

Genetická predispozice a riziko náhlé srdeční smrti v důsledku maligních arytmií

Kamil Sedláček¹, Jaroslav Hubáček², Josef Kautzner¹

¹Klinika kardiologie IKEM, Praha

²Pracoviště experimentální medicíny, Laboratoř molekulární genetiky, IKEM, Praha

Přes významné pokroky v primární a sekundární prevenci náhlé srdeční smrti zůstává stratifikace rizika individuálních pacientů nadále problematická. V praxi je zatím omezena na stanovení ejekční frakce levé komory srdeční, což je nejrobustnější ze studovaných parametrů. Bouřlivý rozvoj genomového výzkumu v posledních 20 letech přináší naději, že bude možné využít k predikci rizika maligních arytmií v obecné populaci nové poznatky získané studiem molekulární a genetické podstaty mendelovskými přenášenými onemocněními, jako je syndrom dlouhého a krátkého intervalu QT. V současné době probíhají velké populační studie, které by měly identifikovat genetické markery spojené s vyšším rizikem vzniku maligních arytmií jak u dosud zdravé populace, tak i u pacientů s organickým srdečním onemocněním. V tomto článku přinášíme přehled současných znalostí z této oblasti a popisujeme praktický příslib využití genetické informace pro budoucí aplikaci v rizikové stratifikaci náhlé srdeční smrti.

Klíčová slova: náhlá smrt, maligní arytmie, rizikové faktory, genetika, mapování.

Genetic predisposition and risk of sudden cardiac death due to malignant arrhythmias

Despite significant advances in primary and secondary prevention of sudden cardiac death, risk stratification in individual patients is of a limited value. In clinical practice, it remains restricted mainly to assessment of left ventricular ejection fraction which is the most robust parameter among all. Advances in the field of genomic medicine open new opportunities to apply knowledge obtained through studies of Mendelian diseases such as short or long QT syndrome for risk prediction of malignant arrhythmias in general population. Currently, population studies are ongoing that aim at identification of genetic markers associated with increased risk of life-threatening arrhythmia both in apparently healthy population and in patients with structural heart disease. In this article, we review current state of knowledge in this field and identify potential practical use of genetic susceptibility markers in risk stratification of sudden cardiac death.

Key words: sudden death, malignant arrhythmias, risk factors, genetics, mapping.

Interv Akut Kardiolog 2009; 8(5): 242–246

Úvod

Arytmické příhody a náhlá srdeční smrt (NSS) se významně podílí na statistikách kardiovaskulární morbidity a mortality (1). Zkušenosti získané v průběhu mnohaletého studia predikce rizika maligních srdečních arytmií ukázaly, že individuální riziko vzniku život ohrožující arytmie je multifaktoriální a že předpovědní hodnota jednotlivých rizikových faktorů je nízká. Každý z těchto faktorů je totiž zaměřen pouze na jednu oblast procesu arytmogeneze (například na identifikaci substrátu pro vznik arytmií, na přítomnost spouštěcích faktorů, jako jsou komorové extrasystoly nebo ischemie myokardu a na posouzení modifikujících faktorů, jako je stav autonomního nervového systému). Ani kombinace několika faktorů nepřinesla významnější zpřesnění odhadu rizika vzniku maligních arytmií. Data z prospektivních studií ukázala, že jediným prakticky použitelným parametrem v procesu primární prevence NSS je ejekční frakce levé komory. Bohužel jde o parametr málo specifický a řada nemocných s pokročilou systolickou dysfunkcí levé komory maligní arytmii nikdy neprodělá. Dalším problémem rizikové stratifikace založené

na posouzení systolické funkce levé komory srdeční je skutečnost, že identifikuje pouze malou podskupinu nemocných z celkového počtu jedinců ohrožených NSS mezi veškerým obyvatelstvem. Prevence NSS u poměrně rizikových pacientů s významně sníženou ejekční frakcí levé komory má proto relativně malý dopad na počet náhlých úmrtí v běžné populaci. Jde o tzv. Myerburgův paradox, který dokumentuje, že významné snížení počtu náhlých úmrtí lze dosáhnout pouze zpřesněním předpovědi rizika v celkové populaci (2).

Rozvoj genomové medicíny vedl v posledních dvaceti letech k objasnění molekulární podstaty a patofyziologie mnoha kardiovaskulárních onemocnění s familiárním výskytem. V současné době dochází k translaci těchto znalostí do výzkumu genetického rizika maligních arytmií a NSS na populační úrovni. V tomto přehledu se zabýváme aplikací znalostí získaných v oblasti vzácných mendelovských familiárních forem arytmií a syndromů vyvolaných dobře definovanými vzácnými mutacemi do oblasti populační genetiky a hodnotíme potenciální význam genetických markerů arytmiického rizika

pro klinicky aplikovatelnou rizikovou stratifikaci. Zájemce o podrobnější informace o současném stavu a směřování genomové medicíny v kardiologii odkazujeme na recentní a podrobné kapitoly v českých kardiologických monografiích (3, 4).

