



FARMACEUTICKÁ FAKULTA
Univerzita Komenského
v Bratislave

Zvýšené riziko pľúcnej artériovej hypertenzie u pacientov s polymorfizmom génu pre endotelín-1 (rs5370)

**Natália Stollárová¹ , Lenka Bies Piváčková¹ , Emil Babiak¹ , Ján Klimas¹ , Peter Křenek¹ ,
Eva Goncalvesová² , Milan Luknár² , Gabriel Dóka¹**

(1) Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

(2) Oddelenie zlyhávania a transplantácie srdca, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb NÚSCH a.s., Bratislava



Diagnostika pľúcnej artériovej hypertenzie (PAH)

Podозrenie

- **Praktický lekár**
- -symptómy
- -anamnéza
- -fyzikálne vyšetrenia
- -krvné testy

Genetika PAH

Detekcia

- **Lekár – špecialista**
- - neinvazívne pľúcne a kardiologické testy

Potvrdenie

- **Centrá pre pľúcnu hypertenziu**
- - pravostranná katetrizácia srdca

postkapilárna PH

prekapilárna PH

kombinovaná post-a prekapilárna PH

CTEPH

PAH

Hypox PH

Mutácie asociované s PAH

- Klasifikácia génov, zohrávajúcich kauzálnu úlohu v PAH na základe levelu dôkazov (World Symposium on PH in Nice, 2018) ¹

Vyšší level dôkazov	Nižší level dôkazov
<i>BMPR2, ACVRL1 (ALK1), AQP1, ATP13A3, CAV1, EIF2AK4, ENG, GDF2 (BMP9), KCNK3, SMAD9, SOX17, TBX4</i>	<i>BMPR1B, KCNA5, KLF2, SMAD1, SMAD4</i>

- Odporúčania ESC/ERS 2022 pre diagnózu a liečbu pľúcnej hypertenzie² – zoznam génov asociovaných s hPAH a iPAH: gény s vyšším levelom dôkazov + ***ABCCB***³, ***KDR***⁴
- PAH-špecifický génový panel (Heidelberg, Nemecko; Európsky patent EP3507380)⁵

1) Morrell NW, et al. Eur Respir J. 2019;53(1):1801899.

2) Marc Humbert, et al. *European Heart Journal*, 2022: 3618–3731

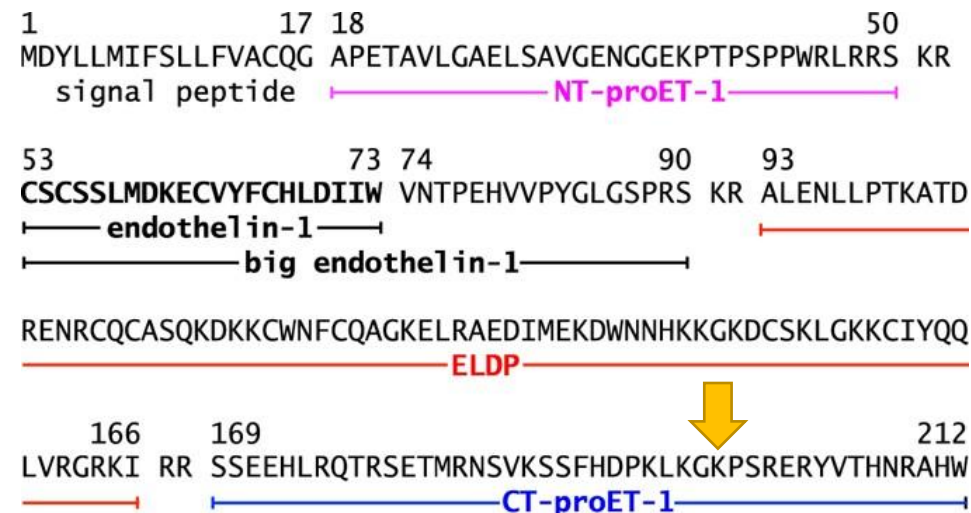
3) Bohnen MS, et al. Circ Genom Precis Med. 2018;11(10):e002087

4) Swietlik EM, et al. Circ Genom Precis Med. 2020: 15;14(1):e003155.

5) Eichstaedt et al. Respir Res. 2022: 27;23(1):74.

