

Ģenētisko variantu rs1805127, rs1892593 un rs2200733 asociācija ar ātriju fibrilācijas attīstības risku

*Irina Rudaka¹, Dmitrijs Rots^{1,3}, Arturs Uzars¹,
Ļubova Grineviča², Oskars Kalējs^{1,2},
Linda Piekuse³*

irina.rudaka@gmail.com

¹ Rīgas Stradiņa universitāte, Medicīnas fakultāte, Latvija

² Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca,
Latvijas Kardioloģijas centrs

³ Rīgas Stradiņa universitāte, Molekulārās ģenētikas
zinātniskā laboratorija, Latvija

Kopsavilkums

Ievads. Ātriju fibrilācija (ĀF) ir supraventrikulāra aritmija, kuru raksturo nekoordinēta priekškambaru aktivācija ar sekojošu priekškambaru mehāniskās funkcijas pasliktināšanos. ĀF ir biežākais sirds ritma traucējumu veids. Genomu plaši asociāciju pētījumi atklāja riska gēnus un variācijas, kas predisponē ĀF attīstībai. Identificētie riska gēni atbild par proteīnu kodēšanu, kam ir nozīme sirds embrionālajā attīstībā un šūnu diferenciācijā, kā arī par jonu (kālija un nātrija) kanālu izveidi.

Darba mērķis. Noskaidrot ģenētisko variāciju rs2200733, rs1892593 un rs1805127 saistību ar ĀF attīstības risku un to ietekmi uz ĀF gaitu.

Materiāls un metodes. Pētījumā tika iesaistīti 55 pacienti ar nevalvulāru ĀF persistējošo un ieilgušu persistējošo formu, kuri laikposmā no 2015. gada novembra līdz 2016. gada maijam tika stacionēti sinusa ritma atjaunošanai ar elektrisko kardioversiju. Dati par ģenētisko variāciju alēļu un genotipu sastopamības biežumiem kontroles populācijā tika iegūti no 1000 genomu projekta. Polimorfismu genotipi noteikti, izmantojot *PCR-RFLP* metodi.

Rezultāti. Pētījumā tika atklāts, ka variācijas rs2200733 riska genotips ir TT un CT. T alēle statistiski ticami ir biežāk sastopama ĀF gadījumu grupā, un tā saistāma ar ĀF risku pēc autosomāli dominanta tipa (OR = 2,01; 95 % TI 1,1–3,5; p = 0,015). Analizējot rs2200733 varianta T alēli recesīvajā pārmantošanas modelī, ir iegūta statistiski ticama saistība ar aritmijas sākšanas vecumu – pacientiem ar TT genotipu ātriju fibrilācija attīstās jaunākā vecumā nekā CT un CC genotipiem ($44,3 \pm 1,5$ gadi vs. $59,2 \pm 11$ gadi, p = 0,016). Šī saistība saglabājas statistiski ticama, arī veicot korekciju uz potenciāliem jaucefaktoriem – arteriālo hipertensiju un metabolo sindromu, p = 0,047. Varianta rs1805127 G alēle ir riska alēle un ir statistiski ticami biežāk sastopama ĀF gadījumu grupā, riska genotips GG ir saistīts ar ĀF attīstības risku un iedzimst pēc autosomāli recesīva modeļa (OR = 2,18; 95 % TI 1,2–3,8, p = 0,006). Variācija rs1892593 nav saistīta ar ĀF attīstības risku nevienā no iedzimšanas modeļiem, p > 0,05.

Secinājumi.

1. *PITX2* gēna rs2200733 variācijas T alēle pēc dominantā iedzimšanas tipa ir saistīta ar ĀF attīstības risku, un TT genotips ir saistīts ar agrīnāku ĀF sākšanās vecumu.
2. *KCNE1* gēna rs1805127 variācijas G alēle pēc recesīvā iedzimšanas tipa ir saistīta ar ĀF attīstības risku.
3. *KCNE1* gēna variācijai rs1892593 asociācija ar ĀF risku netika novērota.

Atslēgvārdi: ātriju fibrilācija, *PITX2* gēns, *KCNE1* gēns, polimorfismi.

Ievads

Ātriju fibrilācija (ĀF) ir supraventrikulāra aritmija, kuru raksturo nekoordinēta priekškambaru aktivācija ar sekojošu priekškambaru mehāniskās funkcijas pasliktināšanos. ĀF ir biežākais sirds ritma traucējumu veids (Camm *et al.*, 2010), tās prevalence pasaulē pārsniedz 33,5 miljonus cilvēku un turpina augt (Chugh *et al.*, 2014), turklāt tās prevalence pieaug līdz ar vecumu – līdz 55 gadu vecumam ātriju fibrilācija sastāda 0,1 %, savukārt 80 gadu vecumā sasniedz jau 9 % (Go, 2001). Aritmija ietekmē dzīves kvalitāti un ilgumu – pacientiem ar ĀF ir piecas reizes lielāks insultu un trīs reizes lielāks sirds mazspējas attīstības risks (Camm *et al.*, 2012; Freeman *et al.*, 2015).

