

Genetické faktory a riziko kardiovaskulárných ochorení

A. Teren, P. Gavorník

II. interná klinika Lekárskej fakulty UK a FNsP Bratislava, Slovenská republika, prednosta prof. MUDr. Andrej Dukát, CSc.

Súhrn: Cieľom tejto práce je sumarizovať genetický podklad kardiovaskulárných ochorení podľa doterajších poznatkov, so zameraním na genetické markery multifaktoriálnych foriem kardiovaskulárných ochorení na podklade aterosklerózy, vrátane ich interakcie s klasickými rizikovými faktormi.

Kľúčová slová: ateroskleróza – kardiovaskulárne riziko – deoxyribonukelová kyselina – genetika – polymorfizmus

Genetic factors and the risk of cardiovascular diseases

Summary: The objective of the study is to summarise the hereditary factors of cardiovascular diseases based on current knowledge, focus will be applied to genetic markers of multifactorial forms of cardiovascular diseases based on atherosclerosis, including their interaction with traditional risk factors.

Key words: atherosclerosis – cardiovascular risk – deoxyribonucleic acid – heredity – polymorphism

Úvod

Ľudský genóm možno v dnešnej dobe počítačovo definovať ako zbierku informácií, programov, algoritmov a časopriestorových plánov ich spúšťania a vypínania [18]. Popri fyzickej – materiálnej existencii dovoľujú jeho produkty existenciu a realizáciu abstraktných, do neživej formy transformovaných informácií [18]. Lekársky pohľad býva profesionálne zúžený na otázky ľudského tela (vrátane mysle), jeho zdravia a chorôb. Hľadá vzťah medzi genotypom a fenotypom, ktorý by mohol nejakým spôsobom využiť pre optimalizáciu fenotypu [143]. V poslednom čase došlo k značným zmenám v našom chápaní tohto vzťahu. Fertilizáciou vzniká zárodok s určitou výbavou aj so všetkými familiárnymi (dedičnými, hereditárnymi) „chybami“. Túto výbavu možno prirovnáť k neotesanému balvanu, ako pracovnému materiálu. Od tejto chvíle je materiál pod vplyvom vonkajších faktorov. Možnosť zásahu do intenzity pôsobenia každého faktora sa počas života

mení. Výsledkom je mnohopočetná, časopriestorová, situačná interakcia, ktorá vytvára podstatu biologickej i psychosociálnej existencie ľudského individua [58]. Vzťah medzi genotypom a fenotypom teda nie je priamotýčiar a historické klinické jednotky, tvorené vyložene z obrazov, ktoré sme získali pozorovaním fenotypu, nás vedú k nesúladi až rozporu medzi kategorizáciou príčin a klasifikáciou následkov [52,143].

Genetická determinácia sa na vzniku chorôb podieľa rôznou mierou. Od takmer absolútnej, prakticky stopercentnej genetickej podmienenosti až po takmer úplnú nezávislosť [18]. Najmenšou zodpovednou genetickou jednotkou je v detaile jeden nukleotid a jeho bodová mutácia. Existuje celý rad ochorení, ktoré možno takto klasifikovať – rôzne alely toho istého génu zodpovedajú rôznym klinickým jednotkám (napr. Duchennova a Beckerova svalová dystrofia, eróziívna vitreoretinopatia a Wagnerova choroba) [13,18,42–44,145]. Na druhej strane

identické alely toho istého génu na rôznom geno-enviromentálnom pozadí môžu mať rozdielne fenotypové prejavy [58,59]. Navyše mutovaný gén sa nemusí vôbec prejavovať. Ak sa znak u niektorých z nositeľov neprejaví, má neúplnú penetranciu. Ak sa znak vyskytuje u viacerých členov rodiny v odlišných formách (napr. ľahkej, stredne ťažkej a závažnej), hovoríme, že znak má variabilnú expresivitu [142]. Penetrancia teda prejavu genetického znaku charakterizuje kvalitatívne a expresivita kvantitatívne. O výslednom fenotype často rozhoduje aj druhá alela, čiže genotyp daného lokusu (charakter genetickej informácie v príslušnej časti určitého chromozómu) a v konečnom dôsledku celá genetická výbava jedinca v rámci jednej bunky, označovaná ako genóm (tzv. efekt génového pozadia – „genetic background“) [80]. V prípade monogénových ochorení s dominanciou patogénnej alely a jej úplnou penetranciou (prejavom) je vplyv génového pozadia. Takéto ochorenia sa nazývajú aj alelové. Choroby,

Tab. 1. Asociačné a väzbové štúdie.

Oblasť výskumu	Asociácia	Väzba
Charakter vzorky	Rodiny/nositelia znaku – kontroly	Iba rodiny
Vplyv génov	Gény malého až mierneho efektu	Gény mierneho až veľkého efektu
Kandidátne gény	Väzbová nerovnováha markerov nutná, haplotypová analýza = optimum	Akýkoľvek marker, optimálne vysoko polymorfny
Celogenómový prístup	Tisíce až milióny markerov nutných	Stovky markerov nutných

ktoré sú determinované expresiou kombinácie dvoch alel príslušného génu možno označiť ako genotypové. Ak sa akákoľvek patogénna alela určitého génu exprimuje vo forme toho istého fenotypu, ide o ochorenia génové a pokiaľ o penetrancii patogénneho fenotypu rozhodujú alelové variácie vo viacerých génoch, hovoríme o polygénových, multilokusových ochoreniach. Keďže žiadny gén neexistuje v úplnom vzduchoprázdne a celkom nezávisle od okolia, je zrejmé, že čím viac génov je v hre, tým väčší priestor sa utvára pre uplatnenie situačných vplyvov [80]. Tým viac sa od hodnotenia „buď-alebo“ blížíme k pravdepodobnostnému postoju „asi, snáď“, vyjadreného ako náchylnosť (susceptibilita) alebo odolnosť [18,136]. Na vyjadrenie určitého chorobného stavu, ktorý vzniká interakciou génov a prostredia, používame termín multifaktoriálne ochorenia. Vo svetle poznania ľudského genómu tak vzniká v medicíne potreba nájsť nový súlad medzi príčinou a následkom.

Mnohotvárnosť ľudského genómu

Genetická informácia eukaryotických organizmov netvorí jeden celok, ale pomocou intrónov je rozdelená na rôzne dlhé úseky – exóny, ktoré sú vo forme ribonukleových kyselín (ribonucleic acid – RNA) pred jej transláciou dodatočne zložené. Expresia génov kontrolovaná prostredníctvom regulačných oblastí v ich štruktúre. Medzi esenciálne regulačné oblasti, ktorá sa nachádza aspoň v jednom exemplári na začiatku každého známeho génu, patrí promótor. V tejto oblasti sa rozvíja činnosť RNA polymerázy, nevy-

hnutnej pre prepis dedičnej informácie – transkripciu [80]. Na konci génu sa nachádza terminátor, ktorý ukončuje prácu polymerázy. Mozaikovitý charakter štruktúry s niekoľkými promotormi alebo terminátormi umožňuje využitie jednej dedičnej informácie vo viacerých formách. Gén ako informačná jednotka v štruktúre nukleovej kyseliny tak nadobúda množstvo podôb [122,136]. Jeden a ten istý úsek vlákna deoxyribonukleovej kyseliny (deoxyribonucleic acid – DNA) môže byť súčasťou viacerých génov – napr. jeden gén môže mať svoj začiatok umiestnený v rámci druhého génu prípadne v ňom môže byť celý umiestnený. Rovnako pamäťový úsek jedného génu môže byť regulačnou oblasťou iného génu [80]. Definovanie génu na úrovni DNA sa tak stáva neúplným. Presnejšie by snáď mohol gén definovať úsek RNA, prepisovaný v celku.

Gény, ako ich chápeme na úrovni DNA, sa teda navzájom prekrývajú [18,80]. Vzhľadom na veľkosť intrónov nie je raritou umiestnenie jedného génu v rámci intrónu druhého génu. Ďalšou možnosťou je použitie každého reťazca určitého úseku dvojzávitnice DNA na prepis dvoch rôznych génov (tzv. mt gény) [122]. Uvedeným zaobchádzaním s dedičným materiálom možno podľa hesla „menej je niekedy viac“ vysvetliť, prečo náš genóm nie spomedzi všetkých organizmov ani zďaleka najrozsiahlejší. U vírusov (fágov) ide takéto šetrenie molekulou tak ďaleko, že rovnaký reťazec môže slúžiť na syntézu funkčne rôznych proteínov len podľa toho, v ktorom mieste je transkripcia zahájená – v RNA reprezentuje každú aminokyselinu v reťazci

proteínu triplet nukleotidov, pričom posunom počiatkovej lokalizácie čítacieho rámca tripletov o jeden nukleotid možno získať z identickej sekvencie tri rôzne bielkoviny [2]. U eukaryotických organizmov je vďaka intrónom využitie DNA ešte znásobené rôznym poradím exónov v konečnom produkte. Týmto mechanizmom sa vysvetľuje podiel intrónov na evolúcii organizmov.

Ďalšou možnosťou je vznik funkčne odlišných bielkovín z RNA pomocou alternatívneho zostrihu intrónov pred transláciou (tzv. „alternative splicing“) alebo na základe odlišnej posttranslačnej úpravy proteínu. Uvedený mechanizmus sa bežne uplatňuje pri diferenciácii tkanív napr. kardiovaskulárneho systému [2,80,122].

Štruktúru génu ďalej dopĺňajú tzv. „CpG ostrovy“. Ide o regulačné sekvencie s motívom cytozín-guanín. Metylácia cytozínov vedie k útlmu prepisu príslušného génu.

Nie všetky gény v ľudskom genóme disponujú aktívne použiteľnou informáciou. Tzv. pseudogény sú úseky DNA, ktoré sa aktívnym génom veľmi podobali, ale väčšinou im chýbajú intróny, prípadne iné regulačné oblasti, nevyhnutné k prepisu [80]. Väčšina pseudogénov nie je transkripčne a translačne aktívna. Existujú však aj výnimky, prekladané počas určitých období života do proteínov. Výskyt pseudogénov je pomerne veľký a v niektorých oblastiach dokonca zodpovedá výskytu funkčných génov. Význam pseudogénov nie je celkom objasnený [18]. Predpokladá sa, že ide o určitú evolučne tlmenú, avšak udržiavanú zálohu informácií, ktorá zbiera chyby,

vznikajúce počas replikácie DNA a pri opätovnej aktivácii počas evolúcie potenciálne zvyšuje variabilitu a tým aj možnosť nadobudnutia nových vlastností [58].

Evolúciu možno považovať za výsledok pôsobenia dvoch protikladných tendencií – konzervatívneho princípu stálosti, nemennosti a dynamického princípu neustálych zmien. V živej hmote sú tieto princípy vyvážené upevňujú a využívajú to, čo sa v súboji s vonkajšími i vnútornými podmienkami osvedčilo a na strane druhej neustále ponúkajú nové varianty riešenia [58, 122].

