

University of Groningen

The genetics of heart rate variability

Muñoz Venegas, Maria Loreto

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2016

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Muñoz Venegas, M. L. (2016). *The genetics of heart rate variability*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Summary & Glossary
Samenvatting
Resumen

Chapter 7

SUMMARY

Genetic epidemiology has witnessed exciting advances in technology and decreases in test costs and processing time requirements of huge numbers of genetic variations in the quest to understand the nature of genetic inheritance of disease and characteristics. These trends expand the myriad of study types, some of which culminate in investigating changes of a single position in DNA (called single nucleotide polymorphisms or SNPs). These studies have been carried out with varying degrees of success for a diverse range of phenotypes. As such we decided to locate and characterize genetic factors that are responsible for heart rate variability (HRV).

HRV is the beat-to-beat variation over a period of time between consecutive heartbeats and is a reliable, non-invasive, economical measure that indicates the changes in cardiac regulation by the autonomic nervous system in response to physiological and psychological challenges. Deviations of autonomic activity are reflected by a reduced HRV is strongly associated with an increased risk of cardiac events, sudden cardiac death and overall mortality. Therefore, HRV can be used as a metric for an individual's health status and as a good marker for healthy aging.

Prior studies have used HRV and evaluated the optimum HRV recording length to use. However, we wanted to take this evaluation one step further and determine if ultra-short recording lengths of 10s actually capture the 'actual' HRV of a person. If so, an additional benefit would be that routinely collected 10 seconds (s)/20s electrocardiograms (ECGs) could be used for epidemiological research and thereby the sample size of these studies could thus increase enormously. In **Chapter 2**, we used 3,387 subjects with HRV data from the general population composed of men and women aged between 44.8 to 63.2 years living in Groningen, The Netherlands used the PREVEND study. We found that ECG recordings longer than 120s are not required for reliable estimates of RMSSD and SDNN since these are almost perfectly correlated with those determined from 5min ECGs. Moreover, 10s recordings already yielded a valid proxy for RMSSD (root mean square of successive differences), while averages of multiple 10s ECGs or 30s ECGs are advised for SDNN (standard deviation of normal-to-normal intervals). Based on these findings, we doubled the sample size of the replication stage of our GWAS (Chapter 5) by processing digital 12-lead 10s ECGs from the LifeLines cohort ($n = 12,101$). The use of 10s ECGs in that study was once again justified by the almost perfect correlation between the SNP effect sizes of the stage 1 meta-analysis and that of LifeLines.

HRV in various twin studies has been shown to be heritable at rest, and even more heritable in in people of European and African-American descent in times of stress. None of these studies have used family data to disentangle the influence of heredity HRV on

the genetic and environmental factors at rest and during both mental and physical stress. In **Chapter 3** we used 1,326 subjects from a homogenous Arab population composed of five large, extended and highly consanguineous families from the Oman Family Study. In this study we showed that (a) genetic factors significantly influence HRV both in rest and under stress; (b) HRV under mental stress generally show a higher heritability estimate compared to HRV at rest, while estimates during physical stress are similar to HRV at rest; (c) there is a large overlap of genetic factors influencing HRV at rest and during stress, but also that there are some genetic effects specific to the stress conditions.

To further understand the genetic architecture of HRV, in **Chapter 4** we explored the genes involved with acetylcholine (ACh) transport or breakdown. This was an obvious choice considering that the pace-making activity of the sinoatrial node of the heart is inhibited by the parasympathetic branch of the autonomic nervous system. This in turn is mediated by ACh neurotransmission, which activates the muscarinic and nicotinic receptors. Therefore, with a candidate gene study, we assessed whether common genetic variants of eight key genes (*ACHE*, *SLC5A7*, *CHAT*, *SLC18A3*, *CHRNA3*, *CHRNA5*, *CHRNB4* and *CHRM2*) of the ACh pathway were associated with RMSSD in two stages: a discovery stage consisting of 3,429 subjects of European ancestry from four cohorts; and a replication stage of an additional 3,155 subjects of European ancestry from a further three cohorts. With the exception of the choline transporter, these eight genes had not previously been investigated in a genetic study of HRV. Although we did not find any significant associations, this did not diminish the value of the robust findings of our study. In addition, our results highlight a number of disadvantages of hypothesis-based genetic studies (i.e. *a priori* knowledge) for a complex phenotype such as HRV.