Polymorfizmus EDN1 (rs5370)

- Endotelín-1 zohráva kľúčovú úlohu v patofyziológii PAH spolu s dráhou NO a prostacyklínu
- Gén pre endotelín-1 (EDN1)
- Polymorfizmus EDN1 (rs5370; K198N; Lys198Asn; +134 ins/delA,), majoritná/variantná alela = G/T
- Klinický/patologický význam polymorfizmu: **benígny?/neznámy** (údaje z odborných zdrojov a predikcií)
- Alelová frekvencia v európskej populácii (s výnimkou Fínov) = 21,5 %



PreproET1 sekvencia

Polymorfizmus EDN₁ (rs5370)

Asociácia polymorfizmu EDN1 (rs5370) s PAH /PH

Štúdia	Populácia	Dizajn štúdie	Počet prípadov	Počet kontrol	Typ ochorenia	Výstup
Vadapalli et al., 2010	španielska	prípad-kontrola	41	50	PAH	RR = 2,51
Pousada et al., 2015	indická	prípad-kontrola	71	100	iPAH	OR = 3,38
Calabro, et al., 2012	talianska	prípad-kontrola	98	100	PAH	OR = 3,8

Vybrané asociácie polymorfizmu EDN1 (rs5370) s ďalšími ochoreniami: reumatická mitrálna stenóza s pridruženou PH, arteriálna hypertenzia, NCMP, primárny nefrotický syndróm, astma,..

Ciele a hypotéza

P (population)	Pacienti s podozrením na pľúcnu hypertenziu indikovaní na pravostrannú katetrizáciu srdca
E (exposure)	Nositelia polymorfizmu EDN1 (rs5370)
C (comparator)	Pacienti indikovaní na katetrizáciu bez hemodynamicky potvrdenej PH
O (outcome)	Pľúcna artériová hypertenzia (klinická klasifikácia – skupina 1): ESC/ERS 2022 kritériá: mPAP > 20; PAWP ≤ 15; PVR > 2, s vylúčením CTEPH a PH asociovanou s ochorením pľúc



„Je polymorfizmus génu pre endotelín-1 (EDN1; rs5370) asociovaný s hemodynamicky potvrdenou pľúcnou artériovou hypertenziou (PAH) u pacientov s podozrením na pľúcnu hypertenziu indikovaných na pravostrannú srdcovú katetrizáciu v porovnaní s pacientmi bez hemodynamicky potvrdenej PH?“

Metodika

- Monocentrická observačná, retrospektívna “case-control” štúdia
- Etické schválenie – Etická komisia NÚSCH
- Zber vzoriek a dát – 2018 až 2023

Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského Bratislava



**Oddelenia zlyhávania a transplantácie srdca (OZaT)
Národného ústavu srdcových a cievnych chorôb (NÚSCH)
v Bratislave**



Účastníci štúdie



Inklúzne kritériá

1. Podpísaný informovaný súhlas pacienta s účasťou na štúdiu
2. Vek ≥ 18 rokov
3. Indikácia na pravostrannú srdcovú katetrizáciu z aspoň jedného z nasledujúcich dôvodov:
 - A. podozrenie na pľúcnu hypertenziu (PH)
 - B. pacienti s potvrdenou pľúcnou hypertenziou s cieľom prehodnotenia stavu
 - C. pacienti so srdcovým zlyhávaním s cieľom posúdenia stavu pre transplantáciu srdca
 - D. prítomná, nevysvetlená dýchavica



Exklúzne kritériá

1. Odmietnutie podpísania informovaného súhlasu
2. Nedostupnosť vzorky krvi
3. Kontraindikácia pre katetrizáciu alebo nedostupnosť údajov z katetrizácie

• Prípady (“Cases“):

- pacienti s potvrdenou PAH, klinická skupina 1
- prekapilárna pľúcna hypertenzia podľa ESC/ERS2022: **mPAP > 20 mmHg, PAWP \leq 15 mmHg, PVR > 2 Wood units** + absencia CTEPH a PH asociovanej s ochorením pľúc

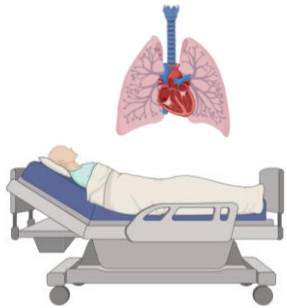
• Komparátori (“Controls“):

- pacienti hemodynamicky bez pľúcnej hypertenzie (mPAP \leq 20)

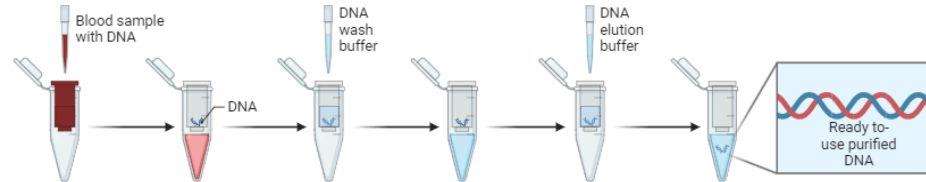
Metodika

Vzorka

- Odber a spracovanie krvi



- Izolácia DNA

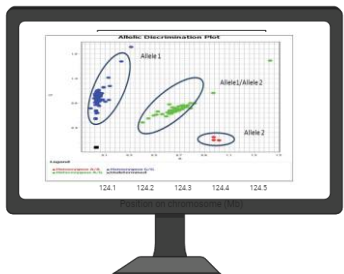


- Genotypizácia



Klinické údaje

- Pseudonymizované klinické údaje zbierané retrospektívne z času katetrizácie zahrňujúce: rutinné klinické testy, laboratórne, echokardiografické a katetrizačné údaje