Mnohotvárnosť ľudského genómu ako dôsledok jeho variability nadobúda v súčasnosti nový rozmer. Od rôznosti znakov, ako prejavov dedičných a environmentálnych vplyvov, prechádza medicína aj vďaka genetike k ich podstate a príčinám [18]. Každý jedinec na zemi je svojou genetikou výbavou jedinečný. Existencia odlišností spočíva v neprestajne vznikajúcich a miznúcich zmenách štruktúry genómu [58, 142]. Vzácné variácie sú klasifikované ako mutácie. V prípade bežného výskytu v populácii ide o tzv. polymorfizmy [52]. Uvedený rozdiel vo frekvencii výskytu je daný zlúčiteľnosťou variácie so životom resp. vplyvom na reproducibilitu jedinca. Pre odlišenie polymorfizmov a mutácií sa používa dohodnutá miera pre frekvenciu najčastejších alel určitého génu v populácii do 99 %. Pri prekročení tejto hodnoty sa prestáva hovoriť o polymorfizmoch a všetky ostatné alely sa považujú za mutácie odvodené od tejto štandardnej alely [18, 52, 80].

Medzi základné polymorfizmy na úrovni DNA patria jednonukleotidové odlišnosti – tzv. SNP (single nucleotide polymorphisms), používané aj na mapovanie genómu [52]. Poznaním ich presnej lokalizácie v DNA možno určiť polohu celých génových lokusov. Frekvencia ich výskytu sa pohybuje v intervale 1 SNP na 200–2 000 bázových párov. SNP majú svoju databázu, ktorá obsahuje milióny variácií

a neustále sa rozrastá (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>).

Polymorfizmy možno štatistickým dôkazom spájať s patologickými prejavmi. Následne je možné odhadnúť empirické riziko, keďže je zo skúseností známe, že u osôb s určitým genotypom dochádza k rozvoju daného ochorenia častejšie ako u osôb s iným genotypom v danom polymorfnom systéme [52, 136, 143]. Takýchto asociácií bolo doposiaľ identifikované veľké množstvo [13, 42–44, 57, 69, 165]. Na overenie kauzality týchto štatistických vzťahov je potrebné objasnenie funkcie produktov zainteresovaných génov, ako sa to už deje napr. v systéme HLA a ďalších imunokompetentných molekúl [18].

Genetika kardiovaskulárneho systému

Kardiovaskulárne ochorenia patria medzi najrozšírenejšie, najzávažnejšie a najpálčivejšie nielen zdravotnícke, ale aj ekonomické a sociálne problémy takmer všetkých krajín súčasného sveta. Zapríčiňujú vysokú morbiditu, spojenú s dlhotrvajúcou invalidizáciou a asi polovicu úmrtí populácie, čo je dva razy viac ako na druhú najčastejšiu príčinu mortality – onkologické choroby [32]. Drvivá väčšina týchto ochorení vzniká na podklade systémových degeneratívnych zmien cievnych stien s predilekčným prejavom v ich určitých úsekoch. Tento proces je známy pod súhrnným názvom ateroskleróza (odtiaľ aterosklerózou podmienené kardiovaskulárne ochorenia – AS KVS). Na základe doterajších epidemiologických, experimentálnych a klinických prác sa pri vzniku aterosklerózy predpokladá súčinnosť viacerých rizikových faktorov a mechanizmov [32]. Ukazuje sa, že ide o patologický proces s multifaktoriálnym pozadím a významným etiologickým podielom dedičnej informácie [58]. Ukončenie „Projektu ľudského genómu“ (Human Genome Project) poskytlo výskumným tímom aj klinikom nové možnosti uplatnenia techník ge-

netickej analýzy pri identifikácii rizikových pacientov. V minulosti patrili medzi nozologické jednotky s objasnenou genetickou zložkou iba zriedkavé ochorenia, podmienené variáciou v jednom géne (napr. Brugada syndróm, Liddlov syndróm) [52]. Pozornosť sa v súčasnosti stále viac sústreďuje na odhaľovanie genetickej náchylnosti k bežným, multifaktoriálnym ochoreniam, s ktorými sa klinik stretáva v každodennej praxi [76]. Variácie génov pomerne často nie sú spojené priamo s AS KVS, ale ako ich markery sa podieľajú zlepšení diagnostiky a hodnotenia rizika pacienta. Ukázalo sa, že stupeň expresie určitých génov (množstvo detegovanej RNA alebo proteínu príslušného génu) odráža štádium ochorenia. Pokiaľ ide o asociáciu s určitými špecifickými klinickými podmienkami, ide o priame biomarkery týchto klinických stavov [34].

Pri identifikácii genetických markerov sa používajú štúdie kandidátnych génov, zamerané na jednotlivé gény oddelene a genomické štúdie, ktoré sa zaoberajú výskumom genómu ako celku. Podľa dizajnu ich možno rozdeliť na dva hlavné typy:

- a) asociačné štúdie
- b) väzbové štúdie

Cieľom **asociačných štúdií** je demonštrovať, že určitý génový variant (obvykle SNP) je významných rizikovým faktorom sledovaného patologického znaku (viď tab. 2). Výhodou asociačných štúdií je možnosť porovnávacích analýz v rámci rodín aj medzi podsúbormi pacientov verzus kontrol. Cieľom je testovať predpoklad asociácie ochorenia s predurčeným génom resp. setom génov (ide o tzv. „kandidátne gény“). Nevýhodou tohto dizajnu je, že asociáciu demonštrovanú v jednej štúdii sa obvykle nepodarí potvrdiť v nadväzujúcich projektoch [162]. Z množstva faktorov, ktorá sa podieľajú na nesúrodnosti dát, zohráva najvýznamnejšiu úlohu inkonzistencia v definovaní chorobných fenotypov, nedostatočná veľkosť súborov, etnický

profil sledovanej populácie (frekvencia SNP značne varíruje v jednotlivých etnikách), falošne pozitívne a falošne negatívne asociácie a stratifikácia populačnej vzorky [34].

Jedným z prístupov na odstránenie uvedených nepresností je identifikácia skupín markerov, prenášaných v rodinách resp. v populácií spolu. Tieto súbory variácií sa označujú ako haplotypy (súbor variantov, prítomných na jednom chromozóme) [40]. Ľudský genóm tak môže byť usporiadaný podľa oblastí obmedzenej variability, ktoré sa nazývajú „haplotypové bloky“ [29]. Haplotypové bloky pozostávajú obvykle z tisícov nukleotidov a zrejme zahŕňajú globálnu variabilitu dedičnej informácie [127]. Na detekciu bežných haplotypov je potrebných iba niekoľko, pre príslušný haplotyp špecifických SNP-ov. Tieto SNP sa nazývajú ako „značkové“ (tzv. „haplotype tag-SNP“) a sú pre každý haplotyp špecifické [127]. Ideálna je aplikácia haplotypov do dizajnov asociačných štúdií, čo by značne rozšírilo ich záber a tým aj validitu výstupov, pokrývajúc globálnu variabilitu genómu. V súčasnosti sú tag-SNP definované iba pre menšinu génov. Zmenu majú priniesť projekty typu haplotypová mapa (haplotype map – HAP-MAP) a Národný kardiopulmohematologický inštitút

(the National Heart, Lung, and Blood Institute – NHLBI) riadené Programy aplikácie celogenómového výskumu (Programs in Genomic Applications – PGA), zamerané na celogenómové mapovanie kľúčových tag-SNP. Haplotypová asociačná analýza po prebratí nových výkonných a pritom cenovo dostupných techník zrejme nahradí terajšie analýzy asociácií individuálnych SNP. Medicínsky význam celogenómového prístupu sa podarilo demonštrovať v štúdií, definujúcej gény spojené so zvýšenou náchylnosťou (susceptibilitou) k infarktu myokardu (IM) [109].

Druhou formu výskumu sú **väzbové štúdie** („linkage studies“), často aplikované celogenómovo. Cieľom je identifikovať oblasti chromozómov – lokusov, ktoré môžu obsahovať gény, zodpovedné za príslušné ochorenie. Rozdiely oproti asociačnému dizajnu sú zhrnuté v tab. 1.

Na rozdiel od asociačných štúdií, vyžaduje dizajn väzbových štúdií porovnanie údajov z DNA pokrvne príbuzných jedincov na detekciu lokusov, ktoré sú dedené nenáhodne (t.j. v rodinách) vo vzťahu k sledovanému ochoreniu. Výhodou tohto typu štúdií je, že nie je a priori potrebná vstupná hypotéza, predkladajúca konkrétne genetické determinanty ochorenia [52]. Regióny (lokusy), identifikované vä-

bovými štúdiami, však obvykle zahŕňajú milióny básových párov a stovky génov. Preto sa následne uskutočňujú asociačné analýzy jednotlivých génov v rozsahu pozitívneho väzbového signálu, s cieľom overiť asociáciu lokusu s ochorením a identifikovať konkrétne variácie génov, zodpovedných za túto asociáciu. Ide o časovo aj finančne náročný proces, ktorý bol už niekoľkokrát aplikovaný úspešne. Uskutočnili sa aj celogenómové štúdie asociačného typu [34]. Veľké nádeje sú v tomto prípade vkladane do identifikácie haplotyp-spezifických-SNP pre celý genóm, čím sa zníži náročnosť celogenómových štúdií s asociačným a stanú sa dominantnou metódou pri definícii patogénnych alelových variácií [127].

Genetické markery sú varianty (alely) v kóde DNA, ktoré sú samostatne alebo v kombinácii s inými faktormi spojené s prítomnosťou špecifického patologického znaku. V prípade monogénových ochorení umožňujú genetické štúdie priamočiare stanovenie klinickej diagnózy prostredníctvom analýzy DNA stanovenia expresie génu pomocou reverzných polymerázových reakcií (real time polymerase chain reaction – RT-PCR) resp. „Western blotting“ (analýzy proteínových produktov génov).

Tab. 2. Vybrané gény, ktorých variácie sú spojené s kardiovaskulárnymi chorobami na podklade aterosklerózy a s pridruženými stavmi.

Fenotyp	Symbol génu	Názov kódovanej molekuly	referencia
Aneurizma brušnej aorty	MTHFR	Metyléntetrahydrofolát reduktáza (NADPH)	142
	HMOX1	Hem oxygenáza (decykláza)1	131
Ateroskleróza	AGT	Angiotenzinogén	30
	MMP3	Matrixová metaloproteináza 3 (stromelyzín 1)	160
	MMP13	Matrixová metaloproteináza 13	175
	APOE	Apolipoproteín E	23
	PON1	Paraoxonáza	91
	MTHFR	Metyléntetrahydrofolát reduktáza	30
	IL-6	Interleukín 6	45
	APOB	Apolipoproteín B	138
	APOC3	Apolipoproteín C3	138
	CETP	Cholesterol ester transferový proteín	138
	LPL	Lipoproteínová lipáza	138
	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	138

Tab. 2. Pokračování.

