

GENETIKA A KARDIOLOGIE NA PRAHU NOVÉHO TISÍČLETÍ

MUDr. Jana Gandalovičová

Mount Sinai Hospital, New York, USA

Článek pojednává o dědičných kardiovaskulárních onemocněních, jejich genetickém přenosu a posledních objevech na tomto poli. Zmiňuje úlohu genetického testování a možnosti terapeutického ovlivnění dědičných nemocí.

Úvod

I když jsou dobře známy rizikové faktory ischemické choroby srdeční (ICHS) (hypertenze, hypercholesterolémie atd.), k více než polovině všech závažných srdečních potíží, včetně infarktu myokardu, dochází u doposud zdravých jedinců bez předchozích symptomů. Nový náhled do genetické podstaty kardiovaskulárních onemocnění v posledních několika letech zahájil novou etapu v chápání patofyziologie. Byl umožněn novými technologickými postupy vyšetřování jako je PCR (polymerázová řetězová reakce), automatické DNA sekvenování a velmi rychlým pokrokem Lidského genomového projektu (Human Genome Project – HGP). Nové koncepty odvozené z genetických studií objasňují předchozí nejasnosti. Identifikace mutací mohou přesně ukázat na molekulární odchylku v klíčovém fyziologickém procesu. Tím se zlepšují a zpřesňují diagnostické testy a otevírají se nové terapeutické možnosti.

DNA a lidský genom

Sekvenování celého lidského genomu bylo zkompleťováno v r. 2000. Odhaduje se, že lidský genom obsahuje asi 100 000 genů, které jsou rozděleny mezi 23 chromozomů. Gen představuje funkční jednotku, ve které dochází k přenosu informací z DNA transkripcí na mRNA a translací z mRNA na proteiny. Mutace a alterace ve struktuře jednotlivých genů vedou k odpovídajícím strukturálním změnám proteinů, které kódují. Výsledkem jsou kvantitativní a kvalitativní defekty ve funkci proteinů (enzymů, receptorů apod.), které se mohou projevit širokou škálou onemocnění. Důkazy svědčí o tom, že genetická mutace často v kombinaci se zevním prostředím jsou příčinami většiny kardiovaskulárních chorob.

Rozdělení dědičných onemocnění

Dědičná onemocnění mohou být definována jako poruchy chromozomální, jednoho genu a polygenní. Hereditární kardiovaskulární nemoci lze rozdělit podle toho, zda splňují kriteria Mendelových zákonů nebo nesplňují. Do první skupiny patří:

- Marfanův syndrom
- Ehler Danlosův syndrom
- dědičné nemoci aorty
- annulo-aortální ektázie
- bikuspidální aortální chlopně
- hypertrofická a dilatační kardiomyopatie
- dědičné poruchy iontových kanálů.

Mezi těmi, které se neřídí mendelovským typem dědičnosti, lze jmenovat:

- hypertenzi
- aterosklerózu
- aortální stenózu
- určité arytmie.

Podle mendelovských principů lze dále definovat dědičnost na autozomálně dominantní nebo recesivní a gonozomálně dědičnost, vázanou na X chromozóm. U autozomálně dominantního typu dědičnosti stačí k manifestaci jedna mutantní alela (hypertrofická kardiomyopatie, syndrom dlouhého QT Romano-Ward), u recesivního typu musí být obě alely postiženy (syndrom dlouhého QT Jervell a Lange-Nielsen, syndrom Pompeho). U gonozomálního typu dědičnosti muži vždy onemocní bez ohledu na dominanci nebo recesivnost na rozdíl od žen, které mohou být asymptomatickými přenašečkami (heterozygotní stav – pouze jeden X chromozom postižen).

