

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ORIGINAL PAPER

Συσχετισμός γονιδιακών πολυμορφισμών α-αλύσου του ινωδογόνου με εκδήλωση στεφανιαίας νόσου και επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος

ΣΚΟΠΟΣ Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο έλεγχος της επίδρασης πολυμορφισμών του γονιδίου της α-αλύσου του ινωδογόνου (FGA) στον κίνδυνο εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου (ΣΝ). ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ Πραγματοποιήθηκε μια προοπτική γενετική μελέτη συσχέτισης σε σύνολο 106 ασθενών που υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονταν 77 άτομα με αγγειογραφικά τεκμηριωμένη ΣΝ και 29 άτομα με αρνητική στεφανιογραφία, που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Στους ασθενείς εκτιμήθηκε η βαρύτητα της ΣΝ με τη βοήθεια του δείκτη Gensini και πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των επιπέδων ινωδογόνου πλάσματος. Ακολούθησε μελέτη γονοτύπωσης των πολυμορφισμών της α-αλύσου του ινωδογόνου FGA rs2070022 C/T, rs2070016 C/T και rs2070006 A/G με μοριακές τεχνικές. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ Η συχνότητα εμφάνισης των γονοτύπων rs2070022 CC και rs2070006 AG/GG ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με ΣΝ συγκριτικά με τα άτομα της ομάδας ελέγχου (86,7% έναντι 61,9%, $p=0,027$ και 91,4% έναντι 75,9%, $p=0,043$, αντίστοιχα). Οι ίδιοι γονότυποι είχαν σημαντική επίδραση στον κίνδυνο εκδήλωσης ΣΝ (OR=4, $p=0,027$ και OR=3,394, $p=0,045$, αντίστοιχα). Οι ασθενείς με γονότυπο CC του πολυμορφισμού FGA rs2070022 C/T είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος συγκριτικά με τους ασθενείς με γονότυπους CT/TT ($430,15 \pm 21,96$ mg/dL έναντι $354,64 \pm 30,22$ mg/dL, $p=0,05$). Οι ασθενείς με γονότυπους CT/TT του πολυμορφισμού rs2070016 είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος συγκριτικά με τους ομοζυγώτες με γονότυπο CC ($417,98 \pm 19,29$ mg/dL έναντι 307 ± 15 mg/dL, $p=0,003$). Οι ομοζυγώτες με γονότυπο CC του πολυμορφισμού rs2070016 είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές του δείκτη Gensini συγκριτικά με τα άτομα με γονότυπους CT και TT ($46,67 \pm 37,11$ έναντι $24,64 \pm 3,69$, $p=0,015$). ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ Παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών του FGA γονιδίου με την εκδήλωση ΣΝ (rs2070022 CC, rs2070006 AG/GG), τα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος (rs2070022 CC, rs2070016 CT/TT) και το δείκτη Gensini (rs2070016 CC).

Το ινωδογόνο (παράγοντας Ι) αποτελεί υδατοδιαλυτή γλυκοπρωτεΐνη που συντίθεται στα ηπατοκύτταρα και κυκλοφορεί στο πλάσμα υπό τη μορφή διμερούς, αποτελούμενου από τρία ζεύγη πολυπεπτιδικών αλυσίδων α, β και γ. Η σύνθεση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων κωδικοποιείται από τα γονίδια FGA, FGB και FGГ, αντίστοιχα, που εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 4q31.¹

Το ινωδογόνο εμπλέκεται στη διαδικασία της αιμόστασης συμμετέχοντας στην κοινή τελική οδό του συστήματος

πήξης^{2,3} και συνδεόμενο με τους υποδοχείς GrIIb/IIIa των αιμοπεταλίων κατά το σχηματισμό του θρόμβου.⁴ Επιπλέον, το ινωδογόνο διευκολύνει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων του περιφερικού αίματος στο αγγειακό ενδοθήλιο.⁵

Επιδημιολογικές μελέτες ανέδειξαν συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων ινωδογόνου και της καρδιαγγειακής νοσηρότητας. Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες επιδρούν στα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος, με

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2011, 28(1):63-69
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2011, 28(1):63-69

Β. Πεππές,¹
Γ. Ράμμος,¹
Ε. Θεοδωράκη,²
Γ. Δεδούσης,²
Ν. Ζακόπουλος¹

¹Θεραπευτική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, ΠΓΝΑ «Αλεξάνδρα», Αθήνα
²Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Association of fibrinogen α-chain polymorphisms with coronary atherosclerosis and plasma fibrinogen concentration

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

α-άλυσος ινωδογόνου
Γονιδιακοί πολυμορφισμοί
Στεφανιαία νόσος

Υποβλήθηκε 11.3.2010
Εγκρίθηκε 29.3.2010

ενδεχόμενη επίδραση στην καρδιαγγειακή νοσηρότητα. Τα τρέχοντα δεδομένα παρέχουν ενδείξεις συσχέτισης πολυμορφισμών των γονιδίων του ινωδογόνου με τα επίπεδα αυτού στο πλάσμα.