Fenotyp	Symbol génu	Názov kódovanej molekuly	eferencia
Ateroskleróza	AT1R1	Angiotenzín II receptor, typ 1	138
	CBS	Cystathionín β -syntetáza	138
	GPIIIA	Glykoproteín IIIa	138
	FGA	Fibrinogén	138
	ELAM	Endoteliálna adhézna molekula leukocytov 1	138
Aterotrombóza (angina pectoris, AP)	TAFI	Trombínom aktivovateľný inhibítor fibrinolýzy	97
Brugada syndróm	SCN5A	Napäčovo riadený sodíkový kanál	120
Kalcifikujúca stenóza aortálnej chlopne	VDR	Receptor pre vitamín D	108
Vrodená srdcová arytmia	SCN5A	Napäčovo riadený sodíkový kanál	167
Hypertrofia myokardu	IL-6	Interleukín 6	
Ateroskleróza a. carotis	MMP3	Matrixová metaloproteináza 3 (stromelyzín 1)	111
Kardiomyopatia (v rámci morbus Chagas)	TNFAIP2	A typ faktora tumoronekrózy	161
	IFNG	Interferón γ	117
	IL-6	Interleukín 6	117
	IL-4	Interleukín 4	117
Kardiomyopatia (dilatačná, s poruchou vedenia)	LMNA	Lamín A/C	
Kardiomyopatia (dilatačná, familiárna)	DMD	Dystrofín	155
	TAZ	Tafazzín	155
	ACTC	Kardioizoforma aktínu	155
	DES	Desmín	155
	SGCD	δ -sarkoglykán	155
	TNNT2	Kardioizoforma troponínu T	155
	MYH7	Ťažký reťazec kardiomyozínu β	155
	klaster	Mitochondriálny dýchací reťazec	155
	TPM1	A typ tropomyozínu	155
Kardiomyopatia (familiárna, hypertrofická)	CMYBPC	Kardiomyozín viažúci proteín C	155
	NTI	Kardioizofoma troponínu I	155
	TNNT2	Kardioizofoma troponínu T	155
	MYH7	Ťažký reťazec kardiomyozínu β	102
	TPM1	A typ tropomyozínu	102
	ACTC	Kardioizoforma aktínu	102
	AMHC	Ťažký reťazec kardiomyozínu α	102
	TTN	Titín	102
	MYL3	Ľahký reťazec myozínu	155
	AMPK	Proteínkináza aktivovaná AMP	155
		Mitochondriálny dýchací reťazec	155
Kardiomyopatia (hypertrofická, pri sy WPW)			
Ischemická kardiomyopatia	HFE	Hemochromatóza	113
Kardiomyopatia (dilatačná, nefamiliárna)	CYP11B2	Aldosterón	151
	NEBL	Nebulette	5
Kardiomyopatia (hypertrofická, nefamiliárna)	PAFAH	Fosfolipáza A2, skupina VII	173
Fajčenie, ICHS a DM	CYP1A1	Cytochróm P450, polypeptid podrodiny I	168
ICHS	GNB3	Guanínový nukleotid viažúci G proteín β -3	166
	NR3C1	Glukokortikoidový receptor	83
	PON2	Paraaxonáza 2	63
	PON1	Paraaxonáza 1	63
	NOS3	Syntáza oxidu dusného 3	101
	LPL	Lipoproteínová lipáza	101
	APOB	Apolipoproteín B	140
	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	4
	PAI1	Inhibítor aktivátora plazminogénu 1	14
	LRP	Lipoproteínovému receptoru príbuzný proteín	14

Tab. 2. Pokračování.

Fenotyp	Symbol génu	Názov kódovanej molekuly	Referencia
ICHS	PPAR A	Peroxisome proliferator activated receptor α	79
	PAFAH	Fosfolipáza A2, skupina VII	110
	IL-6	Interleukín 6	162
	CRP	C-reaktívny proteín	162
	HP	Haptoglobín	24
	HFE	Hemochromatóza	178
	AGT	Angiotenzinogén	119
	ADRB3	β -3-adrenergný receptor	51
	ADD1	Adducin 1 (a)	99
Dyslipidémia	ARH	LDL receptor	3,123
	CETP	Cholesterol-ester transferový proteín	3,123
	SOD2	Mangánová superoxid-dismutáza	3,123
	APOC3	Apolipoproteín C-III	3,123
	APOAIV	Apolipoproteín A-IV	3,123
	APOA1	Apolipoproteín A-I	3,123
	LCAT	Lecitín-cholesterol acyltransferáza	3,123
Emfyzém pľúc	TNFA	Tumor necrosis faktor α	27
Zlyhanie srdca (konečné štádium)	TGFB1	Transformujúci rastový faktor β -1	54
	ANP	Atriálny nátriuretický peptid	66
	BNP	Mozgový nátriuretický peptid	66
	CNP	C-typ nátriuretického peptidu	66
Konečné štádium choroby obličiek	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	86
Hypertenzia	NOS3	Syntáza oxidu dusnatého 3	121
	CYP11B2	Cytochróm P450, podrodina XIB (11- β steroid hydroxyláza) polypeptid 2	177
	GNAS	Lokus komplexu GNAS	1
	AGT	Angiotenzinogén	74
	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	74
	ADRA2	α -2 adrenergný receptor	146
	ADRB2	β -2 adrenergný receptor	146
	ADRB3	β -3 adrenergný receptor	146
	ADD1	Adducin 1 (a)	146
	AGTR1	Receptor pre angiotenzín II, typ 1	146
	GNB3	β -3 podjednotka G-proteínu	146
	REN	Renín	146
	INSR	Insulínový receptor	146
	TGFB1	Transformujúci rastový faktor β -1	146
	GCCR	Glukagónový receptor	146
	LPL	Lipoproteínová lipáza	146
	GNAI1	γ -podjednotka G-proteínu	70
	GCK	Glukokináza	65
	SCNN1B	β -podjednotka epiteliálneho Na ⁺ kanála	8
	TH	Tyrozín hydroxyláza	129
	END1	Endotelín 1	130
	END2	Endotelín 2	141
	ANP	Atriálny nátriuretický peptid	66
	BNP	Mozgový nátriuretický peptid	66
	CNP	C-typ nátriuretického peptidu	66
	AGTR1	Receptor pre angiotenzín, typ 1	137
	TAFI	Trombínom aktivovaný inhibitor fibrinolýzy	75
	ESR2	Estrogénový receptor β	104
	NOS2A	Syntáza oxidu dusnatého 2A	124
Insulínová rezistencia	GNB3	Guanínový nukleotid viažuci proteín (G-proteín) β , polypeptid 3	169
	LPL	Lipoproteínová lipáza	39

Tab. 2. Pokračování.

Fenotyp	Symbol génu	Názov kódovanej molekuly	eferencia
Insulinová rezistencia	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	125
	GP1BA	Plazmatický glykoproteín 1	76
	NOS3	Syntáza oxidu dusnatého 3	106
	RETN	Rezistín	147
ICHs (včasný nástup)	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	16
Ľavokomorová rigidita	TAZ	Tafazzín	155
	DTNA	Dystrobrevín A	155
Infarkt myokardu	MMP3	Matrixová metaloproteináza 3	150
	LPL	Lipoproteínová lipáza	53
	CCR5	Chemokínový (C-C motív) receptor 5	38
	APOB	Apolipoproteín B	157
	APOE	Apolipoproteín E	11
	AGTR1	Receptor pre angiotenzín II, type 1	11
	AGT	Angiotenzinogén	11
	ACE	Angiotensín I konvertujúci enzým 1	11
	CRP	C-reaktívny proteín	93
	FGB	β reťazec fibrinogénu	178
	THBD	Trombomodulín	67
	PECAM1	Doštičkovno-endoteliálna adhézna molekula 1	126
	ANP	Atriálny nátriuretický peptid	65
	BNP	Mozgový nátriuretický peptid	65
	CNP	C-typ nátriuretického peptidu	65
	HSP70A1	Proteín teplotného šoku 70-1	17
	SELP	Selektín P	156
	CD14	Klaster diferenciácie 14	159
Ischémia myokardu	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	103
	AGT	Angiotensinogén	7
Obezita	ADRA2	α -2 adrenergný receptor	32
	ADRB2	β -2 adrenergný receptor	98
	LEPR	Leptínový receptor	170
POAO	ADD1	Adducín 1 (a)	149
Septálna hypertrofia	MYH7	Ťažký reťazec kardiomyozínu β	27
Cievna mozgová príhoda	LPL	Lipoproteínová lipáza	36
	APOE	Apolipoproteín E	36
	CD14	Klaster diferenciácie 14	88
	NOS3	Syntáza oxidu dusnatého 3	80
	PDE4D	Fosfodiesteráza 4D	123
	MMP1	Matrixová metaloproteináza 1	24
	MMP3	Matrixová metaloproteináza 3	24
	FGB	β polypeptid fibrinogénu B	50
	MTHFR	Metýlenetetrahydrofolate reductase	92
	VWF	Von Willebrandov faktor	113
	AGT	Angiotensinogén	149
Vaskulopatie	P1A1	Glykoproteín IIIa	50
	MTHFR	Metýlenetetrahydrofolát reduktáza	50
	ITGA2	Glykoproteín Ia pre integrín α 2	50
	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	50
Vasospastická AP	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	78
Hrúbka stený radiálnej a/alebo krčnej artérie	AGTR1	Receptor pre angiotenzín II, typ 1	35
	ACE	Angiotenzín I konvertujúci enzým 1	35
	AGT	Angiotenzinogén	62
	PON1	Paraoxonáza 1	28

Podľa: Gibbons et al. Circulation 2004; 109: IV47–IV58 [34].

Tab. 3. Medicínsky význam genetických markerov.

Markerom identifikovaný fenotyp ochorenia	Aplikácia
Etiológia	Patofyziológia
Výskyt	Hodnotenie rizika
Podtypy ochorenia	Diagnostika
Prirodzený priebeh ochorenia	Prognóza
Farmakogenetika	Optimálna terapia

Pre multifaktoriálne, polygénové ochorenia s vysokou prevalenciou je však identifikácia genetických markerov oveľa obtiažnejšia. Interaktívna „sieť“, pozostávajúca z množstva génov, je veľmi rozsiahla a podmieňuje rozvoj chorobného stavu komplexne, zahŕňajúc navyše interakcie genetických, environmentálnych a fyziologických vplyvov. Obzvlášť to platí pre kardiovaskulárne ochorenia ako je napr. srdcové zlyhanie, kedy sa ako významný ukázal komplexný prístup sledovania genómu ako celku [143] v záujme urýchliť hľadanie genetických faktorov polygénnych ochorení sa aplikujú rôzne techniky, vrátane genómových skenov, mikročipových profilov exprese génov (tzv. „microarray gene profiling“) a RT-PCR (polymerázová reťazová reakcia s použitím reverznej transkriptázy) [60]. Popri štúdiu na ľudských populáciách má aj v humánnej genetike naďalej nezastupiteľnú pozíciu výskum s použitím zvieracích modelov [22].