Zvláštní místo má mitochondriální dědičnost, u které dochází k abnormalitám mitochondriálního genomu, zodpovědného za kódování enzymů oxidativní fosforylace. Pouze oocyty, ne spermatozoa, obsahují mitochondriální genom, tudíž pouze ženy mohou přenášet nemoc. Ale jak ženy, tak muži mohou být postiženi (syndrom Kearnsův-Sayreův charakterizovaný kardiomyopatií s četnými poruchami vedení, oftalmoplegií a cerebelární ataxií).

U polygenní dědičnosti (hypertenze, ateroskleróza) se předpokládá konkomitantní mutace na mnohočetných genech. Tyto poruchy je obtížné mapovat pro jejich komplexnost (7, 21).

1. Genetická podstata kardiomyopatií

a) Dědičná hypertrofická kardiomyopatie (DHK)

DHK je onemocnění přenášené autozomálně dominantně s prevalencí přibližně 1 na 500 porodů. Je charakterizována progresivní hypertrofií levé komory (LK), někdy i pravé komory (PK), diastolickou dysfunkcí, arytmiemi, srdečním selháním a předčasnou smrtí. Naneštěstí se tato nemoc často manifestuje náhlým úmrtím mladých jedinců (2). Je geneticky heterogenní, tzn. že je způsobena mutací jednoho nebo více genů na různých chromozomech u jednotlivých postižených rodin (15). Významným objevem bylo identifikování mutací genu pro těžký myozinový řetězec (beta-MHC) (8). Většinou se jedná o missense mutace, kde se změnou kódu nahradí 1 aminokyselina jinou (glutamin za arginin). Hypotéza je, že tento mutantní protein pak slouží jako negativní inhibitor funkce sarkomery, normální kontraktilní funkce je tím porušena. To stimuluje myokard k hypertrofii zatím neznámou signalizací (14).

Následně byly objeveny další mutace v sarkomerických proteinech u postižených rodin. Byly popsány mutace genu pro troponin T, alfatropomyozin a myozin-vazebný protein C (17, 19).

Molekulární genetické studie pomohly objasnit klinickou diverzitu DHK. Sofistikované metody k odhalení transmise mutací v postižených rodinách (linkage analysis) potvrdily heterogenitu s následnou definicí přesných lokalit mutací. Byly tím identifikovány mutace v 7 genech kódujících sarkomerické proteiny v rodinách s DHK (11). Jsou to:

- gen pro beta myozinový těžký řetězec na chromozomu 14
- gen pro kardiální esenciální myozinový lehký řetězec na chromozomu 3
- gen pro kardiální regulační myozinový lehký řetězec na chromozomu 12
- gen pro troponin T na chromozomu 1
- gen pro alfa-tropomyozin na chromozomu 15
- gen pro myozin-vazebný protein C na chromozomu 11
- gen pro troponin I na chromozomu 19.

Další lokalizace byla identifikována na chromozomu 7 u rodin s výskytem jak DHK, tak preexcitačního syndromu nebo syndromu Wolff-Parkinson-White. Z toho lze soudit, že různé disrupce sarkomerických proteinů mohou vést k rozvoji hypertrofie myokardu. Bylo by velmi výhodné odhalit přesné molekulární cesty a signalizaci, kterou srdeční myocyt detekuje postiženou kontraktilní funkci a kterou spouští hypertrofickou přestavbu. Tato signalizace může být velmi podobná u získaných kardiomyopatií (ICHS, hypertenze, chlopenní vady). Tím by se otevřely nové možnosti k terapeutickým zásahům.

