

## IMPACTUL POLIMORFISMULUI GENEI RECEPTORILOR GLICOPROTEINICI TROMBOCITARI GPIIb/IIIa ÎN PREDISPOZIȚIA TROMBOTICĂ

Natalia Caproş – dr. hab. în şt. med., prof. univ.,  
Valeriu Istrati – dr. hab. în şt. med., prof. univ.,  
USMF „Nicolae Testemiţanu”

*natalia.capros@usmf.md*

### Rezumat

Articolul reflectă un studiu clinic, cu privire la determinarea polimorfismului genei receptorilor glicoproteinici trombocitari GPIIb/IIIa, ce pot precipita debutul sau recurența în sindromul coronarian acut, cu impact de dezvoltare a infarctului de miocard.

**Cuvinte-cheie:** polimorfismul genei receptorilor glicoproteinici trombocitari GPIIb/IIIa, sindromul coronarian acut

### Summary. Gene polymorphism of the glycoprotein platelet GP IIb/IIIa receptors impact on thrombotic predisposition

Article reflects a clinical study of glycoprotein platelet GPIIb/IIIa receptors polymorphism evaluation, which may precipitate the onset or recurrence of the acute coronary syndrome, with impact on myocardial infarction development.

**Key words:** Glycoprotein platelet GPIIb/IIIa gene polymorphism, acute coronary syndrome

### Резюме. Влияние полиморфизма гена тромбоцитарных гликопротеиновых рецепторов GP IIb/IIIa на тромботическую предрасположенность

Статья отражает клиническое исследование полиморфизма гена тромбоцитарных гликопротеиновых рецепторов GPIIb/IIIa, который может повлиять на начало или рецидив острого коронарного синдрома с развитием инфаркта миокарда.

**Ключевые слова:** полиморфизм гена тромбоцитарных гликопротеиновых рецепторов GP IIb/IIIa, острый коронарный синдром

**Actualitate.** Primele încercări de a rezolva „misterele” geneticii cardiopatiei ischemice (CPI) s-au bazat pe studiul bolilor monogenice (mendeliene)

ale metabolismului lipidelor. În ultimul deceniu polimorfismele mai multor gene asociate cu tulburări de coagulare și tromboză au fost suspectate de a fi im-

plicate în procesul de progresie a aterosclerozei prin creșterea predispoziției trombotice cu impact pe risc de sindroame coronariene acute [1].

**Obiectiv:** Evaluarea impactului polimorfismului genei receptorilor glicoproteicici trombocitari GPIIb/IIIa în predispoziția trombotică la pacienții cu sindrom coronarian acut.

**Material și metode.** În prezentul studiu au fost incluși 405 pacienți, care au suportat un eveniment coronarian acut cu sau fără supradenivelarea segmentului ST și au fost spitalizați în IMSP SCM „Sfânta Treime“. Criteriul de includere în studiu l-a constituit diagnosticul clinic de infarct miocardic (IM) acut cu undă Q și non-Q, angină instabilă sau angină stabilă.

Polimorfismul genelor candidate și mutațiile asociate cu CPI s-au identificat prin analiza lungimii fragmentelor amplificate prin metoda de analiză a lungimii fragmentelor amplificate și a fragmentelor polimorfe de restricție (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP), realizată în Laboratorul Genetică Moleculară al Institutului de Genetică și Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei.

**Rezultate și discuții.** Analizarea frecvenței variantelor polimorfe  $PIA_1/PIA_2$  ale genei GPIIb/IIIa ( $PIA_1/A_2$ ), utilizând digestia cu enzima Msp-I, a constatat că genotipul de risc  $A_2A_2$  a fost detectat la 63 (22.50%) pacienți și la 28 (09.66%) persoane din lotul martor, diferența fiind statistic semnificativă ( $\chi^2=16.28$ ,  $p<0.001$ ). Diferențe certe între categoriile de vârstă lipseau, dar se remarcă o tendință de prevalare a genotipului de risc  $A_2A_2$  la bărbați (53.39% vs 43.24%,  $p=0.06$ , fig. 1).

