

Mutacje w genie receptora typu 2 białka morfogenetycznego kości (BMPR 2) w pierwotnym nadciśnieniu płucnym

Mutations of the bone morphogenetic protein receptor 2 gene (BMPR 2) in primary pulmonary hypertension

Ala Foremny¹, Urszula Mazurek², Dorota Domal-Kwiatkowska³,
Sławomir Smolik³ i Wojciech Jacheć⁴

¹Kliniczny Oddział Kardiologii Szpitala Specjalistycznego w Zabrze

²Katedra i Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze

³Katedra i Zakład Biochemii Śląskiej Akademii Medycznej w Sosnowcu

⁴II Katedra i Kliniczny Oddział Kardiologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze

Wstęp

Pierwotne nadciśnienie płucne (PPH, *primary pulmonary hypertension*) jest chorobą charakteryzującą się przerostem mięśni gładkich w tętniczkach przedkapilarnych krążenia płucnego, prowadzącym do podwyższonego ciśnienia w tętnicy płucnej i wzrostu oporu naczyniowego. Nadciśnienie płucne stwierdza się, gdy średnie ciśnienie w tętnicy płucnej przekracza 25 mm Hg w spoczynku lub 30 mm Hg w czasie wysiłku. Pierwotne nadciśnienie płucne rozpoznaje się po wykluczeniu chorób powodujących podwyższenie ciśnienia w tętnicy płucnej. Jest to choroba rzadka, występuje z częstością 1–2 zachorowań na 1 mln mieszkańców na rok. Częściej dotyczy kobiet niż mężczyzn. Proporcje ocenia się na 1,7:1–3,5:1 [1, 2]. Ujawnia się w różnym wieku, najczęściej jednak u młodych kobiet, średnia wieku wynosi ok. 35 lat. Rokowanie w tej chorobie jest w większości przypadków złe. Średnie przeżycie od chwili wystąpienia objawów wynosi według różnych źródeł 2,5–4 lat [3, 4].

Badania wykazały, że PPH jest w przynajmniej części przypadków schorzeniem uwarunkowanym

genetycznie. Dziedziczone jest autosomalnie dominująco z 10–20-procentową penetracją [5]. Postać rodzinną stwierdza się w około 6% przypadków [1]. Liczba ta wydaje się zaniżona ze względu na małą penetrację schorzenia, brak znajomości całych rodzin pacjentów lub nieprawidłowe rozpoznania u innych członków rodzin. Słaba ekspresja genu może również powodować nieujawnianie się choroby w każdym pokoleniu [1, 5].

Badania molekularne ujawniły, że PPH wiąże się z mutacjami w obrębie genu kodującego receptora typu 2 dla białka morfogenetycznego kości (BMPR 2, *bone morphogenetic protein receptor 2*), należącego do nadrodziny transformujących czynników wzrostowych TGF- β (TGF- β , *transforming growth factor β*) [6, 7].

Nichols i wsp. [8] jako pierwsi w 1997 r. podali lokalizację genu w chromosomie 2. Ostatecznie w 2000 r. Machado i wsp. [9] określili obszar poszukiwanego genu w 2q33. W tym obszarze znaleziono m.in. gen kodujący BMPR 2. Jego związek z PPH udowodnili w 2000 r. Lane i wsp. [10], Deng i wsp. [11] oraz Thomson i wsp. [12].

Białka morfogenetyczne kości i ich receptory

Białka morfogenetyczne kości (BMP, *bone morphogenetic proteins*) należą do nadrodziny TGF- β , tworząc w niej największą podgrupę. Pierwotnie BMP odkryto jako białka regulujące wzrost i różni-

Adres do korespondencji: Lek. Ala Foremny
Kliniczny Oddział Kardiologii
ul. M. Curie-Skłodowskiej 10, 41–800 Zabrze
tel./faks (0 32) 271 10 10