Viaceré známe markery s významným diagnostickým a prognostickým potenciálom pre kardiovaskulárne ochorenia sú zhrnuté v tab. 2. Markery, ktorých prítomnosť je spojená s vysokou pravdepodobnosťou ochorenia (tzv. vysokoprediktívne faktory), by mohli byť užitočné v diagnostickom procese, ako aj pri odhade prognózy ochorenia či účinnosti terapie. Markery s malou prediktívnou epidemiologickou silou môžu zas poskytovať nové poznatky o patofyziológii ochorenia alebo o nových možnostiach liečby [52,80]. Niektoré variácie majú funkčný dopad zmenou exprese alebo štruktúry produktu jedného

až viacerých génov, podieľajúcich sa na rozvoji ochorenia. Naopak markery bez vplyvu na funkciu sú pomerne často lokalizované v blízkosti variantov s funkčným dopadom tak, že v populácii s často dochádza k ich spoločnému prenosu medzi generáciami (tzv. väzbová nerovnováha – linkage disequilibrium). Uvedená skupina markerov má nielen prediktívnu hodnotu, ale umožňuje tiež odhaľovanie variantov s priamym patologickým efektom na príslušný gén, s ktorým sa spoločne prenáša. Vysoká pozornosť sa venuje už vyššie spomenutým jednoduchým polymorfizmom (SNP), najmä vďaka nenáročným postupom ich stanovenia a vysokej frekvencie ich výskytu v ľudskom genóme [18]. V súčasnosti prichádzajú stále nové informácie o ďalších genetických markeroch jednotlivých štádií aterosklerózy, pričom nové poznatky by mali pomôcť pochopiť dedičnosť a patofyziológiu s dopadom na klinickú prax a zlepšením prognózy, prevencie a liečby kardiovaskulárných ochorení na podklade aterosklerózy (viď tab. 3).

Za „zlatý štandard“ genetického výskumu u človeka boli tradične považované štúdie na dvojčikách (gemelilógický výskum) [136]. Fenotypové rozdiely u identických dvojčiat odrážajú vplyv odlišných faktorov prostredia, zatiaľ čo dizygotné dvojčatá môžu byť použité na výskum malých genetických rozdielov, keďže sú často, najmä v detstve, vystavované podobným environmentálnym vplyvom [18]. Štúdie na dvojčikách priniesli množstvo nových poznatkov aj o genetickej báze kardiovaskulárných ochorení. Touto

metódou bola prvýkrát demonštrovaná dedivosť krvného tlaku. Ďalším príkladom je úspešná aplikácia gemelilógie v štúdiách, testujúcich špecifické polymorfizmy angiotenzín II konverzieho enzýmu (ACE) vo vzťahu k hypertrofii myokardu resp. k infarktu myokardu. Iným príkladom výskum na dvojčikách v projektoch, objasňujúcich význam génu, kódujúceho peroxizómovým proliferátorom aktivovaný receptor – PPAR ako aj ďalších génov v patogeneze obezity [88].

Jedným z najdôležitejších aspektov, určujúcich úspešnosť a reproducibilitu asociačných aj väzbových štúdií, je zadefinovanie sledovaného ochorenia resp. znaku (fenotypu). Obzvlášť to platí pre polygénne choroby, bežne sa vyskytujúce v populácii. Ako príklad možno spomenúť hypertenziu, ktorá je definovaná ako výška krvného tlaku nad 140/90 mm Hg. Z pohľadu genetiky však ide o hrubú charakteristiku patologického znaku, ktorá môže v analýzach pôsobiť ako mätúci faktor, keďže sa predpokladá značná heterogenita príčin vysokého krvného tlaku. Príčiny sú dané súhrou množstva genetických aj environmentálnych faktorov v čase a priestore. Doterajšie genómové analýzy, hľadajúce „gén hypertenzie“ nepriniesli vzhľadom na nesúrodosť dát veľa svetla do tejto problematiky [115]. Tieto fakty iba dokumentujú kritický význam dôslednej definície skúmaného fenotypu, čo možno dosiahnuť jeho detailným patofyziologickým výkladom. Tak napríklad inzulinová rezistencia resp. senzitivita je často definovaná prostredníctvom glykémie nalačno, inzulinémie nalačno alebo pomocou indexov, vypočítaných z týchto parametrov, ktoré sú pomerne dostupné aj pre populáčný výskum [64]. Ani tieto ľahko získateľné parametre však nie sú tak spoľahlivé, ako priame meranie inzulinovej senzitivity (predovšetkým intravenóznym test glukózovej tolerancie a hyperinzulinemická euglykemická zámka), používané v rámci patofyziologických štúdií. Detailná definícia

znaku vedie k odhaleniu fyziologických súvislostí, ako je to v prípade demonštrácie zdieľanej genetickej kontroly pre výšku krvného tlaku aj inzulínovej senzitivity [172]. Aplikácia euglykemickkej svorky ako markera inzulínovej senzitivity spolu s vyššie opísaným haplotypovým prístupom umožnila identifikáciu génu lipoproteínovej lipázy ako markera inzulínovej senzitivity [39]. Ide o využitie tzv. „intermediárnych fenotypov“, čo sú skoré, subklinické štádiá patologických znakov, ktoré sa manifestujú v prirodzenom priebehu ochorenia [72]. Medzi detailne zadefinované fenotypy patrí odpoveď plazmatických hladín aldosterónu na infúziu angiotenzínu II pri hypertenzii (odlíšenie tzv. modulujúceho a non-modulujúceho fenotypu) a veľkosť LDL častíc pri dyslipidémii [3,123]. Znak tzv. „non-modulácie“ sa vyznačuje neschopnosťou angiotenzínu II regulovať sekréciu aldosterónu a prietok krvi obličkami u časti pacientov s esenciálnou hypertenziou. Novšie práce demonštrovali asociáciu tohto fenotypu s genotypom M235T v lokuse pre angiotenzinogén [55]. Ďalším príkladom intermediálneho fenotypu je vysoký výskyt zvýšenej koncentrácie voľného kortizolu v moči pri hypertenzii s nadmernou senzitivitou na prívod soli [84]. Pre aterosklerózu je referenčným intermediárnym fenotypom endoteliálna dysfunkcia. Analýza genetického pozadia v intermediárnych štádiách ochorenia je pomerne výhodná, keďže tieto štádiá sú obvykle detegovateľné u mladých, zdravých jedincov, bez anamnézy predchádzajúcej manifestácie ochorenia. Navyše samotný chorobný proces často spôsobuje sekundárne zmeny v sledovanom fenotype, čo môže výrazne ovplyvniť jeho vzťah ku genetickým markerom [143].

Monogénové kardiovaskulárne ochorenia

Výrazný progres sa zaznamenal v oblasti výskumu monogénových kardiovaskulárnych ochorení, manifestných

vo forme hyperlipidémie, hypertenzie, hypertrofie myokardu alebo náhlej smrti [20,100,132,158]. Objasnenie patogenézy týchto zriedkavých, ale dramatických príkladov dedičnosti poskytla nové poznatky implikovateľné do všeobecnej patogenézy kardiovaskulárnych chorôb resp. asociovaných stavov. Pilotná práca Browna a Goldsteina [37], zaoberajúca sa touto problematikou, prvýkrát charakterizovala molekulárnu bázu familiárnej hypercholesterolémie. Išlo o prevratný projekt, ktorý odhalil vzťah medzi perturbáciou metabolismu cholesterolu, aterosklerózou a postihnutím koronárnych artérií na podklade aterosklerozy. Identifikácia kľúčových mutácií v gène pre LDL receptor, zodpovedných za vznik tejto metabolickej odchýlky, viedla k objavu 3-hydroxy, 3-metyl glutarylkoenzýmu A (hydroxymethyl-glutaryl Coenzým A – HMG CoA-reduktázy), kľúčového regulátora metabolismu cholesterolu. Tento poznatok následne poskytol priestor pre vývoj inhibítorov HMG CoA-reduktázy (statínov), ktoré kompletne zmenili pohľad na terapiu kardiovaskulárnych ochorení na podklade aterosklerozy [67]. Deskripcia ďalších typov dedičných dyslipidémií (Tangierova choroba, sitosterolémia) umožnila pochopiť väčšinu mechanizmov cholesterolového transportu a metabolismu [87,114]. Popis kľúčových metabolických dráh patogenézy monogénnych foriem dyslipidémií môže definovať genetické markery, ktoré by mohli byť rovnako relevantné pre bežnejšie, polygénne podmienené poruchy metabolismu lipidov.

Objasnenie molekulárnej podstaty familiárnej hypertrofie kardiomyopatie umožnilo detailný popis fundamentálnej patogenézy hypertrofie myokardu [128]. Aj keď je klinický korelát tohto fenotypu zameraný na všeobecné známky komorovej hypertrofie, je už dnes dokázaná expresia tuctov mutácií viac než desiatich rôznych sarkomérových proteínov

v sprievode tohto kardiovaskulárneho end-pointu. Naproti tomu, určitá mutácia môže podnietiť rozvoj niekoľkých odlišných klinických fenotypov u rôznych príbuzných [128]. Uvedené pozorovania naznačujú prídavný efekt modulujúcich génov a environmentálnych vplyvov, určujúcich charakter exprimovaného fenotypu monogénových porúch a získaných komorbidít [18,143]. Objavy ako tento sú zdrojom dôležitých informácií, ktoré zdôrazňujú význam genetickej heterogenity zdanlivo jednotných klinických fenotypov, ako je ventrikulárna hypertrofia myokardu. Navyše ide o zistenia, podčiarkujúce signifikanciu komplexných interakcií medzi génmi navzájom resp. génov s prostredím, ako aditívnych determinantov klinickej manifestácie genetického faktora.

Ďalšie dôležité poznatky o patomechanizmoch kardiovaskulárnych rizikových faktorov priniesli štúdie monogénnych foriem hypertenzie [81]. Systematická analýza rodín s elevovaným resp. zníženým krvným tlakom definovala aspoň desať monogénne podmienených porúch. Zaujímavým bolo zistenie, že molekulárne charakteristiky týchto foriem hypertenzie sú v súlade s dlho známym Guytonovým modelom regulácie krvného tlaku a homeostázy sodíka, zameraných na obličky ako ústredný patofyziologický element. Vo všeobecnosti väčšina monogénnych porúch, narúšajúcich homeostázu krvného tlaku zahŕňa gény pre zložky renín-angiotenzín-aldosterónového systému a tiež pre dráhy iónového transportu. Detailné objasnenie príslušných patogenetických dráh môže následne viesť k odhaleniu ďalších génov a ich variácií, ktoré sa podieľajú na expresii polygénnych chorôb kardiovaskulárneho systému.

