

FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL PULMONAR. "ENTENDER QUÉ PASA, PARA SABER CÓMO TRATAR"

PATHOPHYSIOLOGY OF PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION. "UNDERSTANDING WHAT HAPPENS, TO KNOW HOW TO TREAT"

NICOLÁS A. ATAMAÑUK¹

RESUMEN

La denominación de hipertensión arterial pulmonar hace alusión a un signo mediante el cual esta patología es reconocida. En realidad es más acertado, mediante una visión fisiopatológica de la enfermedad, reconocerla por un incremento desmedido de la resistencia del lecho vascular pulmonar. Este incremento se debe primordialmente a la reducción del calibre de las pequeñas arterias, pero estas no son las únicas en afectarse, como tampoco su afectación es simple.

Es interesante remarcar que todo el árbol vascular pulmonar, pequeñas y grandes arterias, sufren modificaciones por alteración de diferentes vías fisiopatológicas. Estas vías son cada vez más entendidas y esto posibilita la aparición de nuevos blancos terapéuticos. De esta manera nos encontramos con alteraciones humorales, inflamatorias, interacciones patológicas entre distintos grupos celulares y reducción de la apoptosis. Este nuevo entendimiento también se amplió en el campo de la genética dando lugar a nuevas hipótesis que nos explican por qué algunos pacientes se enferman antes que otros o padecen formas aceleradas o más agresivas de la enfermedad.

Palabras clave: hipertensión pulmonar - fisiopatología - patología.

ABSTRACT

The name of Pulmonary Hypertension refers to a sign by which this condition is recognized. It is actually more accurate, from a pathophysiological view of the illness, to recognize it by a disproportionate increase in the resistance of the pulmonary vascular bed. This increase in it is due primarily to the reduction of the caliber of small arteries, but these are not the only ones affected, and nor their involvement is so simple.

It is interesting to note that all the pulmonary vascular tree, the small and large arteries, are modified by alterations in different pathophysiological pathways. These pathways are increasingly understood and this enables the development of new therapeutic targets. Thus we find humoral and inflammatory disorders, pathological interactions between different cell groups and reduced apoptosis. This new understanding also expanded in the field of genetics, leading to new hypotheses which explain why some patients become ill before others, or suffer accelerated or more aggressive forms of the disease.

Keywords: hypertension, pulmonary - physiopathology - pathology.

REVISTA CONAREC 2014;30(126):212-217 | VERSIÓN WEB WWW.REVISTACONAREC.COM.AR

INTRODUCCIÓN

Así como es fundamental realizar un correcto diagnóstico para poder tratar en consecuencia, resulta vital para el médico poder entender cuál es la alteración que provoca la enfermedad. Si no co-

nocemos la fisiopatología, no vamos a poder entender el mecanismo mediante el cual la estrategia terapéutica es efectiva, lo que nos puede llevar a dos caminos; el tratamiento es efectivo y no sabemos por qué (imprudencia), o el tratamiento es inefectivo y no entendemos por qué (impericia).

Debido a que la hipertensión pulmonar se clasifica en cinco grupos, los cuales se caracterizan por presentar diferentes vías fisiopatológicas de comienzo, solamente haremos referencia al grupo 1 de la clasificación. Este es el más estudiado y sus vías fisiopatológicas son el blanco terapéutico de los tratamientos actuales.

La finalidad del siguiente escrito es la de exponer, de manera resumida, las últimas interpretaciones que permiten entender qué provoca y/o perpetúa esta rara y ominosa enfermedad: la hipertensión arterial pulmonar (HAP).

La HAP se caracteriza –hemodinámicamente hablando– simplemente por una obstrucción mecánica del lecho vascular pulmonar, que produce un aumento de la resistencia vascular pulmonar (RVP). Por consiguiente aumenta en demasía la poscarga del ven-

1. Responsable del Grupo Multidisciplinario de Hipertensión Pulmonar, Htal. Juan A. Fernández. Jefe de Insuficiencia Cardíaca e Hipertensión Pulmonar, Coordinador de Trasplante Cardíaco, Hospital Universitario Austral. Docente de la II Cátedra de Fisiología, Jefe de Fisiología Cardiovascular y Respiratoria, Universidad de Buenos Aires. Rep. Argentina.

