

Strokovni prispevek/Professional article

# GENSKI POLIMORFIZMI IN AKUTNI KORONARNI SINDROM

GENE POLYMORPHISMS AND ACUTE CORONARY SYNDROME

*Andreja Černe<sup>1</sup>, Miha Čerček<sup>1</sup>, Igor Kranjec<sup>1</sup>, Borut Peterlin<sup>2</sup>*<sup>1</sup> Klinični oddelek za kardiologijo, Interna klinika, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana<sup>2</sup> Služba za medicinsko genetiko, Ginekološka klinika, Šlajmerjeva 2, 1525 Ljubljana

Prispelo 2006-01-04, sprejeto 2006-07-04; ZDRAV VESTN 2006; 75: 549-54

**Ključne besede** *genski polimorfizmi; akutni koronarni sindrom***Izvleček**

## Izhodišča

*Genetska raznolikost dejavnikov, ki vplivajo na vnetje, endotelijsko funkcijo, presnovo maščob in trombozo, lahko prispeva k individualni občutljivosti za razvoj koronarne bolezni. Z našo raziskavo smo želeli preučiti povezavo polimorfizmov v genih za interleukin-6 (IL-6), endotelijsko sintazo dušikovega oksida (eNOS), apolipoprotein E (apoE), trombocitni receptor IIIa (GPIIIa), tkivni aktivator plazminogena (t-PA) in inhibitor aktivatorja plazminogena-1 (PAI-1) s tveganjem za pojav akutnega koronarnega sindroma (AKS) pri skupini slovenskih preiskovancev.*

## Metode

*V raziskavo smo vključili 180 preiskovancev, 100 bolnikov z AKS kot prvim kliničnim pojavom obstruktivne koronarne bolezni in 80 zdravih preiskovancev, primerljivih po starosti in spolu. Polimorfno obliko gena za IL-6, eNOS, apoE, GPIIIa, t-PA in PAI-1 smo opredelili z metodo verižne reakcije s polimerazo.*

## Rezultati

*Alel IL-6-174C (genotipa GC+CC) in genotip eNOS TT smo pogosteje zasledili pri bolnikih z AKS kot pri zdravih preiskovancih (66 % vs. 51 % in 20 % vs. 9 %; oba  $p < 0,05$ ). V porazdelitvi genotipov eNOS 4a/b, apoE  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ , GPIIIa  $PI^{A1}/PI^{A2}$ , t-PA I/D in PAI-1 4G/5G se skupini nista značilno razlikovali. Z multivariantno regresijsko analizo, kjer smo upoštevali tudi vpliv klasičnih dejavnikov tveganja za koronarno bolezen, smo ugotovili, da je prisotnost alela IL-6-174C povezana s 3,0-kratnim tveganjem za pojav AKS (95 % CI 1,2-7,2;  $p < 0,05$ ).*

## Zaključki

*V naši raziskavi smo polimorfizem IL-6-174G/C opredelili kot neodvisni dejavnik tveganja za pojav AKS. Ugotovili smo tudi pogostnejše pojavljanje genotipa eNOS TT pri bolnikih z AKS, ki pa se v multivariantni analizi ni izkazal kot neodvisni dejavnik tveganja. Povezanosti polimorfizmov eNOS 4a/4b, apoE  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ , GPIIIa  $PI^{A1}/PI^{A2}$ , t-PA I/D in PAI-1 4G/5G z AKS naša raziskava ni potrdila.*

**Key words***gene polymorphisms; acute coronary syndrome***Abstract**

## Background

*Genetic variants in factors that modulate inflammation, endothelial function, lipid metabolism and thrombosis could influence individual susceptibility to coronary artery disease. The aim of our study was to investigate the effect of interleukin-6 (IL-6), endothelial*

**Avtor za dopisovanje / Corresponding author:**

Dr. Andreja Černe, dr. med., Klinični center, Klinični oddelek za kardiologijo, Zaloška 7, 1525 Ljubljana, telefon: 01 / 522 28 44, e-mail: andreja.cerne@kclj.si

*nitric oxide synthase (eNOS), apolipoprotein E (apoE), platelet glycoprotein receptor IIIa (GPIIIa), tissue plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene polymorphisms on risk of developing acute coronary syndrome (ACS) in a group of Slovenian individuals.*

