

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ORIGINAL PAPER

Ο ρόλος των μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης στην καρωτιδική στένωση σε διαβητικούς ασθενείς τύπου 2

ΣΚΟΠΟΣ Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου εμφάνισης επεισοδίων αρτηριακής θρόμβωσης. Επιπλέον, οι διαβητικοί ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένη καρωτιδική στένωση και ιδιαίτερη αύξηση του πάχους του μέσου χιτώνα αυτών των αρτηριών. Οι μεταλλάξεις Leiden (FVL) και G20210A της προθρομβίνης (FII G20210A) ευθύνονται για επεισόδια φλεβικής κυρίως, αλλά και αρτηριακής θρόμβωσης σε ορισμένες περιπτώσεις. Σε κάποιες εργασίες, οι φορείς των ανωτέρω μεταλλάξεων εμφάνιζαν αυξημένη καρωτιδική στένωση σε σχέση με άτομα που έφεραν το φυσιολογικό γονότυπο. Αναζητήθηκε ο ρόλος των μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης στην καρωτιδική στένωση και στην πάχυνση του μέσου χιτώνα σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Τριακόσια εξήντα δύο ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 από τα διαβητολογικά ιατρεία του Γενικού Νοσοκομείου Κιλκίς και της Α΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ ελέγχθηκαν για την ύπαρξη των μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) (145 άνδρες και 217 γυναίκες, μέσης ηλικίας $65,8 \pm 10$ ετών). Ακολούθησε υπερηχοτομογραφικός έλεγχος με triplex των καρωτίδων σε 55 από τα άτομα της μελέτης και, συγκεκριμένα, σε 20 άτομα με το φυσιολογικό γονότυπο, σε 10 άτομα φορείς της μετάλλαξης G20210A της προθρομβίνης, σε 23 άτομα φορείς της μετάλλαξης του παράγοντα V Leiden και σε 2 άτομα φορείς και των δύο μεταλλάξεων. Όλοι αυτοί οι ασθενείς στους οποίους έγινε υπερηχοτομογραφικός έλεγχος είχαν παρόμοιους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά επεισόδια. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Έξι άτομα (50%) φορείς της μετάλλαξης G20210A της προθρομβίνης ($p=0,258$), 6 άτομα (24%) φορείς της μετάλλαξης Leiden ($p=0,651$) και 6 άτομα (30%) με φυσιολογικό γονότυπο είχαν αυξημένη αθηρωμάτωση στις καρωτίδες, ενώ 6 άτομα (50%) φορείς της μετάλλαξης G20210A της προθρομβίνης, 19 άτομα (76%) φορείς της μετάλλαξης Leiden και 14 άτομα (70%) με φυσιολογικό γονότυπο δεν παρουσίαζαν αυξημένη αθηρωμάτωση στις καρωτίδες αρτηρίες. **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Η καρωτιδική στένωση και η πάχυνση του μέσου χιτώνα των ίδιων αρτηριών δεν επηρεάζεται από την ύπαρξη των μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης στο συγκεκριμένο δείγμα των διαβητικών ασθενών τύπου 2 της παρούσας μελέτης.

Σε πολλές μελέτες, η πάχυνση του μέσου χιτώνα των καρωτίδων σχετίζεται με την παρουσία περιφερικής αρτηριακής νόσου, στεφανιαίας νόσου, ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου και αυξημένης πιθανότητας θανάτου τα επόμενα χρόνια.¹⁻⁶ Ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρωτιδικής στένωσης αποτελούν η LDL-χοληστερόλη, η αρτηριακή υπέρταση, το κάπνισμα,

ο σακχαρώδης διαβήτης και η ηλικία, ενώ προστατευτικό ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει η HDL-χοληστερόλη.

Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) σχετίζεται άμεσα με την παρουσία μέτριων έως μεγάλων αθηρωματικών πλακών στις καρωτίδες.⁷ Επιπλέον, οι διαβητικοί έχουν τρεις φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης καρωτιδικής στένωσης σε σύγκριση με το γενικό μη διαβητικό πληθυσμό.⁸⁻¹⁰

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2010, 27(4):643-649
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2010, 27(4):643-649

**Θ. Φρεγγίδης,¹
Α. Θεοδωρίδης,²
Α. Λαμπρόπουλος³**

¹Α΄ Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης ΑΧΕΠΑ, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

²Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Κιλκίς, Κιλκίς

³Εργαστήριο Βιολογίας-Γενετικής, Τμήμα Βιολογικών Επιστημών και Προληπτικής Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

The impact of factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations on carotid stenosis in type 2 diabetes mellitus