Štatistické spracovanie

- Porovnanie alelovej frekvencia, gnomAD (Európska populácia s výnimkou Fínov)
- Predpokladaný dominantný genetický model
- Komparácia skupín (t-test, MW, Chi-kvadrátový test s N-1 stupňami voľnosti)
- Pomer šancí (*Odds ratio*, OR)

Všeobecná charakteristika pacientov (N = 33)

<i>Všeobecné charakteristiky</i>	<i>PAH (N = 16)</i>	<i>non-PH (N = 17)</i>	<i>adj. p-value</i>
Vek (roky; rozpätie)	41 (31 - 69)	56 (21 - 80)	0,400
BMI (kg/m ²)	26,83 ± 4,68	26,69 ± 5,17	0,935
<i>Pohlavie</i>			
Ženy	11 (69%)	8 (47%)	0,400
Muži	5 (31%)	9 (53%)	0,400
<i>NYHA funkčná skupina</i>			
II	5 (31,6%)	3 (17,6%)	0,603
III	9 (56,3%)	8 (47,1%)	0,603
IV	2 (12,5%)	1 (5,9%)	0,603
Nezadefinované	0 (0%)	5 (29,4%)	0,603
<i>Kardiopulmonárne & Echokardiografické parametre</i>			
NT-proBNP (ng/l)	1996,52 ± 2039,65	1779,41 ± 301:	0,484
cTnT (ng/l)	15,55 ± 10,93	21,98 ± 25,51	0,9619
LVEF (%)	61,75 ± 4,80	32,59 ± 17,29	<0,0001
TAPSE (mm)	16,81 ± 5,06	19,29 ± 6,68	0,4736
<i>Hemodynamické parametre</i>			
mPAP (mmHg)	51,50 ± 14,36	17,06 ± 2,44	<0,0001
PAWP (mmHg)	10,13 ± 2,94	9,94 ± 2,22	0,9078
PVR (Wood units)	10,69 ± 5,59	1,68 ± 0,53	<0,0001
TPG (mmHg)	42,50 ± 13,52	7,12 ± 1,65	<0,0001
CI (l/min/m ²)	2,39 ± 0,66	2,31 ± 0,54	0,9078

Dáta sú vyjadrené v percentuálnom zastúpení (%) alebo ako priemer±SD,

PAH = Prekapilárna pľúcna artérová hypertenzia: mPAP > 20; PAWP ≤ 15; PVR > 2

non-PH = Bez pľúcnej hypertenzie: mPAP ≤ 20

Genotyp a alelová frekvencia

Majoritná/variantná alela = G/T

Genotyp	PAH (N = 16)	non-PH (N = 17)
	Výskyt genotypu (%)	Výskyt genotypu (%)
G/G	3 (18,75 %)*	14 (82,3 %)
G/T	10 (62,5 %)*	2 (11,8 %)
T/T	3 (18,75 %)	1 (5,9 %)
HWE (P > 0,05)	P = 0,48	P = 0,09

HWE = Hardyho-Weinbergova rovnováha

	PAH (%) N = 16	non-PH (%) N = 17	v celkovej vzorke (%) N = 33	v európskej populácii# (%)	vzorka vs. európska populácia (P < 0,05)
Alelová frekvencia T	50 %	11,7 %	30,3 %	21,51%	(PAH): P= 0,0055 [§] (non-PH): P=0,325

*P < 0,05: frekvencia genotypu v PAH skupine vs. non-PH

#Alelová frekvencia v európskej populácii (s výnimkou Fínov) získaná z databázy gnomAD (v2.1.1)

§ P < 0,05; štatisticky signifikantný rozdiel medzi alelovou frekvenciou PAH alebo non-PH v porovnaní s frekvenciou európskej populácie (s výnimkou Fínov)

Hlavný výsledok

Pľúcna artériová hypertenzia (PAH) vs. Komparátori (non-PH)

Kontingenčná tabuľka

	PAH	non-PH
EDN1 rs5370 (+) Genotyp G/T, T/T	13	3
EDN1 rs5370 (-) Genotyp G/G	3	14

OR = 20,222

95% CI = (3,446 – 118,657)