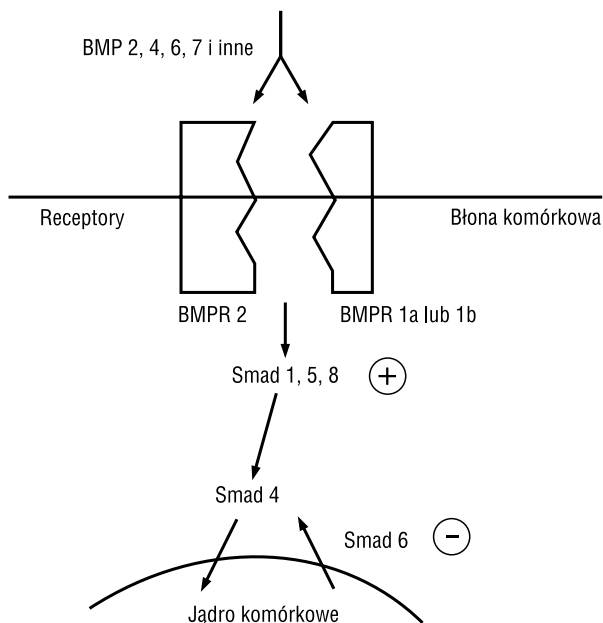
Nadesłano: 10.05.2004 r. Przyjęto do druku: 25.06.2004 r.

cowanie kości oraz chrząstek, stąd ich nazwa. Dalsze badania wykazały, że odgrywają one istotną rolę we wzroście, różnicowaniu i apoptozie wielu różnych tkanek, zarówno w embriogenezie, jak i w naprawie oraz wzroście tkanek u dorosłych [13]. Odkryto ponad 12 białek należących do rodziny BMP. Istotną funkcję w rozwoju naczyń krwionośnych pełnią BMP 2 i BMP 7 [14, 15]. Ich główne działania na naczynia krwionośne to hamowanie wzrostu, różnicowania komórek oraz stymulacja syntezy kolagenu. W przypadku wystąpienia mutacji może dochodzić do uszkodzenia szlaku działania BMP oraz wtórnie do utraty jego hamującej funkcji i do niekontrolowanego rozrostu komórek śródbłonna. Białka morfogenetyczne kości [3, 4, 7] biorą też udział w morfogenezie płuc, ich rola polega głównie na hamowaniu poszczególnych etapów rozwoju płuc. Przy zaburzeniu równowagi między czynnikami pobudzającymi i hamującymi dochodzi do zaburzeń w procesie rozwoju płuc [16].

Receptory dla BMP należą do grupy receptorów związanych z kinazą serynowo-treoninową. Wyróżnia się 2 grupy receptorów dla BMP: typu 1 (2 podtypy: BMPR 1a i BMPR 1b) oraz typu 2 (BMPR 2). Przekazywanie sygnału przez BMP odbywa się przez jednoczesne połączenie się z receptorem typu 1 i 2. Oba receptory tworzą wspólne miejsce wiążące. Wykazano, że oba typy receptorów tworzą między sobą homo- i heterometryczne kompleksy, co znacznie rozszerza zakres i możliwość ich działania [17, 18]. Pobudzenie receptora powoduje fosforylację cytoplazmatycznych czynników transkrypcyjnych opisywanych w literaturze jako Smad. Dotychczas poznano 9 typów Smad. Poprzez receptory dla BMP rozpoznawane i aktywowane są Smad 1, 5 i 8, które fosforylują Smad 4. Kompleksy Smad wędrują do jądra komórkowego i tam poprzez specyficzne białka wiążące DNA wpływają na transkrypcję odpowiednich genów [19]. Hamująco na ten układ działa Smad 6, blokuje bowiem Smad 4 ufosforylowane na szlaku działania BMP [13, 17]. Ostateczny efekt komórkowy zależy od typu liganda i receptora, docierających sygnałów, typu komórki oraz jej programu transkrypcyjnego. Schemat działania BMP przedstawiono na rycinie 1.

Mutacje w genie dla BMPR 2

Badania molekularne genu dla BMPR 2 wykazały wiele mutacji w sekwencji nukleotydów (mutacje zmiany sensu, zmiany ramki odczytu, mutacje nonsensowane, zaburzenia składania eksonów). Opisane dotychczas mutacje w genie dla BMPR 2 przedstawiono w tabeli 1. Większość to mutacje