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρητηρίου

G20210A προθρομβίνη
Θρομβοφιλία
Καρωτιδική στένωση
Leiden
Σακχαρώδης διαβήτης

Υποβλήθηκε 12.6.2009
Εγκρίθηκε 26.8.2009

Η πήξη του αίματος είναι ένα πολύπλοκο βιολογικό φαινόμενο όπου συμμετέχουν αρκετές ουσίες, οι οποίες διακρίνονται σε δύο κυρίως κατηγορίες: Στους παράγοντες πήξης, που συμβάλλουν στην πήξη του αίματος, και στους αναστολείς της πήξης, που την αναστέλλουν.¹¹

Η παθολογική κατάσταση κατά την οποία ο οργανισμός εμφανίζει αυξημένη πήκτικότητα του αίματος και εκδηλώνεται με υποτροπιάζουσες φλεβικές ή αρτηριακές θρομβώσεις, που συνοδεύονται ή όχι από πνευμονικές εμβολές, ονομάζεται θρομβοφιλία. Ένα από τα κληρονομικά αίτια αυξημένου σχηματισμού θρόμβων είναι οι μεταλλάξεις του παράγοντα της πήξης V (Leiden) με ή χωρίς αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APCR), καθώς και του παράγοντα II G20210A της προθρομβίνης. Η διάγνωση των μεταλλάξεων σε ετεροζυγωτία ή ομοζυγωτία διενεργείται με τη βοήθεια της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR).

Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C ανήκει στο αντιπηκτικό σύστημα του οργανισμού, σκοπός του οποίου είναι η διακοπή της ανεξέλεγκτης αύξησης της πήκτικότητας του αίματος. Η συγκεκριμένη δράση της ανωτέρω πρωτεΐνης εξασκείται μέσω αδρανοποίησης της ενεργού μορφής των παραγόντων πήξης V και VIII. Σε παρουσία του παράγοντα Leiden παρατηρείται αντίσταση στην αδρανοποίηση της ενεργού μορφής του παράγοντα V, δηλαδή ο παράγοντας V απενεργοποιείται δυσκολότερα και σε μεγαλύτερο χρόνο, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση της πήκτικότητας του αίματος και σε θρομβοφιλική κατάσταση. Ποσοστό >95% των ατόμων με αντίσταση στην πρωτεΐνη C παρουσιάζουν μετάλλαξη του παράγοντα πήξης V Leiden, η οποία ανακαλύφθηκε το 1994. Η μετάλλαξη αυτή οφείλεται σε αντικατάσταση της γουανίνης από αδενίνη στο νουκλεοτίδιο 1691 στο F5 γονίδιο, με αποτέλεσμα –κατά τη διάρκεια της μετάφρασης του DNA– να παράγεται αργινίνη αντί του γλουταμινικού οξέος στη θέση 506. Απότοκος της ανωτέρω αλλαγής είναι η μεταβολή της τρισδιάστατης διαμόρφωσης του παράγοντα V και η αδυναμία της πρωτεΐνης C να συνδεθεί με αυτόν και να τον απενεργοποιήσει. Οι ετεροζυγώτες της μετάλλαξης παρουσιάζουν 4–8 φορές και οι ομοζυγώτες 80 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης σε σύγκριση με τα άτομα που φέρουν το φυσιολογικό γονότυπο.¹²

Η δεύτερη σε συχνότητα κληρονομήσιμη αιτία φλεβικής θρόμβωσης είναι η μετάλλαξη 20210 στο γονίδιο της προθρομβίνης, η οποία ανακαλύφθηκε το 1996 από τον Poort. Η συγκεκριμένη γονιδιακή διαταραχή είναι συχνότερη στην καυκάσια φυλή (0,7–4%) και οφείλεται σε αντικατάσταση της γουανίνης από την αδενίνη στη θέση 20210 του γονιδίου της προθρομβίνης, με αποτέλεσμα την αύξηση κατά 30%

των επιπέδων στο πλάσμα της προθρομβίνης (είναι γνωστό ότι τα αυξημένα επίπεδα προθρομβίνης συνδέονται με θρομβοφιλία). Σε παρουσία της συγκεκριμένης μετάλλαξης ο κίνδυνος θρόμβωσης αυξάνει κατά 3–6 φορές σε σχέση με το γενικό πληθυσμό.¹³

Ο ρόλος των ανωτέρω μεταλλάξεων στην καρωτιδική στένωση και κατ' επέκταση στην αθηρωματική διαδικασία δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί πλήρως και οι διάφορες μελέτες έχουν καταλήξει σε αντιφατικά αποτελέσματα. Ορισμένοι ερευνητές προτείνουν ότι διάφοροι θρομβοφιλικόι παράγοντες, όπως η μετάλλαξη Leiden και η μετάλλαξη G20210A της προθρομβίνης, παρατηρούνται με αυξημένη συχνότητα σε άτομα με σημαντική καρωτιδική στένωση.^{14–16} Αντίθετα, άλλοι ερευνητές καταλήγουν σε ακριβώς αντίθετα συμπεράσματα και υποστηρίζουν ότι ο ρόλος των συγκεκριμένων μεταλλάξεων στην καρωτιδική στένωση δεν είναι σημαντικός.^{17,18}