Στην κλινική μας πραγματοποιήθηκε μια προοπτική γενετική μελέτη συσχέτισης πολυμορφισμών του γονιδίου της α-αλυσού του ινωδογόνου με τον κίνδυνο εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου (ΣΝ). Η αρχική ερευνητική υπόθεση αφορούσε στο γεγονός ότι υπάρχει πιθανή συσχέτιση των συγκεκριμένων πολυμορφισμών με τη στεφανιαία αθηροσκληρήωση.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Πληθυσμός μελέτης

Ο πληθυσμός της μελέτης περιελάμβανε συνολικά 106 ασθενείς, που υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους και εντάχθηκαν στο ερευνητικό πρωτόκολλο προοπτικά από το Σεπτέμβριο του 2005 έως και το Φεβρουάριο του 2008.

Μεταξύ αυτών, καταγράφηκαν 77 άτομα με αγγειογραφικά τεκμηριωμένη ΣΝ, που ορίστηκε ως στένωση $\geq 50\%$ σε τουλάχιστον μία από τις τρεις κύριες επικάρδιες στεφανιαίες αρτηρίες. Εξήντα δύο άτομα από αυτά έπασχαν από οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (58,49%) και 15 παρουσίασαν συμπτώματα σταθερής στηθάγχης (14,15%).

Οι υπόλοιποι 29 ασθενείς δεν εμφάνισαν σημαντικά παθολογικά στεφανιογραφικά ευρήματα (στενωτικές βλάβες $< 50\%$) και αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου (27,36%).

Εκτίμηση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου

Στους ασθενείς της μελέτης αναζητήθηκε η παρουσία παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, στους οποίους περιλαμβάνεται το άρρεν φύλο, η αρτηριακή υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης, το θετικό οικογενειακό ιστορικό ΣΝ και η χρήση καπνού.

Πραγματοποιήθηκε καταγραφή της χορηγούμενης φαρμακευτικής αγωγής, πριν και κατά τη διάρκεια της νοσηλείας, καθώς και προσδιορισμός των επιπέδων του ινωδογόνου πλάσματος κατά την εισαγωγή των ασθενών στο νοσοκομείο.

Ως υπερτασικοί θεωρήθηκαν οι ασθενείς που ελάμβαναν ήδη αντιυπερτασική αγωγή πριν από την εισαγωγή, καθώς και εκείνοι με τιμές αρτηριακής πίεσης $> 140/90$ mmHg σε τουλάχιστον τρεις μετρήσεις κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους.

Ως ασθενείς με δυσλιπιδαιμία θεωρήθηκαν (α) όσοι ελάμβαναν ήδη υπολιπιδαιμική αγωγή πριν από την εισαγωγή, (β) οι ασθενείς με αγγειογραφικά τεκμηριωμένη ΣΝ ή σακχαρώδη διαβήτη και επίπεδα LDL-χοληστερόλης > 100 mg/dL και (γ) άτομα με επίπεδα τριγλυκεριδίων > 150 mg/dL.

Ως διαβητικοί θεωρήθηκαν οι ασθενείς που ελάμβαναν αγωγή με αντιδιαβητικά δισκία ή ινσουλίνη πριν από την εισαγωγή, καθώς και όσοι εμφάνισαν επίπεδα γλυκόζης πλάσματος νηστείας > 126 mg/dL σε τουλάχιστον δύο μετρήσεις κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους.

Οι ασθενείς με θετικό οικογενειακό ιστορικό είχαν τουλάχιστον ένα συγγενικό πρόσωπο πρώτου βαθμού με ΣΝ.

Επιλογή γονιδιακών πολυμορφισμών και μελέτη γονοτύπωσης

Το γενωμικό DNA εξήχθη από λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος των ασθενών με τη μέθοδο εφαρμογής αλατούχου διαλύματος.⁶

Πραγματοποιήθηκε μελέτη γονοτύπωσης που περιλαμβάνει τους πολυμορφισμούς rs2070022 C/T, rs2070016 C/T και rs2070006 A/G του γονιδίου της α-αλυσού του ινωδογόνου (FGA), με τη βοήθεια της μεθόδου APEX-2. Ο πολυμορφισμός rs2070022 C/T εντοπίζεται στο 3' άκρο, ο rs2070016 C/T στο ιντρόνιο 2 και ο rs2070006 A/G κοντά στο 5' άκρο του γονιδίου FGA.