Based on the results of the previous study, it was a logical alternative to use a hypothesis-free study type, i.e. a genome wide association study (GWAS). In **Chapter 5**, this unbiased genetic approach was performed in a two-staged meta-analysis of GWAS programs. In our discovery stage, where people of European ancestry were investigated, we found 23 genetic variants suggestively associated ($p\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$) with three HRV traits, namely SDNN, RMSSD and pvRSA/HF. To confirm our findings, we used a replication sample that was drawn from different populations of European ancestry ($n = 24,478$). From this study we obtained strong evidence that 17 SNPs (11 independent) in eight loci were significantly ($p\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$) associated with HRV. Furthermore, a large number of these SNPs and loci were found to be associated in Hispanic/Latino and African-American cohorts as well, thereby reinforcing our findings and expanding it to other ethnic groups. To better understand the meaning of our meta-GWAS results, various post-GWAS analyses were performed on all 17 genome-wide significant SNPs. From a stepwise *in silico* bioinformatics-based annotation combined with eQTL analyses, nine genes in eight loci were found to be potentially causally related with HRV. Four of these genes (*NDUFA11*, *PPIL1*, *RGS6*,

and *NEO1*) were novel and ‘uniquely’ associated with HRV – meaning that they did not overlap with previously identified loci from resting heart rate.

Take home messages from this thesis

1. For RMSSD, 10s ECG recordings can be used [Chapter 2].
2. It is unnecessary to use ECG recordings longer than 120s for SDNN and RMSSD [Chapter 2].
3. HRV is heritable during rest as well as during mental and physically challenging conditions [Chapter 3].
4. HRV heritability is generally higher under mental stress compared to rest, while estimates during physical stress are similar [Chapter 3].
5. There are genetic effects that are stress - specific [Chapter 3].
6. There are limitations to using *a priori* knowledge in, for example, candidate gene studies. These can be overcome by hypothesis-free studies such as meta-GWAS [Chapter 4].
7. We are the first to identify 11 independent SNPs in eight loci to be genome-wide significantly associated with HRV. Of these, six independent SNPs in four loci (linked to *NDUFA11*, *PPIL1*, *RGS6* and *NEO1* genes) are completely novel [Chapter 5].

Glossary

DNA: deoxyribonucleic acid, is the hereditary material located in a cell’s nucleus and carries genetic information which is passed on from one generation to the next. The information of DNA is stored in four chemical bases: adenine (A), guanine (G), cytosine (C), and thymine (T). The sequence of these chemical bases determine the information used for making proteins.

SNP: single nucleotide polymorphism. It represents a difference in a single DNA chemical base. This variation can be used as a genetic marker.

ECG: electrocardiogram, is the recording of the heart’s electrical activity over a period of time using electrodes.

RMSSD: root mean square of the successive differences of inter-beat-intervals (heart beat).

SDNN: standard deviation of normal-to-normal inter-beat-intervals.

pvRSA/HF: peak valley respiratory sinus arrhythmia/high frequency.

Phenotype: this can be any of an individual's observable (e.g., physical/biochemical) characteristics.

Heritability: is the proportion of phenotypic difference due to genetic variation in a population.

Candidate gene study: this study approach is based on selecting a gene putatively involved based on the investigated trait (disease) mechanism.

GWAS: genome wide association study, identifies locations on the genome involved in human traits or diseases by searching for associations with SNPs from anywhere in the genome.

Meta-GWAS: meta-analysis of genome wide association studies, is the pooling of results from GWASs.

postGWAS: are analyses that follow the identification of loci with GWAS with the aim to translate GWAS findings into biological/functional meaning

eQTL: expression quantitative trait loci, are DNA sequence variants associated with gene expression levels.

SAMENVATTING

De genetische epidemiologie heeft een spectaculaire technologische vooruitgang geboekt als gevolg van dalingen van testkosten en verwerkingstijd van bepalingen van enorme aantallen genetische variaties, alsmede voor wat betreft het begrijpen van de aard van de genetische overerving van ziektes en kenmerken. Door deze ontwikkelingen kunnen we talloze studietypes uitzetten, waarvan sommige uitmonden in onderzoeksvormen die genetische variaties in een enkele positie in het DNA (de zogenaamde single nucleotide polymorfismen of SNP's) bestuderen. Deze studies zijn met wisselend succes uitgevoerd voor een breed scala aan fenotypes. Als zodanig hebben we besloten om genetische factoren te vinden en karakteriseren die verantwoordelijk zijn voor de hartslagvariabiliteit (HRV).