Jedním z nejzajímavějších poznatků z genetických analýz postižených rodin je, že se dá na základě zjištěné mutace předvídat klinický průběh kardiomyopatie. Např. pacienti s mutací argininu 403 (změna na glutamin) mají výrazně vyšší mortalitu na rozdíl od pacientů s mutací valinu 606 (na methionin), kteří nevykazují změněnou dobu dožití. Jedním z důsledků těchto mutací je chronicky zvýšená hladina kalcia obsaženého v sarkomeře a relativní nedostatek tohoto iontu v sarkoplazmatickém retikulu. Tato kalciová dysbalance může aktivovat hypertrofickou přestavbu. Watkins demonstroval na laboratorních zvířatech s mutací pro DHK, že předléčení blokátory Ca kanálu zabránilo hypertrofické odpovědi u myši. Tím navrhl racionální terapeutický přístup k DHK (20).

b) Dilatační kardiomyopatie

Je charakterizována dilatací komory a sníženou kontraktilitou, výskytem arytmií, tromboembolií a rozvojem srdečního selhání. V časném stadiu nemoci dominují nespecifické symptomy jako únava, dyspnoe. Prevalence je odhadována celosvětově kolem 36 postižených na 100 000 jedinců (3).

Diagnóza dilatační kardiomyopatie spočívá v echokardiografickém nálezů zvětšených systolických a diastolických rozměrů se sníženou kontraktilní funkcí. Na rozdíl od hypertrofické kardiomyopatie, kde lze najít při mi-

kroskopickém vyšetření hypertrofii a degeneraci myocytů, dilatační kardiomyopatie nemusí vykazovat abnormality. Pokud je vyloučena sekundární příčina dilatační kardiomyopatie (ICHS, chronický abúzus alkoholu, viry), je tato pokládána za idiopatickou.

Za posledních 10 let na základě genetických studií postižených rodin se zjistilo, že 25–30 % těchto idiopatických kardiomyopatií je způsobeno vrozenou genovou mutací (4). Přenášeji se většinou autozomálně dominantně, ale byly popsány i jiné formy přenosu (recesivně, vázané na chromozom X, mitochondriální dědičnost). Pokrok v této oblasti byl zpočátku poměrně pomalý, protože nemoc se manifestuje ve středním věku a má neúplnou penetraci (absence fenotypu u geneticky postižených jedinců). Velký posun byl zaznamenán v posledních 5 letech, kdy bylo identifikováno na 15 genových lokalit pro dilatační kardiomyopatii.

Patofyziologicky genovou mutací je porušena efektivní kontrakce, další mutace indikují možnou deterioraci životaschopnosti myocytu (viabilitu). Ve všech příčně pruhovaných svalech je kontraktilní síla přenášena ze sarkomery na extracelulární matrix cestou oligomerického komplexu obsahujícího dystrofin a sarkoglykany, který je uložen pod plazmatickou membránou myocytu. Tento komplex je dysfunkční u dědičných muskulárních dystrofií, které vedou také k srdeční dysfunkci jako komorbiditě (16). Zajímavě některé mutace genů kódujících dystrofin a sarkoglykany způsobují pouze srdeční postižení s minimální dystrofií kosterního svalstva. Jedná se velmi pravděpodobně o mutace genu-promotoru pro dystrofin (9). Nedávné studie uveřejnily velmi zajímavé poznatky o postižení dystrofin-glykoproteinového komplexu u dilatační kardiomyopatie po proběhlé virové myokarditidě způsobené adeno nebo enteroviry. Hlavně enterovirová proteáza 2A specificky štěpí dystrofin, tím může způsobit ekvivalentní dysfunkci jako genové mutace (1). Tato data navrhuji možný společný patofyziologický mechanismus získaných i dědičných kardiomyopatií.

Zcela nedávno se objevily zprávy, že mutace aktinu, beta myozinového těžkého řetězce a troponinu T mohou způsobit jak dilatační, tak hypertrofickou kardiomyopatii (8). Toto indikuje, že ještě jiné genetické faktory mohou ovlivnit jakým směrem, k dilataci či hypertrofii, nemoc bude směřovat. V postižených rodinách i u vzdálených příbuzných se vždy jedná při identické genové mutaci o jednotnou morfologii kardiomyopatie!

