

Genetika v kardiologii.

Část IV. Polygenně podmíněné kardiovaskulární nemoci; možnosti genové terapie v kardiologii

Ilga Grochová, Ladislav Groch*

Genprogress s. r. o. Brno, Centrum prenatalní diagnostiky s. r. o.

*I. interní-kardioangiologická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, Česká republika

Grochová I, Groch L* (Genprogress s. r. o. Brno, Centrum prenatalní diagnostiky s. r. o., *I. interní-kardioangiologická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, Česká republika). **Genetika v kardiologii. Část IV. Polygenně podmíněné kardiovaskulární nemoci; možnosti genové terapie v kardiologii.** *Cor Vasa* 2007;49(9):327–332.

Ve čtvrté části cyklu jsou popisovány vztahy mezi genovými polymorfismy a zevními vlivy u polygenně podmíněných onemocnění, jako je ischemická choroba srdeční, včetně infarktu myokardu. Přes stovky provedených studií, s popisem již desítek genových polymorfismů, jsou nadále závěry kontroverzní; praktické využití genetiky včetně genové terapie u polygenně podmíněných chorob je otázkou budoucnosti (snad ne příliš vzdálené).

Klíčová slova: Genový polymorfismus – Multifaktoriální dědičnost – Genová terapie

Grochová I, Groch L* (Genprogress Ltd., Brno, Prenatal Diagnosis Center Ltd., *Department of Internal Medicine-Cardiac Angiology I, St Ann Teaching Hospital, Brno, Czech Republic). **Genetics in cardiology. Part IV. Polygenic cardiovascular disease. Potential for gene therapy in cardiology.** *Cor Vasa* 2007;49(9):327–332.

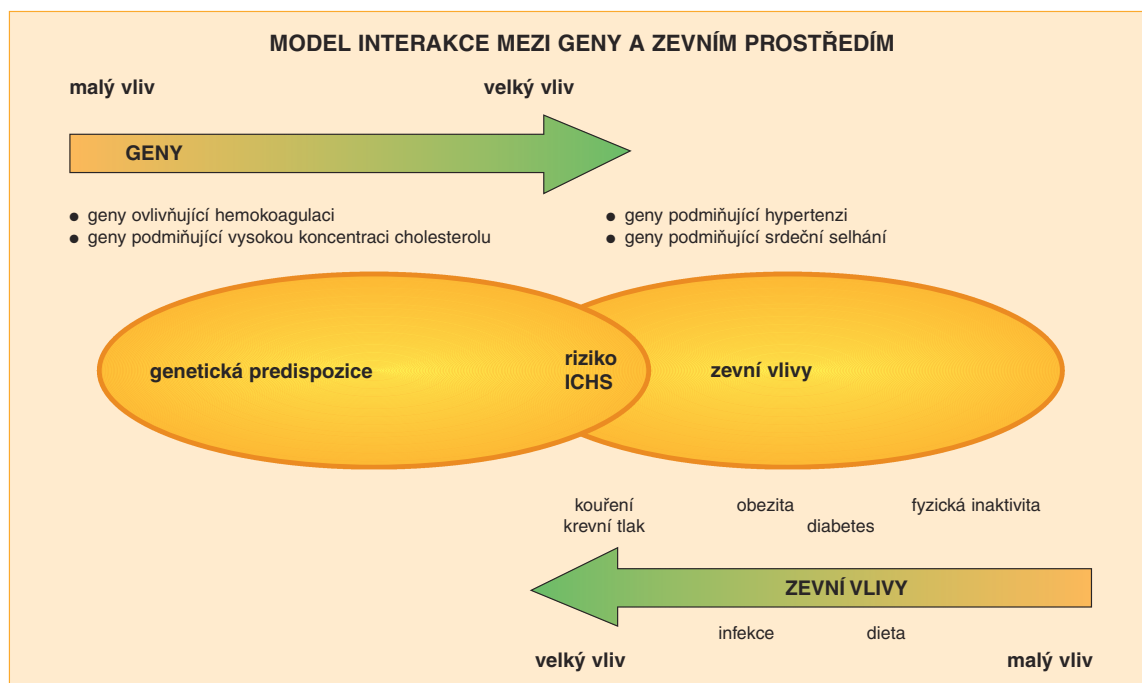
Part IV of the series discusses the associations between gene polymorphisms and environmental factors in polygenic diseases such as coronary heart disease including myocardial infarction. Despite the hundreds of studies reporting dozens of gene polymorphisms, controversy remains; practical use of genetics including gene therapy in polygenic disease is a matter of future (hopefully not too distant).