Genetické markery polygénnych foriem kardiovaskulárnych ochorení

Progres v definovaní genetického základu komplexných patologických znakov ako je hypertenzia, dyslipidémia

a ateroskleróza je značne brzdený jednak komplexným charakterom ich patobiológie, jednak relatívne slabou výťažnosťou metód, využívaných v súčasnosti v klasickej genetike na identifikáciu monogénnych fenotypov. Ako už bolo spomenuté, vo svetovej literatúre je dostupných viac než tisíc publikovaných asociácií 1–2 SNP v 1–2 kandidátnych génoch s klinickými korelátmi kardiovaskulárných ochorení (ICHs), ako aj s ich rizikovými faktormi ako je hypertenzia, parametre lipidového profilu, komorová hypertrofia. Dizajn väčšiny týchto štúdií však má viacero závažných nedostatkov, postrádajú adekvátnu štatistickú silu a pomerne často zlyháva ich potvrdenie v následných konformačných štúdiách [148]. Pri snahách detekovať významnú koreláciu medzi konkrétnym SNP a špecifickým chorobným stavom existuje niekoľko obmedzení. Asociácia musí vykazovať dostatočnú silu a/alebo sa sledovaná alela musí byť v populácii s dostatočnou frekvenciou. Zriedkavé SNP na detekciu vyžadujú veľmi silnú prediktívnu hodnotu vo vzťahu k riziku rozvoja ochorenia, aj keď tieto alely sú v typickom prípade už identifikované prostredníctvom väzbovej analýzy [58]. SNP výrazne rozšírené v populácii sú preto užitočnejšie pri výskume kandidátnych génov, čo je však spojené s opomenutím vysoko rizikových variácií s nízkou frekvenciou výskytu. Navyše mnoho štúdií, ktoré uprednostnili 1–2 SNP pred analýzou haplotypov, definovaných na základe väzbovej nerovnováhy, nedokázalo adekvátne zhodnotiť význam sledovaného lokusu kandidátneho génu v roli rizikového faktora toho-ktorého ochorenia. Pri takých komplexných znakoch ako je aterotrombóza sa predpokladá len mierny resp. aditívny podiel každého zo setu zainteresovaných genetických markerov na náchylnosti k ochoreniu, čo len potvrdzuje inkonzistencia výsledkov ukončených projektov [143].

S postupným vývojom budú in-

viac profitovať z poznatkov, získaných v prvej generácii asociačných štúdií komplexných znakov. Do blízkej budúcnosti sú naplánované štúdie, zahŕňajúce klinické investigátorské siete a operujúce s jednotnými, štandardnými protokolmi fenotypov. Tento prístup má umožniť štandardizáciu dizajnovania rozsiahlych štúdií typu „case-control“, s dobre definovanou populáciou a použitím nových, vysoko efektívnych technológií genotypizácie. Vývoj databáz haplotypov pre kandidátne lokusy po celom génóme a značkových pomocou „tag-SNPs“, popri pokrokoch dosiahnutých v bioštatistike a bioinformatike uľahčí kvantifikáciu relatívneho podielu jednotlivých markerov na susceptibilitu ku komplexným, multigénovým kardiovaskulárnym chorobám [89].

Novšie štúdie už započali implikáciu týchto postupov do kardiovaskulárnej medicíny. Ako príklad môže slúžiť projekt japonských investigátorov, ktorý u 2 819 pacientov s anamnézou IM a u 2 242 nepokrvných kontrol vybrali na genotypizáciu 112 polymorfizmov v 71 kandidátnych génoch. So zvýšeným rizikom IM boli asociované varianty v troch génoch: konexín-3, inhibitor plazminogénového aktivátora-1 a stromelyzín-3. Naznačuje to význam týchto variantov pre stratifikáciu rizika pacienta pred začatím preventívnych liečebných opatrení [174]. Iná štúdia analýzou variácií 62 kandidátnych génov u pacientov s včasným rozvojom IM v osobnej anamnéze identifikovala ako silné rizikové markery polymorfizmy v génoch pre troch členov rodiny trombospondínu [152]. S postupnou kumuláciou reprodukibilných dát budú môcť tieto markery nájsť uplatnenie aj pri stanovovaní kardiovaskulárneho rizika v bežnej klinickej praxi (viď tab. 1).

Farmakogenetika: terapia „šitá na mieru“?

Doteraz diskutované genetické markery boli zamerané na predikciu náchylnosti ku vzniku ochorenia. Farma-

kogenetika je veda, zaoberajúca sa výskumom genetických variant, ktoré ovplyvňujú odpoveď jedinca na farmakoterapiu. Funkčné varianty v génoch, kódujúcich enzýmy zodpovedné za metabolizmus liečiv, liekové transportéry a cieľové molekuly farmák, sú schopné modulovať farmakodynamiku a možno im pripísať značnú časť klinicky evidentnej interindividuálnej variability účinnosti/tolerancie preparátov u exponovaných pacientov. Genetické varianty môžu tiež vplyvom na expresné profily a/alebo funkčnosť proteínov, modulujúcich priebeh samotného chorobného procesu, modifikovať pomer terapeutického a potenciálne nežiaduceho efektu sledovanej intervencie v získaných podskupinách pacientov. Tak napríklad varianty adrenergických receptorov môžu mať vplyv na rozsah neurohumorálnej aktivácie sympatiky počas srdcového zlyhania [134]. V minulosti bola pozornosť farmakogenetiky venovaná predovšetkým liekovej toxicite. Súčasným hlavným cieľom je identifikácia genetických podkladov diverzity terapeutickú výťažnosť liečiv s následnou racionálnou selekciou pacientov, vhodných pre tú-ktorú intervenciu. Na potencionálny význam tejto vedy poukazuje aj neustále vzrastajúca prevalencia kardiovaskulárných ochorení na podklade aterosklerózy v západných krajinách. Poznatky farmakogenetiky majú už teraz potenciál poskytnúť vyšší benefit kardiovaskulárnej terapie u miliónov ohrozených probandov prostredníctvom maximalizácie účinnosti preparátov a/alebo minimalizácie liekmi podmienej morbidita.

Za posledné roky bolo zrealizovaných niekoľko štúdií, zameraných na farmakogenetiku kardiovaskulárných ochorení na podklade aterosklerózy a modifikácie rizikových faktorov. Príkladom je interindividuálna variabilita účinnosti terapie statínmi na hladiny lipidov. Taq1 polymorfizmus v intróne 1 génu pre cholesterol-ester transferový proteín, je spojený s alteráciou koronarografiou detegovanej

odpovede na pravastatín [77]. The Lipoprotein and Coronary Atherosclerosis Study demonštrovala u nositeľov delečnej alely D polymorfizmu inzercia/delécia (I/D) v géne pre angiotenzín I konvertujúci enzým (ACE) výraznejšiu odpoveď na terapiu fluvastatínom v podobe angiograficky dokumentovanej regresie koronárnej aterosklerózy [92]. V ďalšej štúdii bola homozygotnosť delečnej alely tohto polymorfizmu asociovaná s lepšou antihypertenzívnou odozvou na terapiu inhibítormi ACE [139]. Rovnako sa ukázal vplyv daného polymorfizmu na antihypertenzívny efekt hydrochlorotiazidu [133]. Iným príkladom je gén estrogénového receptora α . Jeden z intrónových polymorfizmov tohto génu bol spojený s vplyvom na hladiny HDL a E-selektínu v krvi, čo sú dva faktory s významným uplatnením v procese aterogenézy [48,49]. Niekoľko štúdií tiež potvrdilo účinok polymorfizmov apolipoproteínu E na citlivosť hladín lipidov voči liečivám [47,112]. V nasledujúcom období sa očakáva vzostup významu prediktívnych genetických markerov rizika ochorenia resp. účinnosti terapie v procese prevencie a liečby kardiovaskulárných ochorení na podklade aterosklerózy, ako integrálna súčasť kardiovaskulárnej medicíny.

Záver

Výskum genetických markerov ochorení smeruje ku genomike (veda, zaoberajúca sa interakciami medzi génmi a prostredím, resp. génmi navzájom) a proteomike (veda o proteínových produktoch génov). Použitím nových metodík (napr. expressed sequenced tag – EST, metóda značkových sekvencií exprese) sa získali informácie o množstve génov prekladaných do bielkovín v kardiovaskulárnom systéme za rôznych patologických podmienok [61]. V kardiovaskulárnom systéme bola zistená expresia asi 27 000 rôznych RNA, ktorých gény sú podľa umiestnenia na chromozóme zoskupené do tzv. klastrov [10,25].

V súčasnosti je tiež dostupný celý rad metód na kvantifikáciu a analýzu stupňa exprese RNA na úrovni celého genómu (DNA mikročipy, sériová analýza génovej exprese – SAGE). Expresia kódujúcich sekvencií celého genómu človeka môže byť vyšetrená na čipe rozsahu kreditnej pomocou rýchlej, efektívnej a finančne čoraz viac dostupnej metodiky. Ide o globálnu analýzu, ktorá predstavuje skok oproti tradičnému prístupu separátneho výskumu génov a umožní objasniť, ako proteínové produkty vytvárajú interaktívne siete, regulujúce najkomplexnejšie procesy v živom organizme [9,73,176].

Vyššie spomenuté technológie sľubujú detailnú identifikáciu molekulových dráh, zakomponovaných v patogeneze kardiovaskulárných chorôb, upresnenie cieľov existujúcich liečiv a objavy cieľov pre nové liekové preparáty. Predpokladá sa napríklad, že angiotenzín II aktivuje niekoľko signálnych dráh, ktoré urýchľujú aterosklerózu a finálne štádiá ICHS. Uplatnením genomiky je možné tieto dráhy detailne popísať s identifikáciou nových cieľových génov, ktoré sú zodpovedné za kardiotoxickú angiotenzínu [19]. Nedávno ukončené štúdie použili genomický prístup pri odlíšení rôznych foriem srdcového zlyhania, ako aj na detekciu molekulárných zmien, vznikajúcich pri restenóze koronárnej artérie [60,95]. V inej štúdii boli použité mikročipy, ktoré porovnávali profil exprese prevažne „kardiovaskulárných génov“ v rôznych štádiách embryonálneho vývinu alebo v podmienkach hypoxie [153,154].

V prípade paralelného monitoringu množstva génov je možné detegovať expresné profily ako biomarkery určitého ochorenia resp. jeho štádia (niektoré klastre génov sú exprimované nadmerne a iné tlmene). Použité mikročipy môžu sledovať genóm v celku alebo sú prispôbené na detekciu génov istej podskupiny (napr. génov pre apoptózu). Najnovšie boli tieto

postupy použité pri detekcii chorobných profilov exprese v cirkulujúcich zápalových krvných elementoch, ktoré sú v kontakte so všetkými tkanivami a prenášajú v genóme informácie o ich patofyziologickom stave. Je známe, že zápalové bunky majú kľúčový význam v procese ruptúry AS plaku a reparácie tkanív v rámci akútnych ischemických syndrómov. Logicky tak reprezentujú telesný barometer homeostázy, ako aj odpovede organizmu na environmentálne noxy. Stratégia genomiky imunokompetentných buniek by teda mala priblížiť príslušné pochody aterotrombózy s odhalením ešte hodnotnejších markerov prognózy kardiovaskulárných ochorení na podklade aterosklerózy [6,26,94,90,108,171].

