrier. UMR_S 956 UPMC INSERM, 91 Bvd de l'hôpital, 75634 Paris Cedex 13, Fransa.

e-posta: florent.soubrier@upmc.fr.

© 2014 Türk Kardiyoloji Derneği

Pulmoner hipertansiyon genetiği

Pulmoner arteriyel hipertansiyona kalıtsal

yatıklık: Majör genlerden ilişkili tek nükleotid polimorfizmlerine kadar-

Bilinen aile hikayesi olan pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) hastalarının yaklaşık %75'inde sorumlu olarak 300'den fazla bağımsız BMPR2 (transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β ailesinin bir tip II reseptör üyesini kodlar) mutasyonu tanımlanmıştır, ve PAH'ın altında yatan majör genetik belirleyici olacak şekilde görünüşte sporadik olan vakalarda %25'e varan oranlarda bu gende defektler saptanmaktadır. [1] Birden çok aile bireyinde rastlanan ACVRL1 tip I reseptöründe ve belirgin şekilde daha düşük sıklıkta endoglin tip III reseptöründe saptanan patojenik mutasyonlar kalıtsal hemorajik telenjektazi (KHT) ile ilişkili PAH'a neden olmaktadır.[2] Hepsi birlikte, bu gözlemler TGF- β ailesinin PAH gelişimindeki önemli rolünü desteklemektedir. Sonuç olarak, bir seri çalışma yeni genetik varyantlar belirlemek için bilinen PAH genlerinde mutasyon olmayan hastaların kohortlarında TGF- β reseptör ve etkileyicilerini araştırarak yeni gen arayışı yaklaşımını benimsemiştir. Konvansiyonel analitik tekniklerle, Shintani ve ark.[3] 23 Japon vakasının panelinde kemik morfogenetik protein (BMP) –sorumlu gen SMAD9 (p.C202X) kısalma mutasyonu saptamıştır. İkinci bir kısalma mutasyonu (p.R294X) başka bir asya kökenli hastada tespit edilmiştir.[4] BMP-özgü SMAD'ların ve SMAD4'ün benzer görüntülenmeleri 198 idiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon (İPAH) hastasında 4 varyant tanımlamıştır. Bu varyantlar; standart BMP-aracılı aşağı doğru sinyalleşme sonuçlarına olan orta düzey etkilerinin bilinmeyen önemine göre SMAD1(p.V3A), SMAD1 (p.V3A), SMAD4(p.N13S; c.1448-6T>C), ve SMAD9 (p.K43E) olarak tanımlanmıştır. [5] SMAD9 varyantları daha etkileyicidir, çünkü bu veri SMAD9 olmayan fare modelinde pulmoner hipertansiyonun klinik ve histopatolojik özelliklerinin gelişmesi ile desteklenmektedir.[6] Daha yakın zamanda, 43 hastalık İPAH kohortunda tip I BMPR1B (p.S160N ve p.F392L9 reseptöründe 2 missense mutasyon bildirilmiştir. Sonraki işlevsel ve haberci tahliller bu varyantların SMAD9 indüksiyonu yaptığı ve fonksiyon kazanma mekanizmasının belirleyicisi olan transkripsiyonel aktivitenin artırılmasını tetiklediğini bildirmiştir. SMAD9 mutant fare modeli ile yapılan bu gen için haplo yetmezlik için bir moleküler meka-

nizmayı destekleyen önceki çalışmaların yanı sıra, Chida ve ark.[7] bu bulguya zıt sonuçlar elde etmiştir ve fonksiyonel seviyeler üzerine ileri araştırma gerekir. Kalıtsal pulmoner arteriyel hipertansiyon (KPAH) için bilinen genlerde tespit edilebilir mutasyon saptanmamış PAH ile birden fazla aile üyesinin etkilendiği

3 nesil aileyi çalışmak için tam exome sekanslama kullanan Austin ve ark.[8] KPAH için yeni bir gen tespit etmiştir: Caveolin-1 (CAV1). Aynı zamanda İPAH olan bir çocukta bir çerçeve kayması mutasyonu saptamışlardır. CAV1 endotelde ve akciğerin diğer hücrelerinde kaveoladan zengin bir membran proteinini kodlar. Kaveolalar, TGF- β süper ailesi, nitrik oksit yolağı, ve G-protein eşleşmeli reseptörleri gibi hücrel sinyal kaskadını başlatan hücre yüzeyi reseptörlerinde boldur. Plazma membranında anormal sinyal iletişimi PAH patogenezi için bir mekanizma olabilir. Çalışmaları CAV1'deki mutasyonların ailesel PAH ve İPAH olan nadir vakalarla ilişkili olduğunu ve PAH patogenezi için yeni bir kavram sağlayabileceğini göstermişlerdir.

Tespit edilebilir KPAH mutasyonları bulunmayan birden çok üyesi etkilenmiş başka bir ailede eksom sekanslama ile KCNK3 potasyum kanalında yeni bir heterozigot missense varyant tespit edilmiştir.[9] Diğer ailesel PAH vakaları ve İPAH vakaları için analizler ek olarak 5 yeni heterozigot missense varyantı ortaya çıkarmıştır. Her 6 varyant da oldukça korunmuş amino asitlerde yer almaktadır ve siliko analizlerde hasar gördükleri öngörülmektedir. COS-7 hücrelerinde geçici transfeksiyon ile tüm yama klamp prosedürleri 6 mutasyonun da fonksiyon kaybı ile sonuçlandığını göstermiştir. Hepsi olmasa da bazı mutasyonlar fosfolipaz inhibitörü ONO RS-82 tarafından kurtarılmaktadır. KCNK3, 2 por alanlı süper aileden bir pH duyarlı potasyum kanalı kodlamaktadır.[10] Bu potasyum kanalının hipoksiye duyarlı olduğu ve istirahat membran potansiyelinin ve pulmoner vasküler tonüsün sağlanmasında rol aldığı gösterilmiştir.[11-13]

Kısaltmalar:

BMP	Kemik morfogenetik protein
GDH	Glikojen depo hastalığı
GINA	Genetik bilgi korunması yasası
HDAC	Histon deasetilaz
HHT	Kalıtsal hemorajik telenjektazi
IL	İnterlökin
İPAH	idiyopatik pulmoner arter hipertansiyonu
KKH	Konjenital kalp hastalığı
KPAH	Kalıtsal pulmoner arteriyel hipertansiyon
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
miRNA	Mikroribonükleik asit
PAH	pulmoner arter hipertansiyonu
PADKC	Pulmoner arter düz kas hücresi
PAEH	Pulmoner arter endotel hücresi
TNP	Tek nükleotid polimorfizmi
TGF	Transforme edici büyüme faktörü

KPAH ve İPAH nedeni olarak bu genin tanımlanması ve kurtarıcı özgül mutasyonların gösterilmesi PAH tedavisi için yeni bir hedef sağlayabilir.