Key words: Gene polymorphism – Multifactorial inheritance – Gene therapy

Adresa: MUDr. Ladislav Groch, I. interní-kardioangiologická klinika, FN u sv. Anny, Pekařská 53, 656 21 Brno, Česká republika, e-mail: groch@fnusa.cz

V předchozích částech našich článků jsme popisovali skupiny kardiologických onemocnění s přesně definovanou etiologií – buď změnami na chromosomech nebo na jednotlivých genech. U velké části těchto chorob a vývojových vad je možné přesně určit genetický podklad, tj. zjistit genovou mutaci nebo chromosomální aberaci. Oproti tomu u polygenně dědičných onemocnění, jako je ateroskleróza, ischemická choroba srdeční (ICHS), infarkt myokardu (IM) nebo hypertenze, takové možnosti většinou nemáme. V etiopatogenezi ICHS lze genetické faktory rozdělit do dvou skupin: geny kauzální a geny s malým účinkem. První skupina genů – kauzální – je příčinou vzniku onemocnění jen ve velmi malém procentu případů, kde jedna konkrétní mutace je zodpovědná za vývoj choroby. U druhé, mnohem častější skupiny, se na vývoji onemocnění podílí celá řada genů a na tvorbu fenotypu každý z nich přispívá jen malou částí. Vývoj onemocnění koronárních tepen je daný interakcí několika skupin genů zodpovědných za lipoproteinový metabolismus, hemokoagulaci, zánětlivé faktory

a celou řadu dalších biochemických pochodů v našem organismu. Jakákoliv změna v těchto genech může vést k alteraci syntézy důležitých proteinů; na druhé straně jedna mutace nebo jeden polymorfismus nevyvolá onemocnění. Ve hře jsou další faktory, jako hypertenze, diabetes, obezita, které samy o sobě jsou opět podmíněny polygenně. Další úlohu hraje interakce genových změn s environmentálními faktory, mezi které ke vzniku ICHS patří zejména kouření, deficit pohybové aktivity, nesprávné stravování, permanentní stress (obrázek 1). Objasnění této interakce je velmi důležité. Jsou známy případy, kdy kuřák několika desítek cigaret denně infarkt myokardu nedostane a zemře ve vysokém věku na nekardiologické onemocnění. Na druhé straně jsou zapříčiněni nekuřáci, kteří se celý život snaží žít „zdravě“ a potká je infarkt v relativně mladém věku. U této druhé skupiny v rodinné anamnéze téměř vždy zjišťujeme, že v příbuzenstvu několik členů rodiny zemřelo na onemocnění koronárních tepen. Je jasné, že ve vzniku těchto často se vyskytujících nemocí existují určité



Obr. 1

genetické faktory, nejčastěji to je již zmíněný výskyt mnoha genů s „malým“ účinkem. Avšak i u infarktu myokardu a ICHS jsou případy s tzv. autosomálně dominantním typem dědičnosti. Jsou rodiny, kde se onemocnění koronárních arterií vyskytuje v několika generacích, a to zejména u mužů do věku 50 let.

Wang L a spol. koncem roku 2003 publikovali závěry své studie. Sledovali velmi početnou rodinu s 13 členy s IM/ICHS – podle rodokmenu s autosomálně dominantně dědičným onemocněním koronárních tepen – identifikovali mutaci v 11. exonu genu *MEF2A* (gen pro faktor transkripce). Zdá se, že delece 21 kb v lokusu 15q26 způsobuje narušení stěny koronárních tepen, a tak usnadňuje ukládání aterosklerotických plátů, což později vede k infarktu myokardu. V době publikace svých závěrů autoři však neměli dostatečný počet zdravých kontrol a závěry byly získány na příliš malém souboru pacientů. O rok později další autoři – Weng L a spol. – zpochybnili tento objev. Sami autoři hledali mutaci v 11. exonu genu *MEF2A* u 300 jedinců s nefamiliárním výskytem prematurního infarktu myokardu. Ani u jednoho z nemocných mutaci nenašli, ale objevili ji u jednoho kontrolního zdravého jedince. Později Topol EJ a spol. publikují práci, kde uvádějí, že stejnou mutaci identifikovali u 500 zdravých kontrol kanadské populace, ale zároveň našli tři nové bodové mutace v jiných exonech: 6. a 7. stejného genu. Tyto tři nové mutace detekovali u 4 osob ze souboru 207 pacientů, ale u žádného jedince ze 191 zdravých kontrol. Stejně mutace v souvislosti s výskytem ICHS nezávisle potvrdil Gonzales ve španělské populaci. Jednu z těchto mutací našla již zmíněná skupina Weng L u jednoho nemocného pacienta a nikoliv u zdravé kontroly.