Současná riziková stratifikace NSS a její omezení

V širším kontextu jsou klinické rizikové faktory NSS podobné rizikovým faktorům aterosklerózy, neboť sama přítomnost manifestní aterosklerózy je potentním rizikovým faktorem. Ischemická choroba srdeční jako projev aterosklerózy věnčitých cév je také nejčastějším organickým onemocněním, které vede k poruše systolické funkce levé komory srdeční. Dalším velmi závažným rizikovým faktorem NSS je kouření, které zvyšuje relativní riziko náhlého úmrtí až čtyřikrát.

Riziková stratifikace NSS v užším smyslu slova vychází z nových znalostí o procesu etiopatogeneze maligních arytmií (Coumel a jeho trojúhelník). Byla proto zaměřena především na identifikaci faktorů, které se na tomto procesu podílejí. Například substrátem komorových

arytmií charakteru reentry bývá jizevnatá tkáň, která vede k prodloužení procesu depolarizace komorové svaloviny a jeho nehomogenitě. Jedním z prostředků k odhalení opožděné komorové aktivace určitých okrsků myokardu je proto analýza pozdních potenciálů pomocí tzv. signal-averaged ECG. Jedním ze spouštěcích faktorů maligních arytmií jsou komorové extrasystoly. Analýza jejich výskytu a počtu se proto staly dalšími rizikovými parametry. Náchylnost ke vzniku komorových tachykardií lze otestovat prostřednictvím programované stimulace komor (jinými slovy, aplikací mnoha spouštěcích faktorů o různém vazebném intervalu za kontrolovaných podmínek). O vzniku maligní arytmie často rozhodují i tzv. modulující faktory, které mohou ovlivnit jak stav arytmogenního substrátu, tak i výskyt spouštěcích faktorů. Může jít o ischemii myokardu, stav autonomního nervového systému nebo plazmatické hladiny minerálů. Přehled o modulujících faktorech lze získat celou řadou vyšetření, jako je detekce ischemie myokardu, posouzení variability srdečního rytmu nebo senzitivity baroreflexu. Přes optimistické výsledky mnoha dílčích výzkumných studií se nepodařilo vyšetřováním jednotlivých složek procesu arytmogeneze dosáhnout reprodukovatelné a klinicky použitelné předpovědi rizika NSS. Multicentrické randomizované studie věnované profylaktickému použití implantabilních kardioverterů-defibrilátorů u nemocných ohrožených náhlým úmrtím dokumentovaly, že většina zmíněných sofistikovaných rizikových parametrů v predikci rizika NSS selhala. Jako důsledek se v klinické praxi uplatňuje v současnosti prakticky jen stupeň redukce ejekční frakce a s ní související pokročilost srdečního selhání, obvykle hodnocená pomocí třídy funkční klasifikace dne NYHA (New York Heart Association) (5). Přes rozsáhlý výzkum tak nejsme prozatím schopni úspěšně predikovat až dvě třetiny náhlých úmrtí. Ve snaze o zpřesnění a individualizaci predikce rizika NSS se proto pozornost v posledních letech obrací i k molekulární genetice.

NSS jako genetické onemocnění

Předpokladem pro možnost zkoumání genetické podstaty určitého onemocnění je průkaz významu dědičnosti v jeho etiopatogenezi. U familiárně vázaných a většinou monogenně dědičných onemocnění (např. syndrom dlouhého či krátkého QT intervalu) je takový průkaz jednoduchý prostým rozbořením rodokmenu. V případě tzv. komplexních onemocnění (např. arteriální hypertenze, ateroskleróza nebo sporadický výskyt NSS v populaci), které jsou

výsledkem interakcí genetických predispozic, vlivů prostředí a nezdravého životního stylu, je ověření genetické komponenty mnohem obtížnější. Z obecného hlediska vyžaduje analýzu rozsáhlých a dobře definovaných populačních studií. Rizikem NSS v běžné populaci se zabývala studie Friedlander et al., ve které byl výskyt infarktu myokardu nebo NSS u příbuzného prvního stupně spojen s relativním rizikem NSS 1,57 nezávisle na agregaci dalších rizikových faktorů aterosklerózy v postižených rodinách (6). Ve velké populační studii nazvané Paris Prospective Study byl výskyt NSS u rodičů spojen s vyšším rizikem NSS u jejich potomků (7), přičemž postižení matek bylo spojeno s vyšším relativním rizikem (2,59) než v případě výskytu NSS otce (1,80). To je vysvětlitelné *a priori* nižším rizikem kardiovaskulárních příhod u žen do menopauzy, a tedy pravděpodobně silnější genetickou komponentou u těch, které takovou příhodu utrpěly. Pokud zemřeli NSS oba rodiče, činilo relativní riziko pro potomka v této studii 9,44. Významný vliv pozitivní rodinné anamnézy na riziko NSS ve zmíněných studiích svědčí pro obecnou genetickou komponentu rizika NSS, přestože se nejedná o kauzální průkaz. Riziko onemocnění může být v rodinách ovlivněno i negenetickými parametry jako např. selektivním výběrem životního partnera a sdílením určitého rizikového profilu (např. specifické dietní zvyky, společná úroveň kvality životního prostředí, kouření).