Methods	<i>We examined 180 subjects, 100 patients with ACS as a first clinical manifestation of obstructive coronary artery disease and 80 age- and gender-matched healthy individuals. Polymorphic sites of the IL-6, eNOS, apoE, GPIIIa, t-PA and PAI-1 genes were determined by polymerase chain reaction.</i>
Results	<i>The IL-6-174C allele (CC+GC genotypes) and the eNOS TT genotype occurred significantly more frequently in ACS patients than in controls (66 % vs. 51 % and 20 % vs. 9 %, respectively; both <math>p &lt; 0.05</math>). There was no significant difference in the distribution of the eNOS 4a/b, apoE <math>\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4</math>, GPIIIa <math>PI^{A1}/PI^{A2}</math>, t-PA I/D and PAI-1 4G/5G genotypes between the two groups. By multivariate regression analysis adjusting for traditional risk predictors, the -174C IL-6 allele conferred a 3.0-fold increased risk for ACS (95 % CI 1.2–7.2; <math>p &lt; 0.05</math>) in our study population.</i>
Conclusions	<i>In the present study, the IL-6 -174G/C polymorphism emerged as an independent factor for ACS risk. The eNOS G/T genotype distribution differed significantly between the two groups, but in adjusted analyses its effect was blunted by traditional risk factors. No association between the eNOS 4a/b, apoE <math>\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4</math>, GPIIIa <math>PI^{A1}/PI^{A2}</math>, t-PA I/D and PAI-1 4G/5G gene polymorphisms and ACS was established.</i>

## Uvod

Vse več je dokazov da ima dednost pomembno vlogo pri razvoju koronarne bolezni. Ugotovili so, da so osebe s pozitivno družinsko anamnezo glede zgodnje koronarne bolezni od 2,5- do 7-krat bolj ogrožene kot osebe brez nje (1). Genetsko predispozicijo za koronarno bolezen poskušamo razložiti z gensko variabilnostjo oziroma genetskimi polimorfizmi dejavnikov, ki se na različne načine vpletajo v proces ateroskleroze in tromboze. Pri etiologiji koronarne bolezni ni pomembna le sprememba na enem genu, ampak je nastanek bolezni posledica medsebojnega delovanja več genov in njihove interakcije z dejavniki okolja. Asociacijske študije kažejo na raznolikost pojavljanja kandidatnih genov za koronarno bolezen med populacijami, zato rezultati raziskav pri posameznem narodu niso neposredno prenosljivi na drug narod (2). Namen naše študije je bil preučiti povezanost genskih polimorfizmov nekaterih dejavnikov, ki vplivajo na vnetje (interleukin 6, IL-6), endotelijsko funkcijo (endotelijska sintaza dušikovega oksida, eNOS), presnovo maščob (apolipoprotein E, apoE), trombocitno agregacijo (trombocitni glikoproteinski receptor IIIa, GPIIIa) in fibrinolitični sistem (tkivni aktivator plazminogena, t-PA in inhibitor aktivatorja plazminogena-1, PAI-1) s tveganjem za pojav koronarne bolezni v skupini slovenskih preiskovancev. Preučevali smo homogeno populacijo bolnikov z akutnim koronarnim sindromom (AKS) kot prvim kliničnim pojavom obstruktivne koronarne bolezni.

## Metode

### Preiskovanci

V raziskavo smo vključili skupno 180 preiskovancev, ki smo jih razdelili v dve skupini. V študijsko skupino

smo vključili 100 zaporednih bolnikov z AKS kot prvim kliničnim pojavom koronarografsko dokazane obstruktivne koronarne bolezni. Kontrolno skupino je sestavljalo 80, po starosti in spolu primerljivih zdravih prostovoljcev brez simptomov in znakov koronarne bolezni. V kontrolno skupino smo vključili večina zdravstvene delavce, pri čemer smo izbirali osebe s čim manj klasičnih dejavnikov tveganja za koronarno bolezen. Pri kontrolnih preiskovancih koronarografija ni bila opravljena, vendar smo glede na podatke iz literature sklepali, da je verjetnost koronarne ateroskleroze pri odsotnosti simptomov in znakov koronarne bolezni pod 5–10 % (3). Pri vseh preiskovancih smo opredelili prisotnost klasičnih dejavnikov tveganja, kot so spol, arterijska hipertenzija, sladkorna bolezen, hiperlipidemija, debelost, kajenje in prisotnost koronarne bolezni pri sorodnikih prvega kolena pred 55. letom starosti (družinska obremenjenost). Vse preiskovance smo pred vključitvijo seznanili z namenom in potekom raziskave in pridobili njihovo pisno privoljenje. Raziskavo je odobrila Republiška strokovna komisija za medicinsko-etična vprašanja.