Mutace v genu *MEF2A* v souvislosti s výskytem prematurního infarktu myokardu a s nemocí ko-

ronárních arterií jsou hodně diskutovány. Závěry nejsou definitivní, ale pokud se prokáže, že změny v genu *MEF2A* jsou asociovány s ICHS a infarktem myokardu v mladém věku, povede to v budoucnu k možnosti provést prediktivní genovou diagnostiku v rodinách s familiárním výskytem těchto nemocí.

Vedle výše popsané genové změny s dominantním rysem dědičnosti je objevena ještě řada dalších. Jedna z takových genových změn je familiární hypercholesterolemie (FH) s autosomálně dominantním typem dědičnosti, s předpokládanou prevalencí jedinců s jednou mutací 1 : 500 a v některých populacích ještě vyšší – například v libanonské, u francouzských Kanadánů a u Afrikánců. Přítomnost dvou kauzálních mutací pro familiární hypercholesterolemii – tj. homozygotů nebo složených heterozygotů – je velmi vzácná, ve většině zemích méně než 1 : 1 000 000. Průběh onemocnění u těchto pacientů je závažný a klinické příznaky ICHS se vyskytují už v první nebo druhé dekádě. Klinická manifestace onemocnění koronárních arterií u mužů heterozygotů je mezi 30.–50. rokem života, u žen mezi 50.–70. rokem. Familiární hypercholesterolemie je přítomna asi u 5–10 % jedinců s ICHS mladších 55 let – primární prevence těchto rizikových pacientů může značně oddálit nástup onemocnění a také významně posunout výskyt onemocnění v celé populaci.

Nejčastější příčinou familiární hypercholesterolemie je mutace v genu *LDLR* (Low-Density Lipoprotein Receptor gene). V současné době je celosvětově známo více než 700 mutací, zastoupení jednotlivých mutací v různých populacích je různé.

Další gen pro familiární hypercholesterolemii je apolipoprotein B – 100 gen (*APOB*). Mutace v tomto genu jsou identifikovány přibližně u 3 % pacientů s familiární hypercholesterolemií severoevropské popu-

lace. Vyznačuje se hypercholesterolemií už v dětském věku a časným nástupem příznaků ICHS.

Třetí lokus je identifikován na chromosomu č. 1 – gen kódující sekretorní proteinázu PCSK9.

Vedle autosomálně dominantně dědičné familiární hypercholesterolemie existuje také autosomálně recesivní forma s defektem tzv. „chaperon“ proteinu.

Častější než výše popsaná monogenně dědičná hypercholesterolemie je familiární kombinovaná hyperlipidemie s výskytem přibližně 1 : 100. Dědičnost této formy je multifaktoriální, tj. na vývoji se podílí celé skupiny genů v interakci s vnějšími faktory.

V poslední době je identifikován jeden gen s významnějším vlivem – gen *USF1*, který se vyskytuje zejména ve finské populaci. V současné době nejsou známy konkrétní mutace tohoto genu, ale je identifikována řada polymorfismů asociovaných s vyšším výskytem familiární kombinované hyperlipidemie.

Další skupina genetických poruch ovlivňujících kardiovaskulární onemocnění jsou změny ve funkci koagulačních faktorů. Frekvence nositelů mutací v genech krevní srážlivosti pro faktor V (Leidská mutace) a pro protrombin je 2–3 %. Nicméně tyto mutace primárně zvyšují riziko venózních trombóz, ale mají malý účinek u arteriálních trombóz a rizika onemocnění koronárních arterií.

