

Genetic predisposition to atrial fibrillation in patients with cardiomyopathy

Genetická predispozícia fibrilácie predsiení u pacientov s kardiomyopatiou

Martin Kmec¹, Michaela Zigová², Eva Petrejčíková²

¹Kardiocentrum FNsP J. A. Reimana Prešov, Slovak Republic

Kmec M, Zigova M, Petrejcikova E. **Genetic predisposition to atrial fibrillation in patients with cardiomyopathy.** Cardiology Lett. 2024;33(2):107–115

Abstract. *Background:* Worldwide, atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia in all subtypes of cardiomyopathies (CMP). Genetic testing of CMP genes is a standard aspect of clinical management in affected families.

Aim: To determine the association of selected genetic markers of patients with cardiomyopathies and atrial fibrillation in the region of eastern Slovakia.

Patients and methods: After signing informed consent, clinical data and a venous blood sample were obtained from all study participants for genetic analysis. After analyzing the genetic results, allele and genotype frequencies were calculated in the patient group and in the control group. Our case-control study was conducted in a group of 85 individuals from the region of eastern Slovakia, of which 43.53% were patients with CMP and AF with an average age of 62.65 ± 11.01 years. The group was dominated by men (64.71%) and there were more frequent patients with dilated CMP and at the same time with persistent AF.

Results: Representation of potentially risky alleles associated with AF was higher in the case of rs13143308 and rs2220427 in patients with CMP and AF compared to the control group. The potentially risky T allele of the genetic variant rs3853445 dominated in the control group (73% vs. 68%). After evaluating the allelic and genotypic distributions, an analysis of associations of genetic models of variants rs13143308, rs2220427 and rs3853445 with location in the 4q25 locus in relation to cardiomyopathy associated with AF was carried out. None of these analyses confirmed a significant association of the respective genetic model in relation to CMP associated with AF. The p-value of the odds ratio (OR) calculations was higher than 0.05 in all cases

Conclusion: By analyzing the selected genetic markers rs13143308, rs2220427 and rs3853445 located in the 4q25 locus, we failed to statistically confirm their association with cardiomyopathy and related atrial fibrillation. Thus, we can conclude that the basic limitation of our study was the size of the research sample. Fig. 2, Tab. 9, Ref. 34, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Key words: atrial fibrillation – cardiomyopathy – locus – gene – allele – marker

Z ¹Kardiocentra FNsP J. A. Reimana Prešov a ²Katedry biológie, Fakulta humanitných a prírodných vied Prešovskej univerzity v Prešove, Prešovská univerzita, Prešov, Slovenská republika
Do redakcie došlo da 22. januára 2024; prijaté dňa 6. februára 2024

Adresa pre korešpondenciu: MUDr. Martin Kmec, Kardiocentrum FNsP J. A. Reimana Prešov, Hollého 14, 081 81 Prešov, Slovenská republika, e-mail: mato.kmec9@gmail.com

Kmec M, Zigová M, Petrejčíková E. **Genetická predispozícia fibrilácie predsiení u pacientov s kardiomyopatiou.** Cardiology Lett. 2024;33(2):107–115

Abstrakt. Úvod: Celosvetovo je fibrilácia predsiení (FP) najčastejšou arytmiou vo všetkých podtypoch kardiomyopatií (KMP). Genetické testovanie génov pri KMP je štandardným aspektom klinického manažmentu v postihnutých rodinách.

Cieľ: Určiť asociáciu vybraných genetických markerov pacientov s kardiomyopatiami a fibriláciou predsiení v regióne východného Slovenska.

Súbor a metódy: Od všetkých participantov štúdie sa po podpísaní informovaného súhlasu získali klinické dáta a vzorka venóznej krvi určená na genetické analýzy. Po analýze genetických výsledkov sa vypočítali frekvencie alel a genotypov v skupine pacientov a v kontrolnom súbore. Našu case control štúdiu sme realizovali v súbore 85 jedincov z regiónu východného Slovenska, z čoho 43,5 ± 3 % predstavovali pacienti s KMP a FP s priemerným vekom 62,65 ± 11,01 rokov. V súbore dominovali muži (64,71 %) a častejšie sa vyskytovali pacienti s dilatačnou KMP a zároveň s perzistentnou FP.

Výsledky: Zastúpenie potenciálne rizikových alel, ktoré sú asociované s FP, bolo v prípade *rs13143308* a *rs2220427* vyššie u pacientov s KMP a FP v porovnaní s kontrolným súborm. Potenciálne riziková alela T genetického variantu *rs3853445* dominovala v skupine kontrol (73 % vs. 68 %). Po zhodnotení alelových a genotypových distribúcií sa realizovala analýza asociácií genetických modelov variantov *rs13143308*, *rs2220427* a *rs3853445* s lokáciou v lokuse 4q25 vo vzťahu ku kardiomyopatii asociovej s FP. Žiadna z týchto analýz nepotvrdila významnú asociáciu príslušného genetického modelu vo vzťahu ku KMP asociovej s FP. P-hodnota výpočtov pomeru šancí (OR; *odds ratio*) bola vo všetkých prípadoch vyššia ako hodnota 0,05.