Σε ορισμένες εργασίες βρέθηκε ότι η συμβολή των ανωτέρω μεταλλάξεων στην εκδήλωση εμφράγματος του μυοκαρδίου και ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου είναι μικρή,^{19–22} ενώ σε κάποιες άλλες ότι είναι σημαντική και κυρίως σε άτομα μικρότερων ηλικιών.^{23–29}

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο έλεγχος των κοινών καρωτιδίων και της αρχικής μοίρας των έσω και των έξω καρωτιδίων διαβητικών ασθενών που έφεραν τη μία ή την άλλη ή και τις δύο μεταλλάξεις για ενδεχόμενη ύπαρξη αθηρωματικών πλακών και η σύγκριση με το πάχος των καρωτιδίων διαβητικών ασθενών παρόμοιας ηλικίας, διάρκειας ΣΔ, και με ίδιους παράγοντες αγγειακής νόσου, χωρίς όμως την παρουσία κάποιας από τις μελετούμενες μεταλλάξεις.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Το υλικό της παρούσας μελέτης αποτέλεσαν άτομα που έπασχαν από ΣΔ τύπου 2 (n=362). Από τους 362 ασθενείς που μελετήθηκαν, οι 127 προέρχονταν από το Διαβητολογικό Ιατρείο της Α' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ της Θεσσαλονίκης και οι 235 από το Διαβητολογικό Ιατρείο της Παθολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου Κιλκίς. Συνολικά, συμμετείχαν 145 άνδρες και 217 γυναίκες, με μέση ηλικία 65,8±10 έτη. Οι ασθενείς, επειδή ήταν ηλικίας >45 ετών, ελάμβαναν αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (α-ΜΕΑ) ή αποκλειστή των υποδοχέων της αγγειοτασίνης II και ασπιρίνη 100 mg (όσοι παρουσίαζαν δυσανεξία στην ασπιρίνη ελάμβαναν κλοπιδογρέλη), σύμφωνα με τις συστάσεις της Αμερικανικής Διαβητολογικής Εταιρείας, ενώ στατίνες ελάμβαναν όσοι είχαν τιμές LDL >100 mg/dL.

Οι μεταλλάξεις Leiden και G20210A της προθρομβίνης εντοπίστηκαν με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμε-

ράσης (PCR) σε όλους τους διαβητικούς τύπου 2. Αποκλείστηκαν οι διαβητικοί τύπου 1 καθώς και οι ασθενείς που είχαν 1ου και 2ου βαθμού συγγένεια μεταξύ τους, λόγω του κινδύνου λανθασμένων αποτελεσμάτων στην καταγραφή των συχνοτήτων των μελετούμενων μεταλλάξεων και, τελικά, κατάληξης σε εσφαλμένα συμπεράσματα.

Ακολούθησε υπερηχοτομογραφικός έλεγχος με triplex των καρωτίδων (κοινών, έξω και έσω) και των σπονδυλικών αρτηριών και μετρήθηκε, όπου ήταν εφικτό, το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα, το φάσμα ροής και οι ταχύτητες ροής των αρτηριών. Επιπλέον, αναζητήθηκε η ύπαρξη αθηρωματικών πλάκων και υπολογίστηκε, όπου ήταν δυνατόν, ο βαθμός στένωσης στις καρωτίδες. Ελέγχθηκαν 55 άτομα από το μελετούμενο δείγμα διαβητικών ασθενών τύπου 2 και, συγκεκριμένα, 20 άτομα με το φυσιολογικό γονότυπο, 10 άτομα φορείς της μετάλλαξης G20210A της προθρομβίνης, 23 άτομα φορείς της μετάλλαξης του παράγοντα V Leiden και 2 άτομα φορείς και των δύο μεταλλάξεων. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τόσο τα άτομα φορείς των μεταλλάξεων όσο και τα άτομα που έφεραν το φυσιολογικό γονότυπο και ελέγχθηκαν με triplex είχαν ίδια κατανομή στο φύλο, ίδια περίπου ηλικία, διάρκεια ΣΔ, περίμετρο μέσης/ισχίων και δείκτη μάζας σώματος, παρόμοιο λιπιδαιμικό προφίλ, παρόμοιες τιμές γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και αρτηριακής πίεσης και παρόμοιες συνήθειες (π.χ. κάπνισμα) (πίν. 1). Μετά από έλεγχο του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα των καρωτίδων, του βαθμού στένωσης και της έκτασης των αθηρωματικών πλάκων οι ανωτέρω ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη ομάδα περιλαμβάνονταν τα άτομα με «φυσιολογική» αθηρωματική διαδικασία και στη δεύτερη ομάδα τα άτομα με αυξημένη αθηρωματική εξεργασία. Φυσιολογικό θεωρήθηκε το πάχος του μέσου χιτώνα των καρωτίδων όταν κυμαινόταν από 0,7–1,1 mm, ενώ «φυσιολογική» θεωρήθηκε η αθηρωμάτωση όταν ο αυλός των αρτηριών παρουσίαζε στένωση