Další studie se zabývaly otázkou, zda je možné definovat specifickou složku dědičnosti rizika NSS v průběhu akutního koronárního syndromu. Ve finské studii byla hodnocena rodinná anamnéza u pacientů, kteří zemřeli NSS a u kterých byl sekčně prokázán akutní koronární syndrom (8). Pravděpodobnost nalezení příbuzného pacienta zemřelého NSS v době akutní koronární příhody byla 2,2krát vyšší než u kontrolní zdravé populace a 1,6krát vyšší než u pacientů přeživších akutní infarkt myokardu. Pravděpodobnost, že zemřelí pacienti v této studii měli dva nebo více příbuzných, kteří též zemřeli NSS, byla 11,3krát vyšší než u kontrolní zdravé populace a 3,3krát vyšší než pacientů přeživších akutní infarkt myokardu. V Nizozemí byla provedena podobná studie, ve které Dekker et al. studovali 330 pacientů s fibrilací komor v průběhu prvních dvanácti hodin akutního infarktu myokardu s elevací ST úseku a srovnali je s kontrolní skupinou pacientů se stejným onemocněním bez průvodní fibrilace komor (9). V multivariační analýze zahrnující další rizikové faktory NSS byla rodinná anamnéza NSS

nezávisle spojena s 3,3krát vyšším rizikem vzniku fibrilace komor než u pacientů bez přímých příbuzných, kteří zemřeli NSS. Přestože se tedy na první pohled může zdát, že hlavním a nezávislým spouštěcím faktorem vzniku maligních arytmií v průběhu akutních koronárních syndromů je ischemický infarkt, výše jmenované studie svědčí pro rodinnou (a tím pádem genetickou) dispozici pro jejich vznik.

Výzkum v oblasti zástupných parametrů maligních komorových arytmií

Přímý populační genetický výzkum u pacientů zemřelých či resuscitovaných pro maligní komorovou arytmiu je pomalejší než v jiných oblastech kardiovaskulárních onemocnění. Je to dáno především tím, že v klinické praxi je obtížné získat dostatečně velké populace pro genetický výzkum NSS. Proto se výzkum v minulých letech soustředil na studium zástupných parametrů, které předpovídají zvýšené riziko NSS v populaci. Mezi tyto zástupné nebo intermediární fenotypy patří především interval QT na dvanáctisvodovém EKG. Interval QT je komplexní dědičný znak (tzn. dědičný s významnou proměnlivostí danou vlivy prostředí) s přibližně 35 % heritabilitou (10). Jeho výhodou je statisticky normální distribuce v populaci (11). V populačních studiích je delší interval QT spojován s vyšším rizikem NSS, a to především u jedinců s vyšším kardiovaskulárním rizikem (12) nebo manifestní ischemickou chorobou srdeční (13).

Stanovení intervalu QT je v populačních studiích při použití moderních digitálních EKG přístrojů a vhodného softwaru velmi přesný proces, který poskytuje vysoce reprodukovatelné výsledky. Umožňuje proto na populační úrovni zkoumat rozdíly v řádu milisekund (14). Pro účely přesného hodnocení intervalu QT je vhodné vytvoření specifických lineárních regresních korekčních rovnic, obsahujících klíčové faktory ovlivňující délku intervalu QT (srdeční frekvence, věk a pohlaví). Použití v klinické praxi nečastěji používané Bazzettovy rovnice je pro výzkumné účely tohoto typu méně vhodné.

První genetické populační studie věnované intervalu QT pocházejí z éry, kdy ještě nebyly dostupné technologie celogenomových studií, které dnes umožňují vyšetřit reprezentativní markery rovnoměrně rozprostřené v celém lidském genomu. Tyto práce analyzovaly vliv jednotlivých kandidátních genů, resp. jednotlivých genových polymorfizmů v nich na délku intervalu QT v populaci. Pfeufer et al. publikovali v roce 2005 práci, ve které studovali 174 genových