Záver: Analýzou vybraných genetických markerov *rs13143308*, *rs2220427* a *rs3853445* s lokáciou v lokuse 4q25 sa nám nepodarilo štatisticky potvrdiť ich súvislosť s kardiomyopatiou a súvisiacou fibriláciou predsiení. Môžeme teda konštatovať, že základnou limitáciou našej štúdie bola veľkosť výskumnej vzorky. Obr. 2, Tab. 9, Lit. 34, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Kľúčové slová: fibrilácia predsiení – kardiomyopatie – lokus – gén – alela – marker

Celosvetovo je fibrilácia predsiení (FP) najčastejšou pretrvávajúcou arytmiou v dospelom veku s 2 – 4 % prevalenciou. Incidencia aj prevalencia FP sú nižšie u žien ako u mužov. FP je spojená s významnou chorobnosťou a úmrtnosťou. Celožitné riziko FP závisí od veku, genetiky a (sub)klinických faktorov (1). U čoraz vyššieho percenta pacientov nie je zistená žiadna organická príčina ochorenia (2) a predpokladá sa, že kľúčovú úlohu môžu zohrávať genetické faktory (3). Výsledky celogenómových a celoexómových sekvenačných projektov poukázali na značné genetické prekryvanie medzi génmi a genetickými variantmi podieľajúcimi sa na vzniku FP a tzv. predsieňovej kardiomyopatie (KMP), ktorých spoločným patologickým podkladom je fibróza. Aktuálne je známych asi 142 lokusov asociovaných s FP (4). Jedným z potenciálnych cieľov genotypizácie je špecifický lokus, 4q25, blízko génu PITX2. Rizikové alely lokusu 4q25 sa vyskytujú približne u jednej štvrtiny jedincov európskeho pôvodu, čo môže

byť dôvodom zhoršenej klinickej odpovede na liečbu FP. V patogenéze FP izoforma PITX2C, súvisiaca so štruktúrnou a elektrickou remodeláciou predsiení a nepriamo s FP, ovplyvňuje signalizáciu WNT [Wingless/Int (skupina signálnych dráh prenášajúca signály do bunky)], ktorá je dôležitá v procese tvorby fibrózy, ktorá je hlavným znakom a mediátorom FP u pacientov s KMP. V tomto kontexte by špecifické polymorfizmy lokusu 4q25 mohli byť tiež potenciálnymi modulátormi odpovede na liečbu u pacientov s KMP. Optimálna medikácia môže závisieť od špecifického genotypu pacienta. Kľúčovou úlohou je odhaliť pacientov s pozitívnou a negatívnou odpoveďou na adekvátnu liečbu FP a určiť kombinácie alel, genotypov alebo haplotypov s lepšimi výsledkami pre FP pri adekvátnej liečbe (5, 1). Odporúčania Európskej kardiologickej spoločnosti (EKS) z roku 2023 podľa morfológických a funkčných kritérií rozdeľujú KMP na hypertrofickú KMP (HKMP), dilatačnú KMP (DKMP),

arytmogénnu KMP pravej komory (ARVC), reštrikčnú KMP (RKMP) a aktuálne nový základný fenotyp prezentovaný ako nedilatovaná ľavokomorová kardiomyopatia (NLKKMP). Následne sa stanoví, či ide o dedičné ochorenie a či je známa príčina mutácie, respektíve iná konkrétna etiológia pri získaných kardiomyopatiách. KMP sú ochorenia vyznačujúce sa variabilnou expresivitou. Geografická distribúcia genetických variantov ovplyvňuje odhadovanú prevalenciu v rôznych populáciách, etnikách, regiónoch a krajinách. U všetkých pacientov s podozrením alebo s dokázanou KMP sa odporúča systematické zhodnotenie pomocou multiparametrického prístupu, ktorý zahŕňa klinické hodnotenie, analýzu rodokmeňa, pokojového EKG, Holterovho monitorovania EKG, laboratórne testy a zobrazovacie multimodality a aby všetci pacienti s podozrením na KMP podstúpili hodnotenie rodinnej anamnézy a vytvoril sa troj- až štvorgeneračný rodokmeň (6). Genetické testovanie pri KMP je štandardným aspektom klinického manažmentu v postihnutých rodinách. Testovanie prvej línie by sa malo zamerať na kauzálne gény, ktoré podmieňujú fenotyp pacienta. Ak začiatkové testovanie neodhalí príčinu, ale podozrenie na monogénnu príčinu zostáva vysoké, potom môže byť indikované komplexné sekvenovanie alebo analýza v závislosti od štruktúry rodiny a ostatní členovia rodiny môžu podstúpiť testovanie iba na kauzálny variant. Genetické testovanie u jedinca s KMP (známe ako konfirmačné testovanie alebo diagnostické testovanie) sa odporúča s cieľom potvrdenia diagnózy. Môže informovať o prognóze, výbere liečby alebo reprodukčnom manažmente (6, 7, 8). FP je najčastejšou arytmiou vo všetkých podtypoch KMP a je spojená so zvýšeným rizikom kardioembolických príhod, srdcového zlyhávania (SZ) a úmrtí. Dáta registra EORP (EURObservational Research Programme) potvrdili 28,2 – 31,1 % prevalenciu FP u pacientov s KMP, horšiu prognózu a asi trojnásobne vyšší výskyt mozgovej príhody/transitórneho ischemického ataku u sledovaných pacientov s KMP a súbežnou FP (6).

Cieľ

Cieľom našej štúdie bolo určiť asociáciu vybraných genetických markerov pacientov s kardiomyopatiami a fibriláciou predsiení v regióne východného Slovenska.