Correspondencia: nicoatama@hotmail.com

El autor declara no poseer conflictos de intereses

Recibido: 02/08/2014 | Aceptado: 27/08/2014

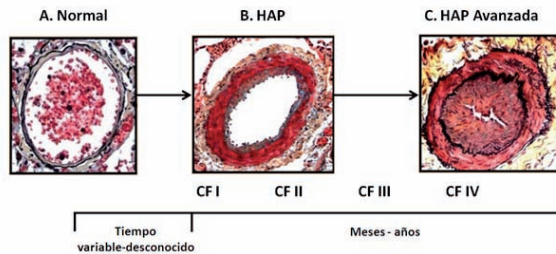


Figura 1. Cambios patológicos en arterias pulmonares distales. A. Disfunción endotelial, B. Remodelado vascular de las tres capas. C. Arteriopatía plexiforme. Modificado de Galie N et al. *Eur Heart J* 2010; 31:2080-6. HAP: hipertensión arterial pulmonar.

trículo derecho (VD) provocando en este una serie de alteraciones que dan lugar al fallo en su función de bomba. Los mecanismos fisiopatológicos fundamentales subyacentes a esta enfermedad incluyen: vasoconstricción pulmonar; trombosis *in situ*; hipertrofia de la capa media y proliferación de la íntima, lo que conlleva una oclusión de las arteriolas pulmonares pequeñas y medianas, y la formación de lesiones plexiformes (**Figura 1**).

Si bien el final de la enfermedad es la claudicación del VD, el comienzo es la alteración de las arteriolas pulmonares (excluimos de esta máxima a la enfermedad venooclusiva y la hemangiomas capilar pulmonar, que se hallan dentro del grupo 1 de HAP y presentan afectación característicamente en vénulas y capilares). Han surgido numerosos mecanismos predisponentes/causantes que contribuyen al remodelado vascular pulmonar excesivo en la HAP. Uno de estos es denominado "interacción o *crossstalk* alterado entre células" dentro de la pared vascular. Sin embargo, también contribuyen como mecanismos la inflamación prolongada, la inhibición de la apoptosis, la activación excesiva de las rutas de señalización, además del impacto de las hormonas sistémicas, factores de crecimiento local, citocinas, factores de transcripción y mutaciones genéticas. Entonces podemos decir que si bien los componentes fisiopatológicos son múltiples, es posible agruparlos y entenderlos en 4 mecanismos, los cuales son responsables de las anomalías vasculares pulmonares que se observan en pacientes con HAP (neomuscularización de los vasos no muscularizados precapilares, pérdida de arterias precapilares, engrosamiento medial concéntrico de las arterias pulmonares distales, cambio estructural en las paredes arteriales de mayor tamaño con formación neointimal y por último formación de lesiones plexiformes).

Podemos enumerar los mecanismos precursores y responsables de lo anterior del siguiente modo: 1) disfunción endotelial, 2) mecanismos inflamatorios y autoinmunes, 3) alteración de los factores de crecimiento y 4) predisposición genética.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Si bien antes se teorizaba acerca de la posibilidad de disfunción endotelial en esta enfermedad, ahora ya no quedan dudas. La pér-

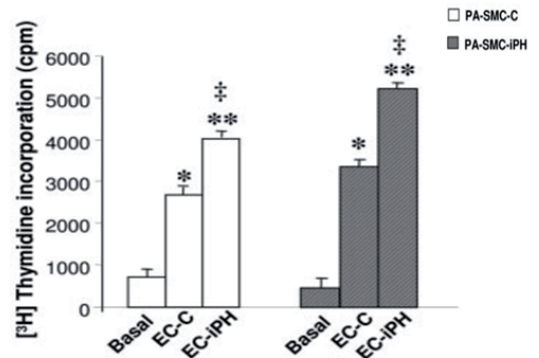


Figura 2. Proliferación de CML. * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$ # $p < 0,01$. Modificado de Saadia Eddahibi et al. *Circulation* 2006;113:1857-1864.

didada de la función del endotelio no solo abarca la pérdida de la vasoreactividad, sino también se observa un desequilibrio en la regulación de la proliferación/apoptosis y una pérdida de la adecuada interacción entre células endoteliales (CE)-células musculares lisas (CML)-fibroblastos, lo que se conoce como *crossstalk*.