polymorfizmů (SNPs – single nucleotide polymorphisms) ve 4 kandidátních genech kódujících myokardiální kanálové proteiny, jejichž vzácné mutace vedou např. ke vzniku syndromu dlouhého QT intervalu. Podařilo se jim identifikovat polymorfizmy v genu KCNQ1 a KCNH2, které v německé populaci studie MONICA (resp. její subpopulaci KORA S4) významně ovlivňovaly délku intervalu QT. V roce 1999 popsali Busjahn et al. pomocí vazebné studie genomový lokus na chromozomu 4, ovlivňující délku intervalu QT (15). V tomto lokusu byl později identifikován gen Ankyrin 2, jehož mutace jsou zodpovědné za syndrom dlouhého QT intervalu č. 4 (LQT4) a další komplexní arytmiické fenotypy, jako jsou poruchy funkce sinusového uzlu, fibrilace síní, komorové arytmie a NSS (16,17). Sedláček et al. publikovali v nedávné době analýzu 22 polymorfizmů (SNPs) v tomto genu (18). V oblasti 5' – konce genu byly identifikovány varianty, významně ovlivňující délku intervalu QT v populaci KORA S3 (subpopulace německé studie MONICA) a výsledek byl úspěšně replikován v nezávislé populaci (KORA S4 – další subpopulace studie MONICA). Jedna z genetických variant (kódové označení rs6850768) měla významný vliv na délku intervalu QT v obou studovaných populacích. Rozdíl v délce intervalu QT u homozygotů byl 3,79 ms (95 % konfidenční interval 1,48–5,58), $P = 0,0008$ v populaci KORA S3 a 2,94 ms (95 % konfidenční interval 1,11–4,77), $P = 0,001$ v populaci KORA S4. V této práci jsme dále prokázali, že do té doby pouze predikované oblasti v oblasti 5'–konce genu Ankyrin 2 obsahují alternativní počátek genu (alternativní exon 1) a jsou tak zajímavé z hlediska regulace genové funkce a genové exprese.

Zcela novu dimenzi v možnostech identifikace genetických markerů pro komplexní fenotypy, jako je délka intervalu QT nebo riziko NSS poskytují dnes celogenomové asociační studie. Statistická teorie vychází ze zkušeností s celogenomovými vazebnými studiemi (linkage studies) pomocí přibližně 400 polymorfních markerů (satelitů) rozprostřených v genomu, které umožnily najít úseky na chromozomech a poté i odpovídající geny zodpovědné za vznik většiny monogenních onemocnění. Díky znalosti fyzické sekvence lidského genomu jsou dnes k dispozici čipové technologie umožňující provedení celogenomového scanu pomocí 100 000 až 1 000 000 dialelických markerů (SNPs). Na rozdíl od strategie kandidátních genů a kandidátních markerů se celogenomové studie provádějí bez apriorního předpokladu, kde se mohou hledané markery nacházet. Možnosti

a limitace této mapovací strategie demonstrovala v oblasti hledání genetických determinant srdeční repolarizace měřené délkou intervalu QT práce Arkinga a Pfeufera et al. z roku 2006 (19). Podobně jako v jiných celogenomových studiích začínali autoři s malým selektovaným souborem 200 probandů z německé populační studie KORA S4 s extrémními hodnotami intervalu QT (dolní a horní 7,5. percentil hodnot intervalu QT), u kterých bylo genotypizováno 115 000 markerů. Do další fáze genotypizace bylo vybráno 10 markerů z 10 nejvýznamnějších lokusů ($P < 10^{-4}$) spolu s doplňujícími sousedními markery k umožnění haplotypových analýz a dále vybrané markery ze 45 kandidátních genů. Ve druhé fázi bylo následně testováno 400 probandů z hodnotami korigovaného intervalu QT z dolního respektive horního 15. percentilu. Do třetí definitivní fáze, ve které bylo genotypizováno 3 366 zbývajících probandů z celé studie, postoupily z druhé fáze anonymní markery s $P < 0,005$ respektive kandidátní markery s $P < 0,01$. Úspěšná replikace primárních výsledků proběhla na další části německé studie MONICA (KORA S3) a na populaci Framinghamské studie. Výsledkem této celogenomové studie byla identifikace markeru rs10494366 v genu NOS1AP, který vysvětluje 1,5 % variance intervalu QT a jehož nositelem je kolem 60 % populace evropského původu. NOS1AP (resp. jeho proteinový produkt nazvaný CAPON) je regulátor neuronální NOS syntázy. Tento gen nebyl doposud spojován s funkcí v srdeční repolarizaci, avšak pomocí RT-PCR lze prokázat jeho expresi v myokardu. Význam role NOS1AP v srdeční repolarizaci byl potvrzen v několika dalších studiích, které vesměs replikovaly původní nález na vysoké hladině významnosti. Příkladem může být výsledek replikace provedené na populaci Rotterdamské studie, kde byla zjištěna asociace na hladině významnosti $P = 10^{-19}$ (20). Ve všech těchto studiích jsou změny intervalu QT u nositelů zmíněné genetické varianty kolem 2–4 ms.

Tato studie představuje jeden z prvních příkladů úspěšnosti celogenomové strategie mapování pomocí častých genetických markerů a identifikace jejich patofyziologické role. Kandidátní strategií nelze takové markery identifikovat ze dvou důvodů. Prvním důvodem je to, že kandidátní strategie si vybírají přinejlepším zlomek genetických markerů a snaží se s jejich pomocí podchytit patofyziologicky významnou genetickou variabilitu, což je často odsouzeno k apriornímu selhání ať už vinou vynechání významných markerů nebo statistické chyby I. nebo II. typu. Druhým důvodem jsou naše velmi

omezené znalosti o regulaci, funkci a expresi a interakci genů a jejich fungování v patofyziologických cestách, což brání ve výběru správných kandidátních genů a markerů. Celogenomové studie jsou organizačně náročné a nákladné, ale při použití správné metodologie a statistické teorie přinášejí robustní a replikovatelné výsledky a umožňují formulovat nové patofyziologické teorie.