Klasiskie ĀF attīstības riska faktori ir vecums, vīriešu dzimums, aptaukošanās, koronāra sirds slimība, sirds mazspēja, cukura diabēts, arteriāla hipertensija, vārstuļu patoloģijas, hipertireoze, hroniska nieru slimība, alkohola lietošana, smēķēšana, pozitīva ģimenes anamnēze (Magnani *et al.*, 2011; Rienstra, McManus, and Benjamin, 2012; January *et al.*, 2014). Taču jāatzīmē, ka ne visus fibrilācijas gadījumus var izskaidrot ar šiem riska faktoriem. 1953. gadā pirmo reizi ieviesa jēdzienu par idiopātisko ĀF (IĀF; angļu val. *lone atrial fibrillation*). Dažādu autoru publikācijās IĀF definīcijas atšķiras (Frost, 2007; January *et al.*, 2014). IĀF definīcija pēc Weijs *et al.* ietver ĀF, kad ir izslēgtas kardiovaskulāras (t. sk. arteriāla hipertensija, sirds mazspēja, sirds vārstuļu patoloģija, kambaru un / vai priekškambaru hipertrofija un / vai dilatācija, koronāra sirds slimība (KSS), kardiomiopātijas), pulmonālas (t. sk. hroniska obstruktīva plaušu slimība (HOPS)), vairogdziedzera patoloģijas, cukura diabēts un hroniska nieru slimība (HNS) (Weijs *et al.*, 2013). IĀF sastāda 5–30 % no visiem ĀF gadījumiem atkarībā no lietotajiem IĀF kritērijiem (Pison *et al.*, 2014).

Ātriju fibrilācijas patoģenēze un etioloģija joprojām līdz galam nav skaidra. Tās patoģenēzē ir nozīme *re-entry* loku izveidošanai un ātrai ektoiskai elektrisko impulsu ģenerācijai. ĀF bieži ir paroksismāla, kas nozīmē, ka tā spontāni pārtraucas bez ārējas iejaukšanās, bet paroksismāla forma var pāriet persistējošā, kuras pārtraukšanai jau ir nepieciešama farmakoloģiska vai elektriska kardioversija (Iwasaki *et al.*, 2011). Ilglaicīga ĀF noved pie priekškambaru elektriskas un strukturālas remodelācijas, fibrozes attīstības, kas savukārt veicina fibrilācijas pastāvīgu saglabāšanos (Jalife, 2014; Lau *et al.*, 2016). Uzskata, ka ievērojama loma ĀF iniciācijā un persistencē ir kālija kanāliem, jo samazināta membrānas miera potenciālu uzturošo kālija kanālu aktivitāte paaugstina šūnu automatismu, savukārt pastiprināta kālija jonu iziešana no šūnas, saīsinot darbības potenciāla garumu, veicina *re-entry* loku persistējumu (Iwasaki *et al.*, 2011).

Plaši genomu asociāciju pētījumi (angļu val. *genome wide association studies*, GWAS) atklāja riska gēnus un variācijas, kas predisponē ĀF attīstību. Identificētie riska gēni atbild par proteīnu kodēšanu, kam ir nozīme sirds embrionālajā attīstībā un šūnu diferenciācijā (piem., *PITX2*, *PRRX1*), un par jonu (kālija un nātrija) kanālu izveidi (piem., *KCNJ3*, *SCN10A*, *KCNE1*) (Ellinor *et al.*, 2012).

Autoru veiktajā pētījumā tika iekļautas *PITX2* un *KCNE1* gēnu variācijas. *KCNE1* gēns kodē transmembrānu proteīnu, kas veido kālija kanālus, savukārt *PITX2* gēns kodē transkripcijas faktoru, kuram ir nozīme sirds embriogēnēzē (Zhou, Liao, and Tu, 2015; Abbott, 2016). Viena no visciešākajām ģenētiskajām asociācijām ar ĀF ir *PITX2* gēna enhansera rajonā lokalizētajam polimorfismam rs2200733, kas tika izvēlēts pētījumam (Gudbjartsson *et al.*, 2007; Lubitz, *et al.*, 2010). *PITX2* gēna produkts, iespējams, regulē jonu kanālu ekspresiju sirdī, tai skaitā arī *KCNE1* gēna ekspresiju, veidojot aritmogēno substrātu (Zhou, Gong, and Kaminski, 2012). Pētījumā tika analizētas divas *KCNE1* gēna variācijas – rs1805127 un rs1892593. Variācijai rs1805127 ir pierādīta nozīme ĀF attīstībā, savukārt variācija rs1892593 pagaidām ir maz izpētīta (Liang *et al.*, 2013).

Darba mērķis

Šī pētījuma mērķis bija noskaidrot ģenētisko variāciju rs2200733, rs1892593 un rs1805127 saistību ar ĀF attīstības risku un to ietekmi uz ĀF gaitu.

Materiāls un metodes

Pētījumā tika iesaistīti pacienti ar nevalvulāru ĀF persistējošo un ieilgušu persistējošo formu, kuri laika posmā no 2015. gada novembra līdz 2016. gada maijam tika stacionēti Paula Stradiņa Klīniskajā universitātes slimnīcā, Latvijas Kardioloģijas centrā sinusa ritma atjaunošanai ar elektrisko kardioversiju. Visi pacienti tika informēti par pētījuma būtību viņiem saprotamā valodā un ir piekrituši dalībai pētījumā. Pētījuma protokolu izskatīja LR Centrālās medicīnas ētikas komitejas sēdē un deva atzinumu par pētījuma atbilstību bioētikas principiem (atzinuma Nr. 1/16-05-09), pētījums veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju.