Η επιλογή των συγκεκριμένων πολυμορφισμών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της εφαρμογής του αλγορίθμου του Carlson,⁷ ο οποίος χρησιμοποιείται εκτενώς σε μελέτες γενετικής συσχέτισης.

Η Επιτροπή Δεοντολογίας ενέκρινε την εφαρμογή του ερευνητικού πρωτοκόλλου, ενώ η συγκατάθεση των ασθενών ελήφθη πριν από τη διενέργεια της μελέτης γονοτύπωσης.

Αξιολόγηση των ευρημάτων της στεφανιογραφίας

Εκτιμήθηκε η βαρύτητα της ΣΝ με βάση τα ευρήματα της στεφανιογραφίας και προσδιορίστηκε η τιμή του δείκτη Gensini.

Ο δείκτης Gensini υπολογίστηκε με βάση το ποσοστό στένωσης του αυλού των επικάρδιων στεφανιαίων αρτηριών και την ανατομική εντόπιση των βλαβών. Ειδικότερα, αγγειακές στενωτικές αλλοιώσεις σε ποσοστά 25%, 50%, 75%, 90%, 99% και 100% αντιστοιχούν σε τιμές του δείκτη Gensini 1, 2, 4, 8, 16 και 32. Επιπλέον, λαμβάνεται υπ' όψη η ανατομική εντόπιση των βλαβών και, ανάλογα με αυτή, η αρχική τιμή πολλαπλασιάζεται με ένα συντελεστή που είναι $\times 5$ για το κύριο στέλεχος της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, $\times 2,5$ για το εγγύς τμήμα του προσθίου κατιόντος κλάδου ή για το εγγύς τμήμα του περισπώμενου κλάδου, $\times 1,5$ για τη μεσότητα του προσθίου κατιόντος κλάδου και $\times 1$ για τη δεξιά στεφανιαία αρτηρία ή το περιφερικό τμήμα του προσθίου κατιόντος κλάδου.^{8,9}

Στατιστική ανάλυση

Η κατανομή γονοτύπων για κάθε πολυμορφισμό του γονιδίου FGA μεταξύ ασθενών και μαρτύρων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της δοκιμασίας χ^2 . Η εκτίμηση της σχέσης μεταξύ γονοτύπων των εν λόγω πολυμορφισμών με την εμφάνιση ΣΝ στον πληθυσμό της μελέτης πραγματοποιήθηκε με ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (binary logistic regression).

Με τη στατιστική ανάλυση του t-test, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των μέσων τιμών των επιπέδων ινωδογόνου πλάσματος και του δείκτη Gensini, σε συνάρτηση με τους γονότυπους των πολυμορφισμών του FGA γονιδίου. Τέλος, διενεργήθηκε πολυπαραγοντική μελέτη γραμμικής παλινδρόμησης (multivariate linear regression analysis) προκειμένου να ελεγχθούν οι επιδράσεις των γονοτύπων στα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος.

Για μεθοδολογικούς σκοπούς, υπολογίστηκε το άθροισμα της συχνότητας ετεροζυγωτών και ομοζυγωτών κάθε πολυμορφισμού χωριστά και συγκρίθηκε με τη συχνότητα εμφάνισης ομοζυγωτών του «άγριου» γονοτύπου. Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας καθορίστηκε η τιμή $p < 0,05$ σε όλες τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν.

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων διεκπεραιώθηκε με την εφαρμογή του λογισμικού Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 13.0.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η επίπτωση της δυσλιπιδαιμίας, της αρτηριακής υπέρτασης, της χρήσης καπνού και του άρρενος φύλου ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με ΣΝ απ' ό,τι στους ασθενείς της ομάδας ελέγχου ($p < 0,001$, $p = 0,016$, $p = 0,003$ και $p = 0,001$, αντίστοιχα, πίν. 1). Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στην επίπτωση του σακχαρώδους διαβήτη και του θετικού οικογενειακού ιστορικού ΣΝ μεταξύ των δύο ομάδων ($p = 0,345$ και $p = 0,53$, αντίστοιχα, πίν. 1), γεγονός που αποδίδεται στο σχετικά μικρό μέγεθος του πληθυσμού της μελέτης.