U většiny často se vyskytujících kardiologických onemocnění neexistuje jedna kauzální mutace. Většinou jde o polymorfismy asociované s infarktem myokardu a ICHS. Ve světové literatuře existuje k dnešnímu datu nejméně 5 000 studií, zabývajících se testováním kandidátních genů polygenně dědičných kardiovaskulárních onemocnění. Výsledky těchto studií jsou často kontroverzní. Stává se, že výsledek jednoho týmu se zásadně liší od nálezů jiné skupiny. Hlavní příčinou těchto neshod jsou malé soubory pacientů a zdravých kontrol, špatný výběr kontrolní skupiny a nepřesně stanovená kritéria pro sledované nemocné nebo malý počet vyšetřovaných ukazatelů. Většina autorů publikuje výsledky provedených testů s 50 000–100 000 ukazateli, ale je nezbytné jich použít stovky tisíc. Navíc analýza by měla být zahájena nejméně ve dvou nezávislých populacích testováním 400 000–500 000 ukazatelů SNP (Single Nucleotide Polymorphism), s počátečním počtem souboru nejméně 2 000 jedinců (1 000 nemocných a 1 000 zdravých) rozšířeným alespoň na 12 000 sledovaných jedinců (8 000 nemocných a 4 000 kontrol).

Začátkem letošního roku Luo AK a spol. publikovali kritéria výběru sledovaných osob.

Kritéria pro zařazení jedince do genetické studie sledujících onemocnění koronárních tepen

Skupina nemocných:

- angiograficky prokázaná stenóza ≥ 70 % na velké epikardiální tepně;
- rodinný výskyt koronární choroby;
- nekuřáctví;
- bez diabetu;
- normální hodnoty LDL a HDL, normální hodnota C reaktivního proteinu.

Kritérium infarktu myokardu: výše uvedená kritéria a infarkt myokardu dokumentovaný změnami EKG a enzymatickou odpovědí.

Kontrolní skupina:

- normální nález na koronárních tepnách při koronarografii nebo multidetektorovým CT s $< 10\%$ redukcí diametru cévy;
- bez rodinné anamnézy koronární choroby;
- bez anamnézy mozkové příhody nebo postižení periferních cév;
- věk o 10–20 let vyšší než ve skupině nemocných.

Další faktor, který vede k neshodným názorům a ztěžuje identifikaci genetických variant, je velké množství předpokládaných kandidátních genů a „nevýhodných“ polymorfismů. Navzdory tisícům studií s kontroverzními výsledky je už publikováno mnoho kandidátních genů pro kardiovaskulární onemocnění. Identifikováno je nejméně 192 polymorfismů ve 102 genech, které lze vhodně spojovat s rizikem výskytu infarktu myokardu a CAD.

Ateroskleróza a onemocnění věnčitých tepen je komplexní onemocnění. Mnoho genů a mnoho faktorů životního prostředí se zúčastňuje v etiopatogenezi těchto nemocí. Předpokládá se, že zúčastněných genů je 500–800. Ve volbě analyzovaných genů se vychází z patogenetických mechanismů onemocnění koronárních arterií. Řada studií se zabývá zkoumáním renin-angiotenzinového systému, lipidového metabolismu, zánětlivých faktorů a hemokoagulace.

V dnešní době jsou stanoveny varianty genů, které jsou nejvíce diskutovány: gen pro connexin 37 – zhoršuje intercelulární komunikaci, vede ke zvýšené adhezi monocytů na endotel, gen stromelysin 1 – způsobuje nestabilitu aterosklerotických plátů, gen inhibitoru aktivátoru plazminogenu typ 1 – zvyšuje plazmatickou trombocytogenitu, vede k okluzi arterie ovlivněné trombem, gen pro lymfotoksin alfa – zvyšuje zánětlivost arteriální stěny a nestabilitu aterosklerotických plátů.

Jedna z nejobsáhlejších studií byla provedena v Japonsku, kde je relativně nízký výskyt infarktu myokardu. V prosinci 2002 Yamada Y a spol. z univerzity v Nagoye publikovali výsledky rozsáhlé studie. U 2 819 (2 003 mužů a 816 žen) japonských pacientů s IM/ICHS hospitalizovaných od roku 1994 do roku 2001 na 15 klinikách a u 2 242 kontrolních jedinců (1 306 mužů a 936 žen) analyzovali 112 polymorfismů v 71 kandidátních genech asociovaných s koronární aterosklerózou, vazokonstrikcí, hypertenzí, diabetem, hyperlipidemií, poruchami hemokoagulace a fibrinolýzy a dalšími metabolickými faktory. Prokázali, že infarkt myokardu je signifikantně spojován u mužů s polymorfismem *C1019T* v connexin 37. genu, u žen s *4G-668/5G* polymorfismem v genu pro inhibitor aktivátoru plazminogenu typ 1 a polymorfismem *5A-1171/6A* v genu pro stromelysin 1.

