

Μελέτη μοριακών και βιολογικών δεικτών σε υγιείς απογόνους ασθενών με στεφανιαία νόσο

ΣΚΟΠΟΣ Είναι γνωστό ότι η στεφανιαία νόσος (ΝΣ) αποτελεί μια από τις συχνότερες αιτίες θανάτου στις λεγόμενες αναπτυγμένες κοινωνίες. Πρόσφατα στοιχεία υποστηρίζουν ότι για την εμφάνισή της εκτός από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, σημαντικό ρόλο παίζουν και γενετικές ανωμαλίες, οι οποίες μάλιστα φαίνεται ότι εμφανίζουν γεωγραφική κατανομή. Ο πολυμορφισμός του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (ACE) και συγκεκριμένα ο γονότυπος DD σχετίζεται πιθανά με αυξημένη συχνότητα εκδήλωσης ΣΝ, ενώ ο ρόλος των αυξημένων επιπέδων του ινωδογόνου και των προϊόντων αποδόμησής του στην παθογένειά της έχει επιβεβαιωθεί. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Μελετήσαμε την επίδραση του πολυμορφισμού του ACE στα επίπεδα του ινωδογόνου, των FDP και D-διμερών σε υγιείς απογόνους ασθενών με πρώιμη εκδήλωση ΣΝ, οι οποίοι αποτελούν, λόγω κληρονομικότητας, ομάδα υψηλού κινδύνου. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Οι απόγονοι (n=29) με γονότυπο DD συγκριτικά με τους απογόνους ID (n=27) και II (n=16) είχαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου (345±42 έναντι 281±34 και 267±25 mg/dL, P<0,0001, αντίστοιχα), FDP (270±60 έναντι 240±55 και 238±25 ng/mL, P<0,05 αντίστοιχα), και D-διμερή (320±70 έναντι 280±65 και 275±57 ng/mL, P<0,05, αντίστοιχα). **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Τα συγκεκριμένα ευρήματα υποδεικνύουν ότι υγιείς απόγονοι ασθενών με πρώιμη εκδήλωση ΣΝ και γονότυπο DD αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου και πρέπει να βρίσκονται σε στενή παρακολούθηση.

Η στεφανιαία νόσος αποτελεί μια από τις συχνότερες αιτίες θανάτου στις λεγόμενες αναπτυγμένες κοινωνίες. Είναι γνωστό ότι στην εμφάνιση και εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου, συνυπάρχουν διαταραχές της αιμοστατικής ισορροπίας. Έχουν μελετηθεί διάφορες παράμετροι που αφορούν τόσο στην ηθικτικότητα και στην ινωδολυτική δραστικότητα του πλάσματος, όσο και σε δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας.¹

Η διαταραχή της αιμοστατικής ισορροπίας θεωρείται σήμερα σημαντικός παράγοντας κινδύνου για θρομβοεμβολικά επεισόδια. Πρόσφατα στοιχεία υποστηρίζουν ότι, για την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου, εκτός από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου (λιπιδικό αποτύπωμα, παχυσαρκία, κάπνισμα, διαβήτης), σημαντι-

κό ρόλο παίζουν και γενετικές ανωμαλίες οι οποίες μάλιστα φαίνεται ότι εμφανίζουν γεωγραφική κατανομή.

Η μετάλλαξη του παράγοντα V-Leiden (FVQ506), σε συνδυασμό με την αυξημένη αντίσταση στην πρωτεΐνη C (APC resistance) έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης.² Ετεροζυγωτία για τη μετάλλαξη αυτή προδιαθέτει σε 5-10 φορές αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης.³ Ενώ έχει αποδειχθεί, από πολυάριθμους ερευνητές, η συσχέτιση με τη φλεβική θρόμβωση, οι κλινικές μελέτες που αφορούν στη σχέση FVQ506 και αρτηριακής θρόμβωσης (στεφανιαίας ή εγκεφαλικής) εμφανίζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα.⁴⁻⁶

Σε προηγούμενη μελέτη μας⁷ βρέθηκε στατιστικά σημαντικά αυξημένη συχνότητα του FVQ506 σε ασθενείς

Α. Γιαθεράκη,¹
Α. Χατζηζαχαριάς,²
Θ. Μακρής,²
Κ. Τσουκαλά,¹
Ε. Χρονάκης,²
Ι. Αναστασοπούλου,¹
Β. Βοττιάς,²
Μ. Κυριακίδης,²
Τ. Μανδαλάκη¹