Στην ομάδα ασθενών με τεκμηριωμένη ΣΝ, η μέση ηλικία των γυναικών ήταν σημαντικά μεγαλύτερη έναντι των ανδρών ($p = 0,05$, πίν. 1). Τα άτομα με ΣΝ εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερες μέσες τιμές ινωδογόνου πλάσματος και τιμές του δείκτη Gensini έναντι των ατόμων της ομάδας ελέγχου ($p = 0,036$ και $p < 0,001$, αντίστοιχα, πίν. 1). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές αναφορικά με το σωματικό βάρος, το δείκτη μάζας σώματος (BMI) και την αναλογία μέσης/ισχίων (waist-to-hip-ratio) μεταξύ των ασθενών των δύο ομάδων ($p = 0,1$, $p = 0,108$ και $p = 0,28$, αντίστοιχα, πίν. 1).

Ο γονότυπος CC (ομοζυγώτες) του πολυμορφισμού FGA rs2070022 C/T εντοπίστηκε σε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό στους ασθενείς με ΣΝ έναντι των μαρτύρων ($p = 0,027$, πίν. 2). Ομοίως, οι γονότυποι AG και GG (ομοζυγώτες και ετεροζυγώτες) του πολυμορφισμού FGA rs2070006 A/G παρουσιάζονταν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό στην ομάδα των ασθενών με ΣΝ έναντι των μαρτύρων ($p = 0,043$, πίν. 2).

Ο γονότυπος CC (ομοζυγώτες) του πολυμορφισμού FGA rs2070022 C/T και οι γονότυποι AG και GG (ετεροζυγώτες και ομοζυγώτες) του πολυμορφισμού FGA rs2070006 A/G σχετίζονταν σημαντικά με την εκδήλωση ΣΝ, στον πληθυσμό της μελέτης ($p = 0,027$ και $p = 0,045$, αντίστοιχα, πίν. 3).

Οι ομοζυγώτες με γονότυπο CC του πολυμορφισμού FGA rs2070022 C/T είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος συγκριτικά με τους φορείς των γονοτύπων CT και TT ($p = 0,05$, πίν. 4). Οι ασθενείς με γο-

Πίνακας 1. Βασικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού μελέτης.

| | Ασθενείς με ΣΝ (%)* | Ασθενείς ομάδας ελέγχου (%)* | χ^2 | OR | 95% CI | p |
|--------------------------------------|---------------------|------------------------------|----------|-------|-------------|--------|
| Άρρεν φύλο | 47,17 | 7,55 | 11,860 | 0,425 | 0,230–0,784 | 0,001 |
| Χρήση καπνού | 46,23 | 8,49 | 9,037 | 0,488 | 0,276–0,861 | 0,003 |
| Αρτηριακή υπέρταση | 49,01 | 24,53 | 5,304 | 1,328 | 1,089–1,619 | 0,016 |
| Δυσλιπιδαιμία | 66,98 | 16,98 | 14,210 | 0,673 | 0,503–0,901 | <0,001 |
| Σακχαρώδης διαβήτης | 16,98 | 4,72 | 0,467 | 0,738 | 0,302–1,803 | 0,345 |
| Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ | 47,17 | 7,55 | 0,037 | 0,929 | 0,440–1,962 | 0,53 |
| Μέση ηλικία (έτη) | 60,45±10,76 | 66,14±9,6 | – | – | – | 0,204 |
| Άνδρες ασθενείς | 58,7±1,43 | – | – | – | – | 0,05 |
| Γυναίκες ασθενείς | 63,7±2,17 | – | – | – | – | |
| Επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος (mg/dL) | 447,64±19,22 | 368,47±26,73 | – | – | – | 0,036 |
| Δείκτης Gensini | 35,18±3,22 | 0,31±0,15 | – | – | – | <0,001 |
| Βάρος σώματος (kg) | 78,17±13,5 | 76,45±16,24 | | | | 0,10 |
| Δείκτης μάζας σώματος (BMI) | 27,83±4,2 | 29,68±5,23 | | | | 0,108 |
| Αναλογία μέσης/ισχίων (WHR) | 0,96±0,07 | 1,10±0,23 | | | | 0,28 |

*Οι αριθμοί αντιστοιχούν σε επιμέρους ποσοστά επί του συνολικού πληθυσμού μελέτης

ΣΝ: Στεφανιαία νόσος, OR: Odds ratio (λόγος πιθανοτήτων), 95% CI: Confidence interval (διάστημα εμπιστοσύνης), WHR: Waist-to-hip-ratio