Nezávislá studie malého souboru švédských pacientů prokázala, že stejný polymorfismus *C1019T* v connexin 37. genu je asociován se ztluštěním intimy karotid u mužů, asociace s aterosklerotickými pláty tohoto polymorfismu byla prokázána i u obyvatel Taiwanu.

Naopak polymorfismus *4G-668/5G* v genu pro inhibitor aktivátoru plazminogenu typ 1 nebyl prokázán jako rizikový ani u malé švédské skupiny pacientů, ani u velké skupiny nemocných mužů z USA,

a ani u skupiny nemocných žen z Nizozemska. Navíc byla prokázána souvislost genotypu 4G/4G s nižším rizikem cévní mozkové příhody.

Ozaki K a spol. z Tokia v lednu 2003 publikovali výsledky studie, kde za použití markerů 92788 SNP identifikovali kandidátní lokus na chromosomu 6p21 spojený s infarktem myokardu. Zejména polymorfismus v genu *LTA* (Lymfotoxin Alfa) – Thr26Asp – změnou aminokyseliny threonin za aspargin je spojen s 2krát vyšší indukcí buněčné adheze. Jedna z nejnovějších publikací je od stejných autorů a byla publikována v lednu 2007. Testovali 3 353 pacientů a 3 807 zdravých kontrol. Za použití 52 608 markerů SNP identifikovali kandidátní polymorfismy lokalizované na chromosomu 3p21.2-p21.1. Prokázali signifikantní asociaci polymorfismu v 2. exonu inter-alfa (globulin) inhibitor 3. genu – *ITIH3* s infarktem myokardu.

Další výsledky japonských vědců publikované v roce 2006, identifikovali nový gen *MIAT* (Myocardial Infarction Associated Transcript) v lokusu 22q12.1 a 6 kandidátních polymorfismů, které hrají roli v patogenezi infarktu myokardu.

Výše uvedené publikace jsou pouze ukázkou z velkého množství studií a jsou dokladem, jak genetiky heterogenní a komplexní je patogeneze infarktu myokardu.

Jak už jsme se zmiňovali, objevy jedné pracovní skupiny jsou relativně často v kontroverzi s výsledky jiných studií. Kromě toho výsledky se liší v různých populacích a v různých sociálních skupinách. Je potřebné zdůraznit, že v současné době při aktuálním stavu poznání je aplikace těchto poznatků v klinické praxi stále ještě problematická.

Vzhledem k těmto kontroverzním informacím Morgan T a spol. v letošním dubnovém čísle časopisu *JAMA* otiskli analýzu dosud předložených poznatků o genetických faktorech v etiopatogenezi akutního koronárního syndromu. Zdůrazňují velkou nepřesnost v interpretaci výsledků způsobenou zejména použitím malých souborů.

Provedli studii, kdy během roku 2005–2006 u 811 pacientů s akutním koronárním syndromem a u 650 kontrol analyzovali 85 variant v 70 genech, v kterých byla již dříve jinými autory prokázána asociace s onemocněním. Výsledkem studie bylo, že z 85 testovaných variant jenom u jednoho dříve předpokládaného rizikového genotypu, a to u varianty pro beta-fibrinogen, bylo možné signifikantně prokázat asociaci s akutním koronárním syndromem. U dalších 41 předpokládaných rizikových variant zjistili nepatrně vyšší incidenci ve skupině nemocných ve srovnání s kontrolami. Sami autoři hodnotí výsledky značně kriticky – jako „nulové“. Tento příklad zdůrazňuje, že je nutné důkladné přezkoumání předpokládaných genetických rizikových faktorů před zavedením do klinické praxe.

Poznatky o genetické etiologii multifaktoriálně podmíněných nemocí se neustále doplňují. Skládají se jako mozaika a nedá se přesně odhadnout, kdy bude hotový celý obraz, ale už nyní lze možné čerpat četné informace k predikci průběhu onemocnění, k navržení cílené medicíny či určení rizikových faktorů pro příbuzné. V současné době na celém světě probíhají stovky studií o možnosti aplikace poznatků

o genových změnách v klinické praxi. Jedna z takových studií je CardioGene, jejímž úkolem je identifikace genetických markerů u restenózy po implantaci nepotahovaných stentů. Tato studie má jednak poskytnout informace lékařům katetrizačních laboratoří o genetických markerech ovlivňujících průběh onemocnění, aby mohli volit optimální léčbu u stenotovaných pacientů, jednak, aby mohla vytvořit model pro další projekty v budoucnu.