### Molekularno-genetske preiskave

DNK smo izolirali iz levkocitov periferne krvi po standardnem postopku (4). Genske polimorfizme smo določili z metodo verižne reakcije s polimerazo (PCR). Produkta PCR smo razcepili z restrikcijskimi encimi, obarvali z etidijevim bromidom in ločili z elektroforezo na agaroznem gelu. Velikost dobljenih odsekov PCR smo primerjali z označevalci velikosti molekulskih mas. Po opisanih protokolih smo preučili polimorfizem -174G/C gena IL-6 (5) (zamenjava citozina z gvaninom na mestu -174 v promotorski regiji gena IL-6) (Sl. 1A), polimorfizem G/T gena eNOS (6) (zamenjava gvanina s timinom na mestu 894 v eksonu 7 gena eNOS) (Sl. 1B), polimorfizem 4a/4b gena eNOS

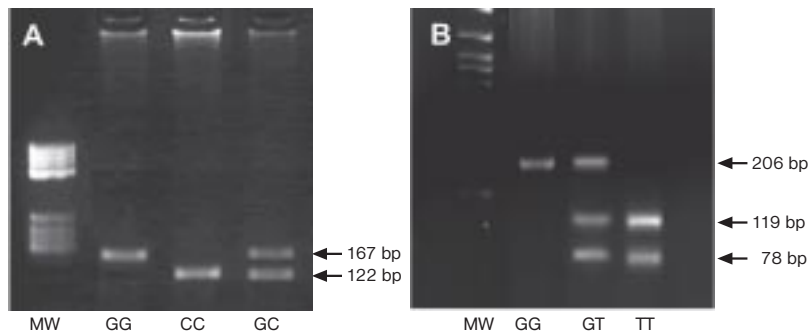
(7) (insercija/delecija zaporedja 27 baznih parov (bp) v intronu 4 gena eNOS), polimorfizem  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  gena apoE (8) (zamenjava citozina s timinom na mestih 112 in 158 v promotorski regiji gena apoE), polimorfizem  $PI^{A1}/PI^{A2}$  gena GPIIIa (9) (zamenjava citozina s timinom na mestu 1565 v eksonu 2 gena GPIIIa), polimorfizem I/D gena t-PA (10) (insercija/delecija zaporedja 300 bp v intronu 8 gena t-PA) in polimorfizem 4G/5G gena PAI-1 (11) (insercija/delecija gvanina v promotorski regiji gena PAI-1).

**Statistična analiza**

Frekvence genotipov smo določili z metodo štetja. S testom hi-kvadrat smo preverili, ali porazdelitev genotipov ustreza Hardy-Weinbergovemu ravnovesju. Razlike med študijsko in kontrolno skupino smo testirali s testom hi-kvadrat ali s testom t. Za opredelitev neodvisnih dejavnikov tveganja smo uporabili metodo multivariantne logistične regresije, pri čemer smo v model vključili le spremenljivke, ki so bile po opravljeni univariantni analizi statistično značilno pomembne. Pri preizkušanju hipotez smo vrednost  $p < 0,05$  upoštevali za statistično značilno. Statistično analizo smo opravili s programskim paketom SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 1997).

**Rezultati**

- Značilnosti preiskovancev.** Klinične lastnosti preiskovancev študijske in kontrolne skupine so prikazane v Razpredelnici 1. V študijski skupini smo ugotovili statistično značilno večjo pogostnost arterijske hipertenzije, sladkorne bolezni, hiperlipidemije, kajenja, debelosti in družinske obremenjenosti.
- Genski polimorfizmi.** Porazdelitev preučevanih polimorfizmov je v študijski in kontrolni skupini ustrezala Hardy-Weinbergovemu ravnovesju. Med preiskovanci študijske skupine je bilo značilno več posameznikov z vsaj enim alelom IL-6 -174C (genotipa CC in GC) in genotipom eNOS TT (66 % vs. 51 % in 20 % vs. 9 %; oba  $p < 0,05$ ) (Razpr. 2). Ugotovili smo tudi večjo pogostnost genotipa eNOS 4a4a v študijski skupini kot v kontrolni skupini (6 % vs. 0 %;  $p = 0,07$ ), vendar razlika ni bila statistično značilno pomembna. V porazdelitvi genotipov apoE  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ , GPIIIa  $PI^{A1}/PI^{A2}$ , t-PA I/D in PAI-1 4G/5G se skupini nista statistično značilno razlikovali.
- Klasični in genski dejavniki tveganja.** Po univariantni analizi so se vsi klasični dejavniki tveganja za razvoj koronarne bolezni izkazali za statistično pomembne: arterijska hipertenzija ( $p < 0,0001$ ), hiperlipidemija ( $p < 0,0001$ ), kajenje ( $p < 0,0001$ ), slad-



Sl. 1. Analiza produktov PCR z elektroforezo na agaroznem gelu. A. Polimorfizem -174G/C gena IL-6. Odsek DNK, velik 167 baznih parov (bp), predstavlja alel G, odsek DNK, 122 bp, predstavlja alel C. Prikazani so genotipi IL-6 GG, IL-6 CC in IL-6 GC. MW - označevalec velikosti molekulskih mas. B. Polimorfizem G/T gena eNOS. Odsek DNK, 206, predstavlja alel G, odseka DNK, 119 bp in 78 bp predstavljata alel T. Prikazani so genotipi eNOS GG, eNOS GT in eNOS TT. MW - označevalec velikosti molekulskih mas.