<50%. Ο καθορισμός του βαθμού στένωσης των καρωτίδων έγινε με βάση τα κριτήρια της μελέτης NASCET.³⁰ Σύμφωνα με την τελευταία, στενώσεις <50% θεωρούνται μικρού ή ενδιάμεσου βαθμού και στην περίπτωση αυτή η χειρουργική αντιμετώπισή τους μπορεί να είναι επιβλαβής. Σε μεγαλύτερης έκτασης στενώσεις (>50%) μπορεί να τεθεί θέμα καρωτιδικής ενδαρτηρεκτομής.³¹

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα SPSS 14.0 με τη μέθοδο χ^2 .

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τους 362 διαβητικούς ασθενείς τύπου 2 που μελετήθηκαν, 34 ήταν φορείς της μετάλλαξης Leiden σε ετεροζυγωτία, 20 ήταν φορείς της μετάλλαξης G20210A της προθρομβίνης σε ετεροζυγωτία και 2 ήταν φορείς και των δύο μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης σε ετεροζυγωτία. Έτσι, η μετάλλαξη Leiden ήταν παρούσα σε 36 συνολικά ασθενείς (36/362, ποσοστό 9,94%) και η μετάλλαξη G20210A της προθρομβίνης σε 22 ασθενείς (22/362, ποσοστό 6,07%).

Από τους 22 διαβητικούς ασθενείς φορείς της μετάλλαξης G20210A της προθρομβίνης, 12 υποβλήθηκαν σε υπερηχοτομογραφικό έλεγχο με triplex των καρωτίδων και από αυτούς 6 παρουσίαζαν «φυσιολογικό» βαθμό αθηρωμάτωσης στις καρωτίδες αρτηρίες σε σχέση με την ηλικία τους και 6 αυξημένη αρτηριοσκλήρυνση (ποσοστό 50%). Από τους 36 διαβητικούς ασθενείς φορείς της μετάλλαξης Leiden, 25 υποβλήθηκαν σε triplex καρωτίδων και από αυτούς 19 παρουσίαζαν «φυσιολογικό» για την

Πίνακας 1. Ηλικία, διάρκεια σακχαρώδους διαβήτη (ΣΔ), φύλο, δείκτης μάζας σώματος (BMI), λόγος περιμέτρου μέσης/ισχίων, τιμές λιπιδίων, HbA1c, παρουσία αρτηριακής υπέρτασης και καπνισματικής συνήθειας στις ομάδες διαβητικών φορέων της μετάλλαξης Leiden, διαβητικών φορέων της μετάλλαξης G20210A της προθρομβίνης και διαβητικών με το φυσιολογικό γονότυπο.

	Ομάδα ασθενών με μετάλλαξη G20210A (n=12)	Ομάδα ασθενών με μετάλλαξη Leiden (n=25)	Ομάδα ελέγχου με φυσιολογικό γονότυπο (n=20)	p (Leiden)	p (G20210A)
Χοληστερόλη (mg/dL)	212±5	217±7	209±5	0,89	0,44
LDL (mg/dL)	149±5	135±8	125±3	0,95	0,75
HDL (mg/dL)	48±10	50±9	53±8	0,65	0,23
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	170±70	150±50	160±60	0,91	0,32
HbA1c (%)	7,42±2	7,77±1,5	7,30±1,7	0,29	0,31
Ηλικία (έτη)	64,5±9	63±7	61,8±5	0,39	0,23
Διάρκεια ΣΔ (έτη)	10,1±9	10,8±8	10,2±7,5	0,16	0,25
BMI (mg/kg ²)	31,5±5	30,4±5	31±4	0,34	0,25
Λόγος περιμέτρου μέσης-ισχίων	0,97±0,06	0,91±0,1	0,94±0,04	0,31	0,25
Υπέρταση (%)	66	70,5	72,2	0,40	0,35
Κάπνισμα (άτομα)	3	7	7	0,61	0,55
Φύλο (άνδρας/γυναίκα)	6/6	13/12	12/8	0,59	0,58