Fakt, že jak hypertrofická, tak dilatační kardiomyopatie, může být způsobena mutací proteinů sarkomery, klade otázku, zda existují 2 rozdílné mechanismy remodelace myokardu, nebo zda se jedná o jeden mechanismus, kdy rozdílná morfologie kardiomyopatií je následkem gradace jedné patofyziologické cesty. Teorie jednoho mechanismu předpokládá, že rozsah remodelace odráží závažnost dysfunkce sarkomery: mírné dysfunkce vyústí v hypertrofii, závažné způsobí zánik jednotlivých myocytů rezultující nakonec v komorovou dilataci. Klinické studie zatím nepotvrdily ani jednu z teorií.

2. Dědičné onemocnění pojivové tkáně a kardiovaskulární systém

a) Marfanův syndrom

Jedná se o autozomálně dominantní onemocnění pojivové tkáně s charakteristickou oční (ectopia lentis), skeletální (vysoká postava, dlouhé končetiny) a kardiovaskulární manifestací. Prevalence je 1–2 na 10 000 jedinců. Syndrom je charakterizován plnou penetrací, existuje však klinická variabilita jak mezi, tak uvnitř postižených rodin. V souvislosti s charakteristickým fenotypem Marfanova syndromu se může zdát překvapivé, že není někdy diagnostikován. Existuje již zmíněná variabilita znaků, navíc v asi 30 % se jedná o nové mutace (10, 13).

Nemoc je způsobena mutací genu, který kóduje fibrillin-1 (FBN1), ten je hlavní součástí mikrofibril, komponent extracelulární matrix. Mikrofibrily a tropoelastin formují elastická vlákna. Fragmentace a dezorganizace elastických vláken v medii aorty je považována za histologickou charakteristiku Marfanova syndromu, ne zcela správně označovanou jako cystická mediální nekróza. Defekt ve struktuře myofibril vysvětluje mnohočetné lokalizace postižení. FBN1 je velký gen (asi 9 000 nukleotid), dosud bylo popsáno na 100 různých mutací, proto nalezení mutace není někdy jednoduchým úkolem. Jakmile je mutace identifikována, preklinická diagnóza v rodině už je snadnou záležitostí. Další testování (linkage analýza) je k dispozici k prenatalní diagnostice.

b) Ehlersův-Danlosův syndrom

Jeho charakteristikou je hyperelasticita a fragilita kůže doprovázená hypermobilitou kloubů, častý je výskyt prolapsu mitrální chlopně. Prevalence je odhadována na 1 případ na 5 000 obyvatel. Příčinou je mutace genu COL3A1, kódujícího syntézu prokolagenu typu III. Nejzávažnější kardiovaskulární komplikace se vyskytují u vaskulární formy Ehlersova-Danlosova syndromu (typ IV). Dochází u něj ke spontánním rupturám velkých a středně velkých arterií. Převážně se jedná o autozomálně dominantní přenos. Velké riziko skýtá těhotenství možnou rupturou dělohy (v jedné studii 12 úmrtí mezi 81 těhotnými) (12).

c) Vrozené aneurysma aorty a disekce

Aneurysma aorty způsobuje signifikantní mortalitu, ve více než 20 % případů lze odhalit dědičnou poruchu. Aneurysma aorty bylo opakovaně popsáno u výše uvedených syndromů způsobených mutací genu pro fibrillin-1 a prokolagen III. Aneurysma a disekce aorty lze najít v rodinách bez evidence vrozené poruchy pojivové tkáně při autozomálně dominantním způsobu přenosu. Byl popsán zvýšený výskyt dilatace kořenu aorty a její disekce u bikuspidální aortální chlopně, stěna aorty vykazuje abnormality elastických vláken. Proto by měli být jedinci s vrozenou bikuspidální aortální chlopní a koarktací a jejich příbuzní vyšetřeni echokardiograficky k odhalení eventuální dilatace kořenu aorty (6). Nedávno byl identifikován lokus na 11. chromozómu u vrozeného aneurysmatu aorty ve 3 postižených rodinách (18).