Súbor pacientov a metódy

Výskumnú časť štúdie sme realizovali v skupine 85 pacientov z regiónu východného Slovenska (Kardiocentrum Fakultnej nemocnice J. A. Reimana v Prešove, Prešov) v období od 1. júna 2021 do 31. mája 2023. Všetky naše výskumné aktivity boli v súlade s Helsinskou deklaráciou a inštitucionálnymi etickými štandardmi. Výskumný súbor bol rozdelený na skupinu pacientov (37 pacientov s KMP a FP s priemerným vekom $62,65 \pm 11,01$ rokov) a zdravých kontrol (48 jedincov s priemerným vekom $41,98 \pm 11,95$ rokov). Do skupiny pacientov boli zaradení jedinci, ktorí spĺňali diagnostické kritériá podľa Odporúčaní EKS a AHA/ACC (American Heart Association/American College of Cardiology) pre diagnostiku FP a KMP (1, 6, 9, 10). Od všetkých participantov štúdie boli po podpísaní informovaného súhlasu získané klinické dáta a vzorka venóznej krvi určená na genetické analýzy.

Izolácia genómovej DNA zo vzoriek krvi bola uskutočnená komerčnou izolačnou súpravou NucleoSpin® Blood (MACHEREY-NAGEL, Nemecko). DNA vzorky boli spracované pre Real-Time PCR analýzy, ktoré sa použili na analýzu jednonukleotidových polymorfizmov špecifického lokusu, 4q25, asociovaného s fibriláciou predsiení (tabuľka 1). Vybrané genetické markery boli vyhodnotené ako varianty regulačných oblastí, ktoré môžu modulovať fenotyp svojho nositeľa. Na analýzu genetických variantov bolo použité zariadenie StepOne™ Real-Time PCR System (Life Technologies, USA), TaqMan reagencie a štandardné protokoly pre metódu real-time PCR. Genotypizácia bola uskutočnená v 48-jamkových doštičkách určených na PCR reakcie v celkovom objeme 10 µl.

Tabuľka 1 Informácie o analyzovaných genetických variantoch lokusu 4q25 (11)

rs ID	Pozícia (hg19)	Ancestrálna alela	Mutovaná alela	FP-asociovaná alela	MAF
rs13143308	chr4:111714419	T	G	T	0,40 (T)
rs2220427	chr4:111714889	C	T	T	0,22 (T)
rs3853445	chr4:111761487	T	C	T	0,24 (C)

FP – fibrilácia predsiení, ID – identifikátor, MAF – frekvencia minoritnej alely

Štatistické metódy

Po analýze genetických výsledkov sa vypočítali frekvencie alel a genotypov v skupine pacientov a v kontrolnom súbore. Získané údaje sa štatisticky vyhodnotili s cieľom určiť Hardyho-Weinbergovu rovnováhu (χ^2 test), štatistické rozdiely medzi skupinami vo frekvenciách alel a genotypov (χ^2 test), vypočítať asociáciu s ochorením (pomer šancí, OR). Normalita dát sa overila pomocou Kolmogorovho-Smirnovho testu. Priemerné hodnoty analyzovaných premenných získaných od participantov štúdie sa porovnávali pomocou t-testu. Na porovnanie proporcií sa použil N–1 χ^2 test. Asocičná analýza sa uskutočnila pomocou výpočtu korelácií. Korelácia medzi kategorickými dátami navzájom bola vypočítaná na základe *Phi* koeficientu a korelácia kategorických a spojitých premenných bola vypočítaná na základe bodového biseriálneho korelačného koeficientu (r_{pb}). Výsledky s hodnotou štatistickej pravdepodobnosti $p \leq 0,05$ sa považovali za štatisticky významné.

Výsledky práce

Našu case control štúdiu sme uskutočnili v súbore 85 jedincov z regiónu východného Slovenska, z čoho 43,53 % predstavovali pacienti s KMP a FP s priemerným vekom $62,65 \pm 11,01$ rokov. V celom výskumnom súbore dominovali muži (64,71 %). Pacienti boli posúdení z hľadiska typu KMP a typu FP (tabuľka 2). Z uvedeného

ho hľadiska sa v našom výskumnom súbore vyskytovali frekventovanejšie pacienti s dilatačnou KMP a zároveň s perzistentnou FP.

Pacienti s $EF \leq 35$ % tvorili takmer 60 % pacientov s kardiomyopatiou a fibriláciou predsiení.

Závažný stupeň mitrálnej regurgitácie sa potvrdil u 11 pacientov s dilatačnou kardiomyopatiou, kde opäť dominovali tí, ktorým bola diagnostikovaná perzistentná fibrilácia predsiení (7 pacientov). V prípade diastolickej dysfunkcie bol vyšší ako 2. stupeň závažnosti potvrdený len u piatich pacientov s KMP a FP. V tomto podsúbore sa potvrdila predominancia dilatačnej kardiomyopatie a paroxyzmálnej fibrilácie predsiení.

V rámci genetických analýz sme zisťovali alelové a genotypové frekvencie troch variantov, *rs13143308*, *rs2220427* a *rs3853445* lokusu 4q25, ktoré vznikli jednonukleotidovou zámennou. Genotypové frekvencie všetkých analyzovaných genetických markerov boli v Hardyho-Weinbergovej rovnováhe. Rozloženie genotypov v očakávanom zastúpení: homozygot pre majoritnú alelu > heterozygot > homozygot pre minoritnú alelu bolo charakteristické pre genotypovú distribúciu všetkých troch analyzovaných genetických variantov v našej výskumnej skupine z regiónu východného Slovenska. K podobným výsledkom sme dospeli po analýze patientských DNA vzoriek aj DNA vzoriek získaných od kontrol.