ηλικία τους βαθμό αθηρωμάτωσης των καρωτίδων και 6 αυξημένο (ποσοστό 24%). Από τους διαβητικούς που έφεραν το φυσιολογικό γονότυπο, 20 υποβλήθηκαν σε triplex καρωτίδων και από αυτούς 14 δεν παρουσίαζαν μεγάλη έκταση αρτηριοσκληρυνσης, ενώ 6 είχαν υψηλό για την ηλικία τους βαθμό αθηρωμάτωσης (ποσοστό 30%) (πίν. 2).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η συγκεκριμένη μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι διαβητικοί φορείς των θρομβοφιλικών μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης δεν εμφανίζουν αυξημένη πάχυνση του μέσου χιτώνα των καρωτίδων και αυξημένη καρωτιδική στένωση σε σχέση με διαβητικούς τύπου 2 που φέρουν το φυσιολογικό γονότυπο. Σε παρόμοιο συμπέρασμα κατέληξαν και άλλες εργασίες,^{17,18} ενώ, αντίθετα, σε άλλες μελέτες διαπιστώθηκε ότι οι θρομβοφιλικές αυτές διαταραχές ίσως να συμβάλλουν στην καρωτιδική στένωση και στην πάχυνση του μέσου χιτώνα των καρωτίδων.¹⁴⁻¹⁶

Η στένωση και η πάχυνση του μέσου χιτώνα των αρτηριών, όπως προαναφέρθηκε, συνδέεται στενά με την εμφάνιση ισχαιμικών επεισοδίων (έμφραγμα μυοκαρδίου, ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, περιφερική αρτηριακή νόσο). Σε ορισμένες εργασίες έχει διαπιστωθεί ότι οι ανωτέρω μεταλλάξεις συμμετέχουν στην εμφάνιση αρτηριακών θρομβωτικών επεισοδίων, ιδιαίτερα σε συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες (παιδιά, νέοι ασθενείς ακόμη και χωρίς την παρουσία παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου για αρτηριακή θρόμβωση, γυναίκες καπνίστριες ηλικίας <50 ετών).³²⁻³⁹

Στην ελληνική και τη διεθνή βιβλιογραφία δεν έχει διεξαχθεί μελέτη που να ελέγχει την επίδραση των μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης στην καρωτιδική στένωση στην ομάδα μόνο των διαβητικών ασθενών τύπου 2. Είναι γνωστό ότι οι βλάβες στο αγ-

γειακό δίκτυο των διαβητικών είναι ιδιαίτερα διάχυτες και περισσότερο εκτεταμένες σε σχέση με μη διαβητικά άτομα, οπότε έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον να διερευνηθεί η επίδραση αυτών των θρομβοφιλικών μεταλλάξεων στο ήδη επιβαρυσμένο αρτηριακό δίκτυο των διαβητικών ασθενών τύπου 2. Απαραίτητη προϋπόθεση προκειμένου να διαπιστωθεί ο ρόλος των μεταλλάξεων στην καρωτιδική στένωση είναι η εξομοίωση των υπό μελέτη διαβητικών ασθενών ως προς τους λοιπούς γνωστούς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρωτιδικής στένωσης, κάτι που δεν έγινε σε προγενέστερες μελέτες. Πράγματι, στην παρούσα μελέτη η ομάδα των διαβητικών φορέων των μεταλλάξεων παρουσίαζε ίδια κατανομή στο φύλο, ίδια περίπου ηλικία, διάρκεια διαβήτη, περίμετρο μέσης/ισχίων και δείκτη μάζας σώματος, παρόμοιο λιπιδαιμικό προφίλ, παρόμοιες τιμές γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και αρτηριακής πίεσης και παρόμοιες συνήθειες (κάπνισμα) με την ομάδα ελέγχου των διαβητικών που έφεραν το φυσιολογικό γονότυπο. Αυτός ήταν και ο λόγος του περιορισμένου αριθμού των ατόμων της ομάδας ελέγχου, επειδή τα άτομα αυτά έπρεπε να έχουν παρόμοιους παράγοντες κινδύνου αθηρωμάτωσης με την ομάδα των διαβητικών φορέων των μεταλλάξεων.