V roce 2008 byly publikovány impresivní výsledky dvou pokračujících nezávislých velkých celogenomových projektů týkajících se vlivu v populaci častých genetických variant na délku intervalu QT. První projekt byl pokračováním spolupráce německých výzkumníků (Pfeufer et al.) a skupiny z Johns Hopkins University v Baltimoru (Arking et al.) (21). Zrcadlově podobný projekt byl realizován v Bostonu na Harvardově univerzitě (Newton-Cheh et al.) (22). V obou projektech byly použity pokročilejší genotypizační platformy umožňující stanovení až několika set tisíc genetických markerů u jednoho pacienta. Velkým úspěchem tohoto paralelního vědeckého klání je kromě očekávané replikace lokusu v NOS1AP (CAPON) identifikace dalších genetických variant ovlivňujících délku intervalu QT v devíti genomových lokusech, které jsou v obou studiích identické (tabulka 1). Některé z nich jsou jasnými kandidátními geny, kódujícími proteiny myokardiálních iontových kanálů. Deset nejvýznamnějších markerů v 10 identifikovaných genech použili autoři k výpočtu skóre QT intervalu, které v závislosti na počtu alel prodlužujících interval QT u daného jedince dosahovalo hodnot 0–20 (10 genových lokusů obsahuje 20 alel a jedinec může být nositelem 0–20 alel prodlužujících interval QT). Jednotlivé alely vedly k průměrnému prodloužení intervalu QT o pouhých $1,53 \pm 0,08$ ms, avšak rozdíl mezi jedinci s hodnotami vypočteného skóre ≤ 6 a ≥ 16 byl již 18,1 ms. Vyšší skóre bylo spojeno se zvýšeným rizikem prodloužení intervalu QT na EKG nad hodnoty normy (≥ 440 ms u mužů a ≥ 450 ms u žen).

Výše zmíněné práce představují mezi dostupnými celogenomovými studiemi jeden z nejpřesvědčivějších důkazů robustnosti genetického mapování při použití vhodných populací, vyspělých technologií a schopnosti spolupracovat ve velkých mezinárodních konsorciích. Dokumentují poprvé, že v dobře vybraných a fenotypizovaných populacích lze s vysokou reprodukovatelností identifikovat genetické varianty vysvětlující jen malou část (kolem 1–2 %) celkové variance daného znaku či onemocnění. Výše uvedené studie tak představují přímý předstupeň

Tabulka 1. Srovnání nejvýznamnějších nálezů dvou celogenomových scanů zkoumajících vliv běžných genetických variant na délku intervalu QT

Gen	Funkce produktu genu v myokardu	Marker	Pozice markeru v genu	Konzorcium QTSCD		Konzorcium QTGEN	
				Beta (ms)	P	Beta (ms)	P
RNF207	Neznámá	rs846111	3' UTR	1,49	$3,56 \times 10^{-09}$	2,14	$4,69 \times 10^{-09}$
NOS1AP	Interakce s NOS1, v myokardu inhibice vápníkových kanálů typu L	rs12143842	-5.7 kb	2,88	$1,63 \times 10^{-35}$	3,77	$2,26 \times 10^{-45}$
ATP1B1	Podjednotka beta 1 Na ⁺ /K ⁺ -ATPázy	rs10919071	Intron 6	2,05	$2,18 \times 10^{-12}$	1,40	$3,94 \times 10^{-05}$
SCN5A	Sodíkový iontový kanál	rs11129795	3'UTR	-1,27	$3,67 \times 10^{-08}$	-1,39	$2,33 \times 10^{-07}$
PLN	Fosfolamban – inhibitor Ca ⁽²⁺⁾ -ATPázy sarkoplasmatického retikula	rs11970286	-189kb	1,64	$1,97 \times 10^{-16}$	1,37	$2,37 \times 10^{-09}$
KCNH2	Draslíkový iontový kanál	rs2968863	-18.9 kb	-1,35	$3,79 \times 10^{-09}$	-1,40	$6,14 \times 10^{-10}$
KCNQ1	Draslíkový iontový kanál	rs12296050	Intron 1	1,44	$8,52 \times 10^{-09}$	1,88	$2,01 \times 10^{-16}$
LITAF	Regulace exprese TNFα	rs8049607	-11 kb	1,25	$2,91 \times 10^{-08}$	1,46	$1,90 \times 10^{-08}$
NDRG4	Regulace růstu kardiomyocytů	rs7188697	+74.6 kb	1,66	$1,25 \times 10^{-12}$	1,98	$2,72 \times 10^{-15}$
KCNJ2	Draslíkový iontový kanál	rs17779747	+319kb	-1,16	$3,36 \times 10^{-08}$	-1,02	$3,46 \times 10^{-05}$