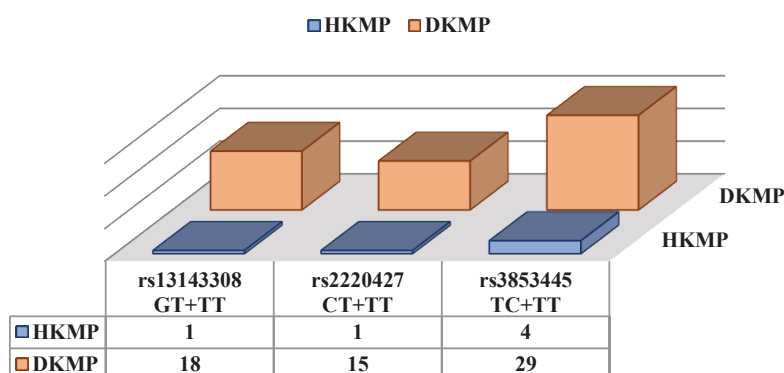
Analýza alelových frekvencií u pacientov aj kontrol nášho výskumného súboru (tabuľky 3, 4, 5) potvrdila očakávaný trend vypovedajúci o nízkych frekvenciách minoritných alel, ktorý sa predpokladal na základe dát dostupných v databáze Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>) (11).

Alely, ktoré boli podľa databázy vyhodnotené ako potenciálne rizikové, boli detegované nielen v skupine pacientov, ale aj u kontrol. Zastúpenie potenciálne rizikových alel, ktoré sú podľa databázy asociované s FP, bolo v prípade *rs13143308* a *rs2220427* vyššie u pacientov s KMP a FP v porovnaní s kontrolným súborom. Potenciálne riziková alela T genetického variantu *rs3853445* dominovala v skupine kontrol (73 % vs. 68 %). Analýza zastúpenia potenciálne rizikových genotypov vzhľadom na typ KMP je uvedená na obrázku 1 a vzhľadom na typ FP je uvedená na obrázku 2.

Štatistické porovnanie distribúcie alel a genotypov vybraných genetických variantov lokusu 4q25 (*rs13143308*,

Tabuľka 2 Charakteristika výskumného súboru			
Charakteristika	Kategória	Pacienti KMP + FP (n = 37)	Kontroly (n = 48)
Pohlavie	Muž	29 (78,38 %)	26 (54,17 %)
	Žena	8 (21,62 %)	22 (45,83 %)
Typ KMP	DKMP	29 (78,38 %)	0 (0,00 %)
	HKMP	6 (16,22 %)	0 (0,00 %)
	Iné	2 (5,41 %)	0 (0,00 %)
Typ FP	Paroxyzmálna	12 (32,43 %)	0 (0,00 %)
	Perzistentná	21 (56,76 %)	0 (0,00 %)
	Permanentná	4 (10,81 %)	0 (0,00 %)

FP – fibrilácia predsiení, KMP + FP – pacienti s kardiomyopatiou a fibriláciou predsiení, DKMP – dilatačná kardiomyopatia, HKMP – hypertrofická kardiomyopatia, KMP – kardiomyopatia, N – počet jedincov



Obrázok 1 Zastúpenie potenciálne rizikových genotypov analyzovaných genetických variantov lokusu 4q25 vzhľadom na typ kardiomyopatie u pacientov

DKMP – dilatačná kardiomyopatia, HKMP – hypertrofická kardiomyopatia

rs2220427 a *rs3853445*) nepotvrdilo žiadne signifikantné rozdiely.

Po zhodnotení alelových a genotypových distribúcií sa uskutočnila analýza asociácií genetických modelov

variantov *rs13143308*, *rs2220427* a *rs3853445* vo vzťahu ku KMP asociovanej s FP. Žiadna z týchto analýz nepotvrdila signifikantnú asociáciu príslušného genetického modelu vo vzťahu k ochoreniu. P-hodnota výpočtov

Tabuľka 3 Analýza alelových frekvencií variantu *rs13143308* u pacientov a kontrol

Alelové frekvencie <i>rs13143308</i> (n = 85)						
Alela	Spolu		Pacienti		Kontroly	
	Počet	Podiel	Počet	Podiel	Počet	Podiel
G	125	0,74	49	0,66	76	0,79
T	45	0,26	25	0,34	20	0,21
Porovnanie alelových frekvencií			$\chi^2 = 3,60$; p = 0,06			

n – počet, χ^2 – chí kvadrát test, p – p hodnota

Tabuľka 4 Analýza alelových frekvencií variantu *rs2220427* u pacientov a kontrol

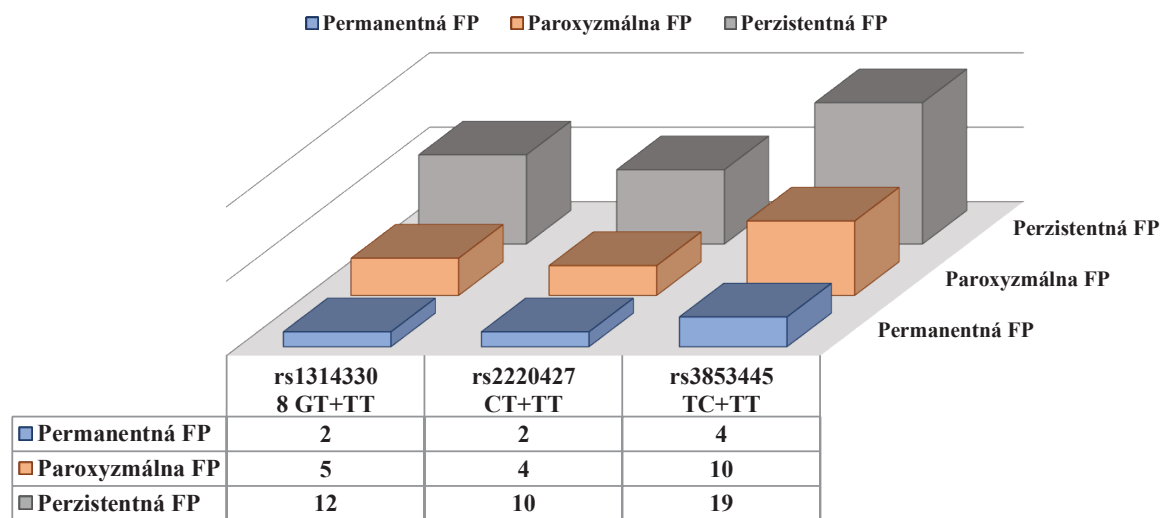
Alelové frekvencie <i>rs2220427</i> (n = 85)						
Alela	Spolu		Pacienti		Kontroly	
	Počet	Podiel	Počet	Podiel	Počet	Podiel
C	137	0,81	55	0,74	82	0,85
T	33	0,19	19	0,26	14	0,15
Porovnanie alelových frekvencií			$\chi^2 = 3,29$; p = 0,07			