Studie byla zahájena v roce 2001 sběrem DNA, RNA a séra u 350 pacientů ze dvou amerických klinik: The Williams Baumont Hospital v Royal Oak a Mayo Clinic v Rochesteru. Genotypizace se provádí čipy DNA, které umožňují analyzovat současně až desetitisíce genů u jednoho vzorku. Metoda využívá techniky hybridizace molekul (DNA-DNA, DNA-RNA) na malé ploše (čipy).

V první části našeho cyklu jsme se zmiňovali o „Hap Map Projectu“, cílem kterého je identifikace genů asociovaných s tak častými chorobami, jako je astma, diabetes, malignity a kardiovaskulární onemocnění. Důležitost tohoto projektu ve výzkumu kardiovaskulárních onemocnění je nepochybná. Genetické varianty by mohly objasnit, proč dva pacienti s podobnými rizikovými faktory mají extrémně odlišný klinický průběh, proč dva pacienti se stejným lipidovým profilem mají odlišnou odpověď na terapii statiny, proč dva pacienti s infarktem myokardu mají velmi odlišný profil rizikových faktorů nebo, proč dva pacienti se stejným klinickým průběhem a se stejným stentem mají tak obrovsky rozdílné dlouhodobé výsledky. „Hap Map Project“ je zaměřen na variace v genomu v lidských populacích:

SNP (Single Nucleotide Polymorphism), tj. bodová mutace (záměna jednoho nukleotidu), která se může vyskytovat v kódujících oblastech DNA (může ovlivnit expresi genu), častěji však v oblastech nekódujících – intronech. Tuto změnu lze využít jako polymorfni marker při nepřímé diagnostice.

Je sestaven katalog Hap Map – jakýsi seznam častých genetických variant, vyskytující se u lidí. Tento katalog popisuje, jaké jsou tyto varianty, kde se vyskytují v našem genomu a jak jsou distribuovány v populacích různých světadílů. Mezinárodní „Projekt Hap Map“ nepřirazuje specifické genetické varianty k určitému onemocnění, spíše upozorňuje na vazby různých variant s rizikem nejčastějších onemocnění a s předpokládanou reakcí na léčbu. Veškeré informace o dosud identifikovaných polymorfismech lze najít na webových stránkách www.hapmap.org.

Současný pokrok molekulární a celulární biologie umožňuje vyvinout stále účinnější kardiovaskulární léky, avšak stále ještě u řady onemocnění, jako je ateroskleróza periferních arterií, ischemické choroby srdce nebo restenózy po angioplastice či u okluze vaskulárních graftů, neexistuje účinná kauzální terapie. Nové možnosti i přes její značnou limitaci nastiňuje *genová terapie*. Pod pojem *genová terapie* můžeme zahrnout všechny postupy, které využívají přenosu genetického materiálu do buněk pacienta k léčebným účelům. I když se původně uvažovalo především o jejím využití při léčbě vrozených chorob, většina probíhajících klinických studií se zaměřuje na choroby získané. Mezi nimi dominují zhoubné nádory, ale intenzivně se její postupy zavádějí i u jiných

chorob a také při léčbě kardiovaskulárních nemocí. Jejím cílem v kardiologii je obnovení funkce nebo tkání včetně cév. V kardiologii se genová terapie zaměřuje na tři hlavní oblasti: na novotvorbu cév, na obnovení funkce u srdečního selhání a snahu zabránit reokluzi po provedené perkutánní transluminální intervenci. Gen, který se přenáší, se nazývá transgen. Transfer DNA do somatických buněk se provádí pomocí zvláštních přenašečů, nazývaných vektory.