Rycina 1. Schemat działania białek morfogenetycznych kości (BMP). Opis w tekście

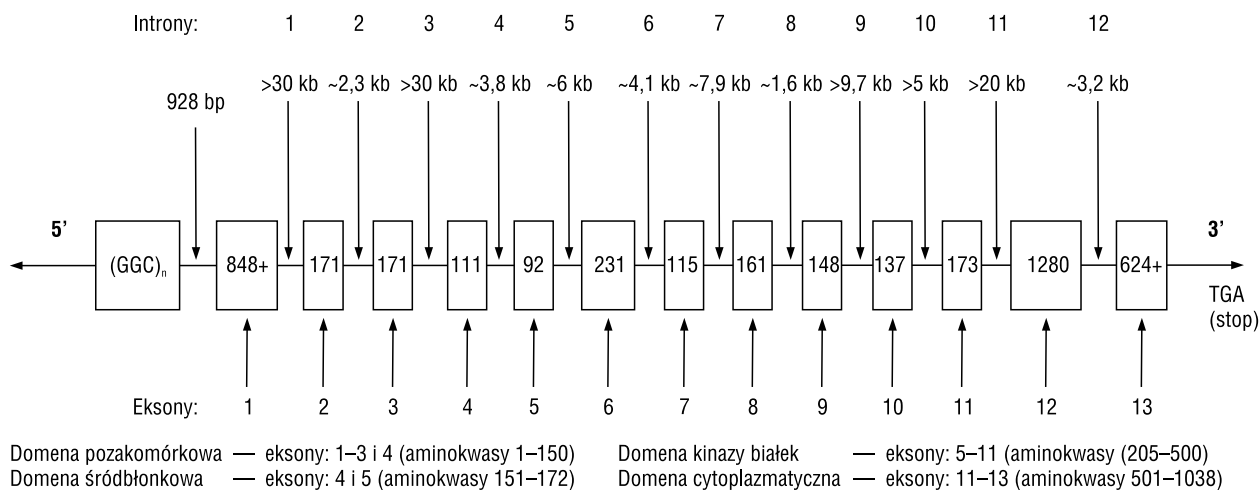
Figure 1. The BMP pathway. Described in the text

dotyczące regionów kodujących, pozostałe to 3-częściowe delecje genu i 3 mutacje w obrębie intronu. Nie opisano jak dotąd mutacji w eksonach 7 i 10. Eksonu 13 dotyczy jedynie delecja na końcu 3'.

Wykryto 3 duże delecje, jedna z nich obejmuje obszar od ostatnich 26 nukleotydów 1 eksonu, przez cały ekson 2, 3, 4 i 5, aż do 2/3 eksonu 6, pozostałe to delecje na końcach 5' i 3'. Mutacje typu zmiany ramki odczytu to delecje lub insercje jednego lub kilku nukleotydów, prowadzące do zmiany składu następnego tripletu, a w końcu do zmiany sekwencji aminokwasów oraz do przedwczesnego zakończenia łańcucha aminokwasowego. Mutacje nonsensowne powodują zmianę kodonu aminokwasowego na kodon kończący translację (TGA, kodon „stop”). W połowie przypadków w genie dla BMPR 2 dochodzi do zmiany kodonu argininy na kodon „stop”, w pozostałych na kodon „stop” zmienia się kod glutaminy, tyrozyny i seryny. W mutacjach typu zmiany sensu dochodzi do zamiany jednego nukleotydu, a wtórnie do zamiany aminokwasu. Istotne są zwłaszcza mutacje dotyczące aminokwasów konserwatywnych. Opisano również 3 mutacje w obrębie intronów. Są one odpowiedzialne za zaburzenia w składaniu eksonów w modyfikacji potranskrypcyjnej mRNA. Mutacja w intronie 7 prowadzi do inaktywacji miejsca donorowego w eksonie 7 i ekson 6 może połączyć się bezpośrednio z eksonem 8 [20]. Mutacje w intronie 8 przyczyniają się do inaktywacji

Tabela 1. Mutacje w genie dla BMPR 2**Table 1.** Mutations associated with the BMPR2 gene