No pētījuma tika izslēgti ĀF pacienti, kuriem bija KSS, kardiomiopātija, sirds reimatisms, cukura diabēts, HOPS, HNS, sistēmiskas iekaisuma slimības, vairogdziedzera hipofunkcija vai hiperfunkcija. Papildus tika savākta informācija par pacientu dzīves, ģimenes, slimības anamnēzi, vispārējo veselības stāvokli, bioķīmiskajiem izmeklējumiem, ehokardiogrāfijas rezultātiem un lietotās elektriskās kardioversijas raksturojums.

Iepriekšminētiem kritērijiem atbilda 55 pacienti, kuri tika iekļauti pētījumā. DNS izdalīja no perifērajām venozajām asinīm un attīrīja pēc hloroforma-fenola metodes (*Sambrook and Russel*, 2006). *PITX2* un *KCNE1* gēnu variācijas tika noteiktas, izmantojot polimerāzes ķēdes reakciju ar tai sekojošu restrikcijas fragmentu garuma polimorfisma analīzi. Iegūtie produkti tika analizēti 8 % poliakrilamīda gelā, izmantojot sintētisko oligonukleotīdu sekvenču un restriktāzes, kā aprakstīts literatūrā (*Yao et al.*, 2012; *Kalinderi et al.*, 2015). Atkārtoti tika analizēti 10 % paraugu, un visos gadījumos paraugu genotipi sakrita. Astoņiem pacientiem tika veikta tiešā sekvenēšana, izmantojot ražotāja protokolu, visos gadījumos sekvenēšanas rezultātā iegūtie genotipi sakrita ar restrikcijas fragmentu garuma polimorfisma analīzes iegūtajiem rezultātiem (starp iekļautajiem astoņiem pacientiem bija katram polimorfismam vismaz viens pārstāvis ar kādu no trijiem genotipiem).

Dati par ģenētisko variāciju alēļu un genotipu sastopamības biežumiem kontroles populācijā tika iegūti no 1000 genomu projekta [www.1000genomebrowser.org] (*Auton et al.*, 2015), kura ietvaros minētās ģenētiskās variācijas bija analizētas 503 Eiropas populācijas indivīdiem. Kontroles grupas indivīdiem nav datu par viņu vecumu vai slimību anamnēzi.

Iegūto datu statistisko apstrādi veica, izmantojot *IBM SPSS Statistics* programmu. Pētāmo ģenētisko variāciju saistība ar ĀF attīstības risku tika analizēta, salīdzinot alēļu un genotipu biežumus starp ĀF gadījuma un kontroles grupām, izmantojot hī kvadrāta (χ^2) un Fišera tiešo testu. Atšķirīgu klīnisku un bioķīmisko rādītāju saistība ar alēlēm un genotipiem tika analizēta, izmantojot ANOVA, *Mann-Whitney U* un *Kruskal-Wallis* testu atbilstoši parametriskajiem un neparametriskajiem datiem.

Rezultāti

Pētāmās grupas vispārējs raksturojums ir atspoguļots 1. tabulā. Tā kā vīriešiem ĀF ir sastopama biežāk, tad atsevišķi rādītāji tika salīdzināti arī starp dzimumiem, statistiski ticami atšķīrās vecums – vīrieši bija jaunāki nekā sievietes ($57,6 \pm 10$ vs. $67,4 \pm 7,8$ gadi; $p < 0,001$), tāpēc vecums un dzimums tika ņemts vērā, analizējot ģenētisko variāciju saistību ar klīniskajiem rādītājiem. Citi raksturojošie lielumi starp dzimumiem statistiski ticami neatšķīrās.

Visas trīs analizētās ģenētiskās variācijas pētāmajā grupā atrodas Hārdija–Veinberga līdzsvarā, $p > 0,05$, to alēļu un genotipu biežumi AF gadījuma un kontroles grupās ir parādīti 2. tabulā.

Variācijas rs2200733 T alēle statistiski ticami ir biežāk sastopama ĀF gadījuma, nevis kontroles grupā (sk. 2. tab.). Analizējot polimorfisma rs2200733 iedzimšanas tipus, tika atklāts, ka TT un CT ir riska genotipi un alēle T iedzimst pēc autosomāli dominanta modeļa (OR = 2,01; 95 % TI 1,1–3,5; $p = 0,015$).

1. tabula. Pētāmo grupu raksturojošie lielumi

Characteristics of study group

Rādītāji	Kopā	Sievietes	Virieši	p vērtība
Pacienti, n (%)	55	20 (36,4)	35 (63,3)	—
Vidējais vecums, gadi $\pm$ SD	61,2 $\pm$ 10,4	67,4 $\pm$ 7,8	57,6 $\pm$ 10	< 0,001
Idiopātiska ātriju fibrilācija, n	8	2	6	0,696
Anamnēzes ilgums, mēneši $\pm$ SD	36,7 $\pm$ 92,3	50,8 $\pm$ 148,5	28,9 $\pm$ 35,2	0,557
Ķermeņa masas indekss, kg/m ² $\pm$ SD	31,1 $\pm$ 5,6	31,5 $\pm$ 5,4	31,0 $\pm$ 5,7	0,751
Pozitīva ģimenes anamnēze, n	13	6	7	0,506
Sinusa ritma atjaunošana ar EKV anamnēzē, n	21	6	15	0,345

SD – standartdeviācija, EKV – elektriskā kardioversija.