¿Qué es el *crossstalk*? Saadia Eddahibi y colaboradores estudiaron este interesante fenómeno conocido como interferencia celular. Realizaron un cultivo primario de las CE y las CML de pacientes con HAP y de controles. Demostraron que cuando se utiliza un medio de CE (de control) en CML (también de control), se puede inducir proliferación de estas últimas. Esto demuestra que las CE producen factores que inducen la proliferación de las CML. Sin embargo, cuando se utiliza un medio de CE (de pacientes con HAP) en CML (de control), se produce un aumento significativamente elevado de la proliferación. De lo que se deduce que los pacientes con HAP tienen un fenotipo diferente de CE con una producción aumentada de factores proliferativos (**Figura 2**).

Lo interesante de este estudio es que cuando al medio de cultivo se agregan CML de pacientes con HAP, la proliferación es aún mayor. De lo que se concluye que si bien las CE de pacientes con HAP producen grandes cantidades de factores proliferativos, las CML de pacientes con HAP presentan paralelamente una susceptibilidad aumentada, lo que determina una interacción entre ambos grupos celulares. Algunos de los factores hormonales involucrados en este *crossstalk* son la serotonina y la endotelina.

Esta respuesta de las CML a las CE no es unidireccional, sino que también las CE tienen una respuesta anormal a las CML de pacientes con HAP, estas producen angiopoyetina-1, la cual actúa sobre las CE. Lo antes descrito se encuentra magnificado por una disminución de la sensibilidad a la inducción apoptótica, lo que redundará en hiperplasia celular.

A la fecha se han descrito tres vías fisiopatológicas, las cuales son consecuencia de la disfunción endotelial: la vía de la endotelina (ET), la vía del óxido nítrico (ON) y la vía de la prostaciclina (PGI₂). La PGI₂ es producida en las CE y actúa de manera paracrina en las CML mediante el receptor IP. Es un potente vasodilatador con propiedades antitrombóticas y antiproliferativas. La síntesis de PGI₂ se encuentra disminuida en las arterias pulmonares de pacientes con HAP, pero principalmente en las arterias de pequeño calibre (responsables del aumento desmedido de la RVP) (**Figura 3**).

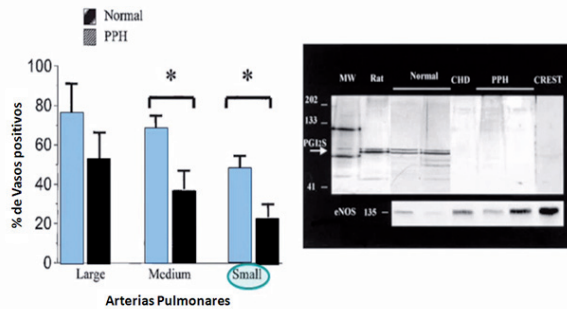


Figura 3. La expresión de sintetasa PGI2 se reduce en la AP en pacientes con HAP. Modificado de Tuder R. et al. *Am J Respir Crit Care Med* 1999.

Debido a esto una de las primeras terapias de tratamiento de la HAP es el uso de análogos de la PGI2 que suplan su déficit (**Figura 4**). El epoprostenol fue el primer análogo de la PGI2 en ser aprobado por la FDA, en 1995.