Figure 1. Analysis of PCR products by agarose gel electrophoresis. A. The -174G/C polymorphism of the IL-6 gene. The 167 base-pair (bp) DNA fragment represents the G allele and the 122 bp DNA fragment represents the C allele, respectively. Genotypes IL-6 GG, IL-6 CC and IL-6 GC are shown. MW - molecular weight marker. B. The G/T polymorphism of the eNOS gene. The 206 bp DNA fragment represents the G allele, the 119 bp and 78 bp DNA fragments represent the T allele. Genotypes eNOS GG, eNOS GT and eNOS TT are shown. MW - molecular weight marker.

Razpr. 1. Primerjava kliničnih značilnosti preiskovancev študijske in kontrolne skupine.

Table 1. Comparison of clinical characteristics between the study and the control groups.

Spremenljivke Variables	Študijska skupina Study group (n = 100)	Kontrolna skupina Control group (n = 80)
Starost (leta) Age (years)	54 ± 12	52 ± 11
Moški spol Male sex, n (%)	85 (85 %)	64 (80 %)
Hipertenzija Hypertension, n (%)	64 (64 %) <sup>***</sup>	13 (16 %)
Sladkorna bolezen Diabetes, n (%)	16 (16 %) <sup>*</sup>	4 (5 %)
Hiperlipidemija Hyperlipidemia, n (%)	70 (70 %) <sup>***</sup>	22 (28 %)
Debelost Obesity, n (%)	38 (38 %) <sup>*</sup>	10 (13 %)
Kajenje Smoking, n (%)	48 (48 %) <sup>***</sup>	10 (13 %)
Družinska obremenjenost Family history, n (%)	25 (25 %) <sup>**</sup>	6 (7 %)

n - število preiskovancev / number of patients; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

korna bolezen ( $p < 0,01$ ), debelost ( $p < 0,05$ ) in družinska obremenjenost ( $p < 0,05$ ). Ugotovili smo tudi povezavo alela IL-6 -174C (genotipa CC in GC) (OR 1,9, 95 % CI 1,1-3,5;  $p < 0,05$ ) in genotipa eNOS TT (OR 2,6, 95 % CI 1,1-4,3;  $p < 0,05$ ) s tveganjem za pojav AKS. Neodvisno napovedno vrednost vseh omenjenih spremenljivk smo preverili z multivari-

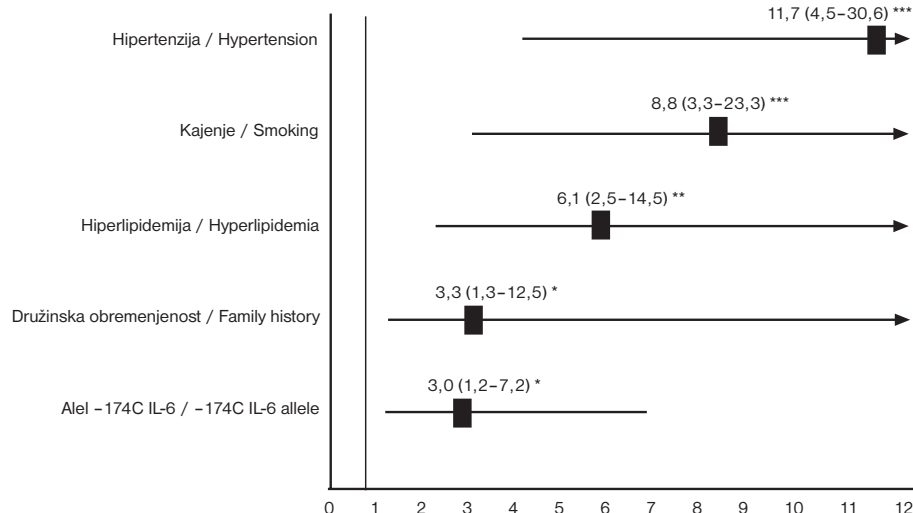
antno logistično regresijo. Kot neodvisni dejavnik tveganja za AKS so se v naši skupini preiskovancev izkazali le hipertenzija, kajenje, hiperlipidemija, družinska obremenjenost in prisotnost alela IL-6 -174C (Sl. 2).

Razpr. 2. Porazdelitev genotipov IL-6 -174 G/C, eNOS G/T, eNOS 4a/b, apoE ε2/ε3/ε4, GPIIIa PI<sup>A1</sup>/PI<sup>A2</sup>, t-PA I/D in PAI-1 4G/5G v študijski in kontrolni skupini.