2. tabula. rs2200733, rs1805127 un rs1892593 alēļu un genotipu biežums pētāmajā un kontroles grupā

Allele and genotype frequencies for rs2200733, rs1805127 and rs1892593 in the study and control groups

Polimorfisms	Alēles un genotipi	Pētāmā grupa (n = 55)	Kontroles grupa (n = 503*)	p vērtība	OR	95 % TI
rs2200733	C	0,755	0,845	0,015	1,78	(1,1–2,8)
	T**	0,245	0,155			
	CC	0,563	0,722	—	—	—
	CT	0,382	0,247	—	—	—
	TT	0,055	0,032	—	—	—
rs1805127	G	0,750	0,624	0,010	1,81	(1,1–2,8)
	A**	0,250	0,376			
	GG	0,564	0,382	—	—	—
	AG	0,345	0,485	—	—	—
	AA	0,073	0,133	—	—	—
rs1892593	G	0,718	0,683	0,449	1,18	(0,8–1,8)
	A**	0,282	0,371			
	GG	0,509	0,511	—	—	—
	AG	0,418	0,362	—	—	—
	AA	0,073	0,127	—	—	—

OR (odds ratio) – izredžu attiecība, 95 % TI – 95 % ticamības intervāls (95 % confidence interval).

* Dati iegūti no 1000 genomu projekta (Auton et al., 2015).

** Minorā alēle.

Varianta rs1805127 G alēle ir riska alēle, un tā ir statistiski ticami biežāk sastopama ĀF gadījumu grupā. Riska genotips GG ir saistīts ar ĀF attīstības risku un iedzimst pēc recesīva modeļa (OR = 2,18; 95 % CI 1,2–3,8; p = 0,006). Variācija rs1892593 nav saistīta ar ĀF attīstības risku nevienā no iedzimšanas modeļiem (p > 0,05). Riska haplotipus nebija iespējams noteikt, jo dati par haplotipu biežumu kontroles grupā nav pieejami.

Salīdzinot vidējo ĀF sākšanās vecumu, tika atklāta statistiski ticama saistība ar gēna *PITX2* variācijas rs2200733 dažādiem genotipiem (CC, CT un TT genotipiem atbilstoši 59,7 $\pm$ 11,8 gadi vs. 58,4 $\pm$ 12,0 gadi vs. 44,3 $\pm$ 1,5 gadi; p = 0,038). Analizējot šī varianta T alēli recesīvajā pārmantošanas modelī, statistiski ticama saistība ar aritmijas sākšanās vecumu saglabājas – pacientiem ar TT genotipu ĀF attīstās jaunākā vecumā (44,3 $\pm$ 1,5 gadi pacientiem ar TT genotipu vs. 59,2 $\pm$ 11,8 gadi pacientiem ar CC un CT genotipiem; p = 0,016). Šī saistība saglabājas statistiski ticama, arī veicot korekciju uz potenciāliem

jaucējfactoriem – arteriālo hipertensiju un metabolo sindromu, $p = 0,047$. Analizējot variācijas rs1892593 un rs1805127 *KCNE1* gēnā un vidējo ĀF sākšanās vecumu, nevienā no pārmantošanas modeļiem statistiski ticama asociācija netika konstatēta.

Salīdzinot IĀF pacientus ar pārējiem pacientiem, statistiski ticama saistība netika atrasta, $p > 0,05$. Tāpat arī, analizējot B-tipa nātrijurētiskā peptīda (BNP) līmeni asins serumā un kreisā priekškambara tilpuma indeksa *LAVI* (angļu val. *left atrial volume index*) asociāciju ar ģenētisko variāciju genotipiem, statistiski ticama saistība netika atrasta ($p > 0,05$).

Sinusa ritma atjaunošana ar elektrisko kardioversiju (EKV) tika veikta 52 (94,5 %) pacientiem. EKV atcelšanas iemesli: spontāna sinusa ritma atjaunošanās stacionārā (viens pacients), trombotisko masu vizualizācija priekšambaros transezofageālajā ehokardiogrammā (viens pacients), nestabils *INR* (angļu val. *International Normalized Ratio*) līmenis (viens pacients). Visiem pacientiem pēc EKV tika atjaunots sinusa ritms ar stabilu hemodinamiku. Vidējais EKV mēģinājumu skaits – 1,7. Vidējais EKV stiprums, kas bija nepieciešams sinusa ritma atjaunošanai – $207,2 \pm 50,4$ J. EKV mēģinājumu skaits, kā arī stiprums, kas bija nepieciešams sekmīgai sinusa ritma atjaunošanai, neatšķīrās starp dažādiem rs2200733, rs1892593 un rs1805127 variāciju genotipiem, kā arī tie nebija saistīti ar EKV mēģinājumu skaitu un stiprumu arī pēc korekcijas ar pacientu ķermeņa masas indeksu ($p > 0,05$).

Diskusija

Ātriju fibrilācijas attīstībai predisponē vairāki riska faktori, kas ir saistīti ar pacienta pamatslimšanu un vispārējo fizisko stāvokli. Plaši genomu asociāciju pētījumi atklāja vairākus riska gēnus, kas apstiprina, ka ātriju fibrilācijai ir ģenētiska predispozīcija. Šo atklāto gēnu produkti ir nātrija un kālija jonu kanālu veidojošie proteīni, kā arī proteīni, kuriem ir nozīme kardioģenēzē (*Ellinor et al., 2012*).