Η αθηρωμάτωση χαρακτηρίζεται από μια σταδιακή μείωση του αυλού των αρτηριών με την πάροδο των ετών. Εντοπίζεται κυρίως στις στεφανιαίες αρτηρίες, στην αορτή, στις καρωτίδες, στις λαγόνιες και στις μηριαίες αρτηρίες. Θεωρείται αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης μεταξύ γνωστών και άγνωστων προς το παρόν γενετικών παραγόντων και παραγόντων του περιβάλλοντος, η οποία καταλήγει στο σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας, μετά τη ρήξη της οποίας μπορεί να συμβεί αρτηριακή θρόμβωση με τη μορφή του ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, του εμφράγματος του μυοκαρδίου ή της οξείας ισχαιμίας των κάτω άκρων. Όπως προαναφέρθηκε, η στένωση των καρωτίδων συνδέεται στενά με τον κίνδυνο εμφάνισης ισχαιμικού επεισοδίου. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθεί αν οι μεταλλάξεις Leiden και G20210A της προθρομβίνης επιταχύνουν την αθηρωματική διαδικασία στις καρωτίδες και κατ' επέκταση στο αρτηριακό δίκτυο και οδηγούν στη δημιουργία ακόμη πιο εκτεταμένων αθηρωματικών πλακών. Από τα αποτελέσματα της μελέτης δεν προέκυψε ότι οι θρομβοφιλικές αυτές μεταλλάξεις συμβάλλουν στην ανάπτυξη περισσότερο εκτεταμένων αθηρωματικών βλαβών στις καρωτίδες αρτηρίες στο συγκεκριμένο δείγμα διαβητικών ασθενών τύπου 2. Οι ανωτέρω μεταλλάξεις ενδέχεται να συμμετέχουν στην εμφάνιση ισχαιμικών επεισοδίων με άγνωστο παθοφυσιολογικό μηχανισμό, αφού νέα άτομα φορείς των μεταλλάξεων Leiden ή G20210A της προθρομβίνης που υπέστησαν έμφραγμα του μυοκαρδίου βρέθηκε να έχουν

Πίνακας 2. Σύγκριση της συχνότητας της αθηρωμάτωσης των καρωτίδων μεταξύ φορέων των μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης και ατόμων με φυσιολογικό γονότυπο.

FIIG20210A	«Φυσιολογική» αθηρωμάτωση	Παθολογική αθηρωμάτωση	Τιμή p
Ναι	6 (50%)	6 (50%)	0,258
Όχι	14 (70%)	6 (30%)	
Leiden			
Ναι	19 (76%)	6 (24%)	0,651
Όχι	14 (70%)	6 (30%)	

φυσιολογική στεφανιογραφία.^{27–33} Παρομοίως, με άγνωστο παθοφυσιολογικό μηχανισμό φαίνεται να εμφανίσαν ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο νέα άτομα φορείς των θρομβοφιλικών μεταλλάξεων χωρίς παράγοντες κινδύνου για αθηρωμάτωση.^{24,30,34–37} Αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίο επιβάλλεται ο έλεγχος ύπαρξης θρομβοφιλικών μεταλλάξεων σε νέα άτομα που παρουσίασαν ισχαιμικά αγγειακά επεισόδια.

Απαιτείται η διεξαγωγή περαιτέρω ερευνών και με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών, ώστε να αποσαφηνιστεί καλύτερα ο ρόλος των μεταλλάξεων Leiden και G20210A της προθρομβίνης στην πάχυνση του μέσου χιτώνα των καρωτίδων και κατ'επέκταση στην αθηρωματική διαδικασία και στην εμφάνιση αρτηριακών θρομβώσεων στους διαβητικούς ασθενείς τύπου 2.

ABSTRACT

The impact of factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations on carotid stenosis in type 2 diabetes mellitus

T. FRENGIDIS,¹ A. THEODORIDIS,¹ A. LAMBROPOULOS³

¹First Propedeutic Department of Internal Medicine, "AHEPA" Hospital, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, ²General Hospital of Kilkis, Kilkis, ³Department of Molecular Biology, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2010, 27(4):643–649

OBJECTIVE Diabetes mellitus (DM) is an independent risk factor for arterial thrombosis. Patients with DM have severe carotid stenosis and increased intima-media thickness (IMT). Factor V (Leiden) and factor II (G20210A prothrombin) mutations are responsible mainly for venous thrombosis, but in some cases for arterial thrombosis also. Studies have concluded that carriers of these thrombophilic mutations present increased carotid stenosis. This is a study of the effect of Leiden and G20210A prothrombin mutations on carotid stenosis and carotid IMT in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **METHOD** A total of 362 patients with T2DM, 145 male and 217 female, mean age 65.8±10 years, from the General Hospital of Kilkis and the "AHEPA" Hospital of Thessaloniki were examined for Leiden and G20210A prothrombin mutation by polymerase chain reaction (PCR). Ultrasonography (US) was used to measure carotid IMT in 55 of the patients: 20 patients with normal genotype, 10 with factor II G20210A mutation, 23 with factor V Leiden mutation, and 2 who were carriers of both mutations. The diabetic patients on whom US was performed had the same risk factors for development of cardiovascular disease. **RESULTS** Six carriers of the factor II G20210A mutation (50%, p=0.258), 6 carriers of the factor V Leiden mutation (24%, p=0.651) and 6 patients (30%) with the wild genotype had an increased volume of atherosclerosis in the carotid arteries, while 6 carriers of the factor II G20210A mutation (50%), 19 carriers of the factor V Leiden mutation (76%) and 14 patients (70%) with the wild genotype did not have increased carotid atherosclerosis. **CONCLUSIONS** The factor V Leiden and factor II G20210A mutations do not appear to have a direct impact on carotid stenosis and carotid IMT in patients with T2DM.