HRV is de slag-tot-slag variatie tussen opeenvolgende hartslagen gedurende een bepaalde periode en is een betrouwbare, niet-invasieve, economische maat die duidt op veranderingen in cardiale regulatie door het autonome zenuwstelsel in reactie op fysiologische en psychologische problemen. Afwijkingen van autonome activiteit gereflecteerd door een verlaagde HRV wordt sterk geassocieerd met een verhoogd risico op cardiale gebeurtenissen, plotselinge hartdood en mortaliteit. Daarom kan HRV worden gebruikt als een maatstaf voor de gezondheidstoestand van een individu en is het een goede maatstaf voor gezond ouder worden.

Eerdere studies hebben HRV gebruikt en de optimale HRV opnameduur geëvalueerd. Wij wilden echter een stap verder gaan in deze evaluatie en bepalen of ultrakorte opnamelengtes van 10s eigenlijk de 'werkelijke' HRV van een persoon vastlegt. Als dat zo is, zou een extra voordeel kunnen zijn dat de routinematig verzamelde 10 seconden (s) of 20s electrocardiogrammen (ECG) kunnen worden gebruikt voor epidemiologisch onderzoek en daardoor zou de steekproefomvang van zulke studies dus enorm kunnen toenemen. In **Hoofdstuk 2** hebben we de HRV-gegevens van 3.387 mannen en vrouwen tussen de 44,8 - 63,2 jaar, woonachtig in Groningen, Nederland uit de PREVEND studie gebruikt. Deze steekproef is representatief voor de algemene bevolking. We ontdekten dat ECG-opnamen van langer dan 120s niet nodig zijn voor betrouwbare schattingen van RMSSD en SDNN aangezien deze bijna perfect gecorreleerd zijn met de schattingen bepaald uit ECGs van 5 minuten. Bovendien leverden de 10s opnames al een geldige proxy voor RMSSD (kwadratisch gemiddelde van de opeenvolgende verschillen), terwijl geadviseerd wordt de gemiddelden van meerdere ECGs van 10s of ECGs van 30s te nemen voor SDNN (standaarddeviatie van de normale tot normale intervallen). Op basis van deze bevindingen konden we de steekproefgrootte van de replicatiefase van onze GWAS (**Hoofdstuk 5**) verdubbelen door de verwerking van digitale 12-lead 10s ECGs uit de LifeLines cohort (n = 12,101). Het gebruik van 10s ECGs werd in die studie nogmaals

gerechtvaardigd door de bijna perfecte correlatie tussen de SNP effectgrootten van de fase 1 meta-analyse en die van de LifeLines.

Van HRV is in verschillende tweelingstudies aangetoond dat het erfelijk is in rust en dat het ook erfelijk is bij blanke en Afro-Amerikaanse personen tijdens stress. Geen van de studies hebben echter gebruikgemaakt van familiedata om de genetische en omgevingsfactoren te ontwarren die de erfelijkheid van HRV beïnvloeden in rust alsmede tijdens zowel mentale als fysieke stress. In **Hoofdstuk 3** hebben we 1,326 proefpersonen gebruikt uit een homogene Arabische bevolking, bestaande uit vijf grote, uitgebreide en bloedverwante families uit de Oman Family Study. In deze studie hebben we aangetoond dat (a) genetische factoren zowel in rust als onder stress significant HRV beïnvloeden; (b) HRV onder mentale stress over het algemeen een hogere erfelijkheid vertoont vergeleken met HRV in rust; (c) er een grote overlap van genetische factoren bestaat, die HRV in rust en tijdens stress beïnvloeden, maar dat er ook enkele genetische effecten zijn die specifiek zijn voor de stresscondities.