Viena no nozīmīgākajām asociācijām ar ĀF ir pierādīta ģenētiskajām variācijām, kuras lokalizējas blakus *PITX2* gēnam (angļu val. *paired-like homeodomain transcription factor-2*; *Ellinor et al., 2012*). *PITX2* gēns kodē transkripcijas faktoru, kas piedalās sirds attīstības regulācijā embriogēnēzē. Pateicoties mainīgai *PITX2* gēna ekspresijai embriogēnēzes laikā, ir nodrošināta pareiza sirds kreisās-labās puses organizācija. Gēns galvenokārt tiek ekspresēts kreisajā priekškambarī, kā arī blakus pulmonālo vēnu un augšējās dobās vēnas ieplūšanas vietām sirdī. Šis sirds morfoloģiskās daļas ir ektopiskas elektriskas aktivitātes avots, kas var izraisīt ĀF paroksismus (*Haissaguerre et al., 1998*; *Lin et al., 2003*). *PITX2* gēna ekspresija turpinās kreisajā priekškambarī arī postnatāli, un ir pierādīts, ka traucējumi postnatālajā ekspresijā pie normālas embriogēnēzes paaugstina ĀF attīstības risku. Eksperimentālajā modelī pelēm inaktivēja tikai postnatālu *PITX2* gēna ekspresiju, kas rezultējās ar pārmaiņām sirds vadīšanas sistēmā, kas predisponē ātriju fibrilācijai (*Tao, 2014*). Tas būtu skaidrojams ar to, ka *PITX2* gēns regulē citus transkripcijas faktorus, koneksīnu un jonu kanālu kodējošo gēnu (t. sk. *KCNQ1*, *KCNN3* un *KCNE1*) ekspresiju, kas savukārt postnatāli veido molekulāru aritmogēno substrātu (*Franco et al., 2011*; *Zhou, Gong, and Kaminski, 2012*).

Plašos genoma asociāciju pētījumos identificētā ģenētiskā variācija rs2200733 atrodas *PITX2* enhansera rajonā, tādējādi ietekmējot *PITX2* ekspresiju šūnās. *Martin* ar kolēģiem atklāja, ka rs2200733 polimorfisma T alēle saistīta ar divas reizes paaugstinātu *PITX2* RNS ekspresiju cilvēka ātrija audos, kas tika iegūti no pacientiem sirds operāciju laikā (*Martin et al., 2015*). Turklāt *Chinchilla* un kolēģu pētījumā atklāja, ka *PITX2* gēna ekspresijas līmenis ātrija audos pacientiem ar ĀF ir zemāks nekā pacientiem bez tās (*Chinchilla et al., 2011*). Tādējādi līdz šim iegūtie eksperimentālie dati liecina, ka gan paaugstināta, gan samazināta *PITX2* gēna ekspresija ātrija audos var būt saistīta ar ĀF attīstību. Kaut gan joprojām nav skaidrs, kā tieši identificētās ģenētiskās variācijas ietekmē ĀF attīstības risku, tomēr šobrīd šo saistību skaidro pēc šāda modeļa: ģenētiskās variācijas *PITX2* gēna enhansera rajonā ietekmē tā ekspresiju, kas savukārt ietekmē jonu kanālu kodējošo gēnu ekspresiju, kas izraisa izmaiņas kardiomociņu membrānu potenciālā un novēlotu depolarizāciju, tādā veidā predisponējot fibrilācijas attīstībai (*Li, 2016*).

Pētījumā mēs analizējām *PITX2* polimorfisma rs2200733 saistību ar ĀF attīstības risku un tā ietekmi uz klīnisko gaitu. Nesenā metaanalīzē, salīdzinot 10 546 ĀF pacientus un 72 789 veselus individuus, tika secināts, ka riska alēle T statistiski ticami biežāk ir sastopama ĀF gadījumu grupā un ir saistīta ar augstāku ĀF attīstības risku (*Mohanty et al.*, 2013). Šie rezultāti tika apstiprināti arī mūsu veiktajā pētījumā.

Olesen ar kolēģiem atklāja rs2200733 asociāciju ar agrīnu idiopātiskas ĀF sākšanās vecumu (*Olesen, et al.*, 2012). Savukārt divos citos pētījumos šāda saistība netika konstatēta (*Goodloe, Herron, and Olson*, 2011; *Henningsen et al.*, 2011). Mūsu pētījumā ir pierādīta rs2200733 ģenētiskās variācijas TT genotipa saistība ar agrīnāku ĀF sākšanos, bet tas netika pierādīts, ja pacienti tika sadalīti divās grupās: idiopātiskās un neidiopātiskās ĀF pacienti. Šī atrade liecina, ka rs2200733 variācija varētu ietekmēt abu minēto ĀF formu attīstību.