¹2ο Περιφερειακό Κέντρο
Αιμοδοσίας, Αιμορροφιλικών
²και Καρδιολογική Κλινική ΠΓΝΑ «Λαϊκό»

Molecular and biological hemostasis
markers in healthy offspring
of patients with coronary artery disease

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Γονότυπος ACE
D-διμερή
Ινωδογόνο
Προϊόντα αποδομής ινώδους
Στεφανιαία νόσος

με ιστορικό οξείας εμφράγματος του μυοκαρδίου, σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων.

Ο πολυμορφισμός D/I του μεταρρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (ACE) σχετίστηκε επίσης με αυξημένη συχνότητα εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου.

Ο διμορφισμός έλλειψη/προσθήκη (D/I) στο εσώνιο 16 του ACE επηρεάζει τη δραστικότητα του ACE στους ιστούς και στην κυκλοφορία, με τρόπο ώστε τα άτομα με τον απλότυπο DD να έχουν υψηλότερα επίπεδα ενζύμου.⁸ Πολλές εργασίες σχετίζουν τον απλότυπο DD με αυξημένη πιθανότητα εμφράγματος του μυοκαρδίου, ενώ αρκετές εργασίες δεν συνδέουν τον ανωτέρω απλότυπο με την έκταση της αρτηριακής νόσου.^{9,10}

Τα μέχρι στιγμής δεδομένα υποστηρίζουν μια πιθανή εμπλοκή του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης σε μηχανισμούς που περιλαμβάνουν αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας, εξέλκωση και θρόμβωση. Το σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης είναι επίσης γνωστό ότι συνδέεται και με τον ινωδολυτικό μηχανισμό.¹¹ Υπάρχει η πιθανότητα ο διμορφισμός I/D του ACE να σχετίζεται με ένα ευρύ φάσμα διαταραχών των προπηκτικών και ινωδολυτικών παραγόντων (Fg, PAI-1, tPA, D-διμερών) καθώς επίσης και με δείκτες βλάβης ενδοθηλιακών κυττάρων (VWF), που είναι επιβεβαιωμένοι δείκτες διαταραχής της αιμοστατικής ισορροπίας και εμπλέκονται ως εκ τούτου στην παθογένεια της αθηρωμάτωσης και της στεφανιαίας νόσου.

Ο πολυμορφισμός του ACE, και συγκεκριμένα ο γονότυπος DD, σχετίζεται με τη συχνότητα εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου. Μελετήθηκε η επίδραση του πολυμορφισμού ACE στα επίπεδα ινωδογόνου, FDP και D-dimer

του πλάσματος υγιών απογόνων ασθενών με πρώιμη εκδήλωση στεφανιαίας νόσου οι οποίοι αποτελούν, λόγω κληρονομικότητας, ομάδα υψηλού κινδύνου.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Ελέγχθηκαν 68 υγιή άτομα (32 άνδρες, 36 γυναίκες) ηλικίας 18 ± 3 ετών, απόγονοι ασθενών με πρώιμη εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, δηλαδή εκδήλωση της νόσου σε ηλικία < 55 ετών για τους άνδρες και < 65 ετών για τις γυναίκες. Ο διμορφισμός του ACE ανιχνεύτηκε σε δείγματα με εκλεκτικό πολλαπλασιασμό τμήματος του εσωνίου 16, όπου περιέχεται ο διμορφισμός, σύμφωνα με τη μέθοδο των Tietz et al.⁸ Η εφαρμοσθείσα μέθοδος περιγράφεται λεπτομερώς στην εργασία των Παλεράκη και συν, που δημοσιεύεται στο παρόν τεύχος.