Çocukluk çağı başlangıçlı PAH, erişkin başlangıçlı PAH'dan bir kısım klinik ve genetik farklılıklar içerir. Sporadik vakalarda tespit edilen BMPR2 mutasyonlarının sıklığı erişkin başlangıçlı PAH'dan oldukça düşüktür.^[14-16] Pulmoner hipertansiyon pek çok genetik bozuklukta yaygın olmayan bir komplikasyondur, ancak Down sendromu gibi belli başlı sendromlarda daha yaygındır.^[17] Down sendromunda artmış PAH riski soldan sağa kardiyak şantlara bağlıdır; ek olarak tıkayıcı uyku apne sendromu ile ilişkili üst hava yolu tıkanıklığı PAH dışı pulmoner hipertansiyonu tetikleyebilir.^[18] Konjenital kalp hastalığı (KKH) ve pulmoner hipertansiyon ile daha yaygın fakat daha az önemde ilişkili genetik sendromlar DiGeorge sendromu, VACTERL sendromu, CHARGE sendromu, Schimittar sendromu,^[19] Noonan sendromu^[20] ve konjenital diyafragmatik herni ile ilişkili konjenital anomalileri içerir. Pulmoner hipertansiyon ile ilişkili fakat KKH ilişkili olmayan genetik sendromlar Adams-Oliver sendromu,^[21,22] nörofibromatozis tip 1,^[23,24] uzun QT sendromu, hipertrofik kardiyomyopati, Cantu sendromu,^[25] otoimmün poliendokrin sendrom,^[26] mitokondriyal ensefalopati laktik asidoz ve inme benzeri ataklar dahil mitokondriyal bozukluklar,^[27] Gaucher hastalığı,^[28] and glikojen depo hastalıklarının (GDH-I ve GDH-III)^[29] içermektedir. Pulmoner hipertansiyon geliştirme mekanizmaları pek çok genetik sendrom için tam olarak açıklanabilmiş değildir ancak; KKH ile soldan sağa şant nedeniyle artmış pulmoner kan akımını, üst hava yolu obstrüksiyonunu, pulmoner damar stenozunu ve yeniden şekillenmesine yol açan hiperproliferasyona neden olan vasküler düz kas hücre disfonksiyonunu (Adams Oliver syndrome,^[21,22] ve nörofibromatozis tip 1),^[24,30] pulmoner venöz obstrüksiyonu (Cantu syndrome)^[25] veya pulmoner basınçları arttıran difüze olabilir hepatik faktörlerin üretilmesini (Gaucher disease and GSD)^[29] içermektedir. Özellikle, Gaucher hastalığı ile birlikte pulmoner hipertansiyon olan hastalarda enzim replasman tedavisi ile primer metabolik bozuklukların tedavisine iyi cevap olduğu bildirilmiştir.^[28]

Nimmakayalu ve ark.^[31] mikrosefali, tiroid ve sensorinörol anormallikler ile ilişkili sendromik bir pulmoner hipertansiyon vakasında TBX2 ve TBX4'ü kapsayan bir mikrodelesyon bildirmişlerdir. Yakın za-

manda, Kerstjens-Frederikse ve ark.^[32] mental retardasyon ve dismorfik özellikler ile ilişkili idiyopatik veya ailesel PAH olan 3 çocuğu aynı lokusu kapsayan delesyonları saptamak için genomik hibridizasyon ile araştırmışlar ve aynı zamanda TBX2 ve TBX4 genlerini de içeren 17q23.2'de 3 örtüşen delesyon saptamışlardır. Bu genler sonradan 20 çocukta sekanslandı ve küçük patella sendromundan sorumlu TBX4 geninde 3 ek mutasyon saptandı. TBX4 mutasyonu olan tüm hastalar küçük patella sendromunun bulgularını sergilemekteydi. Karşıt şekilde, bilinen küçük patella sendromu olan hastaların dikkatli tetkiki pulmoner hipertansiyon varlığını gösterememiştir.

PAH için yatkınlık oluşturan genlerin tanımlanmasında uygulanan bir diğer yaklaşım tüm genoma dağıtılan polimorfik işaretleyicilerin (tek nükleotid polimorfizmleri [TNP]) kullanılmasıdır. Bu yaklaşım, iki grupta genotip sıklıklarının karşılaştırılması ve hastalık ve işaretleyici arasında bir ilişkiye işaret eden belirgin bir farklılık tespit debilmek için büyük sayıda hasta ve kontrol grubunu gerektirmektedir. Böyle bir yaklaşım ile, Germain ve ark.^[33] TNP ilişkili İPAH ve BMPR2 mutasyonu ilişkili olmayan ailesel PAH tanımlamışlardır. PAH için TNP risk aleli risk oranı 1.97 (95% güven aralığı: 1.59 - 2.45; p=7.47 x 10⁻¹⁰) ve Kr 18q22.3 üzerindeki Cerebellin 2 (CBLN2) genine yakındır.

BMPR2 mutasyonlarının penetransındaki çeşitliliklerin moleküler temeline pek çok çalışmada değinilmiştir. Bu soru, istatistiksel anlam kazanabilmesi için büyük sayılarda hasta gerektirirken çalışmalara dahil edilebilecek hasta sayısının sınırlılığı ile daha da güçleşmiştir. Farklı yaklaşımlar uygulanmaktadır. Philips ve ark.^[34] BMPR2 penetransını etkileyebilecek BMPler ve TGF-β1 sinyal yolları arasında olası bir dengesizliği araştırmak için TGF-β1 geninde fonksiyonel bir polimorfizmi araştırdılar. TGF-β1 polimorfizminin tanı yaşını ve BMPR2 mutasyonlarının penetransını etkilediğini ileri sürdüler. West ve ark.^[35] etkilenmiş olsun olmasın BMPR2 mutasyon taşıyıcılarının immortal B lenfosit hücre serinde gen ekspresyonunu çalışan farklı bir yaklaşım kullandılar. En dikkat çekici ekspresyon farkı yalnızca kadınlarda yaklaşık 10 kat daha düşük ekspresyon ile CPP1B1 geninde izlenmiştir.^[36] CYP1B1, pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etkileri olan ve hayvan modellerinde pulmoner hipertansiyonu hafifleten 2-OH estradiol metabolitlerinin sentez yolağında

görev almaktadır.^[37,38] Karşıt olarak, CYP1B1 inhibe edildiğinde, proinflatuar, pronjiyojenik ve promitojenik etkileri olan 16- β -OH-estradiol ve -estrone sentezlenmektedir (Paulin and Michelakis^[39]). Ancak, CYP1B1 geni bozulmuş fareler gen etkisi bağlamında çevresel etkiye işaret edecek şekilde deneysel pulmoner hipertansiyon gelişiminde farklılıklar göstermektedirler.^[40] Bu sonuçlar, İPAH'da olduğu kadar KPAH'da da gözlenen PAH'da kadın cinsiyet hakimiyetini açıklayabilecek hormonal etkilerin karmaşıklığını göz önüne sermektedir.^[41] Nonsense aracılı ribonükleik asit (RNA) kusuru ile mutasyona uğramış mesajcı ribonükleik asitlerde (mRNA) bozukluğa yol açan BMPR2 mutasyonu taşıyan hastalardan elde edilen hücre kültüründe aynı tip yöntem ile Flynn ve ark.^[42] lenfositlerde mRNA ekspresyon profili zemininde bir PAH penetrans imzası önerdiler ve bu profil reaktif oksijen molekül formasyonlarının hastalığın gelişiminde önemli rolü rolü olduğunu desteklemektedir. Eş zamanlı inflamasyon mutasyona uğramış BMPR2 geninin patolojik etkilerini değiştirebilir.^[43,44]

Kalıtıl pulmoner arter hipertansiyonun klinik prezentasyonu-

PAH için aile öyküsü olan hastaların yaklaşık %75'inde, PAH' a neden olduğu bilinen genlerde bir mutasyon saptanmıştır,^[1,15,45,46] en sık olarak BMPR2 mutasyonudur. Bilinen aile öyküsü olmayan hastalarda (sporadik ya da idiyopatik vakalar), yaklaşık %20 germ mutasyonu bulunmaktadır. HHT için kişisel ya da aile öyküsü olan hastalarda ACVRL1 mutasyonu tanımlanan majör nedendir. Benzer oranlarda mutasyon taşıyıcıları anoreksijen ile indüklenmiş PAH'da gözlenmektedir. Zıt olarak, ilişkili PAH'da (skleroderma ve bağ dokusu hastalıkları, portal hipertansiyon, insan immün yetmezlik virüsü enfeksiyonu) KKH'da bazı istisna bildirimler dışında BMPR2 mutasyonları saptanmamıştır. Not olarak, pulmoner venooklüzif hastalık vakaları nadiren BMPR2 mutasyonu ilişkilidir.^[47-49]

Kayıt çalışmalarının retrospektif analizinde^[1,15,45,46] ve 1 prospektif çalışma^[50] BMPR2 mutasyonu taşıyan KPAH hastalarının aile öyküsünden bağımsız olarak mutasyonu olmayan İPAH hastalarına göre daha genç yaşlarda hastalığı geliştirdiğini gösterilmiştir. Dahası, KPAH hastaları tanı sırasında daha ciddi klinik ve hemodinamik fenotip (akut vazodilatör tedaviye daha az cevap, düşük kardiyak indeks, ve yüksek pulmoner vasküler rezistans) sergilerler ve ölüm ya da ak-

ciğer transplantasyonuna progresyona daha yatkındırlar (taşıyıcı olmayanlara göre daha erken yaşlarda).^[46,50-53] Ancak, analiz edilmiş gen taşıyıcılarının sayısı nispeten azdır. Risk sınıflaması ve klinik yönetim için genetik test yapmanın yararını değerlendirecek ileri çalışmalar gerekmektedir. Benzer bulgular ve kötü gidişli prognoz ACVRL1 mutasyonu olan belli sayıda pediatrik vakada da gözlenmiştir.^[50] Not olarak, ACVRL1 mutasyonu taşıyıcıları hem PAH hem de HHT geliştirebilirler. HHT 60 yaşlarında neredeyse tam bir penetrans segilediğinden, bazı ACVRL1 mutasyonu taşıyıcıları çok genç yaşlarda HHT'nin klinik kanıtını göstermeyebilirler. HHT için kişisel ve aile öyküsü için biriken bilgiler, "forme fruste" dahil özellikle de pediatrik vakalarda önemli görünmektedir.