Mints ar kolēģiem, pārbaudot asociāciju starp *PITX2* gēna variācijām un kreisā priekškambara lielumu, konstatēja, ka rs10033464, bet ne rs2200733 asociējas ar lielāku kreisā priekškambara tilpumu (*Mints et al.*, 2015). Šajā pētījumā kreisā priekškambara lielumu noteica, izmantojot datortomogrāfijas vai magnētiskās rezonanses angiogrāfijas metodi. Mūsu pētījumā tika analizēta ehokardiogrāfijā noteikto kreisā priekškambara tilpuma indeksa saistība ar rs2200733 genotipiem, taču statistiski ticama asociācija netika atrasta. Jāatzīmē, ka šis rādītājs bija noteikts tikai 27 (49 %) pacientiem un ir nepieciešama lielāka pacientu grupa, lai analizētu hipotētisko asociāciju.

Ātriju fibrilozes etiopatogēnēzē ir loma kālija kanāliem (*Iwasaki et al.*, 2011). Kālija kanāliem kardiomiocītos ir divas funkcijas – membrānas miera potenciāla uzturēšana un repolarizācijas procesa nodrošināšana, un abu šo procesu nepareiza norise var provocēt ĀF attīstību (*Iwasaki et al.*, 2011). Viens no svarīgākajiem jonu kanāliem kardiomiocītu repolarizācijas procesā ir I_k (angļu val. *delayed potassium current*). Cilvēkam šo jonu kanālu veido divas subvienības – ātrā (I_{kr}) un lēnā (I_{ks}), kas savā starpā atšķiras pēc kinētiskām īpašībām. Gēns *KCNE1* kodē proteīnu MinK (angļu val. *minimal potassium channel subunit*) (*Jost et al.*, 2007). MinK kopā ar *KCNQ1* gēna produktu KvLQT1 veido funkcionējušus I_{ks} (*Sanguinetti, et al.*, 1996). I_{ks} kanāls nodrošina ne tikai kālija jonu transportu repolarizācijas fāzē, bet arī regulē šīs fāzes ilgumu, neļaujot tai pagarināties. I_{ks} loma aritmiju patogēnēzē ir divējāda – pagarinoties repolarizācijai, attīstās garā QT intervāla sindroms, savukārt, palielinoties kālija jonu plūsmai caur kanālu un attiecīgi saīsinoties repolarizācijai, ĀF rs1805127 variācija izraisa proteīna N-terminālā gala aminoskābju nomaiņu – serīns nomainās uz glicīnu (*Lundby, Tseng, and Schmitt*, 2010). N-terminālais gals piedalās I_{ks} proteīna membrānu kustību regulācijā. Līdz ar to rs1805127 ietekmē I_{ks} kompleksa blīvumu uz šūnu virsmas un attiecīgi arī aktivitāti (*Girmatsion et al.*, 2011). Variācijas rs1892593 ietekme uz I_{ks} funkcijām nav zināma. Pētījumā tika analizēti divi *KCNE1* gēna polimorfismi – rs1805127 un rs1892593. Darba gaitā tika atklāts, ka rs1805127 polimorfisms asociējas ar augstāku ĀF risku. Desmit pētījumu metaanalīzē, kas ietvēra 2099 ĀF pacientus un 2252 kontroles gadījumus, šī asociācija uzrādīja statistisku ticamību (*Liang et al.*, 2013). Savukārt mūsu pētījumā netika apstiprināta rs1892593 polimorfisma saistība ar AF risku, kas tika apstiprināts arī citā pētījumā (*Yao et al.*, 2012).

Salīdzinot rs1805127 un rs1892593 variāciju genotipu biežumu idiopātiskās ātriju fibrilācijas (IĀF) un ĀF grupās, tika novērota statistiski ticama asociācija starp rs1892593 polimorfismu un IĀF. Taču, ņemot vērā to, ka netika pierādīta šī polimorfisma saistība ar augstāku ĀF risku, kā arī to, ka IĀF grupā ir tikai astoņi pacienti, visdrīzāk, statistiski ticams rezultāts ir iegūts multiplas testēšanas rezultātā.

Yao un kolēģi novēroja saistību starp rs1805127 un palielinātu kreisā priekškambara diametru (angļu val. *left auricle diameter, LAD*), ko noteica ehokardiogrāfiski (*Yao et al.*, 2012). Mēs salīdzinājām kreisā priekškambara tilpumindeksu (*LAVI*) ar riska alēļu biežumu, bet statistiski ticami rezultāti iegūti netika.

Mūsu pētījumam ir vairāki ierobežojumi. Pirmkārt, būtu nepieciešams salīdzināt ĀF pacientu grupu ar kontroles grupu no Latvijas iedzīvotāju populācijas, jo, iespējams, polimorfismu biežums var atšķirties starp Latvijas un Eiropas iedzīvotāju populācijām. Otrkārt, analizējamā ĀF grupa nav pietiekoši liela, lai varētu spriest par iespējamo asociāciju starp ģenētiskām variācijām un dažādiem rādītājiem. Treškārt, būtu nepieciešams pacientus novērot ilgākā laikposmā, lai izvērtētu, kā dažādas ģenētiskās variācijas ietekmē ĀF klīnisko gaitu.

Secinājumi

1. *PITX2* gēna rs2200733 variācijas T alēle pēc dominantā iedzimšanas tipa ir saistīta ar ātriju fibrilācijas attīstības risku, un TT genotips ir saistīts ar agrīnāku ātriju fibrilācijas sākšanās vecumu.
2. *KCNE1* gēna rs1805127 variācijas G alēle pēc recesīvā iedzimšanas tipa ir saistīta ar ātriju fibrilācijas attīstības risku.
3. *KCNE1* gēna variācijai rs1892593 asociācija ar ātriju fibrilācijas risku netika novērota.