Nu au existat diferențe între pacienții cu CPI și persoanele din lotul martor în ceea ce privește frecvența genotipului  $A_1A_2$  (52.07% vs 50.36%,  $p>0.05$ ). Este necesar de remarcat, însă, că varianta de risc  $A_2A_2$  s-a detectat la 63 (22.50%) pacienți și la 28 (09.66%) persoane din lotul martor, diferența fiind statistic concludentă ( $\chi^2=16.28$ ,  $p<0.001$ ).

Analiza genotipării polimorfismului  $A_1A_2$  al genei GPIIb/IIIa în prezentul studiu a relevat o tendință de prevalare a portajului alelei mutante  $A_2$  la pacienții cu CPI comparativ cu persoanele din lotul martor (72.85% vs 70.71%,  $p=0.06$ ). În același timp, frecvența portajului de alele recesive  $A_1$  la pacienții coronarieni (27.15% vs 29.29%,  $p=0.06$ ) înregistra nivele mai reduse, comparativ cu purtătorii din lotul martor.

Glicoproteinelor trombocitare membranare le revine un rol semnificativ în adezivitatea și agregarea trombocitară. Sunt cunoscute variante alelice pentru gena GPIIb/IIIa, legătura cărora cu fibrinogenul reprezintă reacția cheie în procesul de agregare plachetară. Prezența alelei  $PIA_2$  conduce la amplificarea funcției receptorilor IIB/IIIa și se asociază cu agregarea plachetară intensă ADF-indusă *in vitro* [2].

Analiza relației portajului polimorfismului  $A_1A_2$  al  $PIA$  cu factorii de risc a relevat prezența unei diferențe semnificative între purtătorii de genotipuri  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$  și  $A_2A_2$  în ceea ce privește prevalența tabagismului (48.68% și 53.90% vs 69.84%, respectiv,  $p<0.01$ ) și a dislipidemie mixte (59.21% și 75.17% vs 63.49%,  $p<0.05$ ).

Nu s-au constatat diferențe statistic concludente între loturile de purtători ai diferitor genotipuri  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$  și  $A_2A_2$  în ceea ce privește ponderea pacienților cu DZ (14.47% și 28.37% vs 17.46%, respectiv,  $p<0.05$ ), iar repartitia în funcție de IMC  $>30$  a avut un caracter de tendință în aceeași comparație (52.63% și 48.93% vs 36.51%, respectiv,  $p=0.07$ ).

De evidențiat diferența statistic semnificativă între loturile comparate în privința ponderii IM vechi în anamneza pacienților studiați: genotipul  $A_2A_2$  a fost detectat mai frecvent, decât portajul  $A_1A_1$  (20.63% vs 9.21%, respectiv,  $p<0.05$ ).

Referitor la indicatorii de antecedente familiale de BCV premature, cum ar fi vârsta depistării primare a BCV și AVC suportat, diferențe statistic semnificative nu s-au înregistrat. Analiza caracteristicilor clinice în



Fig. 1. Frecvențele genotipurilor polimorfismului  $PIA_1/PIA_2$  al genei GPIIb/IIIa în lotul de pacienți cu CPI

funcție de polimorfismul substratului  $A_1A_2$  al P1A a relevat, că, deși gradele moderate de obezitate sunt distribuite similar la purtătorii de genotipuri  $A_1A_2$  și  $A_2A_2$ , gradele extreme de obezitate au fost constatate numai la purtători de genotipuri  $A_1A_1$ .

Interpretarea caracteristicilor biochimice în funcție de polimorfismul  $A_1/A_2$  al genei GP IIb/IIIa a relevat, că portajul genotipului  $A_2A_2$  se asocia cu valori mai înalte de protrombină, comparativ cu variantele de referință:  $A_1A_1$  și  $A_1A_2$  ( $106.96 \pm 0.52\%$  vs  $90.83 \pm 0.59\%$  vs  $80.00 \pm 1.05\%$ ,  $p < 0.05$ ).

Nu s-au constatat diferențe concludente între loturile cu portajul alelelor de risc  $A_2$  și nivelul de glicemie bazală ( $5.86 \pm 0.17$  și  $5.64 \pm 0.18$  vs  $6.05 \pm 0.23$  mmol/l), de creatinină ( $108.42 \pm 2.32$  și  $95.54 \pm 1.35$  vs  $100.25 \pm 1.44$   $\mu$ mol/l) și de colesterol total ( $5.45 \pm 0.05$  și  $6.26 \pm 0.03$  vs  $5.79 \pm 0.33$  mmol/l,  $p > 0.05$ ), în comparație cu alte variante polimorfe:  $A_1A_1$  și  $A_1A_2$ .