Tabulka demonstruje reproduibilitu hlavních výsledků dvou zcela nezávislých celogenomových scanů provedených s cílem identifikace genetických variant ovlivňujících délku intervalu QT v běžné populaci (21,22). Korekce na mnohočetné testování vedla ke stanovení celogenomové hladiny významnosti $P < 5 \times 10^{-8}$. Použité zkratky: UTR – untranslated region (oblast genu nepodléhající translaci); kb – kilobase; beta – koeficient regresního modelu identifikující velikost efektu; P – statistická významnost; NOS1 – nitric-oxide synthase 1; TNFα – tumor necrosis factor alpha. Upraveno podle Pfeufer et al. (21)
Konzorcium QTSCD: spojení výzkumných týmů převážně z Mnichova v SRN (HelmholtzZentrum, Klinikum Rechts der Isar, Technische Universität, Klinikum Grosshadern) a výzkumných týmů z Johns Hopkins University v Baltimore (USA).
Konzorcium QTGEN: spojení výzkumných týmů z Bostonu v USA (Harvard Medical School, MIT atd.), Framinghamské studie (NHLBI), a týmů pracujících na tzv. Rotterdamské studii v Nizozemí).

studia vlivu genetické variability na riziko NSS v obecné populaci.

Vliv genetické variability v běžné populaci na riziko NSS

Výzkum genetického pozadí rizika NSS je doposud brzděn omezenou dostupností dostatečně velkých dobře charakterizovaných populací vhodných k primární analýze a provedení replikačních testů. V aktuálně běžících projektech je fenotyp NSS definován různě. Zařazení mohou být pacienti, kteří přežili srdeční zástavu na podkladě dokumentované maligní arytmie (fibrilace komor nebo komorové tachykardie). Jindy bývá DNA izolována od probandů až *post mortem*, pokud úmrtí splnilo klinickou nebo patologicko-anatomickou definici NSS. V širším smyslu jsou v některých projektech definováni postižení jedinci jako nemocní s ICD implantovaným v rámci sekundární prevence NSS (tj. po prodělané arytmiické příhodě). Další alternativou jsou pacienti s ICD, kteří prodělali adekvátní terapii z přístroje pro potenciálně maligní arytmií během sledování. Jinou specifickou skupinu tvoří pacienti, kteří prodělají fibrilaci komor v průběhu akutního koronárního syndromu (tzv. primární fibrilace komor). Je zřejmé, že tyto různé definice mají své specifické výhody, ale také nevýhody. V genetickém výzkumu je na jedné straně důležitá snaha o co nejpřesnější charakteristiku postižených jedinců. Hlavním důvodem je omezení genetické a fenotypové heterogenity,

kteří snižují šanci na nalezení genetických markerů ovlivňujících riziko daného onemocnění. V případě studia NSS však vede příliš striktní definice fenotypu k významné redukci počtu dostupných pacientů. Možným řešením tohoto problému může být mezinárodní spolupráce, která umožní studium větší populace nemocných. Na druhé straně přináší riziko možného zkreslení výsledků statistického hodnocení v důsledku genetických rozdílů mezi jednotlivými subpopulacemi z odlišných regionů. To může vést jak k falešně negativním, tak i k falešně pozitivním výsledkům. Národním příkladem může být populačně vysoce specifický marker rizika NSS, kterým je polymorfismus S1102Y (vedoucí k záměně aminokyseliny serinu v pozici 1102 za tyrosin) v genu SCN5A. Tento gen kóduje myokardiální sodíkový kanál, jehož mutace jsou příčinou syndromu dlouhého QT (konkrétně typu 3). Splawski et al. popsali již v roce 2002 výrazně disporopočný výskyt této alely u afroamerických pacientů trpících komorovými arytmiemi, synkopami a prodloužením QT (57% vs. 13% v kontrolní afroamerické populaci, $P = 0,00003$, relativní riziko 10,8). Frekvence tohoto polymorfismu u bílé populace auroasijského původu je mizivá. Potvrzení role polymorfismu SCN5A S1102Y u afroamerické populace přinesla sekční studie u 289 neočekávaně zemřelých pacientů v Marylandu (Burke et al., 2005). V podskupině zemřelých, u kterých bylo úmrtí klasifikováno jako arytmiické, byla frekvence tohoto polymor-

fizmu oproti kontrolní populaci výrazně zvýšena (20–28% vs. 5%).
Výše uvedené kandidátní studie vyházejí z teoretické úvahy, že relativně vzácné genetické varianty podobné mutacím způsobujícím monogenní onemocnění typu syndromu dlouhého QT, mohou být zodpovědné za významnou část výskytu NSS v běžné populaci. Tato teorie je označována sloganem „vzácná varianta – časté onemocnění“ (rare variant – common disease). Kromě výše uvedených studií však pro ni existuje zatím jen velmi málo důkazů. Spíše se zdá, že podobně jako u výše popsaných nálezů týkajících se variability intervalu QT se bude na riziku NSS podílet mnoho v populaci častých variant (dle definice s frekvencí > 1%) a jejich výsledný klinický efekt bude aditivní (paradigma „častá varianta – časté onemocnění“, „common variant – common disease“). První data ukazují, že roli v riziku NSS může hrát genetická variabilita výše zmíněného genu NOS1AP (CAPON), který ovlivňuje délku intervalu QT. Kao et al. publikovali v letošním roce práci, ve které srovnávali přibližně 500 pacientů zemřelých na NSS s více než 18 000 kontrolními jedinci ze studií NHLBI-ARIC a CHS (23). Přítomnost jedné kopie alely markeru rs16847548 (heterozygocie) byla spojena se zvýšeným relativním rizikem NSS 1,3 a dvě kopie této varianty (homozygocie) vedly ke zvýšení relativního rizika na 1,8 nezávisle na klasických rizikových faktorech.