Vanderbilt Pulmoner Hipertansiyon Kayıt Çalışmasının daha geniş bir değerlendirmesinde BMPR2 ilişkili ailesel PAH'da genetik beklenti olasılığı hakkında şüphe ortaya atmıştır.^[54] Ailelerin analizinde ilk aile tanısından sonra en az 57 yıl yaşayan mutasyon taşıyıcı bireylerde >%85 hastalık ortaya çıkmıştır. Bu ailelerde, önceki nesillerdeki erken yaşlarda başlangıç etkisi kaybolmakta, görünüşte etkilenmemiş taşıyıcılarda hastalığın penetransı zaman almakta ve 75 yaşına kadar çıkmaktadır. Bu nedenle, genetik yatkınlık mevcut veri ile daha fazla desteklenmemektedir. Vanderbilt Pulmoner Hipertansiyon Kayıt Çalışmasında hastalık penetransı yeniden değerlendirildi:^[54] toplam 1683 kardeşten mutasyon taşıma oranını %50 olduğu varsayıldığında 842 taşıyıcı içerisinde (1683 kardeşin bir yarısı) 232 etkilenmiş birey veya toplamda %27 penetrans. Bireylerin 177'si kadın 59'u erkekti. PAH için kadın/erkek oranı önceki çalışmaları destekler şekilde 3:1 olarak hesaplandı. Kadın penetransı yaklaşık %42 ve erkek penetransı yaklaşık %14'tü. Bu cinsiyet farklılıklarının hastalıkta ve ailelere genetik danışma verilmesinde etkileri olmalıdır.

Genetik danışma ve testler-

İki uzlaşılı kılavuzu hekimlerin KPAH'ı destekleyen öyküsü olan hastalara profesyonel genetik danışma ve genetik test önermelerini önermektedir.^[55,56] Ek olarak, bu kılavuzların yazarları İPAH hastalarına hastalığa neden olabilecek mutasyon taşıma olasılıkları yüksek olduğundan genetik test ve genetik danışma olanağının hatırlatılmasını önermektedir. Kılavuzlar, diğer aile bireylerinden önce etkilenmiş İPAH hastalarına genetik danışma ve testlerin teklif edilmesini önermektedir. Etkilenmiş bir aile bireyinde hastalığa

neden olan mutasyonun tanımlanması eğer diğer aile bireyleri de test yaptırmak isterlerse daha az pahalı test yapılmasına olanak sağlayacaktır.

Etkilenmiş bireyler ve “risk altındaki” aile bireyleri mutasyon durumlarını aile planlama amaçları için bilmek isteyebilirler. Prenatal tarama ya da implantasyon öncesi tanı ve yönetim mevcuttur. Reprodüktif tıp KPAH’ın yeni nesile transmisyonunu engelleyen pek çok seçeneğe olanak sağlamaktadır. Gerçekten, BMPR2 mutasyonu taşıyıcısı olan çiftler için güncel reprodüktif seçenekler çocuk yapmamak, prenatal genetik test yapmamak (reprodüktif şans), prenatal veya implantasyon öncesi genetik teşhis, gamet bağıışı kullanılması veya evlat edinmektir. Prenatal tanı PAH’a predispozan bir mutasyon taşıyan fetüsün uterus içerisindeyken tespit edilmesine olanak sağlar. Prenatal tanı ailesel mutasyonun moleküler olarak tanımlanmış olmasını gerektirir. Eğer ailesel mutasyon tanımlanırsa, tıbbi düşük bir seçenektir.

Diğer bir seçenek ise implantasyon öncesi genetik teşhis, seçim ile ailesel mutasyonu taşımayan embriyoların implantasyonu ile tıbbi-destekli üretilir, böylece tıbbi düşük tehlikesi ortadan kalkmış olur. İmplantasyon öncesi genetik teşhis in vitro fertilizasyonu gerektirir ve başarılı bir bebek doğurulmasından önce birden çok defa tekrarı gerekebilir. İmplantasyon öncesi genetik teşhis her ülkede ulaşılabilir değildir ve her ülkede ya da her sigorta şirketince sigorta kapsamında değildir. Bu yöntemler pek çok diğer hastalık için kullanılmakta ancak penetransın tam olmadığı KPAH gibi durumlar için tartışmalıdır. Düşüğün ilerleyen gebeliklerdeki fizyolojik etkisi nedeniyle, özellikle de tam penetrans olmayan genetik hastalıklar için, seçilmiş KPAH ailesindeki pek çok hasta multidisipliner müzakere sonrası finansal olarak uygun ve tıbbi olarak elverişli ise implantasyon öncesi genetik tanıyı tercih etmektedir. Fransa’da, günümüzde, genetik tanı KPAH’a neden olan yüksek penetrans BMPR2 mutasyonu taşıyan seçilmiş ailelere önerilmektedir. ^[57,58] Gebelik PAH için bir risk faktörü olduğundan, baba adayı mutasyon taşıyıcısı olan çiftlere genetik tanı önerilmektedir.

Genetik testler, PAH gelişimi için yüksek risk altındaki PAH’a neden olan mutasyonun semptomatik olmayan taşıyıcılarını belirlemeye izin verir. Mutasyon taşıyıcılarında hastalığın gelişimini önleyen kanıtlanmış bir girişim ya da tedavi mevcut değildir. Bu mutasyon taşıyıcılarında risk sınıflamasını geliştirecek

PAH penetransını modifiye eden ilişkili genetik veya çevresel faktörler halen bilinmemektedir. Bu nedenle, genetik testler akrabalar arasında mutasyon taşıyıcısı olmayan ve kalıtsal hastalık için artmış riski olmayan bireylerin etkin şekilde belirlenmesini sağlayacak ve olasılıkla belirgin bir rahatlama oluşturacaktır; ancak mutasyon taşıyıcıları, hekim hangi hastanın hangi zamanda hastalık geliştireceğini belirleyemeyeceğinden pek çok belirsizlik ile karşı karşıya kalacaktır. Günümüzde böyle hastalara egzersiz dispnesi gibi belirtiler için acil değerlendirme ile birlikte yıllık Doppler ile ekokardiyografi takibi önerilmektedir. Asemptomatik akrabalarındaki pozitif ya da negatif genetik sonuçların fizyolojik etkisi nedeniyle presemptomatik genetik danışma pulmoner hipertansiyon uzmanı, genetik danışman, fizyolog ve hemşireden oluşan multidisipliner bir takım eşliğinde sağlanmalıdır.

Fransa’da, mutasyon taşıyıcılarının 200 kadar akrabası presemptomatik genetik test için gönüllü olmuştur. Bu onlarca asemptomatik BMPR2 mutasyon taşıyıcısının tanımlanmasını sağladı. Devam eden bir çalışma bu kohortta presemptomatik tarama ve takibin etkinliğini değerlendirmektedir. Bu çalışmada tüm taşıyıcılara yıllık egzersiz testi, Doppler ekokardiyografi, dolaşımdaki biyobelirteçlerin ölçümü (ve istirahat ve egzersiz sağ kalp kateterizasyonu) dahil tam teşekküllü değerlendirme yapılmaktadır (NCT01600898). Uzun dönem takip, araştırmacılara, presemptomatik BMPR2 mutasyonu taşıyıcılarında PAH’a ilerlemenin öngördürücülerini tespit etme olanağı sağlayabilecektir. Bu aktif monitorizasyon yaklaşımı araştırma amaçlı kalmaktadır ve gelecek kılavuzların düzenlenmesine yardımcı olabilir.