Πίνακας 2. Κατανομή γονοτύπων πολυμορφισμών του γονιδίου FGA μεταξύ ασθενών με και χωρίς στεφανιαία νόσο (ΣΝ).

| Πολυμορφισμός | Γονότυπος | Ασθενείς με ΣΝ (n) | Ασθενείς ομάδας ελέγχου (n)* | χ^2 | OR | 95% CI | p |
|-------------------|-----------|--------------------|------------------------------|----------|----------------|-----------------------------|-------|
| FGA rs2070022 C/T | CC | 67 (86,7)* | 18 (61,9) | 5,253 | 0,714 2,857 | 0,501–1,018 1,135–7,192 | 0,027 |
| | CT+TT | 10 (13,3) | 11 (38,1) | | | | |
| FGA rs2070016 C/T | CC | 3 (4,4) | 2 (4,8) | 0,003 | 1,071 0,997 | 0,103–11,166 0,889–1,118 | 0,690 |
| | CT+TT | 74 (95,6) | 27 (95,2) | | | | |
| FGA rs2070006 A/G | AA | 7 (8,6) | 7 (24,1) | 4,356 | 2,816 0,830 | 1,035–7,661 0,668–1,031 | 0,043 |
| | AG+GG | 70 (91,4) | 22 (75,9) | | | | |

* Οι αριθμοί εντός παρενθέσεων αντιστοιχούν σε συχνότητες εμφάνισης κάθε γονοτύπου μεταξύ των ασθενών με ΣΝ και των ασθενών της ομάδας ελέγχου
OR: Odds ratio (λόγος πιθανοτήτων), 95% CI: Confidence interval (διάστημα εμπιστοσύνης)

Πίνακας 3. Συσχέτιση γονοτύπων πολυμορφισμών του γονιδίου FGA με την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου (ΣΝ) στον πληθυσμό μελέτης.

| Πολυμορφισμός | Γονότυπος | OR | 95% CI | p |
|-------------------|-----------|-------|--------------|-------|
| FGA rs2070022 C/T | CC | 4,000 | 1,168–13,693 | 0,027 |
| FGA rs2070016 C/T | CT+TT | 1,075 | 0,092–12,562 | 0,954 |
| FGA rs2070006 A/G | AG+GG | 3,394 | 1,029–11,192 | 0,045 |

OR: Odds ratio (λόγος πιθανοτήτων), 95% CI: Confidence interval (διάστημα εμπιστοσύνης)

Πίνακας 4. Η μέση τιμή του ινωδογόνου πλάσματος σε συνάρτηση με γονότυπους των πολυμορφισμών rs2070022 C/T, rs2070016 C/T, rs2070006 A/G του γονιδίου FGA στον πληθυσμό της μελέτης.

| Πολυμορφισμός | Γονότυπος | Επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος (mg/dL) (95% CI) | p |
|-------------------|-----------|---|-------|
| FGA rs2070022 C/T | CC | 430,15±21,96 | 0,050 |
| | CT+TT | 354,64±30,22 | |
| FGA rs2070016 C/T | CC | 307±15 | 0,003 |
| | CT+TT | 417,98±19,29 | |
| FGA rs2070006 A/G | AA | 383,0±43,784 | 0,264 |
| | AG+GG | 439,12±17,817 | |

95% CI: Confidence interval (διάστημα εμπιστοσύνης)

νότυπους CT και TT του πολυμορφισμού FGA rs2070016 C/T είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος συγκριτικά με τους ασθενείς με γονότυπο CC ($p=0,003$, πίν. 4).

Οι ομοζυγώτες με γονότυπο CC του πολυμορφισμού FGA rs2070016 C/T εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερες τιμές δείκτη Gensini συγκριτικά με τους φορείς των γονοτύπων CT και TT ($p=0,015$, πίν. 5).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται μελέτες που τεκμηριώνουν τη σχέση μεταξύ αυξημένων επιπέδων ινωδο-

Πίνακας 5. Η μέση τιμή του δείκτη Gensini σε συνάρτηση με γονότυπους των πολυμορφισμών rs2070022 C/T, rs2070016 C/T, rs2070006 A/G του γονιδίου FGA στον πληθυσμό της μελέτης.

| Πολυμορφισμός | Γονότυπος | Δείκτης Gensini (95% CI) | p |
|-------------------|-----------|--------------------------|-------|
| FGA rs2070022 C/T | CC | 25,75±4,04 | 0,970 |
| | CT+TT | 25,38±10,67 | |
| FGA rs2070016 C/T | CC | 46,67±37,11 | 0,015 |
| | CT+TT | 24,64±3,69 | |
| FGA rs2070006 A/G | AA | 22,08±9,30 | 0,455 |
| | AG+GG | 26,59±3,11 | |