Con respecto a la vía de la ET: en 1985, Hickey detectó un factor causante de la contracción de músculo liso secretado por el endotelio vascular. En 1988, Yanagisawa aisló una sustancia de propiedades vasoactivas que identificaron como endotelina (ET), y fue el primero en determinar la estructura molecular del péptido de 21 aminoácidos (ET) a partir del sobrenadante de cultivo de CE de aorta porcina. Hoy se ha determinado que las endotelinas son una familia de péptidos de 21 aminoácidos, integrada por ET-1, ET-2, ET-3, con una estructura peptídica muy similar.

La ET-1 es responsable en fisiopatología de HAP ya que su expresión se encuentra considerablemente aumentada en pacientes con HAP idiopática, asociada o HP del grupo 4. Es un potente vasoconstrictor y estimulante del crecimiento de las CML, es sintetizada por las CE en respuesta a una serie de factores dentro de los que encontramos la angiotensina II, la insulina, la hipoxia, los factores de crecimiento, la trombina y el estrés de cizallamiento vascular (*shear stress*), aunque también es sintetizada en pequeñas cantidades por las CML y por los fibroblastos. Es proinflamatoria, profibrótica y tiene acción potencialmente mitógena. Es un importante factor en la regulación del tono vascular y participa en la remodelación vascular. Estos efectos son mediados a través de dos tipos de receptores, ET-A y ET-B. La ET-1 ejerce una acción vasoconstrictora y proliferativa sobre las CML. Promueve la producción de fibroblastos, modula la síntesis de la matriz extracelular, causa hipertrofia de las CML, afecta la permeabilidad vascular e interviene en la inflamación.

Los receptores ET-A y ET-B están localizados principalmente en el músculo liso vascular y son responsables de inducir la proliferación celular y vasoconstricción. Este receptor está ligado a las proteínas G que, al recibir al agonista, genera IP3 (inositol trifosfato), DAG (diacilglicerol) y, sobre todo, aumento del Ca iónico intracelular (producen la contracción de la CML) y segundos mensajeros que causarán otros efectos. Los receptores ET-B también están presentes en las células endoteliales, pero con un efecto diferente; son

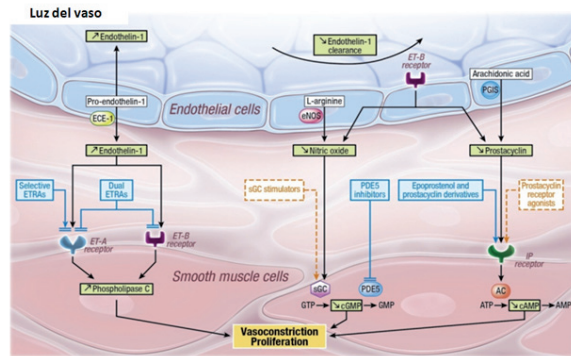


Figura 4. Vías fisiopatológicas de la hipertensión arterial pulmonar. Modificado de Montani et al. *Pharmacology & Therapeutics*, 2014.

mediadores de la relajación vascular por activación de la producción de ON y PGI2 y, además, intervienen en la depuración de la ET-1 (**Figura 4**).

Con respecto a la vía del ON, es un radical gaseoso lipofílico libre, generado por 3 isoformas distintas de sintetasa de ON; la neuronal, la inducible y la endotelial.

El ON es un potente vasodilatador, evita tanto la agregación plaquetaria como la de leucocitos, evita la formación de trombos y la proliferación vascular.

¿Qué sucede con el ON en la HAP? Presenta una disminución de su biodisponibilidad debido a: niveles aumentados del inhibidor competitivo endógeno de la sintetasa endotelial del ON, también hay un desacoplamiento de dicha sintetasa (lo que reduce su función), descenso de los niveles de L-arginina (el cual es el precursor de ON), aumento en la utilización del ON por parte de la hemoglobina y aumento de las especies reactivas de oxígeno. Todo esto produce un descenso significativo de las concentraciones del mismo.

MECANISMOS INFLAMATORIOS Y AUTOINMUNES

Un gran número de estudios han demostrado el aumento en la concentración de diferentes células inflamatorias en la pared de las arterias pulmonares de pacientes con HAP (células dendríticas, macrófagos, linfocitos y probablemente células progenitoras).