Om de genetische architectuur van HRV beter te begrijpen, verkenden we in **Hoofdstuk 4** een aantal genen die betrokken zijn bij het acetylcholine (ACh) vervoer of afbraak. Dit was een voor de hand liggende keuze gezien het tempo waarin de activiteit van de sinusknoop van het hart door de parasympathische tak van het autonome zenuwstelsel wordt geremd. Hierdoor wordt de ACh neurotransmissie gemedieerd, die de muscarinen en de nicotinereceptoren activeert. Daarom hebben we met een kandidaatgen studie onderzocht of gemeenschappelijke genetische varianten uit acht belangrijke genen (*PIJN*, *SLC5A7*, *CHAT*, *SLC18A3*, *CHRNA3*, *CHRNA5*, *CHRNB4* en *CHRM2*) van de ACh pathway werden geassocieerd met RMSSD in twee fasen: een ontdekkingsfase bestaande uit 3,429 personen van Europese afkomst uit vier cohorten en een replicatiefase van een extra 3,155 personen van Europese afkomst uit nog eens drie cohorten. Met uitzondering van de choline transporter zijn deze acht genen nog niet eerder onderzocht in een genetische studie van HRV. Hoewel we geen significante associaties vonden, vermindert dit niet de waarde van de bevindingen van onze robuuste studie. Bovendien benadrukken onze resultaten een aantal nadelen van genetische studies die gebaseerd zijn op een hypothese (d.w.z. *a priori* kennis) van een complex fenotype als HRV.

Uitgaande van de resultaten van bovenstaande studie was het een logische alternatief om een hypothese-vrije studie te gaan doen, een zogenaamde genoom-brede associatiestudie (GWAS). In **Hoofdstuk 5** werd deze genetische benadering uitgevoerd door middel van meta-analyse van GWASs. In onze ontdekkingsfase, waarin personen van Europese afkomst werden onderzocht, vonden we 23 genetische varianten die suggestief verband

hielden (p -waarde $< 1 \times 10^{-6}$) met drie HRV maten, namelijk SDNN, RMSSD en pvRSA/HF. Om onze bevindingen te bevestigen, analyseerden we een replicatiesteekproef die werd getrokken uit verschillende populaties van dezelfde etniciteit ($n = 24,478$). In deze studie werden sterke aanwijzingen gevonden dat 17 SNPs (11 onafhankelijke) in acht genomische regio's significant (p -waarde $< 5 \times 10^{-8}$) waren geassocieerd met HRV. Verder bleek een groot aantal van deze SNPs en loci ook te zijn betrokken bij HRV in Hispanic/Latino en Afro-Amerikaanse cohorten, waardoor onze bevindingen werden versterkt en uitgebreid naar andere etnische groepen. Om de betekenis van onze meta-GWAS resultaten beter te kunnen begrijpen, werden op alle 17 genoom-brede significante SNPs diverse post-GWAS analyses uitgevoerd. Uit stapsgewijze *in silico* bioinformatica-gebaseerde annotatie gecombineerd met eQTL analyses bleek dat negen genen in acht loci potentieel causaal in verband staan met HRV. Vier van deze genen (*NDUFA11*, *PPIL1*, *RGS6* en *NEO1*) waren nieuw en 'uniek' geassocieerd met HRV - wat betekent dat ze niet overlappen met de eerder geïdentificeerde loci van de hartslag in rust.

Conclusie van dit proefschrift

1. Voor RMSSD kunnen 10s ECG-opnamen worden gebruikt [Hoofdstuk 2].
2. Het is onnodig om ECG-opnamen langer dan 120s voor SDNN en RMSSD te gebruiken [hoofdstuk 2].
3. HRV is erfelijk in rust zowel tijdens mentaal als fysiek uitdagende omstandigheden [hoofdstuk 3].
4. HRV erfelijkheid is in vergelijking met rust over het algemeen hoger onder mentale stress, terwijl de schattingen tijdens fysieke stress vergelijkbaar zijn [hoofdstuk 3].
5. Er zijn genetische effecten op HRV die stress-specifiek zijn [hoofdstuk 3].
6. Er zijn beperkingen aan het gebruik van *a priori* kennis zoals bijvoorbeeld bij de kandidaatgen studies. Deze kunnen worden overwonnen door hypothese-vrije studies zoals meta-GWAS [Hoofdstuk 4].
7. Wij hebben als eerste 11 onafhankelijke SNPs geïdentificeerd in acht genomische regio's, die significant geassocieerd zijn met HRV. Zes van deze onafhankelijke SNPs in vier loci (gekoppeld aan de *NDUFA11*, *PPIL1*, *RGS6* en *NEO1* genen) zijn volledig nieuw [Hoofdstuk 5].