K přenosu se používají buď fyzikální a chemické metody, nebo se přenos uskutečňuje pomocí virových vektorů. Mezi fyzikální metody patří vpravení nahé DNA – plazmidů obsahujících transgen. U chemických metod se používá vazba různých molekul na DNA, které usnadňují transdukcii. Jedna z takových metod je lipofekce, kdy jsou přenašečem částice lipidů (liposomy), které splývají s buněčnou membránou, vnikají do buňky a po degradaci v lysosomech se DNA uvolňuje, přesunuje do jádra, kde se může integrovat s buněčným genomem. Užívají se ale i další látky, umožňující vazbou na specifické receptory vstup přenášené DNA. Nevýhodou fyzikálních a chemických metod je nízká účinnost transdukcce a menší pravděpodobnost, že dojde k integraci do buněčného genomu. Výhodou je, že chybí limitace velikosti přenášené DNA.

Nejužívanější metodou transdukcce je v současnosti užití defektních virových vektorů. Využívá se vlastnosti virů proniknout do buněk; jejich schopnost přenést genetický materiál do buňky je tedy vysoká. Proces spojení transgenu s virovým genetickým materiálem se nazývá rekombinace. Rekombinovaný genom je zahrnut do virového obalu. Virové vektory jsou připravovány ve speciálních buněčných liniích, aby nebyly schopny samostatné replikace. Nevýhodou virových vektorů je jejich nízká schopnost pojmout větší molekuly DNA, dále imunogennost některých virových faktorů, zkracující dobu exprese a snižující účinnost tohoto způsobu přenosu. S naprostou jistotou nelze vyloučit ani možná biologická rizika, která by s sebou vpravení virů mohla přinést.

Z počátků kardiologických studií zaměřených na genovou terapii se užívaly nevirové vektory – zejména plazmidy. Teprve později bylo užito virových vektorů, od nichž se očekávala výraznější a delší exprese genu. V kardiologii se jako vektor používá zejména adenovirus, ale v poslední době Joseph C. Glorioso III. a spol. z centra genové terapie v Pittsburghu zkoumají další virus – *Herpes simplex*. První pokus využití genové terapie kardiovaskulárních onemocnění popsal Isner J už v roce 1994, v léčbě onemocnění periferních arterií použil VEGF (Vascular Endothelinal Growth Factor). Později bylo testováno použití různých potenciálních angiogenních růstových faktorů v léčbě ischemické choroby srdce a periferních cév – zejména rekombinantní růstový faktor pro fibroblasty – rFGF (Recombinant Fibroblast Growth Factor) a jaterní růstový faktor – HGF. V řadě randomizovaných studií je popisováno zlepšení klinických symptomů po genové terapii. Výsledky první randomizované, zaslepené, placebem kontrolované studie AGENT (Angiogenic GENE Therapy trial) byly prezentovány v roce 2001.

Kromě studií, zabývajících se genovou terapií u angiogeneze, řada dalších je zaměřena na kon-

verzi myocytů komorového myokardu do buněk převodního systému srdce pomocí genu kódujícího kaliový kanál nebo přenosu genu pro NO-syntetázu, kde už byly prokázány slibné účinky v prevenci restenózy. Od podávání rekombinantního inhibitoru tkáňového faktoru se očekává snížení intimální hyperplazie po PTCA. Experimentální údaje studií na myších prokázaly, že transfer rekombinantního genu apoA-1 Milano redukuje aterosklerózu a zmírňuje zánět aterosklerotických plátů. Výsledky jednoho z posledních experimentů publikovali Nissen S a spol. z kliniky v Clevelandu. Provedli aplikaci tohoto rekombinantního genu intravenózně jednou týdně pacientům s akutním koronárním syndromem, po 5 týdnech zaznamenali výrazné poklesy koronárních aterosklerotických plaků. Výsledky těchto experimentů jsou v současné době hodně diskutovány.

Ačkoliv u některých pacientů byla již genová terapie úspěšně použita, stále se jedná spíše o experimentální terapii, která s sebou může nést řadu vedlejších účinků.

Ve čtyřech člancích jsme se pokusili seznámit širokou kardiologickou obec se základy a nejnovějšími poznatky genetiky na poli kardiologie. Lékařská genetika je tak rychle se rozvíjející obor, že není možné pro klinicky orientovaného kardiologa soustavně sledovat pokroky v této oblasti. Jestliže naše příspěvky pomohly k lepší orientaci čtenářů o možnostech a perspektivách klinické genetiky, pak splnily svůj účel.