Birleşik Devletler’de, hekimler, PAH hastaları, ve onların aile üyeleri çeşitli nedenlerden dolayı oldukça nadir olarak presemptomatik genetik test yapılmasını benimsemiştir. Birincisi, genetik testler nispeten pahalıdır. İkincisi, pozitif (anksiyete ve depresyon) ya da negatif (etkilenmemişliğin suçluluğu) testin fizyolojik etkisi bazı bireyler için önemlidir. Bu etkiler, kendi mutasyon durumlarını bilmek istemeyen aile bireyleri için istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Üçüncüsü, Birleşik Devletler’de Genetik Bilgi Korunması Yasası (Genetic Information Non-Discrimination Act (GINA) (HR 493)) pasajına rağmen genetik bilgiyi ortaya çıkarmada endişeler devam etmektedir. GINA sigortacılar ve işverenlerce genetik bilginin ortaya çıkarılmasından korusa da, GINA korumalarında halen

boşluklar mevcuttur (ör: hayat sigortası, engelli ya da uzun dönem sigorta başvurularında). Zıt olarak, Pulmoner Hipertansiyon Fransız Ağı geçtiğimiz 10 yıl içinde ücretsiz genetik danışma için gönüllü 1000'den fazla bireye genetik danışma başlattı (M. Humbert, personal communication, June 2013).

Bir Alman konsept kanıtı yaklaşımı^[59] ve Avrupa Birliği'nde daha büyük bir çalışma, aile üyelerinin istirahat, egzersiz ve hipoksi sırasında Doppler ekokardiyografi ile değerlendirilmesi ile egzersiz ve hipokside kontrol grubuna göre bu hastalarda özellikle de indeks hastalarla birlikte BMPR2 mutasyonu taşıyan akrabalarda belirgin şekilde daha yüksek sıklıkta artmış triküspit yetersizlik velositesi izlendiğini açığa çıkarmıştır.^[60] Bu, egzersiz ve hipoksiye yükselmiş hesaplanmış pulmoner arter basıncı ailesel kümelenmede genetik olarak tespit edilebilir. İPAH ve KPAH hastalarının akrabalarında invaziv olmayan değerlendirmenin klinik değerini analiz etmek ve bu kohort için bir erken tanı algoritması geliştirebilmek için ileri çalışmalar gerekmektedir.

Pulmoner arteriyel hipertansiyon genomikleri

PAH'ın altında yatan genetik varyasyonlar ve mutasyonların araştırılmasının yanında, mümkün olduğunda akciğer dokusunun veya özel hücre tiplerinin veya dolaşımdaki kan hücrelerinin moleküler incelemesi hastalığa ilişkin mekanizmalarla ilgili önemli bilgiler sağlayacaktır.

Pulmoner arteriyel hipertansiyon akciğerlerinde somatik genetik değişiklikler-

Geçtiğimiz dekatta PAH patogenezinin neoplastik benzeri bir süreç olduğu hipotezini geliştirmek için önemli kanıtlar birikmiştir.^[61-63] İdiyopatik ve anoreksijen PAH vakalarının akciğerlerindeki pleksiform lezyonların mikrodiseksiyonu endotel hücrelerinin monoklonal X-inaktivasyon paterni olduğunu göstermiştir.^[62,64] Bazı lezyonlar, aynı zamanda, mikrosatelit kararsızlık, herediter nonpoliposis kolon kanserinin bir belirteci ve apoptozis düzenleyici BAX'da mutasyonlar göstermektedir.^[65] Pulmoner arter endotel hücrelerinde (PAEH) ve pulmoner artrüz kas hücrelerinde (PADKH) gözlenen pek çok normal özellikler artmış proliferasyon, azalmış apoptozis, hipoksi ile indüklenen faktör -1-alfa aktivasyonu, mitokondriyal bozukluklar ve oksidatif metabolizmadan glikolitik metabolizmaya kayma dahil olmak üzere kanser analogudur.^[66-72]

Kopya sayısı varyasyonlarının değerlendirilmesi için TNP tahlillerinin veya karşılaştırmalı genomik hibridizasyon tahlil verilerinin kullanımı PAH için önemli bilgiler sağlayabilir. PAH hastalarının hiperproliferatif PAEH ve PADKH'lerinin analizi endotel hücrelerinde hastaların akciğer dokusunda floresan in situ hibridizasyon ile doğrulanmış geniş skalada genomik değişiklikler tanımlamıştır.^[73] Germline BMPR2 mutasyonu olan hastalarda ikinci bir genetik vuruşun ilk kanıtı olacak ve aynı zamanda hastalığın farklı tiplerinde somatik değişikliklerin görülebileceğini destekler şekilde anormallikler kalıtsal, idiyopatik ve ilişkili PAH vakalarında tespit edilmiştir. Ancak, BMPR2 lokusunda heterozigozitenin doğrudan kaybı için kanıt bulunmamaktadır.^[74] Bazı vakalarda, sitogenetik anormal subklon edinilmesi öncesinde dahi PAEH'ler klonal gibi görünmektedir.^[73] Bu altta yatan farklı bir genetik mutasyonu ya da kromozom yeniden düzenlenmesi için başka sıkıntılı varlığını destekler, hipotez ile iyi örtüşen bir bulgu endotel apoptozisinin PAH'ın erken evrelerinde proliferatif, apoptoza dirençli hücrelerde seçim yapılmasına yol açmasıdır.^[75]

PADKH proliferasyonu da kromozom anormallikleri insidansı PAEH'lerinden daha düşük dursa da PAH'da vasküler yeniden şekillenmenin kritik bir bileşenidir.^[62] Bu farklar için nedenler günümüzde açık değildir.

Bu çalışmalar için bir kısıtlılık, son dönem hastalığı temsil eden eksplante edilmiş ya da otopside elde edilmiş akciğer dokularına olan gerekliliğidir. Ancak, erken evre PAH'dan akciğer biyopsisi ile doku elde etmek uygulanabilir değildir. Bir diğer önemli husus bu anormalliklerin in vitro hücre kültüründeki basit artefaktlar olmadığının gösterilmesidir. Kültür yapılmamış akciğer dokusunda floresan in situ hibridizasyon ile 2 kromozom delesyonlarının doğrulanması ve kistik fibrozis veya kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalardan eksplante edilmiş akciğer hücrelerinden veya pek çok kontrol grubunda herhangi bir tespit edilebilir anormalliklerin olmayışı dahil bir seri kanıt buna karşı çıkmaktadır.^[73]

mRNA ekspresyonu çalışmaları-

Aciğer dokusundaki erken ekspresyon çalışmaları küçük örneklem büyüklüğü nedeniyle sınırlanmıştır. Dolaşımdaki dokularda (periferik kan) alternatif stratejiler transkripsiyonel profil çıkarma imkanını

öne sürmüştür.^[76] “Tek başına skleroderma”yı “sistemik skleroz ilişkili PAH” hastalarından ayırt etmek için dizi temelli sınıflama için kohort büyüklüğünü genişletmenin ve iyi tanımlanmış fenotiplerin kullanılmasının etkinliği kan ve belirteçler ile gösterilmiştir.^[77] Akciğer dokusu gen profillerini incelerken geniş, iyi tanımlanmış kohortların kullanılmasında açık yarar vardır. Çeşitli yeni çaba bu yaklaşıma odaklanmıştır. Daha büyük akciğer dokusu örneklerinin dizi analizi pulmoner hipertansiyon ve pulmoner fibrozis arasında benzer yolak kesintileri göstermiştir.^[78] Belki bugüne kadarki akciğer dokusu mikroarray profili bunu göstermiş olsa da, pulmoner fibrozis hastalarında pulmoner hipertansiyon varlığı hem araştırma hem test algoritmasında özel bir gen ekspresyonu ile karakterize edilmektedir.^[79]