Závěr a výhled do (blízké) budoucnosti

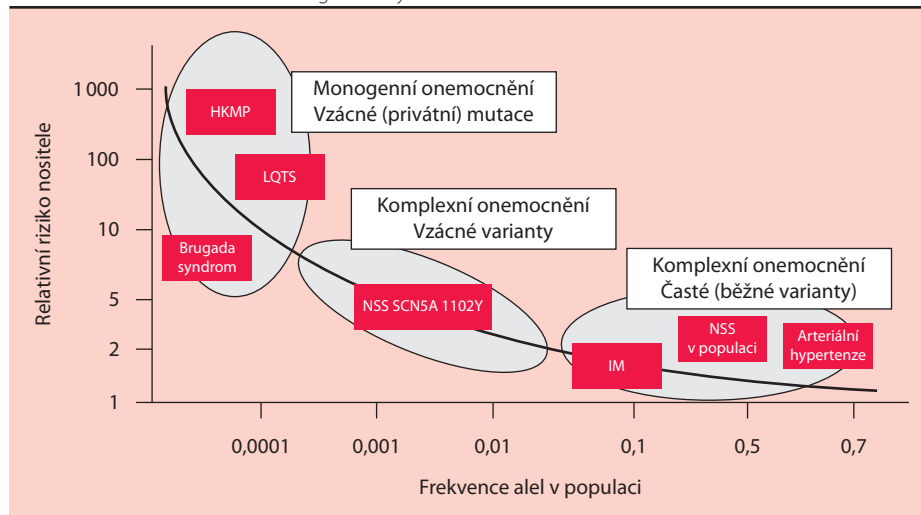
Vzhledem k aktuálnímu stavu projektů zabývajících se genetickým rizikem NSS je pravděpodobné, že brzy budeme mít k dispozici sadu genetických markerů, podobných těm, které jsme popsali v odstavci o intervalu QT jako intermediárním fenotypu. Dosavadní poznatky ukazují, že v případě NSS bude spíše platit hypotéza „common variant – common disease“ a že úloha vzácných polymorfizmů či dokonce mutací uplatňujících se u monogenních forem arytmiických syndromů nebude v populaci významná (obrázek 1). Protože fenotypový efekt jednotlivých a v populaci častých variant je z individuálního hlediska relativně malý, bude nutné testovat použitelnost markerů na různých populacích, replikovat originální nálezy a konstruovat populačně specifická genetická riziková skóre podobná tomu, jaké jsme popsali výše u hodnocení intervalu QT. Pro validaci genetických rizikových skóre bude nezbytné mít k dispozici dobře fenotypizované populace případů a kontrol v řádu tisíců pacientů. Bylo by proto výhodné počítat s tímto vývojem i v podmínkách České republiky a ve spolupráci větších pracovišť připravit program prospektivního studování vhodných populací.

Tato práce byla podpořena grantem MŠMT č. 1M0510 (KS, JH) a grantem GAUK č. 63808 258081 (KS, JK).

Literatura

1. Zipes DP, Wellens HJ. Sudden cardiac death. *Circulation* 1998; 98: 2334–2351.
2. Myerburg RJ, Kessler KM, Castellanos A. Sudden cardiac death. Structure, function, and time-dependence of risk. *Circulation* 1992; 85(1 Suppl): 12–110.
3. Sedláček K, Kořínek J, Aschermann M. Genetika a genomika. In: Aschermann, Michael, eds. *Kardiologie*. 1st ed. Praha: Galén, 2004: 543–558.
4. Groch L, Grochová I. Srdce a genetika. In: Vojáček J, Kettner J, eds. *Klinická kardiologie*. 1st ed. Hradec Králové: Nucleus HK, 2009: 866–893.
5. The Multicenter Postinfarction Research Group. Risk stratification and survival after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1983; 309: 331–336.
6. Friedlander Y, Siscovick DS, Weinmann S, et al. Family history as a risk factor for primary cardiac arrest. *Circulation* 1998; 97: 155–160.
7. Jouven X, Desnos M, Guerot C, Ducimetière P. Predicting sudden death in the population: the Paris Prospective Study I. *Circulation* 1999; 99: 1978–1983.
8. Kaikkonen KS, Kortelainen ML, Linna E, Huikuri HV. Family history and the risk of sudden cardiac death as a manifestation of an acute coronary event. *Circulation* 2006; 114: 1462–1467.