Table 2. Distribution of IL-6 -174 G/C, eNOS G/T, eNOS 4a/b, apoE ε2/ε3/ε4, GPIIIa PI<sup>A1</sup>/PI<sup>A2</sup>, t-PA I/D and PAI-1 4G/5G genotypes in study and control groups.

Genotip Genotype	Študijska skupina Study group (n = 80)	Kontrolna skupina Control group (n = 100)
IL-6: CC, n (%)	20 (20 %)	9 (12 %)
IL-6: GC, n (%)	45 (46 %)	30 (39 %)
IL-6: GG, n (%)	33 (34 %) *	38 (49 %)
eNOS: TT, n (%)	20 (20 %) *	7 (9 %)
eNOS: GT, n (%)	44 (44 %)	35 (44 %)
eNOS: GG, n (%)	36 (36 %)	38 (47 %)
eNOS: 4aa, n (%)	6 (6 %)	0 (0 %)
eNOS: 4ab, n (%)	25 (25 %)	30 (37 %)
eNOS: 4bb, n (%)	69 (69 %)	50 (63 %)
apoE: ε4ε4, n (%)	1 (1 %)	0 (0 %)
apoE: ε3ε4, n (%)	19 (19 %)	14 (18 %)
apoE: ε3ε3, n (%)	72 (72 %)	55 (69 %)
apoE: ε2ε4, n (%)	1 (1 %)	1 (1 %)
apoE: ε2ε3, n (%)	7 (7 %)	10 (12 %)
apoE: ε2ε2, n (%)	0 (0 %)	0 (0 %)
GPIIIa: PI <sup>A2</sup> PI <sup>A2</sup> , n (%)	2 (2 %)	1 (1 %)
GPIIIa: PI <sup>A1</sup> PI <sup>A2</sup> , n (%)	28 (28 %)	22 (28 %)
GPIIIa: PI <sup>A1</sup> PI <sup>A1</sup> , n (%)	70 (70 %)	57 (71 %)
t-PA: II, n (%)	28 (28 %)	21 (26 %)
t-PA: ID, n (%)	52 (52 %)	43 (54 %)
t-PA: DD, n (%)	20 (20 %)	16 (20 %)
PAI-1: 4G4G, n (%)	26 (26 %)	21 (26 %)
PAI-1: 4G5G, n (%)	60 (60 %)	39 (49 %)
PAI-1: 5G5G, n (%)	14 (14 %)	20 (25 %)

n - število preiskovancev / number of patients; \*p < 0,05.



Sl. 2. Multivariantna analiza klasičnih in genetskih dejavnikov tveganja za akutni koronarni sindrom. Prikazana so razmerja obetov s 95-odstotnim intervalom zaupanja. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001.

Figure 2. Multivariate analysis of classical and genetic risk factors for acute coronary syndrome. Odds ratios with 95 % confidential intervals are shown. \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001.

## Razpravljanje

V naši raziskavi smo preučevali homogeno populacijo bolnikov z AKS kot prvim kliničnim pojavom obstruktivne koronarne bolezni. Iskali smo povezavo med genskimi polimorfizmi dejavnikov, ki vplivajo na vnetje (IL-6), endotelijsko funkcijo (eNOS), presnovo maščob (apoE) ter tvorbo in razgradnjo krvnega strdka (GPIIIa, PAI-1, t-PA), in pojavom AKS. Ugotovili smo, da je polimorfizem -174G/C gena IL-6 povezan s pojavom AKS v skupini slovenskih preiskovancev. Tovrstna težnja je bila prisotna tudi pri polimorfizmu G/T gena eNOS, vendar se v multivariantni analizi ni izkazal kot neodvisni dejavnik tveganja. Vpliva polimorfizmov eNOS 4a/b, apoE ε2/ε3/ε4, GPIIIa PI<sup>A1</sup>/PI<sup>A2</sup>, t-PA I/D in PAI-1 4G/5G na pojav AKS naša raziskava ni potrdila.

Vse več je dokazov, da ima vnetje ključno vlogo pri sprožitvi, razvoju in poznih zapletih aterosklerotičnega procesa. IL-6 je pleiotropni vnetni citokin, ki vpliva na sintezo C-reaktivnega proteina in je povezan z večjim tveganjem za razvoj MI (12). Rezultati nekaterih raziskav kažejo, da je serumska koncentracija IL-6 povezana s polimorfizmom -174G/C gena IL-6 (5). V naši študiji smo polimorfizem IL-6 -174G/C opredelili kot samostojen in neodvisen dejavnik tveganja za pojav AKS. Razmerje obetov je bilo pri nosilcih alela IL-6 -174C 3,0 (95 % CI 1,2-7,2; p < 0,05). Dve večji študiji sta že proučevali povezavo med polimorfizmom IL-6 -174G/C in tveganjem za pojav akutnega MI, vendar so si rezultati nasprotujoči. Francoska raziskava ECTIM (13) je pokazala povezavo med prisotnostjo alela IL-6 -174C in tveganjem za pojav akutnega MI, medtem ko nemška raziskava LURIC (14) tega ni potrdila. Razlike v rezultatih gre najverjetneje pripisati populacijskim razlikam med študijami.