(Figura 5)

También hay una producción exacerbada de citoquinas, las cuales actúan como agentes proinflamatorios. Producen la migración de células inflamatorias, promueven el remodelado vascular, la angiogénesis, también reclutan células madre hematopoyéticas. Todos estos fenómenos presentan un efecto deletéreo en la vasculatura pulmonar.

ALTERACIÓN DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO

Los factores de crecimiento derivado de la plaquetas (FCDP) actúan sobre unas glicoproteínas transmembranas de las CML denominadas receptores de la tirosina quinasa. Estos receptores regulan la proliferación celular (tanto de las CML como las CE), la migración, distintos cambios metabólicos, diferenciación celular y apoptosis.

Es importante remarcar que en la HAP las vías de acción, tanto del FCDP como del factor de crecimiento epidérmico y del factor de

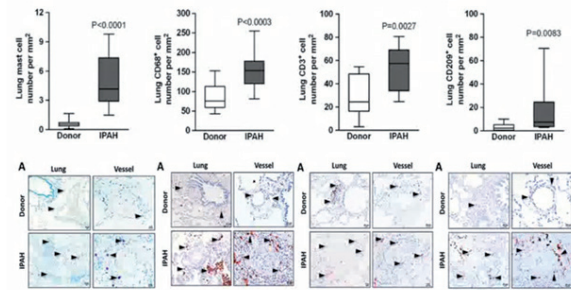


Figura 5. Implicación de las células inmunes e inflamatorias en la patología de la hipertensión pulmonar idiopática. Modificado de Saval R et al. *Am J Resp Crit Care Med* 2012.

crecimiento de fibroblastos, se encuentran aumentadas. Se puede encontrar un aumento de la producción del FCDP y de la expresión de sus receptores (receptores de la tirosina quinasa). En este punto sustancial tener en cuenta que esta es otra posible vía de acción farmacológica, ya que los inhibidores del receptor de la tirosina quinasa podrían tener un rol en el tratamiento de la enfermedad. Como el imatinib (se usa en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica) el cual produce un efecto ampliamente beneficioso en modelos de roedores, revirtiendo el remodelado vascular y aumentando la supervivencia (**Figura 6**).

Lamentablemente su uso en humanos, como tratamiento de la HAP, fue detenido debido a que en el estudio IMPRES aumentó significativamente la aparición de hematomas subdurales. Aunque es de destacar que presentó un efecto significativo en el descenso de la RVP. Debido a esto, a principios del 2013, el laboratorio productor de la molécula (Novartis) decidió retirar la autorización de *marketing* del imatinib de la FDA como tratamiento de la HAP. Este efecto beneficioso sobre la vasculatura pulmonar no es clase dependiente, ya que otra molécula similar, el dasatinib, demostró ser un factor de riesgo para desarrollo de HAP (hallado en un registro francés). Por lo tanto, parecería ser claramente un efecto de droga y no de clase.

PREDISPOSICIÓN GENÉTICA

En 1954, Dresdale et al. describieron el primer caso de HAP familiar en una familia donde dos hermanas estaban afectadas por la enfermedad. De esta manera propusieron el papel potencial de los defectos genéticos en el desarrollo de la enfermedad. En el 2000 se realiza la primera descripción de alteración genética; la mutación del gen *BMPR2*. La mutación de este gen da lugar a la proliferación de las CML y un incremento en la apoptosis de las CE. Posteriormente se describieron otras mutaciones genéticas, la de los genes *ALK-1*, el gen de la endoglina, *SMAD-1*, *SMAD-5*, caveolina 1 y el último descrito en el 2013 fue el del gen *KCNK3* (el cual codifica para un canal de potasio). Lo realmente interesante es que dentro de las familias con múltiples casos de HAP, el 80% presenta la mutación del gen *BMPR2*,