95% CI: Confidence interval (διάστημα εμπιστοσύνης)

γόνου πλάσματος και του καρδιαγγειακού κινδύνου^{10–14} αφ' ενός και μεταξύ γονιδιακών πολυμορφισμών και επιπέδων του ινωδογόνου πλάσματος αφ' ετέρου.^{15–20}

Η μελέτη Gothenburg¹⁰ έδειξε ότι τα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος αποτελούσαν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου εκδήλωσης οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Στη μελέτη Northwick Park Heart Study (NPHS)¹¹ φάνηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου και του παράγοντα VII στο πλάσμα συνδέονταν με σημαντικό κίνδυνο εκδήλωσης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου εντός πενταετίας. Στη μελέτη Framingham^{15,16} διαπιστώθηκε ότι επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος >450 mg/dL σχετίζονταν με αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου και στα δύο φύλα, ενώ η επίδρασή τους στην καρδιαγγειακή νοσηρότητα ήταν ανάλογη αυτής των κλασικών παραγόντων κινδύνου, όπως της αρτηριακής υπέρτασης, της παχυσαρκίας, του καπνίσματος και του σακχαρώδους διαβήτη.

Στην παρούσα μελέτη, οι ασθενείς με ΣΝ εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος συγκριτικά με τους ασθενείς της ομάδας ελέγχου. Τα υπάρχοντα δεδομένα ενισχύουν την άποψη ότι γενετικοί παράγοντες καθορίζουν τα επίπεδα φλεγμονωδών δεικτών στο πλάσμα, όπως είναι το ινωδογόνο.¹⁷ Στη μελέτη ECTIM¹⁸ παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση με-

ταξύ πολυμορφισμών του γονιδίου της β-αλύσου (FGB) με τα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος και με την εκδήλωση ΣΝ, ιδίως σε καπνιστές. Στη μελέτη AIRGENE,¹⁹ πολυμορφισμοί των γονιδίων της α- και β-αλύσου του ινωδογόνου (FGA, FGB) συσχετίστηκαν με τα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος ασθενών με ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου. Ειδικότερα, οι πολυμορφισμοί rs2070011, rs2070006, rs2070022, rs2070014 του FGA γονιδίου και οι πολυμορφισμοί rs1800790, rs2227399, rs6056, rs4220 του FGB γονιδίου φάνηκε να σχετίζονται σημαντικά με τα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος.

Στη μελέτη CARDIA (Coronary Artery Risk Development in Young Adults),²⁰ που πραγματοποιήθηκε σε νέα άτομα ηλικίας 18–30 ετών, διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών FGA rs2070017 και FGG rs2066874, FGG rs1049636 με τη συγκέντρωση του ινωδογόνου.

Στον πληθυσμό της παρούσας μελέτης διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση πολυμορφισμών του FGA γονιδίου τόσο με τα επίπεδα ινωδογόνου πλάσματος όσο και με την εκδήλωση ΣΝ.

Περιορισμοί της μελέτης

Οι ασθενείς της ομάδας ελέγχου που υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία νοσηλεύτηκαν για ποικίλα αίτια, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονταν το ιστορικό άτυπου θωρακικού άλγους με μη διαγνωστική δοκιμασία κόπωσης, η διενέργεια προεγχειρητικής εκτίμησης σε περιπτώσεις βαλβιδοπάθειας (στένωση αορτής, ανεπάρκεια μιτροειδούς βαλβίδας), οι μυοκαρδιοπάθειες διατακτικού ή υπερτροφικού τύπου ή οι

κακοήθεις κοιλιακές αρρυθμίες.

Στο βαθμό που το κύριο κριτήριο διαχωρισμού των ασθενών σε υποομάδες ήταν τα στεφανιογραφικά ευρήματα, η απουσία σημαντικών στενωτικών αλλοιώσεων οδήγησε στην ένταξη των συγκεκριμένων ατόμων στην ομάδα ελέγχου.