Napriek veľkému záujmu o genóm a jeho funkčnú charakteristiku, vlastné uplatnenie genetickej informácie prebieha až na úrovni proteínu. Už dnes je dokázané, že z asi 30 000 génov sa v našich telách exprimuje viac do než 120 000 rôznych bielkovín a funkčnosť každej z nich môže byť dramaticky alterovaná posttranslačnými úpravami ako je fosforylácia, oxidácia, glykozylácia, ubikvitinylácia alebo nitrozylácia. Funkčnosť proteínov je ďalej dolaďovaná ich vzájomnými interakciami a lokalizáciou v bunke. Proteomika sa zaoberá vyššie spomínanými pochodmi a predstavuje ďalší zlom v molekulárnom výskume. Napriek relatívne mladej histórii tejto vedy už bola započatá analýza proteómu aj z pohľadu medicíny. Integrácia výkonných DNA mikročipov a proteomiky s doterajšími medicínskymi metódami (berúc do úvahy aj finančné hľadisko) a s vysoko senzitívnymi zobrazovacími metódami predpovedá ich veľký potenciál pre manažment pacienta v kardiovaskulárnej medicíne 21. storočia.

Literatúra

1. Abe M, Nakura J, Yamamoto M et al. Association of GNAS1 gene variant with hypertension depending on smoking status. *Hypertension* 2002; 40: 261–265.

2. Alberts B et al. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publ. 1994
3. Allayee H, Aouizerat BE, Cantor RM et al. Families with familial combined hyperlipidemia and families enriched for coronary artery disease share genetic determinants for the atherogenic lipoprotein phenotype. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 577–585.
4. Alvarez R, Gonzalez P, Batalla A et al. Association between the NOS3 (–786 T/C) and the ACE (I/D) DNA genotypes and early coronary artery disease. *Nitric Oxide* 2001; 5: 343–348.
5. Arimura T, Nakamura T, Hiroi S et al. Characterization of the human nebulin gene: a polymorphism in an actin-binding motif is associated with nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy. *Hum Genet* 2000; 107: 440–451.
6. Assmus B, Urbich C, Aicher A et al. HMG-CoA reductase inhibitors reduce senescence and increase proliferation of endothelial progenitor cells via regulation of cell cycle regulatory genes. *Circ Res* 2003; 92: 1049–1055.
7. Babunova NB, Minushkina LO, Zaitshchikov DA et al. Association of the T174M and M235T polymorphisms of the angiotensinogen gene with myocardial ischemia in the Russian population of the city of Moscow. *Mol Biol (Mosk)* 2003; 37: 57–60.
8. Baker EH, Dong YB, Sagnella GA et al. Association of hypertension with T594M mutation in beta subunit of epithelial sodium channels in black people resident in London. *Lancet* 1998; 351: 1388–1392.
9. Barrans JD, Allen PD, Stamatou D et al. Global gene expression profiling of end-stage dilated cardiomyopathy using a human cardiovascular-based cDNA microarray. *Am J Pathol* 2002; 160: 2035–2043.
10. Barrans JD, Ip J, Lam CW et al. Chromosomal distribution of the human cardiovascular transcriptome. *Genomics* 2003; 81: 519–524.
11. Barrans JD, Stamatou D, Liew C. Construction of a human cardiovascular cDNA microarray: portrait of the failing heart. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 964–969.
12. Batalla A, Alvarez R, Reguero JR et al. Synergistic effect between apolipoprotein E and angiotensinogen gene polymorphisms in the risk for early myocardial infarction. *Clin Chem* 2000; 46: 1910–1915.
13. Bátorová A, Horváthová D, de Moerloose P et al. Fenotypová a genotypová analýza vrodenej hypofibrinogenémie a dysfibrinogenémie. *Vnitř Lék* 2005; 51: 802–808.
14. Benes P, Muzik J, Benedik J et al. The C766T low-density lipoprotein receptor related protein polymorphism and coronary artery disease, plasma lipoproteins, and longevity in the Czech population. *J Mol Med* 2001; 79: 116–120.
15. Bergman RN, Zaccaro DJ, Watanabe RM et al. Minimal model-based insulin sensitivity has greater heritability and a different genetic basis than homeostasis model assessment or fasting insulin. *Diabetes* 2003; 52: 2168–2174.
16. Biggart S, Chin D, Fauchon M et al. Association of genetic polymorphisms in the ACE, ApoE, and TGF beta genes with early onset ischemic heart disease. *Clin Cardiol* 1998; 21: 831–836.
17. Bolla MK, Miller GJ, Yellon DM et al. Analysis of the association of a heat shock protein70-1 gene promoter polymorphism with myocardial infarction and coronary risk traits. *Dis Markers* 1998; 13: 227–235.
18. Brdlička R. *Lidský genóm na rozhraní tisíciletí*. Grada publishing 2000: 2–91.
19. Campos AH, Zhao Y, Pollman MJ et al. DNA microarray profiling to identify angiotensin-responsive genes in vascular smooth muscle cells: potential mediators of vascular disease. *Circ Res* 2003; 92: 111–118.
20. Crook ED. The genetics of human hypertension. *Semin Nephrol* 2002; 22: 27–34.
21. Dai K, Gao W, Ruan C. The Sma I polymorphism in the von Willebrand factor gene associated with acute ischemic stroke. *Thromb Res* 2001; 104: 389–395.
22. Dalloz F, Osinska H, Robbins J. Manipulating the contractile apparatus: genetically defined animal models of cardiovascular disease. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 9–25.
23. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 1–21.
24. De Bacquer D, De Backer G, Langlois M et al. Haptoglobin polymorphism as a risk factor for coronary heart disease mortality. *Atherosclerosis* 2001; 157: 161–166.
25. Dempsey AA, Dzau VJ, Liew CC. Cardiovascular genomics: estimating the total number of genes expressed in the human cardiovascular system. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 1879–1886.
26. DePrimo SE, Wong LM, Khatry DB et al. Expression profiling of blood samples from an SU5416 Phase III metastatic colorectal cancer clinical trial: a novel strategy for biomarker identification. *BMC Cancer* 2003; 3: 3.
27. Ferrarotti I, Zorzetto M, Beccaria M et al. Tumour necrosis factor family genes in a phenotype of COPD associated with emphysema. *Eur Respir J* 2003; 21: 444–449.
28. Fortunato G, Rubba P, Panico S et al. A paraoxonase gene polymorphism, PON1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women. *Atherosclerosis* 2003; 167: 141–148.
29. Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 2002; 296: 2225–2229.
30. Gardeman NA, Stricker J, Humme J et al. Angiotensinogen T174M and M235T gene polymorphisms are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999; 145: 309–314.
31. Garenc C, Perusse L, Chagnon YC et al. The alpha 2-adrenergic receptor gene and body fat content and distribution: the HERITAGE Family Study. *Mol Med* 2002; 8: 88–94.
32. Gavorník P. *Ateroskleróza a iné choroby tepien*. Univerzita Komenského Bratislava 1999.
33. Geraci MW, Gao B, Hoshikawa Y et al. Genomic approaches to research in pulmonary hypertension. *Respir Res* 2001; 2: 210–215.
34. Gibbons M et al. *Genetic Markers: Progress and Potential for Cardiovascular Diseases*. *Circulation* 2004; 109: IV47–IV58.
35. Girerd X, Hanon O, Mourad JJ et al. Lack of association between renin-angiotensin system, gene polymorphisms, and wall thickness of the radial and carotid arteries. *Hypertension* 1998; 32: 579–583.
36. Ghilardi G, Biondi ML, DeMonti M et al. Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-3 gene promoter polymorphisms are associated with carotid artery stenosis. *Stroke* 2002; 33: 2408–2412.
37. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor defect in familial hypercholesterolemia. Implications for pathogenesis and therapy. *Med Clin North Am* 1982; 66: 335–362.
38. Gonzalez P, Alvarez R, Batalla A et al. Genetic variation at the chemokine re-