n – počet, χ^2 – chí kvadrát test, p – p hodnota

Tabuľka 5 Analýza alelových frekvencií variantu *rs3853445* u pacientov a kontrol

Alelové frekvencie <i>rs3853445</i> (n = 85)						
Alela	Spolu		Pacienti		Kontroly	
	Počet	Podiel	Počet	Podiel	Počet	Podiel
T	120	0,71	50	0,68	70	0,73
C	50	0,29	24	0,32	26	0,27
Porovnanie alelových frekvencií			$\chi^2 = 0,56$; p = 0,45			

n – počet, χ^2 – chí kvadrát test, p – p hodnota



Obrázok 2 Zastúpenie potenciálne rizikových genotypov analyzovaných genetických variantov lokusu 4q25 vzhľadom na typ fibrilácie predsiení u pacientov
FP – fibrilácia predsiení

pomeru šancí (OR; odds ratio) bola vo všetkých prípadoch vyššia ako hodnota 0,05 (tabuľky 6, 7, 8).

V prípade genetických markerov naša korelačná analýza nepotvrdila signifikantnú asociáciu vybraných markerov lokusu 4q25 s KMP a FP (tabuľka 9).

Diskusia

Kardiomyopatie sú spojené s aktiváciou takých signálnych dráh v myokarde, ktoré vedú k abnormálnym funkciám srdca, srdcovému zlyhávaniu alebo vzniku arytmií. Poruchy srdcového rytmu majú dôležitú úlohu v patogeneze KMP a často komplikujú priebeh ochorenia.

K najčastejšie evidovanej poruche srdcového rytmu u pacientov s KMP patrí fibrilácia predsiení (12, 13, 14, 15). Prevalencia FP u pacientov varíuje v závislosti od typu KMP (v rozsahu od 1 do 33 % u dospelých). Publikovaná ročná incidencia FP u niektorých pacientov s KMP je až 2 % ročne (15, 16). Vo veľkej retrospektívnej kohortovej štúdii realizovanej Buckley et al. (2021) sa potvrdila najvyššia prevalencia FP u pacientov s dilatačnou KMP (44,4 %) (17). V našej štúdii v skupine pacientov s KMP a FP dominovala dilatačná KMP (78,38 %), ktorá sa najčastejšie vyskytovala v kombinácii s perzistentnou fibriláciou predsiení (45,95 % pacientov nášho výskumného súboru). Nedávne štúdie Tiana a Aleksova naznačujú, že fenotyp pacientov s FP sa vyznačuje veľkou heterogenitou (18,

Tabuľka 6 Analýza asociácie variantu *rs13143308* s KMP

Asociácia <i>rs13143308</i> s ochorením (n = 85)							
Model	Genotyp	Pacienti	Kontroly	OR (95 % CI)	p	AIC	BIC
Kodominantný	G/G	18 (48,6 %)	31 (64,6 %)	1,00	0,21	119,3	126,6
	G/T	13 (35,1 %)	14 (29,2 %)	1,60 (0,62 – 4,15)			
	T/T	6 (16,2 %)	3 (6,2 %)	3,44 (0,77 – 15,48)			
Dominantný	G/G	18 (48,6 %)	31 (64,6 %)	1,00	0,14	118,2	123,1
	G/T-T/T	19 (51,4 %)	17 (35,4 %)	1,92 (0,80 – 4,62)			
Recesívny	G/G-G/T	31 (83,8 %)	45 (93,8 %)	1,00	0,14	118,2	123,1
	T/T	6 (16,2 %)	3 (6,2 %)	2,90 (0,67 – 12,49)			

KMP – kardiomyopatia, n – počet, OR – pomer šancí, 95 % CI – 95 % interval spoľahlivosti, p – p hodnota, AIC –Akaikovo informačné kritérium, BIC – Bayesovo informačné kritérium

Tabuľka 7 Analýza asociácie variantu *rs2220427* s KMPAsociácia *rs2220427* s ochorením (n = 85)

Model	Genotyp	Pacienti	Kontroly	OR (95 % CI)	P	AIC	BIC
Kodominantný	C/C	21 (56,8 %)	36 (75 %)	1,00	0,21	119,2	126,6
	C/T	13 (35,1 %)	10 (20,8 %)	2,23 (0,83 – 5,96)			
	T/T	3 (8,1 %)	2 (4,2 %)	2,57 (0,40 – 16,66)			
Dominantný	C/C	21 (56,8 %)	36 (75 %)	1,00	0,076	117,3	122,2
	C/T-T/T	16 (43,2 %)	12 (25 %)	2,29 (0,91 – 5,75)			
Recesívny	C/C-C/T	34 (91,9 %)	46 (95,8 %)	1,00	0,45	119,8	124,7
	T/T	3 (8,1 %)	2 (4,2 %)	2,03 (0,32 – 12,82)			