Συμπερασματικά, στην παρούσα μελέτη γονοτύπωσης, οι πολυμορφισμοί FGA rs2070022 C/T και rs2070006 A/G του γονιδίου της α-αλύσου του ινωδογόνου φαίνεται να σχετίζονται σημαντικά με την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου σε πληθυσμό Ελλήνων ασθενών. Παράλληλα, διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση των πολυμορφισμών FGA rs2070022 CC και rs2070016 CT/TT με τα επίπεδα του ινωδογόνου πλάσματος. Επιπλέον, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού FGA rs2070016 C/T με τις τιμές του δείκτη Gensini και κατ' επέκταση με τη βαρύτητα της ΣΝ.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η ΣΝ αποτελεί πολυπαραγοντική οντότητα και η εκδήλωσή της είναι συνισταμένη αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών επιδράσεων. Ενδεχομένως, αντί του άμεσου καθορισμού των επιπέδων του ινωδογόνου πλάσματος, οι γονιδιακοί πολυμορφισμοί μπορεί να δρουν έμμεσα, ενισχύοντας την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων (χρήση καπνού, φύλο, σωματική άσκηση) στον τελικό φαινότυπο.^{21–24}

Η κλινική εφαρμογή ανάλογων μελετών γονοτύπωσης στο μέλλον έγκειται στον προσυμπτωματικό έλεγχο και στη διαλογή των ασθενών υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου.

ABSTRACT

Association of fibrinogen α-chain polymorphisms with coronary atherosclerosis and plasma fibrinogen concentration

V. PEPPE,¹ G. RAMMOS,¹ E. THEODORAKI,² G. DEDOUSSIS,² N. ZAKOPOULOS¹

¹Department of Clinical Therapeutics, "Alexandra" General Hospital of Athens, Athens,

²Charokopeio University of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2011, 28(1):63–69

OBJECTIVE To identify genetic susceptibility to coronary artery disease (CAD), associated with fibrinogen α-chain (FGA) single nucleotide polymorphisms (SNPs). **METHOD** A prospective, genetic association study was performed in 106 inpatients undergoing coronary angiography, comprising 77 cases of documented CAD and 29 control subjects free of CAD. Gensini score was calculated to assess CAD severity. Blood fibrinogen concentration was measured in all subjects. Genotyping for FGA SNPs rs2070022 C/T, rs2070016 C/T and rs2070006 A/G was performed. **RESULTS** The incidence of rs2070022 CC and rs2070006 AG/GG genotypes was higher in cases with CAD than in control subjects (86.7% vs 61.9%, $p=0.027$ and 91.4% vs 75.9%, $p=0.043$, respectively). A significant effect of the same genotypes upon CAD occurrence was observed (OR=4; $p=0.027$, OR=3.394; $p=0.045$, respectively). Subjects with rs2070022 CC geno-

type had higher plasma fibrinogen concentration than carriers of CT/TT alleles (430.15 ± 21.96 mg/dL vs 354.64 ± 30.22 mg/dL, $p=0.05$). Subjects with rs2070016 CT/TT alleles had elevated fibrinogen concentrations, compared to homozygotes for CC genotype (417.98 ± 19.29 mg/dL vs 307 ± 15 mg/dL, $p=0.003$). Homozygotes for rs2070016 CC genotype had a higher Gensini score than carriers of CT and TT alleles (46.67 ± 37.11 vs 24.64 ± 3.69 , $p=0.015$). **CONCLUSIONS** FGA SNPs were related to significant coronary atherosclerosis (rs2070022 CC, rs2070006 AG/GG), plasma fibrinogen concentration (rs2070022 CC, rs2070016 CT/TT) and Gensini score (rs2070016 CC).

Key words: Coronary artery disease, Fibrinogen α -chain, Single nucleotide polymorphisms