- ceptors CCR5/CCR2 in myocardial infarction. *Genes Immun* 2001; 2: 191–195.
39. Goodarzi MO, Guo X, Taylor KD et al. Lipoprotein lipase is a gene for insulin resistance in Mexican-Americans. *Diabetes* 2004; 53: 214–220.
 40. Goodarzi MO, Guo X, Taylor KD et al. Determination and use of haplotypes: ethnic comparison and association of the lipoprotein lipase gene and coronary artery disease in Mexican-Americans. *Genet Med* 2003; 5: 322–327.
 41. Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Reynisdottir ST et al. The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. *Nat Genet* 2003; 35: 131–138.
 42. Gumulec J, Penka M, Richterová R et al. Glykoprotein IIb/IIIa destičkové membrány z hlediska jeho genetických změn. *Vnitř Lék* 2005; 51: 845–853.
 43. Gumulec J, Penka M, Richterová R et al. Glykoprotein Ia/IIa destičkové membrány z hlediska jeho genetických změn. *Vnitř Lék* 2005; 51: 840–844.
 44. Gumulec J, Penka M, Richterová R et al. Glykoproteiny destičkové membrány z hlediska jeho genetických změn. *Vnitř Lék* 2005; 51: 833–839.
 45. Haddy N, Sass C, Drosch S et al. IL-6, TNF-alpha and atherosclerosis risk indicators in a healthy family population: the STANISLAS cohort. *Atherosclerosis* 2003; 170: 277–283.
 46. Havndrup O, Bundgaard H, Andersen PS et al. A novel missense mutation, Leu390Val, in the cardiac beta-myosin heavy chain associated with pronounced septal hypertrophy in two families with hypertrophic cardiomyopathy. *Scand Cardiovasc J* 2000; 34: 558–563.
 47. Herd JA, Ballantyne CM, Stein EA et al. Apolipoprotein E genotypes and response of plasma lipids and progression-regression of coronary atherosclerosis to lipid-lowering drug therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1572–1578.
 48. Herrington DM, Howard TD, Brosnahan KB et al. Common estrogen receptor polymorphism augments effects of hormone replacement therapy on E-selectin but not C-reactive protein. *Circulation* 2002; 105: 1879–1882.
 49. Herrington DM, Howard TD, Hawkins GA et al. Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 967–974.
 50. Hessner MJ, Dinan DM, Kwiatkowski R et al. Age-dependent prevalence of vascular disease-associated polymorphisms among 2689 volunteer blood donors. *Clin Chem* 2001; 47: 1879–1884.
 51. Higashi K, Ishikawa T, Ito T et al. Association of a genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor gene with coronary heart disease among Japanese. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 232: 728–730.
 52. Hoffee PA. *Medical Molecular Genetics*. Fence Creek Publ 1998.
 53. Holmer SR, Hengstenberg C, Mayer B et al. Lipoprotein lipase gene polymorphism, cholesterol subfractions and myocardial infarction in large samples of the general population. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 806–812.
 54. Holweg CT, Baan CC, Niesters HG et al. TGF-beta1 gene polymorphisms in patients with end-stage heart failure. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 979–984.
 55. Hopkins PN et al. Blunted renal vascular response to angiotensin II is associated with the common variant of the angiotensinogen gene and obesity. *Journal of Hypertension* 1996; 14: 199–207.
 56. Hou L, Osei-Hyiaman D, Yu H et al. Association of a 27-bp repeat polymorphism in eNOS gene with ischemic stroke in Chinese patients. *Neurology* 2001; 56: 490–496.
 57. Hudeček J, Dobrotová M, Hybenová J et al. Faktor V Leiden a slovenská populace. *Vnitř Lék* 2003; 49: 845–850.
 58. Hulín I et al. *Patofyziológia*. 5. ed. Bratislava: Slovak Academic Press 2002.
 59. Hunter DJ. Gene-environment interactions in human diseases. *Nature reviews genetics* 2005; 6: 287–298.
 60. Hwang JJ, Allen PD, Tseng GC et al. Microarray gene expression profiles in dilated and hypertrophic cardiomyopathic end-stage heart failure. *Physiol Genomics* 2002; 10: 31–44.
 61. Hwang DM, Dempsey AA, Wang RX et al. A genome-based resource for molecular cardiovascular medicine: toward a compendium of cardiovascular genes. *Circulation* 1997; 96: 4146–4203.
 62. Chapman CM, Palmer LJ, McQuillan BM et al. Polymorphisms in the angiotensinogen gene are associated with carotid intimal-medial thickening in females from a community-based population. *Atherosclerosis* 2001; 159: 209–217.
 63. Chen Q, Reis SE, Kammerer CM et al. Association between the severity of angiographic coronary artery disease and paraoxonase gene polymorphisms in the National Heart, Lung, and Blood Institute-sponsored.
 64. Cheng LS, Davis RC, Raffel LJ et al. Coincident linkage of fasting plasma insulin and blood pressure to chromosome 7q in hypertensive Hispanic families. *Circulation* 2001; 104: 1255–1260.
 65. Chiang FT, Chiu KC, Tseng YZ et al. Nucleotide(–258) G-to-A transition variant of the liver glucokinase gene is associated with essential hypertension. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1049–1052.
 66. Cho Y, Somer BG, Amatya A. Natriuretic peptides and their therapeutic potential. *Heart Dis* 1999; 1: 305–328.
 67. Illingworth DR. Lipid-lowering drugs. An overview of indications and optimum therapeutic use. *Drugs* 1987; 33: 259–279.
 68. Ireland H, Kunz G, Kyriakoulis K et al. Thrombomodulin gene mutations associated with myocardial infarction. *Circulation* 1997; 96: 15–18.
 69. Jáchymová M, Horký K, Jindra A et al. Esenciální hypertenze a Arg16Gly polymorfismus genu pro Beta2-adrenergní receptor. *Vnitř Lék* 2005; 51: 945–949.
 70. Jia H, Hingorani AD, Sharma P et al. Association of the G(s)alpha gene with essential hypertension and response to beta-blockade. *Hypertension* 1999; 34: 8–14.
 71. Kanters JK, Larsen LA, Orholm M et al. Novel donor splice site mutation in the KVLQT1 gene is associated with long QT syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998; 9: 620–624.
 72. King RA, Rotter JL, Motulsky AG (eds.) *The Genetic Basis of Common Diseases*. 2nd ed. New York: Oxford University Press 2002.
 73. Kohlmann A, Schoch C, Schnittger S et al. Molecular characterization of acute leukemias by use of microarray technology. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37: 396–405.
 74. Kosachunhanun N, Hunt SC, Hopkins PN et al. Genetic determinants of nonmodulating hypertension. *Hypertension* 2003; 42: 901–908.
 75. Koschinsky ML, Boffa MB, Nesheim ME et al. Association of a single nucleotide polymorphism in CPB2 encoding the thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAF1) with blood pressure. *Clin Genet* 2001; 60: 345–349.
 76. Kubaszek A, Pihlajamäki J, Karhapää P et al. The K121Q polymorphism of the PC-1 gene is associated with insulin resistance but not with dyslipidemia. *Diabetes Care* 2003; 26: 464–467.

77. Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH et al. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. *N Engl J Med* 1998; 338: 86–93.
78. Kuroki S, Ikeda U, Maeda Y et al. Lack of association between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and vasospastic angina. *Clin Cardiol* 1997; 20: 873–876.
79. Lacquemant C, Lepretre F, Pineda Torra I et al. Mutation screening of the PPARalpha gene in type 2 diabetes associated with coronary heart disease. *Diabetes Metab* 2000; 26: 393–401.
80. Lewin B. *Genes VII*. Oxford Univ Press 2000.
81. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell* 2001; 104: 545–556.
82. Liew CC. Heart failure: a genomics approach. In: Van Eyk JE, Dunn MJ (eds.) *Proteomic and Genomic Analysis of Cardiovascular Disease*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co 2003; 4–60.
83. Lin RC, Wang XL, Morris BJ. Association of coronary artery disease with glucocorticoid receptor N363S variant. *Hypertension* 2003; 41: 404–407.
84. Lithfield WR et al. Increased urinary free cortisol: a potential intermediate phenotype for essential hypertension. *Am J Hum Genet* 1998; 31: 569–574.
85. Lombardi R, Betocchi S. Aetiology and pathogenesis of hypertrophic cardiomyopathy. *Acta Paediatr Suppl* 2002; 91: 10–14.
86. Lovati E, Richard A, Frey BM et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2001; 60: 46–54.
87. Lu K, Lee MH, Hazard S et al. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 278–290.
88. Luft FC. Twins in cardiovascular genetic research. *Hypertension* 2001; 37 (2 Part 2): 350–356.
89. Lusis G et al. Genetic Basis of Atherosclerosis. *Circulation* 2004; 110: 1868–1873.
90. Ma J, Liew CC. Gene profiling identifies secreted protein transcripts from peripheral blood cells in coronary artery disease. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35: 993–998.
91. Mackness B, Hunt R, Durrington PN et al. Increased immunolocalization of paraoxonase, clusterin, and apolipoprotein A-I in the human artery wall with the progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1233–1238.
92. Marian AJ, Safavi F, Ferlic L et al. Interactions between angiotensin-I converting enzyme insertion/deletion polymorphism and response of plasma lipids and coronary atherosclerosis to treatment with fluvastatin: the Lipoprotein and Coronary Atherosclerosis Study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 89–95.
93. Margaglione M, Cappucci G, Colaizzo D et al. C-reactive protein in offspring is associated with the occurrence of myocardial infarction in first-degree relatives. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 198–203.
94. Mayani H, Alvarado-Moreno JA, Flores-Guzman P. Biology of human hematopoietic stem and progenitor cells present in circulation. *Arch Med Res* 2003; 34: 476–488.
95. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation* 2003; 108: 2460–2466.
96. Miale Perez J, Rathz DA, Petrashevskaya NN et al. Beta 1-adrenergic receptor polymorphisms confer differential function and predisposition to heart failure. *Nat Med* 2003; 9: 1300–1305.
97. Morange PE, Juhan-Vague I, Scarabin PY et al. Association between TAFI antigen and Ala147Thr polymorphism of the TAFI gene and the angina pectoris incidence. The PRIME Study (Prospective Epidemiological Study of MI). *Thromb Haemost* 2003; 89: 554–560.
98. Mori Y, Kim-Motoyama H, Ito Y et al. The Gln27Glu beta2-adrenergic receptor variant is associated with obesity due to subcutaneous fat accumulation in Japanese men. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258: 138–140.
99. Morrison AC, Bray MS, Folsom AR et al. ADD1 460W allele associated with cardiovascular disease in hypertensive individuals. *Hypertension* 2002; 39: 1053–1057.
100. Murray A, Donger C, Fenske C et al. Splicing mutations in KCNQ1: a mutation hot spot at codon 344 that produces in frame transcripts. *Circulation* 1999; 100: 1077–1084.
101. Nassar BA, Bevin LD, Johnstone DE et al. Relationship of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and early-onset coronary artery disease. *Am Heart J* 2001; 142: 586–589.
102. Niimura H, Patton KK, McKenna WJ et al. Sarcomere protein gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy of the elderly. *Circulation* 2002; 105: 446–451.
103. Nikitin AG, Gorashko NM, Minushkina LO et al. Association of the G7831A polymorphism of the ACE gene with myocardial ischemia in the Moscow population. *Mol Biol (Mosk)* 2003; 37: 54–56.
104. Nishiuma S, Kario K, Yakushijin K et al. Genetic variation in the promoter region of the beta-fibrinogen gene is associated with ischemic stroke in a Japanese population. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998; 9: 373–379.
105. Ogawa S, Emi M, Shiraki M et al. Association of estrogen receptor beta (ESR2) gene polymorphism with blood pressure. *J Hum Genet* 2000; 45: 327–330.
106. Ohtoshi K, Yamasaki Y, Gorogawa S et al. Association of (–)786T-C mutation of endothelial nitric oxide synthase gene with insulin resistance. *Diabetologia* 2002; 45: 1594–1601.
107. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 248–266.
108. Ortlepp JR, Hoffmann R, Ohme F et al. The vitamin D receptor genotype predisposes to the development of calcific aortic valve stenosis. *Heart* 2001; 85: 635–638.
109. Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A et al. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet* 2002; 32: 650–654.
110. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1148–1155.
111. Patel R, Lim DS, Reddy D et al. Variants of trophic factors and expression of cardiac hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 2369–2377.
112. Pedro-Botet J, Schaefer EJ, Bakker-Arkema RG et al. Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner. *Atherosclerosis* 2001; 158: 183–193.