Hücre temelli ekspresyon çalışmaları seçilmiş hücre popülasyonlarında farklılıkların tespit edilmesinin yanı sıra seçilmiş yolakların özelliklerinin belirlenmesinde faydalıdır. Sistemik skleroz ilişkili PAH için, PAH olan ve PAH olmayan sistemik skleroz hastalarından elde edilen pulmoner fibroblastlar ve akciğer dokusu karakteristik gen ekspresyon işaretçileri göstermiştir.^[80] Global gen ekspresyonu işaretçilerini kullanan çeşitli çalışmalar BMPR2 eksikliğietkileri dahil daha güçlü yolakların analizlerini tanımlamıştır.^[81] İnterlökin (İL)-13’ün PAH patobiyolojisindeki rolü dizi oluşturma veri bazında^[82] ve hayvan modeli çalışmalarında araştırılmaktadır.^[83] Apelin ve peroksizom proliferatör aktive reseptör gama gibi potansiyel yeni tedavi hedefleri geniş olarak dizi temelli platformlarda çalışılmıştır.^[84,85] Tüm genomik yaklaşımların yeni sistem bazlı analiz yaklaşımlarından yararlanması önemli bir güçlüktür. Tüm ilişkili bilgilerin pulmoner vasküler hastalık sistem modeline eklemek kıymetli bilgiler sağlayacaktır.^[86]

Pulmoner arteriyel hipertansiyonda miRNA’ların rolü-

Mikroribonükleik asitler (miRNAs); RNA’nın küçük, kodlama yapmayan, pek çok geni, yolağı ve hücreler arası karmaşık biyolojik ağları düzenleme kapasitesi olan tek başına veya bir diğeri ile birlikte hareket eden sekanslarıdır.^[87] Kanseri ve kardiyak hastalıklar gibi hastalıklarda, hastalık patogeneğinde miRNA’nın rolü iyi tanımlanmıştır.^[88] Kardiyovasküler hastalıklarda miRNA teknolojilerinin ve terapötik potansiyelleri Small and Olson^[89] tarafından özetlenmiştir. PAH merkezlerinde miRNA’lar için mekanis-

tik çalışmalar ve potansiyel terapötik etkiler en geniş evrensel araştırma miR-204 üzerine gerçekleştirilmiştir.^[90] Bu çalışmada, araştırmacılar aktive T hücre nükleer faktör aktivasyonu, BMPR2 aşağı regülasyonu, IL-6 üretimi, Rho yolağı, PADKH proliferasyonu ve apoptozise direnç gibi bilinen PAH patofizyolojik sürecine anormal miRNA ekspresyonunu bağlayan bir model sağladılar. Bu çalışma yalnızca miRNA’ların PAH’daki önemini göstermekle kalmamış aynı zamanda normal mi-204 seviyelerinin yeniden sağlanmasının insan PAH tedavisinde yeni bir terapötik hedef olabileceğini göstermiştir.^[90] Brock ve ark.^[91] BMPR2’nin miR-17-5p ve miR-20a tarafından doğrudan hedeflediğini ve IL-6’nın STAT3 indüksiyonu üzerinden miR-17/92’yi indüklediğini göstermiştir. miR17/92’nin tetikleyici bölgesindeki oldukça korunmuş ve fonksiyonel STAT3 bağlanma bölgesi bulunmuştur ve STAT3’ün ısrarcı aktivasyonu BMPR2 protein ekspresyonunda baskılanmaya yol açar.^[91]

BMP/TGF-β sinyal yolu kendi başına pek çok farklı miRNA’yı BMP ligandına cevap olarak uygun miRNA yukarı regülasyonunu sağlayan SMAD ve primer miRNA transkripti arasında iletişim üzerinden düzenler.^[92] Bu cevap BMPR2 veya SMAD9 mutasyonları olan hastalardan elde edilen akciğer vasküler hücrelerinde anormal miRNA regülasyonunun KPAH’da önemli bir rol oynadığını destekleyecek şekilde kaybolmuştu.^[4] Bir sistemlerin biyolojisi yaklaşımı bu BMP aracılı yolak ile düzenlenen miRNA’lardan birinde miR21 için merkezi bir rolü desteklemektedir.^[93] KPAH hücrelerinde miRNA anormallikleri hücre yüzeyinde BMPR-II protein miktarının artırılması ile ya da BMPR2 veya SMAD9’daki nonsense mutasyonların okuma domeynlerinin teşviki ile düzeltilebilir.^[94,95] Bu yaklaşımlar tıpkı diğer BMP sinyal yaklaşımları gibi birden çok miRNA seviyelerinin düzeltilmesinde avantaj sağlayabilir, bu nedenle KPAH’da terapötik yaklaşımlar açısından ümit vericidir. Pulmoner hipertansiyon insan dokularında ve hayvan modellerinde yapılmış diğer çalışmalar miR-17-92 kümesi ve miR-145 dahil ek miRNA’lara işaret etmiştir.^[91,96,97]

Toplam miRNA ekspresyonunu değerlendiren çeşitli yöntemler mevcuttur ve hem dizi tabanlı hem de polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı yöntemler “bilinen” miRNA sekanslarına dayanarak yanlı yöntemler olarak görünmektedirler. miRNA işlemleri miRNA sekanslarında değişikliği ile sonuçlanabildiğinden, en

yanlı olmayan ve artan şekilde benimsenen yöntem küçük RNA türlerini hedefleyen masif paralel sekanslama stratejilerinin kullanılmasıdır.

Epigenetik düzenlemeler ve pulmoner hipertansiyon-

Epigenetik özellikler kromozomda deoksiribonükleik asit sekanslarında bir değişiklik olmaksızın gerçekleşen değişikliklerden kaynaklanan kararlı kalıtsal fenotiplerdir.^[98] Epigenetik değişikliklerin, farklılaşmış hücrelerin farklı bir hücre kaderi ile sonuçlandığı hücresel yeniden programlamaya yol açtığı düşünülmektedir. Bu düşünce, pulmoner hipertansiyonda PA-EH'lerin, PADKH'lerin ve adventisyel fibroblastların proliferasyon, apoptozise direnç, metabolik dönüşüm ve proinflatuar gen ekspresyonu gibi özelliklerinin belirgin olarak değiştiğinin gösterildiği gözlemlerle uyumludur. Yeni çalışmalar, pulmoner hipertansiyon sıçan modelinde süperoksit dismutaz-2 aşağı regülasyonunun SOD2 promotör ve intronik enhancer 2 CpG pozisyonunda dokuya özgün hipermetilasyonundan kaynaklandığını göstermiştir.^[99] Epigenetik çalışmalar için bir diğer aday da germ mutasyonu yokluğunda dahi pek çok PAH akciğerinde belirgin aşağı regüle edilmiş BMPR2'dir.^[78,100]

Çeşitli proteinlerde lizin rezidülerinden asetil gruplarının uzaklaştırılmasını histon deasetilaz katalizler. HDAC'ler nükleozomal histonları desasetilasyon ile gen transkripsiyonunu regüle ettikleri kromatin bağlamında çalışılmaktadır. Onsekiz memeli HDAC'leri 4 sınıfa gruplandırılmıştır.^[101] HDAC'lerin disregülasyonu kanser ve romatoid artiritte inflamatuvar yollar dahil çeşitli patofizyolojik süreçler ile ilişkilidir.

Sınıf 1 HDAClerin, özellikle de HDAC1'in ekspresyonu pulmoner hipertansiyon olan insan pulmoner arterlerinde ve pulmoner hipertansif modellerin akciğerlerinde ve damarlarında dramatik şekilde artmıştır. Bu bulgular temelinde, güncel çalışmalar pulmoner hipertansiyon patogenezinde sınıf 1 HDAClerin rolünü işaret etmeye başlamıştır. Üç haftalık hipobarik hipoksi sıçan modelinde, seçici sınıf 1 HDAC inhibitörü MGCD0103, PADKH proliferasyonunun baskılanmasının dahil olduğu mekanizma üzerinden pulmoner arter basıncını düşürmüştür.^[102] MGCD0103'ün antiproliferatif etkileri kısmen, FoxO3a transkripsiyon faktöründe yukarı regülasyona ve p27 siklin bağımlı kinaz inhibitörünü kodlayan gende aşağı yönlü indüksiyona bağlı gerçekleşmiştir.