LITERATURA

1. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, et al. Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men. *Circulation* 1997;95:59–62.
2. Roest M, van der Schouw YT, Banga JD, et al. Plasminogen activator inhibitor 4G polymorphism is associated with decreased risk of cerebrovascular mortality in older women. *Circulation* 2000;101:67–70.
3. Rundek T, Elkind MS, Pittman J, et al. Carotid intima-media thickness is associated with allelic variants of stromelysin-1, interleukin-6, and hepatic lipase genes: the Northern Manhattan Prospective Cohort Study. *Stroke* 2002;33:1420–3.
4. Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B, et al. A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nat Genet* 2002;30:210–4.
5. Newman D, Hoffman S, Bourgain C, et al. Are common disease susceptibility alleles the same in outbred and founder populations? *Eur J Hum Gen* 2004;12:584–90.
6. 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. *New Engl J Med* 1998;338:86–93.
7. Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, et al. Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1998;97:135–7.
8. Yamada Y, Izawa H, Ichihara S. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *Hypertens* 2003;12:13–4.
9. Morgan T, Harlan M, et al. Nonvalidation of Reported Genetic Risk Factors for Acute Coronary Syndrome in a Large-Scale Replication Study. *JAMA* 2007;297:1551–61.

10. Topol E, Smith J, Plow J, et al. Genetic susceptibility to myocardial infarction and coronary artery disease. *Hum Mol Gen* 2006;15:R117–R123.
11. Luo AK, Jefferson B, Garcia M, et al. Challenges in the phenotypic characterisation of patients in genetic studies of coronary artery disease. *J Med Gen* 2007; 44:161–5.
12. The International HapMap Consortium: A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005;437:1299–320.
13. Kimberly S, Glenn G, Simari R, et al. The effect of HapMap on cardiovascular research and clinical practice. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4:136–42.
14. Wang L, Fan CH, Topol E, et al. Mutation of MEF2A in an Inherited Disorder with Features of Coronary Artery Disease. *Science* 2003;302:1578–81.
15. Bhagavatula K, Chun F, Gong-Qing Sh, et al. Transcription factor MEF2A mutations in patients with coronary artery disease. *Hum Mol Gen* 2004;13:3181–8.
16. Morishita R, Aoki M, Ogihara T. Does gene therapy become pharmacotherapy? *Exp Physiol* 2005;90:307–13.
17. Grines CL, Watkins MW, Helmer G, et al. Angiogenic Gene Therapy (AGENT) trial in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2002;105:1291–7.
18. Heilmann C, von Samson P, Schlegel K, et al. Comparison of protein with DNA therapy for chronic myocardial ischemia using fibroblast growth factor-2. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002;22:957–64.
19. Yonemitsu Y, Kaneda Y, Tanaka S. Transfer of wild-type p53 gene effectively inhibits vascular smooth muscle cell proliferation in vitro and in vivo. *Circ Res* 1998;82:147–56.
20. Igata M, Motoshima H, Tsuruzoe K, et al. Adenosine monophosphate-activated protein kinase suppresses vascular smooth muscle cell proliferation through the inhibition of cell cycle progression. *Circ Res* 2005; 97:837–44.
21. Andres V. Unexpected proatherogenic properties of p21: Beyond cell cycle control? *Circulation* 2004;110: 3749–52.
22. Sata M, Tanaka K, Ishizaka N, et al. Absence of p53 leads to accelerated neointimal hyperplasia after vascular injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1548–52.
23. Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res* 2000;87:184–8.
24. Pířha J, Hubáček JA, Poledne R, et al. Genetic determination of the prognosis in survivors of acute coronary syndromes. Study design and rationale for a multicenter study. *Cor Vasa* 2007;49:134–7.
25. Isner J. Still more debate over VEGF. *Nat Med* 2001;7: 639–41.
26. Gonzales P, Garcia-Castro M, Reguero JR, et al. The Pro279Leu variant in the transcription factor MEF2A is associated with myocardial infarction. *J Med Genet* 2006;43:167–9.
27. Ozaki K, Tanaka T. Genome-wide association study to identify single-nucleotide polymorphisms conferring risk of myocardial infarction. *Methods Mol Med* 2006; 128:173–80.
28. Weng L, Kavaslar N, Ustaszewska A, et al. Lack of MEF2A mutations in coronary artery disease. *J Clin Invest* 2005;115:1016–20.
29. Nissen S, Tsunoda T, Tuzcu EM, et al. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomised controlled trial. *JAMA* 2003;290:2292–300.

Dořlo do redakce 9. 7. 2007

Přijato k otiřtění 17. 7. 2007