KMP – kardiomyopatia, n – počet, OR – pomer šancí, 95 % CI – 95 % interval spoľahlivosti, p – p hodnota, AIC – Akaikovo informačné kritérium, BIC – Bayesovo informačné kritérium

Tabuľka 8 Analýza asociácie variantu *rs3853445* s KMPAsociácia *rs3853445* s ochorením (n = 85)

Model	Genotyp	Pacienti	Kontroly	OR (95 % CI)	P	AIC	BIC
Kodominantný	T/T	17 (46 %)	26 (54,2 %)	1,00	0,75	121,8	129,1
	C/T	16 (43,2 %)	18 (37,5 %)	1,36 (0,55 – 3,38)			
	C/C	4 (10,8 %)	4 (8,3 %)	1,53 (0,34 – 6,96)			
Dominantný	T/T	17 (46 %)	26 (54,2 %)	1,00	0,45	119,8	124,7
	C/T-C/C	20 (54 %)	22 (45,8 %)	1,39 (0,59 – 3,29)			
Recesívny	T/T-C/T	33 (89,2 %)	44 (91,7 %)	1,00	0,7	120,3	125,1
	C/C	4 (10,8 %)	4 (8,3 %)	1,33 (0,31 – 5,73)			

KMP – kardiomyopatia, n – počet, OR – pomer šancí, 95 % CI – 95 % interval spoľahlivosti, p – p hodnota, AIC – Akaikovo informačné kritérium, BIC – Bayesovo informačné kritérium

19). Procesy, ktoré sú základom pre vznik a rozvoj FP, sú oveľa zložitejšie a nie sú úplne objasnené najmä v prípade objavenia sa ďalších pridružených ochorení. V týchto procesoch môžu byť zahrnuté viaceré molekuly, signálne dráhy a rizikové faktory. V súčasnosti sa vedci snažia potvrdiť úlohu genetického pozadia v patogeneze kardiomyopatií s pridruženou FP (16, 20). Vďaka celogenómovým asociačným štúdiám [GWASs (genome-wide association study)] sa podarilo identifikovať okrem hlavných kandidátnych génov aj ďalšie gény a niektoré bežné varianty, ktoré vykazovali asociáciu s FP. Aktuálne k intenzívne študovaným oblastiam, ktoré sú signifikantne spojené s fibriláciou predsiení patria genetické lokusy 1q21, 4q25 a 16q22, ktoré môžu byť tiež potenciálnymi intervenčnými cieľmi (21, 22). Vzhľadom na uvedené skutočnosti sme si v našej štúdii zvolili za cieľ genetických analýz tri jednonukleotidové polymorfizmy z lokusu 4q25 (*rs13143308*, *rs2220427* a *rs3853445*). Po analýze patientskych DNA vzoriek a DNA vzoriek získaných od kontrol sme dospeli k podobným výsledkom alelových a genotypových distribúcií a potvrdili sme očakávaný

trend vypovedajúci o nízkych frekvenciách minoritných alel v európskych populáciách (databáza GWAS catalog dostupná na <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) (23).

Asociácia vybraných genetických markerov *rs13143308*, *rs2220427* a *rs3853445* lokusu 4q25 bola potvrdená v niekoľkých štúdiách (23, 24, 25, 26, 27). Alela T polymorfného genetického variantu *rs13143308* sa v niekoľkých štúdiách vyskytovala s vyššou frekvenciou u pacientov s FP v porovnaní s kontrolným súborom a bola dokázaná jej vysoká asociácia s touto poruchou srdcového rytmu (26, 28). V štúdii Herraiz-Martínez (2019) bola potvrdená spo-

Tabuľka 9 Korelačná analýza genetických markerov lokusu 4q25 vo vzťahu ku KMP a FP

SNP	Phi	p	Sig.
<i>rs13143308</i>	0,15989	0,1405	ns
<i>rs2220427</i>	0,19245	0,0760	ns
<i>rs3853445</i>	0,08152	0,4523	ns

FP – fibrilácia predsiení, KMP – kardiomyopatia, Phi – Phi koeficient korelácie, p – p hodnota; Sig. – signifikancia, ns – nesignifikantný výsledok, SNP – jednonukleotidový polymorfizmus