Pateicība

Pateicamies Rīgas Stradiņa universitātei par pētījuma finansiālo atbalstu, Paula Stradiņa Klīniskajai universitātes slimnīcai par sadarbību un pacientiem par piekrišanu piedalīties pētījumā.



Association of Genetic Variants rs1805127, rs1892593 and rs2200733 with Atrial Fibrillation

Abstract

Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia. AF is characterised by uncoordinated atrial activation which results as impaired atrial mechanical functioning. Genome wide association studies have identified several AF candidate genes and risk variations. Identified genes plays an important role in a heart development or encode ion channels (potassium and sodium).

The aim of this study was to investigate association between rs2200733, rs1892593 and rs1805127 variations and the risk of developing AF and variations influencing AF clinical course.

Patients with non-valvular persistent and long-standing persistent AF who were admitted for sinus rhythm restoration with direct-current cardioversion from November 2015 to May 2016 were enrolled in the study. Data about control group was obtained from The 1000 Genome Project. Polymorphisms were genotyped by PCR-RFLP assay.

Performing statistical analysis we have found that rs2200733 variations T allele is a risk allele and is inherited in autosomal dominant pattern (OR = 2.01; 95 % CI 1.1–3.5; p = 0.015). Variations rs2200733 risk genotypes are CT and TT. Variation rs1805127 G allele is a risk allele and is inherited autosomal recessively (OR = 2.18; 95 % CI 1.2–3.8; p = 0.006). Genotype GG is associated with an increased risk of developing AF. Variation rs1892593 is not associated with atrial fibrillation risk in any model of inheritance (p > 0.05). Analysing AF clinical course it was found that SNP rs2200733 TT genotype was associated with an earlier onset of AF (44.3 ± 1.5 vs. 59.2 ± 11.8; p = 0.016). In an adjusted model for arterial hypertension and metabolic syndrome TT genotype association with an earlier onset of AF was sustained (p = 0.047).

Conclusions.

1. Variant rs2200733 T allele in *PITX2* gene in dominant model of inheritance is associated with increased risk to develop atrial fibrillation, and T allele in homozygous state is associated with the onset of atrial fibrillation at a younger age.
2. Variant 1805127 G allele in *KCNE1* gene in a recessive model of inheritance is associated with an increased risk to develop atrial fibrillation.
3. *KCNE1* gene variant rs1892593 was not associated with the risk to develop atrial fibrillation in our study.

Keywords: atrial fibrillation, *PITX2* gene, *KCNE1* gene, polymorphisms.

Literatūra

1. Abbott, G. W. KCNE1 and KCNE3: The yin and yang of voltage-gated K(+) channel regulation. *Gene*. 2016, 576(1 Pt 1), 1–13.
2. Auton, A., Brooks, L. D., Durbin, R. M., et al. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015, 526(7571), 68–74.
3. Camm, A. J., Kirchhof, P., Lip, G. Y., et al. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2010, 31(19), 2369–2429.
4. Camm, A. J., Lip, G. Y., de Caterina, R., et al. 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J*. 2012, 33(21), 2719–2747.
5. Chinchilla, A., Daimi, H., Lozano-Velasco, E., et al. PITX2 insufficiency leads to atrial electrical and structural remodeling linked to arrhythmogenesis. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011, 4(3), 269–279.
6. Chugh, S. S., Havmoeller, R., Narayanan, K., et al. Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study. *Circulation*. 2014, 129(8), 837–847.
7. Ellinor, P. T., Lunetta, K. L., Albert, C. M., et al. Meta-analysis identifies six new susceptibility loci for atrial fibrillation. *Nat Genet*. 2012, 44(6), 670–675.
8. Franco, D., Chinchilla, A., Daimi, H., et al. Modulation of conductive elements by Pitx2 and their impact on atrial arrhythmogenesis. *Cardiovasc Res*. 2011, 91(2), 223–231.
9. Freeman, J. V., Simon, D. N., Go, A. S., et al. Association between atrial fibrillation symptoms, quality of life, and patient outcomes: Results From the Outcomes Registry for Better Informed Treatment of Atrial Fibrillation (ORBIT-AF). *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2015, 8(4), 393–402.
10. Frost, L. Lone atrial fibrillation: good, bad or ugly? *Circulation*. 2007, 115(24), 3040–3041.
11. Girmatsion, Z., Biliczki, P., Takac, I., et al. N-terminal arginines modulate plasma-membrane localization of Kv7.1/KCNE1 channel complexes. *PLoS One*. 2011, 6(11), e26967.
12. Go, A. S., Hylek, E. M., Phillips, K. A., et al. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *JAMA*. 2001, 285(18), 2370–2375.
13. Goodloe, A. H., Herron, K. J., and Olson, T. M. Uncovering an intermediate phenotype associated with rs2200733 at 4q25 in lone atrial fibrillation. *Am J Cardiol*. 2011, 107(12), 1802–1805.
14. Gudbjartsson, D. F., Arnar, D. O., Helgadóttir, A., et al. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature*. 2007, 448(7151), 353–357.
15. Haissaguerre, M., Jais, P., Shah, D. C., et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med*. 1998, 339(10), 659–666.
16. Henningsen, K. M., Olesen, M. S., Haunsoe, S., and Svendsen J. H. Association of rs2200733 at 4q25 with early onset of lone atrial fibrillation in young patients. *Scand Cardiovasc J*. 2011, 45(6), 324–326.
17. Iwasaki, Y. K., Nishida, K., Kato, T., and Nattel S. Atrial fibrillation pathophysiology: implications for management. *Circulation*. 2011, 124(20), 2264–2274.
18. Jalife, J. Mechanisms of persistent atrial fibrillation. *Curr Opin Cardiol*. 2014, 29(1), 20–27.
19. January, C. T., Wann, L. S., Alpert, J. S., et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines and the Heart Rhythm Society. *Circulation*. 2014, 130(23), 2071–2104.
20. Jost, N., Papp, J. G., and Varro, A. Slow delayed rectifier potassium current (IKs) and the repolarization reserve. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2007, 12(1), 64–78.
21. Kalinderi, K., Fragakis, N., Koskinas, K. C., et al. Association between rs2200733 polymorphism on chromosome 4q25 and atrial fibrillation in a Greek population. *Hellenic J Cardiol*. 2015, 56(3), 224–229.
22. Lau, D. H., Schotten, U., Mahajan, R., et al. Novel mechanisms in the pathogenesis of atrial fibrillation: practical applications. *Eur Heart J*. 2016, 37(20), 1573–1581.
23. Li, N., Dobrev, D., and Wehrens X. H. PITX2: a master regulator of cardiac channelopathy in atrial fibrillation? *Cardiovasc Res*. 2016, 109(3), 345–347.
24. Liang, C., Li, X., Xu, Y., et al. KCNE1 rs1805127 polymorphism increases the risk of atrial fibrillation: a meta-analysis of 10 studies. *PLoS One*. 2013, 8(7), e68690.
25. Lin, W. S., Tai, C. T., Hsieh, M. H., et al. Catheter ablation of paroxysmal atrial fibrillation initiated by non-pulmonary vein ectopy. *Circulation*. 2003, 107(25), 3176–3183.