Ekson	Zmiana nukleotydu	Zmiana aminokwasu	Rodzaj mutacji	Piśmiennictwo
1-6	51-814 del	Thr 17 (+7)	Delecja	20
1	5' nieokreślona delecja	Brak danych	Delecja	20
1	44 del C	Pro 15 (+30)	Zmiana ramki odczytu	20, 23
2	Brak danych	Gln 42 Ter	Nonsensowna	32
2	156-157 del TC	Ser 52 (+O)	Zmiana ramki odczytu	20
2	179 G→A	Cys 60 Tyr	Zmiana sensu	12
2	218 C→G	Ser 73 Ter	Nonsensowna	11
2	246 A→C	Gln 82 His	Zmiana sensu	27
2	Brak danych	Gln 82 Ter	Nonsensowna	21
3	Brak danych	Tyr 113 Ter	Nonsensowna	32
3	350 G→A	Cys 117 Tyr	Zmiana sensu	12
3	Brak danych	Cys 118 Tyr	Zmiana sensu	32
3	354 T→G	Cys 118 Trp	Zmiana sensu	11, 33
3	355 del A	Ser 119 (+31)	Zmiana ramki odczytu	11, 34
3	367 T→C	Cys 123 Arg	Zmiana sensu	20, 32
3	367 T→A	Cys 123 Ser	Zmiana sensu	20
4	439 C→T	Arg 147 Ter	Nonsensowna	20
4	504 ins T	Leu 168 (+11)	Zmiana ramki odczytu	20
4	507-510 del CTTT, ins AAA	Cys 169 Ter	Zmiana sensu	10
5	545 G→A	Gly 182 Asp	Zmiana sensu	27
6	631 C→T	Arg 211 Ter	Nonsensowna	12, 20, 27
6	689-690 del AA	Lys 230 (+23)	Zmiana ramki odczytu	20
6	690-691 del AG ins T	Lys 230 (+21)	Zmiana ramki odczytu	10
6	727 G→T	Glu 243 Ter	Nonsensowna	20
6	787 ins T	Gly 263 (+3)	Zmiana ramki odczytu	12
Intron 7	IVS7 958+3 del T	Brak danych	Składanie eksonów	20
8	994 C→T	Arg 332 Ter	Nonsensowna	12, 20
8	1042 G→A	Cys 347 Tyr	Zmiana sensu	11
8	1076 del C	Thr 359 (+14)	Zmiana ramki odczytu	20
8	1099-1103 del GGGGA	Glu 368 (+1)	Zmiana ramki odczytu	10
Intron 8	IVS8 1129-3 C→G	Brak danych	Składanie eksonów	20
Intron 8	IVS8 +1 G→T	Brak danych	Składanie eksonów	21
9	1191/1192 del TG	Cys 397 (+0)	Zmiana ramki odczytu	20
9	Brak danych	Glu 403 Ter	Nonsensowna	32
9	1247-8 ins GA,	Ile 416 (+4)	Zmiana ramki odczytu	12
9	1248 del A	Ile 416 (+7)	Zmiana ramki odczytu	12
9	1258 T→C	Cys 420 Arg	Zmiana sensu	20
11	1447 T→C	Cys 483 Arg	Zmiana sensu	12, 27
11	1454 A→G	Asp 485 Gly	Zmiana sensu	11
11	1471 C→T	Arg 491 Trp	Zmiana sensu	10, 35
11	1472 G→A	Arg 491 Gln	Zmiana sensu	10
11	1535 A→C	Lys 512 Thr	Zmiana sensu	20
11	Brak danych	Asn 519 Lys	Zmiana sensu	20
Brak danych	Brak danych	Ser 532 Ter	Nonsensowna	22
12	1750 C→T	Arg 584 Ter	Nonsensowna	20
12	1969 ins A	Gln 657 (+18)	Zmiana ramki odczytu	12
12	2292 ins A	Asn 764 (+47)	Zmiana ramki odczytu	20
12	2386 del G	Ala 796 (+7)	Zmiana ramki odczytu	12
12	2408 ins TG	Thr 803 (+3)	Zmiana ramki odczytu	20
12	2579-2580 del T	Ile 860 (+10)	Zmiana ramki odczytu	111, 20
12	2579 del T	Asn 861 (+10)	Zmiana ramki odczytu	10
12	2617 C→T	Arg 873 Ter	Nonsensowna	10
12	2695 C→T	Arg 899 Ter	Nonsensowna	11, 12, 20
12	3' nieokreślona delecja	Brak danych	Delecja	20, 31



Rycina 2. Budowa genu dla BMPR 2. Schemat na podstawie [10, 20] w modyfikacji własnej. W kratkach podano wielkość eksonów (liczbę par zasad); kb (*kilobase*) — tysiąc par zasad; bp (*base pair*) — para zasad

Figure 2. BMPR 2 cDNA structure

cji miejsca akceptorowego w eksonie 9 (1129-3 C→G) [20] lub inaktywacji miejsca donowego w eksonie 8 (IVS8 + 1G→T) [21].