Key words: Carotid stenosis, Diabetes mellitus, G20210A prothrombin, Leiden, Thrombophilia

Βιβλιογραφία

- MUDRÍKOVÁ T, SZABOVÁ E, TKÁČ I. Carotid intima-media thickness in relation to macrovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr* 2000, 112:887–891
- LORENZ M, von KEGLER S, STEINMETZ H, MARKUS H, SITZER M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range. *Stroke* 2006, 37:87–92
- YAMASAKI Y, KODAMA M, NISHIZAWA H, SAKAMOTO K, MATSUHISA M, KAJIMOTO Y ET AL. Carotid intima-media thickness in Japanese type 2 diabetic subjects: Predictors of progression and relationship with incident coronary heart disease. *Diabetes Care* 2000, 23:1310–1315
- BALDASSARRE D, AMATO M, BONDIOLI A, SIRTORI C. Normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors carotid artery intima-media thickness measured by ultrasonography. *Stroke* 2000, 31:2426–2430
- DEL SOL I, BOTS M, GROBBEE D, HOFMAN A, WITTEMAN J. Carotid intima-media thickness at different sites: Relation to incident myocardial infarction. The Rotterdam Study. *Eur Heart J* 2002, 23:934–940
- BOTS ML, HOES AW, KOUDESTAAL PJ, HOFMAN A, GROBBEE DE. Com-

- mon carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: The Rotterdam Study. *Circulation* 1997, 96:1432–1437
7. ANDALUZ N, ZUCCARELLO M. Place of drug therapy in the treatment of carotid stenosis. *CNS Drugs* 2005, 19:597–622
 8. De ANGELIS M, SCRUCCLA L, LEANDRI M, MINCIGRUCCI S, BISTONI S, BOVI M ET AL. Prevalence of carotid stenosis in type 2 diabetic patients asymptomatic for cerebrovascular disease. *Diabetes Nutr Metab* 2003, 16:48–55
 9. TANIGUCHI A, FUKUSHIMA M, KUROE A, SAKAGUCHI K, HASHIMOTO H, YOSHIOKA I ET AL. Metabolic syndrome, insulin resistance, and atherosclerosis in Japanese type 2 diabetic patients. *Metabolism* 2007, 56:1099–1103
 10. POLLEX RL, SPENCE JD, HOUSE AA, FESTERS A, HANLEY AJ, ZINMAN B ET AL. A comparison of ultrasound measurements to assess carotid atherosclerosis development in subjects with and without type 2 diabetes. *Cardiovasc Ultrasound* 2005, 3:15
 11. ΑΠΟΣΤΟΛΑΚΗΣ Μ. *Γενική Φυσιολογία*. 3η έκδοση. Εκδόσεις University Studio, Θεσσαλονίκη, 1993:254–257
 12. DAHLBAECK B, CARLSSON M, SVENSSON PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:1004–1008
 13. POORT SR, ROSENDAAL FR, REITSMA PH, BERTINA RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996, 88:3698–3703
 14. MARCUCCI R, SOFI F, FEDI S, LARI B, SESTINI I, CELLAI AP ET AL. Thrombophilic risk factors in patients with severe carotid atherosclerosis. *J Thromb Haemost* 2005, 3:502–507
 15. KIECHL S, MUIGG A, SANTER P, MITTERER M, EGGER G, OBERHOLLER M ET AL. Poor response to activated protein C as a prominent risk predictor of advanced atherosclerosis and arterial disease. *Circulation* 1999, 99:614–619
 16. GERDES V, TEN CATE H, de GROOT E, KWA V, PRINS M, REITSMA P ET AL. Arterial wall thickness and the risk of recurrent ischemic events in carriers of the prothrombin G20210A mutation with clinical manifestations of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002, 163:135–140
 17. GARG U, ARNETT D, EVANS G, ECKFELDT J. No association between factor V Leiden mutation and coronary heart disease or carotid intima media thickness: The NHLBI Family Heart Study. *Thromb Res* 1998, 89:289–293
 18. AGEWALL S, WIKSTRAND J, SUURKULA M, TENGBORN L, FAGERBERG B. Carotid artery wall morphology, haemostatic factors and cardiovascular disease. An ultrasound study in men at high and low risk from atherosclerotic disease. *Thromb Haemost* 1996, 75:701–702
 19. RIDKER PM, HENNEKENS CH, LINDPAINNER K, STAMPFER MJ, EISENBERG PR, MILETICH JP. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1995, 332:912–917
 20. ESKANDARI MK, BONTEMPO FA, HASSETT AC, FARUKI H, MAKAROUN MS. Arterial thromboembolic events in patients with the factor V Leiden mutation. *Am J Surg* 1998, 176:122–125
 21. KIM RJ, BECKER RC. Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: A meta-analysis of published studies. *Am Heart J* 2003, 146:948–957
 22. JUUL K, TYBJAERG-HANSEN A, STEFFENSEN R, KOFOED S, JENSEN G, NORDESTGAARD BG. Factor V Leiden: The Copenhagen City Heart Study and 2 meta-analyses. *Blood* 2002, 100:3–10
 23. WU AH, TSONGALIS GJ. Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases. *Am J Cardiol* 2001, 87:1361–1366
 24. MARGAGLIONE M, D'ANDREA G, GIULIANI N, BRANCACCIO V, DE LUCIA D, GRANDONE E ET AL. Inherited prothrombotic conditions and premature ischemic stroke: Sex difference in the association with factor V Leiden. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999, 19:1751–1756
 25. ROSENDAAL FR, SISCOVICK DS, SCHWARTZ SM, BEVERLY RK, PSATY BM, LONGSTRETH WT Jr ET AL. Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 1997, 89:2817–2821
 26. INBAL A, FREIMARK D, MODAN B, CHETRIT A, MATETZKY S, ROSENBERG N ET AL. Synergistic effects of prothrombotic polymorphisms and atherogenic factors on the risk of myocardial infarction in young males. *Blood* 1999, 93:2186–2190
 27. MANSOURATI J, Da COSTA A, MUNIER S, MERCIER B, TARDY B, FEREC C ET AL. Prevalence of factor V Leiden in patients with myocardial infarction and normal coronary angiography. *Thromb Haemost* 2000, 83:822–825
 28. VAN DE WATER NS, FRENCH JK, LUND M, HYDE TA, WHITE HD, BROWETT PJ. Prevalence of factor V Leiden and prothrombin variant G20210A in patients age less than 50 years with no significant stenoses at angiography three to four weeks after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000, 36:717–722
 29. LANDE G, DANTEC V, TROSSAERT M, GODIN JF, Le MAREC H. Do inherited prothrombotic factors have a role in myocardial infarction with normal coronary arteriogram? *J Intern Med* 1998, 244:543–544
 30. ROTHWELL P, ELIASZIW M, GUTNIKOV S, FOX A, TAYLOR D, MAYBERG M ET AL. Analysis of pooled data from the randomized controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis. *Lancet* 2003, 361:107–116
 31. EUROPEAN CAROTID SURGERY TRIALISTS COLLABORATIVE GROUP. Endarterectomy for moderate symptomatic carotid stenosis: Interim results from the MRC European Carotid Surgery Trial. *Lancet* 1996, 347:1591–1593
 32. KENET G, SADETZKI S, MURAD H, MARTINOWITZ U, ROSENBERG N, GITEL S ET AL. Factor V Leiden and antiphospholipid antibodies are significant risk factors for ischemic stroke in children. *Stroke* 2000, 31:1283–1288
 33. DOGGEN CJ, CATS VM, BERTINA RM, ROSENDAAL FR. Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factors: Increased risk of myocardial infarction associated with factor V Leiden or prothrombin 20210A. *Circulation* 1998, 97:1037–1041
 34. INBAL A, FREIMARK D, MODAN B, CHETRIT A, MATETZKY S, ROSEN-