P = 0,0009

Senzitivita = 81 %

Špecificita = 82 %

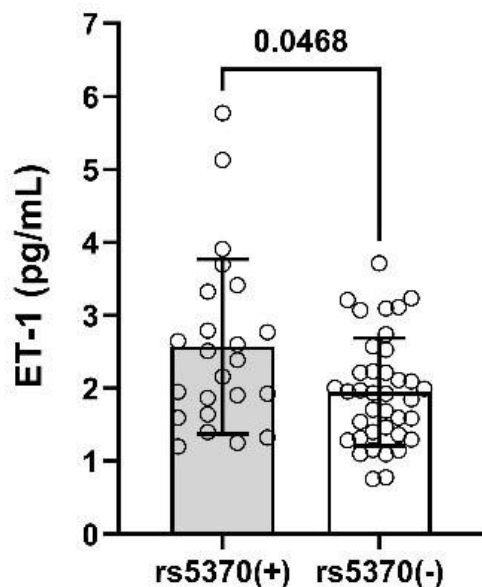
Presnosť = 82 %

AUC (ROC) = 82 %

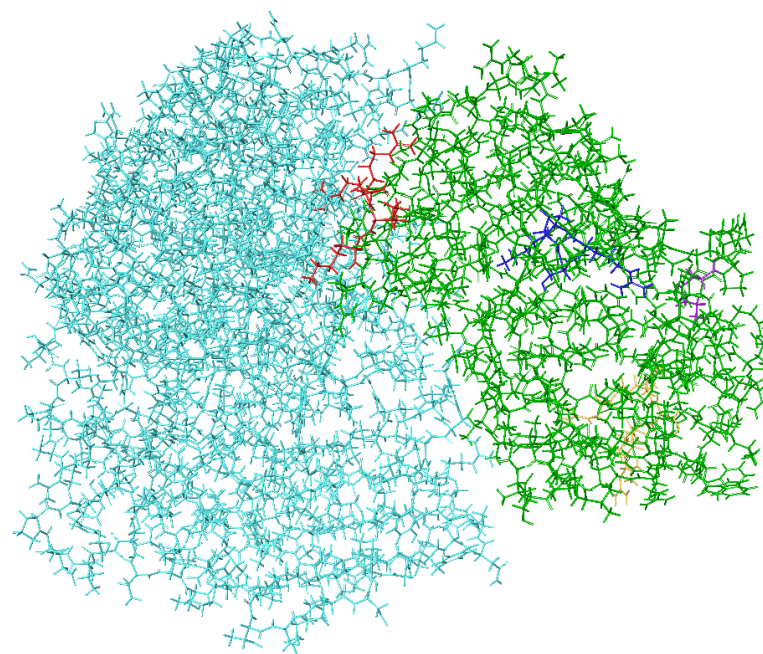
„Šanca PAH je až 20-násobne vyššia u nositeľov polymorfizmu EDN1 (rs5370), v porovnaní s inými katetrizovanými pacientmi bez hemodynamicky potvrdenej PH.“

Funkčný význam polymorfizmu EDN₁ (rs5370)

1. Stanovenie plazmatickej koncentrácie endotelínu-1 → nositelia polymorfizmu EDN1 majú vyššie hladiny endotelínu-1, než pacienti bez polymorfizmu (samostatná štúdia, n=61)
2. „Môže mať polymorfizmus EDN1 vplyv na zostrih/tvorbu funkčného maturovaného proteínu endotelínu-1?“
3. Molekulové modelovanie → prítomnosť variantu by mohla zvyšovať efektivitu proteolytického štiepenia proET-1 furínom → prejavenia sa vo zvýšenej tvorbe endotelínu-1



Porovnanie plazmatických koncentrácií endotelínu-1 u nositeľov polymorfizmu EDN1 (rs5370) vs. pacienti bez polymorfizmu.



3D štruktúra komplexu furín-proET1, (Freceer et.al 2023)

Take-home message



- zaznamenaná bola silná pozitívna asociácia medzi EDN₁ (rs5370) a prekapilárnou PAH
- šanca PAH je **až 20-násobne vyššia** u nositeľov polymorfizmu EDN₁ (rs5370), v porovnaní s inými katetrizovanými pacientmi bez hemodynamicky potvrdenej PH.

Podakovanie:

Oddelenie zlyhávania a transplantácie srdca (OZaT) Národného ústavu srdcových a cievnych chorôb (NÚSCH) v Bratislave.

Doc. MUDr. Eva Goncalvesová, CSc.

MUDr. Milan Luknár, PhD.

Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského Bratislava

prof. PharmDr. Ján Klimas, PhD., MPH

prof. Ing. Vladimír Frečer, DrSc.

doc. PharmDr. Peter Křenek, PhD.

PharmDr. Gabriel Dóka, PhD.

Mgr. Lenka Bies Piváčková, PhD.

Ing. PharmDr. Lukáš Kerti

Mgr. Emil Babiak