W 1995 r. Rozenzweig i wsp. [13] opisali oraz scharakteryzowali funkcję BMPR 2 u ludzi. Składa się ono z 4 domen: pozakomórkowej, śródbłonkowej, kinazy białek i cytoplazmatycznej. Jest kodowane przez poszczególne fragmenty genu, którego schemat przedstawiono na rycinie 2. Mutacje wykryto we wszystkich domenach tego genu. W zależności od ich lokalizacji zmienia się również funkcja uszkodzonego receptora. Najistotniejsze dla działania receptora wydają się domeny: pozakomórkowa i kinazy białek. Znajdują się w nich miejsca konserwatywne dla wszystkich receptorów typu 2 nadrodziny TGF- β zawierające cysteinę. Jak wykazali Rudarakanchana i wsp. [22], zamiana cysteiny w tyrozyne, tryptofan, argininę lub serynę w pozycjach 60, 117, 118, 123, 237, 420 i 483 (tab. 1) uniemożliwia receptorowi łączenie się z ligandem oraz zajęcie pozycji w błonie komórkowej. Receptor pozostaje w siateczce endoplazmatycznej. Jeżeli w wyniku mutacji dochodzi do zmiany innych aminokwasów w domenie kinazy (np. kwasu asparaginowego na glicynę w pozycji 458, argininy na glutaminę lub tryptofan w pozycji 491), to receptor zajmuje pozycję w błonie komórkowej, ale nie jest zdolny do aktywacji szlaku BMP/Smad, co jest związane z upośledzeniem aktywności kinazy. W tej domenie znajduje się również miejsce konserwatywne zawierające argininę (ekson 11), odpowiedzialne za fosforylację receptorów typu 1 i białek Smad.

Domeny pozakomórkowej dotyczy też mutacja stwierdzona u chorego na rzadko występującą postać nadciśnienia płucnego związanego ze zmiana-

mi w drobnych żyłach krążenia płucnego (PVOD, *pulmonary veno-occlusive disease*). Jest to mutacja w eksonie 1-del 44C. Wykryto i opisano przypadek tylko jednego chorego na PVOD z tą mutacją. Nie wiadomo, czy predysponuje ona do tego typu nadciśnienia płucnego, czy też jest to przypadek [20, 23].

Domena cytoplazmatyczna, tzw. C-końcowa, będąca specyficzną częścią BMPR 2, niespotykana w innych receptorach typu 2 dla TGF- β , najpewniej jest odpowiedzialna za dimeryzację receptora [14], która jest konieczna do prawidłowego przekazywania sygnału. Ponadto, jak wykazali Nishihara i wsp. [24], uszkodzenie tej części białka powoduje niewielkie osłabienie zdolności receptora do fosforylacji Smad. W domenie śródbłonkowej wykryto 3 mutacje. Nie wykazano dotychczas, jakie powodują zaburzenia w funkcjonowaniu receptora.

Powstaje pytanie, jaki jest związek między powyższymi mutacjami a rozwojem choroby i jej przebiegiem. Najbardziej szczegółową analizę zależności między czasem pojawiania się choroby a obszarem genu, w którym doszło do mutacji, podali Machado i wsp. [20]. Czas pojawiania się choroby wynosił 1–60 lat. Zmieniał się on znacząco zarówno w obrębie jednej rodziny, jak i między poszczególnymi badanymi rodzinami z tą samą mutacją. W każdej z domen wykrywano mutacje o dużym przedziale wieku ujawniania się choroby u pacjenta, np. ekson 1: delecja na końcu 5' — chorzy w wieku 1–42 lat, ekson 4: Arg 147 Ter — 10–39 lat, intron 7-958 +3 del T — 14–60 lat oraz ekson 12-Ile 860 (+10) — 2–22 lat (domeny kolejno: pozakomórkowa, śródbłonkowa, kinazy białek i cytoplazmatyczna). Zdaniem autorów nie ma też korelacji

między rodzajem mutacji a jej penetracją. Nie można również z przebiegu klinicznego choroby wnioskować o tym, w którym obszarze genu doszło do mutacji. Przebieg kliniczny choroby był podobny niezależnie od rodzaju mutacji, a także od jej obecności, bowiem nie u wszystkich chorych na PPH wykryto mutację w genie dla **BMPR 2**. Ocenia się, że w postaci rodzinnej PPH mutacja występuje w ok. 55% przypadków [10, 11, 20], a w postaci sporadycznej w przynajmniej 25% przypadków [12, 20]. Przyczyna tego nie jest jasna. Być może mutacje znajdują się w niezbadanych jeszcze regionach genu, np. w intronach lub regionach regulatorowych. Stwierdzono również, że wszystkie mutacje są heterozygotyczne, dotyczą tylko jednego allelu. Powoduje to zmniejszenie ilości prawidłowego białka **BMPR 2** o połowę. Ponieważ jednak receptor występuje w formie dimeru, to powstaje tylko 25% czynnych kompleksów receptorów [17].