- BERG N ET AL. Synergistic effects of prothrombotic polymorphisms and atherogenic factors on the risk of myocardial infarction in young males. *Blood* 1999, 93:2186–2190
35. ROSENDAAL FR, SISCOVICK DS, SCHWARTZ SM. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 1997, 90:1747–1750
36. VOETSCH B, DAMASCENO BP, CAMARGO EC, MASSARO A, BACHESCHI LA, SCAFF M ET AL. Inherited thrombophilia as a risk factor for the development of ischemic stroke in young adults. *Thromb Haemost* 2000, 83:229–233
37. LONGSTRETH WT Jr, ROSENDAAL FR, SISCOVICK DS, VOS HL, SCHWARTZ SM, PSATY BM ET AL. Risk of stroke in young women and two prothrombotic mutations: factor V Leiden and prothrombin gene variant (G20210A). *Stroke* 1998, 29:577–580
38. De STEFANO V, CHIUSOLO P, PACIARONI K, CASORELLI I, ROSSI E, MOLINARI M ET AL. Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk factor for cerebrovascular ischemic disease in young patients. *Blood* 1998, 91:3562–3565
39. GOMEZ GARCIA E, VAN GOOR M, LEEBEEK F, BROUWERS G, KOUDESTAAL P, DIPPEL D. Elevated prothrombin is a risk factor for cerebral arterial ischemia in young adults. *Clin Neurol Neurosurg* 2002, 104:285–288

Corresponding author:

T. Frengidis, 1 Spartis str., GR-611 00 Kilkis, Greece
e-mail: teofreg@hotmail.com