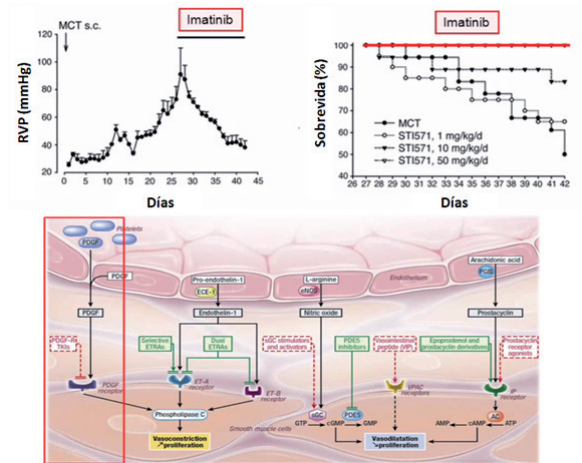


Figura 6. Superior: Estudio de reversión de hipertensión arterial pulmonar (HAP) vía inhibición del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, modelo en ratas. Modificado de Schermully RT et al. *JCI* 2005. Inferior: vías fisiopatológicas en la HAP. En recuadro se observa la vía de los factores de crecimiento. Modificado de O'Callaghan DS et al. *Nat Clin Practice Cardiol* 2011.

el 5% presenta el resto de las mutaciones genéticas y en el 15% restante aún no se hallaron alteraciones genéticas. Y dentro de los familiares de pacientes con HAP, el 15% presenta la mutación del gen *BMPR2*, pero sin expresar la enfermedad. Esto último dio lugar a 3 conclusiones: a) todos los genes predisponentes de la HAP se transmiten con carácter autosómico dominante, b) la mutación del gen *BMPR2* presenta penetrancia incompleta (la enfermedad solo se expresa en el 37% de los portadores de la mutación genética) y c) es género específica (predominante en la mujer 3:1). La predisposición genética hace que los pacientes respondan expresando la enfermedad de manera diferente (de forma acelerada o más agresiva, con respecto a aquellos sin dicha susceptibilidad genética) (**Figura 7**).

Lo importante del entendimiento de las formas familiares radica en dos cosas: por un lado, aquellos portadores asintomáticos de la mutación genética deben ser controlados de manera más férrea, y por otro lado, abre la posibilidad de todo un espectro terapéutico ligado al *target* genético.

ACOPLE VENTRÍCULO-VASCULAR

En su función de bomba, cada vez que el ventrículo se contrae se enfrenta a una carga que debe vencer para poder expulsar el volumen sistólico. Esta carga impuesta por el componente vascular se denomina poscarga. Ella produce una tensión parietal en el ventrículo que es directamente proporcional a la magnitud de esa carga. Dicha poscarga tiene dos componentes, uno estacionario y otro pulsátil. Básicamente, el componente estacionario se encuentra representado por: 1) la anatomía del árbol vascular pulmonar (resistencia vascular pulmonar, determinada principalmente por el radio de los vasos) y 2) por la presión arterial media pulmonar. Y el componente pulsátil, que es el trabajo adicional que debe realizar el ventrículo cada vez que se contrae y produce la eyección ventricular y está compuesto por: 1) distensibilidad arterial, 2) presión de pulso y 3) características de las ondas de reflexión (magnitud y

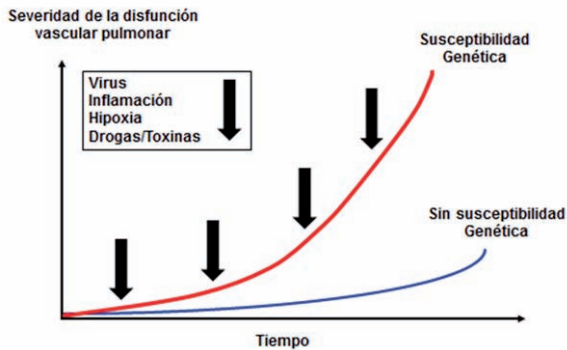


Figura 7. Severidad de la hipertensión arterial pulmonar según noxas y predisposición genética. Modificado de Morrel M. *Sto WSPH*, Niza 2013.

momento de llegada de la onda refleja, la cual depende de la velocidad de onda de pulso, lugar y número de sitios de reflexión). Si bien en sujetos sanos la onda de reflexión es pequeña, en pacientes con HAP la onda de reflexión es de magnitud considerablemente mayor, lo que aumenta enormemente el trabajo realizado por el VD durante la sístole (poscarga pulsátil).