RESUMEN

La epidemiología genética ha sido testigo de los avances en la tecnología y en conjunto con la disminución de los costos de las pruebas y el tiempo de procesamiento, en la búsqueda para entender la naturaleza de la herencia genética. A medida que este campo de estudio se desarrolla, podemos ampliar la cantidad de tipos de estudio, algunos de los cuales culminan en la investigación de los cambios de una sola posición en el ADN (llamados polimorfismos de nucleótido único o sílaba en inglés: SNP). Estos estudios se han realizado para una amplia gama de fenotipos, con diversos grados de éxito. Como tal, decidimos iniciar este camino de buscar y caracterizar los factores genéticos responsables de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (sílaba en inglés: HRV).

La HRV es la variación de latido-a-latido durante un período de tiempo entre latidos cardíacos consecutivos y es una reflexión fiable, no invasiva y económica de los cambios en la regulación cardíaca por el sistema nervioso autónomo en respuesta a los retos fisiológicos y psicológicos. Anomalías de la actividad autónoma se reflejan en una reducida HRV y están fuertemente asociados con un mayor riesgo de eventos cardíacos, muerte súbita cardíaca y la mortalidad general. Por lo tanto, la HRV se puede utilizar como un indicador para el estado de salud de un individuo y como un buen marcador para el envejecimiento saludable.

Estudios anteriores han utilizado HRV y han evaluado la óptima duración de la grabación de HRV. Sin embargo, hemos querido ir más allá con esta evaluación y así determinar si las longitudes de grabación ultra corto de 10 segundos realmente capturan el HRV 'real' de un sujeto. Si es así, un beneficio adicional sería que pudiésemos utilizar los electrocardiogramas (sílaba en inglés: ECG) rutinarios de 10 segundo (s) / 20s y se podrían aplicar para la investigación epidemiológica y, por lo tanto, podríamos aumentar los tamaños de muestra de forma enfática. En el **capítulo 2**, se utilizaron 3,387 sujetos con datos de HRV en la población general compuesta por hombres y mujeres de edades comprendidas entre 44,8 a 63,2 años, proveniente del estudio PREVEND, y que viven en Groningen, Holanda. Encontramos que las grabaciones de 120s o más no son necesarias, ya que son casi perfectamente correlacionados con los ECG de 5min para RMSSD y SDNN derivado de los registros de ECG. Por otra parte, 10s de grabaciones dieron un proxy válido para RMSSD, mientras que se recomienda para SDNN sacar el promedio de múltiples grabaciones de 10s o una grabación de 30s. Basándonos en estos resultados, hemos duplicado el tamaño de la muestra en la etapa de replicación de nuestra GWAS (**Capítulo 5**) mediante el procesamiento digital de 10s ECG utilizando el cohorte LifeLines (n = 12,101). El uso de 10s ECG

fue aquí justificado por la correlación casi perfecta entre los tamaños del efecto de SNP con la etapa 1 (descubrimiento) del cohorte LifeLines.

El HRV en reposo se ha demostrado ser hereditario en diversos estudios de gemelos, e incluso más heredable en los sujetos durante el estrés en los caucásicos y afroamericanos. Sin embargo, ningún estudio ha utilizado datos de familia de desentrañar los factores genéticos y ambientales del HRV en reposo y durante estrés mental y físico que influye en su herencia. En el **capítulo 3** se utilizaron 1,326 sujetos de una población árabe homogénea compuesta por cinco familias grandes y altamente consanguíneas del Estudio de Familias en Oman (nombre en inglés: Oman Family Study, sílabas en inglés: OFS). En este estudio demostramos que (a) los factores genéticos influyen significativamente tanto en reposo, como bajo estrés en el HRV; (b) HRV bajo estrés mental en general, muestran una estimación de herencia mayor en comparación con la HRV en reposo, mientras que las estimaciones durante el estrés físico son similares al HRV en reposo; y (c) existe una gran superposición de factores genéticos que influyen en la HRV en reposo y durante el estrés, con algunos efectos genéticos específicos a las condiciones de estrés.