İlaveten, HDAC inhibitörlerinin kardiyak hipertrofi ve fibrozisi azaltmak için kullanılabileceği giderek daha aşikar hale gelmektedir.^[103]

Sonuçlar

PAH gelişimi sırasında oluşan patofizyolojik değişiklikler ileri derecede karmaşıktır ve olasılıkla hücrede proliferatif ve metabolik değişikliklere yol açan gen ekspresyonunda değişikliğe neden olan pek çok genetik ve epigenetik mekanizmayı içermektedir. Bugüne kadar, tüm yaklaşımlar parça parça olmuştur ve hastalık gelişimine bütünsel bakışa izin vermemektedir. Genomik, metabolomik ve proteomik dahil yeni yüksek verimli teknikler bir hastada ve farklı hücrelerde ve biyolojik sıvılarda hızla uygulanabilir ve hastalık ilerledikçe tekrarlanabilir. Böyle bir yaklaşım 1 birey için tanımlanmıştır ve faydalı bilgiler sağlamıştır.^[104] Böyle bir yaklaşım, özellikle de BMPR2 mutasyonu taşıyıcılarında hastalığın anlaşılması ve değerlendirilmesi için paha biçilmezdir. Aynı zamanda, seçilmiş ailelerde yeni nesil sekanslamasının PAH'ın kalıtsal formlarında rol alan önemli genleri tespit edeceğini beklemekteyiz. Her ne kadar yeni PAH genlerinin tanımlanması büyük oranda hasta için geçerli olamayacaksa da, patogenezin anlaşılmasında ve tedavi için yeni hedefler belirlenmesinde yeni bulguların desteği olacaktır. Aynı şekilde, büyük, iyi tanımlanmış PAH gruplarının analizlerinde yaygın varyasyonlar tespit edilmiştir ve bu genom çapı ilişkili çalışmaların replikasyonu ve uzantıları PAH'ın genetik görünümünün tanımlanmasına katkıda bulunacaktır.

Dr. Machado Actelion ve United Therapeutics'ten kurumsal destek fonu almış olup United Therapeutics ve Gilead'ın danışma kurulundadır. Dr. Grünig, Bayer Healthcare, Actelion, GlaxoSmithKline, Eli Lilly, Novartis, United Therapeutics, Alexion ve Pfizer'in danışma kurullarında görev üstlenmiş; Bayer Healthcare Pharmaceuticals, Actelion, GlaxoSmithKline, Eli Lilly, Novartis, United Therapeutics, Pfizer ve Alexion'dan danışmanlık ve konferans ücretleri almıştır. Dr. Geraci Uçuş Personeli Tıbbi Araştırma Enstitüsü Tıbbi Danışma Kurulunda (Medical Advisory Board for Flight Attendants Medical Research Institute) görev almıştır. Dr. Elliott, Actelion, Bayer, GeNO, Gilead, Ulusal Sağlık Enstitüleri (National Institutes of Health) ve United Therapeutics'den araştırma fonları alan ve Sorumlu Araştırmacı olduğu 'Intermountain Healthcare' tarafından istihdam edilmiştir. Ayrıca, Ikaria, CoTherix ve Boehringer

Ingelheim'dan huzur hakkı ve/veya danışmanlık ücretleri almıştır. Dr. Humbert, Actelion, Aires, Bayer, GlaxoSmithKline, Novartis ve Pfizer'i ilgilendiren çalışmalarda bilimsel danışma kurulu üyesi ve araştırmacı olarak görev üstlenmiştir. Diğer yazarların tümü bu makalenin içeriğiyle ilişkili olarak açıklayacakları herhangi bir bağlantıları olmadığını bildirmiştir.

KAYNAKLAR

- Machado RD, Eickelberg O, Elliott CG, et al. Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54: S32–42.
- Harrison RE, Flanagan JA, Sankelo M, et al. Molecular and functional analysis identifies ALK-1 as the predominant cause of pulmonary hypertension related to hereditary haemorrhagic telangiectasia. *J Med Genet* 2003;40:865–71.
- Shintani M, Yagi H, Nakayama T, Saji T, Matsuoka R. A new nonsense mutation of SMAD8 associated with pulmonary arterial hypertension. *J Med Genet* 2009;46:331–7.
- Drake KM, Zygmunt D, Mavrikakis L, et al. Altered MicroRNA processing in heritable pulmonary arterial hypertension: an important role for Smad-8. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:1400–8.
- Nasim MT, Ogo T, Ahmed M, et al. Molecular genetic characterization of SMAD signaling molecules in pulmonary arterial hypertension. *Hum Mutat* 2011;32:1385–9.
- Huang Z, Wang D, Ihida-Stansbury K, Jones PL, Martin JF. Defective pulmonary vascular remodeling in Smad8 mutant mice. *Hum Mol Genet* 2009;18:2791–801.
- Chida A, Shintani M, Nakayama T, et al. Missense mutations of the BMPR1B (ALK6) gene in childhood idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circ J* 2012;76:1501–8.
- Long L, Crosby A, Yang X, et al. Altered bone morphogenetic protein and transforming growth factor-beta signaling in rat models of pulmonary hypertension: potential for activin receptor-like kinase-5 inhibition in prevention and progression of disease. *Circulation* 2009; 119:566–76.
- Ma L, Roman-Campos D, Austin ED, et al. A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2013;369:351–61.
- Patel AJ, Honore E, Lesage F, Fink M, Romey G, Lazdunski M. Inhalational anesthetics activate two-pore-domain background K_s channels. *Nat Neurosci* 1999;2:422–6.
- Hartness ME, Lewis A, Searle GJ, O'Kelly I, Peers C, Kemp PJ. Combined antisense and pharmacological approaches implicate hTASK as an airway O(2) sensing K(ş) channel. *J Biol Chem* 2001; 276:26499–508.
- Olschewski A, Li Y, Tang B, et al. Impact of TASK-1 in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Circ Res* 2006;98:1072–80.
- Osipenko ON, Evans AM, Gurney AM. Regulation of the resting potential of rabbit pulmonary artery myocytes by a low threshold, O₂-sensing potassium current. *Br J Pharmacol* 1997;120:1461–70.
- Grunig E, Koehler R, Miltenberger-Miltenyi G, et al. Primary pulmonary hypertension in children may have a different genetic background than in adults. *Pediatr Res* 2004;56:571–8.
- Koehler R, Grunig E, Pauculo MW, et al. Low frequency of BMPR2 mutations in a German cohort of patients with sporadic idiopathic pulmonary arterial hypertension. *J Med Genet* 2004;41:e127.
- Pfarr N, Fischer C, Ehlken N, et al. Hemodynamic and genetic analysis in children with idiopathic, heritable, and congenital heart disease associated pulmonary arterial hypertension. *Respir Res* 2013;14:3.
- Greenwood RD, Nadas AS. The clinical course of cardiac disease in Down's syndrome. *Pediatrics* 1976;58:893–7.
- Rowland TW, Nordstrom LG, Bean MS, Burkhardt H. Chronic upper airway obstruction and pulmonary hypertension in Down's syndrome. *Am J Dis Child* 1981;135:1050–2.
- Vida VL, Padalino MA, Boccuzzo G, et al. Scimitar syndrome: a European Congenital Heart Surgeons Association (ECHSA) multicentric study. *Circulation* 2010;122:1159–66.
- Tinker A, Uren N, Schofield J. Severe pulmonary hypertension in Ullrich-Noonan syndrome. *Br Heart J* 1989;62:74–7.
- Patel MS, Taylor GP, Bharya S, et al. Abnormal pericyte recruitment as a cause for pulmonary hypertension in Adams-Oliver syndrome. *Am J Med Genet A* 2004;129A:294–9.
- Piazza AJ, Blackston D, Sola A. A case of Adams-Oliver syndrome with associated brain and pulmonary involvement: further evidence of vascular pathology? *Am J Med Genet A* 2004;130A:172–5.
- Montani D, Coulet F, Girerd B, et al. Pulmonary hypertension in patients with neurofibromatosis type I. *Medicine (Baltimore)* 2011;90: 201–11.
- Stewart DR, Cogan JD, Kramer MR, et al. Is pulmonary arterial hypertension in neurofibromatosis type 1 secondary to a plexogenic arteriopathy? *Chest* 2007;132:798–808.
- Kobayashi M, Kondo M, Mitsui Y. establishment of human endothelial cell lines in a serum-free culture and its application for expression of transfected prepro endothelin gene. *Hum Cell* 1991;4:296–305.
- Alghamdi MH, Steinrath M, Panagiotopoulos C, Potts JE, Sandor GG. Primary pulmonary arterial hypertension and autoimmune polyendocrine syndrome in a pediatric patient. *Pediatr Cardiol* 2010;31:872–4.
- Sproule DM, Dyme J, Coku J, et al. Pulmonary artery hypertension in a child with MELAS due to a point mutation of the mitochondrial tRNA((Leu)) gene (m.3243A > G). *J Inherit Metab Dis* 2008 Jan 7 [E-pub ahead of print].
- Lo SM, Liu J, Chen F, et al. Pulmonary vascular disease in Gaucher disease: clinical spectrum, determinants of phenotype and long-term outcomes of therapy. *J Inherit Metab Dis* 2011;34:643–50.
- Lee TM, Berman-Rosenzweig ES, Slonim AE, Chung WK.