Προσδιορίστηκαν επίσης στα ανωτέρω άτομα:

- ινωδογόνο με τη βιολογική μέθοδο κατά Clauss,
- προϊόντα αποδομής του ινώδους, FDP και D-διμερή, με ανοσοενzymική μέθοδο (ELISA) και αντιδραστήρια Stago Diagnostica.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

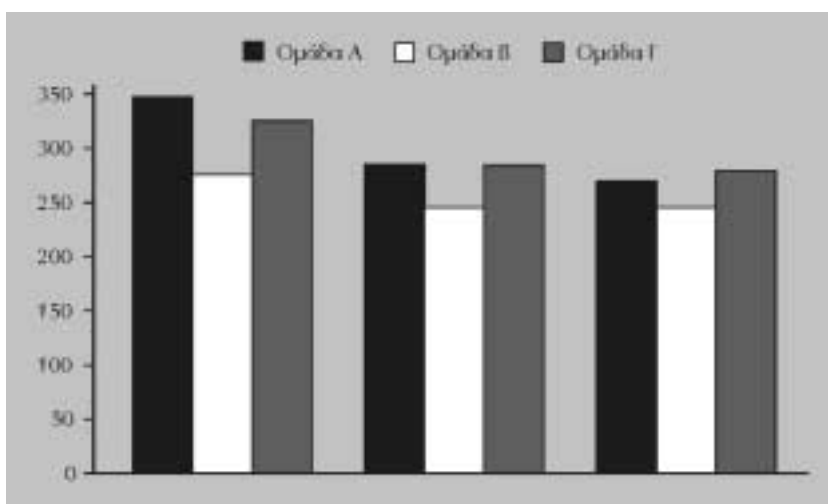
Τα 68 μελετηθέντα άτομα εμφάνισαν τον εξής πολυμορφισμό ως προς το ACE:

- γονότυπος DD 29 (44%) ομάδα Α,
- γονότυπος ID 27 (40%) ομάδα Β,
- γονότυπος II 12 (16%) ομάδα Γ.

Οι τρεις ομάδες ήταν ταυτόσημες ως προς την ηλικία το φύλο και το ΔΜΣ.

Οι αντίστοιχες συχνότητες στο γενικό πληθυσμό ήταν 44%, 42%, 14%.

Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το γενικό πληθυσμό ως προς τη συχνότητα



Εικόνα 1. Ινωδογόνο, FDP και D-dimer.

Πίνακας 1. Αποτελέσματα ελέγχου παραμέτρων αιμόστασης στις ομάδες DD, DI και II.

	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Ομάδα Γ
Ινωδογόνο (mg/dL)	345±42	281±34	267±25
FDP (ΦΤ<250 ng/mL)	270±60	240±55	238±25
D-dimer (ΦΤ<400 ng/mL)	320±70	280±65	275±57
(Ινωδογόνο)	A-B:P<0,0001	A-Γ:P<0,0001	B-Γ:P=NS
(FDP)	A-B:P<0,05	A-Γ:P<0,05	B-Γ:P=NS
(D-dimer)	A-B:P<0,05	A-Γ:P<0,05	B-Γ:P=NS

DD. Σε αντίθεση με τα ανωτέρω, η συχνότητα των αλληλοτύπων σε ασθενείς με ΣΝ έχει ως ακολούθως: DD=54%, ID=35%, II=11%.

Στη συσχέτιση των γονότυπων με τους βιολογικούς δείκτες αναφέρονται αποτελέσματα του πίνακα 1 (εικ. 1).

Οι απόγονοι με γονότυπο DD (ομάδα Α) είχαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου και D-dimer, σε σχέση με τα επίπεδα της ομάδας Γ (γονότυπος II).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Δεδομένου ότι ήδη έχει από πολλές εργασίες καταδειχθεί η σημαντικά υψηλότερη τιμή ινωδογόνου πλάσματος σε άτομα με στεφανιαία νόσο ή αρτηριακή υπέρταση,¹ η ανεύρεση στατιστικά σημαντικής διαφοράς στα επίπεδα του ινωδογόνου αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα.

Αυτό το γεγονός επιβεβαιώνεται στην ομάδα των ατόμων με γονότυπο DD. Επίσης, η παρουσία σημαντικά υψηλότερων επιπέδων D-διμερών υποδηλώνει ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης και διάσπαση του ινώδους. Η αύξηση αυτού του δείκτη μπορεί να θεωρηθεί πιθανή ένδειξη προθρομβωτικής κατάστασης.

Επομένως, οι υγιείς απόγονοι ασθενών με πρώιμη εκδήλωση στεφανιαίας νόσου και γονότυπο ACE DD, αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου και πρέπει να βρίσκονται σε στενή παρακολούθηση.