Lo importante de lo anteriormente reseñado es que en la ecuación de la poscarga debemos incorporar la distensibilidad pulmonar (complacencia pulmonar [Cp]). Esta demostró ser una mejor herramienta pronóstica de mortalidad que la RVP, y puede ser calculada (con cierto grado de error) como el cociente entre el volumen sistólico y la presión de pulso, siendo la misma un “parámetro global de poscarga pulsátil”.

¿Qué quiere decir esto? La Cp podría explicarnos por qué algunos pacientes con RVP alta presentan mejor clínica o hemodinamia que otros con RVP baja (tal vez los primeros presenten mejor Cp [mayor distensibilidad], vasos pulmonares con mejor capacidad de amortiguar) (**Figura 8**).

Desde una mirada fisiopatológica, existen varios puntos que no pueden ser aclarados solamente por el aumento de la RVP. Ya que en un número importante de pacientes, los signos de falla VD no pueden ser totalmente atribuidos a progresión de la PAP y la RVP,

$$RVP = \frac{PAPm - Pw}{VMC}$$

$$Cp = \frac{VS}{PAPs - PAPd}$$

Figura 8. RVP: resistencia vascular pulmonar. PAPm: presión arterial pulmonar media. Pw: presión de enclavamiento pulmonar. VMC: volumen minuto cardíaco. Cp: capacitancia pulmonar. VS: volumen sistólico. PAPs: presión arterial pulmonar sistólica. PAPd: presión arterial pulmonar diastólica.

dando lugar a otra alteración fisiológica no relacionada con la afectación de las arteriolas pulmonares; alteración de vasos proximales (Cp reducida).

CONCLUSIÓN

La HAP es una enfermedad con una fisiopatología compleja. No solamente encontramos una arquitectura arteriolar alterada, con reducción del calibre de los vasos, sino que las alteraciones son tanto anatómicas como obviamente funcionales, a un nivel arteriolar y también arterial (grandes arterias pulmonares). Los pacientes presentan lo que se conoce como “susceptibilidad genética” para desarrollar HAP (mutaciones genéticas), pero también existe un contexto generador o de predisposición (gatillos o disparadores), los cuales están dados por el contexto ambiental del paciente, por lo que ambos aspectos revisten importancia para entender el comienzo y el desarrollo de la enfermedad.

La HAP se presenta como una enfermedad compleja, con múltiples alteraciones y una gran diversidad de vías fisiopatológicas. De esta manera, resulta interesante remarcar que el tratamiento también presenta múltiples objetivos terapéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Hickey KA, Rubanyi G, Paul RJ, Highsmith RF. Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am J Physiol*. 1985 May;248(5 Pt 1):C550-6.
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988 Mar 31;332(6163):411-5
- Montani D, Chamaus M-C, Guignabert C, Günther S, Girerd B, Jais X, et al. Targeted therapies in pulmonary arterial hypertension. *Pharmacol Ther*. févr 2014;141(2):172191
- Archer SL, Weir EK, Wilkins MR. Basic science of pulmonary arterial hypertension for clinicians; new concepts and experimental therapies. *Circulation* 2010;121:2045-66.
- Oka M, Homma N, Taraseviciene-Stewart L, Morris KG, Kraskauskas D, Burns N, et al. Rho kinase-mediated vasoconstriction is important in severe occlusive pulmonary arterial hypertension in rats. *Circ Res* 2007;100:923-9.
- Deng Z, Morse JH, Slager SL, Cuervo N, Moore KJ, Venetos G, et al. Familial primary pulmonary hypertension (gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am J Hum Genet* 2000;67:737-44.
- Lane KB, Machado RD, Pauciulo MW, Thomson JR, Phillips JA 3rd, Loyd JE, et al. Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF-beta receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. *Nat Genet* 2000;26:81-4.