Para mejorar la comprensión de la arquitectura genética del HRV, en el **capítulo 4** hemos explorado los genes implicados con el transporte y avería de la acetilcolina (sílabas en inglés: ACh). Elegir la ACh fue una elección obvia ya que la actividad rítmica del nodo sinoatrial del corazón es inhibida por la vía parasimpática del sistema nervioso autónomo. Esto a su vez está mediada por la neurotransmisión ACh, que activa los receptores muscarínicos y nicotínicos. Por lo tanto, con un estudio de genes candidatos, evaluamos si los variantes genéticas comunes de ocho genes claves (sílabas en inglés: *ACHE*, *SLC5A7*, *CHAT*, *SLC18A3*, *CHRNA3*, *CHRNA5*, *CHRNA4* y *CHRM2*) de la vía de la ACh se asociaron con RMSSD en dos etapas: una etapa de descubrimiento (etapa 1), que consiste en 3,429 sujetos de ascendencia europea proveniente de cuatro cohortes; y una etapa de replicación (etapa 2) de un adicional de 3,155 sujetos de ascendencia europea proveniente de otros tres cohortes. Con la excepción del transportador de colina, estos ocho genes no habían sido investigados previamente en un estudio genético de HRV. Aunque no se encontraron asociaciones significativas, esto no disminuyó los méritos de nuestro estudio robusto. Por otra parte, nuestros resultados ponen de relieve algunos aspectos negativos de los estudios genéticos basados en hipótesis (es decir, conocimiento *a priori*) para un fenotipo complejo como HRV.

Partiendo de esto, la siguiente alternativa lógica era utilizar un tipo de estudio de hipótesis libre, es decir, un estudio de asociación amplia del genoma (sílabas en inglés: GWAS). En el **capítulo 5**, este enfoque genético imparcial se realizó en una meta-análisis de dos etapas de GWAS. En nuestra etapa de descubrimiento (etapa 1), encontramos 23 variantes gené-

ticas asociadas sugestivamente (valor de $p < 1 \times 10^{-6}$) con tres rasgos del HRV, ellos siendo SDNN, RMSSD y pvRSA / HF. Para confirmar nuestros resultados, se utilizó una muestra de replicación (etapa 2) que se extrae de diferentes poblaciones de la misma etnia de origen europeo ($n = 24,478$). De este estudio se obtuvo una fuerte evidencia de que 17 SNPs (11 independientes) en ocho loci fueron significativamente (p -valor $< 5 \times 10^{-8}$) asociado con la HRV. Además, encontramos un gran número de estos SNPs y loci que estaban asociados en cohortes hispanos / latinos y afroamericanos, así, reforzando nuestros resultados y ampliando nuestros resultados a otros grupos étnicos. Para entender el significado de los resultados meta-GWAS, varios post-GWAS análisis fueron realizados utilizando los 17 SNPs que fueron genómicamente significativa (p -valor $< 5 \times 10^{-8}$). Mediante el uso de anotaciones basada en la bioinformática *in silico* en combinación con los análisis eQTL, se encontraron nueve genes en ocho loci potencialmente causales relacionada con la HRV. Cuatro de estos genes (*NDUFA11*, *PPIL1*, *RGS6*, y *NEO1*) son asociaciones nuevas y únicas - lo que significa que no se superponen con loci previamente identificada de frecuencia cardíaca en reposo.

Mensaje final

1. Para RMSSD, grabaciones 10s ECG pueden utilizarse [Capítulo 2].
2. No es necesario utilizar grabaciones/registros de ECG más de 120s para SDNN y RMSSD [Capítulo 2].
3. HRV es hereditario durante el reposo, así como durante las condiciones de estrés mentales y físicas [Capítulo 3].
4. La herencia de HRV es generalmente más alta en virtud de estrés mental en comparación con el reposo, mientras que las estimaciones durante el estrés físico son similares [Capítulo 3].
5. Hay efectos genéticos que son específicos dependiendo de la condición de estrés [Capítulo 3].
6. Hay limitaciones con estudios que requieren un conocimiento *a priori*, por ejemplo, los estudios de genes candidatos. Estos pueden ser superados por los estudios de hipótesis libre como los meta-GWAS [Capítulo 4].
7. Somos los primeros en identificar 11 SNPs independientes en ocho loci que fueron genómicamente significativos (p -valor $< 5 \times 10^{-8}$) y asociados con la HRV. De ellos, seis SNPs en cuatro loci fueron independientes (vinculados con *NDUFA11*, *PPIL1*, *RGS6* y *NEO1*) y son completamente novedoso [Capítulo 5].