3. Dědičné poruchy vedení

Syndrom dlouhého QT

U syndromu dlouhého QT je abnormálně prodloužena ventrikulární repolarizace a tím zvýšené riziko maligních ventrikulárních arytmií (torsades de pointes). Podobně jako u hypertrofické kardiomyopatie se mohou jedinci se syndromem dlouhého QT prezentovat synkopou nebo náhlým úmrtím. Dva klinické syndromy byly popsány na bázi přenosu: častější autozomálně dominantní s výlučným kardiálním postižením (Romano-Ward) a vzácný autozomálně recesivní kombinující srdeční postižení a hluchotu (Jervell a Lange-Nielsen).

Keating byl první, kdo demonstroval vazbu na 3 chromozómové lokality a označil je jako LQT1, LQT2, LQT3. Dosud bylo popsáno 5 lokalit mutací u syndromu Romano-Ward, a to na chromozómech 3, 4, 7, 11, 21. Jedná se o geny kódující proteiny iontových kanálů:

- SCN5A – kódující protein sodíkového kanálu (chromozomu 3)
- HERG – kódující protein draslíkového kanálu (chromozomu 7)
- KvLQT1 – kódující alfa podjednotku draslíkového kanálu (chromozomu 11) (11).

Narušení převodu vzruchu iontovými kanály prodlužuje trvání akčního potenciálu.

Většinou se jedná o missense mutace, které nejsou vázány na jednu lokalitu, ale na více pozic uvnitř každého genu v různých rodinách. Proto tato genetická heterogenita pravděpodobně přispívá ke klinické variabilitě. Heterozygotní mutace v KvLOT1 genu vyústí v syndromu Romano-Ward, homozygotní mutace v Jervell a Lange-Nielsen syndrom. To naznačuje, že prodloužení QT je děděno dominantně, hluchota recesivně.

Existují získané syndromy dlouhého QT spojené s ischemií myokardu, hypokalémií, antiarytmiky 1. typu a jinými farmaky. Lze spekulovat, že polymorfismus nebo tiché mutace iontového kanálu dosud klinicky němé se mohou manifestovat za příznivých zevních vlivů.

Úloha DNA screeningu

Podrobná rodinná anamnéza zůstává velmi cenným vyšetřením u podezření na dědičné onemocnění. Informace se sbírají od všech z první, druhé a třetí generace probanda (diagnostikovaný jedinec). Poskytují náhled na genetický vzorec přenosu.

Technologický pokrok (PCR, DNA sekvencování, linkage analýza) umožňuje velký posun v klinické a preklinické diagnostice a nyní již i v predikci závažnosti a nasměrování léčby.

Molekulární diagnostika má schopnost definovat se 100% sensitivitou a se 100% specificitou genetický status každého člena postižené rodiny. Preklinická diagnóza a identifikace by měly zahrnovat všechny, kteří by mohli těžit z profylaktické léčby, především náhlé smrti. Na tomto poli je však ještě mnoho práce. K plné efektivnosti je potřebné následující:

1. Identifikace všech genů a mutací uvnitř genu, které způsobují onemocnění
2. vyvinutí rutinních klinických DNA testovacích zařízení
3. vytvoření dostatečně velké databáze k odhadu rizika ve vztahu k genotypu
4. odhad efektivnosti dostupné léčby.

Futurizmus?

Pokroky v molekulární a buněčné kardiologii mají hluboký dopad na celou kardiologii jako obor. Tento pokrok však znamená pouhý začátek objevů, které změní naše chápání kardiiovaskulárních funkcí a tím zlepši naši schopnost diagnostikovat a léčit kardiiovaskulární onemocnění. Už

teď je ale jasné, že dokončení sekvencování lidského genomu s následnou charakteristikou genů a jejich funkcí, určení specifických genových variací poskytne mocné genetické diagnostické metody. Během několika let genetická analýza vzorku krve dítěte umožní přesný odhad náchylnosti jedince k celé šíři onemocnění přes hypertenzi, aterosklerózu, diabetes k nádorům a psychiatrickým nemocem. Tím se od základů změní celá lékařská praxe, vyvine se nová geneticky orientovaná preventivní medicína.