jitosť medzi rizikom vzniku FP a defektnou homeostázou vápnika práve na základe prítomnosti potenciálne rizikovej alely T variantu *rs13143308* detegovaného v lokuse 4q25. Na základe uvedeného možno variant *rs13143308* považovať za genetický rizikový marker FP (29). V našej štúdii sa asociácia variantu *rs13143308* s ochorením nepotvrdila. Ďalší genetický variant *rs2220427* patrí podľa GWAS štúdií k jedným z najčastejšie sa vyskytujúcich variantov v japonskej populácii, ktorý je asociovaný s FP (27). Ako uvádza databáza *Ensembl*, v európskej populácii sa podľa výsledkov *1000 Genomes Project Phase 3* očakáva frekvencia minoritnej alely len 15 % (30). V našom súbore sa v porovnaní s ostatnými analyzovanými genetickými variantmi minoritná alela vyskytovala s relatívne nižšou frekvenciou (15 % u kontrol a 26 % u pacientov s KMP a FP). Asociácia variantu *rs3853445* s FP bola tiež potvrdená v celogenómových štúdiách (OR = 1,330; $p = 2,42 \cdot 10^{-34}$) (27). V štúdii Low et al. (27) sa u pacientov s FP potvrdila frekvencia rizikovej alely T podobná s frekvenciou v našom súbore pacientov s KMP a FP (0,67 vs. 0,68). Analýzy realizované v skupine pacientov a kontrol asociáciu tohto genetického variantu s ochorením nepotvrdili. V našom súbore alely všetkých troch analyzovaných genetických variantov, ktoré sa uvádzali ako potenciálne rizikové, boli detegované nielen v skupine pacientov, ale v podobnej frekvencii aj u kontrol. Predpokladáme, že aj vzhľadom na uvedenú skutočnosť sa nám nepodarilo potvrdiť žiadne signifikantné rozdiely v distribúcii alel a genotypov medzi pacientmi a kontrolami a rovnako ani asociáciu medzi týmito genetickými markermi a KMP s pridruženou fibriláciou predsiení u pacientov z regiónu východného Slovenska. V súčasnosti sú vo vzťahu k arytmogénemu potenciálu intenzívne študované lokusy 1q21, 4q25 a 16q22. Vedci tu identifikovali nové genetické markery alebo varianty, ktoré prispievajú k náchylnosti na fibriláciu predsiení a zároveň bol potvrdený aj potenciálny vzťah k recidíve fibrilácie predsiení po katétrovej ablácii (31). Gény lokusu 1q21 sa zapájajú do niekoľkých dôležitých signálnych dráh, vrátane tých, ktoré ovplyvňujú správny vývin a funkcie kardiovaskulárneho systému (32). Okrem genetických prediktorov v patogenéze FP môžu zohrávať dôležitú úlohu aj ďalšie markery. Napriek intenzívnemu výskumu však stále nie je k dispozícii optimálny biologický marker, ktorý by efektívne napomáhal v diagnostike a pri stanovení prognózy. Pozitívom je, že existuje niekoľko sľubných markerov a ich počet neustále narastá (33, 34).

Záver

Naše výsledky realizované v súbore 85 jedincov (case control štúdia) predstavujú iniciálne dáta, ktoré poukazujú na potenciálny význam vybraných genetických markerov v našom výskumnom súbore vo vzťahu ku kardiomyopatii s pridruženou fibriláciou predsiení u pacientov z regiónu východného Slovenska. Analýza vybraných genetických markerov, *rs13143308*, *rs2220427* a *rs3853445*, s lokáciou v lokuse 4q25 nepotvrdila štatisticky významné asociácie s KMP a pridruženou FP. Potenciálne rizikové alely všetkých troch genetických markerov boli detegované nielen u pacientov s kardiomyopatiou a fibriláciou predsiení, ale v pomerne vysokom zastúpení aj u kontrol. Riziková alela T genetického variantu *rs3853445* dominovala v skupine kontrol (73 % vs. 68 %). Z uvedeného dôvodu sa asociáciu s KMP a pridruženou FP, ale aj distribučné rozdiely alel a genotypov nepodarilo štatisticky potvrdiť.

Môžeme teda konštatovať, že základnou limitáciou našej štúdie bola veľkosť výskumnej vzorky. Na získanie presnejších dát a posúdenie významu vybraných genetických markerov lokusu 4q25, ale aj ostatných markerov navrhujeme naše výsledky overiť vo väčšej výskumnej vzorke pacientov s kardiomyopatiou a fibriláciou predsiení a v adekvátnom kontrolnom súbore na multicentrickej úrovni.

Finančná podpora

Grant firmy PFIZER LUXEMBOURG SARL, o. z., Pribinova 25, 811 09 Bratislava.

Literatúra

1. Hindricks G, Potpara T, Dagres N, Arbelo E, Bax JJ, Blomstrom-Lundqvist C, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *Eur Heart J* 2020;42:373–498. doi:10.1093/eurheartj/ehaa612
2. Aguirre LA, Alonso ME, Badía-Careaga C, Rollán I, Arias C, Fernández-Miñán A, et al. Long-range regulatory interactions at the 4q25 atrial fibrillation risk locus involve PITX2c and ENPEP. *BMC Biol* 2015;17:13–26.
3. Hayashi K, Tada H, Yamagishi M. The genetics of atrial fibrillation. *Curr Opin Cardiol* 2017;32:10–16.