ABSTRACT

Molecular and biological hemostasis markers in healthy offspring of patients with coronary artery disease

A. GIALERAKI, A. HATZIZACHARIAS, Th. MAKRIS, C. TSOUKALA, E. CHRONAKIS, J. ANASTASOPOULOU, V. VOTTEAS, M. KYRIAKIDIS, T. MANDALAKI
 2nd Regional Blood Transfusion and Haemophilia Center, Department of Cardiology, "Laikon" General Hospital, Athens, Greece
 Archives of Hellenic Medicine 2000, 17(Supplement A):115–118

OBJECTIVE It is well established that coronary disease is the most common cause of death in the developed world. Recent data suggest that the genetic profile of the patient is a risk factor for the development of CAD. The aim of the current study was to study whether the DD haplotype of angiotensin converting enzyme (ACE) I/D polymorphism is related to increased incidence of CAD, since increased levels of fibrinogen and fibrin degradation products have already been established as risk factors. **METHOD** We have studied 68 healthy offspring of patients with early onset of coronary disease concerning the prevalence of DD genotype and its relation to fibrinogen, FDP and D-dimer plasma levels. **RESULTS** The offspring presented with a prevalence comparable to the general population in contrast to their parents. The offsprings with DD haplotype had significantly higher levels of fibrinogen, FDP and D-dimer compared to the offspring with ID or II (345±42/281±34/267±25 mg/dL, 270±60/240±55/238±25 ng/L, 320±70/280±65/275±57 ng/mL, respectively). **CONCLUSIONS** Our findings suggest that healthy offsprings of patients with early CAD who present the DD haplotype should be considered as a high risk group and thus be regularly followed up.

Key words: ACE genotype, Coronary artery disease, D-dimers, Fibrin degradation products, Fibrinogen

Βιβλιογραφία

1. ECAT. Angina Pectoris Study Group. ECAT Angina previous study. Baseline association of haemostatic factors with extent of coronary arteriosclerosis and other coronary risk factors in 3000 patients with angina previous undergoing coronary angiography. *Eur Heart J* 1993, 14:8–17
2. KOSTER T, ROSENDAAL FR, DE RONDE H, BRIET E, VANDENBROUCKE JP, BERTINA RM. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C. Leiden Thrombophilia Study. *Lancet* 1993, 342:1503–1506
3. BERTINA RM, KOELEMAN BPC, KOSTER T, ROSENDAAL FR, DIRVEY RJ, DE RONDE ET AL. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994, 369:64–67
4. RIDKER PM, HENNEKENS CH, LINDPAINTNER 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 Eng J Med* 1995, 332: 912–917
5. MARZ W, SENDEWITZ H, WINKELMANN B, CLEN M, NAUCK M, WITT I. Mutation in coagulation factor V associated with resistance to activated protein C in patients with coronary artery disease. *Lancet* 1995, 345:526
6. KONTULA K, YLIKORKALA A, MIETTINEN H, VUORIO A ET AL. Arg 506 Gln factor V mutation in patients with ischemic cerebrovascular disease and survivors of myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1995, 73:558–560
7. MAKRIS TH, KRESPI P, HATZIZACHARIAS A, GIALERAKI A, ANASTASIADIS G, TRIPOSKIDIS F ET AL. M. Resistance to activated protein C and FV Leiden mutation in patients with a history of acute myocardial infarction or primary hypertension. *Am J Hypertens* 2000, 13:61–65
8. TIRET L, RIGAT B, VISVIKIS S ET AL. Evidence from combined segregation and linkage analysis that a variant of the ACE gene controls plasma levels. *Am J Hum Genet* 1992, 1:197–205
9. CAMBIEN F, POIRIER O, BARD JM, MARD L, LECERF L, EVANS A ET AL. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992, 359:641–644
10. AGERHOLM-LARSEN B, NORDESTGAARD B, STEFFENSEN R, SORENSEN T, JENSEN G, HANSEN A. ACE gene polymorphism: ischemic heart disease and longevity in 10. 150 individuals. *Circulation* 1997, 95: 2358–2367
11. VAUHAN DE. Fibrinolytic balance, the renin-angiotensin system and atherosclerotic disease. *Eur Heart J* 1998, 19(Suppl G):G9–G12

Corresponding author:

A. Gialeraki, 2nd Regional Blood Transfusion Center, “Laikon” General Hospital, 17 Ag. Thoma street, GR-115 27 Athens, Greece