Aterogenezo usmerjajo tudi številni dejavniki, ki vplivajo na delovanje endotelijskih celic in gladkih mišičnih celic v žilni steni. Opisali smo že povezavo polimorfizma I/D encima angiotenzinske konvertaze z AKS (15), kar je potrdila tudi druga študija, ki je bila neodvisno narejena pri koronarnih bolnikih v slovenski populaciji (16). Pomembno vlogo v žilni homeostazi ima tudi dušikov oksid (NO). NO je najmočnejši fiziološki vazodilator, zavira pa tudi proliferacijo gladkomišičnih celic, oksidacijo holesterola LDL, trombocitno agregacijo in adhezijo levkocitov (17). NO nastaja v endotelijskih celicah pod vplivom encima eNOS. Ugotovili so, da polimorfizem G/T v eksonu 7 in polimorfizem 4a/4b v intronu 4 gena eNOS vpli-

vata na aktivnost encima in bazalno sintezo NO (18, 19). Meta-analiza 26 študij je pokazala povezanost obeh polimorfizmov s tveganjem za pojav akutnega MI (20). Razmerje obojev je bilo pri nosilcih genotipa TT 1,31 (95 % CI 1,13–1,51) in pri nosilcih genotipa 4a4a 1,34 (95 % CI 1,03–1,75). V naši raziskavi je bil genotip tveganja eNOS TT 2,2-krat pogostejši pri bolnikih z AKS kot pri kontrolnih preiskovancih (20 % vs. 9 %,  $p < 0,05$ ). V multivariantni analizi se genotip eNOS TT ni izkazal kot neodvisni dejavnik tveganja, kar je lahko posledica prevladujočega vpliva klasičnih dejavnikov tveganja. Ugotovili smo tudi večjo pogostnost genotipa tveganja eNOS 4a4a pri bolnikih z AKS (6 % vs. 0 %,  $p = 0,07$ ), vendar razlika pri preučeni velikosti vzorca ni bila statistično značilno pomembna.

ApoE zaradi pomena pri presnovi serumskih maščob velja za aterogeni dejavnik tveganja pri nastanku kardiovaskularnih obolenj. Ugotovili so, da polimorfizem  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  gena apoE vpliva na serumsko koncentracijo celokupnega holesterola, holesterola LDL in trigliceridov (21). Številne študije so prikazale povezavo alela tveganja  $\epsilon 4$  s pojavom akutnega MI, vendar ne vse (22). V evropskih narodih se frekvenca alela  $\epsilon 4$  znižuje od severa proti jugu, kar lahko vpliva na raznolikost rezultatov. Naša študija ni potrdila povezave polimorfizma apoE  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  s pojavom AKS. Alel tveganja  $\epsilon 4$  smo ugotovili pri 21 % bolnikov z AKS in 16 % kontrolnih preiskovancev, kar je primerljivo s podatki prejšnje študije v slovenski populaciji (23). V naši raziskavi smo iskali tudi povezavo med genetskimi kazalci koronarne tromboze in AKS. Preučevali smo polimorfizem gena za GPIIIa, ki vpliva na trombocitno agregacijo in polimorfizma v genih za t-PA, in PAI-1, ki uravnava fibrinolitično aktivnost. Pogostnost genotipov tveganja GPIIIa  $PI^{A2}/PI^{A2}$ , t-PA II in PAI-1 4G/4G se v naši študiji ni značilno razlikovala med bolniki z AKS in kontrolnimi preiskovanci. Nekaj raziskav je prikazalo povezavo polimorfizma gena GP IIIa s tveganjem za AKS, vendar opravljena meta-analiza te povezave ni potrdila (24, 25). Podatki v literaturi glede polimorfizma t-PA pri AKS so skopi. Glede na maloštevilne študije z nasprotujočimi si rezultati ni mogoče oceniti, ali je polimorfizem t-PA I/D genetski dejavnik tveganja za AKS. V nizozemski študiji je bil genotip tveganja t-PA II povezan z 2,2-krat večjim tveganjem za pojav akutnega MI (26), nasprotno pa večji študiji (27, 28) te povezave nista potrdili. Tudi rezultati raziskav glede povezanosti polimorfizma PAI-1 4G/5G z AKS niso enotni (29, 30). Opravljena meta-analiza je prikazala zgolj šibko povezavo (31).