Analiza rodzin z PPH sugeruje obecność antycypacji genetycznej, czyli pojawiania się choroby w kolejnych pokoleniach u osób w coraz młodszym wieku. Na problem antycypacji po raz pierwszy zwrócili uwagę Loyd i wsp. [5], również Machado i wsp. [20], badając rodziny chorych, potwierdzają to zjawisko, chociaż analiza części kodującej nie ujawniła żadnych sekwencji powtórzeń trójnukleotydowych, a analiza reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) obszaru powtórzeń trójnukleotydowych GCC na końcu 5' nie wykazała wzrostu liczby powtórzeń w poszczególnych pokoleniach. Być może mechanizm antycypacji w tych rodzinach jest inny lub zachodzi w innych niezbadanych jeszcze częściach genu.

Duża ilość różnych mutacji w całym genie dla **BMPR 2**, przy niepełnej penetracji oraz jej brak u części chorych sugerują, że sama mutacja nie wystarczy do rozwoju choroby. Konieczne są dodatkowe czynniki stymulujące ten rozwój. Zidentyfikowano wiele endo- i egzogennych czynników mogących za to odpowiadać. Czynniki endogenne to: marskość wątroby, ciąża, zaburzenia autoimmunologiczne (np. w przebiegu kolagenoz, splenektomia) [25], zaś egzogenne to: przyjmowanie leków (np. aminoreksu, fenfluraminy, deksfenfluraminy, substytucja estrogenów) [26, 27], narkotyków, takich jak kokaina i amfetamina, zjełzalego oleju [28], a także infekcja wirusem HIV [29]. Czynnikiem uszkadzającym naczynia i wywołującym chorobę może być hipoksja spowodowana innym schorzeniem lub przebywaniem na dużych wysokościach [25].

Istotne klinicznie byłoby również zidentyfikowanie nosicieli mutacji, żeby objąć ich ewentualną profilaktyką. Jak bowiem wykazali Grunig i wsp. [30],

u nosicieli mutacji genu pod wpływem wysiłku dochodzi do patologicznego wzrostu ciśnienia w tętnicy płucnej. Świadczy to o nieprawidłowej reaktywności naczyń lub o wczesnej fazie ich uszkodzenia, co może w przyszłości doprowadzić do rozwoju choroby.

Jeśli mutacja w **BMPR 2** nie wystarcza do rozwoju choroby, to być może uszkodzone są dodatkowo inne geny. Taki mechanizm może sugerować inna choroba uwarunkowana genetycznie, w której obserwuje się nadciśnienie płucne podobne morfologicznie do pierwotnego nadciśnienia płucnego — wrodzona krwotoczna teleangiektazja [31]. W takim przypadku stwierdza się mutacje w receptorach z układu **TGF- β** : jeden z receptorów typu 1 (**ALK 1**, *activin receptor-like kinase*) i endoglinu (receptor typu 3, pomocniczy). Rozwój nadciśnienia płucnego w tej chorobie wiąże się z mutacjami w obrębie genu receptora **ALK 1**. U części osób z tym schorzeniem stwierdzono jednak mutacje nie w genie dla **ALK 1**, ale delecję na końcu 3' genu dla **BMPR 2** [31].

W 2003 r. Rindermann i wsp. [21] wykryli obecność dodatkowego genu związanego z PPH. Zbadali 130 członków 10 rodzin z przynajmniej 1 chorym na PPH, poszukując genów odpowiedzialnych za rozwój choroby. Oprócz mutacji w genie dla **BMPR 2** w dwóch rodzinach badacze wykryli również nowe locus na chromosomie 2q31 w trzech innych rodzinach, co udowodniono metodą analizy sprzężeń z zastosowaniem markerów mikrosatelitarnych. Obszar ten zawiera wiele różnych genów. Zdaniem autorów na szczególną uwagę zasługuje gen dla **ATF 2** (**ATF 2**, *activating transcription factor-2*) — czynnika transkrypcyjnego należącego do rodziny **TGF- β** . Wyniki tych badań sugerują genetyczną heterogenność schorzenia z przynajmniej 2 genami odpowiedzialnymi za rozwój choroby, a być może nowo odkryty gen jest tylko genem modyfikatorem.