Z materiálů prezentovaných během přednáškového cyklu Controversies in Cardiology při Cardiovascular Institute, The Mount Sinai Medical Center, NYU.

Literatura

1. Badorff, C., Berkely, A. et al. (2000): Enteroviral protease 2A directly cleaves dystrophin and is inhibited by a dystrophin-based substrate analogue. *J Biol Chem* 275: 11191–7.
2. Bonne, G., Carrier, L. et al. (1998): Familial hypertrophic cardiomyopathy: from mutations to functional defects. *CircRes*. 83: 580–593.
3. Cohn, J.N., Bristow, M.R. et al. (1997): Report of the National Heart, Lung and Blood Institute Special Emphasis Panel on Heart Failure Research. *Circulation*, 95: 766–770.
4. Grunig, E., Tasman, J.A. et al. (1998): Frequency and phenotypes of familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 31: 186–194.
5. Kamisago, M., Sharma, S.D., et al. (2000): Mutations in sarcomere protein genes as a cause of dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 343: 1688–1696.
6. Keane, M.G., Wieggers, S.E. (2000): Bicuspid aortic valves are associated with aortic dilatation out of proportion to coexistent valvular lesions. *Circulation*. 102: III35–9
7. Leiden, J.M. (2001): Chapter 55 – Principles of Cardiovascular Molecular Biology and Genetics. Braunwald: Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, 6 th ed. 1955–1974.
8. Marian, A.J. (2000): Pathogenesis of diverse clinical and pathological phenotypes in hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 355: 58–60.
9. Ortiz-Lopez, R., Li, H. et al. (1997): Evidence for dystrophin missense mutation as a cause of X-linked dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 95: 2434–2440.
10. Pereira, L., Levran, O. et al. (1994): Molecular approach to the stratification of cardiovascular risk in families with Marfan's syndrome. *N Engl J Med*. 331: 148–153.
11. Priori, S.G., Barhanin, J. et al. (1999): Genetic and Molecular Basis of Cardiac Arrhythmias: Impact on Clinical Management Part I and II. *Circulation*. 99: 518–528.
12. Pyeritz, R.E. (2000): Ehlers-Danlos Syndrome. *N Engl J Med* 342: 730–732.
13. Pyeritz, R.E. (2001): Genetics and Cardiovascular Disease. Braunwald: Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, 6 th ed.: W.B.Sauders Company.
14. Seidman, C.E., Seidman, J.G. (1998): Molecular genetic studies of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol*. 93: 13–16.
15. Seidman, J.G., Seidman, C. (2001): The genetic basis for cardiomyopathy: from mutation identification to mechanistic paradigms. *Cell*. 104: 557–567.
16. Strub, V., Campbell, K.P. (1997): Muscular dystrophies and the dystrophin-glycoprotein complex. *Curr Opin Neurol*. 10: 168–175.
17. Thierfelder, L., Watkins, H. et al. (1994): Alpha. tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of sarcomere. *Cell*. 77: 701–712.
18. Vaughan, C.J., Casey, M. et al. (2001): Identification of a Chromosome 11q23.2-q24 Locus for Familial Aortic Aneurysm Disease, a genetically heterogeneous disorder. *Circulation*. 103: 2469–2475.
19. Watkins, H., Corner, D. et al. (1995): Mutations in the cardiac myosin binding protein-C gene on chromosome 11 cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 11: 434–437.
20. Watkins, H., Rosenzweig, A. et al. (1992): Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 326: 1108–1114.
21. Williams, R. (1995): Cardiac involvement in mitochondrial diseases, and vice versa *Circulation*. 91: 1266–1268.