## Zaključki

Polimorfizem IL-6 -174G/C smo opredelili kot neodvisni in samostojni dejavnik tveganja za pojav AKS. Ugotovili smo tudi pogostejše pojavljanje genotipa tveganja eNOS TT pri bolnikih z AKS. Vpliva polimorfizmov eNOS 4a/4b, apoE  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ , GPIIIa  $PI^{A1}/PI^{A2}$ , t-PA I/D in PAI-1 4G/5G na AKS naša raziskava ni prikazala. Odsotnost povezave nekaterih kandidatnih genov z AKS v naši študiji bi lahko bila posledica populacijskih in demografskih značilnosti preiskovancev,

premajhne velikosti vzorca ali pa dejanske odsotnosti povezave z AKS. V prihodnosti bi bilo potrebno vključiti večje število bolnikov in preučiti tudi druge kandidatne gene za koronarno bolezen. Raziskave in odkritja genetskih analiz bodo pripomogle k učinkovitejšemu iskanju zelo ogroženih posameznikov, pri katerih je še posebej potrebno nadzirati dejavnike tveganja in jih najodločneje zdraviti.

## Literatura

1. Haq IU, Ramsay LE, Yeo WW, Jackson PR, Wallis EJ. Is the Framingham risk function valid for northern European populations? A comparison of methods for estimating absolute coronary risk in high risk men. *Heart* 1999; 81: 40–6.
2. Breslow JL. Genetic markers for coronary heart disease. *Clin Cardiol* 2001; 24: 14–7.
3. Gibbons RJ, Balady GJ, Beasley JW, Bricker JT, Duvernoy WF, Froelicher VF, et al. ACC/AHA Guidelines for exercise testing. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Exercise Testing). *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 260–311.
4. Blin N, Stafford DW. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nucleic Acid Res* 1976; 3: 2303–8.
5. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998; 102: 1369–76.
6. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith SM, Parsons A, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999; 100: 1515–20.
7. Wang XL, Sim AS, Badenhop RF, McCredie RM, Wilcken DEL. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Nat Med* 1996; 2: 41–5.
8. Hixon JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with Hha. *J Lipid Res* 1990; 31: 545–8.
9. Weiss EJ, Bray BAP, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary artery thrombosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 1090–4.
10. Ludwig M, Wohn KD, Schleuning WD, Olek K. Allelic dimorphism in the human tissue-type plasminogen activator (TPA) gene as a result of an Alu insertion/deletion event. *Hum Genet* 1992; 88: 388–92.
11. Shimoike H, Nakamura Y, Tamaki S, Kinoshita M. The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor gene is associated with the time course of progression to acute coronary syndromes. *Atherosclerosis* 1998; 136: 109–114.
12. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of IL-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101: 1767–72.
13. Georges JL, Loukaci W, Poirier O, Evans A, Luc G, Arveiler D, et al. Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. *Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde. J Mol Med* 2001; 79: 300–5.
14. Nauck M, Winkelmann BR, Hoffmann MM, Bohm BO, Wieland H, Marz W. The interleukin-6 G(-174)C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6, coronary artery disease, and myocardial infarction. *J Mol Med* 2002; 80: 507–13.
15. Černe A, Kranjec I, Peterlin B. Angiotenzin-converting enzyme gene polymorphism and acute coronary syndrome. *Slov Kardiol* 2005; 2: 100–4.
16. Peterlin B, Petrovič D, Zorc M, Keber I. Deletion/insertion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene as a risk factor in the Slovenian patients with coronary heart disease. *Pflugers Arch* 2000; 439: 40–1.
17. Schmidt HHHW, Walter U. NO at work. *Cell* 1994; 78: 919–25.