Semne de insuficiență cardiacă cronică (ICC) gr. III și gr. IV au prezentat 25.53% dintre purtătorii genotipului  $A_1A_2$ , 15.87% dintre purtătorii genotipului  $A_2A_2$  și 14.47% dintre purtătorii genotipului  $A_1A_1$  ( $p > 0.05$ ).

Deși numărul de pacienți cu fracția FE < 50% în loturile de pacienți cu portajul alelelor  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$  și  $A_2A_2$  (50.00% și 53.90% vs 47.62%, respectiv) nu se deosebea veridic, durata de internare a homozigoților  $A_2A_2$  înregistra o tendință de creștere ( $9.89 \pm 0.24$  și  $10.43 \pm 0.52$  vs  $11.8 \pm 0.36$  zile,  $p = 0.07$ ).

Analizând rezultatele explorărilor electrocardiografice, ecografice, coronarangiografice și evenimentele cardiovasculare majore ale pacienților cu CPI în funcție de polimorfismul P1A<sub>1/2</sub> am constatat lipsa asocierii dintre acești parametri. Este notabil acel fapt, că fiecare a patra persoană dintre purtătorii variantelor de risc  $A_2A_2$  și  $A_1A_2$  raporta IM acut cu unda Q (28.36% și 22.22% vs 19.73%,  $p < 0.05$ ), comparativ cu persoanele fără acest portaj ( $A_1A_1$ ).

Astfel, referitor la spectrul factorilor de risc și prezentarea clinică în funcție de polimorfismul genei GP, înregistrat în prezentul studiu, se poate afirma, că portajul alelei  $A_2$  și starea homozigotă  $A_2A_2$  se asocia cu prezența dislipidemieii ( $r_{xy} = 0.53$ ,  $p_{(A_2A_2-A_1A_1)} < 0.05$ ), cu tabagismul [ $r_{xy} = 0.64$ ,  $p_{(A_2A_2-A_1A_1)} < 0.01$ ], ca factori de risc și cu o frecvență înaltă de IM suportat.

Numeroase studii au sugerat, că polimorfismul P1A<sub>2</sub> se asociază cu o aterotromboză mai agresivă, care afectează mult prognosticul la pacienții cu un risc înalt. Primordial au fost studiate polimorfismele genelor implicate în funcția trombocitelor, care joacă un rol esențial în aterotromboză [3], funcția lor fiind strâns legată de interacțiunea cu fibrinogenul, factorul von Willebrand și agoniștii trombocitari. Din recepto-

rii implicați în aderarea plachetară complexul glicoproteic membranar GPIIb/IIIa (GPαIIb/CD41 și/sau GPβ3/CD61) este dominant și reprezintă situsul de legare pentru fibrinogen [4].

Utilizarea inhibitorilor receptorilor GP IIb/IIIa la bolnavii coronarieni a sporit interesul de studiere a genei GP IIIa, care are polimorfism cu antigenul plachetar 1 (P1A<sub>1</sub>) și 2 (P1A<sub>2</sub>). În alela P1A<sub>2</sub>, citozina este substituită cu timină în exonul 2, care este fenotipic tradus prin înlocuirea prolinei cu leucină în poziția 33 în receptorii GPIIIa. Un studiu *in vitro* a demonstrat, că varianta P1A<sub>2</sub> amplifică asamblarea receptorilor GPIIb/IIIa cu fibrinogenul, intensificând, astfel, agregarea plachetară indusă de agoniști [5].

În acest context, Weiss și colaboratorii [6] au prezentat date noi cu privire la relația între polimorfismul P1A<sub>2</sub> al genei GP IIIa și tromboza coronariană acută, această asocierie fiind mai evidentă la pacienții cu evenimente coronariene până la vârsta de 60 de ani, sugerând că acest polimorfism este un factor de risc ereditar pentru tromboza coronariană. După acest raport original, în care se menționa polimorfismul P1A<sub>2</sub> în calitate de factor de risc pentru infarct miocardic (IM) sau angină instabilă, în numeroase investigații a fost studiat acest polimorfism în scopul de a descoperi un factor de risc trombogenic.