Obrázek 1. Alelická architektura genetických onemocnění



Legenda: U vzácných monogenních nebo oligogenních onemocnění (např. HKMP, LQTS nebo Brugada syndrom) jsou relativní rizika kauzálních mutací vysoká a většinou je možné identifikovat zjevný rodinný výskyt. Mutace jsou často jedinečné („privátní“) pro danou rodinu. Genetická predispozice ke komplexním onemocněním s vysokou prevalencí v populaci, jako je např. arteriální hypertenze, ateroskleróza nebo infarkt myokardu, je pravděpodobně výsledkem interakcí mnoha funkčně málo významných genomových variant, které jsou však časté v populaci (hypotéza „častá varianta – časté onemocnění“). Dokladů pro významnější roli vzácných variant s populační frekvencí řádově kolem 1 % je velmi málo. Použité zkratky: HKMP – hypertrofická kardiomyopatie; LQTS – syndrom dlouhého intervalu QT; NSS SCN5A S1102Y – polymorfismus v genu SCN5A zvyšující riziko NSS, vyskytující se prakticky jen v afroamerické populaci (viz text); IM – infarkt myokardu; NSS – náhlá srdeční smrt se sporadickým výskytem v běžné populaci a populaci pacientů se strukturálním srdečním onemocněním. Upraveno dle Wrighta (24) a Mortona (25).

9. Dekker LR, Bezzina CR, Henriques JP, et al. Familial sudden death is an important risk factor for primary ventricular fibrillation: a case-control study in acute myocardial infarction patients. *Circulation* 2006; 114: 1140–1145.
10. Carter N, Snieder H, Jeffery S, Saumarez R, Varma C, Antoniadis L, Spector TD. QT interval in twins. *J Hum Hypertens* 2000; 14: 389–390.
11. Pfeufer A, Jalilzadeh S, Perz S, et al. Common variants in myocardial ion channel genes modify the QT interval in the general population: results from the KORA study. *Circ Res* 2005; 96: 693–701.
12. Karjalainen J, Reunanen A, Ristola P, Viitasalo M. QT interval as a cardiac risk factor in a middle aged population. *Heart* 1997; 77: 543–548.
13. Robbins J, Nelson JC, Rautaharju PM, Gottdiener JS. The association between the length of the QT interval and mortality in the Cardiovascular Health Study. *Am J Med* 2003; 115: 689–694.
14. Perz S, Pfeufer A, Holle R, et al. Does Computerized ECG Analysis Provide Sufficiently Consistent QT Interval Estimates For Genetic Research? In: *Analysis of Biomedical Signals and Images – Proceedings of the 17th Biennial International EURASIP Conference Biosignal 2004*, Brno, Czech Republic, June 23–25, 2004 (Eds. J. Jan, J. Kozumplik, I. Provaznik), Vutium Press 2004: 47–49.
15. Busjahn A, Knoblauch H, Faulhaber HD, et al. QT interval is linked to 2 long-QT syndrome loci in normal subjects. *Circulation* 1999; 99: 3161–3164.
16. Mohler PJ, Schott JJ, Gramolini AO, et al. Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. *Nature* 2003; 421: 634–639.
17. Mohler PJ, Le Scouarnec S, Denjoy I, et al. Defining the cellular phenotype of „ankyrin-B syndrome“ variants: human ANK2 variants associated with clinical phenotypes display a spectrum of activities in cardiomyocytes. *Circulation* 2007; 115: 432–441.

18. Sedlacek K, Stark K, Cunha SR, et al. Common Genetic Variants in ANK2 Modulate QT Interval. Results From the KORA Study. *Circ Cardiovasc Genet* 2008; 1: 93–99.
19. Arking DE, Pfeufer A, Post W, et al. A common genetic variant in the NOS1 regulator NOS1AP modulates cardiac repolarization. *Nat Genet* 2006; 38: 644–651.
20. Aarnoudse AJ, Newton-Cheh C, de Bakker PI, et al. Common NOS1AP variants are associated with a prolonged QTc interval in the Rotterdam Study. *Circulation* 2007; 116: 10–16.
21. Pfeufer A, Sanna S, Arking DE, et al. Common variants at ten loci modulate the QT interval duration in the QTSCD Study. *Nat Genet* 2009; 41: 407–414.
22. Newton-Cheh C, Eijgelsheim M, Rice KM, et al. Common variants at ten loci influence QT interval duration in the QTGEN Study. *Nat Genet* 2009; 41: 399–406.
23. Kao WH, Arking DE, Post W, et al. Genetic variations in nitric oxide synthase 1 adaptor protein are associated with sudden cardiac death in US white community-based populations. *Circulation* 2009; 119: 940–951.
24. Wright S. Genetic and biometric foundations In: Wright S, eds. *Evolution and the genetics of populations*. Vol 1. Chicago: University of Chicago Press, 1968.
25. Morton NE. Significance levels in complex inheritance. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 690–697.

Článek přijat redakcí: 10. 8. 2009

Článek přijat k publikaci: 25. 8. 2009

MUDr. Kamil Sedláček

Klinika kardiologie IKEM
Videňská 1958/9, 140 21 Praha 4
kamil.sedlacek@ikem.cz