8. Machado RD, Aldred MA, James V, Harrison RE, Patel B, Schwalbe EC, et al. Mutations of the TGF-beta type II receptor BMPR2 in pulmonary arterial hypertension. *Hum Mutat* 2006;27:121–32.
9. Trembath RC, Thomson JR, Machado RD, Morgan NV, Atkinson C, Winslip I, et al. Clinical and molecular genetic features of pulmonary hypertension in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N Engl J Med* 2001;345:325–34.
10. Chaouat A, Coulet F, Favre C, Simonneau G, Weitzenblum E, Soubrier F, et al. Endoglin germline mutation in a patient with hereditary haemorrhagic telangiectasia and dexfenfluramine associated pulmonary arterial hypertension. *Thorax* 2004;59:446–8.
11. 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.
12. Austin ED, Ma L, LeDuc C, Berman Rosenzweig E, Borczuk A, Phillips JA 3rd, et al. Whole exome sequencing to identify a novel gene (caveolin-1) associated with human pulmonary arterial hypertension. *Circ Cardiovasc Genet* 2012;5:336–43.
13. Ma L, Roman-Campos D, Austin ED, Eyries M, Sampson KS, Soubrier F, et al. A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2013;369:351–61.
14. Gired B, Montani D, Coulet F, Sztrymf B, Yaici A, Jais X, 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.
15. Elliott CG, Glissmeyer EW, Havlena GT, Carlquist J, McKinney JT, Rich S, et al. Relationship of BMPR2 mutations to vasoreactivity in pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2006;113:2509–15.
16. 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:e8–11.
17. Aldred MA, Comhair SA, Varella-Garcia M, Asosingh K, Xu W, Noon GP, et al. Somatic chromosome abnormalities in the lungs of patients with pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182:1153–60.
18. Xu W, Koeck T, Lara AR, Neumann D, DiFilippo FP, Koo M, et al. Alterations of cellular bioenergetics in pulmonary artery endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:1342–7.
19. Archer SL, Marsboom G, Kim GH, Zhang HJ, Toth PT, Svensson EC, et al. Epigenetic attenuation of mitochondrial superoxide dismutase 2 in pulmonary arterial hypertension: a basis for excessive cell proliferation and a new therapeutic target. *Circulation* 2010;121:2661–71.
20. Aguirre JI, Morrell NW, Long L, Clift P, Upton PD, Polak JM, et al. Vascular remodeling and ET-1 expression in rat strains with different responses to chronic hypoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278:L981–7.
21. Weir EK, Tucker A, Reeves JT, Will DH, Grover RF. The genetic factor influencing pulmonary hypertension in cattle at high altitude. *Cardiovasc Res* 1974;8:745–9.
22. Cruz JC, Reeves JT, Russell BE, Alexander AF, Will DH. Embryo transplanted calves: the pulmonary hypertensive trait is genetically transmitted. *Proc Soc Exp Biol Med* 1980;164:142–5.
23. Machado RD, Eickelberg O, Elliott CG, Geraci MW, Hanaoka M, Loyd JE, et al. Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:S32–42.
24. Harrison RE, Flanagan JA, Sankelo M, Abdalla SA, Rowell J, Machado RD, 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.
25. 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.
26. Drake KM, Zygmunt D, Mavrikakis L, Harbor P, Wang L, Comhair SA, 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.
27. Nasim MT, Ogo T, Ahmed M, Randall R, Chowdhury HM, Snape KM, et al. Molecular genetic characterization of SMAD signaling molecules in pulmonary arterial hypertension. *Hum Mutat* 2011;32:1385–9.
28. 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.
29. Gired B, Montani D, Coulet F, Sztrymf B, Yaici A, Jais X, 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.
30. Elliott CG, Glissmeyer EW, Havlena GT, Carlquist J, McKinney JT, Rich S, et al. Relationship of BMPR2 mutations to vasoreactivity in pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2006;113:2509–15.