Aceste constatări au fost ulterior extinse pe boli arteriale periferice de Mikkelson și colaboratorii [5], care au relatat despre asocierea variantei P1A<sub>2</sub> cu progresia aterosclerozei aortei abdominale. În mod similar, într-un studiu prospectiv în orașul Copenhaga, care a cuprins 9149 de bărbați în vârstă sub 40 ani cu IM, s-a constatat risc triplu de boală coronariană la homozigoții cu polimorfism P1A<sub>2</sub> [7].

Într-o cercetare, condusă de Galasso G. și colaboratorii [8], pe un lot de pacienți cu CPI s-a constatat, că prezența genotipului P1A<sub>2</sub> se asociază cu un risc de IM și deces de 3 ori mai mare. De remarcat, că pacienții purtători de alele P1A<sub>2</sub>, aflați sub supraveghere, au avut nevoie de revascularizare repetată, iar 50% din pacienți au fost expuși PCI repetate pentru apariția infarctului miocardic repetat.

Într-adevăr, la pacienții cu CPI, supuși intervențiilor percutane, prezența alelei P1A<sub>2</sub> se asocia cu un risc crescut de deces, de leziuni cerebrale severe, de IM și de revascularizare miocardică repetată [9].

Pe de altă parte, alte numeroase cercetări nu au reușit să confirme această asocierie și meta-analiza a 23 de investigații atestă lipsa de asocierie între alela P1A<sub>2</sub> și riscul de IM, acest rezultat fiind confirmat și de alți autori [10].

Astfel, Kastrati A. și colaboratorii în studiul lor, efectuat într-o manieră prospectivă, nu a determinat asociații între polimorfismul P1A<sub>2</sub> și riscul relativ de

a dezvoltă IM, accident vascular cerebral sau tromboză venoasă [11].

### Concluzie

Portajul alelei  $A_2$  și starea homozigotă  $A_2A_2$  se asociază cu o frecvență înaltă de infarct miocardic, în special la fumătorii cu dislipidemie. Genotiparea variantei alelice  $A_2$  a genei GPIIb/IIIa se indică a fi efectuată coronarienilor cu dislipidemie, în special la fumători.

### Bibliografie

1. Lusis A. Genetics of atherosclerosis. *Trends in Genetics*. 2012; 28:267-275.
2. Davi G., Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *The New England journal of medicine*, 2007;357(24):2482-2494.
3. Lefkowitz J., Plow E., Topol E. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *The New England journal of medicine*, 2005,332(23):1553-1559.
4. Smith G. D., Harbord R., Milton J. et al. Does Elevated Plasma Fibrinogen Increase the Risk of Coronary Heart Disease? Evidence from a Meta-Analysis of Genetic Association Studies. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2005;25:2228.
5. Michelson A., Furman M., Goldschmidt-Clermont P. et al. Platelet GP IIIa  $PI(A)$  polymorphisms display different sensitivities to agonists. *Circulation*, 2010, 101(9):1013-1018.
6. Weiss E., Bray P., Tayback M. et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *The New England journal of medicine*, 2006, 334(17):1090-1094.
7. Bojesen S., Juul K., Schnohr P. et al. Platelet glycoprotein IIb/IIIa  $PI(A2)/PI(A2)$  homozygosity associated with risk of ischemic cardiovascular disease and myocardial infarction in young men: the Copenhagen City Heart Study. *Journal of the American College of Cardiology* 2009, 42(4):661-667.
8. Galasso G., Santulli G., Piscione F. et al. The GPIIIa  $PIA2$  polymorphism is associated with an increased risk of cardiovascular adverse events. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2010,10:41.
9. Burr D., Doss H., Cooke G., et al. A meta-analysis of studies on the association of the platelet  $PIA$  polymorphism of glycoprotein IIIa and risk of coronary heart disease. *Stat Med*. 2009; 22:1741-1760.
10. Zhu M., Weedon J., Clark L. Meta-analysis of the association of platelet glycoprotein IIIa  $PIA1/A2$  polymorphism with myocardial infarction. *The American journal of cardiology*, 2010,86(9):1000-1005.
11. Kastrati A., Schomig A., Seyfarth M. et al.  $PIA$  polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. *Circulation*, 2009; 99(8):1005-1010.