Podsumowanie

Badania ostatnich kilku lat przynoszą coraz więcej informacji na temat molekularnego podłoża PPH. Powinny one pomóc w przyszłości w zwiększeniu precyzji diagnozowania i leczenia chorych. Być może badanie mutacji w **BMPR 2** stanie się w przyszłości parametrem uzupełniającym diagnostykę, terapię i profilaktykę choroby. Nadal nie wiadomo, czy istnieje zależność między występowaniem mutacji i jej rodzajem a przebiegiem choroby i rokowaniem. Nie rozstrzygnięto, czy postaci sporadyczna i rodzinna to ta sama choroba. Wiele jest punktów wspólnych w patogeniezie, ale też jest sporo różnic. Należałoby przeprowadzić analizę w du-

zych grupach chorych, najpewniej w badaniach wielośrodkowych ze względu na małą częstość występowania schorzenia. Istotne jest badanie tkanki płucnej chorych z powodu obecności mutacji somatycznych. Wskazane byłoby również przeprowadzanie badań genetycznych u krewnych pacjentów w celu wykrycia nosicielstwa mutacji. U tych chorych należałoby rozważyć działania profilaktyczne, obserwację oraz ewentualną terapię.

Od autorów

W trakcie redagowania tekstu pracy w grudniu 2004 roku w *European Heart Journal* (Eur. Heart J. 2004; 25: 2243–2278) ukazały się wytyczne Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego dotyczące diagnostyki i leczenia tętniczego nadciśnienia płucnego. Wprowadzono w nich nowy podział i nazewnictwo nadciśnienia płucnego. I tak, pierwotne nadciśnienie płucne obejmuje obecnie dwie jednostki: tętnicze nadciśnienie płucne samoistne (IPAH, *idiopathic pulmonary arterial hypertension*) i tętnicze nadciśnienie płucne rodzinne (FPAH, *familial pulmonary arterial hypertension*).

Piśmiennictwo

1. Rich S., Dantzker D.R., Ayres S.M. i wsp. Primary Pulmonary Hypertension. A National Prospective Study. *Ann. Int. Med.* 1987; 107: 216–223.
2. Hood W.B.Jr., Spencer H., Lass R.W., Daley R. Primary pulmonary hypertension: familial occurrence. *Br. Heart J.* 1968; 30: 336–343.
3. D'Alonzo G.E., Barst R.J., Ayres S.M. i wsp. Survival patients in primary pulmonary hypertension. Results from a National Prospective Registry. *Ann. Intern. Med.* 1991; 115: 343–349.
4. Sandoval J., Bauerle O., Palomar A. i wsp. Survival in primary pulmonary hypertension. Validation of a prognostic equation. *Circulation* 1994; 89: 1733–1744.
5. Loyd J.E., Butler M.G., Foroud T.M. i wsp. Genetic anticipation and abnormal gender ratio at birth in familial primary pulmonary hypertension. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152: 93–97.
6. Deng Z., Fetemen H., Helleby L. i wsp. Fine mapping of PPH1, a gene for familial primary pulmonary hypertension, to a 3-cM region on chromosome 2q33. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161: 1055–1059.
7. Morse J.H., Jones A.C., Barst R.J. i wsp. Mapping of familial primary pulmonary hypertension locus (PPH1) to chromosome 2q31–q32. *Circulation* 1997; 95: 2603–2606.
8. Nichols W.C., Koller D.L., Slovis B. i wsp. Localisation of the Gene for familial primary pulmonary hypertension to chromosome 2q31–32. *Nature Genet.* 1997; 15: 277–280.
9. Machado R.D., Pauciulo M.W., Fretwell N. i wsp. The International PPH Consortium, Trembath R.C., Nichols W.C. A physical and transcript map based upon refinement of the critical interval for PPH1, a gene for familial primary pulmonary hypertension. *Genomics* 2000; 68: 220–228.
10. Lane K.B., Machado R.D., Pauciulo M.W. i wsp. Heterozygous germline mutations in *BMPR2*, encoding a *TGF- β* receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. *Nature Genet.* 2000; 26: 81–84.
11. Deng Z., Morse J.H., Slager S.L. i wsp. Familial primary pulmonary hypertension (Gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am. J. Genet.* 2000; 67: 737–744.
12. Thomson J.R., Machado R.D., Pauciulo M.W. i wsp. Sporadic primary pulmonary hypertension is associated with germline mutation of the gene encoding *BMPR-II*, a receptor member of the *TGF- β* family. *J. Med. Genet.* 2000; 37: 741–745.
13. Rosenzweig B.L., Imamura T., Okadome T. i wsp. Cloning and characterisation of a human type II receptor for bone morphogenetic proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1995; 92: 7632–7636.
14. Nohe A., Hassel S., Ehrlich M. i wsp. The mode of bone morphogenetic protein (BMP) receptor oligomerization determines different BMP-2 signaling pathways. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 5330–5338.
15. Galvin K.M., Donovan M.J., Lynch C.A. i wsp. A Role for Smad 6 in development and homeostasis of the cardiovascular system. *Nat. Genet.* 2000; 24: 171–174.
16. Warburton D., Schwarz M., Tefft D. i wsp. The molecular basis of lung morphogenesis. *Development* 2000; 92: 55–81.
17. Gilboa L., Nohe A., Geissendorfer T., Sebald W., Henis Y.I., Knaus P. Bone morphogenetic protein receptor complexes on the surface of live cells: A New oligomerization mode for serine/threonine kinase receptors. *Mol. Biol. Cell* 2000; 11: 1023–1035.
18. Liu F., Ventura F., Doody J., Massague J. Human type II receptor for bone morphogenetic proteins (BMPs): Extension of the two-kinase receptor model to the BMPs. *Mol. Cell Biol.* 1995; 15: 3479–3486.
19. Shi X., Yang X., Chen D., Chang Z., Cao X. Smad 1 interacts with homeobox DNA-binding proteins in bone morphogenetic protein signaling. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 13711–13717.
20. Machado R.D., Pauciulo M.W., Thomson J.R. i wsp. *BMPR2* haploinsufficiency as the inherited molecular mechanism for primary pulmonary hypertension. *Am. J. Hum. Genet.* 2001; 68: 92–102.