18. Veldman BA, Spiering W, Doevendans PA, Vervoort G, Kroon AA, de Leeuw PW, et al. The Glu298Asp polymorphism of the NOS 3 gene as a determinant of the baseline production of nitric oxide. *Hypertens* 2002; 20: 2023-7.
19. Yoon Y, Song J, Ho Hong SH, Kim JQ. Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease. *Clin Chem* 2000; 46: 1626-30.
20. Casas JP, Bautista LE, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects. *Circulation* 2004; 109: 1359-65.
21. Davignon J, Gregg RE, Sing SF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 1-21.
22. Hallman DM, Boerwinkle E, Saha N, Sandholzer C, Menzel HJ, Csazar A, et al. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 338-49.
23. Petrovič D, Zorc M, Peterlin B. Effect of apolipoprotein E polymorphism and apolipoprotein A-1 gene promoter polymorphism on lipid parameters and premature coronary artery disease. *Folia Biol* 2000; 46: 181-5.
24. Weiss EJ, Bray BAP, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary artery thrombosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 1090-4.
25. Zhu MM, Weedon J, Clark LT. Meta-analysis of the association of platelet glycoprotein IIIa PLA1/A2 polymorphism with myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2000; 86: 1000-5.
26. Van der Bom JG, de Knijff P, Haverkate F, Bots ML, Meijer P, de Jong PT, et al. Tissue plasminogen activator and risk of myocardial infarction. The Rotterdam Study. *Circulation* 1997; 95: 2623-7.
27. Steeds R, Adams M, Smith P, Channer K, Samani NJ. Distribution of tissue plasminogen activator insertion/deletion polymorphism in myocardial infarction and control subjects. *Thromb Haemost* 1998; 79: 980-4.
28. Ridker PM, Baker MT, Hennekens CH, Stampfer MJ, Vaughan DE. Alu-repeat polymorphism in the gene coding for tissue-type plasminogen activator (t-PA) and risk of myocardial infarction among middle-aged men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1687-90.
29. Petrovič D, Globočnik-Petrovič M, Peterlin B. 4G5G genotype of PAI-1 gene promoter polymorphism is not associated with myocardial infarction in Caucasians with type-2 diabetes. *Cardiology* 2003; 100: 157-8.
30. Ossei-Gerning N, Mansfield MW, Stickland MH, Wilson JJ, Grant PJ. Plasminogen activator inhibitor-1 promoter 4G/5G genotype and plasma levels in relation to a history of myocardial infarction in patients characterized by coronary angiography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 33-7.
31. Iacoviello L, Burzotta F, Di Castelnuovo A, Zito F, Marchioli R, Donati MB. The 4G/5G polymorphism of PAI-1 promoter gene and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998; 80: 1029-30.

### V tej številki so sodelovali:

- |  |  |
|--|--|
| asist. mag. Bosiljka Ambrož, dr. med., specialistka higijene, Zavod za zdravstveno varstvo Maribor                                       | Dominika Novak-Mlakar, dr. med., specializantka javnega zdravja, CINDI Slovenija, Ljubljana  |
| Urška Blaznik, dipl. ing. kem., specialistka sanitarne kemije, Inštitut za varovanje zdravja RS, Ljubljana                               | Petra Ogrin-Rehberger, dr. med., specialistka splošne medicine, Inštitut za varovanje zdravja RS, Ljubljana  |
| Rok Cesar, dr. med., specialist internist, Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, Bolnišnica Golnik                            | Peter Otorepec, dr. med., specialist higijene, Inštitut za varovanje zdravja RS, Ljubljana   |
| dr. Miha Čerček, dr. med., specializant interne medicine, Klinični oddelek za kardiologijo, Klinični center Ljubljana                    | prof. dr. Marija Pečan, dr. med., specialistka anesteziologinja, Ljubljana   |
| dr. Andreja Černe, dr. med., specialistka internistka, Klinični oddelek za kardiologijo, Klinični center Ljubljana                       | doc. dr. Andrej Pernat, dr. med., specialist internist, Klinični oddelek za kardiologijo, Klinični center Ljubljana  |
| prim. Jasna Čuk-Rupnik, dr. med., specialistka pediatrija, Center za preventivo in zdravljenje odvisnosti Logatec                        | prof. dr. Borut Peterlin, dr. med., specialist genetik, Ginekološka klinika, Klinični center Ljubljana   |
| doc. dr. Matjaž Fležar, dr. med., specialist internist, Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, Bolnišnica Golnik               | dr. Zlata Remškar, dr. med., specialistka internistka, Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, Bolnišnica Golnik  |
| mag. Irena Grmek-Košnik, dr. med., specialistka klinična mikrobiologinja, Zavod za zdravstveno varstvo Kranj                             | asist. Aleš Rozman, dr. med., specializant interne medicine, Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, Bolnišnica Golnik  |
| Nina Kmet-Lunaček, dr. med., specializantka interne medicine, Klinični oddelek za intenzivno interno medicino, Klinični center Ljubljana | Vesna Sedmak-Lojk, mag. pharm., Medis d.o.o. Ljubljana   |
| prof. dr. Ivan Krajnc, dr. med., specialist internist, Medicinska fakulteta Maribor  | doc. dr. Maja Sočan, dr. med., specialistka internistka in specialistka javnega zdravja, Inštitut za varovanje zdravja RS, Ljubljana                                   |
| prof. dr. Igor Kranjec, dr. med., specialist internist, Klinični oddelek za kardiologijo, Klinični center Ljubljana                      | prim. doc. dr. Danijel Žerdoner, dr. dent. med., specialist maksilofacialni in oralni kirurg, Oddelek za maksilofacialno in oralno kirurgijo, Splošna bolnišnica Celje |
| asist. mag. Hugon Možina, dr. med., specialist internist, Klinični oddelek za intenzivno interno medicino, Klinični center Ljubljana     |  |