26. Lubitz, S. A., Sinner, M. F., Lunetta, K. L., et al. Independent susceptibility markers for atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Circulation*. 2010, 122(10), 976–984.
27. Lundby, A., Tseng, G. N., and Schmitt N. Structural basis for K(V)7.1-KCNE(x) interactions in the I(Ks) channel complex. *Heart Rhythm*. 2010, 7(5), 708–713.
28. Magnani, J. W., Rienstra, M., Lin, H., et al. Atrial fibrillation: current knowledge and future directions in epidemiology and genomics. *Circulation*. 2011, 124(18), 1982–1993.
29. Martin, R. I., Babaei, M. S., Choy, M. K., et al. Genetic variants associated with risk of atrial fibrillation regulate expression of PITX2, CAV1, MYOZ1, C9orf3 and FANCC. *J Mol Cell Cardiol*. 2015, 85, 207–214.
30. Mints, Y., Yarmohammadi, H., Khurram, I. M., et al. Association of common variations on chromosome 4q25 and left atrial volume in patients with atrial fibrillation. *Clin Med Insights Cardiol*. 2015, 9, 39–45.
31. Mohanty, S., Santangeli, P., Bai, R., et al. Variant rs2200733 on chromosome 4q25 confers increased risk of atrial fibrillation: evidence from a meta-analysis. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2013, 24(2), 155–161.
32. Olesen, M. S., Holst, A. G., Jabbari, J., et al. Genetic loci on chromosomes 4q25, 7p31, and 12p12 are associated with onset of lone atrial fibrillation before the age of 40 years. *Can J Cardiol*. 2012, 28(2), 191–195.
33. Pison, L., Hocini, M., Potpara, T. S., et al. Work-up and management of lone atrial fibrillation: results of the European Heart Rhythm Association Survey. *Europace*. 2014, 16(10), 1521–1523.
34. Rienstra, M., McManus, D. D., and Benjamin, E. J. Novel risk factors for atrial fibrillation: useful for risk prediction and clinical decision making? *Circulation*. 2012, 125(20), e941–946.
35. Sambrook, J. and Russell, D. W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol: chloroform. *CSH Protoc*. 2006, 2006 (1).
36. Sanguinetti, M. C., Curran, M. E., Zou, A., et al. Coassembly of K(V)LQT1 and minK (IsK) proteins to form cardiac I(Ks) potassium channel. *Nature*. 1996, 384(6604), 80–83.
37. Tao, Y., Zhang, M., Li, L., et al. Pitx2, an atrial fibrillation predisposition gene, directly regulates ion transport and intercalated disc genes. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014, 7(1), 23–32.
38. Weijs, B., de Vos, C. B., Tieleman, R. G., et al. The occurrence of cardiovascular disease during 5-year follow-up in patients with idiopathic atrial fibrillation. *Europace*. 2013, 15(1), 18–23.
39. Yao, J., Ma, Y. T., Xie, X., et al. Association of KCNE1 genetic polymorphisms with atrial fibrillation in a Chinese Han population. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012, 16(11), 1343–1346.
40. Zhou, M., Liao, Y., and Tu, X. The role of transcription factors in atrial fibrillation. *J Thorac Dis*. 2015, 7(2), 152–158.
41. Zhou, Y., Gong, B., and Kaminski, H. J. Genomic profiling reveals Pitx2 controls expression of mature extraocular muscle contraction-related genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012, 53(4), 1821–1829.