- Two cases of pulmonary hypertension associated with type III glycogen storage disease. *JIMD Rep* 2011;1:79–82.
30. Engel PJ, Baughman RP, Menon SG, Kereiakes DJ, Taylor L, Scott M. Pulmonary hypertension in neurofibromatosis. *Am J Cardiol* 2007;99:1177–8.
 31. Nimmakayalu M, Major H, Sheffield V, et al. Microdeletion of 17q22q23.2 encompassing TBX2 and TBX4 in a patient with congenital microcephaly, thyroid duct cyst, sensorineural hearing loss, and pulmonary hypertension. *Am J Med Genet A* 2011;155A: 418–23.
 32. Kerstjens-Frederikse WS, Bongers EM, Roofthoof MT, et al. TBX4 mutations (small patella syndrome) are associated with childhood-onset pulmonary arterial hypertension. *J Med Genet* 2013;50:500–6.
 33. Germain M, Eyries M, Montani D, et al. Genome-wide association analysis identifies a susceptibility locus for pulmonary arterial hypertension. *Nat Genet* 2013;45:518–21.
 34. Newman JH, Phillips JA 3rd, Loyd JE. Narrative review: the enigma of pulmonary arterial hypertension: new insights from genetic studies. *Ann Intern Med* 2008;148:278–83.
 35. Heath SC, Gut IG, Brennan P, et al. Investigation of the fine structure of European populations with applications to disease association studies. *Eur J Hum Genet* 2008;16:1413–29.
 36. West J, Cogan J, Geraci M, et al. Gene expression in BMPR2 mutation carriers with and without evidence of pulmonary arterial hypertension suggests pathways relevant to disease penetrance. *BMC Med Genomics* 2008;1:45.
 37. Tofovic SP, Zhang X, Jackson EK, Zhu H, Petrusavska G. 2-methoxyestradiol attenuates bleomycin-induced pulmonary hypertension and fibrosis in estrogen-deficient rats. *Vascul Pharmacol* 2009;51:190–7.
 38. Tofovic SP, Zhang X, Zhu H, Jackson EK, Rafikova O, Petrusavska G. 2-Ethoxyestradiol is antimitogenic and attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension and vascular remodeling. *Vascul Pharmacol* 2008;48:174–83.
 39. Paulin R, Michelakis ED. The estrogen puzzle in pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2012;126:1016–9.
 40. White K, Johansen AK, Nilsen M, et al. Activity of the estrogen-metabolizing enzyme cytochrome P450 1B1 influences the development of pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2012;126: 1087–98.
 41. Paulus JK, Roberts KE. Oestrogen and the sexual dimorphism of pulmonary arterial hypertension: a translational challenge. *Eur Respir J* 2013;41:1014–6.
 42. Flynn C, Zheng S, Yan L, et al. Connectivity map analysis of nonsense-mediated decay-positive BMPR2-related hereditary pulmonary arterial hypertension provides insights into disease penetrance. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012;47:20–7.
 43. Mushaben EM, Hershey GK, Pauculo MW, Nichols WC, Le Cras TD. Chronic allergic inflammation causes vascular remodeling and pulmonary hypertension in BMPR2 hypomorph and wild-type mice. *PLoS One* 2012;7:e32468.
 44. Park SH, Chen WC, Hoffman C, Marsh LM, West J, Grunig G. Modification of hemodynamic and immune responses to exposure with a weak antigen by the expression of a hypomorphic BMPR2 gene. *PLoS One* 2013;8:e55180.
 45. Austin ED, Cogan JD, West JD, et al. Alterations in oestrogen metabolism: implications for higher penetrance of familial pulmonary arterial hypertension in females. *Eur Respir J* 2009;34:1093–9.
 46. Sztrymf B, Coulet F, Girerd B, et al. Clinical outcomes of pulmonary arterial hypertension in carriers of BMPR2 mutation. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177:1377–83.
 47. Runo JR, Vnencak-Jones CL, Prince M, et al. Pulmonary venoocclusive disease caused by an inherited mutation in bone morphogenetic protein receptor II. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167: 889–94.
 48. Montani D, Achouh L, Dorfmueller P, et al. Pulmonary venoocclusive disease: clinical, functional, radiologic, and hemodynamic characteristics and outcome of 24 cases confirmed by histology. *Medicine (Baltimore)* 2008;87:220–33.
 49. Montani D, Price LC, Dorfmueller P, et al. Pulmonary venoocclusive disease. *Eur Respir J* 2009;33:189–200.
 50. Girerd B, Montani D, Coulet F, et al. Clinical outcomes of pulmonary arterial hypertension in patients carrying an ACVRL1 (ALK1) mutation. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:851–61.
 51. Elliott CG, Glissmeyer EW, Havlena GT, et al. Relationship of BMPR2 mutations to vasoreactivity in pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2006;113:2509–15.
 52. Liu D, Liu QQ, Eyries M, et al. Molecular genetics and clinical features of Chinese idiopathic and heritable pulmonary arterial hypertension patients. *Eur Respir J* 2012;39:597–603.
 53. Pfarr N, Szamalek-Hoegel J, Fischer C, et al. Hemodynamic and clinical onset in patients with hereditary pulmonary arterial hypertension and BMPR2 mutations. *Respir Res* 2011;12:99.
 54. Larkin EK, Newman JH, Austin ED, et al. Longitudinal analysis casts doubt on the presence of genetic anticipation in heritable pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 186:892–6.
 55. Badesch DB, Abman SH, Simonneau G, Rubin LJ, McLaughlin VV. Medical therapy for pulmonary arterial hypertension: updated ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2007;131: 1917–28.
 56. McLaughlin VV, Archer SL, Badesch DB, et al. ACCF/AHA 2009 expert consensus document on pulmonary hypertension: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents and the American Heart Association: developed in collaboration with the American College of Chest Physicians, American Thoracic Society, Inc., and the Pulmonary Hypertension Association. *Circulation* 2009;119:2250–94.
 57. Frydman N, Steffann J, Girerd B, et al. Pre-implantation genetic diagnosis in pulmonary arterial hypertension due to BMPR2 mutation. *Eur Respir J* 2012;39:1534–5.