4. Kalsto SJ, Siland JE, Rienstra M, Christophersen IE. Atrial Fibrillation Genetics Update: Toward Clinical Implementation, *Front Cardiovasc Med* 2019;6:1-16.
5. Zigová M, Petrejčíková E, Mydlárová Blaščáková M, Kmec J, Bernasovská J, Boroňová I, et al. Genetic targets in the management of atrial fibrillation in patients with cardiomyopathy. *J Pract Cardiovasc Sci* 2022;8:9-16.
6. Arbelo E, Protonotarius A, Gimeo JR, Arbustini E, Barriales-Villa R, Basso C, et al. 2023 ESC Guidelines for management of cardiomyopathies of the European Society of Cardiology (ESC). Developed by the task force on the management of cardiomyopathies of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2023;44:3503-3626.
7. Miller DT, Lee K, Chung WK, Gordon AS, Herman GE, Klein TE, et al. ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2021;23:1381-1390. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01172-3>
8. Miller DT, Lee K, Gordon AS, Amendola LM, Adelman K, Bale SJ, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2021 update: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2021;23:1391-1398. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01171-4>
9. Ommen SR, Mital S, Burke MA, Day SM, Deswal A, Elliott P, et al. 2020 AHA/ACC guideline for the diagnosis and treatment of patients with hypertrophic cardiomyopathy: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2020;142:e558-e631. doi: 10.1161/ CIR.0000000000000937
10. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2008;29:270-276.
11. Databáza Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>)
12. Sisakian H. Cardiomyopathies: Evolution of pathogenesis concepts and potential for new therapies. *World J Cardiol* 2014;6:478-494. doi:10.4330/wjc.v6.i6.478.
13. Spirito P. Atrial Fibrillation in Hypertrophic Cardiomyopathy New Light on an Old Problem. *Circulation* 2017;136:2437-2439.
14. Bonadei I, Gorga E, Lombardi C, Metra M. Arrhythmias and cardiomyopathy: when arrhythmias come first. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2017;18 Suppl 1:e145-e148. doi: 10.2459/ JCM.0000000000000464.
15. Patten M, Pecha S, Ali Aydin A. Atrial Fibrillation in Hypertrophic Cardiomyopathy: Diagnosis and Considerations for Management. *J Atr Fibrillation* 2018;10:1556-1562.
16. Yeung C, Enriquez A, Suarez-Fuster L, Baranchuk A. Atrial fibrillation in patients with inherited cardiomyopathies. *Europace*. 2019;21:22-32. doi: 10.1093/europace/euy064.
17. Buckley BJR, Harrison SL, Gupta D, Fazio-Eynullayeva E, Underhill P, Lip GYH. Atrial Fibrillation in Patients With Cardiomyopathy: Prevalence and Clinical Outcomes From Real-World Data. *J Am Heart Assoc* 2021;10:e021970.
18. Tian T, Wang Y, Sun K, Wang J, Zou Y, Zhang W, et al. Clinical profile and prognostic significance of atrial fibrillation in hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiology* 2013;126:258264. doi: 10.1159/000354953.
19. Aleksova A, Merlo M, Zecchin M, Sabbadini G, Barbati G, Vitrella G, et al. Impact of atrial fibrillation on outcome of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: data from the Heart Muscle Disease Registry of Trieste. *Clin Med Res* 2010;8:142-149. doi:10.3121/cmr.2010.908.
20. Andersen JH, Olesen MS. Genetics of Atrial Fibrillation and Atrial Cardiomyopathy. *J Human Clin Gen* 2019;1:1-3.
21. Lozano-Velasco E, Franco D, Aranega A, Daimi H. Genetics and Epigenetics of Atrial Fibrillation. *Int J Mol Sci* 2020;21:5717. doi:10.3390/ijms21165717.
22. Hong K, Xiong Q. Genetic basis of atrial fibrillation. *Curr Opin Cardiol*. 2014;29:220-226. doi: 10.1097/HCO.0000000000000051.
23. Databáza GWAS catalog dostupná na <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>.
24. Nielsen JB, Thorolfsdottir RB, Fritsche LG, Zhou W, Skov MW, Graham SE, et al. Biobank-driven genomic discovery yields new insight into atrial fibrillation biology. *Nat Genet*. 2018;50:1234-1239. doi:10.1038/s41588-018-0171-3;
25. Roselli C, Chaffin MD, Weng LC, Aeschbacher S, Ahlberg G, Albert CM, et al. Multi-ethnic genome-wide association study for atrial fibrillation. *Nat Genet* 2018;50:1225-1233. doi:10.1038/s41588-018-0133-9
26. Lubitz SA, Sinner MF, Lunetta KL, Makino S, Arne Pfeufer A, Rahman R, et al. Independent susceptibility markers for atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Circulation* 2010;122:976-984.
27. Low SK, Takahashi A, Ebana Y, Ozaki K, Christophersen IE, Ellinor PT, et al. Identification of six new genetic loci associated with atrial fibrillation in the Japanese population. *Nat Genet* 2017;49:953-958. doi:10.1038/ng.3842
28. Gudbjartsson DF, Arnar DO, Helgadóttir A, Gretarsdóttir S, Holm H, Sigurdsson A, et al. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature* 2007;448:353-357.
29. Herraiz-Martínez A, Llach A, Tarifa C, Gandia J, Jiménez-Sabado V, Lozano-Velasco E, et al. The 4q25 variant rs13143308T links risk of atrial fibrillation to defective calcium homeostasis. *Cardiovasc Res* 2019;115:578-589. doi:10.1093/cvr/cvy215
30. Wolff L. Familial auricular fibrillation. *N Engl J Med* 1943;229:396.
31. Jiang T, Wang YN, Qu Q, Qi TT, Chen YD, Qu J. Association between gene variants and the recurrence of atrial fibrillation: An updated meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98:e15953. doi:10.1097/MD.00000000000015953)
32. Olesen MS, Nielsen MW, Haunsø S, Svendsen JH. Atrial fibrillation: The role of common and rare genetic variants. *Eur J Hum Genet*. 2014;22:297-306. doi:10.1038/ejhg.2013.139).
33. Szegedi I, Szapáry L, Csécséi P, Csanádi Z and Csiba L. Potential Biological Markers of Atrial Fibrillation: A Chance to Prevent Cryptogenic Stroke. *Biomed Res Int*. 2017;2017:8153024. doi:10.1155/2017/8153024
34. O'Neal WT, Venkatesh S, Broughton ST, Griffin WF and Soliman EZ. Biomarkers and the prediction of atrial fibrillation: state of the art. *Vasc Health Risk Manag* 2016;12:297-303. doi:10.2147/VHRM.S75537