113. Pereira AC, Cuoco MA, Mota GF et al. Hemochromatosis gene variants in patients with cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2001; 88: 388–391.
114. Pritchard PH, Frohlich J. Apoprotein A-I and lecithin: cholesterol acyltransferase in a patient with Tangier disease. *Adv Exp Med Biol* 1986; 201: 105–110.
115. Province MA, Kardia SL, Ranade K et al. A meta-analysis of genome-wide linkage scans for hypertension: the National Heart, Lung and Blood Institute Family Blood Pressure Program. *Am J Hypertens* 2003; 16: 144–147.
116. Rasmussen ML, Folsom AR, Catellier DJ et al. A prospective study of coronary heart disease and the hemochromatosis gene (HFE) C282Y mutation: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis* 2001; 154: 739–746.
117. Reis MM, Higuchi Mde L, Benvenuti LA et al. An in situ quantitative immunohistochemical study of cytokines and IL-2R in chronic human chagasic myocarditis: correlation with the presence of myocardial Trypanosoma cruzi antigens. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 83: 165–172.
118. Risley P, Jerrard-Dunne P, Sitzer M et al. Promoter polymorphism in the endotoxin receptor (CD14) is associated with increased carotid atherosclerosis only in smokers: the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke* 2003; 34: 600–604.
119. Rodriguez-Perez JC, Rodriguez-Esparragon F, Hernandez-Perera O et al. Association of angiotensinogen M235T and A(-6)G gene polymorphisms with coronary heart disease with independence of essential hypertension: the PROCAGENE study. *Prospective Cardiac Gene. J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1536–1542.
120. Rook MB, Bezzina Alshinawi C, Groenewegen WA et al. Human SCN5A gene mutations alter cardiac sodium channel kinetics and are associated with the Brugada syndrome. *Cardiovasc Res* 1999; 44: 507–517.
121. Rossi GP, Taddei S, Virdis A et al. The T-786C and Glu298Asp polymorphisms of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow responses of Caucasian hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 938–945.
122. Rosypal S. Úvod do molekulární biologie. Zväzky 1/2 a dodatok. Brno 1996, 1997.
123. Rotter JI, Bu X, Cantor RM et al. Multilocus genetic determinants of LDL particle size in coronary artery disease families. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 585–594.
124. Rutherford S, Johnson MP, Curtain RP et al. Chromosome 17 and the inducible nitric oxide synthase gene in human essential hypertension. *Hum Genet* 2001; 109: 408–415.
125. Ryan AS, Nicklas BJ, Berman DM et al. The insertion/deletion polymorphism of the ACE gene is related to insulin sensitivity in overweight women. *Diabetes Care* 2001; 24: 1646–1652.
126. Sasaoka T, Kimura A, Hohta SA et al. Polymorphisms in the platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) gene, Asn563Ser and Gly670Arg, associated with myocardial infarction in the Japanese. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 947: 259–269.
127. Sebastiani P, Lazarus R, Weiss ST et al. Minimal haplotype tagging. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2003; 100: 9900–9905.
128. Seidman CE, Seidman JG. Hypertrophic cardiomyopathy. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al (eds.). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill 2001: 5433–5450.
129. Sharma P, Hingorani A, Jia H et al. Positive association of tyrosine hydroxylase microsatellite marker to essential hypertension. *Hypertension* 1998; 32: 676–682.
130. Sharma P, Hingorani A, Jia H et al. Quantitative association between a newly identified molecular variant in the endothelin-2 gene and human essential hypertension. *J Hypertens* 1999; 17: 1281–1287.
131. Schillinger M, Exner M, Mlekusch W et al. Heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism is associated with abdominal aortic aneurysm. *Thromb Res* 2002; 106: 131–136.
132. Schunkert H. Molecular genetics of congestive heart failure. *Scand Cardiovasc J Suppl* 1998; 47: 37–43.
133. Schwartz GL, Turner ST, Chapman AB et al. Interacting effects of gender and genotype on blood pressure response to hydrochlorothiazide. *Kidney Int* 2002; 62: 1718–1723.
134. Small KM, Wagoner LE, Levin AM et al. Synergistic polymorphisms of beta1- and alpha2C-adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 1135–1142.
135. Spence JD, Malinow MR, Barnett PA et al. Plasma homocyst(e)ine concentration, but not MTHFR genotype, is associated with variation in carotid plaque area. *Stroke* 1999; 30: 969–973.
136. Sršeň Š, Sršňová K. Základy klinickej genetiky a jej molekulárna podstata. Martin: Osveta 2000.
137. Stankovic A, Zivkovic M, Glisic S et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and essential hypertension in Serbian population. *Clin Chim Acta* 2003; 327: 181–185.
138. Stavljenic-Rukavina A. Genetics of cardiovascular disease. *J Internat Fed Clin Chem* Available at <http://www.ifcc.org/ejifcc/vol14no2/140206200305n.htm>.
139. Stavroulakis GA, Makris TK, Krespi PG et al. Predicting response to chronic antihypertensive treatment with fosinopril: the role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. *Cardiovasc Drugs Ther* 2000; 14: 427–432.
140. Stepanov VA, Puzyrev VP, Karpov RS et al. Genetic markers in coronary artery disease in a Russian population. *Hum Biol* 1998; 70: 47–57.
141. Stevens PA, Brown MJ. Genetic variability of the ET-1 and the ETA receptor genes in essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: S9–S12.
142. Strauss E, Waliszewski K, Gabriel M et al. Increased risk of the abdominal aortic aneurysm in carriers of the MTHFR 677T allele. *J Appl Genet* 2003; 44: 85–93.
143. Šašinka M, Šagát T et al. *Pediatrics*. Košice: Satus 1998: 154–192.
144. Šmarda J. Člověk v proudu dědičnosti, geny v lidském zdraví a nemoci. Praha: Grada Publishing 1999.
145. Špinarová L, Toman J, Hude P et al. Poruchy lamínů při postižení srdce a kosterního svalstva. *Vnitř Lék* 2003; 49: 637–641.
146. Tan KT, Dempsey A, Liew CC. Cardiac genes and gene databases for cardiovascular disease genetics. *Curr Hypertens Rep* 1999; 1: 51–58.
147. Tan MS, Chang SY, Chang DM et al. Association of resistin gene 3-untranslated region 62G-A polymorphism with type 2 diabetes and hypertension in a Chinese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1258–1263.
148. Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 391–397.
149. Tang DC, Prauner R, Liu W et al. Polymorphisms within the angiotensinogen

gene (GT-repeat) and the risk of stroke in pediatric patients with sickle cell disease: a case-control study. *Am J Hematol* 2001; 68: 164–169.

150. Terashima M, Akita H, Kanazawa K et al. Stromelysin promoter 5A/6A polymorphism is associated with acute myocardial infarction. *Circulation* 1999; 99: 2717–2719.

151. Tiago AD, Badenhorst D, Skudicky D et al. An aldosterone synthase gene variant is associated with improvement in left ventricular ejection fraction in dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* 2002; 54: 584–589.

152. Topol EJ, McCarthy J, Gabriel S et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple novel thrombospondin genes may be associated with familial premature myocardial infarction. *Circulation* 2001; 104: 2641–2644.

153. Ton C, Stamatiou D, Dzau VJ et al. Construction of a zebrafish cDNA microarray: gene expression profiling of the zebrafish during development. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 296: 1134–1142.

154. Ton C, Stamatiou D, Liew CC. Gene expression profile of zebrafish exposed to hypoxia during development. *Physiol Genomics* 2003; 13: 97–106.

155. Towbin JA, Bowles NE. The failing heart. *Nature* 2002; 415: 227–233.

156. Tregouet DA, Barbaux S, Escolano S et al. Specific haplotypes of the P-selectin gene are associated with myocardial infarction. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 2015–2023.

157. Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG, Gerdes LU et al. Variation of apolipoprotein B gene is associated with myocardial infarction and lipoprotein levels in Danes. *Atherosclerosis* 1991; 89: 69–81.

158. Tybjaerg-Hansen A. Rare and common mutations in hyperlipidemia and atherosclerosis, with special reference to familial defective apolipoprotein B-100. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1995; 220: 57–76.

159. Unkelbach K, Gardemann A, Kostrzewa M et al. A new promoter polymorphism in the gene of lipopolysaccharide receptor CD14 is associated with expired myocardial infarction in patients with low atherosclerotic risk profile. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 932–938.

160. Uzui H, Harpf A, Liu M et al. Increased expression of membrane type 3-matrix metalloproteinase in human atherosclerotic plaque: role of activated macrophages and inflammatory cytokines. *Circulation* 2002; 106: 3024–3030.

161. Vaisanen SB, Rauramaa R, Luong LA et al. Stromelysin-1 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2657–2662.

162. Vickers MA, Green FR, Terry C et al. Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein. *Cardiovasc Res* 2002; 53: 1029–1034.

163. Voet D, Voet JG. Straightening out the straighteners. *Trends Biochem Sci* 1993 18(12): 464.

164. Vohnout B, Raslova K, Gasparovic J et al. Lipid levels and their genetic regulation in patients with familial hypercholesterolemia and familial defective apolipoprotein B-100: the MEDPED Slovakia Project. *Atheroscler Suppl* 2003; 4: 3–5.

165. Voločik G, Rosochová I, Kovács L. Vplyv polymorfizmu ACE génu na funkciu ľavej komory u chorých s diabetom 2. typu. *Vnitr Lék* 2003; 49: 181–184.

166. von Beckerath N, Schusterschitz Y, Koch W et al. G protein beta 3 subunit 825T allele carriage and risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2003; 167: 135–139.

167. Wang Q, Shen J, Splawski I et al. SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell* 1995; 80: 805–811.

168. Wang XL, Greco M, Sim AS et al. Effect of CYP1A1 MspI polymorphism on cigarette smoking related coronary artery disease and diabetes. *Atherosclerosis* 2002; 162: 391–397.

169. Wascher TC, Paulweber B, Malaimare L et al. Associations of a human G protein beta3 subunit dimorphism with insulin resistance and carotid atherosclerosis. *Stroke* 2003; 34: 605–609.

170. Wauters M, Mertens I, Chagnon M et al. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25: 714–720.

171. Whitney AR, Diehn M, Popper SJ et al. Individuality and variation in gene expression patterns in human blood. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2003; 100: 1896–1901.

172. Xiang AH, Azen SP, Raffel LJ et al. Evidence for joint genetic control of insulin sensitivity and systolic blood pressure in Hispanic families with a hypertensive proband. *Circulation* 2001; 103: 78–83.

173. Yamada Y, Ichihara S, Izawa H et al. Association of a G994-T (Val279-Phe) polymorphism of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene with myocardial damage in Japanese patients with nonfamilial hypertrophic cardiomyopathy. *J Hum Genet* 2001; 46: 436–441.

174. Yamada Y, Izawa H, Ichihara S et al. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 2002; 347: 1916–1923.

175. Yoon S, Kuivaniemi H, Gatalica Z et al. MMP13 promoter polymorphism is associated with atherosclerosis in the abdominal aorta of young black males. *Matrix Biol* 2002; 21: 487–498.

176. Zhang W, Needham DL, Coffin M et al. Microarray analyses of the metabolic responses of *Saccharomyces cerevisiae* to organic solvent dimethyl sulfoxide. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2003; 30: 57–69.

177. Zhu H, Sagnella GA, Dong Y et al. Contrasting associations between aldosterone synthase gene polymorphisms and essential hypertension in blacks and in whites. *J Hypertens* 2003; 21: 87–95.

178. Zito F, Di Castelnuovo A, Amore C et al. Bcl I polymorphism in the fibrinogen beta-chain gene is associated with the risk of familial myocardial infarction by increasing plasma fibrinogen levels. A case-control study in a sample of GISSI-2 patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 3489–3494

179. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>

MUDr. Andrej Teren

www.faneba.sk

e-mail: ateren@hotmail.com

Doručeno do redakce: 23. 10. 2005

Přijato po recenzii: 17. 1. 2007