58. Hamid R, Loyd J. Pre-implantation genetic testing for hereditary pulmonary arterial hypertension: promise and caution. *Eur Respir J* 2012;39:1292–3.
59. Grunig E, Janssen B, Mereles D, et al. Abnormal pulmonary artery pressure response in asymptomatic carriers of primary pulmonary hypertension gene. *Circulation* 2000;102:1145–50.
60. Gruenig E, Michelakis E, Vachieri JL, et al. Acute hemodynamic effects of single-dose sildenafil when added to established bosentan therapy in patients with pulmonary arterial hypertension: results of the COMPASS-1 study. *J Clin Pharmacol* 2009;49:1343–52.
61. Humbert M, Hoeper MM. Severe pulmonary arterial hypertension: a forme fruste of cancer? *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178: 551–2.
62. Lee SD, Shroyer KR, Markham NE, Cool CD, Voelkel NF, Tudor RM. Monoclonal endothelial cell proliferation is present in primary but not secondary pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 1998;101:927–34.
63. Rai PR, Cool CD, King JA, et al. The cancer paradigm of severe pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178:558–64.
64. Tudor RM, Radisavljevic Z, Shroyer KR, Polak JM, Voelkel NF. Monoclonal endothelial cells in appetite suppressant-associated pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158: 1999–2001.
65. Yeager ME, Halley GR, Golpon HA, Voelkel NF, Tudor RM. Microsatellite instability of endothelial cell growth and apoptosis genes within plexiform lesions in primary pulmonary hypertension. *Circ Res* 2001;88:E2–11.
66. Archer SL, Gomberg-Maitland M, Maitland ML, Rich S, Garcia JG, Weir EK. Mitochondrial metabolism, redox signaling, and fusion: a mitochondria-ROS-HIF-1 α -Kv1.5 O₂-sensing pathway at the intersection of pulmonary hypertension and cancer. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H570–8.
67. Bonnet S, Michelakis ED, Porter CJ, et al. An abnormal mitochondrial-hypoxia inducible factor-1 α -Kv channel pathway disrupts oxygen sensing and triggers pulmonary arterial hypertension in fawn hooded rats: similarities to human pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2006;113:2630–41.
68. Fijalkowska I, Xu W, Comhair SA, et al. Hypoxia inducible factor1 α regulates the metabolic shift of pulmonary hypertensive endothelial cells. *Am J Pathol* 2010;176:1130–8.
69. Masri FA, Xu W, Comhair SA, et al. Hyperproliferative apoptosisresistant endothelial cells in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;293:L548–54.
70. Semenza GL. Involvement of hypoxia-inducible factor 1 in pulmonary pathophysiology. *Chest* 2005;128:592S–4S.
71. Tudor RM, Chacon M, Alger L, et al. Expression of angiogenesisrelated molecules in plexiform lesions in severe pulmonary hypertension: evidence for a process of disordered angiogenesis. *J Pathol* 2001;195:367–74.
72. Xu W, Koeck T, Lara AR, et al. Alterations of cellular bioenergetics in pulmonary artery endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104:1342–7.
73. Aldred MA, Comhair SA, Varella-Garcia M, et al. Somatic chromosome abnormalities in the lungs of patients with pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:1153–60.
74. Machado RD, James V, Southwood M, et al. Investigation of second genetic hits at theBMPR2 locus as a modulator of disease progression in familial pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2005;111:607–13.
75. Sakao S, Taraseviciene-Stewart L, Lee JD, Wood K, Cool CD, Voelkel NF. Initial apoptosis is followed by increased proliferation of apoptosis-resistant endothelial cells. *Faseb J* 2005;19:1178–80.
76. Bull TM, Coldren CD, Moore M, et al. Gene microarray analysis of peripheral blood cells in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:911–9.
77. Risbano MG, Meadows CA, Coldren CD, et al. Altered immune phenotype in peripheral blood cells of patients with sclerodermaassociated pulmonary hypertension. *Clin Transl Sci* 2010;3:210–8.
78. Rajkumar R, Konishi K, Richards TJ, et al. Genomewide RNA expression profiling in lung identifies distinct signatures in idiopathic pulmonary arterial hypertension and secondary pulmonary hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;298:H1235–48.
79. Mura M, Anraku M, Yun Z, et al. Gene expression profiling in the lungs of patients with pulmonary hypertension associated with pulmonary fibrosis. *Chest* 2012;141:661–73.
80. Hsu E, Shi H, Jordan RM, Lyons-Weiler J, Pilewski JM, Feghali-Bostwick CA. Lung tissues in patients with systemic sclerosis have gene expression patterns unique to pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension. *Arthritis Rheum* 2011;63:783–94.
81. Davies RJ, Holmes AM, Deighton J, et al. BMP type II receptor deficiency confers resistance to growth inhibition by TGF- β in pulmonary artery smooth muscle cells: role of proinflammatory cytokines. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012;302: L604–15.
82. Hecker M, Zaslona Z, Kwapiszewska G, et al. Dysregulation of the IL-13 receptor system: a novel pathomechanism in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:805–18.
83. Daley E, Emson C, Guignabert C, et al. Pulmonary arterial remodeling induced by a Th2 immune response. *J Exp Med* 2008;205:361–72.
84. Alastalo TP, Li M, Perez Vde J, et al. Disruption of PPAR γ /bcatenin- mediated regulation of apelin impairs BMP-induced Mouse and human pulmonary arterial EC survival. *J Clin Invest* 2011;121: 3735–46.
85. Tian J, Smith A, Nechtman J, et al. Effect of PPAR γ

- inhibition on pulmonary endothelial cell gene expression: gene profiling in pulmonary hypertension. *Physiol Genomics* 2009;40:48–60.
86. Loscalzo J, Kohane I, Barabasi AL. Human disease classification in the postgenomic era: a complex systems approach to human pathobiology. *Mol Syst Biol* 2007;3:124.
 87. Rupani H, Sanchez-Elsner T, Howarth P. MicroRNAs and respiratory diseases. *Eur Respir J* 2013;41:695–705.
 88. McDonald RA, Hata A, MacLean MR, Morrell NW, Baker AH. MicroRNA and vascular remodelling in acute vascular injury and pulmonary vascular remodelling. *Cardiovasc Res* 2012;93:594–604.
 89. Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 2011;469:336–42.
 90. Courboulain A, Paulin R, Giguere NJ, et al. Role for miR-204 in human pulmonary arterial hypertension. *J Exp Med* 2011;208:535–48.
 91. Brock M, Trenkmann M, Gay RE, et al. Interleukin-6 modulates the expression of the bone morphogenetic protein receptor type II through a novel STAT3-microRNA cluster 17/92 pathway. *Circ Res* 2009;104:1184–91.
 92. Davis BN, Hilyard AC, Lagna G, Hata A. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation. *Nature* 2008;454:56–61.
 93. Parikh VN, Jin RC, Rabello S, et al. MicroRNA-21 integrates pathogenic signaling to control pulmonary hypertension: results of a network bioinformatics approach. *Circulation* 2012;125:1520–32.
 94. Drake KM, Dunmore BJ, McNelly LN, Morrell NW, Aldred MA. Correction of nonsense BMPR2 and SMAD9 mutations by ataluren in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013;49:403–9.
 95. Dunmore BJ, Drake KM, Upton PD, Toshner MR, Aldred MA, MorrellNW. The lysosomal inhibitor, chloroquine, increases cell surface BMPR-II levels and restores BMP9 signalling in endothelial cells harbouring BMPR-II mutations. *Hum Mol Genet* 2013;22:3667–79.
 96. Caruso P, Dempsie Y, Stevens HC, et al. A role for miR-145 in pulmonary arterial hypertension: evidence from mouse models and patient samples. *Circ Res* 2012;111:290–300.
 97. Pullamsetti SS, Doebele C, Fischer A, et al. Inhibition of microRNA-17 improves lung and heart function in experimental pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;185:409–19.
 98. Bruneau BG. Epigenetic regulation of the cardiovascular system: introduction to a review series. *Circ Res* 2010;107:324–6.
 99. Archer SL, Weir EK, Wilkins MR. Basic science of pulmonary arterial hypertension for clinicians: new concepts and experimental therapies. *Circulation* 2010;121:2045–66.
 100. Atkinson C, Stewart S, Upton PD, et al. Primary pulmonary hypertension is associated with reduced pulmonary vascular expression of type II bone morphogenetic protein receptor. *Circulation* 2002;105:1672–8.
 101. Gregoretta IV, Lee YM, Goodson HV. Molecular evolution of the histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis. *J Mol Biol* 2004;338:17–31.
 102. Cavaşin MA, Demos-Davies K, Horn TR, et al. Selective class I histone deacetylase inhibition suppresses hypoxia-induced cardiopulmonary remodeling through an antiproliferative mechanism. *Circ Res* 2012;110:739–48.
 103. McKinsey TA. Therapeutic potential for HDAC inhibitors in the heart. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012;52:303–19.
 104. Chen R, Mias GI, Li-Pook-Than J, et al. Personal omics profiling reveals dynamic molecular and medical phenotypes. *Cell* 2012;148:1293–307.
- Anahtar sözcükler:** BMPR2; genetik; genomik; pulmoner hipertansiyon.
- Key words:** BMPR2; genetics; genomic; pulmonary hypertension.