21. Rindermann M., Gruning E., von Hippel A. i wsp. Primary pulmonary hypertension may be a heterogeneous disease with a second locus on chromosome 2q31. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 41: 2237–2244.
22. Rudarakanchana N., Flanagan J.A., Chen H. i wsp. Functional analysis of bone morphogenetic protein type II receptor mutations underlying primary pulmonary hypertension. *Hum. Mol. Genet.* 2002; 11: 1517–1525.
23. Runo J.R., Vnencak-Jones C.L., Prince M. i wsp. Pulmonary veno-occlusive disease caused by an inherited mutation in bone morphogenetic protein receptor II. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 889–894.
24. Nishihara A., Watabe T., Imamura T., Miyazono K. Functional heterogeneity of bone morphogenetic protein receptor type II mutants found in patients with primary pulmonary hypertension. *Mol. Biol. Cell.* 2002; 13: 3055–3063.
25. Poloński L. Pierwotne nadciśnienie płucne. W: Mandrecki T. (red.) *Kardiologia. PZWL* 2000: 491–501.
26. Abenheim L., Moride Y., Brenot F. i wsp. Appetite-suppressant drugs and the risk of primary pulmonary hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 609–616.
27. Humbert M., Deng Z., Simonneau G. i wsp. BMPR 2 germline mutation in pulmonary hypertension associated with fenfluramine derivatives. *Eur. Respir. J.* 2002; 20: 518–523.
28. Gomez-Sanchez M.A., Calzada C.S., Gomez-Pajuelo C., Martinez-Tello F.J., Mestre de Juan M.J., James T.N. Clinical and pathologic manifestations of pulmonary vascular disease in the toxic oil syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1991; 18: 1539–1545.
29. Pellicelli A.M., Palmieri F. Role of human immunodeficiency virus in primary pulmonary hypertension — case reports. *Angiology* 1998; 49: 1005–1011.
30. Trembath R.C., Thomson J.R., Machado R.D. i wsp. Clinical and molecular genetic features of pulmonary hypertension in patients with hereditary hemorrhagic teleangiectasia. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 325–334.
31. Grunig E., Janssen B., Mereles D. i wsp. Abnormal pulmonary artery pressure response in asymptomatic carriers of primary pulmonary hypertension gene. *Circulation* 2000; 102: 1145–1150.
32. Fujiwara M., Saji T., Imamura S. i wsp. BMPR2 mutation and modifier genes in Japanese patients with primary pulmonary hypertension. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 2571 (streszczenie).
33. Newman J.H., Wheeler L., Lane K.B. i wsp. Mutation in the gene for bone morphogenetic protein receptor II as a cause of primary pulmonary hypertension in a large kindred. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 319–324.
34. Atkinson C., Stewart S., Upton P.D. i wsp. Primary pulmonary hypertension is associated with reduced pulmonary vascular expression of type II bone morphogenic protein receptor. *Circulation* 2002; 105: 1672–1678.
35. Morrell N.W., Yang X., Upton P.D. i wsp. Altered growth responses of pulmonary artery smooth muscle cells from patients with primary pulmonary hypertension to transforming growth factor- β 1 and bone morphogenic proteins. *Circulation* 2001; 104: 790–795.