Βιβλιογραφία

- KANT JA, FORNACE AJ Jr, SAXE D, SIMON MI, McBRIDE OW, CRABTREE GR. Evolution and organization of the fibrinogen locus on chromosome 4: Gene duplication accompanied by transposition and inversion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, 82:2344–2348
- MULLIN JL, GORKUN OV, BINNIE CG, LORD ST. Recombinant fibrinogen studies reveal that thrombin specificity dictates order of fibrinopeptide release. *J Biol Chem* 2000, 275:25239–25246
- WEISEL JW, VEKLICH Y, GORKUN O. The sequence of cleavage of fibrinopeptides from fibrinogen is important for protofibril formation and enhancement of lateral aggregation in fibrin clots. *J Mol Biol* 1993, 232:285–297
- CAHILL M, MISTRY R, BARNETT DB. The human platelet fibrinogen receptor: Clinical and therapeutic significance. *Br J Clin Pharmacol* 1992, 33:3–9
- HARLEY SL, STURGE J, POWELL JT. Regulation by fibrinogen and its products of intercellular adhesion molecule-1 expression in human saphenous vein endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000, 20:652–658
- MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988, 16:1215
- CARLSON CS, EBERLE MA, RIEDER MJ, YI Q, KRUGLYAK L, NICKERSON DA. Selecting a maximally informative set of single-nucleotide polymorphisms for association analyses using linkage disequilibrium. *Am J Hum Genet* 2004, 74:106–120
- GENSINI GG. Coronary arteriography. In: Braunwald E (ed) *Heart disease*. WB Saunders Co, Philadelphia, 1980:308–362
- GENSINI GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1983, 51:606
- WILHELMSSEN L, SVÄRDSUDD K, KORSAN-BENGTSEN K, LARSSON B, WELIN L, TIBBLIN G. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984, 311:501–505
- MEADE TW, MELLOWS S, BROZOVIC M, MILLER GJ, CHAKRABARTI RR, NORTH WR ET AL. Haemostatic function and ischaemic heart disease: Principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986, ii:533–537
- HANDA K, KONO S, SAKU K, SASAKI J, KAWANO T, SASAKI Y ET AL. Plasma fibrinogen levels as an independent indicator of severity of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1989, 77:209–213
- BOLIBAR I, KIENAST J, THOMPSON SG, MATTHIAS R, NIESSNER H, FECHTRUP C. Relation of fibrinogen to presence and severity of coronary artery disease is independent of other coexisting heart disease. *Am Heart J* 1993, 125:1601–1605
- BROADHURST P, KELLEHER C, HUGHES L, IMESON JD, RAFTERY EB. Fibrinogen, factor VII clotting activity and coronary artery disease severity. *Atherosclerosis* 1990, 85:169–173
- KANNEL WB, WOLF PA, CASTELLI WP, D'AGOSTINO RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA* 1987, 258:1183–1186
- KANNEL WB, D'AGOSTINO RB, WILSON PW, BELANGER AJ, GAGNON DR. Diabetes, fibrinogen, and risk of cardiovascular disease: The Framingham experience. *Am Heart J* 1990, 120:672–676
- SCHNABEL RB, LUNETTA KL, LARSON MG, DUPUIS J, LIPINSKA I, RONG J ET AL. The relation of genetic and environmental factors to systemic inflammatory biomarker concentrations. *Circ Cardiovasc Genet* 2009, 2:229–237
- BEHAGUE I, POIRIER O, NICAUD V, EVANS A, ARVEILER D, LUC G ET AL. Beta fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM Study. Etude Cas-Temoins sur l'Infarctus du Myocarde. *Circulation* 1996, 93:440–449
- JACQUEMIN B, ANTONIADES C, NYBERG F, PLANA E, MÜLLER M, GREVEN S ET AL. Common genetic polymorphisms and haplotypes of fibrinogen alpha, beta, and gamma chains affect fibrinogen levels and the response to proinflammatory stimulation in myocardial infarction survivors: the AIRGENE study. *J Am Coll Cardiol* 2008, 52:941–952
- FRIEDMAN GD, CUTTER GR, DONAHUE RP, HUGHES GH, HULLEY SB, JACOBS DR Jr ET AL. CARDIA: Study design, recruitment, and some characteristics of the examined subjects. *J Clin Epidemiol* 1988, 41:1105–1116
- THOMAS A, LAMLUM H, HUMPHRIES S, GREEN F. Linkage disequilibrium across the fibrinogen locus as shown by five genetic polymorphisms, G/A-455 (HaeIII), C/T-148 (HindIII/AluI), T/G+1689 (Avall), and BclI (beta-fibrinogen) and TaqI (alpha-fibrinogen), and their detection by PCR. *Hum Mutat* 1994, 3:79–81
- De MAAT MP, De KNIJFF P, GREEN FR, THOMAS AE, JESPERSEN J, KLUFT C. Gender-related association between beta-fibrinogen genotype and plasma fibrinogen levels and linkage disequilibrium at the fibrinogen locus in Greenland Inuit. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995, 15:856–860
- TYBJAERG-HANSEN A, AGERHOLM-LARSEN B, HUMPHRIES SE, ABILDGAARD S, SCHNOHR P, NORDESTGAARD BG. A common mu-

tation (G-455→A) in the beta-fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischemic heart disease: A study of 9,127 individuals based on the Copenhagen City Heart Study. *J Clin Invest* 1997, 99:3034–3039

24. MONTGOMERY HE, CLARKSON P, NWOSE OM, MIKAILIDIS DP, JAGROOP IA, DOLLERY C ET AL. The acute rise in plasma fibrinogen

concentration with exercise is influenced by the G-453-A polymorphism of the beta-fibrinogen gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996, 16:386–391

Corresponding author:

V.I. Peppes, 12 Antoniou street, GR-341 00 Chalkida, Greece
e-mail: vpeppes@otenet.gr

